

## 生体組織における集団細胞移動の作動原理の解明

東北大学大学院生命科学研究科組織形成分野

倉永 英里奈

### <これまでの研究と研究計画>

私たちの体は、外界から身体の内부를隔てる上皮組織によって、身体の器官を保護したり、情報や物質を受け入れたりして、生命維持に必要な機能や反応を起こしている。上皮組織は上皮細胞と呼ばれる細胞が密接に接着した状態で構成されており、例えば胃粘膜の上皮組織では、胃の中に入ってきた食べ物などの物質のろ過や吸収、異物から保護するバリア機能を担っている。また、1 個の細胞（受精卵）が私たちのからだを作り上げる過程では、はじめに作られる単純なシート状の上皮組織が、折りたたみ・伸長・陥入・移動などの単純な変形を経て、複雑な器官を作り上げる。なかでも上皮細胞の協調的な集団移動は、初期胚の原腸陥入や乳腺分岐の形成など、組織形成において重要な役割を果たすだけでなく、上皮創傷治癒などの恒常性維持にも関与することが知られている。しかしながら、どうやって上皮組織としての特性を維持したまま（接着を保ったまま）移動出来るのか、どうやって同一方向に協調的に動けるのか、*in vivo* におけるその仕組みは多くが明らかで無かった。そこで私たちは、個体の中で安定的に集団細胞移動のプロセスを解析可能な、ショウジョウバエ雄性生殖器の回転形成に注目した。ショウジョウバエの雄性外生殖器は、蛹期、その発生過程に 360 度時計回りに回転することが知られており、左右非対称な器官形成を行うため、その回転異常は左右軸異常のモデルとして解析されてきた。これまでの報告や私たちの研究から、外生殖器の正常回転には増殖・移動・細胞死の関与が示唆されているが、それら細胞のふるまいが、どこで、どのようにして器官形成に関与しているのかは明らかでなかった。私たちは、ショウジョウバエを生かしたまま、この生殖器が 360 度回転する過程を単一細胞レベルで可視化することに成功し、この回転は、生殖器官をとりまく上皮組織が円周状に移動することにより引き起こされることを明らかにした (Kuranaga et al., *Development* 138, 1493-1499 (2011))。

外生殖器を取り囲むリング状の構造をした単層の上皮組織 (A8a 組織：腹部第 8 体節前部) には、600 個以上の上皮細胞が含まれており、互いに接着性を保ったまま集団で移動する様子が観察された。集団細胞移動のメカニズムとしては、移動方向からの誘引物質受容が報告されているが、リング状の組織であり典型的なリーダー細胞が観察されない本ケースでは、新たな集団細胞移動のモデルを提示する必要がある。私たちは、移動する上皮細胞集団のアピカル (頂端) 面に左右非対称な平面極性 (キラリティ) があることを見出し、それに準ずる細胞接着面のつなぎ替えと細胞間張力の揺らぎによって、細胞同士が斜めにずれ続けることで、接着性を保った細胞移動が成し遂げられることを、実験・計測・理論を組み合わせた研究により明らかにした (Sato et al., *Nat Commun*, 6, 10074 (2015))。一方で、細胞陥入の際には、細胞接着面のつなぎ替えにより接着面が 90 度回転されるため、一旦逆のキラリティに変化してしまう。連続的な一方向の細胞陥入を維持するためには、細胞接着面のつなぎ替えと、その後のキラリティ修正を瞬時に起こすメカニズムの存在が推察されたため、その可能性を検証した。

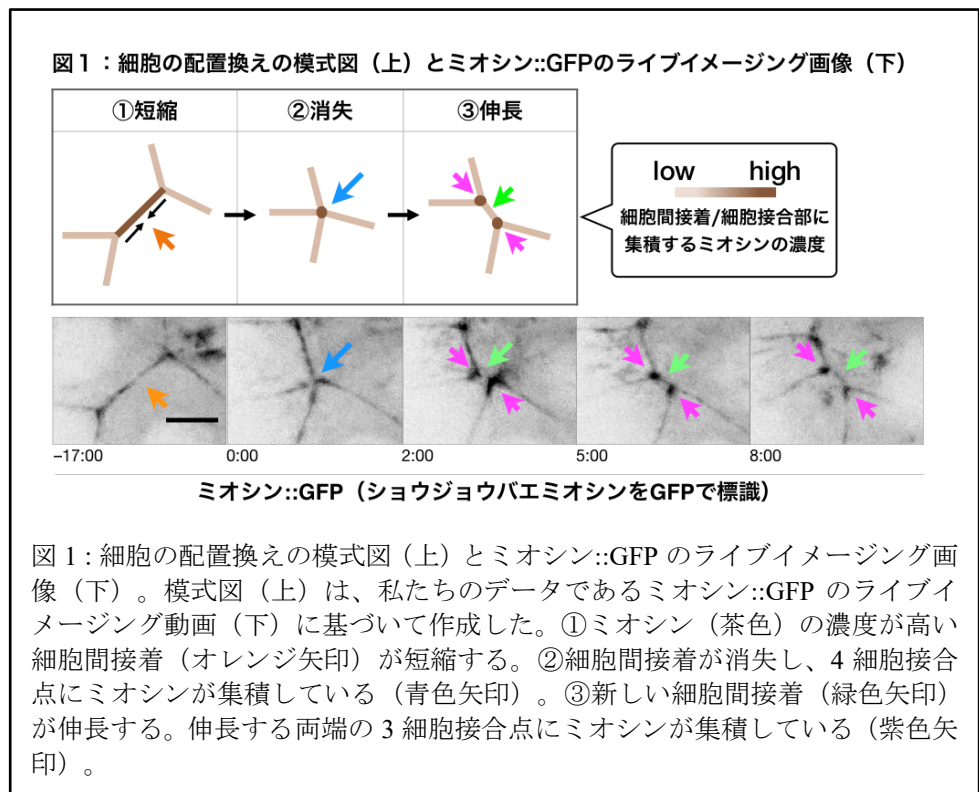
## <研究結果>

そこで私たちは本研究課題において、細胞陥入プロセス（接着面の①収縮・②消失・③新規形成と伸長）における関連分子の動態を詳細に解析した（図1上）。この細胞配置換えのプロセスをライブイメージングにより詳細に可視化することで、①の過程で集積したアクトミオシンは、②の際にも残存しており、③で新しい細胞間接着が伸長する際の両端の3細胞接合点に残存していることを発見した（図1）（Uechi and Kuranaga, *Dev Cell*, 50, 327-338 (2019)）。つまり、①で細胞間接着を縮めたアクトミオシンが、今度は③で新しい細胞間接着を作ることに再利用されているように観察された。この仮説を証明するためには、③の過程で見える3細胞接合点のアクトミオシンだけを、新しい細胞間接着が伸長しているタイミングで、不活性化する必要がある。そこで私たちは、ある波長の光を当てることで近傍のタンパク質を不活性化させることが出来る CALI (Chromophore assisted light inactivation) という技術を導入した。この CALI 法とは、光刺激により Reactive oxygen species (ROS) を産生する蛍光タンパク質を、不活性化させたいタンパク質に融合させて発現させることで、光特異的にタンパク質を不活性化させるものである。私たちは、CALI に最適な蛍光タンパク質として報告された SuperNova を、CRISPR/Cas9 法を用いて、ショウジョウバエミオシン II の C 末端側配列にノックインで挿入し、ミオシン II::SuperNova というショウジョウバエ

システムを作製した。このシステムを用いて、③（図1）の3細胞接合点に局在しているミオシン II::SuperNova を特異的に、光刺激により不活性化すると、新規接着面の伸長が阻害された。このことから、細胞接着面で収縮を駆動していたアクトミオシンが、当初の細胞接着面の消失により3細胞接合点に再構築されて、

速やかな新規接着面の伸長に寄与することが明らかになった(Uechi and Kuranaga, *Dev Cell*, 50, 327-338 (2019))。

3細胞接合点におけるアクトミオシンを集積する細胞膜タンパク質としては、Sidekick (Sdk) を候補分子として挙げた。Sdk は、YFP 融合タンパク質の局在観察から、ショウジョウバエ初期胚の上皮細胞の3細胞接合点に位置することだけ報告されていたが、その機能は不明であった。私たちは、Sdk が周辺上皮細胞の3細胞接合点に局在していること、Sdk のノックダウンによって、新規接着面の伸長が阻害されることを明らかにした。また、細胞接着面がつなぎ替わった後に現れる3細胞接合点と新規接着面にはカドヘリンが希薄であったが、その希薄な箇所には相補的に Sdk が局在している様子も、ライブイ



メーキングにより明らかにした。この Sdk はカドヘリンと比較して接着力が弱く、細胞接着面のつなぎ替えが起きたすぐ後にカドヘリンよりも早く接着面に局在して、アクトミオシンをつなぎ止め、ジッパーの様に 3 細胞接合点を移動しやすくすることで、新規接着面の速やかな伸長を支持していることが明らかになった (図 2) (Uechi and Kuranaga, *Dev Cell*, 50, 327-338 (2019))。

### <考察と今後の展望>

ここまで述べたように、上皮組織形成の原動力である細胞の配置換えは、連続して起こすことで上皮細胞を集団で移動させることが可能である。この連続した細胞の配置換えを維持するためには、細胞間接着がつなぎ替わった後に元に戻る反応（新しい細胞間接着の伸長）も重要であり、それが能動的に引き起こされているということを新しい技術（光照射分子不活性化法）によって証明し、そのプロセスに関与する遺伝子を世界に先駆けて同定した。今回発見した細胞の配置換えを連続してスムーズに起こす仕組みは、上皮としての特性を維持しながら細胞自律的かつ協調的に集団細胞移動させる仕組みとして、上皮組織の形態形成や、創傷治癒などの上皮修復メカニズムの理解に貢献することが期待される。

