

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔事後評価用〕

平成15年度採択分

平成21年 3月31日現在

研究課題名（和文）細胞の極性形成と遊走を制御する分子機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanism underlying cell polarity and cell migration

研究代表者

貝淵 弘三

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要：生体を構成する細胞は特徴的な極性を獲得し、固有の生理機能を担う。本研究では、遊走する繊維芽細胞や神経細胞をモデルとして細胞極性の獲得・維持機構を制御するシグナル伝達機構の解析を行った。

研究分野：生物系

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：極性、遊走、シグナル伝達、Rhoファミリー、軸索、シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

種々の細胞は固有の機能を発揮するために極性を獲得する。遊走する細胞は前方でリーディングエッジを、後方でトレイリングテールを作り前後軸を形成する。神経細胞も樹状突起から信号を入力して軸索から信号を出力するという極性を有している。細胞内では細胞骨格と小胞輸送が統合的に制御されることによりこれらの細胞が極性化するが、そのメカニズムは殆ど理解されていなかった。我々は2001年にCRMP-2が神経細胞の極性を制御することを示した。一方で、Rhoファミリー-GTP結合蛋白質は細胞骨格や接着、運動、極性を制御することが知られていたが、RhoファミリーやCRMP-2がいかにして細胞極性を制御するかは不明の点が多かった。

2. 研究の目的

本研究では、遊走する細胞や神経細胞をモデルシステムとして用い、Rhoファミリー分子やCRMP-2を中心として、細胞極性を制御するシグナル伝達機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 細胞の極性形成を制御する細胞外シグナルの同定とシグナル伝達の解析
- (2) 微小管ダイナミクスの解析
- (3) 小胞輸送と極性形成および遊走の関係
- (4) 細胞遊走を制御する薬剤の評価・開発
- (5) コンピューターシミュレーションを用いたシグナル伝達ネットワークの解析

4. 研究の主な成果

- (1) CRMP-2の活性制御機構や作用機構を解析

した。CRMP-2はNumbを介して接着分子L1に結合し、成長円錐におけるL1のエンドサイトーシスを制御した。CRMP-2はSra-1を介して成長円錐におけるアクチン繊維のリモデリングとラメリポディア形成を制御した。CRMP-2は成長円錐において、微小管の重合、アクチン繊維のリモデリング、接着分子のエンドサイトーシスを統合的に制御して軸索伸長を制御すると考えられる。一方、CRMP-2の活性制御因子として、PI(3,4,5)P₃(PIP₃)に注目した。未成熟な神経突起の先端が細胞外基質ラミニンと接触しインテグリンが活性化されると、接触した神経突起にPIP₃が急速に濃縮し、その後軸索伸長が誘導された。PI3キナーゼを阻害すると軸索伸長が抑制された。ラミニンの下流でPI3キナーゼの活性化とPIP₃の産生が起こり、軸索の誘導を促すと考えられる。PIP₃はAktを介してGlycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)を負に制御している。GSK-3 β がCRMP-2を直接リン酸化して不活性化することを見出した。PIP₃/Akt/GSK-3 β の下流でCRMP-2の活性が上昇することで突起の伸長を促進することを明らかにした。また、Par複合体(Par3/Par6/aPKC)がKinesin-2(KIF3)により神経突起の先端に運ばれ、PIP₃の下流で軸索の運命決定に寄与することを見出した。

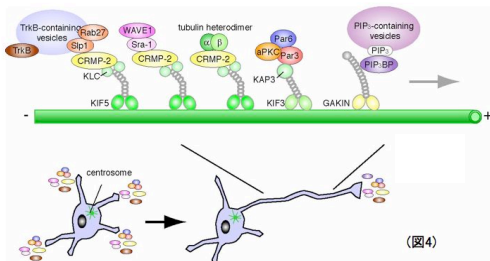
(2)リーディングエッジの形成にはRhoファミリーやインテグリンが重要な役割を果たす。インテグリンはRacを活性化するが、そのメカニズムは不明であった。Par3が直接Rac GEF(STEF/Tiam1)と結合し、インテグリンの下流でRacを活性化することを示した。さらに、Par3とTiam1が遊走細胞の前後軸の形成に必須であること、Rho/RhoキナーゼがPar3をリン酸化

[4. 研究の主な成果 (続き)]

し、Rac を不活性化することを示した。細胞前方部での Par 複合体による Rac の活性化と、後方部における Rho/Rho キナーゼによる Rac の不活性化が、前後軸の形成に重要な役割を果たすと考えられる。

Rac のエフェクター分子である IQGAP1 と APC が相互依存的にリーディングエッジのアクチン繊維上に局在し、アクチン繊維を安定化し、+TIPs の CLIP-170 や CLASP を捕捉して微小管のプラス端を安定化させることを示した。また、GSK-3 β が CLASP をリン酸化し、微小管や IQGAP1 との結合を阻害することも見出した。リーディングエッジでは GSK-3 β の活性が相対的に低下しており、効率よく CLASP-IQGAP1 複合体が形成され微小管のプラス端がアクチン繊維に捕捉されると考えられる。

(3) 伸長する軸索や遊走する細胞では、突起先端や遊走先端に向かって膜を伸長させ、様々な受容体や接着分子を供給している。このためには選択的かつ極性を持った小胞輸送が必要とされる。CRMP-2 が「積荷(cargo)」を選別しモーター分子 Kinesin-1 と連結する、「積荷受容体(cargo receptor)」であるという概念を提唱し、CRMP-2 がチューブリンや Trk 等の特定の分子の軸索への選択的輸送に寄与することを示した。また、遊走細胞においては進行方向に新たな接着点を形成するためにインテグリンなどの接着分子をリーディングエッジに輸送するが、この過程にエンドサイトーシスアダプター分子 Numb が関わっていること、また Numb の活性が aPKC によって調節されていることを示し、Numb が遊走細胞の前後軸の維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。



(4) Rho キナーゼ阻害剤はマクロファージや平滑筋細胞など動脈硬化に関わる細胞種の遊走を特異的に阻害するが、繊維芽細胞などの遊走は阻害しないことを見出した。また、特異性の高い新規 Rho キナーゼ阻害剤を得た。

(5) シグナル伝達機構の仕組みを定量的に記述して統合的に「システム」として理解するためにシミュレーションモデルの構築を試みた。血管内皮細胞の収縮モデルを作成し、このシグナル経路に未知の経路が存在することを予測し、実験的に iPLA2 が Rho キナーゼの持続的活性化を引き起こすことを示した。また、Rho ファミリーによる前後軸確立の分子モデルを作成した。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

我々は本研究において CRMP-2, Par 複合体, Rho ファミリーが極性を制御するメカニズムを明らかにした。この分野のフロントランナーとして分野を認知させると共に引っ張ってきた。Rho ファミリーによる細胞骨格、接着の制御機構については、元々世界有数の研究を展開していたが、遊走する細胞の極性(前後軸)の形成について大きく分野を発展させた。

多数の国際会議で招待講演を行い、また Nature Review, Neuron, TICB などの一流紙に依頼総説を掲載しており、本研究は世界のトップレベルにあると認知されている。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

1. Nakayama, M., Goto, T. M., Sugimoto, M., Nishimura, T., Shinagawa, T., Ohno, S., Amano, M., and **Kaibuchi, K.** Rho-kinase phosphorylates PAR-3 and disrupts PAR complex formation. *Dev Cell* 14(2), 205-215 (2008)

2. Nishimura, T., and **Kaibuchi, K.** Numb controls integrin endocytosis for directional cell migration with aPKC and PAR-3. *Dev Cell* 13(1), 15-28 (2007)

3. Yoshimura, T., Kawano, Y., Arimura, N., Kawabata, S., Kikuchi, A., and **Kaibuchi, K.** GSK-3 β regulates phosphorylation of CRMP-2 and neuronal polarity. *Cell* 120(1), 137-149 (2005)

4. Nishimura, T., Yamaguchi, T., Kato, K., Yoshizawa, M., Nabeshima, Y., Ohno, S., Hoshino, M., and **Kaibuchi, K.** PAR-6-PAR-3 mediates Cdc42-induced Rac activation through the Rac GEFs STEF/Tiam1. *Nat Cell Biol* 7(3), 270-277 (2005)

5. Watanabe, T., Wang, S., Noritake, J., Sato, K., Fukata, M., Takefuji, M., Nakagawa, M., Izumi, N., Akiyama, T., and **Kaibuchi, K.** Interaction with IQGAP1 links APC to Rac1, Cdc42, and actin filaments during cell polarization and migration. *Dev Cell* 7(6), 871-883 (2004)

ホームページ等

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