

遊走細胞と神経細胞の極性形成を制御する

分子ネットワーク

MOLECULAR MECHANISMS UNDERLYING CELL POLARIZATION IN MIGRATING CELLS AND NEURONS

貝淵 弘三 (KAIBUCHI KOZO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

生体を構成する種々の細胞は特徴的な極性を獲得し固有の生理機能を担っている。遊走する細胞、神経細胞や上皮細胞がその顕著な例である。本研究では遊走細胞と神経細胞をモデルシステムとし、細胞極性の獲得・維持機構を制御するシグナル伝達機構の解明を行う。また、細胞極性の形成に関与する細胞骨格と選択的蛋白質・小胞輸送の制御機構の解明を目指す。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：シグナル伝達、遊走、細胞骨格、極性、プロテオーム、微小管、脳・神経、小胞輸送

1. 研究開始当初の背景

生体を構成する種々の細胞は特徴的な極性を獲得し固有の生理機能を担っている。遊走する細胞、神経細胞や上皮細胞がその顕著な例である。細胞極性の獲得と維持は生体機能に必須であり、低分子量 GTPase Rho ファミリーや極性複合体である Par complex が重要な役割を果たすことが知られていたものの、その分子基盤には不明の点が多かった。

2. 研究の目的

本研究では、(1)遊走細胞の前後軸形成と(2)神経細胞の軸索/樹状突起形成をモデルシステムとし、細胞極性の獲得・維持機構を制御するシグナル伝達機構の解明を行う。また、細胞極性の形成に関与する細胞骨格と選択的蛋白質・小胞輸送の制御機構の解明を目指す。さらには、(3)両システムに関連したプロテオミクス解析やシミュレーションモデルの作成により包括的な理解を目指す。

3. 研究の方法

(1) 遊走細胞の極性形成機構の解析

遊走細胞の前後軸形成・維持の分子基盤を明らかにするために、(a) Rho ファミリーの活性調節やクロストーク機構、(b) Par complex の活性調節や作用機構の解析を行う。また、(c) 遊走先端のリーディングエッジにおける微小管のダイナミクスと捕捉機構の解析を行う。

(2) 神経細胞の極性形成機構の解析

複数の未成熟な神経突起から軸索(出力装置)と樹状突起(入力装置)への運命決定機構を明らかにするために、(a) 神経細胞における極性を制御するシグナル分子の可視化と (b) 極性を制御する細胞内外のシグナル(キュー)の同定を試みる。また、(c) 選択的軸索内輸送機構の解析を行う。さらに、(d) 上述の解析で得られた知見を基に、脳室の上皮細胞に遺伝子導入を行うことで、個体レベルでの神経極性形成機構の解明を目指す。

(3) 遊走細胞と神経細胞の包括的解析

極性形成・維持の分子基盤には普遍的な共通項が多い。(a) 極性を制御する kinase の基質の網羅的探索、(b) 極性形成における Ca^{2+} シグナルの役割、さらに、(c) 極性シグナルのシミュレーションモデルの構築、というアプローチにより、極性を制御するメカニズムの包括的理解を目指す。

4. これまでの成果

(1) 遊走細胞における極性形成

遊走細胞の前後軸形成や維持に関わる +TIPs について、CLASP2 が GSK3 β によって、また CLIP-170 が AMPK によってそれぞれリン酸化されることを見出した。それぞれのキナーゼによってリン酸化されることで、微小管のリーディングエッジへのターゲティングやダイナミクスが調節されていることを明らかにし、細胞遊走における微小管

と+TIPsの役割を示した。

また低分子量 GTPase Rho ファミリー間のクロストークについて、Rhoのエフェクターである Rho-キナーゼが Rho の不活性化因子である p190RhoGAP をリン酸化してその活性を抑制するポジティブフィードバックループの存在を示唆するデータを得た。さらに、接着斑の構成分子である Talin に Rac の活性化因子である Tiam1 が結合して局在し、接着斑のダイナミクスと Rac の活性調節がリンクしていることを解明しつつある。

(2) 神経細胞における極性形成

海馬初代培養細胞に対して種々の外界シグナルを局所投与したところ、神経栄養因子が未成熟な突起の伸長を促進し軸索形成を誘導することを見出した。この誘導には IP₃ 受容体を介した Ca²⁺シグナルとその下流の CaMKK の活性化が必要であることが分かった。さらに胎児脳の神経上皮細胞に遺伝子導入を行った結果からも、神経細胞の極性形成に CaMKK が重要な役割を果たすことが示された。

神経軸索/樹状突起への選択的輸送について、CRMP-2 が Slp1 を介して Rab27, Trk 受容体と結合し、神経細胞において小胞上で共局在することを見出した。CRMP-2 が Trk 受容体を含む輸送小胞の軸索遠位方向への輸送を調節し、その結果軸索形成や極性形成を制御すること示した。さらに、CRMP-2 は逆行性のモーターであるダイニンにも結合し、逆行性輸送を制御することも示した。

(3) プロテオミクス解析

インタラクトームを基盤とした、細胞極性の形成・維持に関わるキナーゼの基質の網羅的解析を行い、Rho-キナーゼの基質の探索・同定を行った。

5. 今後の計画

(1) の遊走細胞における極性形成機構については、現在、接着 (インテグリン) 依存的な Rac の活性化機構と接着斑のダイナミクスに関する解析が進行中であり、これを完遂させる。(2) の神経細胞の極性形成機構については、CRMP-2 以外にも Disc1 など複数の分子を介して軸索/樹状突起への選択的輸送が行われていることを見出している。現在、Disc1 を介した選択的輸送機構についての解析が進行中であり、これを完遂させる。(3) の Rho-キナーゼ以外の極性形成に関わるキナーゼについて基質の網羅的解析を行っており、これを完遂させる。京都大学の石井信教授らと共同で、神経細胞の極性形成の新しいシミュレーションモデルを構築中である。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

[雑誌論文] (計 36 件)

(1) Nakano, A., Kato, H., Watanabe, T., Min, K.

D., Yamazaki, S., Asano, Y., Seguchi, O., Higo, S., Shintani, Y., Asanuma, H., Asakura, M., Minamino, T., Kaibuchi, K., Mochizuki, N., Kitakaze, M., and Takashima, S. AMPK controls the speed of microtubule polymerization and directional cell migration through CLIP-170 phosphorylation. *Nature Cell Biology* 査読有 12, 583-590 (2010)

(2) Watanabe, T., Noritake, J., Kakeno, M., Matsui, T., Harada, T., Wang, S., Itoh, N., Sato, K., Matsuzawa, K., Iwamatsu, A., Galjart, N., and Kaibuchi, K., Phosphorylation of CLASP2 by GSK-3beta regulates its interaction with IQGAP1, EB1 and microtubules. *Journal of Cell Science* 査読有 122, 2969-2979 (2009)

(3) Mori, K., Amano, M., Takefuji, M., Kato, K., Morita, Y., Nishioka, T., Matsuura, Y., Murohara, T., and Kaibuchi, K., Rho-kinase Contributes to Sustained RhoA Activation through Phosphorylation of p190A RhoGAP. *The Journal of Biological Chemistry* 査読有 284, 5067-5076 (2009)

(4) Enomoto, A., Asai, N., Namba, T., Wang, Y., Kato, T., Tanaka, M., Tatsumi, H., Taya, S., Tsuboi, D., Kuroda, K., Kaneko, N., Sawamoto, K., Miyamoto, R., Jijiwa, M., Murakumo, Y., Sokabe, M., Seki, T., Kaibuchi, K., and Takahashi, M., Roles of disrupted-in-schizophrenia 1-interacting protein girdin in postnatal development of the dentate gyrus. *Neuron* 査読有 63, 774-787 (2009)

(5) Arimura, N., Kimura, T., Nakamuta, S., Taya, S., Funahashi, Y., Hattori, A., Shimada, A., Menager, C., Kawabata, S., Fujii, K., Iwamatsu, A., Segal, R. A., Fukuda, M., and Kaibuchi, K., Anterograde transport of TrkB in axons is mediated by direct interaction with Slp1 and Rab27. *Dev Cell* 査読有 16, 675-686 (2009)

[学会発表] (計 20 件)

(1) Kaibuchi, K., Neuronal polarity-From extracellular signals to intracellular mechanisms. Cold Spring Harbor Asia Conference, 1st Francis Crick Neuroscience Symposium (2010.4.13) Suzhou, China

(2) Kaibuchi, K., Role of Par and Tiam1 complex in polarized cell migration. RAMIC, National Network on Cell Adhesion and Migration (2009.10.22) Madrid, Spain

(3) Kaibuchi, K., Roles of Rho family GTPases and Par proteins in directional migration. Gordon Research Conferences (2009.8.24) Oxford, UK

(5) Kaibuchi, K., Axon formation and polarized vesicle transport. ESF-EMBO Symposium (2009.5.23) Sant Feliu de Guixols, Spain

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/>