

高次構造形成研究グループ

Cell Adhesion and Tissue Patterning Group

グループディレクター 竹市 雅俊

TAKEICHI, Masatoshi

動物の発生過程では、細胞のダイナミックな移動、細胞集団の再編成などが常に起きており、これらを形態形成運動とよぶ。しかし、これらの現象の基礎となる分子・細胞レベルでの機構はほとんど分かっていない。形態形成運動の制御機構の1つとして細胞間接着の調節が関与すると考えられている。通常の組織において細胞はカドヘリン系の接着装置により、互いに安定に結びついているが、細胞が移動するためには、この結合がなんらかの方式で制御されねばならない。実際、接着制御そのものが、細胞の移動を誘導したり、抑制したりする実例が示されている。さらに、接着分子を介した細胞間コミュニケーションが、細胞運動の制御シグナルを生み出しているという可能性も示唆されている。このような問題の理解を深めるために、カドヘリン接着分子群による形態形成運動の制御機構を探る。なお、カドヘリンスーパーファミリーのうち、カテニンと相互作用するクラシックカドヘリン(単に、カドヘリンとよぶ)・サブファミリー、プロトカドヘリン・サブファミリーに分けて研究を進める。

また、当グループディレクターは、本務とする京都大大学院生命科学研究所において、シナプス結合形成におけるカドヘリン分子群の役割を研究しており、その成果についても簡潔に記す。

1. カドヘリン機能の細胞質領域による制御の研究(竹市, 前川)

カドヘリンは細胞質側において、種々のカテニン分子と結合することにより、機能制御を受けていると考えられている。カドヘリンの細胞質領域は、 β -カテニンが結合するC末端ドメインと、それより前方、p120-cateninが結合するjuxtamembrane(JM)ドメインに分けられる。C末端ドメインにおいて、 β -カテニンはさらに α -カテニンと結合し、カドヘリンの活性を支えていることがよく知られているが、JMドメインの機能については十分理解されていない。私達は、このドメインの機能を明らかにするため(1)JMドメインに関し種々の変異分子を作製してその発現の効果を調べる(2)p120-cateninの変異分子を作製しその発現の効果を調べる研究を行った。

第1の研究については、JMドメインを欠いたカドヘリン分子は大腸がん細胞株 Colo205 の細胞接着を誘導、安定化させること、また、初期胚の体節形態形成において筋節細胞の拡張運動を阻害することをすでに明らかにしていた。これらの観察から、JMドメインはカドヘリン活性を何らかのかたちで低下させ、形態形成運動等を容易にする役割を担うと推論していた。今回、この路線の研究をさらに進めた結果、JMドメインに新たな活性を発見した。細胞運動活性である。一方、第2のアプローチに関しては、p120-cateninが、細胞変形の促進活性を持つことを発見した。これらの活性が、カドヘリンの活性制御、形態形成運動とどのように結びつくのかは、今後の研究課題であるが、カドヘリン分子自身の中に細胞運動制御機能があることは、細胞接着と形態形成運動の関連を理解する上で非常に興味深い。

2. N-カテニンノックアウトマウスの表現型解析(竹市, 石上)

α N-カテニンは、マウスでは神経系のみで発現しており、

かつ、カドヘリンの機能を支える重要分子である。従って、この分子の遺伝的欠失は、神経系のカドヘリン活性に重篤な影響を及ぼすと期待され、ノックアウトマウスを作製した。このマウスは、例外を除いて、生後1日以内に死亡する。また、小脳機能に異常があると予想される行動異常が観察された。誕生前後の脳を組織学的に調べた結果、とくに、小脳の発生に障害があり、現在、その異常の原因解明を種々のアプローチにより試みている。なお、本ノックアウトマウスは、京都大大学院生命科学研究所千坂修助教授によって作製されたものである。

3. 中枢神経系皮質形成におけるプロトカドヘリン分子群の役割研究(竹市)

カドヘリンはスーパーファミリーを形成しており、クラシック・カドヘリンはその1メンバーにすぎない。カドヘリンスーパーファミリーのうちプロトカドヘリンと総称される分子群(何十種類も存在する)について、最近、形態形成運動および脳皮質形成との関係が示唆されている。脳皮質発生における層形成は、細胞の移動と停止という形態形成運動の2大過程を含むが、その細胞・分子的基盤はほとんど明らかでない。また、プロトカドヘリンの生物学的活性、分子レベルにおける作用機序について、ほとんど解明されていない。

そこで、プロトカドヘリンの脳皮質形成における役割を解明するため、網膜を皮質のモデルとして設定し、ニワトリ胚網膜において発現するプロトカドヘリンのPCR断片を、この分子群に特有なアミノ酸配列を利用してランダムにクローニングした。10種類以上に分類される分子断片が得られ、それぞれの網膜における発現分布を *in situ* hybridization により調べた。その結果、各層に亘って広く発現するものから、特定の層に限局するものまで、種々の発現パターンが観察された。これらの内から、発現量が多く、かつ、層

分布に特徴のある分子をいくつか選別し，全長をクローニングして，今後の機能解析に備える予定である。

4. カドヘリンのシナプス形成における役割

2つのアプローチにより，本課題を研究している。(1)海馬培養系で，神経細胞のカドヘリン活性を阻害し，その効果を観察する。(2)特定のカドヘリンのノックアウトマウスを作製し，その個体におけるシナプス形成を観察する。

第1のアプローチについては，カドヘリンの阻害がスパインの異常伸張をもたらす等，シナプス形成に大きな影響が観察され，現在，電子顕微鏡，電気生理学的手法により，シナプスの微細構造と生理機能に及ぼす影響を研究中である。第2については，カドヘリン8のノックアウトマウスを作製したのでその表現型を研究中で，網膜双極細胞の軸索パターンの異常などを予備的に観察している。

Research Subjects and Members of Cell Adhesion and Tissue Patterning Group

1. Studies of Cytoplasmic Regulation of Cadherin Function
2. Analysis of α N-catenin Knockout Mice
3. Studies of the Role of Protocadherins in Retinal Morphogenesis
4. Studies of the Role of Cadherins in Synaptogenesis

Group Director

Dr. Masatoshi TAKEICHI

Technical Staffs

Ms. Hitomi ISHIGAMI

Dr. Midori MAEKAWA