

平成22年 3月 31日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19390048
 研究課題名（和文）アクチンと微小管をつなぐ新たな分子の細胞内制御機構及び生体内機能の解明
 研究課題名 Studies on how actins and microtubules are coordinated and its relevancy.

研究代表者
 佐藤 真 (SATO MAKOTO)
 福井大学・医学部・教授
 研究者番号：10222019

研究成果の概要：方向性をもった細胞移動は発生・がん転移や炎症反応など生体現象のさまざまな局面で重要である。この現象では、移動先端にフォスファチジルイノシトール3リン酸（PI(3,4,5)P₃）が集積し、極性をもたらす一つの責任分子として働く。我々はLL5β、フィラミンAさらにはSHIP2が移動先端膜上およびその近傍で、時空間的に活性制御ならびに局在制御を受け、移動に重要な役割を担っていることを見出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	10,700,000	3,210,000	13,910,000
2008年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：神経科学・細胞生物学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：細胞分化・細胞形成・細胞骨格

1. 研究開始当初の背景

(1) 大脳皮質神経細胞の70%～80%を占める興奮性神経細胞は、大脳皮質内脳室帯にて生まれ、法線方向（脳表方向）に移動し、大脳皮質を構成する。この移動開始を含む細胞移動のコントロールは層構造をはじめとする大脳皮質の正しい形成に不可欠である。さらに、この神経細

胞移動の障害による細胞配置の乱れは様々な神経・精神疾患の原因ともなりうる。ことが次第に明らかになりつつあり、逆にこの移動過程の分子機構を明らかにすることで、神経・精神疾患の理解や治療法開発が進みうると考えられ、近年大きな注目を浴びている（Science誌の2005

breakthrough of the year の1つにこの分野が取り上げられた)。我々は、形成期の脳皮質脳室帯に発現する新規分子 FILIP を同定し、FILIP が細胞移動に必須とされるアクチン結合分子フィラミン A の分解を促進することで、従来不明であった脳室帯からの細胞移動開始機構について、その開始を負に制御する新しいコントロールの仕組みを見いだした (Nature Cell Biol, 2002)。さらに、多くの細胞は移動途中の中間帯にて多極性から双極性へとその形態を変えるが、その形態変化にはフィラミン A の量が重要な役割を担うことを報告した (J. Neurosci, 2004)。

2. 研究の目的

以上を踏まえ、本研究ではフィラミンAの機能・活性をコントロールする機構を分子レベル、細胞レベルさらには組織レベルで検討し、その意義を究明するとともに、それら分子群の生体での働きの解明を、神経系などで行う。

3. 研究の方法

(1) フィラミン A による細胞骨格制御 (特に LL5beta に関する解明)

フィラミン A の細胞内局在制御の仕組みを特にその結合分子 LL5 β に対する制御機構の解明を通して行う。

(2) フォスファチジルイノシトール分子の挙動に関する検討

細胞移動制御にとって本質的と考えられるフォスファチジルイノシトール分子の挙動制御について、特にフィラミン A と LL5 β 分子との係わりも含め検討する。

(3) 神経細胞・神経組織における LL5 β の機能解明

神経細胞・神経系における LL5 β の機能の解明を進める。

(4) 細胞移動障害による脳皮質機能異常やその治療に向けた展開

4. 研究成果

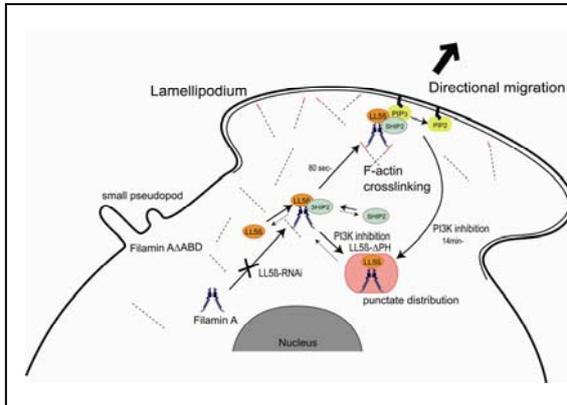
(1) 研究の方法の項目 (1), (2), (3) については以下の成果を得た。

LL5 β は、微小管結合分子 CLASP にも結合することが報告された (Lansbergen et al., *Dev. Cell*, 2006)。我々はこの結果も受け LL5 β に対する検討をさらに進めた。現在までの我々の検討では、微小管への特徴的な局在は観察されなかった。一方、この分子は細胞膜上のフォスファチジルイノシトール 3 リン酸に依りて局在を変えることが判明していたが、同分子の結合相手を検索したところ、この膜のリン脂質のリン酸化状態を変える酵素 SHIP2 が同時に同定された。この事実は、LL5 β が単に膜のリン脂質に依りてその局在を変えるのみならず、リン脂質のダイナミクスにも関与していることを示している(業績①、その成果の模式図を次ページに掲載する)。また、興味深いことに FILIP は LL5 β に結合した (未発表)。すなわち、LL5 β を軸とする結合分子クラスターとしての機能複合体が確認された。同時に、LL5 β の生体内での機能をさらに検討するため、ノックアウトマウスの作製を進めた。すでに作成を終え、幾つかの Cre マウスとの交配準備中である。

(2) 研究の方法 (4) については、以下の成果を得た。

LL5 β については、そのノックアウトマウス作成状況は上に述べた。同時に、典型的な神経細胞移動障害による疾患である滑脳症を対象として、その病態・治療法の検討を大阪市立大学広常研究室と共同で進めた。その結果、タンパク分解酵素であるカルパインに対する抑制 (RNAi によるもしくは阻害剤によ

る)が有用な治療法になりうる可能性を見出した(業績②)。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Takabayashi, T., Xie, M.-J., Takeuchi, S., Kawasaki, M., Yagi, H., Okamoto, M., Tariqur, R.M., Malik, F., Kuroda, K., Kubota, C., Fujieda, S., Nagano, T. and Sato, M. LL5β directs the translocation of Filamin A and SHIP2 to sites of PtdIns(3,4,5)P3 accumulation and PtdIns(3,4,5)P3 localization is mutually modified by co-recruited SHIP2. *J. Biol. Chem.* epub ahead of print, doi:10.1074/jbc.M109.081901. (2010) (査読有).
- ② Yamada, M., Yoshida, Y., Mori, D., Takitoh, T., Kengaku, M., Umeshima, H., Takao, K., Miyakawa, T., Sato, M., Sorimachi, H., Wynshaw-Boris, A. and Hirotsune, S. Inhibition of calpain increases LIS1 expression and partially rescues in vivo phenotypes in a mouse model of lissencephaly. *Nat. Med.* 15(10): 1202-1207. (2009) (査読有).
- ③ Yagi, H., Noguchi, Y., Kitamura, K. and Sato, M. Deficiency of Vlg1 resulted in deafness and susceptibility to audiogenic seizures while the degree of hearing impairment was not correlated with seizure severity in C57BL/6- and 129-backcrossed lines of Vlg1 knockout mice, *Neurosci Lett.* 18; 461(2): 190-195. (2009) (査読有).
- ④ Ikeda, H., Kiritoshi, T., and Murase, K. Effect of excitatory and inhibitory agents and a glial inhibitor on optically recorded primary afferent excitation, *Mol. Pain.* 4: 39.(2008) (査読有).
- ⑤ 佐藤 真 神経細胞の細胞移動と形態変化 —その分子機構と疾患への展望—, *脳と発達.* 40:213-218. (2008) (査読有).

- ⑥ 八木秀司, 佐藤 真. 神経細胞移動の制御とその異常 (Control of neural cell migration during the development of the central nervous system), *Brain Nerve.* 60(4):383-94. (2008) (査読有).
- ⑦ Hisahara, M., Chiba, S., Matsumoto, H., Tanno, M., Yagi, H., Shimohara, S., Sato, M., and Horio, Y. Histone deacetylase SIRT1 modulates neuronal differentiation by its nuclear translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA).* 105(40): 15599-15604. (2008) (査読有).
- ⑧ Ando, K., Yagi, H., Suda, Y., Aizawa, S., Sakashita, M., Nagano, T., Terashima, T. and Sato, M. Establishment of framework of the cortical area is influenced by Otx1. *Neurosci. Res.* 60(4):457-459. (2008) (査読有).
- ⑨ Michalski, N., Michel, V., Bahloul, A., Lefevre, G., Barral, J., Yagi, H., Chardenoux, S., Weil, D., Martin, P., Hardelin, J.P., Sato, M. and Petit, C. Molecular characterization of the ankle-link complex in cochlear hair cells and its role in the hair bundle functioning. *J. Neurosci.* 27(24): 6478-6788. (2007) (査読有).

[学会発表] (計 19 件)

- ① 謝 敏カク, 八木秀司, 佐藤 真: 大脳皮質形成の神経細胞移動においてAbi2はWAVE-Arp2/3を介して重要な役割を担う. シンポジウム「何がどのように細胞移動と軸索ガイダンスを制御するのか」第52回日本神経化学会, 2009年6月23日, 伊香保.
- ② 八木秀司, 謝 敏カク, 佐藤 真: FILIP(Filamin A-Interacting Protein)分子と相互作用する分子の検索. 第114回日本解剖学会・全国学術集会, 2009年3月30日, 岡山.
- ③ 謝 敏カク, 高林哲司, 岡本昌之, 八木秀司, 佐藤 真: 脂質の細胞内時空間調節に関わる分子群による細胞移動制御と大脳皮質構築. シンポジウム「脳の形態形成の制御機構」第114回日本解剖学会・全国学術集会, 2009年3月28日, 岡山.
- ④ 八木秀司, 池田 弘, 山崎信幸, 宮川 剛, 岡部 勝, 謝 敏カク, 佐藤 真: F I L I P欠損による大脳皮質の異常と行動異常の検討. 第51回日本神経化学会大会, 2008年9月13日, 富山.
- ⑤ 謝 敏カク, 八木秀司, 岡本昌之, 佐藤 真: A b i 2 は非筋肉性ミオシンII型の相互作用によってラディアルマイグレーションを制御する. 第51回日本神経化学会大会, 2008年9月12日, 富山.

- ⑥ 佐藤 真：細胞移動による脳構築の仕組みの解明から疾病理解への展開。脳皮質形成のメカニズム—神経化学からの貢献—（オープンシンポジウム）第51回日本神経化学学会大会，2008年9月11日，富山。
- ⑦ 佐藤 真：方向性をもった細胞移動はどのような細胞内制御を受けるか：福井大学での最近のデータ紹介。ORIGIN神経科学研究会夏のワークショップ，2008年9月5日，宮崎。
- ⑧ 八木秀司，池田 弘，山崎伸幸，宮川 剛，岡部 勝，謝 敏カク，佐藤 真：FILIP遺伝子欠損マウスは大脳皮質の異常が示唆される。Neuroscience2008（第31回日本神経科学大会），2008年7月11日，東京。
- ⑨ Sato, M.：Molecular and cellular aspects for the control of neuronal cell migration：An essential phenomenon for the formation and the development of the neocortex. iCAST2008，2008年6月15日，マレーシア。
- ⑩ 佐藤 真：アクチン細胞骨格制御による大脳皮質構築機構の新展開。基生研研究会「大脳皮質の発生と可塑性II」。2008年3月3日，岡崎。
- ⑪ 納城 なつみ，鈴木 麻衣，川崎 磨美，時武 裕子，佐藤 真，松居 靖久，渡邊利雄：アクチン結合タンパク質Filamin Aの誘導的・組織特異的発現マウス作出の試み。BMB2007（第30回分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会），2007年12月12日，横浜。
- ⑫ 久原 真，千葉 進，松本 博之，佐藤 真，下濱 俊，堀尾 嘉幸：ヒストン脱アセチル化酵素SIRT1の分化刺激による一過性の核移行と神経細胞への分化促進。BMB2007（第30回分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会），2007年12月14日，横浜。
- ⑬ Okamoto, M.，Takabayashi, T.，Rahman, MT.，Kawasaki, M.，Takeuchi, S.，Yagi, H.，Kubota, C.，Fujieda, S.，Nagano, T. and Sato, M.：LL5beta, which regulates Filamin A and inhibits FILIP activity, is essential for radial migration. Society for Neuroscience 2007，2007年11月3日，サンディエゴ。
- ⑭ 佐藤 真，高林哲司，岡本昌之，竹内聖二，八木秀司：LL5は葉状仮足の形成を、フィラミンを介しフォスファチジルイノシトール依存的に促進する。日本解剖学会第67回中部支部学術集会，2007年10月13日，愛知県長久手町。
- ⑮ 久保田 力，竹内聖二，馬場久敏，佐藤 真：脊髄発生における細胞移動・形態の調節機構—FILIPおよびFilamin分子の関

与について—。第22回日本整形外科学会基礎学術集会，2007年10月，浜松。

- ⑯ 久原 真，千葉 進，松本博之，佐藤 真，下濱 俊，堀尾嘉幸：ヒストン脱アセチル化酵素SIRT1の核内移行と神経分化。Neuro2007（第30回日本神経科学大会・第45回日本神経化学学会大会合同大会），2007年9月10日，横浜。
- ⑰ 竹内聖二，謝 敏カク，八木秀司，佐藤 真：子宮内エレクトロポレーション法を用いたXPAの機能解析。Neuro2007（第30回日本神経科学大会・第45回日本神経化学学会大会合同大会），2007年9月10日，横浜。
- ⑱ 佐藤 真：LL5βによる細胞移動と大脳皮質形成におけるradial migrationの制御について。シンポジウム「細胞内外シグナルの連携による神経細胞移動の制御」Neuro2007（第30回日本神経科学大会・第45回日本神経化学学会大会合同大会），2007年9月12日，横浜。
- ⑲ 佐藤 真：神経細胞の細胞移動と形態変化：その分子機構と疾患への展望。シンポジウム2「脳形成の分子機構」，第49回日本小児神経学会，2007年7月6日，大阪。

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 真 (SATO MAKOTO)
福井大学・医学部・教授
研究者番号：10222019

(2) 研究分担者

池田 弘 (IKEDA HIROSHI)
福井大学・工学研究科・准教授
研究者番号：80377473
八木 秀司 (YAGI HIDESHI)
福井大学・医学部・准教授
研究者番号：10303372
謝 敏カク (XIE MIN-JUE)
福井大学・医学部・助教
研究者番号：40444210
竹内 聖二 (TAKEUCHI SEIJI)
福井大学・医学部・講師
研究者番号：10304065
(H19年度のみ研究分担者)