

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：63801

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22127005

研究課題名（和文）体の前後軸極性が個々の細胞の極性を同調させるロジックの解明

研究課題名（英文）Logic that coordinates cell polarity along the body axis

研究代表者

澤 斉 (Hitoshi, Sawa)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・教授

研究者番号：80222024

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 113,900,000 円

研究成果の概要（和文）：非対称分裂は細胞の多様性を作る基本的原理である。線虫ではWntシグナルが非対称分裂を制御しており、分裂後、カテニンが片側の娘細胞核に非対称に局在する。この局在が表層のAPC蛋白の働きで非対称に形成された紡錘体によって制御されていることを発見した。細胞質の微小管を調節して核局在を制御するロジックが存在している。

線虫の発生ではほとんどの細胞の分裂の際、同様の局在が見られ、細胞が同じ方向に極性化している。表皮幹細胞の同調した極性には4種類のWntが冗長的に働いている。Wntがないと極性方向が異常になるが、Wntを異所発現しても機能できる。極性同調機構は未知のロジックによって制御されている。

研究成果の概要（英文）：Asymmetric cell division is a fundamental mechanism to produce cellular diversity. In *C. elegans*, asymmetric divisions are regulated by Wnt signaling, resulting in asymmetric nuclear localization of β -catenin after the divisions. We showed that this localization is regulated by spindle that is formed asymmetrically through cortical APC protein. The results show the presence of new logic that regulates protein nuclear localization by modulating microtubules in cytoplasm. During development of *C. elegans*, most cells are polarized in the same orientation with asymmetric β -catenin localization after their divisions. We showed that, in epithelial stem cells, four Wnt genes redundantly controls such coordinated polarity. Polarity orientations are abnormal in the absence of Wnts. But Wnts can properly function even when they are ectopically expressed. Therefore, coordinated cell polarity is controlled through unknown logic.

研究分野：発生生物

キーワード：細胞極性 非対称分裂 Wnt PCP カテニン APC

1. 研究開始当初の背景

(1) 非対称分裂は生物の発生の際、細胞の多様性を作る基本的原理である。マウス ES 細胞に Wnt を含むビーズを接触させると、ES 細胞は カテニンの非対称核局在を伴って、非対称に分裂することが報告されている。線虫では Wnt シグナルが数多くの非対称分裂を制御しており、カテニンや APC 等の非対称な局在によって制御されている (図 1)。分裂後に カテニンは片側 (後ろ側) の娘細胞核に非対称に局在する。我々はこの局在が、前方の細胞表層に局在した カテニン自身と APC 蛋白によって制御されていることを報告していた。

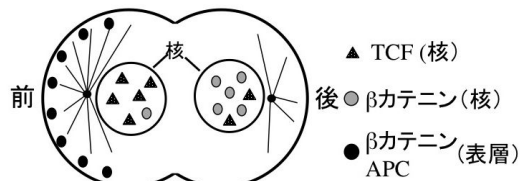


図1 線虫の分裂終期での非対称局在図

(2) 多細胞生物の発生の際、多くの細胞は極性を持つことで、その特異的なふるまい (移動、非対称分裂、機能など) を獲得する。また組織内の細胞の極性方向が協調することが組織の構築、機能に重要である。しかし極性方向を制御する機構は不明である。線虫においては非対称分裂するほぼ全ての細胞は同じ前後方向の極性を持ち、分裂後 カテニンは後ろの核に蓄積する。いくつかの細胞についてはこの極性が Wnt によって制御されていることが知られており、我々は、Wnt が隣の細胞で発現している細胞においては、Wnt の発現場所が、極性の方向を決めることを初めて報告していた。しかし、Wnt の発現場所から遠い細胞も、同様に Wnt が極性方向を決めるのか不明であった。

2. 研究の目的

(1) 非対称分裂の際、細胞表層の APC が カテニンの非対称核局在を制御するロジックを明らかにする。APC が微小管を介して働く仮説を検証する。

(2) 表皮幹細胞の同調した極性方向を制御するロジックを解明する。

3. 研究の方法

(1) カテニンの核局在が微小管によって制御されている可能性を、微小管阻害実験、微小管の観察などによって検討した。

(2) 極性の同調機構を解明するため、線虫の側面に並んでいる六個の表皮幹細胞に着目し、Wnt とその受容体の変異を組み合わせその極性を観察した。また、Wnt が極性の位置情報として働くかどうか、異所発現実験を行った。

4. 研究成果

(1) 微小管の阻害実験を行ったところ、カテニンおよび カテニンによって制御される TCF 転写因子の非対称核局在が阻害され、微小管がこれらの核局在を制御しているこ

とが明らかになった。次に、微小管動態を観察したところ、表層 APC が存在する細胞前方で星状微小管が多いことを発見した。この微小管非対称性は カテニン、APC および Wnt 変異体で阻害されるため、これらの因子の働きで微小管の非対称性が形成されることが明らかになった。次にこの微小管非対称性の役割を明らかにするため、レーザー照射による微小管破壊実験を行った。微小管の少ない細胞後方の微小管を破壊すると カテニン核局在の非対称性は増強され、反対に微小管の多い前方で破壊すると非対称性は消失した。さらに微小管が対称になる Wnt 変異体で、後方の微小管を破壊すると TCF の非対称核局在が復活した。以上の結果、カテニンや TCF の非対称核局在は微小管の非対称性によって制御されていることが明らかになった。この発見は、蛋白質の核局在を細胞質の微小管を変化させることで調節する初めての報告である。

(2) 表皮幹細胞の極性は、線虫に五種類存在する Wnt のそれぞれの変異体では大きな異常が見られなかった。しかし、これを組み合わせ、五重 Wnt 変異体を作製したところ、全ての表皮幹細胞の極性に異常が観察された。極性は正常であったり、逆転している場合が多く観察され、極性が消失する (対称に分裂する) ことは比較的少なかった。これに対し、Wnt の受容体 (LIN-17/Frizzled、MOM-5/Frizzled および CAM-1/Ror) の変異を組み合わせた三重変異体においては表皮幹細胞の極性が消失した。以上の結果、受容体は Wnt がなくても細胞を極性化すること、Wnt は極性化そのものでなく、極性の方向を制御していることが明らかになった。



図2 Wntによる表皮幹細胞の極性同調

(3) 五種類の Wnt のうち、主に体の前方で発現している Wnt (CWN-2) と後方で発現している Wnt (EGL-20 と CWN-1) が重要で、冗長的に極性を制御していることがわかった。Wnt の濃度勾配の方向によって極性方向が決まるモデルを検証するために前後の Wnt の発現位置を入れ替える実験を行ったが、この場合も Wnt は極性を正しく制御することがわかった。極性同調にはまだ未知のロジックによって制御されていることが明らかになった。

(4) 他の生物においては Wnt シグナル伝達の一つである PCP 経路が極性同調に関与している。そこで、PCP 経路の遺伝子の変異体で表皮幹細胞の極性を観察した。その結果、vang-1/VANGL 遺伝子の変異体で特定の表皮幹細胞 (Vn.pa, n は 1-6) で極性が逆転することがわかり、カテニンだけでなく PCP 因子が極性同調に関与することが明らかになった。さらにカノニカル Wnt シグナルの因子 Axin の変異体でも同じ Vn.pa 細胞の極性逆転

が観察された。この細胞の極性は三種類の Wnt 経路（非対称経路、PCP 経路、カノニカル経路）によって制御されていることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 11 件)(査読有)

Power law relationship between cell cycle duration and cell volume in the early embryonic development of

Caenorhabditis elegans. Arata, Y., Takagi, H., Sako, Y., and Sawa, H.

Front. Physiol. 5, 529 (2014)

DOI : 10.3389 / fphys.2014.00529

HTZ-1/H2A.z and MYS-1/MYST HAT act redundantly to maintain cell fates in somatic gonadal cells through repression of *ceh-22* in *Caenorhabditis elegans*.

Shibata, Y., Sawa, H. and Nishiwaki, K.

Development 141, 209-218 (2013)

DOI : 10.1242 / dev.090746

The SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex Selectively Affects Multiple Aspects of Serotonergic Neuron

Differentiation. Weinberg, P., Flames, N., Sawa, H., Garriga, G. & Hobert, O.

Genetics 194, 189–198 (2013)

DOI : 10.1534 / genetics.112.148742

Wnt signaling in *C. elegans*. Sawa H. & Korswagen H. C. *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook,

DOI:10.1895/wormbook.1.7.2,(2013)

Multiple functions of PBRM-1/ Polybromo- and LET-526/Osa-containing chromatin remodeling complexes in *C. elegans* development. Shibata Y., Uchida M., Takeshita H., Nishiwaki, K. & Sawa

H. *Dev. Biol.* 361, 349-357 (2012)

DOI : 10.1016 / j.ydbio.2011.10.035

Control of Cell Polarity and Asymmetric Division in *C. elegans*. Sawa H.

Current Topic in Developmental

Biology 101, 55-76 (2012)

Formation and functions of asymmetric microtubule organization in polarized cells.

Sugioka K. & Sawa H. *Current Opinion in*

Cell Biology 24, 517-525 (2012)

Multiple Wnts redundantly control polarity orientation in *Caenorhabditis*

elegans epithelial stem cells. Yamamoto Y., Takeshita H. & Sawa H.

PLoS Genetics 7, e1002308 (2011)

DOI : 10.1371 / journal.pgen.1002308

Wnt regulates spindle asymmetry to generate asymmetric nuclear β -catenin in *C. elegans*. Sugioka K., Mizumoto K. & Sawa H. *Cell* 146, 942-954 (2011)

DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.043

Distinct and mutually inhibitory binding by two diverged β -catenins coordinates TCF levels and activity in *C. elegans*. Yang

X., Huang S., Lo M., Mizumoto K., Sawa H.,

Xu W., Robertson S. & Lin R.

Development 138, 4255-4265 (2011)

DOI: 10.1242/dev.069054.

Extracellular control of PAR protein localization during asymmetric cell division in the *C. elegans* embryo. Arata Y., Lee J.Y.,

Goldstein B. and Sawa H. *Development* 137, 3337-3345 (2010)

DOI : 10.1242 / dev.054742

〔学会発表〕(計 5件)

澤 斉

Regulation of asymmetric cell division by Wnt signaling in *C. elegans*
日本分子生物学会 パシフィコ横浜 2014年11月

Hitoshi Sawa:

Regulation of asymmetric cell division by Wnt signaling
October, 2014 Broome, Australia

Hitoshi Sawa:

Distinct interactions between Wnt signaling and PAR proteins in two different asymmetric cell divisions in *C. elegans*
Swiss Japanese Developmental Biology Meeting 京都ガーデンパレス 2012年11月

Hitoshi Sawa:

Regulation of asymmetric cell division by Wnt signaling
Asia Pacific Developmental Biology Conference, 台北、台湾 2012年10月

Hitoshi Sawa:

A network of multiple Wnts and their receptors synchronizes polarities of epithelial stem cells in *C. elegans*
Wnt2010 カロリンスカ研究所、スエーデン 2010年10月

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nig.ac.jp/labs/MultiOrg/Multicellular/Home.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤 斉 (SAWA, Hitoshi)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・教授

研究者番号：80222024