

研究区分		一般共同研究
研究課題		shRNA ライブラリーを用いたパイロトーシス関連遺伝子の網羅的同定
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授・鈴木 穰
受入担当教員	職名・氏名	教授・須田貴司
【研究目的】	パイロトーシスは、カスパーゼ 1 依存性のネクローシス様プログラム細胞死である。当初は、細菌に感染したマクロファージなどで見られる細胞死として報告されたが、神経細胞、心筋細胞、がん細胞など様々な細胞種でも同様の細胞死が報告されており、神経変性疾患、糖尿病、がんなど様々な疾患に関与することが示唆されている。パイロトーシス死細胞からは種々の炎症誘導物質が放出されるため、腫瘍内でパイロトーシスが起きれば炎症性微小環境の形成に寄与すると考えられる。しかし、パイロトーシスの分子メカニズムについてはほとんど解明されておらず、したがってその人為的な制御法も確立されていない。	
【研究内容・成果】	須田らが樹立したムラミルジペプチド(MDP)刺激に応答して全ての細胞がパイロトーシスを起こす NOMO-1/C12N2 細胞に DECIPHER プロジェクトコンソーシアムが配布する shRNA Library の内、ヒト遺伝子を標的とする 3 つのサブライブラリーを導入し、MDP 刺激でパイロトーシスを誘導する前後に、生細胞のゲノム内に組み込まれた個々の shRNA の頻度を、次世代シーケンスの手法で網羅的に決定した。その後、MDP 刺激前に比べ、刺激後の生き残った細胞内に濃縮される shRNA を同定した(右図)。同定された shRNA はパイロトーシスのシグナル伝達に働く遺伝子を標的とすると考えられる。実際、同定された shRNAの中には、パイロトーシスのシグナル伝達において重要な役割を果たすことが知られているアダプター分子 ASC の遺伝子(PYCARD)を標的とするものが複数含まれていたことから、このスクリーニングは機能したと考えられる。今後は、同定された shRNA の標的遺伝子のうち複数の shRNA の濃縮が確認された遺伝子 20 種類について、須田らとの共同研究でパイロトーシスにおける役割を検証する予定である。 図) 右下 2 次元ドットプロット内の赤い四角で囲まれたドットが MDP 処理後に濃縮された shRNA を示す。この内 3 つが ASC 遺伝子(PYCARD)を標的とする shRNA であった。	
【成果等】	【主な論文発表】	なし
	【学会発表】	なし
	【その他特筆事項】	なし