

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」  
平成 25 年度採択研究代表者

H28 年度 実績報告
----------------

月田 早智子

大阪大学大学院生命機能研究科／医学系研究科  
教授

細胞間接着・骨格の秩序形成メカニズムの解明と  
上皮バリア操作技術の開発

## § 1. 研究実施体制

### (1) 月田グループ

① 研究代表者: 月田 早智子 (大阪大学大学院生命機能/医学系研究科、教授)

② 研究項目

アピカル複合体秩序形成メカニズムの解析と操作法開拓のための in vivo 解析

- 1) 「アピカル微小管」形成過程の解析
- 2) 初代培養系を用いたライブイメージング
- 3) 「アピカル複合体」マニピュレーション
- 4) 「Active 複合体」の解析
- 5) 一般上皮「アピカル複合体」解析
- 6) 「アピカル複合体」の張力制御システムの解析

### (2) 石原グループ

① 主たる共同研究者: 石原 秀至 (明治大学理工学部、准教授)

② 研究項目

アピカル膜の繊毛基底小体の形成過程のモデル化と理論解析

- 1) アピカル膜の繊毛基底小体の配列秩序形成過程のモデル化と理論解析
- 2) in vitro 構成実験の数理モデル化と理論解析

(3)「大岩」グループ

①主たる共同研究者:大岩 和弘 ((国)情報通信研究機構 未来 ICT 研究所、主管研究員)

②研究項目

- ・ アピカル骨格構造秩序形成メカニズム解明のための *in vitro* 再構成実験系の構築と解析
- ・ 既知要素の組み合わせによる *in vitro* 再構成システムの構築と特性変調による数理モデルパラメータの妥当性評価
- ・ アピカル複合体における TJ の役割及び必須要素の特定

(3)大岩グループ

① 主たる共同研究者:大岩 和弘(情報通信研究機構 未来 ICT 研究所、主管研究員)

② 研究項目

アピカル骨格構造秩序形成メカニズム解明のための *in vitro* 再構成実験系の構築と解析

- 1) 数理モデル検証のための既知要素組み合わせによる *in vitro* 再構成システム構築
- 2) *in vitro* 実験構成要素の特性変調による数理モデルパラメータの妥当性評価
- 3) 境界構造の構築と検証:アピカル複合体におけるTJの役割の検討

(4)米村グループ

① 主たる研究代表者:米村 重信 (理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター、徳島大学大学院医歯薬学研究部、教授)

② 研究項目

張力感受性と形態形成の相関性の定性的、定量的解析

- 1) 上皮細胞シートの三次元形態形成における細胞間接着装置の張力感受性の解析
- 2) 実験データに基づく三次元 vertex モデルの構築と形態形成の予測
- 3) 張力センサー蛋白質の構造と物性解析 ならびに変異張力センサー蛋白質の設計

## § 2. 研究実施の概要

多細胞生物における種々の細胞機能は、細胞内および細胞間の分子・分子複合体が協同的に働くことにより構築される。上皮細胞は細胞間接着装置タイトジャンクション(TJ)によって強く接着することで上皮細胞シートを形成し、生体内の環境に応じて物質やイオンの透過性を最適化した構造的・機能的バリアを形成する。このバリアが非常に動的であること、アピカル面直下に存在する細胞骨格と機能的に連携していることから、私共では、**TJ・アピカル骨格構造複合体**を「アピカル複合体」というシステムとして開拓し、実験・理論の両方向からその構造と機能にアプローチしている。

気管多繊毛上皮細胞のアピカル面では、規則的な微小管格子が繊毛基部の基底小体(BB)と相互作用することによって組織機能が創出される。微小管格子とともに規則的に配列するBBの動的性質を知るため、昨年度確立した高分解能・長時間ライブイメージング法を用いて、気管上皮細胞初代培養系のより詳細なデータの集積を進めた(月田班)。また、この秩序化をより深く理解するため、BB周辺をアピカル骨格構造による活性をもつ流体とみなしたアクティブ流体モデルを構築した。薬剤や変異動物を用いた実験と、モデル内で細胞骨格が作る流れ場の濃度や粘性、収縮性などのパラメーターを変化させた結果を比較し、実験と理論の両面で整合性のよい結果を得た。これらの結果を論文としてまとめ、*Journal of Cell Biology*に採択された(月田班、石原班)。さらに、確立した気管上皮細胞の初代培養系を用いた高分解能・長時間のライブイメージング法をさらに発展させ、高時間分解能・長時間・二色のライブイメージング法を目指している(月田班)。また、超高圧電子顕微鏡を用いてマウス気管の発生過程におけるアピカル複合体の発達を観察した。さらに一般上皮細胞におけるアピカル複合体を観察した。これらの結果を論文としてまとめ発表した(Tateishi et al., 2017. *Sci. Rep.*) (月田班)。

これらの実験と並行して、細胞骨格系の動態について、*in vitro*再構成系の確立を進めた。「アピカル複合体」を想定した、細胞骨格とモーターによる自発的なネットワーク形成について、実験と理論の統合された解析結果が得られた(大岩班、石原班)。現在これらの結果と細胞内での現象との整合性を検証するため、アピカル微小管結合蛋白質の候補を選別し、*in vitro*再構成系および細胞内での検討を進めている(大岩班、月田班)。

一般細胞における「アピカル複合体」の機能の更なる理解のため、培養細胞系における機能解析を進めている。TJに局在する微小管結合蛋白質に注目し、TJに由来する張力感受性システムについて検証を開始する(月田班)とともに、3次元実験系と数理モデルを用いた、形態形成における張力感受性の機能解析(米村班)を進めている。

これらの結果を統合して、細胞接着・骨格の秩序形成に新しい視点を開く「アピカル複合体」研究基盤の構築を目指し、プロジェクトを進行している。

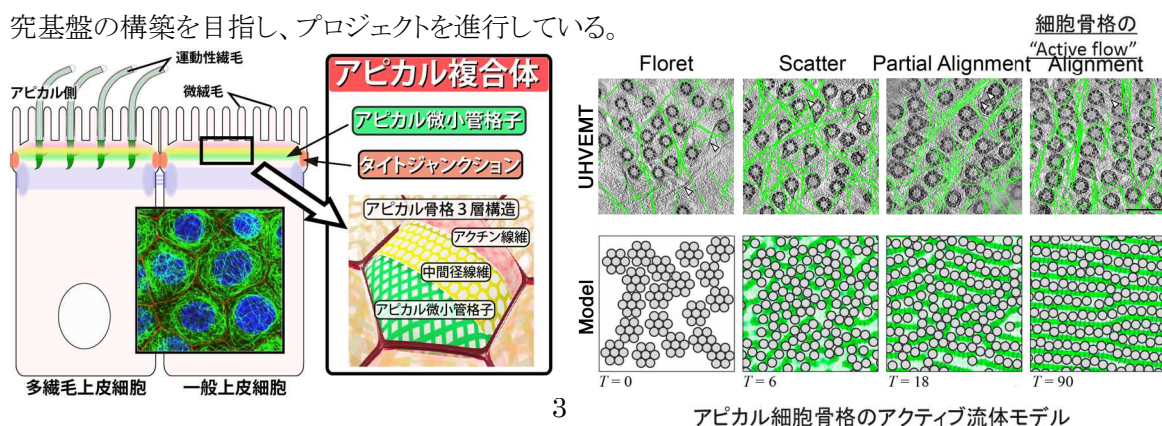


図 2.1 アピカル複合体(左)と、アクティブ流体モデルのシミュレーション結果(右)

シミュレーション結果 超高圧電子顕微鏡像 蛍光抗体顕微鏡像