

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21065

研究課題名(和文)細胞の不均一性を基盤とした組織形態形成のメカニズム

研究課題名(英文)Regulation of cellular heterogeneity for collective cell movement during tissue morphogenesis

研究代表者

進藤 麻子(Shindo, Asako)

名古屋大学・理学研究科・助教

研究者番号：60512118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では発生生物学分野でモデル動物として使用されるアフリカツメガエル胚を用い、発生中の組織が正しい形態を獲得する過程とその制御分子メカニズムの一端を明らかにした。細長い形をもつ組織は、収斂伸長運動と呼ばれる細胞運動によって形作られるが、その過程で多数の細胞がお互いに協調しながら動くメカニズムには不明な点が多かった。本研究では細胞を動かす細胞内装置である細胞骨格アクトミオシンの動態を10秒おきに撮影し、収斂伸長運動を起こしている細胞同士がアクトミオシンを活性化させるタイミングをずらしていること、さらにその時間的制御を担う分子シグナルを発見した。

研究成果の概要(英文)：Convergent extension is a ubiquitous process of collective cell movement that elongates the tissue axis in developing animals. It is still unknown how the multiple cells are coordinately regulated to achieve the right shape of tissue. In this study, we performed the 4D imaging of actomyosin in *Xenopus laevis* mesoderm, and show that the actomyosin oscillations are asynchronous between neighboring cells during the cells move. We also found that such asynchrony is essential to elongate the tissue properly, and the regulatory molecules, which relate to human congenital disease, control the temporal pattern of the actomyosin oscillation. Our study provides new insight into the function and control of actomyosin in the tissue formation.

研究分野：発生生物学

キーワード：組織形態形成 アクトミオシン アフリカツメガエル

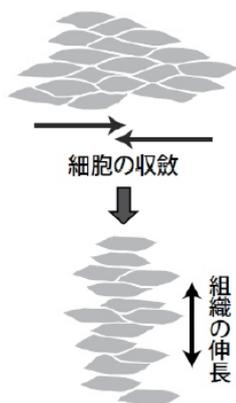
1. 研究開始当初の背景

*In vivo*における組織発生過程では、適切な組織形態を獲得するために細胞が集団となって協調しながら移動と形態変化を示す。この時、各細胞はそれぞれ異なる隣接細胞との位置関係および組織全体における細胞自身の位置を把握しながら細胞骨格系や細胞接着分子を制御する必要がある。つまり、各細胞は互いに異なる動態を示す必要があり、そのような動態の不均一性を制御する分子制御機構には不明な点が多く、組織形態の制御機構を理解する上で重要な課題であった。

2. 研究の目的

本研究では、組織の形態形成を担う細胞集団運動のモデルとして、組織形態を細長く変化させる収斂伸長運動を対象とし(図1)、細胞運動の不均一性を生み出すメカニズムの解明を目的とした。特に、ショウジョウバエ (Rauzi et al., 2008) やアフリカツメガエル (Shindo et al., 2014)、マウス(Williams et al., 2014) などの無脊椎動物から脊椎動物に渡る複数のモデル動物で収斂伸長運動の駆動力として同定された「細胞間接着面を収縮させる細胞骨格アクトミオシン」に着目し、組織全体の形態変化におけるアクトミオシン動態の不均一性の役割と意義の解明を目的とした。

図1. 収斂伸張運動 (Convergent Extension: CE)



3. 研究の方法

典型的な収斂伸長運動が見られるアフリカツメガエル胚の脊索形成をモデルとして使用した。アクチン、ミオシン、および細胞膜を蛍光蛋白質で標識し、細胞間接着面を収縮させるアクトミオシン動態の3Dライブイメージングを行なった。また、予備実験でアクトミオシンとの共局在が示唆された非古典的

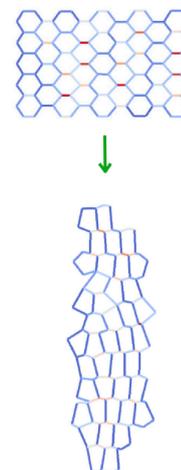
Wnt 経路である平面内細胞極性 (Planar cell polarity: PCP) 経路の機能阻害を行い、アクトミオシン動態への影響を検証した。さらに、コンピュータ・シミュレーションを導入し、細胞間接着面の収縮パターンが組織全体の形態変化に及ぼす影響を検証した。

4. 研究成果

(1) 3Dライブイメージングの結果、各細胞においてアクトミオシンが振動することがわかり、さらにその振動のタイミングが組織内で同期ではないことを見出した。このことは、収縮する細胞間接着面を共有する2つの細胞が同時にアクトミオシンを活性化していないことを示唆している。

(2) 上述のアクトミオシンの非同期型振動の収斂伸長運動における意義を予測、検証するため、コンピュータ・シミュレーションによって非同期型、同期型、非振動型のアクトミオシン振動パターンとそれぞれの組織形態変化を比較検証した(図2)。その結果、(1)で観察された非同期型振動は同期型振動や非振動型よりも持続的に細胞を動かし、効率的な収斂伸長運動が可能となることがわかった。さらに、振動の頻度の違いも細胞移動に影響する要素となることを見出した。

図2. 収斂伸長運動のシミュレーション



(3) シミュレーションの結果から、アクトミオシンの振動およびその頻度を制御する分子メカニズムの存在を予想した。そこで、収斂伸長運動の制御分子として知られていたPCP 経路構成蛋白質の細胞内局在を観察したところ、収縮する細胞間接着面特異的にアクトミオシンとともに局在することがわかつ

た。さらに PCP 蛋白質の機能阻害をおこなったところ、驚くべきことにアクトミオシン収縮の頻度がかく乱されることがわかった。

(4) アクトミオシンの組織内分配に関わると予想された細胞内カルシウム動態の可視化を行ったところ、アクトミオシンの振動との明らかな相関性は見いだされなかった。

(5) まとめ: 本研究により、細胞間に生じるアクトミオシンの振動タイミングの不均一性とその頻度が効率的な組織形態形成に貢献することがわかった。PCP 蛋白質の役割は、細胞の形態や移動方向、細胞骨格の局在など、空間的な制御に関わるものであるというのが通説であった (Butler et al., 2018)。今回、PCP 蛋白質は空間的制御のみならず、アクトミオシンの時間的制御をも制御することがわかったが、このことは人の遺伝的疾患の原因にもなる PCP 蛋白質の機能解明に貢献したといえる。本研究は、たとえ遺伝子発現が均一な細胞集団であっても、アクトミオシンの振動のタイミングを操作する PCP 経路のようなメカニズムが存在することによって、結果として不均一な細胞駆動力の分配パターンを生み出せる可能性を示唆している。アクトミオシンや PCP 蛋白質が特定の細胞間接着面に局在するメカニズムは未だ不明であり、組織形態形成の制御機構解明において、今後の重要な課題となる。

<参考文献>

- Rauzi M, Verant P, Lecuit T, Lenne P-F. Nature and anisotropy of cortical forces orienting *Drosophila* tissue morphogenesis. *Nat Cell Biol* 2008
- Shindo A, Wallingford JB. PCP and septins compartmentalize cortical actomyosin to direct collective cell movement. *Science* 2014
- Williams M, Yen W, Lu X, Sutherland A. Distinct apical and basolateral mechanisms drive planar cell polarity-dependent convergent extension of the mouse neural plate. *Dev Cell* 2014

Butler MT, Wallingford JB. Planar cell polarity in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017.

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 3 件)

1. Asako Shindo^{†*}, Yasuhiro Inoue[†], Makoto Kinoshita, and John B. Wallingford, “Frequency and synchrony of actomyosin oscillation during PCP-dependent convergent extension” *BioRxiv*, [†]equal contribution, doi.org/10.1101/316745 (2018) 査読なし

2. Asako Shindo^{*}, Anastasia Audrey, Maki Takagishi, John Wallingford, and Makoto Kinoshita^{*}, “Coordination of cytoskeletal systems during rapid wound closure in the vertebrate embryonic epidermis” *Journal of Cell Science*, in press (2018) 査読あり

3. Asako Shindo^{*} “Models of convergent extension during morphogenesis” *WIREs Developmental Biology*, (2017) 査読あり

[学会発表] (計 10 件)

1. Asako Shindo “Spatiotemporal control of actomyosin contractility by planar cell polarity pathway during vertebrate convergent extension”, Joint Annual Meeting of Japan Society for Developmental Biology 51th and Japan Society of Cell Biology 70th, Tokyo (2018)

2. Asako Shindo “Collective cell movements drive by actomyosin contractility”, 17th International *Xenopus* conference, Seattle, WA, USA (2018)

3. Asako Shindo “Frequency and asynchrony of actomyosin oscillation promote PCP-dependent convergent extension” 77th Annual meeting of Society of Developmental Biology, Portland, OR, USA (2018)

4. Asako Shindo “Collective cell movements driven by actomyosin contractility in vertebrate embryos” Japan-China Young Women Scientists symposium, Beijing, China (2017)

5. Asako Shindo “Collective cell movements driven by actomyosin contractility in vertebrate embryos” International Symposium on “Harmonized supramolecular motility machinery and its diversity”, Nagoya (2017)

6. Asako Shindo, “Planar cell polarity pathway regulates local driving force to orchestrate

the collective cell movement during morphogenesis.” 39th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Yokohama (2016)

7. Asako Shindo, “Local regulation of actomyosin for the globally orchestrated collective cell movement during tissue morphogenesis.” 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Tsukuba (2016)

8. Asako Shindo, “Spatial regulation of actomyosin by non-canonical Wnt pathway during morphogenesis” 68th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology, Kyoto (2016)

9. Asako Shindo, “Planar cell polarity pathway coordinates local cortical actomyosin during collective cell movement.” 38th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Kobe (2015)

10. Asako Shindo, “Planar cell polarity pathway coordinates cortical actomyosin during collective cell movement” WPI-next International Workshop –High Resolution Cell Biology-, Nagoya (2015)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

進藤 麻子 (SHINDO, Asako)

名古屋大学大学院・理学研究科・助教

研究者番号 : 60512118