

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成20年度採択分

平成23年5月18日現在

研究課題名（和文）カドヘリン接着分子群と細胞骨格の連携による細胞行動制御

研究課題名（英文）Regulation of cell behavior by the interplays between cadherin cell adhesion molecules and cytoskeleton

研究代表者

竹市 雅俊 (TAKEICHI MASATOSHI)

独立行政法人理化学研究所・高次構造形成研究グループ・グループディレクター



研究の概要：動物体を維持するためには細胞間の接着を安定に維持することが必須である。一方、形態形成運動など、細胞集団の再編成のためには、細胞間接着が動的に制御されなくてはならない。本研究は、とくに細胞骨格の役割に焦点を当て、細胞間接着の制御機構を明らかにすることを目的としている。

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：カドヘリン、カテニン、アクチン、微小管、細胞接着

#### 1. 研究開始当初の背景

細胞間接着装置はアクチン、微小管等の細胞骨格系と構造的に連結しているが、その連結の分子的機構、生理的役割については未解決な部分が多い。とりわけ、微小管との関係については謎にまつまれている。

#### 2. 研究の目的

クラシックカドヘリン、および、カドヘリンスーパーファミリーメンバーの一部について、細胞骨格系との連携のしくみを研究し、その連携が、どのようにして種々の細胞行動を制御しているのか明らかにする。また、そのシステムが破綻したときに起きる問題、とくに、がん細胞の浸潤・転移の引き金となる細胞間の接着異常の原因解明を目指す。

#### 3. 研究の方法

(1) 細胞接触による運動阻害、カドヘリンフロー、細胞間接着装置の変換等の問題を取り上げ、それぞれの現象におけるクラシックカドヘリンとアクチンの機能的関係を探る。

(2) クラシックカドヘリンと微小管の関係について、新しく同定した微小管結合因子 *Nezha* を中心として、その機能の解析を行う。

(2) カドヘリンスーパーファミリーについて、*Fat4* 及びその結合パートナー *Dachsous* を選び、マウス大脳皮質形成における役割の究明、さらに *Fat* シグナル系と関係するとい

われる *Expanded/Willin* の機能解析を行う。また、 $\delta 2$  群に属するプロトカドヘリンについて、アクチン重合制御系との関係、そして神経軸索伸長における役割を探る。

#### 4. これまでの成果

(1) 接着帯構造の変換機構：上皮細胞の接着帯は組織を安定に維持するために働くが、発生期や組織障害時においては細胞集団の再編成が必要で、その時、接着帯がどのように変換するのか分かっていない。以前、アクチン繊維の安定化因子 *EPLIN* が、安定な接着帯を維持するために必要であることを示したが、今回、*EPLIN* が周縁部の接着構造から張力に依存した仕組みで抜け落ちることにより、接着帯をより動的な構造に転換させることを明らかにした。

(2) *Willin* の機能解明：*Willin* は、ハエ *Expanded* の脊椎動物ホモログとされている。このタンパク質の機能解析を行った結果、① *Willin* は *Par3* と共同して *aPKC* を接着帯に局在させる、② *aPKC* は直接 *ROCK* をリン酸化することにより *ROCK* を細胞質に留める、③ それにより接着帯における *ROCK* の量を調節し過剰な収縮を押さえる、という新しい細胞接着の制御機構が明らかとなった。

(3) 微小管マイナス端結合因子 *Nezha*：新しい微小管マイナス端結合因子 *Nezha* を発見した (図1)。*Nezha* を RNAi 法により除去すると接着帯が障害されることから、その維持のために *Nezha*-微小管が重要な役割を果た

していることをまず明らかにした。次に、接着部位以外に局在する *Nezha* の機能解析を進めており、これが、細胞質微小管の安定化に重要な役割を果たしていること、そして、その機能を介してオルガネラの動態にも影響を与えていることを明らかにしている。

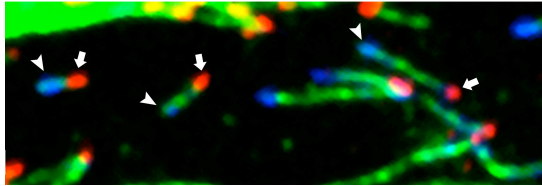


図1. 微小管のマイナス端 (矢印) に *Nezha* (赤) が、プラス端 (矢尻) に EB1 (青) が結合している様子。

(4) 接着帯の極性的収縮機構：神経管は上皮細胞が筒状に折りたたまれることによって形成される。この極性的な折りたたみ現象の機構を解明するため、神経板が閉じる過程における接着帯の動態について、床板領域に注目して調べたところ、カドヘリンスーパーファミリーの一員 *Celsr1* (PCP シグナル因子) が、接着帯に局在する特定の RhoGEF を折りたたみ軸に沿って活性化し、その結果、アクチンが同方向だけで活性化され、極性的な神経板の折りたたみが誘発されることが明らかになった。

#### 5. 今後の計画

##### (1) カドヘリンとアクチンの相互作用

アクチン重合制御因子 *Nap1* が葉状仮足から排除されることを指標として、クラシックカドヘリンに依存する「接触依存の運動阻害」の仕組みを研究してきたが、これまでの観察から、葉状仮足における *Nap1* と細胞骨格系との相互作用が関係することが示唆されているので、この関係をさらに追求していく。

##### (2) カドヘリンと微小管の相互作用

*Nezha*-微小管を介してキネシン 14 群が細胞接着部位に移動することが分かり、これによって運ばれる分子の同定を進めている。その結果、カドヘリン分解の阻害因子が運ばれているらしいことが分かり、この発見の確認を急いでいる。また、*Nezha* の生体内における役割を明らかにするためノックアウトマウスを作製し、その表現型の解析を始めている。予備的観察によれば、上皮組織の極性形成に異常が認められており、この系を利用して、*Nezha*-微小管系の *in vivo* における役割を明らかにしていく。さらに、*Nezha* と似た分子が他に2つあることが分かり、これらについて *Nezha* との関係を探る。

##### (3) プロトカドヘリンに関する研究

$\delta 2$  群に属するプロトカドヘリンは、アク

チン重合の制御因子 *Nap1*-WAVE 複合体と結合し、神経軸索走行を制御することをすでに明らかにしてきた。複数の  $\delta 2$  群プロトカドヘリンのノックアウトマウスの作製に成功したので、その表現型解析等を通じて、この分子群の機能を総括的に理解するよう努める。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Ishiuchi, T., and Takeichi, M. Willin and Par3 cooperatively regulate epithelial apical constriction through aPKC-mediated ROCK phosphorylation. **Nature Cell Biol.**, in press (2011)

2. Oda, H., and Takeichi, M. Structural and functional diversity of cadherin at the adherens junction. **J. Cell Biol.**, in press (2011).

3. Ishiuchi, T., Misaki, T., Yonemura, S., Takeichi, M., and Tanoue, T. Mammalian Fat and Dachsous cadherins regulate apical membrane organization in the embryonic cerebral cortex. **J. Cell Biol.** *185*, 959-967 (2009)

4. Ito, S., and Takeichi, M. Dendrites of cerebellar granule cells correctly recognize their target axons for synaptogenesis in vitro. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** *106*, 12782-12787 (2009)

5. Meng, W., Mushika, Y., Ichii, T., and Takeichi, M. Anchorage of microtubule minus-ends to adherens junctions regulates epithelial cell-cell contacts. **Cell** *135*, 948-959 (2008)

6. Abe, K., and Takeichi, M. EPLIN mediates linkage of the cadherin-catenin complex to F-actin and stabilizes the circumferential actin belt. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, *105*, 13-19 (2008)

7. Nishimura, T., and Takeichi, M. Shroom3-mediated recruitment of Rho kinases to the apical cell junctions regulates epithelial and neuroepithelial planar remodeling. **Development** *135*, 1493-1502 (2008)

8. Nakao, S., Platek, A., Hirano, S., and Takeichi, M. Contact-dependent promotion of cell migration by the OL-protocadherin-Nap1 interaction. **J. Cell Biol.** *182*, 395-410 (2008)

(受賞等)

平成21年ヨーロッパ分子生物学機構 (EMBO) 外国人会員

(ホームページ等)

<http://www.cdb.riken.go.jp/en/index.html>