

「生物の発生・分化・再生」
平成12年度採択研究代表者

上村 匡

(京都大学ウイルス研究所 教授)

「単一細胞レベルのパターン形成：細胞極性の制御機構の解明」

1. 研究実施の概要

発生のあらゆる局面において、個々の細胞は外界からのシグナルなどを解読し、細胞骨格を何度も再編成させて様々なベクトルの極性を発達させる。この単一細胞レベルのパターン (single-cell patterning) が正しく形成されて初めて、誕生した器官に個体の行動や生存のために必要な巧妙な機能、例えば神経活動などが賦与される。本研究では、以下の3つのsingle-cell patterningに注目し、個々の細胞が、自分が置かれたフィールド内の位置をどのようにして解読し、どのような分子装置を駆動させて、細胞骨格を再編成させるのかを追究する。

- (1) 上皮細胞の頂部 - 基部軸に沿った極性化および平面内極性化
- (2) 神経突起の伸長と分岐
- (3) 極性変換を伴うニューロンの運動

これまでの研究により、平面内細胞極性を調節する7回膜貫通型カドヘリン Flamingoと、上皮細胞の頂部面においてアクチン重合を制御するフォスファターゼ Slingshotを発見し、それぞれの役割を解析している。また、Flamingoは平面内極性に加えて、2種類の神経突起（軸索と樹状突起）のパターン形成も制御することを明らかにした。今後はFlamingoとSlingshotのそれぞれについて、下流のシグナル伝達経路の解明や基質の同定を目指していく。さらに、神経突起の伸長・分岐や、極性変換を伴うニューロンの運動に重要な役割を果たす新しい遺伝子を探索している。

2. 研究実施内容

グループ A (京都大学・ウイルス研究所)

- (1) 7回膜貫通型カドヘリン Flamingoと細胞質因子Dishevelledの共局在

Flamingo (Fmi) は、ショウジョバエ翅の上皮細胞内で偏って分布し、この偏った細胞内分布が平面内極性形成に重要な役割を果たすことが強く示唆されていた(図1と図2上段)。この局在を調節する機構を明らかにする目的で、極性形成シグナル経路の上流に位置する、細胞質因子Dishevelled (Dsh) の分布を調べた。その結果、DshがFmiと共局在すること(図2下段)そして両者の非

対称な分布は相互依存的であることがわかった。

(2) アクチン系を制御するフォスファターゼSlingshotの基質同定の試み

ショウジョウバエの新規フォスファターゼSlingshotは、表皮細胞の頂部面直下において、アクチンモノマーの過剰な重合を抑制する役割を果たす。その基質を遺伝学的手法および細胞生物学・生化学的手法を併用して同定する試みを開始した。後者のアプローチのために、ヒトホモログの全長構造の決定を進めている。ヒトゲノムには、ショウジョウバエslingshotに相同な遺伝子は3個あった。

(3) 樹状突起のパターン形成を調節する分子機構

ショウジョウバエの神経細胞の中で、際立って複雑な樹状突起を展開する multiple dendrite neuron (md neuron) に注目し、樹状突起のパターン形成を調節する遺伝子を探索している。具体的には、主にmd neuronで発現する遺伝子をまず同定する目的で、エンハンサートラップスクリーニングを行い、4500のトラップ系統から約20の候補遺伝子を得た。候補遺伝子のそれぞれについて、機能破壊を目指してトランスジェニック二重鎖RNA干渉法の導入を試みている。

グループB (京都大学・理学研究科)

哺乳類小脳の顆粒細胞の直交性運動・極性変換を再現できる組織片培養系を用い、極性変換に関与する遺伝子の探索を開始した。直交運動ができない顆粒細胞と正常細胞との間で、発現する遺伝子のレポーターの違いを検出する手法なども用いている。また、顆粒細胞はマウスFlamingoホモログを発現しており、直交運動の前後での細胞内分布の検討を試みた。

グループC (東京慈恵会医科大学・医学部)

リーラマウスを材料に用い、脳室側から軟膜側への細胞移動の継続・終了を可視化し、正常個体の細胞の挙動と比較することを目指している。この研究のために、子宮内マウス胚の脳の細胞を標識する方法を開発した。

グループD (熊本大学発生医学研究センター)

上皮細胞の頂部 - 基部軸に沿った極性を誘導できるF9細胞を用いて、頂端部の形成が異常になる細胞株を分離した。非上皮から上皮への転換を誘導できる条件下で、この細胞株での極性形成を分子マーカーを用い、経時的に追跡している。

3. 主な研究成果の発表 (論文発表)

Takeichi, M., Nakagawa, S., Aono, S., Usui, T., and Uemura, T. Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 885-890.2000.

碓井理夫、上村匡：「平面内細胞極性形成の分子機構 Molecular Mechanism of Planar Cell Polarity Formation」*細胞工学* 19, 1627-1633. 2000.

Haraguchi, R., Suzuki, K., Murakami, M., Sakai, M., Kamikawa, M., Kengaku, M., Sekine, K., Kawano, H., Kato, S., Ueno, N. and Yamada, G. Molecular analysis of external genitalia formation ; the role of fibroblast growth factor genes during genital tubercle formation. *Development* 127, 2471-2479. 2000.

見学美根子 (2000) 「中枢神経系の発生と機能発現におけるWntシグナルの機能 Possible roles of Wnt signaling in development and function of the vertebrate CNS」*細胞工学*19, 1650-1655. 2000.

仲嶋一範、田畑秀典:「神経細胞の移動と皮質の構築」*脳神経科学イラストレイテッド* (森寿・真鍋俊也・渡辺雅彦・岡野栄之・宮川剛 編) 羊土社、東京、114-122、2000.

Takahashi N, Ishihara S, Takada S, Tsukita S, Nagafuchi A. Posttranscriptional regulation of alpha-catenin expression is required for Wnt signaling in L cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 277, 691-8. 2000.

Tachibana K, Nakanishi H, Mandai K, Ozaki K, Ikeda W, Yamamoto Y, Nagafuchi A, Tsukita S, Takai Y. Two cell adhesion molecules, nectin and cadherin, interact through their cytoplasmic domain-associated proteins. *J. Cell Biol.* 150, 1161-76. 2000.

Miyagishi M, Fujii R, Hatta M, Yoshida E, Araya N, Nagafuchi A, Ishihara S, Nakajima T, Fukamizu A. Regulation of Lef-mediated transcription and p53-dependent pathway by associating beta-catenin with CBP/p300. *J. Biol. Chem.* 275, 35170-5. 2000.