

多細胞システムにおける細胞間相互作用とそのダイナミクス
2019年度採択研究者

2021年度 年次報告書

三井 優輔

自然科学研究機構 基礎生物学研究所
助教

Wntによる平面細胞極性の動的形成機構の解明

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、Wnt11 が如何にして平面細胞極性(PCP)を制御するかを解明することを目標としている。Wnt11 は従来いわゆるモルフォゲンとして濃度勾配を作ることで、平面細胞極性を制御すると考えられてきた。しかし我々がアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 初期胚で Wnt11 蛋白質の可視化をおこなったところ、必ずしも濃度勾配ではない局在性が明らかになってきた。特に Wnt11 の局在性が平面細胞極性に関わる因子などによって局所的に制御されるという私の独自の発見に基づき、Wnt11 の局在性の制御の詳細について解析をおこなった。神経板で見られる内在性の Wnt11 の分布はコア PCP 因子の分布に類似した偏った分布を示すが、「分泌性蛋白質の細胞外分布は細胞表面の足場分子に依存する」¹⁾ことを考えるとコア PCP 因子が Wnt11 の足場形成に関わっている可能性が考えられる。そこで、コア PCP 因子の発現阻害実験をおこなったところ、Wnt11 の局在が失われた。

また Wnt11 の局在性やコア PCP 因子の局在性へのヘパラン硫酸(HS)鎖・HS プロテオグリカン(HSPG)の関与を検討した。特定の修飾状態の HS 鎖と Wnt11 が有意に共局在することが判明した。また HS 鎖の修飾に関わる酵素である *ndst1* のノックダウンにより、神経板での Vangl2 の膜局在が減少した。逆にコア PCP 因子のうち特定の組み合わせを神経板で過剰発現させることで、特定の修飾状態の HS 鎖が増加した。このように HSPG とコア PCP 因子の間にも相互に因果関係が存在することが示唆された。

今年度の特筆すべき成果として、培養系で平面細胞極性を少なくとも部分的には再現できる系を構築したことが挙げられる。まだ実験系の検証自体が不十分ではあるが、今後この系を利用して各種関連遺伝子の変異体株を作成するなどして、平面細胞極性を「作って」理解するという新たな研究手法を確立、発展させていきたい。

また本研究での中心的課題の一つである平面細胞極性の可視化に関連した共同研究⁵⁾および、リン酸化 Vangl2 に関連した共同研究²⁾をおこなった。また分泌性蛋白質の新規制御技術³⁾および光遺伝学的な細胞骨格の操作技術⁴⁾に関連して共同研究をおこなった。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Quantitative analyses reveal extracellular dynamics of Wnt ligands in *Xenopus* embryos”
Yusuke Mii, Kenichi Nakazato, Chan-Gi Pack, Takafumi Ikeda, Yasushi Sako, Atsushi Mochizuki, Masanori Taira, Shinji Takada
eLife 10: e55108 (2021)
- 2) “Regulation of Wnt/PCP signaling through p97/VCP-KBTBD7-mediated Vangl ubiquitination and endoplasmic reticulum-associated degradation”
Di Feng, Jin Wang, Wei Yang, Jingyu Li, Xiaochen Lin, Fangzi Zha, Xiaolu Wang, Luyao Ma, Nga Ting Choi, Yusuke Mii, Shinji Takada, Michael S. Y. Huen, Yusong Guo, Liang Zhang, Bo Gao
Science Advances 7: eabg2099 (2021)
- 3) “Asymmetric requirement of Dpp/BMP morphogen dispersal in the *Drosophila* wing disc”

Shinya Matsuda, Jonas V. Schaefer, Yusuke Mii, Yutaro Hori, Dimitri Bieli, Masanori Taira, Andreas Plückthun, Markus Affolter

Nature Communications 12: 6435 (2021)

- 4) “Optogenetic relaxation of actomyosin contractility uncovers mechanistic roles of cortical tension during cytokinesis”

Kei Yamamoto, Haruko Miura, Motohiko Ishida, Yusuke Mii, Noriyuki Kinoshita, Shinji

Takada, Naoto Ueno, Satoshi Sawai, Yohei Kondo, Kazuhiro Aoki

Nature Communications 12: 7145 (2021)

- 5) “Alignment of cell long axis by unidirectional tension acts cooperatively with Wnt signalling to establish PCP”

Sayuki Hirano, Yusuke Mii, Guillaume Charras, Tatsuo Michiue

Development dev.200515 (2022) (accepted manuscript)