

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2008～2012

課題番号：20227006

研究課題名(和文)

遊走細胞と神経細胞の極性形成を制御する分子ネットワーク

研究課題名(英文)

Molecular mechanisms underlying cell polarization in migrating cells and neurons

研究代表者

貝淵 弘三 (Kaibuchi Kozo)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00169377

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：シグナル伝達、遊走、細胞骨格、極性、プロテオーム、微小管、脳・神経、小胞輸送

1. 研究計画の概要

生体を構成する種々の細胞は特徴的な極性を獲得し固有の生理機能を担っている。遊走する細胞、神経細胞や上皮細胞がその顕著な例である。細胞極性の獲得と維持は生体機能に必須であるものの、その分子基盤には不明の点も多い。本研究では、(1)遊走細胞と(2)神経細胞をモデルシステムとし、細胞極性の獲得・維持機構を制御するシグナル伝達機構の解明を行う。また、細胞極性の形成に関与する細胞骨格と選択的蛋白質・小胞輸送の制御機構の解明を目指す。さらには、(3)両システムに関連したプロテオミクス解析やシミュレーションモデルの作成により包括的な理解を目指す。

2. 研究の進捗状況

(1) 遊走細胞における極性形成

遊走細胞の前後軸形成や維持に関わる +Tips について、CLASP2 が GSK3 β によって、また CLIP-170 が AMPK によってそれぞれリン酸化されることを見出した。それぞれのキナーゼによってリン酸化されることで、微小管のリーディングエッジへのターゲティングやダイナミクスが調節されていることを明らかにし、細胞遊走における微小管と +Tips の役割を示した。

また、前後軸形成には低分子量 GTPase Rho ファミリー間のクロストークが重要であるが、Rho のエフェクターである Rho-キナーゼが Rho の不活性化因子である p190RhoGAP をリン酸化してその活性を抑制するポジティブフィードバックループの存在を示唆するデータを得た。さらに現在、接着斑の構成分子である Talin に Rac の活性

化因子である Tiam1 が結合して局在し、接着斑のダイナミクスと Rac の活性調節がリンクしていることを解明しつつある。

(2) 神経細胞における極性形成

神経軸索／樹状突起への選択的輸送は神経細胞の極性形成・維持に重要である。以前の研究で CRMP-2 が順行性のモーターであるキネシン-1 と結合し、順行性の輸送に関与していることを示している。本研究では CRMP-2 が Slp1 を介して Rab27, Trk 受容体と結合し、神経細胞において小胞上で共局在することを見出した。CRMP-2 が Trk 受容体を含む輸送小胞の軸索遠位方向への輸送を調節し、その結果軸索形成や極性形成を制御することを示した。さらに、CRMP-2 は逆行性のモーターであるダイニンにも結合し、逆行性輸送への関わりも示唆された。

(3) プロテオミクス解析

インタラクトームを基盤とした、細胞極性の形成・維持に関わるキナーゼの基質の網羅的解析を行い、Rho-キナーゼの基質の探索・同定を行った。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

当初の計画通り、遊走細胞、および神経細胞における極性形成・維持機構についてその分子基盤を明らかにしつつある。またこれらを統合したプロテオミクス解析も予定通り進んでいる。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 遊走細胞における極性形成機構について

ては、現在、接着（インテグリン）依存的な Rac の活性化機構と接着斑のダイナミクスに関する解析が進行中であり、これを完遂させる。

(2) 神経細胞の極性形成機構については、CRMP-2以外にも Disc1 など複数の分子を介して軸索/樹状突起への選択的輸送が行われていることを見出している。現在、Disc1 を介した選択的輸送機構についての解析が進行中であり、これを完遂させる。

(3) Rho-キナーゼ以外の極性形成に関わるキナーゼについて基質の網羅的解析を行っており、これを完遂させる。京都大学の石井信教授らと共同で、神経細胞の極性形成の新しいシミュレーションモデルを構築中である。

5. 代表的な研究成果

(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 37 件)

(1) Namba, T., and Kaibuchi, K., Switching DISC1 function in neurogenesis: Dixdc1 selects DISC1 binding partners. *Dev Cell* 査読有 19, 7-8 (2010)

(2) Amano, M., Tsumura, Y., Taki, K., Harada, H., Mori, K., Nishioka, T., Kato, K., Suzuki, T., Nishioka, Y., Iwamatsu, A., and Kaibuchi, K., A proteomic approach for comprehensively screening substrates of protein kinases such as Rho-kinase. *PLoS ONE* 査読有 5, e8704 (2010)

(3) Watanabe, T., Noritake, J., Kakeno, M., Matsui, T., Harada, T., Wang, S., Itoh, N., Sato, K., Matsuzawa, K., Iwamatsu, A., Galjart, N., and Kaibuchi, K., Phosphorylation of CLASP2 by GSK-3beta regulates its interaction with IQGAP1, EB1 and microtubules. *Journal of Cell Science* 査読有 122, 2969-2979 (2009)

(4) Mori, K., Amano, M., Takefuji, M., Kato, K., Morita, Y., Nishioka, T., Matsuura, Y., Murohara, T., and Kaibuchi, K., Rho-kinase Contributes to Sustained RhoA Activation through Phosphorylation of p190A RhoGAP. *The Journal of Biological Chemistry* 査読有 284, 5067-5076 (2009)

(5) Enomoto, A., Asai, N., Namba, T., Wang, Y., Kato, T., Tanaka, M., Tatsumi, H., Taya, S., Tsuboi, D., Kuroda, K., Kaneko, N., Sawamoto, K., Miyamoto, R., Jijiwa, M., Murakumo, Y., Sokabe, M., Seki, T., Kaibuchi, K., and Takahashi, M., Roles of disrupted-in-schizophrenia 1-interacting protein girdin in postnatal development of the dentate gyrus. *Neuron* 査読有 63, 774-787 (2009)

(6) Arimura, N., Kimura, T., Nakamuta, S., Taya, S., Funahashi, Y., Hattori, A., Shimada, A., Menager, C., Kawabata, S., Fujii, K., Iwamatsu, A., Segal, R. A., Fukuda, M., and Kaibuchi, K., Anterograde transport of TrkB in axons is mediated by direct interaction with Slp1 and Rab27. *Dev Cell* 査読有 16, 675-686 (2009)

[学会発表] (計 20 件)

(1) Kaibuchi, K., Neuronal polarity-From extracellular signals to intracellular mechanisms. Cold Spring Harbor Asia Conference, 1st Francis Crick Neuroscience Symposium (2010.4.13) Suzhou, China

(2) Kaibuchi, K., Role of Par and Tiam1 complex in polarized cell migration. RAMIC, National Network on Cell Adhesion and Migration (2009.10.22) Madrid, Spain

(3) Kaibuchi, K., Roles of Rho family GTPases and Par proteins in directional migration. Gordon Research Conferences (2009.8.24) Oxford, UK

(4) Kaibuchi, K., Axon formation and polarized transport. 第 52 回日本神経化学学会大会 (2009.6.22) 渋川

(5) Kaibuchi, K., Axon formation and polarized vesicle transport. ESF-EMBO Symposium (2009.5.23) Sant Feliu de Guixols, Spain

(6) 貝淵弘三、細胞遊走における Rho ファミリーと Par 複合体の役割、第 60 回日本細胞生物学会大会 (2008.6.30) 横浜

[図書] (計 1 件)

Watanabe, T., Sato, K., and Kaibuchi, K. Cadherin-mediated Intercellular Adhesion and Signaling Cascades Involving Small GTPases. Cold Spring Harbor perspectives in biology 1, a003020 (2009)

[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

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/Yakuri/>