

機関番号：23903

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20770182

研究課題名 (和文) 上衣細胞繊毛の平面内極性決定機構

研究課題名 (英文) Planar cell polarity of multi-ciliated ependymal cells

研究代表者

廣田 ゆき (HIROTA YUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：00453548

研究成果の概要 (和文)：運動性繊毛は上皮組織表面に液体の流れを作り出し、様々な生理的機能を持つ。運動性繊毛がその機能を獲得するためには、繊毛細胞が分化過程で平面細胞極性を形成することが重要であるがその詳細なメカニズムは不明である。本研究では上衣細胞の繊毛の平面細胞極性において基底小体が細胞内で局在することを見だし、その分子メカニズムとして細胞内モーター分子である非筋細胞ミオシン II の機能が重要であることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：Motile cilia generate constant fluid flow over epithelial tissue, and thereby influence diverse physiological processes. Such functions of ciliated cells depend on the planar polarity of the ciliated cells. Here we report that basal bodies move in the apical cell membrane during differentiation to accumulate in the anterior region of ependymal cells that line the surface of brain ventricles. Moreover, we show that non-muscle myosin II is a key regulator of this distribution of basal bodies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：細胞分化

## 1. 研究開始当初の背景

成熟した脳の脳室下帯では生涯を通じて新たな神経細胞が誕生する。我々は最近、成体マウス脳室壁表面に存在する上衣細胞の繊毛が協調的に運動し、脳脊髄液の流れを作り、新生神経細胞の移動方向をガイドしていることを報告した。このことは上衣細胞が平面内細胞極性を獲得し、繊毛を一定方向運動させることにより、単なる物質運搬機能では

なく、成熟脳内での限局した神経細胞の移動という複雑な現象を制御していることを示しているが、その平面内細胞極性決定のプロセスには不明な点が多く残されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、上衣細胞繊毛が神経細胞移動を制御するのに必要な極性獲得過程と動態制御機構の詳細を解剖学的・細胞生物学的・

分子生物学的に解析する。このことにより、上衣細胞平面極性決定プロセスの詳細とその形成に関わるメカニズムを明らかにし、繊毛機能の新局面の理解を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 上衣細胞平面極性形成過程の観察：上衣細胞繊毛の形成過程を透過型および走査型電子顕微鏡によって観察した。

(2) 基底小体分布と繊毛運動の関係：繊毛運動と繊毛基部である基底小体の分布の変化の間に関係性があるかどうかを調べる。基底小体が標識されたトランスジェニックマウスに対して遺伝子機能阻害を行い、上衣繊毛を色素で可視化し、高速ライブイメージングを行う。これにより、繊毛運動と基底小体の分布変化の関係性を明らかにする。

(3) 平面内細胞極性コア遺伝子群の関与：平面細胞極性コア遺伝子群は様々な組織で平面細胞極性を制御する。この経路の上衣細胞発生過程における平面細胞極性コア遺伝子群の機能を検討した。

(4) 非筋細胞ミオシン II の関与：非筋細胞ミオシン II は細胞内に特定の場所に局在することにより、細胞移動、細胞分裂、形態形成など様々な現象に関与する。最近、内耳有毛細胞の平面極性形成に非筋細胞ミオシン II が重要であることが報告された。上衣細胞の基底小体の分布に非筋細胞ミオシン II が関与するかを調べるために、阻害剤投与および RNAi 干渉法により基底小体の分布に影響を与えるかを検討する。

### 4. 研究成果

(1) 上衣細胞平面極性形成過程の観察：幼若マウス脳室壁の経時的観察により、上衣繊毛の基底小体は細胞のアピカル面を前方へ向かって移動し、細胞の前側に偏って局在することを見いだした(図1)。卵管や気管の繊毛細胞ではこのような特徴はみられないことから、脳室上衣細胞に特異的な新規の平面極性であると考えられる。

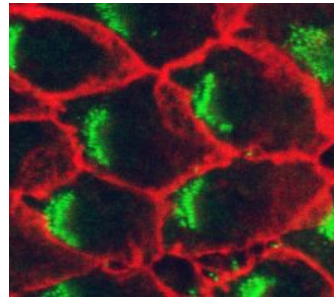


図1. 基底小体(緑色で示す)、が細胞の前側(左側)に偏って存在する。細胞の境界を赤色で示す。

(2) 基底小体分布と繊毛運動の関係：高速ライブイメージング観察により、基底小体が細胞の前部に局在するのとほぼ同時期に、繊毛形態が成熟し、繊毛運動の方向が揃って繊毛運動が成熟することを見いだした。

(3) 平面内細胞極性コア遺伝子群の関与：基底小体の前方局在を制御する分子メカニズムを明らかにするために、先述の Wnt/PCP シグナル経路の関与を検討した。PCP シグナルの中心的なアダプター分子である Dishevelled のドミナントネガティブ型変異体を分化中の上衣細胞に導入したところ、繊毛の方向に乱れを生じたが、基底小体の前方への局在は影響を受けなかった。

(4) 非筋細胞ミオシン II の関与：非筋細胞ミオシン II は細胞内モーター蛋白質であり、様々な組織で細胞の形態・運動を制御することが知られており、最近では内耳有毛細胞の平面細胞極性を制御することが報告されて

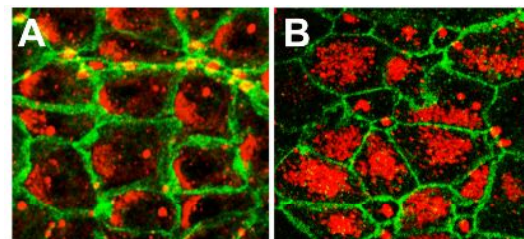


図2. 非筋細胞ミオシン II の活性を阻害したところ(B)、対照群(A)に比べ基底小体の細胞アピカル面での分布が異常になった。

いる。上衣細胞の分化時に、非筋細胞ミオシン II の活性を阻害剤によって阻害したところ、基底小体の細胞アピカル面での分布が異常になった(図2)。また、このときの繊毛運動を観察したところ、正常な運動がみられた。さらに、RNA 干渉法によって非筋細胞ミオシン II を阻害したところ、基底小体の前方への局在が有意に減少した。

これらのことから、上衣細胞繊毛の基底小体の前方局在には非筋細胞ミオシン II の細胞自律的な機能が必要であることが明らかになった。また、繊毛の運動方向と基底小体の前方への局在という 2 種類の平面極性は、独立的な制御を受けている可能性が示された。

#### 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 6 件)

- ① Hirota, Y., Meunier, A., Huang, S., Shimozawa, T., Yamada, O., Kida, Y.S., Inoue, M., Ito, T., Kato, H., Sakaguchi, M., Sunabori, T., Nakaya, M.A., Nonaka, S., Ogura, T., Higuchi, H., Okano, H., Spassky, N., and Sawamoto, K. Planar polarity of multiciliated ependymal cells involves the anterior migration of basal bodies regulated by non-muscle myosin II. *Development* 137(18): 3037-3046. 2010. (査読有)
- ② Guirao, B., Meunier, A., Mortaud, S., Aguilar, A., Corsi, J.M., Strehl, L., Hirota, Y., Desoeuvre, A., Boutin, C., Han, Y.G., Mirzadeh, Z., Cremer, H., Montcouquiol, M., Sawamoto, K., and Spassky, N. Coupling between hydrodynamic forces and planar cell polarity orients mammalian motile cilia. *Nat. Cell Biol.* 12, 341-350, 2010. (査読有)
- ③ Ikeda, M., Hirota, Y., Sakaguchi, M., Yamada, O., Kida, Y.S., Ogura, T., Otsuka, T., Okano, H., Sawamoto, K. Expression and proliferation-promoting role of Diversin in the neuronally committed precursor cells migrating in the adult mouse brain. *Stem Cells*, 28(11): 2017-2026. 2010. (査読有)
- ④ Sawamoto, K., Hirota, Y., Alfaro-Cervello, C., Soriano-Navarro, M., He, X., Hayakawa-Yano, Y., Yamada, M., Hikishima, K., Tabata, H., Iwanami, A., Nakajima, K., Toyama, Y., Itoh, T., Alvarez-Buylla, A., Garcia-Verdugo, J.M., and Okano, H. Cellular composition and organization of the subventricular zone and rostral migratory stream in the adult and neonatal common marmoset brain. *J Comp Neurol* 519(4): 690-713. 2011. (K.

Sawamoto, Y. Hirota, C. Alfaro-Cervello, M. Soriano-Navarro contributed equally to this work) (査読有)

- ⑤ Suzuki, T., Miyamoto, H., Nakahari, T., Inoue, I., Suemoto, T., Jiang, B., Hirota, Y., Itohara, S., Saido, T.C., Tsumoto, T., Sawamoto, K., Hensch, T.K., Delgado-Escueta, A.V., Yamakawa, K.. Efh1 deficiency causes spontaneous myoclonus and increased seizure susceptibility. *Hum. Mol. Genet.* 18:1099-109, 2009. (査読有)
- ⑥ Huang, S., Hirota, Y., Sawamoto, K. Various facets of vertebrate cilia: motility, signaling, and role in adult neurogenesis. *Proceedings of the Japan Academy, Ser. B* 85: 324-336, 2009. (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

- ① Hirota, Y., Meunier, A., Huang, S., Shimozawa, T., Yamada, O., Kida, Y.S., Inoue, M., Ito, T., Kato, H., Sakaguchi, M., Sunabori, T., Nakaya, M.A., Nonaka, S., Ogura, T., Higuchi, H., Okano, H., Spassky, N., and Sawamoto, K. Planar polarity of multiciliated ependymal cells on the lateral ventricular wall of mouse brain regulated by non-muscle myosin II 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010 年 12 月 9 日.
- ② Hirota, Y., Meunier, A., Huang, S., Shimozawa, T., Yamada, O., Kida, Y.S., Inoue, M., Ito, T., Kato, H., Sakaguchi, M., Sunabori, T., Nakaya, M.A., Nonaka, S., Ogura, T., Higuchi, H., Okano, H., Spassky, N., and Sawamoto, K. Planar cell polarity of multiciliated ependymal cells regulated by non-muscle myosin II. 第 33 回日本神経科学大会, 神戸, 2010 年 9 月 2 日.
- ③ Hirota, Y., Huang, S., Yamada, O., Kida, Y.S., Sakaguchi, M., Nakaya, M., Spassky, N., Shimozawa, T., Higuchi, H., Ogura, T., Nonaka, S., Okano, H., Sawamoto. Planar polarization of ependymal cells on the ventricular wall of mouse lateral ventricles. 第 32 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009 年 12 月 11 日.
- ④ 廣田ゆき, 黄詩惠, 澤本和延. マウス発達期における脳室上衣細胞繊毛の平面極性獲得機構, 第 2 回日本水頭症脳脊髄液学会, 東京, 2009 年 11 月 14 日.

- ⑤ Shimozawa, T., Hirota, Y., Sawamoto, K., Higuchi, H. Motility analysis with nm-accuracy and high temporal resolution of mice ependymal cilia by confocal imaging. 日本生物物理学会第47回年会, 徳島, 2009年11月1日.
- ⑥ Hirota, Y., Huang, S., Yamada, O., Kida, Y. S., Sakaguchi, M., Nakaya, M., Spassky, N., Shimozawa, T., Higuchi, H., Ogura, T., Nonaka, S., Okano, H., Sawamoto. Polarization of ependymal cilia required for fluid flow in the adult mouse lateral ventricles. Construction and Reconstruction of the Brain, 徳島, 2009年10月9日.
- ⑦ Hirota, Y., Huang, S., Yamada, O., Kida, Y.S., Sakaguchi, M., Nakaya, M., Spassky, N., Shimozawa, T., Higuchi, H., Ogura, T., Nonaka, S., Okano, H., Sawamoto, K. Planar polarity decisions for directional beating of ependymal cilia and fluid flow in the adult mouse lateral ventricles. 第32回日本神経科学大会, 名古屋, 2009年9月17日.
- ⑧ Hirota, Y., Huang, S., Yamada, O., Kida, Y.S., Sakaguchi, M., Nakaya, M., Spassky, N., Shimozawa, T., Higuchi, H., Ogura, T., Nonaka, S., Okano, H., Sawamoto, K. Polarization of ependymal cilia during mouse brain development. 2nd International Symposium on Bio-nanosystems, 東京, 2008年11月1日.

[図書] (計1件)

- ① Sawada, M., Huang, S., Hirota, Y., Kaneko, N., and Sawamoto, K. Neuronal Migration in The Adult Brain. *Neurogenesis in the adult brain*. In press. (Springer)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

廣田 ゆき (HIROTA YUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：00453548