

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07054

研究課題名(和文) ゲノム編集技術を活用したWnt/PCPシグナル経路の新規制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidating the mechanism of the Wnt/PCP signaling pathway by the genome editing technology

研究代表者

菊池 浩二 (Kikuchi, Koji)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師

研究者番号：70457290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：動物の組織を形成する上で、組織を構成する細胞は、適切な形態を取り秩序を持って配列する必要がある。こうした細胞の振る舞いは、細胞極性により決定される事が知られている。細胞極性の形成が障害されると、組織の異形成を伴い、様々な疾患の発症に繋がります。また、細胞極性の維持は、組織の恒常性の維持に必要であり、破綻すると発がんやがんの悪性化の要因となる。

私共はゲノム編集技術を用いて解析対象のタンパク質を生体内で可視化し、これまでの実験手法では解析が出来なかった、タンパク質が有する細胞内での本来の動きや局在を解析した。その結果として、細胞極性を調節する新しい制御システムの解明に成功した。

研究成果の概要(英文)：Wnt5a signaling through a β -catenin-independent pathway promotes microtubule (MT) remodeling during cell-substrate adhesion, cell migration, and planar cell polarity (PCP) formation, all of which are essential features of tissue morphogenesis. Although Wnt5a signaling and MT remodeling are known to form an interdependent regulatory loop, the underlying mechanism remains unknown. Here we show that Map7/7D1 cooperate with Kif5b to coordinate a feedback loop between Dvl dynamics and MT remodeling in the Wnt5a signaling pathway, and that the role of Map7/7D1 family proteins in Dvl/Dsh localization is evolutionarily conserved.

As a methodological highlight, we adapted a CRISPR-Cas9-mediated genome editing technology to generate knock-in HeLa cells and fly strains. As the overexpression of Map7/7D1 family proteins is reported to induce aberrant MT bundling, this strategy allowed us to reliably analyze behaviors of endogenous Map7/7D1 family proteins in cells and tissues.

研究分野：細胞生物学、分子生物学、生化学

キーワード：Wnt5aシグナル経路 微小管 微小管結合タンパク質 Dishevelled キネシン 細胞接着 細胞運動 平面内細胞極性

1. 研究開始当初の背景

細胞極性の形成・維持機構は、動物発生における組織や器官形成に必須である。また、細胞極性の形成・維持が障害されると、組織・器官の異形成により様々な疾患の発症に繋がる。細胞極性の形成・維持には、細胞骨格(アクチンフィラメント・中間径フィラメント・微小管)による細胞の形態維持、及び、細胞骨格を介した細胞内での物質輸送等の関与が知られている(Woodham, E. F. & Machesky, L. M., *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2014.)。私共は、細胞極性の形成・維持に重要な役割を果たす細胞骨格の中でも特に、微小管に着目し、微小管動態と細胞極性の連関について解析を進めてきた(Kikuchi, K. et al., *EMBO J.*, 2010.; Fumoto, K. #, Kikuchi, K. # et al., *J. Cell Sci.*, 2012.)。

私共はこれまでの研究過程から、微小管動態と Wnt5a シグナル経路との連関に着目した。Wnt5a シグナル経路は、Wnt シグナル経路のひとつである β -Catenin 非依存性経路に分類され、細胞骨格の動態制御を介して、細胞運動時における前後極性、上皮組織を構成する上皮細胞の平面内細胞極性(Planar cell polarity; 以降、PCP)の形成・維持に関与する(Kikuchi, A. et al., *Acta Physiol.*, 2012.)。一方で、Wnt5a シグナル経路・構成因子群の局在が微小管動態により制御される事から(Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.; Fumoto, K. #, Kikuchi, K. # et al., *J. Cell Sci.*, 2012.)、微小管が何らかの形で Wnt5a からのシグナル伝達を介在する可能性が考えられてきた。則ち、上記の知見は、Wnt5a シグナル経路と微小管動態が相互に制御し合う可能性を示唆しているが、その制御メカニズムに関与する分子が未同定であった事から、その詳細は判然としなかった。

私共は、「微小管に結合するタンパク質が Wnt5a シグナル経路-微小管動態の相互依存性の制御メカニズムの鍵になる」という仮説を立てた。そして、ヒト子宮頸がん由来・HeLa 細胞が Wnt5a を発現し、それに応答して細胞接着・運動が制御されるという特性を利用し、私共がプロテオミクス解析によって網羅的に同定した新規微小管結合タンパク質群(Sakamoto, T. et al., *Genes Cells*, 2008.)を対象に、細胞接着・運動能を指標とした siRNA ライブラリーによる表現型スクリーニングによって、Wnt5a シグナル経路に関与する候補分子の探索を行った。

2. 研究の目的

私共は、本研究の開始までに微小管結合タンパク質である Map7 とそのパラログ Map7D1 (以降、纏めて Map7/7D1) が、細胞極性の形成に関与する Wnt5a シグナル経路で機能する可能性を見出した。従って、本研究の目的は「Map7/7D1 が如何にして Wnt5a シグナル経路-微小管動態の相互依存性制御メカニズムに関与するか?」という問いを明らかにする

事である。

3. 研究の方法

本研究の目的を達成するため、以下の研究方法に従って研究を推進した。特に、ゲノム編集技術(CRISPR-Cas9 システム)によってノックイン細胞・ハエを樹立し、これまでの解析手法では明らかに出来なかった、タンパク質が有する細胞内での本来の動きや局在を解析した。

① Map7/7D1 による Wnt5a シグナル-微小管動態の相互依存性制御メカニズムの解明

HeLa 細胞において、Wnt5a シグナル経路は微小管やアクチン骨格のリモデリングを誘導し、細胞接着・運動を制御する。Map7/7D1 が Wnt5a シグナル経路で機能する可能性を検討すべく、まず初めに、Map7/7D1 ノックダウンによる微小管やアクチン骨格のリモデリングへの影響を確認した。また、Map7/7D1 が Wnt5a シグナル経路の構成分子と結合して、Wnt5a シグナル経路-微小管動態をリンクする可能性を考え、Wnt5a シグナル経路の構成分子で微小管動態に関わる分子である Dvl と APC に着目して(Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.; Fumoto, K. #, Kikuchi, K. # et al., *J. Cell Sci.*, 2012.)、Map7/7D1 との関係性を解析した。本項目の細胞生物学的解析は HeLa 細胞を用い、一部を除き、創傷により細胞運動を誘導し、解析を行った。また、生化学的解析によって、分子間の結合様式等を詳細に解析した。

② Map7/7D1 を介した平面内細胞極性の形成メカニズムの解明

Wnt5a シグナル経路は PCP の形成にも関与する。そこで、①の結果に基づき、Map7/7D1 が PCP の形成に関与するか否かを解析する事にした。PCP を形成する培養細胞株は存在しないため、モデル生物の上皮組織を用いて解析する必要がある。ここでは、PCP の研究分野で広く用いられるショウジョウバエ・翅上皮組織をモデルに PCP 形成への寄与を検討し、さらに、マウス・卵管上皮組織を用いた局在解析により、生物種を超えた機能の保存性を確認した。

4. 研究成果

① Map7/7D1 による Wnt5a シグナル-微小管動態の相互依存性制御メカニズムの解明

本研究の開始までに、細胞接着・運動において Map7 と Map7D1 が機能重複する事を見出したため、以降の解析は Map7/7D1 ダブルノックダウン細胞(以降、Map7/7D1 ノックダウン細胞)を用いて行った。

● Map7/7D1 ノックダウンによる微小管やアクチン骨格のリモデリングへの影響

微小管結合タンパク質は微小管に結合する事により微小管を安定化する場合がある。そこで、Map7/7D1 ノックダウンによる微小管の安定性への影響を評価すべく、アセチル化

チューブリン、及び、脱チロシン化チューブリンの量をコントロール細胞と比較したところ、変化が見られなかった。これまでに、Map7の過剰発現により微小管の束化(=過剰な微小管の安定化)が誘導される事が報告されていたが(Masson, D. & Kreis, T. E., *J. Cell Biol.*, 1993.)、内在性のMap7/7D1は微小管を直接的に安定化する分子ではない事が分かった。

次に、Map7/7D1ノックダウンによる微小管の配向性への影響を評価した。コントロール細胞では、創傷により細胞運動を誘導すると、運動方向の先端端に向かって微小管が配向する。一方で、Map7/7D1ノックダウン細胞では配向の異常が認められた。また、EB1-EGFPを用いて、先端端・細胞表層近傍における微小管の伸長速度・方向を解析したところ、Map7/7D1ノックダウン細胞では、微小管の伸長速度は変化しないものの、伸長方向がランダムになる事がわかった。則ち、Map7/7D1ノックダウンによる微小管の配向異常は先端端・細胞表層への微小管のターゲティング異常に起因し、Map7/7D1は微小管のターゲティングに関与する分子である事がわかった。

微小管のターゲティング異常はしばしば、アクチン骨格のリモデリングや接着斑のターンオーバーに影響する。そこで、Map7/7D1ノックダウンによるアクチン骨格のリモデリングと接着斑のターンオーバーへの影響を評価した。Map7/7D1ノックダウン細胞では、微小管のターゲティング異常と相関して、先端端・細胞表層におけるフィロポディア形成の減少と接着斑のターンオーバーの遅延が認められた。さらに、細胞接着時においてもMap7/7D1ノックダウンにより同様の影響(微小管・ターゲティングの異常、アクチン骨格・リモデリングの異常、接着斑・ターンオーバーの遅延)が認められた。以上の結果から、Map7/7D1は、細胞接着・運動時における細胞表層への微小管のターゲティングを制御して、アクチン骨格のリモデリングや接着斑のターンオーバーに関与する事が明らかになった。

● Map7/7D1とWnt5aシグナル経路の構成因子との連関

Map7/7D1ノックダウンによる表現型は、Wnt5aシグナル経路・構成因子群のノックダウンによる表現型と非常に類似していたため、「Map7/7D1がWnt5aシグナル経路-微小管動態の相互依存性の制御メカニズムの鍵になる」と考えた。そこで、Wnt5aシグナル経路・構成因子群の中で、微小管のリモデリングに関与する分子であるDvlに着目し(Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.; Fumoto, K.[#], Kikuchi, K.[#] et al., *J. Cell Sci.*, 2012.)、Map7/7D1とDvlの結合を検証した。免疫沈降実験の結果から、Map7/7D1は内在性レベルでDvlと複合体を形成した。また、欠失変異体を用いた共沈降実験や*in vitro*結合実験の結果から、Map7とDvlは

Map7の159-246アミノ酸の領域とDvlのDEP領域を介して結合する可能性が示唆された。さらに、DvlノックダウンによりMap7/7D1のタンパク質量が減少した事から、DvlはMap7/7D1と結合して、その安定性を保持するのに寄与する事がわかった。

DvlのDEP領域はこれまでの報告から、Wnt3aシグナル経路を含むβ-Catenin依存性経路、及び、Wnt5aシグナル経路を含むβ-Catenin非依存性経路の両者のシグナル伝達に必要である事が明らかになっている(Yu, A. et al., *Dev. Cell*, 2007.; Nishita, M. et al., *Mol. Cell. Biol.*, 2010.; Gammons, M. V. et al., *J. Cell Sci.*, 2016.; Paclikova, P. et al., *Mol. Cell. Biol.*, 2017.)。そこで、Map7/7D1がWnt5aシグナル経路のみではなく、β-Catenin依存性経路のひとつであるWnt3aシグナル経路で機能するか否かを解析した。培地中に精製Wnt3aタンパク質を添加すると、HeLa細胞はWnt3aにตอบสนองしてβ-Cateninが核内に蓄積し、*AXIN2*の転写が上昇する事が知られているが、Map7/7D1ノックダウンによる*AXIN2*の転写上昇への影響は認められなかった。従って、Map7/7D1はDvlのDEP領域を介して結合し、Wnt5aシグナル経路特異的に機能する事が示唆された。

● Map7/7D1によるDvlの局在制御メカニズム

創傷により細胞運動を誘導すると、Dvlは先端端・細胞表層に集積する(Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.; Ishida-Takagishi, M. et al., *Nat. Commun.*, 2012.)。Map7/7D1はDvlと直接的に結合し、Dvlノックダウン細胞と同様に、Map7/7D1ノックダウン細胞は微小管のターゲティング異常を示す事から、Map7/7D1がDvlの局在化に関与する可能性を考えた。そこで、まず初めにMap7/7D1ノックダウンによって、細胞運動時におけるDvlの局在化に影響がみられるか否かをDvl2-EGFPノックインHeLa細胞を用いて解析した(以降のDvlの局在化解析はすべて、Dvl2-EGFPノックインHeLa細胞を用いて行った)。コントロール細胞では、細胞運動を誘導すると、Dvl2-EGFPが先端端・細胞表層に集積したが、Map7/7D1ノックダウン細胞では集積が大きく低下した。また、HeLa細胞では、自身が発現するWnt5aにตอบสนองしてDvlの細胞表層への集積が一部の細胞で観察できるが、培地中に精製Wnt5aタンパク質を添加すると、その集積が大きく促進される。そこで、精製Wnt5aタンパク質の添加後のDvl2-EGFPの細胞表層への集積がMap7/7D1ノックダウンにより影響がみられるか否かを解析したところ、コントロール細胞では74.2%の細胞でDvl2-EGFPの集積が認められたが、Map7/7D1ノックダウン細胞では、22.5%の細胞でのみしか集積が認められなかった。従って、Map7/7D1がDvlの局在化に関与する可能性が示唆された。

Map7/7D1ノックダウンは微小管のターゲ

ティング異常によりアクチン骨格のリモデリングにも影響する。Dvl はこれまでの報告から、アクチン分子に結合し (Capelluto, D. G. et al., *Nature*, 2002.)、アクチン骨格で形成されるラメリポディアに集積する事が報告されている (Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.; Ishida-Takagishi, M. et al., *Nat. Commun.*, 2012.)。従って、Map7/7D1 ノックダウンによる Dvl の局在化の異常は間接的な原因 (=ラメリポディアの形成不全) による可能性が考えられた。そこで、Map7/7D1 による直接的な Dvl の局在化制御の可能性を検証すべく、Map7/7D1 ノックダウン細胞に活性型 Rac1 を発現させて、強制的にラメリポディアを形成させて、そのラメリポディアに Dvl が集積するか否かを解析した。コントロール細胞では、活性型 Rac1 を発現させると、ラメリポディアが形成され、ラメリポディアに向かって、微小管が配向し、Dvl2-EGFP が集積した。一方で、Dvl の集積に必須である Wnt5a をノックダウンすると、活性型 Rac1 の発現により、ラメリポディアの形成と微小管の配向性はコントロール細胞と同様に確認できたが、Dvl2-EGFP の集積は大きく低下していた。Map7/7D1 ノックダウン細胞では、Wnt5a ノックダウンと同様の結果が得られた。則ち、Dvl の局在化に適した細胞骨格の構造 (ラメリポディアの形成と微小管の配向) を誘導しても、Map7/7D1 ノックダウンにより Dvl はラメリポディアに集積しなかったため、Map7/7D1 は直接的に Dvl の局在化を制御する事が示唆された。

これまでの報告から、Dvl は微小管結合タンパク質である APC (Adenomatous polyposis coli) と結合して、微小管のターゲティングに関与する事が報告されている (Matsumoto, S. et al., *EMBO J.*, 2010.)。私共が同定した Map7/7D1 も微小管結合タンパク質であり、かつ、Dvl と結合し、微小管のターゲティングに必要であるので、Map7/7D1 と APC の機能の違いを検討した。APC ノックダウン細胞で活性型 Rac1 を発現させたところ、Map7/7D1 ノックダウン・Wnt5a ノックダウン細胞とは異なり、ラメリポディアの形成は観察されたが、微小管はラメリポディアに向かって配向しなかった。また、Dvl ノックダウン細胞は Map7/7D1 ノックダウン・Wnt5a ノックダウン細胞と同様の結果であった (ラメリポディアの形成と微小管の配向が観察された)。これまでの報告から、APC は Rac1 の下流で機能し、ラメリポディアへの微小管の捕捉に必要であり (Watanabe, T. et al., *Dev. Cell*, 2004.)、Wnt5a と Dvl は Rac1 の上流で機能する事が明らかになっている (Sato, A. et al., *EMBO J.*, 2010.)。従って、活性型 Rac1 を用いた実験結果から、Map7/7D1 は APC とは異なり、Wnt5a や Dvl と同様に Rac1 の上流で機能する分子であり、微小管の Dvl の局在化を制御して、微小管のターゲティングに関与する事が示唆された。

● 蛍光ライブイメージングによる Map7/7D1 の動態解析

私共は、細胞運動を誘導すると、微小管上の Map7/7D1 の局在パターンが変化する (顆粒状になる) 事を免疫染色法により見出した。Map7/7D1 は過剰発現を行うと、微小管の束化 (=過剰な微小管の安定化) を誘導し (Masson, D. & Kreis, T. E., *J. Cell Biol.*, 1993.)、Map7/7D1 本来の細胞内局在が観察できない。そこで、Map7-EGFP ノックイン HeLa 細胞を作製し、蛍光ライブイメージングにより Map7-EGFP の動態を解析した。細胞運動を誘導すると、顆粒状の Map7-EGFP は先端側の細胞表面方向、則ち、微小管プラス端方向に移動する可能性を見出した。顆粒状の Map7-EGFP は微小管プラス端のマーカーである EB1 とは共局在しなかった事から、微小管に沿って微小管プラス端方向に移動している事が示唆された。

次に、Map7-EGFP の動態を光退色後蛍光回復法 (Fluorescence recovery after photobleaching; FRAP) により詳細に解析した。細胞運動前・後で先端側・細胞表面における Map7-EGFP の動態を測定したところ、細胞運動の誘導により、Map7-EGFP の動態が上昇する事がわかった。また、この時に、Map7-EGFP のシグナルは微小管マイナス端方向から回復していく事がわかった。さらに、細胞運動時における Map7-EGFP の動態が Wnt5a シグナルに依存するか否かを解析した。Wnt5a ノックダウン細胞では、コントロール細胞と比較し、先端側・細胞表面における Map7-EGFP の蛍光回復が遅延した。Wnt5a ノックダウン細胞では、Map7/7D1 ノックダウン細胞と同様に、微小管伸長方向がランダムになったものの、微小管の伸長速度は変化しなかったため、Map7-EGFP の蛍光回復の遅延は微小管の伸長速度が低下した事によるものではない事を、Map7-EGFP の微小管プラス端方向への移動は Wnt5a からのシグナルに依存する可能性が示唆された。

● キネシン-1・Kif5b による Dvl の局在化の制御

これまでに、Map7 がキネシン-1 のひとつである Kif5b の微小管上へのローディングに関与する事が報告されている (Metzger, T. et al., *Nature*, 2012.)。Kif5b は微小管マイナス端側で微小管上にローディングされ、微小管に沿って微小管プラス端方向に移動する。細胞運動時に Map7/7D1 は微小管に沿って微小管プラス端方向に移動した事から、Map7/7D1 が Kif5b を微小管上にローディングした後に、Kif5b と共に微小管上を移動する可能性を考えた。そこで、Kif5b ノックダウンによる Map7-EGFP の動態への影響を FRAP により解析した。Kif5b ノックダウン細胞では、Wnt5a ノックダウン細胞と同様に、コントロール細胞と比較して先端側・細胞表面における Map7-EGFP の蛍光回復が遅延した。従って、Map7-EGFP の微小管プラス端方向への

移動は Kif5b によって行われる可能性が示唆された。さらに、Kif5b が Dvl の局在化に関与するか否かを、活性型 Rac1 を用いた実験系により確認した。活性型 Rac1 の発現により、Kif5b ノックダウン細胞では、Map7/7D1 ノックダウン・Wnt5a ノックダウン細胞と同様に、ラメリポディアの形成と微小管の配向が観察されたが、Dvl-EGFP はラメリポディアに集積しなかった。以上の結果から、Kif5b-Map7/7D1 が微小管に沿って微小管プラス端方向に移動し、Dvl を先端端・細胞表層に輸送する可能性が示唆された。

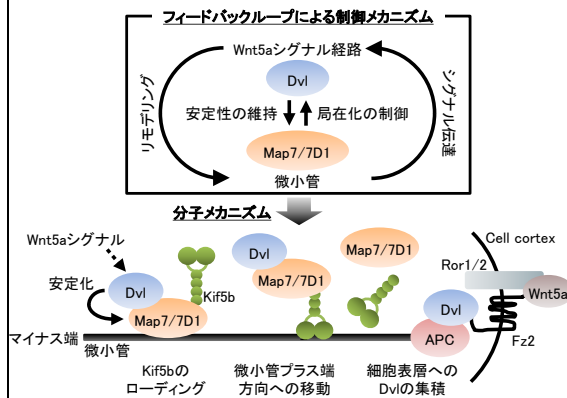
② Map7/7D1 を介した平面内細胞極性の形成メカニズムの解明

①の研究成果に基づき、Map7/7D1 が PCP の形成に関与するか否かを解析すべく、マウス・卵管上皮組織とショウジョウバエ蛹・翅上皮組織を用いた解析を実施した。PCP の形成に関与する分子群の多くは、上皮組織を構成する上皮細胞の近位（卵巣）-遠位（子宮）軸に沿って、偏在化して局在化する事が知られている。そこで、まず初めに、マウス・卵管上皮組織の多繊毛上皮細胞における Map7/7D1 の細胞内局在を免疫染色により解析した。Map7/7D1 は共に、近位（卵巣）側に偏在化して局在した。また、*in vivo* エレクトロポレーションにより Map7-EGFP 及び Map7D1-EGFP を多繊毛上皮細胞で発現させたところ、免疫染色と同様の結果が確認できた。さらに、ショウジョウバエ Map7/7D1 ホモログ *Ensconsin* (*Ens*) の局在化を *Ens::EGFP* ノックインハエを作製し、蛹・翅上皮組織を用いて解析した。*Ens::EGFP* は PCP 形成過程において、近位側に偏在化して局在した。従って、PCP を形成する上皮細胞において Map7/7D1 と *Ens* の局在化パターンが保存されている事が明らかになった。

上記の局在解析の結果を踏まえ、*Ens* の PCP への関与を解析する事にした。その前段として、*Ens* がショウジョウバエ Dvl ホモログ Dsh と複合体を形成するか否かを解析した。共免疫沈降実験により、*Ens* は Dsh と複合体を形成する事が明らかになり、ショウジョウバエと哺乳類において、Map7/7D1/*Ens* と Dvl/Dsh の結合が保存されている可能性が示唆された。次に、CRISPR-Cas9 システムを用いて、*ens* 完全欠失変異体を作製した。*ens* ホモ完全欠失変異体（以降、*ens* 変異体）は成虫になるまでに致死であったが、PCP の形成が観察可能な時期までは発生が進んだため（蛹期後期に致死）、蛹・翅上皮組織を用いて、PCP の形成と Dsh の局在化を解析した。PCP の形成を翅毛の方向性により確認したところ、*ens* 変異体では、翅毛の方向性が大きく乱れたことから、*Ens* が PCP の形成に関与する事が明らかになった。また、Dsh::EGFP を用いて、PCP 形成過程における Dsh の局在化を確認した。PCP 形成過程において、Dsh::EGFP は遠位側の細胞表層に偏在化して局在する

が、*ens* 変異体では、その局在化が乱れ、顆粒状の Dsh::EGFP のシグナルが細胞質内に認められた。従って、*Ens* は PCP 形成過程における Dsh の局在化を制御し、PCP の形成に関与する事が明らかになった。

本研究により、“組織を構成する細胞の形態や配列を調節する新しい制御システム：Wnt5a シグナル経路-微小管動態の相互依存性制御メカニズム”が明らかになった（図）。



また、ショウジョウバエを用いた解析により、PCP 形成過程においても図の分子メカニズムが保存されている可能性が示唆された。さらに、局在化パターンや Dvl/Dsh との結合といった、Map7/7D1/*Ens* の細胞内での振る舞いや性質が保存されていたことから、PCP 形成過程における機能についても生物の種を超えて広く保存されている可能性が示唆された。以上の研究成果を纏めた論文が *EMBO reports* 誌に採択された。

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 2 件）

- ① Kikuchi, K., Nakamura, A., Arata, M., Shi, D., Nakagawa, M., Tanaka, T., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., Uezu, A., Sakamoto, Y., and Nakanishi, H. [†] Map7/7D1 and Dvl form a feedback loop that facilitates microtubule remodeling and Wnt5a signaling. *EMBO Rep. in press*, 2018. (*, 筆頭責任著者; [†], 第二責任著者)
- ② Sakamoto, Y., Kikuchi, K., Umeda, K., and Nakanishi, H. Effects of various spacers between biotin and the phospholipid headgroup on immobilization and sedimentation of biotinylated phospholipid-containing liposomes facilitated by avidin-biotin interactions. *J. Biochem.* 162: 221-226, 2017.

〔学会発表〕（計 9 件）

- ① Kikuchi, K., Nakamura, A., Arata, M.,

- Shi, D., Nakagawa, M., Tanaka, T., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Map7/7D1 and Dvl form a feedback loop that facilitates microtubule remodeling and Wnt5a signaling. KEY FORUM: The 3rd International Symposium on Stem Cell Traits and Developmental Systems., 2018年1月11日-12日、熊本市国際交流会館 (熊本市)
- ② Kikuchi, K., Nakamura, A., Arata, M., Shi, D., Nakagawa, M., Tanaka, T., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Coordination of cytoskeletal remodeling and Dishevelled localization in Wnt/PCP signaling by conserved microtubule-associated proteins. ConBio2017, 2017年12月6日-9日、神戸ポートアイランド (神戸市)
- ③ Kikuchi, K., Kuramoto, T., Uezu, A., Saito, T., Hisanaga, S., and Nakanishi, H. Novel regulation mechanisms of microtubule dynamics during neurite outgrowth. 第69回日本細胞生物学会大会、2017年6月13日-15日、仙台国際センター (仙台市)
- ④ Kikuchi, K., Tanaka, T., Arata, M., Shi, D., Nakamura, A., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Identification of Novel Microtubule-associated Proteins that Contribute to the Regulation of the Wnt/PCP Signaling Pathway. The 1st ABiS Symposium Towards the Future of Advanced Bioimaging for Life Sciences, 2017年2月19日-20日、岡崎コンファレンスセンター (岡崎市)
- ⑤ Kikuchi, K., Tanaka, T., Arata, M., Shi, D., Nakamura, A., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Identification of novel microtubule-associated proteins that contribute to the regulation of the Wnt/PCP signaling pathway. 第39回日本分子生物学会年会、2016年11月30日-12月2日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- ⑥ Kikuchi, K., Tanaka, T., Arata, M., Shi, D., Nakamura, A., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Identification of novel microtubule-associated proteins that contribute to the epithelial morphogenesis through the Wnt/PCP signaling pathway. JDRC12, 2016年9月9日-11日、立教大学 (東京都豊島区)
- ⑦ Kikuchi, K., Tanaka, T., Arata, M., Shi, D., Nakamura, A., Uemura, T., Fujimori, T., Kikuchi, A., and Nakanishi, H. Identification of novel

microtubule-associated proteins that contribute to the epithelial morphogenesis through the Wnt/planar cell polarity signaling pathway. 第68回日本細胞生物学会大会、2016年6月15日-17日、京都テルサ (京都市)

- ⑧ 菊池 浩二、倉本 卓哉、上江洲 章吉、斎藤 太郎、久永 真市、中西 宏之 Identification of novel microtubule-associated proteins that regulate neurite outgrowth. BMB2015, 2015年12月1日-4日、神戸ポートアイランド (神戸市)
- ⑨ Kikuchi, K., Tanaka, T., Nakamura, A., and Nakanishi, H. Identification of novel microtubule-associated proteins that regulate cytoskeletal dynamics through the Wnt/planar cell polarity signaling pathway. 第67回日本細胞生物学会大会、2015年6月30日-7月2日、タワーホール船堀 (東京都江戸川区)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
○取得状況 (計0件)

[その他]

- 研究室ホームページ
<https://sites.google.com/site/lablyakurihp/>
- Researchmap
<http://researchmap.jp/read0147459/>
- Researchgate
https://www.researchgate.net/profile/Koji_Kikuchi/
- ORCID
<http://orcid.org/0000-0002-7616-8200>
- ResearcherID
<http://www.researcherid.com/rid/W-1048-2017>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 浩二 (KIKUCHI, Koji)
熊本大学・大学院生命科学研究部 (医)・講師
研究者番号: 70457290

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

田中 翼 (TANAKA, Tsubasa)
熊本大学・発生医学研究所・助教
研究者番号: 00392027

(4) 研究協力者