

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06640

研究課題名（和文）集団細胞運動における細胞接着の可塑性の制御と役割

研究課題名（英文）The role of cell adhesion plasticity in collective cell behavior

研究代表者

松沢 健司（Matsuzawa, Kenji）

九州大学・理学研究院・講師

研究者番号：30778668

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：上皮組織は、組織を構成する細胞の伸縮を制御することで、発生やその恒常性維持における完全性を保ち、生体内部を外部環境から密閉することができる。また、創傷治癒における集団細胞運動のように、組織を構成する上皮細胞の固有の収縮力を動的に調節することで、組織の完全性を環境応答的に維持する。本研究プロジェクトでは、上皮細胞接着複合体の可塑性を通して個々の細胞が収縮力を調節する仕組みに着目し、上皮細胞シートの恒常性維持に寄与するメカニズムを解明している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上皮細胞間の張力の均衡は、上皮細胞シートの恒常性に必須である。このような細胞同士の間を生じる機械的な張力を介した情報伝達は、上皮細胞の増殖や運動を制御する重要な役割を担うことが近年明らかになっており、今回の成果は、上皮細胞の異常によって生じる癌の病態解明にもつながることが期待される。また、上皮細胞シートの恒常性の破綻は、アトピー性皮膚炎や炎症性腸疾患などの慢性炎症を引き起こすことが明らかになっており、今回の発見は慢性炎症疾患に対する新たな予防法や治療法を開発する上で基礎となる知見である。

研究成果の概要（英文）：Epithelial tissues expand and contract during development and in homeostasis, enabling them to take on complex topologies to seal the interior of the organism from the external environment. Tissue integrity is maintained by dynamically modulating the inherent contractility of each epithelial cell that comprises the tissue, such as during collective cell migration in wound healing. In this research project, I have addressed the mechanisms contributing to epithelial cell sheet homeostasis by focusing on how individual cells regulate their contractility through plasticity of the epithelial cell adhesion complexes.

研究分野：細胞生物学

キーワード：上皮細胞接着

1. 研究開始当初の背景

上皮細胞のシートは、私たち多細胞生物の表面を覆い、外界と体内を分け隔てる障壁として機能する。このように上皮組織の恒常性に直結する上皮細胞シートの完全性は、様々な生命現象が協調的に進行することにより支えられている。例えば、上皮細胞シートに損傷が生じると、近傍の細胞は速やかに損傷をふさぐべく、集団で運動を開始する。上皮細胞シートや血管内皮など細胞が互いに接着して細胞集団を形成する組織では、細胞間で絶えず張力が発揮されており、組織内の個々の細胞には組織全体にかかる力に適切に応答する能力が求められる。すなわち、集団細胞運動では、個々の細胞が自由に運動する場合と異なり、細胞集団が効率良く運動するために、それぞれの細胞が運動の方向性やスピードを協調させる必要がある。申請者は、このような細胞集団の効率の良い細胞運動を可能にする「細胞間の張力を介したコミュニケーションの分子機構」に興味を持ち、これまでに細胞間接着装置の構成タンパク質に基づく、張力依存的な集団細胞運動のメカニズムを明らかにしてきた。

例えば、 α -catenin は、細胞間にかかる張力の強弱に応じて、閉じた不活性型構造と開いた活性型構造との間を可逆的に転換し、細胞間の張力変化を感知する。これまでの研究で、私はこのような α -catenin の張力依存的な構造変化に重要なアミノ酸の変異を入れて恒常的に活性化型構造をとる α -catenin 変異体を発現させた上皮細胞では、集団を形成する個々の細胞の運動方向の乱雑さが増し、集団としての協調性が失われて運動性が低下することを見出した (Matsuzawa et al. Cell Rep 2018)。また、 α -catenin の構造変化によって、細胞内の RhoA の活性化の細胞内分布に偏りが生じることを見出し、張力を介したシグナルが生化学的なシグナルに変換されることを明らかにした。さらに、張力によって構造変化した活性化型の α -catenin に、アクチン重合促進因子の Formin やシグナル伝達に関するドメインを有する afadin が結合することを明らかにしている (Matsuzawa et al. Cell Rep. 2018)。

2. 研究の目的

上述の通り、 α -catenin の構造変化を基点として、シグナル伝達経路を含めた、上皮細胞接着の構成要素に質的な変化が生じている。しかしながら、調和のとれた細胞集団の振る舞いを理解するには不十分である。本研究では、細胞間に働く力がもたらす細胞接着の可塑的变化を基軸に、「集団を構成する細胞がどのような分子機構で協調性を獲得しているか」という問題の解明を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、CRISPR-Cas9 法による細胞接着関連分子の各種ノックアウト上皮細胞株を樹立し、上皮細胞シートの細胞間における力の均衡を評価指標としたスクリーニングを行った。

4. 研究成果

1) MAGI-RASSF-ASPP 複合体による過剰な収縮力の抑制

細胞接着における張力は、隣り合う細胞がそれぞれ収縮し、細胞接着装置を通して引っ張りあうことにより生まれる。また、個々の細胞の収縮力は、RhoA のエフェクター分子である ROCK による非筋肉型ミオシン II の活性化に由来する。正常な上皮細胞シートでは、シートを構成する細胞が皆、同程度の収縮力を発揮することで張力の均衡を保っている。一方で、ROCK が細胞接着に異常に集積すると、張力の恒常性が破綻し、その状態が続いてしまうと上皮細胞シートの障壁機能にも障害が生じる。このように、ROCK は上皮細胞接着における張力の律速因子である。

細胞接着における ROCK の抑制機構として Par-3-aPKC 経路が知られている。Par-3 は aPKC を接着領域にリクルートし、aPKC は ROCK をリン酸化することで、接着領域から排除する。したがって、上皮細胞シートの細胞間張力を適切に保つには、何らかの細胞接着関連タンパク質によって Par-3 と aPKC の量を制御することが必要であると考えられる。しかし、そのような分子機構は不明であった。

本研究では、MAGI、RASSF、ASPP ら 3 種類の遺伝子からなるタンパク質複合体が、細胞接着領域における Par-3-aPKC の量を規定することを明らかにした。正常な上皮細胞シートでは、細胞間張力の均衡により細胞サイズがほぼ同じなのに対して、MAGI や ASPP をノックアウトするとこの均衡が失われて、隣接した細胞を強く引っ張る小さな細胞と引っ張られて大きくなった細胞が出現する (図 1)。MAGI は、

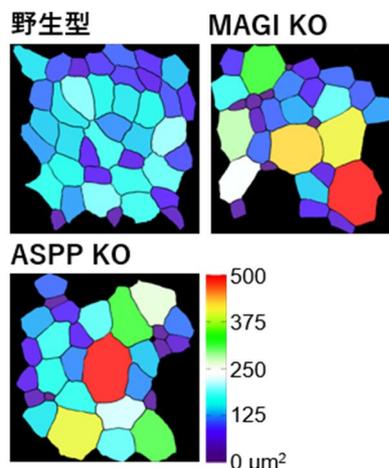


図 1 細胞の大きさをサイズに応じて色分けしている

上皮細胞接着の裏打ちタンパク質である ZO タンパク質と結合し、RASSF タンパク質を介して ASPP を細胞接着領域につなぎとめる役割を果たしている。さらに、ASPP は Par-3 結合因子として知られており、Par-3-aPKC を細胞接着領域にリクルートすると考えられる(Cong et al. Curr. Biol. 2010)。実際、MAGI や ASPP のノックアウト細胞では、ROCK の局在が細胞接着領域に濃縮しており、Par-3-aPKC による ROCK の抑制機構がこれらの細胞では破綻している(図 2)。これらのことから、MAGI、RASSF、ASPP の 3 者複合体は、隣接した上皮細胞間において、それぞれの細胞の収縮力を制御するミオシンの活性が等しくなるように調整する役割を担っていることがわかる。

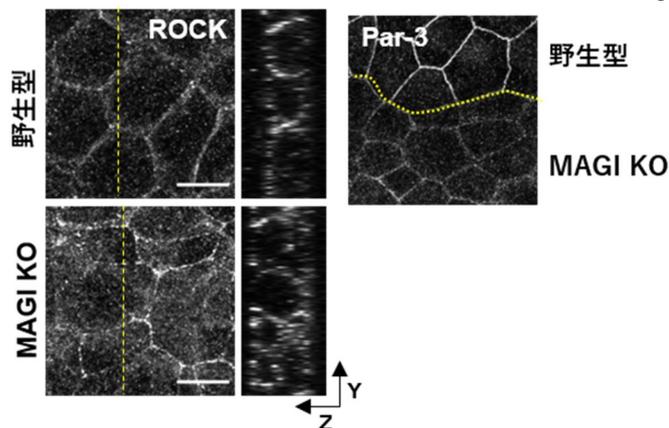


図 2 MAGIのノックアウト細胞では、細胞接着におけるPar-3の集積が減少し、ROCKの集積が上昇する

2) 上皮細胞シートの完全性を可能にする三細胞間接着の形成メカニズム

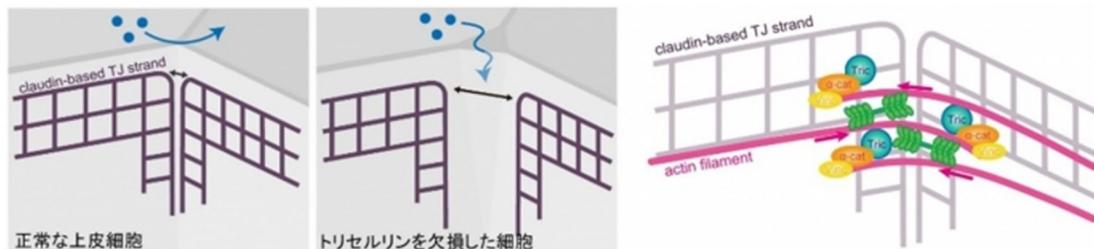


図 3 トリセルリンは、三細胞領域に形成される交叉するアクチン線維と相互作用することによって、三細胞間の隙間を小さく保つ

上述の研究は、二細胞間の接着に限定したものである。一方で、上皮細胞シートには、3つの細胞が接する点が多数存在し、3つの細胞は同時には接着できないため、必ず小さな隙間が生じる。このような3つの細胞の隙間を形成するために必要なタンパク質としてトリセルリンという分子が知られているが、その詳細な機能は不明である。本研究では、トリセルリンが、 α -catenin と結合することで、細胞のアクチン細胞骨格と結合し、その収縮力を利用して、隙間を小さく保つ役割を担っていることを明らかにした(図 3 ; Cho, Matsuzawa and Ikenouchi. J. Cell Biol. 2022)。具体的には、3つの細胞が接着する領域において2つの細胞間の接着面に由来するアクチン線維同士が交叉するように走行していることを見出した。この交叉する領域に集積したミオシンがアクチン線維同士を滑りこませることで、靴紐を締めるように、3つの細胞が接着する領域にアクチン線維を引っ張る。トリセルリンが、 α -catenin を介してこのアクトミオシン骨格と相互作用することによって、トリセルリンと共に接着構造を形成する細胞接着構造が3つの細胞接着領域に引き寄せられるため、3つの細胞間に生じる隙間が小さく保たれていることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuzawa Kenji, Ohga Hayato, Shigetomi Kenta, Shiiya Tomohiro, Hirashima Masanori, Ikenouchi Junichi	4. 巻 4
2. 論文標題 MAGIs regulate aPKC to enable balanced distribution of intercellular tension for epithelial sheet homeostasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-01874-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aoki Kana, Harada Shota, Kawaji Keita, Matsuzawa Kenji, Uchida Seiichi, Ikenouchi Junichi	4. 巻 12
2. 論文標題 STIM-Orai1 signaling regulates fluidity of cytoplasm during membrane blebbing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-20826-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Cho Yuma, Haraguchi Daichi, Shigetomi Kenta, Matsuzawa Kenji, Uchida Seiichi, Ikenouchi Junichi	4. 巻 221
2. 論文標題 Tricellulin secures the epithelial barrier at tricellular junctions by interacting with actomyosin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.202009037	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ono Yumiko, Matsuzawa Kenji, Ikenouchi Junichi	4. 巻 221
2. 論文標題 mTORC2 suppresses cell death induced by hypo-osmotic stress by promoting sphingomyelin transport	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.202106160	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松沢健司、大賀隼人、池ノ内順一
2. 発表標題 上皮細胞極性の形成における接着タンパク質ZOとafadinの相乗的作用の解析
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Matsuzawa
2. 発表標題 Epithelial adhesions modulate junctional contractility to control cell shape change
3. 学会等名 The 51st NIPS International Symposium -Frontiers in Epithelial Cell Biology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松沢健司、池ノ内順一
2. 発表標題 MAGI-ASPPを介した細胞の収縮力調節による上皮細胞シートの恒常性維持機構
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------