

令和 4 年 11 月 10 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07403

研究課題名（和文）細胞外マトリックスを介した新たなPCP制御機構の解明

研究課題名（英文）Functional analysis of a novel PCP regulator

研究代表者

鮎川 友紀（Ayukawa, Tomonori）

秋田大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80586165

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：上皮細胞は頂端-基底軸に直行した極性を有する。この極性は平面内細胞極性（planar cell polarity, PCP）と呼ばれる進化的に保存された現象で、組織の機能発現において重要な役割を果たす。例えば、哺乳動物の内耳における有毛細胞は、PCPの働きによって組織平面内で一定の方向に配向し、音の振動を効率よく感知している。また、PCPの異常は二分脊椎症や心臓弁膜症などの疾患を惹起することが報告されている。

研究代表者らは、既知のPCP制御グループとは異なる第三のPCP制御グループを同定しており、本研究で第三のPCP制御グループを介したPCP制御メカニズムの一端を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでPCPの分子機構は、既知である2つのPCP制御グループを中心に論じられてきた。研究代表者らは、これらPCP制御グループとは異なる第三のPCP制御グループを同定している。本研究で研究代表者は、第三のPCP制御グループを介したPCP制御機構の一端を明らかにした。

PCP制御機構の解明は、器官構築の基本原則の理解に繋がる。これは、発生生物学の観点のみならず、再生医療が目指す最終目標である試験管内での器官形成を実現させる上でも意義深い。PCPは二分脊椎症や心臓弁膜症など様々な病態に関係しているため、PCP制御機構の解明は、病態の理解や治療法の確立といった医療応用にも貢献できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Planar cell polarity (PCP) is the collective alignment of cell polarity within the plane of the epithelium. PCP plays crucial roles in the development and function of various organs, and defects in the PCP pathway cause many human diseases. Genetic and molecular studies using *Drosophila* have identified many PCP genes and greatly contributed to uncovering the regulatory mechanisms governing PCP.

Here I show that how the novel PCP genes regulate the PCP pathway.

研究分野：発生生物学、細胞生物学

キーワード：平面内細胞極性 PCP 細胞外マトリックス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

上皮細胞は頂端-基底軸に直行した極性を有する。この極性は平面内細胞極性 (planar cell polarity, PCP) と呼ばれ、組織の機能発現において重要な役割を果たす。例えば、哺乳動物の内耳における有毛細胞は、PCP の働きによって組織平面内で一定の方向に配向し、音の振動を効率よく感知している。ショウジョウバエ体毛の配向性異常を指標とした遺伝学的解析から数多くの PCP に関わる分子が同定され、それら分子やその制御機構が進化的に保存されていることが明らかにされてきた。また、PCP の異常は二分脊椎症や心臓弁膜症を惹起することが報告されている。

PCP 制御グループはその機能の違いから大きく二つのグループに分類されている。一つ目のグループは「コアグループ」と呼ばれ、膜貫通型タンパク質である Frizzled (Fz) や Strabismus (Stbm) などによって構成される (図 1)。コアグループに属する分子は非対称に局在し、個々の細胞における極性を制御する (図 1)。二つ目の PCP 制御グループは、非典型的カドヘリン Dachshous (Ds) や Fat (Ft) から構成され「Ds/Ft グループ」と呼ばれている (図 1)。Ds/Ft グループに属する分子は様々な組織において発現勾配を形成し、コアグループ分子を組織平面内の特定の方向へそらせる方向情報として機能している (図 1)。研究代表者らは、ショウジョウバエを用いたゲノムワイドの遺伝学的スクリーニングを行い、既存の PCP 分子とは全く異なる機能を有する新規 PCP 制御分子群を同定することに成功した。

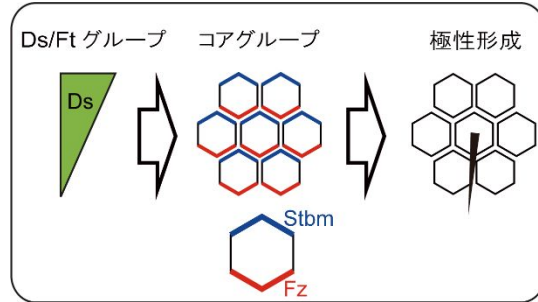


図 1 PCP 経路の模式図

### 2. 研究の目的

研究代表者らが同定した新規 PCP 制御分子群は、細胞外マトリックス (extracellular matrix; ECM) 分子 Dumpy を含む複数の因子から構成され、既知の PCP グループとは異なる機能を有する第三の PCP 制御グループ (以下、第三の PCP グループと略記) を形成する。しかしながら、PCP 制御系における第三の PCP グループの役割は不明である。本研究では、ECM という新たな視点から、第三の PCP グループの機能を解明する。第三の PCP グループの役割を明らかにし、新たな PCP 制御機構の解明に挑む。

### 3. 研究の方法

#### aECM 分子 Dumpy の生理的機能の解明

ショウジョウバエ背板上皮では、細胞の基底面 (basal) のみならず、頂端面 (apical) においても ECM が存在し (それぞれ bECM、aECM と略) aECM は背板上皮と外側の殻を繋ぐ役割を果たす。最近の研究から、Dumpy は aECM の構成因子であることが明らかとなっているが、その機能には不明な点が多い。Dumpy は第三の PCP グループに属することから、このグループに属する分子と関連して機能することが予想される。本研究では、Dumpy の発現パターンの検討に加え、第三のグループ分子である Jitterbug (Jbug) や Chascon (Chas) と Dumpy の関係性を明らかにすることで、Dumpy の生理学的機能を解明する。

#### aECM を介した PCP 制御機構の解明

近年、ゼブラフィッシュやマウス、ショウジョウバエにおいて、Fz/Fmi グループ分子の機能欠損により、細胞基底面の ECM (bECM) の発現低下や局在異常が惹起されることが報告されている (Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 106, 14426-14431, 2009; eLIFE 5, pii: e18979, 2016 など)。一方で、Dumpy は頂端面に局在する aECM であるが、その PCP 制御メカニズムは謎に包まれている。

本研究では、aECM (Dumpy) が PCP を制御する機構を解き明かす。また、aECM と bECM の PCP 制御における役割も明らかにする。本研究を通して、ECM (aECM および bECM) を介した PCP 制御機構の全貌を解明する。

### 4. 研究成果

#### aECM 分子 Dumpy の生理的機能の解明

##### 様々な発生段階における Dumpy 発現パターンと細胞内局在の検討

近年、様々な発生段階や種々の組織における Dumpy の発現パターンが解析されつつあるが、背板における Dumpy の発現パターンは不明である。また、Dumpy の細胞内局在は、翅成虫原基 (幼虫期に形成される組織で将来翅になる組織) や蛹期背板の一部領域において解析されているが、研究代表者が着目している背板領域 (PCP の評価を行う際に一般的に観察される背板領域) における Dumpy の細胞内局在は、これまで検討されていない。様々な発生段階のショウジョウ

ヨウバエ背板における Dumpy の発現パターンや細胞内局在を明らかにすることで、PCP 制御における Dumpy の役割を推測する。本解析には、相同組み換えにより Dumpy 遺伝子座に GFP が挿入されている Dumpy::GFP 系統を用いた。その結果、特定の発生段階において、Dumpy の発現パターンがショウジョウバエ背板の腱細胞の分布とよく一致することを見出した。また、Dumpy の細胞内局在を検討した結果、翅成虫原基と同様に細胞の頂端側 ECM に Dumpy が局在することが明らかになった。

#### Dumpy と第三の PCP グループ分子との関連性

Dumpy と第三の PCP グループとの関連性を検討するために、Jbug や Chas を機能低下した際の Dumpy の細胞内局在を検討した。Dumpy の細胞内局在は、上述した Dumpy::GFP 系統を用いて解析した。ショウジョウバエ背板において Jbug や Chas の機能低下した際の Dumpy の細胞内局在は顕著な変化を示さなかった。よって、Dumpy の細胞内局在の制御に Jbug や Chas は関わらないことが示唆された。

#### Dumpy と第三の PCP グループ分子との遺伝学的相互作用の検討

第三の PCP グループ分子である Jbug 及び Chas の二重ノックダウンを実施すると、それぞれ単独のノックダウンと比べて PCP の異常は増悪する。この知見に基づき、本研究では、Dumpy と他の第三の PCP グループ分子が協調的に機能するか否かを検討する。研究代表者は、Dumpy のノックダウンに加えて他の第三の PCP グループ分子のノックダウンを実施し、それぞれ単独のノックダウンと比べて PCP の異常が増悪するか否かを比較した。その結果、Chas 及び Dumpy、並びに Jbug 及び Dumpy の二重ノックダウンは、それぞれ単独のノックダウンに比べて PCP の異常が増悪した。よって、Dumpy は第三のグループ分子と協調して機能することが示唆された。

#### **aECM を介した PCP 制御機構の解明**

##### PCP 制御における bECM の役割

研究代表者は、PCP 制御における、細胞頂端面の aECM の重要性を見出しているが、PCP 制御における aECM と bECM の機能の違いは全く不明である。本項目では、bECM が PCP 制御に関わるか否かを検討する。具体的には、bECM 構成因子の分解を司るマトリックスメタロプロテアーゼ遺伝子に着目し、ショウジョウバエ背板において、Matrix metalloproteinase1 (Mmp1) と Mmp2 遺伝子の強制発現および RNAi (bECM 構成因子の分解亢進と抑制)を行った。その結果、Mmp1 や Mmp2 遺伝子の強制発現やノックダウンでは顕著な PCP の表現型は観察されなかった。よって、ショウジョウバエ背板における PCP 制御において、bECM は重要な役割をはたしていないことが示唆された。

#### 第三の PCP グループ分子が PCP を制御する機構の解明

背板を構成する上皮細胞の一部は、基底側に存在する間接飛翔筋と直接接着する。PCP 形成期の後半にこの筋肉は収縮を開始し、その力は背板上皮に伝わる。Chas 及び Dumpy、並びに Jbug 及び Dumpy の二重ノックダウンは、前述した PCP 異常の増悪に加えて背板の陥没を引き起こす。また、その陥没構造の周囲において PCP の異常が観察される。この結果は、第三の PCP グループ分子が機能低下すると、筋肉の牽引に抗うことが困難となり、組織に陥没構造が形成され PCP が異常になる可能性を示している。この仮説を検証するために、研究代表者は、第三の PCP グループ分子の機能低下を行い、それに加えて、背板の筋肉を遺伝学的に除去した。具体的には、Dumpy と Chas の二重変異体において筋肉を遺伝学的に除去した。その結果、Dumpy と Chas の二重変異体で観察された組織の陥没構造とその周囲の PCP 異常は、救済された。よって、第三のグループ分子の機能低下は、組織の頑強性の低下を引き起こし、上皮組織は筋肉の牽引に抗うことが困難になると考えられる。それに伴い、背板は陥没し、背板の PCP は異常になることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ayukawa T, Akiyama M, Hozumi Y, Ishimoto K, Sasaki J, Senoo H, Sasaki T, Yamazaki M.	4. 巻 40
2. 論文標題 Tissue flow regulates planar cell polarity independently of the Frizzled core pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111388
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2022.111388.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 鮎川友紀、八月朔日泰和、山崎正和
2. 発表標題 平面内細胞極性を司る新規調節機構の解析
3. 学会等名 Looking to the Future of Developmental Cell Biology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomonori Ayukawa, Yasukazu Hozumi and Masakazu Yamazaki
2. 発表標題 Functional analysis of a PCP regulator Jitterbug
3. 学会等名 第4回 アジア太平洋ショウジョウバエ研究会（APDRC4）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鮎川友紀、八月朔日泰和、山崎正和
2. 発表標題 平面内細胞極性を司る新規調節機構の解析
3. 学会等名 日本解剖学会第63回東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鮎川友紀、八月朔日泰和、山崎正和
2. 発表標題 平面内細胞極性を司る新規調節機構の解析
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomonori Ayukawa, Masakazu Akiyama, Yasukazu Hozumi and Masakazu Yamazaki
2. 発表標題 A molecular mechanism of the core group-independent PCP pathway
3. 学会等名 52nd Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鮎川友紀、秋山正和、八月朔日泰和、山崎正和
2. 発表標題 コアグループに依存しない PCP制御機構の解析
3. 学会等名 日本解剖学会 第65回東北・北海道連合支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鮎川友紀、秋山正和、八月朔日泰和、山崎正和
2. 発表標題 コアグループに依存しない PCP制御機構の解析
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020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
研究 分担 者	山崎 正和  (Yamazaki Masakazu)  (40373378)	秋田大学・医学系研究科・准教授   (11401)	

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
---------	---------