

正中線細胞による神経上皮細胞の極性化機構の研究

東京理科大学 基礎工学部 生物工学科
前田 礼男

1. はじめに

細胞極性は、細胞の分化、分裂、移動、細胞死など細胞の多様な機能を生み出す生物の基本的な機構の一つです。上皮組織には、頂部-基底部に沿った極性(apicobasal polarity)に加えて、これに直交する平面に沿った平面内細胞極性(planar cell polarity: PCP)が存在します。平面内細胞極性は生物種を問わず広くみられ重要な役割をはたしています。たとえば、脊椎動物内耳の有毛細胞や気管上皮組織の繊毛の配向の決定に必要であり、平面内細胞極性の異常は様々な疾患に繋がることが明らかになっています。これまでの国内外の研究から、平面内細胞極性に関与する因子が多数同定されており、その分子機構が明らかになりつつあります。

しかしながら、個々の細胞の極性は、からだ全体における位置を基準として決められる必要があると考えられるため、個々の極性化機構に加えて、組織レベルのグローバルな極性を制御する機構が存在すると考えられます。申請者は、遺伝学的解析が可能なショウジョウバエを用いた研究から、胚発生時の正中線細胞の分化に中心的な役割をはたす *single-minded (sim)* 遺伝子の突然変異体において、野生型では方向性をもつ神経上皮細胞の細胞分裂の方向がランダム化してしまうことを初めて明らかにしました(図1)。この結果は、正中線細胞が、神経上皮細胞においてグローバルな極性を与えていることを示唆しています。そこで本研究では、グローバルな極性形成における正中線細胞の機能的な意義および分子機構を明らかにすることを目指しています。

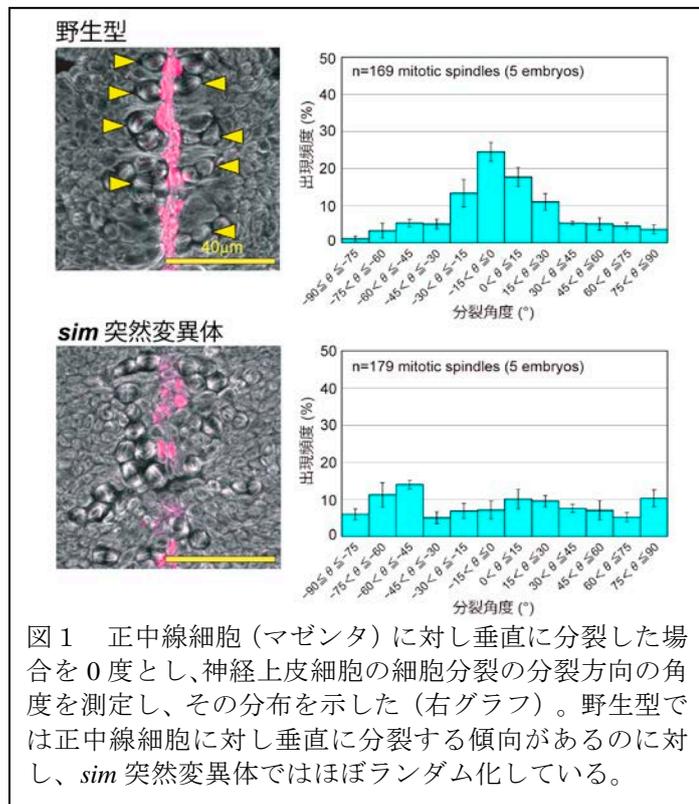


図1 正中線細胞(マゼンタ)に対し垂直に分裂した場合を0度とし、神経上皮細胞の細胞分裂の分裂方向の角度を測定し、その分布を示した(右グラフ)。野生型では正中線細胞に対し垂直に分裂する傾向があるのに対し、*sim* 突然変異体ではほぼランダム化している。

2. 方法

[1] *sim* 遺伝子の下流で機能する細胞極性制御遺伝子の探索

sim 遺伝子は、DNA結合ドメインであるbasic Helix-Loop-Helix (bHLH)ドメインと、タンパク質相互作用に関与する2つのPASドメイン(ショウジョウバエ*PER*、ヒト*Arnt*、ショウジョウバエ*Single-minded*に共通して保存されているドメイン構造)を持つ転写因子をコードし、胚発生初期において胚体の正中線上に2細胞幅で存在する正中線細胞で発現しています。*sim* 遺伝子は、正中線細胞の分化に必要な多数の遺伝子を制御するマスター遺伝子として知られていることから、*sim* 遺伝子の下流で機能する遺伝子群の中に、グローバルな極性を直接制御する遺伝子が含まれていると考えられます。そこで本実験では、候補遺伝子アプローチを行い、正中線細胞においてグローバルな極性化に関与する遺伝子を探索しました。

[2] *sim* 突然変異体の神経前駆細胞における細胞極性と細胞運命決定因子の局在を調べる

sim 突然変異体で観察される極性の異常が、神経上皮細胞の細胞運命にどのような影響を与えるかを調べるために、幼虫期の機械刺激受容器である外感覚器の神経前駆細胞に注目しました。外感覚器の神経前駆細胞は、胚発生時の正中線細胞の両側それぞれの面において5ヶ所に形成され、最終的に、各側面の位置を基準にvp1、vp2、vp3、vp4、vp4a (vp: ventral papilla) とよばれる外感覚器を形成します。神経前駆細胞は計4回の非対称分裂を経て、外感覚器を構成する4種類の細胞 (socket、shaft、sheath、neuron) とmultidendritic neuronを生じますが、最初の非対称分裂は平面内の極性をもって起こることが報告されています (Orgogozo et al., Development, 128, 631-643, 2001)。したがって、胚発生時の平面内極性が異常になる *sim* 突然変異体胚において、これらの神経前駆細胞の非対称分裂の極性が異常になった結果、細胞運命の異常をもたらす可能性があります。

そこで本実験では、*sim* 突然変異体胚において神経前駆細胞の非対称分裂と細胞運命決定因子の局在を調べることでこの可能性を検証しました。

3. 結果

[1] *sim* 遺伝子の下流で機能する細胞極性制御遺伝子の探索と同定

GAL4/UASシステムを用いて、*sim* 突然変異体のバックグラウンドで候補遺伝子を正中線細胞特異的に発現させ、*sim* 突然変異体胚において観察される細胞分裂の極性異常が救済されるかどうかを検証しました。その結果、*sim* 突然変異体の極性異常を部分的に救済する遺伝子を同定することができました。*sim* 突然変異体の表現型が完全には救済されないことから、この遺伝子以外にも*sim* 遺伝子の下流でグローバルな極性を制御している遺伝子が存在していると考えられます。

[2] *sim* 突然変異体の神経前駆細胞における細胞極性と細胞運命決定因子の局在を調べる

外感覚器前駆細胞の細胞運命は、細胞運命決定因子の非対称な分裂により決定されています。最初の非対称分裂の際には、平面内の方向性をもってpI細胞が分裂しpIIa細胞およびpIIb細胞の2種類の細胞運命の異なる娘細胞を生じますが、その際には細胞運命決定因子であるNumbは近位側に局在しpIIb細胞のみに分配されます。この細胞運命決定因子が正しく局在しないと、細胞運命が変化することが報告されています。*sim* 突然変異体の外感覚器前駆細胞においてpIIa細胞およびpIIb細胞の配置を観察したところ、野生型では一定の方向性が見られるのに対し、配置が逆転しているものや対称分裂しているものが観察されました (図2)。次に、細胞運命決定因子であるNumbの局在を免疫組織染色により観察したところ、本来近位側に存在するはずのNumbの局在が遠位側に局在するものや、両方の娘細胞に均等に局在しているものが観察されました。

これらのことから、*sim* 突然変異体ではグローバルな極性が異常になった結果、神経前駆細胞の細胞運命が変化することが示唆されました。

4. 考察

これまでの国内外の研究から、ショウジョウバエの翅表皮においては、非典型的カドヘリンであるFatとDachsousを介する非対称な細胞間コミュニケーションが細胞内の微小管の配向を調

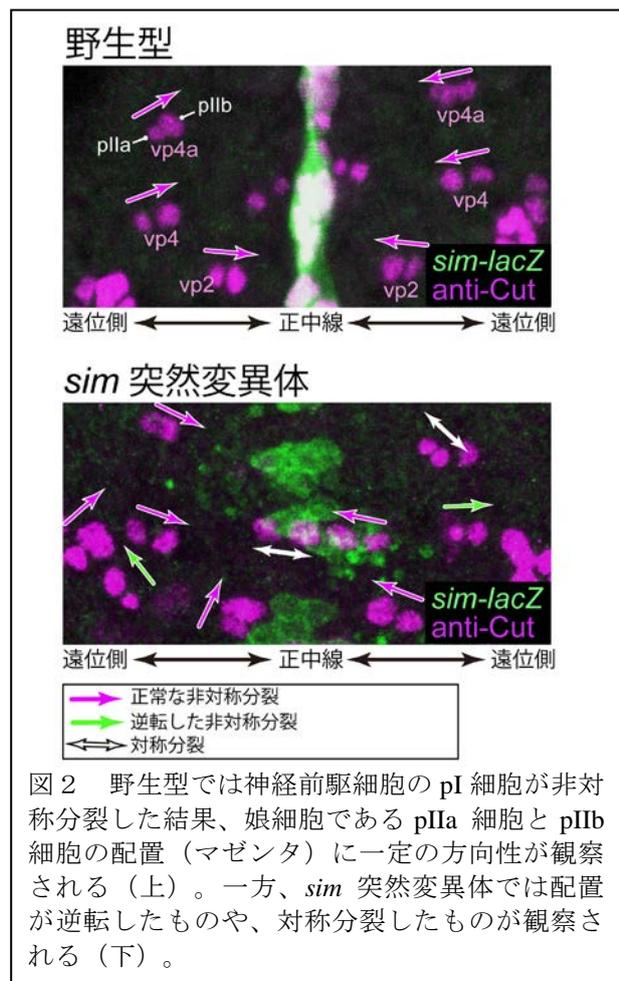


図2 野生型では神経前駆細胞のpI細胞が非対称分裂した結果、娘細胞であるpIIa細胞とpIIb細胞の配置(マゼンタ)に一定の方向性が観察される(上)。一方、*sim* 突然変異体では配置が逆転したものや、対称分裂したものが観察される(下)。

節し、細胞極性に関わるタンパク質を含む小胞を微小管に沿って移動させることでグローバルな極性形成機構を形成するというモデルが提唱されています。しかしながら、最初の非対称な細胞間コミュニケーションが形成される仕組みなどはあまり明らかになっていません。本研究では、神経上皮細胞の広範囲な極性を制御するシグナルセンターとしての正中線細胞の役割を提唱しています。これまでに、このような広範囲の極性を制御するシグナルセンターの存在は知られていません。本研究で明らかになったことをもとに、極性形成過程における正中線細胞の役割をさらに調べることで、これまでに知られていない新しい極性形成の仕組みを明らかにできると考えています。

5. 発表論文、参考文献

1. Reduced cell number in the hindgut epithelium disrupts hindgut left-right asymmetry in a mutant of pebble, encoding a RhoGEF, in *Drosophila* embryos.
Nakamura M, Matsumoto K, Iwamoto Y, Muguruma T, Nakazawa N, Hatori R, Taniguchi K, **Maeda R**, Matsuno K., *Mech. Dev.*, 2012,
2. A novel *Cre/loxP* system for mosaic gene expression in the *Drosophila* embryo.
Nakazawa N, Taniguchi K, Okumura T, **Maeda R**, Matsuno K, *Dev. Dyn.*, 2012, vol.241, 965-974
3. Canonical Wnt signaling in the visceral muscle is required for left-right asymmetric development of the *Drosophila* midgut
Kuroda J, Nakamura M, Yoshida M, Yamamoto H, Maeda T, Taniguchi K, Nakazawa N, Hatori R, Ishio A, Ozaki A, Shimaoka S, Ito T, Iida H, Okumura T, **Maeda R**, Matsuno K, *Mech. Dev.*, 2012, vol.128, 625-639