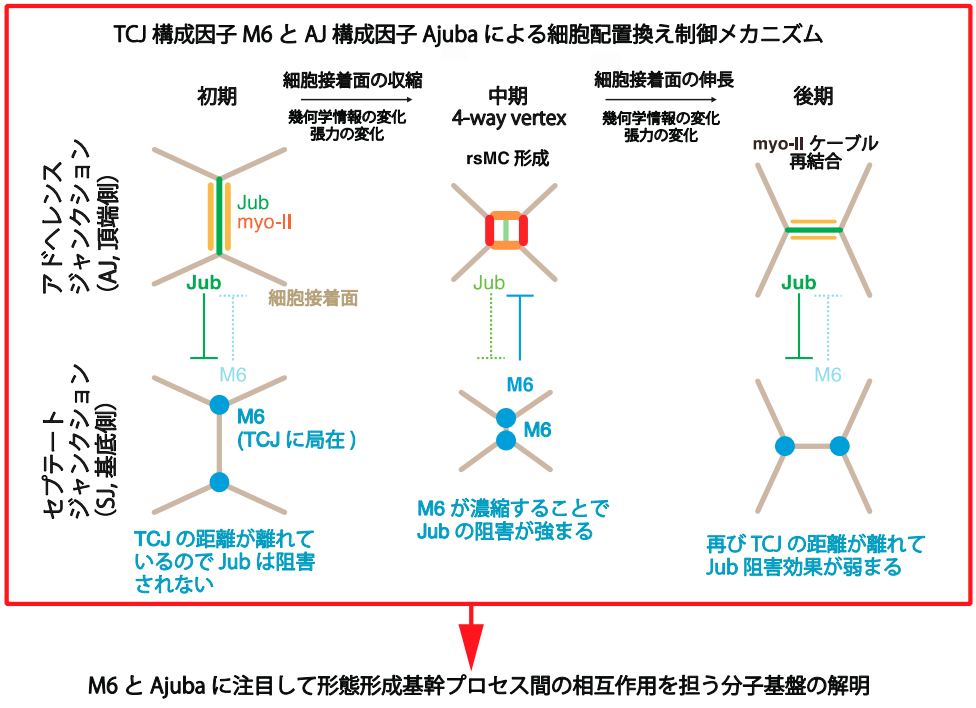
189　形態形成基幹プロセスの相互作用を担う分子基盤の解明	井川　敬介

【目的】組織形態形成の原理を理解する為には、細胞配置換え、細胞数変化、細胞形態変化の三つの素過程の仕組みを詳細に理解する必要がある。これまでに、三つの素過程を制御する各々の分子メカニズムの多くが明らかにされてきた。一方で、近年、これら三つの基幹プロセスが相互に影響し合うことで組織の変形が達成されることが報告されたが、その分子メカニズムの実態は不明である。このメカニズムを明らかにする上で、複数細胞の接着面から構成される頂点様の構造、中でも Tricellular junction（TCJ）の形態形成過程における生理機能が興味深い。その理由として、細胞頂点／TCJ において組織の幾何学・力学情報が読み出され、その情報がアクチン細胞骨格制御と細胞増殖シグナルに関与するメカニズムが提唱されたことが挙げられる。本研究提案では、組織形態形成過程における TCJ とアクチン制御因子の機能解析を実施し、基幹プロセス間で共通したメカニズムを明らかにすることで、形態形成の基幹プロセスの相互作用を明らかにすることを目指した。

【方法】ショウジョウバエ分子遺伝学とライブイメージング技術を駆使し、蛹期の翅の形態形成過程の一つである細胞配置換えに注目して、TCJ 構成因子、アクチン細胞骨格制御因子の機能について解析を実施した。さらに、細胞配置換えで明らかとなった TCJ、アクチン細胞骨格制御因子の機能について、細胞配置換え以外の基幹プロセスについても解析を行い、その基幹プロセス間の関わりについて解析を試みた。

【結果】まず、TCJ 構成因子である M6 と、細胞接着面に局在し Hippo 経路を介して細胞周期を制御する Ajuba が細胞配置換えに伴う細胞接着面の切り替わりを制御することを明らかにした（Ikawa *et al., Curr. Biol.*, 2023）。また、アクチン細胞骨格制御因子である Coronin-1 が細胞配置換えを制御することも明らかにした（Ikawa *et al., Cell Struct. Funct.*, 2023）。現在、別の形態形成の基幹プロセスである細胞数変化のメカニズムについて解析を実施しており、細胞配置換えに重要な役割を果たすことが明らかとなった M6 や Ajuba が細胞数変化にも関わるとの予備データを得ている。

TCJ 構成因子に注目した形態形成基幹プロセスの相互作用メカニズムの解明に向けた研究



189. 形態形成基幹プロセスの相互作用を担う分子基盤の解明

井川　敬介

名古屋大学 大学院理学研究科 生物理学専攻 遺伝学グループ

Key words：形態形成，Tricellular junction，Actin binding proteins

緒　言

上皮組織は一層に並んだ細胞集団によって構成されており、この上皮シートが伸びたり縮んだり折りたたまれたりして変形する形態形成過程が個体発生に必須である。組織形態形成の原理を理解する為には、細胞配置換え、細胞数変化、細胞形態変化の三つの細胞レベルでの仕組みを詳細に理解する必要がある。これまでに、三つの基幹プロセスを制御する各々の分子メカニズムの多くが明らかにされてきた。一方で、近年、これら三つの基幹プロセスが相互に影響し合うことで組織の変形が達成されることが報告されたが［1］、その分子メカニズムの実態は不明である。このメカニズムを明らかにする上で、複数細胞の接着面から構成される頂点様の構造、中でも Tricellular junction（TCJ）の形態形成過程における生理機能が興味深い［2］。その理由として、細胞頂点／TCJ において組織の幾何学・力学情報が読み出され、その情報がアクチン細胞骨格制御と細胞増殖シグナルに関与するメカニズムが提唱されたことが挙げられる［3］。本研究では、形態形成過程での TCJ 構成因子とアクチン制御因子の機能解析を実施し、形態形成基幹プロセス間で共通となる仕組みを明らかにすることで、形態形成の素過程の相互作用について迫ることを目的とした。

まず、細胞配置換えにおける TCJ の機能を解析したところ、TCJ 構成因子である M6 と、アドヘレンスジャンクション（AJ）に局在し Hippo 経路を介して細胞増殖を制御する Ajuba が細胞配置換えにおける細胞接着面の切り替わりに重要であることがわかった［4］。さらに、アクチン制御因子についても解析を実施したところ、アクチン脱重合因子である cofilin 及び AIP1、Coronin-1 が協調的に働くことで細胞配置換えを促進することを明らかにした［5］。Ajuba は細胞増殖シグナル制御に重要な Hippo 経路の因子としても知られているため［6］、形態形成基幹プロセスの細胞数変化にも重要である可能性が高い。現在、Ajuba や M6 による細胞数変化の制御機構について解析しており、Ajuba と M6 が細胞死制御に関わるとの予備データを得た。

方法および結果

1. TCJ 構成因子 M6 と AJ 構成因子 Ajuba による細胞配置換え制御機構の解明

細胞配置換えは、細胞接着面の収縮、切り替わり、新生細胞接着面の伸長という三つのイベントによって達成される。我々はこれまでの研究の過程で、細胞接着面が切り替わるタイミングで AJ からミオシンケーブルが剥がれる構造（rectangle-shaped myosin cables：rsMC）が形成されることを明らかにしていた。また、重要なことに、この rsMC の正しい形成が細胞接着面の切り替わりに必要であることもわかっていた。細胞接着面が切り替わる際には TCJ 構成因子が密に集積することから、本研究では、TCJ 構成因子と AJ 構成因子が協調して rsMC の形成を制御するメカニズムについて解析した。ショウジョウバエ蛹期の上皮組織をモデルシステムとしてライブイメージングによる機能解析を実施したところ、AJ 構成因子である Ajuba の機能欠損によって rsMC の形成が著しく乱れることがわかった（図 1a、b）。また、Ajuba のダイナミクスを解析したところ、rsMC が形成された際に Ajuba の局在が減弱することがわかった（図 1c）。そこで、この Ajuba の制御が TCJ 構成因子によって制御される可能性を考えて解析を実施したところ、TCJ 構成因子である M6 と Ajuba が相互に阻害し合う作用

を持っており、この仕組みによって Ajuba の量が適切に制御されて適切に rsMC が形成され、細胞接着面の切り替わりが正しく駆動されることがわかった（図 1d、e）。また、「濡れの理論」を基にしてミオシンケーブルの張力と細胞接着面の形態に依存してミオシンケーブルの細胞接着面への接着のし易さを考慮した rsMC 形成の力学モデルを構築し解析を実施したところ、細胞接着面の力学・幾何学情報変化が rsMC の形成と細胞接着面の切り替わりを促進していることがわかった。以上から、M6 や Ajuba による分子シグナリングと細胞接着面の形態に依存した力学・幾何学情報が細胞接着面の切り替わりを適切に制御していることが明らかとなった（図 1f）。

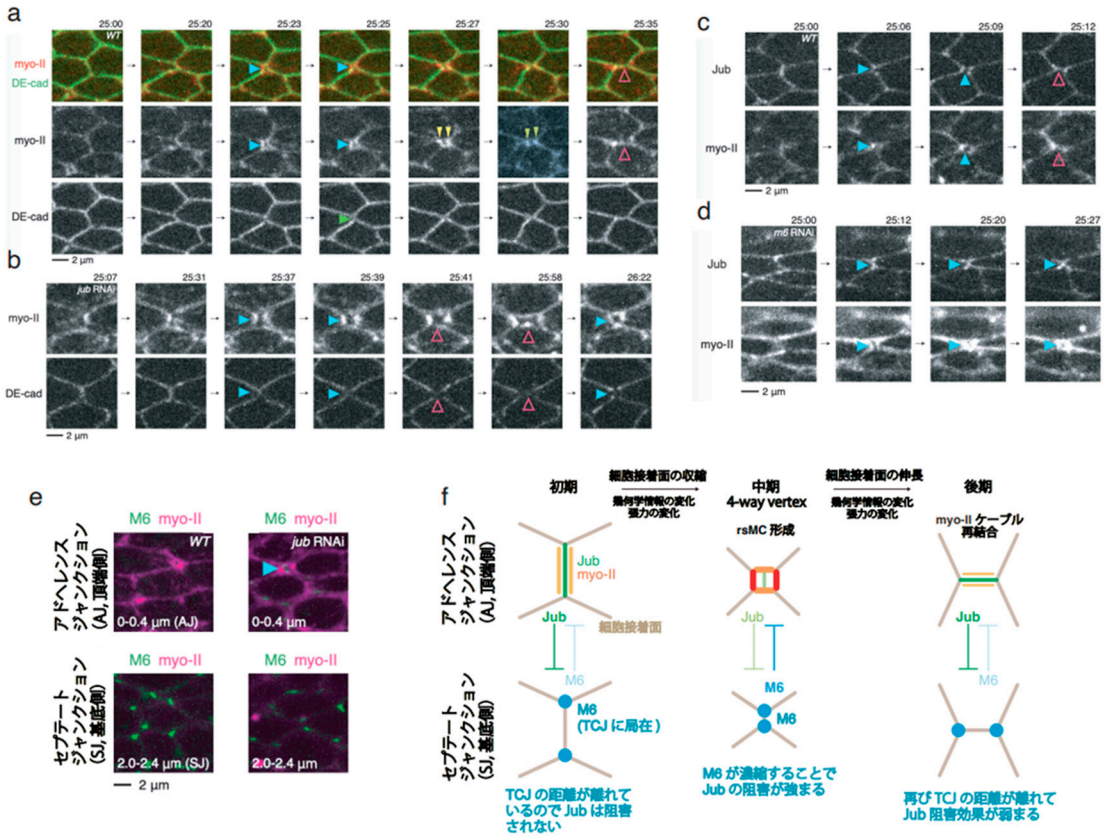


図 1. TCJ 構成因子 M6 と AJ 構成因子 Ajuba による細胞配置換え制御機構

a） 野生型のショウジョウバエ蛹期の翅における細胞配置換えの時系列観察。myosin-Ⅱ（myo-Ⅱ：赤）とアドヘレンスジャンクションの因子である DE-cadherin（DE-cad：緑）の局在を示している。青い鏃で示したのが rsMC の構造である。rsMC の構造は、黄色の鏃で示されたように、細胞接着面の伸長時に二手に別れる。

b） Ajuba の機能欠損条件での細胞配置換えの時系列観察。myo-II の局在を示している。rsMC が長い細胞接着面から形成されてしまう（青い鏃）。また細胞接着面の伸長時に myo-II が乖離したままの状態になり（赤い鏃）、細胞配置換えが正常に終了しない。

c） 野生型での myo-Ⅱと Ajuba（Jub）の局在の時系列観察。rsMC が形成された際に Jub の局在が減弱する（青い鏃）。細胞接着面の切り替わりが終了すると Jub の局在が復帰する（赤い鏃）。

d） TCJ 構成因子である M6 の機能欠損条件での、rsMC における Jub の局在観察。M6 の機能欠損条件下では rsMC において Jub の局在が減弱されない。

e） 野生型及び Jub 機能欠損条件での M6 の局在比較。マゼンタ野生型では M6 は AJ よりも少し基底側のセプテートジャンクションに主に局在する。一方で、Jub の機能を欠損させた場合には、M6 は AJ にも局在できるようになる。

f） 結果から考察される作業仮設。M6とJubによる相互阻害効果によってrsMCの形成と細胞配置換えが制御される。

スケールバー：2μm

2. アクチン細胞骨格制御因子 Coronin-1 による細胞配置換え制御機構の解明

我々は、これまでの研究の過程で、アクチン脱重合因子である AIP1 及び cofilin が細胞配置換えに重要であることを明らかにしていた［7］。そこで、AIP1 と cofilin 以外のアクチン制御因子が細胞配置換えの制御に関わる可能性を検討するために、AIP1 及び cofilin と強調してアクチン細胞骨格を脱重合する Coronin-1 に注目して解析を実施した。まず、EGFP 融合型の Coronin-1 を発現するトランスジェニック系統を作製して細胞内局在について解析したところ、Coronin-1 が rsMC 領域に濃縮することがわかった。また、Coronin-1 の機能欠損表現型についてタイムラプスイメージングによって解析したところ、細胞配置換えの方向性が乱れることがわかった。さらに、AIP1 や cofilin と Coronin-1 の相互作用について調べる目的で、それぞれの機能欠損条件下での分子局在について解析したところ、Coronin-1 の局在が AIP1 及び cofilin によって調節されることがわかった。以上から、AIP1 や cofilin、Coronin-1 の協調したアクチン細胞骨格制御が細胞配置換えの方向制御に重要であることが示唆された。

3. TCJ 構成因子 M6 と AJ 構成因子 Ajuba による上皮組織の細胞数制御メカニズムの解明

Ajuba は細胞増殖シグナル制御に重要な Hippo 経路の因子としても知られているため［6］、M6 と Ajuba のメカニズムが形態形成基幹プロセスの細胞数変化にも重要である可能性が高い。現在、Ajuba の機能欠損が細胞増殖や細胞死に影響を与える可能性について解析中である。

考　察

本研究では、形態形成過程における細胞配置換え、細胞数変化、細胞形態変化の三つの細胞レベルでの基幹プロセスの相互作用について明らかにすることを目的として、三細胞接着構造である TCJ の構成因子とアクチン制御因子に注目してそれぞれの形態形成過程での機能解析を実施することで共通項を見出し、基幹プロセス間の相互作用に迫ることを試みた。まず、形態形成過程への TCJ 構成因子の関与を明らかにする目的で細胞配置換え過程での機能解析を実施したところ、TCJ 構成因子である M6 が AJ 構成因子 Ajuba と強調して細胞配置換えを制御することがわかった［4］。さらに、アクチン制御因子についても解析を実施したところ、アクチン脱重合因子である AIP1 及び cofilin、Coronin-1 が強調してアクチン細胞骨格を制御することで細胞配置換えの方向を制御することがわかった［5］。現在、これらの結果を基に別の形態形成基幹プロセスである細胞数変化において共通したメカニズムが働く可能性について検証中である。

Ajuba は細胞増殖シグナル制御に重要な Hippo 経路の因子としても知られているため［6］、M6 と Ajuba のメカニズムが形態形成基幹プロセスの細胞数変化にも重要である可能性が高く非常に興味深い。実際に、現在 Ajuba や M6 の機能欠損が細胞死・離脱の制御にも関わることを示唆する予備データが得られつつある。また AIP1 や cofilin、Coronin-1 も細胞分裂や、細胞の上皮組織からの離脱に重要な役割を持つことが報告されており［7］、細胞数変化に重要な役割を果たす可能性は高い。今後は、細胞増殖の頻度などにも注目して解析を進め、基幹プロセス相互作用を担う分子メカニズムの実体を明らかにしていきたい。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、東京大学大学院理学系研究科の杉村薫准教授、東京大学大学院総合文化研究科の石原秀至准教授、京都大学大学院医学研究科の田守洋一郎准教授、東京理科大学先進工学部生命システム工学科の近藤周准教授、名古屋大学大学院理学研究科の大澤志津江教授及び廣颯太君である。

文　献

1) Guirao B, Rigaud SU, Bosveld F, Bailles A, López-Gay J, Ishihara S, Sugimura K, Graner F, Bellaïche Y. Unified quantitative characterization of epithelial tissue development. eLife. 2015 Dec 12:4: e08519. PMID: 26653285 DOI: 10.7554/eLife.08519

2) Furuse M, Izumi Y, Oda Y, Higashi T, Iwamoto N. Molecular organization of tricellular tight junctions. Tissue Barriers. 2014 May 1:2:e28960. PMID: 25097825 DOI: 10.4161/tisb.28960

3) Bosveld F, Bellaïche Y. Tricellular junctions. Curr. Biol., 2020 Mar 23;30(6):R249-R251. PMID: 32208143 DOI: 10.1016/j.cub.2020.01.029

4) Ikawa K, Ishihara S, Tamori Y, Sugimura K. Attachment and detachment of cortical myosin regulates cell junction exchange during cell rearrangement in the Drosophila wing epithelium. Curr. Biol., 2023 Jan 23;33(2):263-275.e4. PMID: 36543168 DOI: 10.1016/j.cub.2022.11.067

5) Ikawa K, Hiro S, Kondo S, Ohsawa S, Sugimura K. Coronin-1 promotes directional cell rearrangement in Drosophila wing epithelium. Cell Struct. Funct. , 2023 Dec 20;48(2):251-257. PMID: 38030242 DOI: 10.1247/csf.23049

6) López-Gay JM, Nunley H, Spencer M, di Pietro F, Guirao B, Bosveld F, Markova O, Gaugue I, Pelletier S, Lubensky DK, Bellaïche Y. Apical stress fibers enable a scaling between cell mechanical response and area in epithelial tissue. Science, 2020 Oct 16;370(6514):eabb2169. PMID: 33060329 DOI: 10.1126/science.abb2169

7) Ikawa K, Sugimura K. AIP1 and cofilin ensure a resistance to tissue tension and promote directional cell rearrangement. Nat Commun, 2018 Sep 10;9(1):3295. PMID: 30202062 DOI: 10.1038/s41467-018-05605-7