

「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

H29 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

### (2) 石原グループ

① 主たる共同研究者: 石原 秀至 (東京大学総合文化研究科 特任准教授)

#### 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) 二色蛍光ライブイメージングの定量的画像解析
- 2) 基底小体の整列と *basal foot* の向き決定のための数理モデル構築

### 3) 微小管-モーター構成系の数理解析

#### (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) 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
- 2) アピカル複合体における TJ の役割及び必須要素の特定

#### (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) 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、我々が確立した高分解能・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行い、これらのデータを元にアクティブ流体モデルを構築した(月田班、石原班)。今年度は高分解能・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を行い、理論グループとともに、気管多繊毛上皮細胞の機能構築メカニズムの理解を目指している(月田班、石原班)。理論的考察から、BBの方向が揃う秩序メカニズムにはアピカル面にある微小管格子を形成している微小管束に極性が不可欠であることが示唆され、実験グループにその実を検証するように提言し、実際にこの理論が正しいか否か検証中である。また、超高压電子顕微鏡を用いてマウス気管の発生過程及び、一般上皮細胞におけるアピカル複合体の発達を観察し、これらの結果を論文としてまとめた(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)。

また、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。

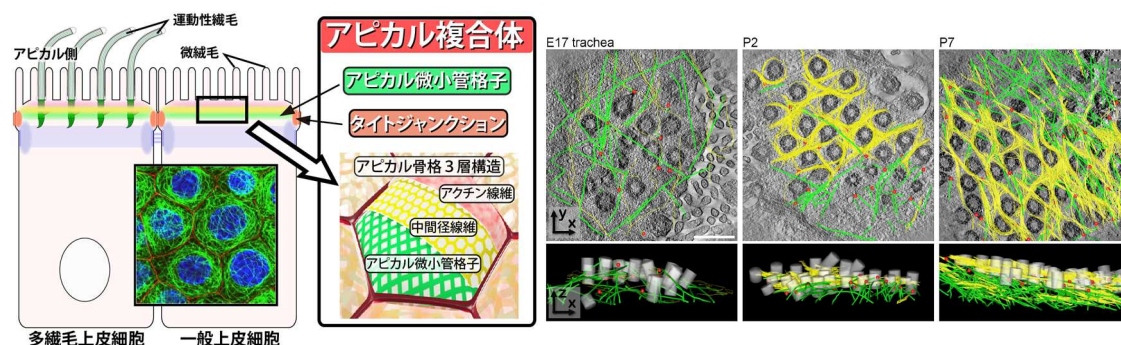


図 2.1 (左)アピカル複合体と、(右)超高压電子顕微鏡トモグラフィーを用いて観察したアピカル中間径繊維ネットワーク(黄)と微小管ネットワーク(緑)