助 成 番　210129

５－２

研 究 成 果 報 告 書

| | | | |
|---|---|---|---|
| 研究テーマ（和文） | ミトコンドリアマトリックスに存在するカスパーゼ活性の生理機能の解析 | | |
| 研究テーマ（英文） | The physiological analysis of caspase activity in the mitochondrial matrix | | |
| 研究期間 | 2021年 ～ 2024年 | 研究機関名　東京大学 | |
| 研究代表者 | 氏名（漢字） | 篠田　夏樹 | |
| | 氏名（カタカナ） | シノダ　ナツキ | |
| | 氏名（英文） | Natsuki Shinoda | |
| | 所属機関・職名 | 東京大学 大学院薬学系研究科・助教 | |
| 共同研究者<br>（計　０名）<br>＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。 | 氏名（漢字） | | |
| | 氏名（カタカナ） | | |
| | 氏名（英文） | | |
| | 所属機関・職名 | | |
| | 氏名（漢字） | | |
| | 氏名（カタカナ） | | |
| | 氏名（英文） | | |
| | 所属機関・職名 | | |


概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

細胞死実行因子であるカスパーゼは，非細胞死性にも機能を発揮する．研究代表者は，ショウジョウバエ及びヒト培養細胞株を用いて，カスパーゼの細胞死性/非細胞死性の活性化制御機構及びその生理機能を解析してきた．その中で，ヒトカスパーゼ 7 のスプライシングアイソフォームの 1 つがミトコンドリアマトリックスに局在することを見出した．本研究では，カスパーゼのミトコンドリアマトリックスでの生理機能の解明を目指した．

まず，当該アイソフォームを高発現するヒト培養細胞株を探索した．ヒトがん細胞パネル JFCR39 で遺伝子発現解析及び当該アイソフォーム特異的な抗体の作出によるタンパク質発現解析を行ったが，発現を確認できなかった．したがって，発現量が極めて低いまたは特定の条件においてのみ発現するアイソフォームであることが示唆された．高発現する培養細胞株を選定できなかったことから，生理機能の解析を行えなかった．一方で，本研究の推進に際して，細胞内局所的なカスパーゼの活性化をミトコンドリアマトリックスに限定せずに解析する実験系を構築した．その結果，アポトーシス時には形質膜において先立ってカスパーゼが活性化することを発見した．また，その活性化がカスパーゼ 7 と形質膜内層に存在するフォスファチジルセリン（PS）との相互作用によって駆動されること，さらにその活性化がアポトーシス細胞貪食の目印となる，PS の外層への迅速な曝露に必要であることを明らかにした（論文投稿準備中）．したがって，本研究では当初想定した結果は得られなかったが，研究の過程において新たな発見が得られ，その発見について十分に解析を進めることができたといえる．

また，ショウジョウバエのカスパーゼについても並行して解析を進め，その近接タンパク質環境の解析から得られた知見について 2 件の研究論文を発表し，また招待を受けて 1 件の総説論文を発表した．

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 雑誌 | 論文課題 | Exploring caspase-dependent non-lethal cellular processes using *Drosophila* | | | | |
| | 著者名 | Natsuki Shinoda, Masayuki Miura | 雑誌名 | Frontiers in Cell Death | | |
| | ページ | ～ | 発行年 | 2 0 2 4 | 巻号 | 3:1472108 |
| 雑誌 | 論文課題 | Executioner caspase is proximal to Fasciclin 3 which facilitates non-lethal activation in *Drosophila* olfactory receptor neurons | | | | |
| | 著者名 | Masaya Muramoto, Nozomi Hanawa, Misako Okumura, Takahiro Chihara, Masayuki Miura, Natsuki Shinoda | 雑誌名 | eLife | | |
| | ページ | ～ | 発行年 | 2 0 2 4 | 巻号 | 13:RP99650 |
| 雑誌 | 論文課題 | Caspase cleaves *Drosophila* BubR1 to modulate spindle assembly checkpoint function and lifespan of the organism | | | | |
| | 著者名 | Natsuki Shinoda, Misuzu Horikoshi, Yusuke Taira, Masaya Muramoto, Shoshiro Hirayama, Shigeo Murata, Masayuki Miura | 雑誌名 | The FEBS Journal | | |
| | ページ | 4200 ～ 4223 | 発行年 | 2 0 2 3 | 巻号 | 290(17) |

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

Caspase, an executioner of cell death, also exhibits non-lethal functions. I have analyzed the mechanisms and functions of caspase in both lethal and non-lethal scenarios, using Drosophila and human cultured cell lines. I have discovered that one splicing isoform of human Caspase-7 localizes to the mitochondrial matrix. In this research, I aimed to elucidate physiological functions of caspase in the mitochondrial matrix. First, I analyzed expression of the isoform in JFCR39, a panel of 39 human cancer cell lines. However, I couldn't detect it, suggesting that the expression is low or limited only in specific conditions. Thus, I couldn't conduct functional analysis. Meanwhile, I established an experimental system to analyze localized caspase activation inside the cell beyond the mitochondrial matrix. Using this system, I found that caspase activation peaks earlier at the plasma membrane (PM) during apoptosis. Mechanistically, I found that the activation is driven by the interaction between Caspase-7 and phosphatidylserine (PS) at the PM. Physiologically, I found that the activation facilitates rapid externalization of PS, an "eat-me" signal of apoptotic cells. Overall, while I was unable to advance the initially intended research, I discovered an unexpected caspase activation pattern and characterized its molecular mechanism and physiological function.