

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06665

研究課題名(和文)PCPの形成と維持をバランスする機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanisms which balance the formation and maintenance of PCP

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：上皮組織は、頂端-基底軸に沿った極性に加えて、組織平面内において極性を形成する。これは平面内細胞極性(Planar Cell Polarity: PCP)と呼ばれ、組織機能の発現に重要な役割を担う。例えば、哺乳類ではPCPの働きにより内耳有毛細胞が組織平面内で一定方向に配向し、音の振動を効率よく感知する。PCPの異常は、発生異常や心臓弁膜症などの種々の疾患の原因となることも報告されている。PCPの形成を司る機構に関しては分子レベルでの理解が進んでいる一方で、一旦形成されたPCPを維持する機構の研究は遅れている。研究代表者は、「PCPの形成と維持」をバランスする機構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

ショウジョウバエを用いた分子遺伝学的研究から、PCP形成の主翼を担う遺伝子群が同定され、これらの因子群の機能解析からPCP形成を司る分子機構の理解が飛躍的に進展した。一方、形成されたPCPが、組織変形や機械的な力などに抗い、適切に維持される機構の研究は端緒についたばかりであり、PCPの形成と維持をバランス機構もほとんど不明である。研究代表者らは、PCPの形成と維持の両方に関与することが示唆される新規PCP分子を同定している。本研究は、新規PCP分子の機能解析を通して、PCP分野における上述の謎の解明に挑むものであり、その成果は発生生物学を含む様々な学術分野に波及することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Most tissues and organs acquire a polarity within the plane of the epithelium, which is orthogonal to the axis of apico-basal polarity. This is referred to as planar cell polarity (PCP). PCP is manifested in external structures on the body surface (e.g., animal hairs) and in the cellular appendages of internal organs (e.g., the stereocilia in the inner ear). The polarization of these features plays a crucial role in numerous functions, such as hearing and left-right axis determination. Aberrant regulation of PCP is implicated in human pathologies. While molecular mechanisms which govern PCP are gradually becoming clearer, mechanisms which maintain PCP are not been fully investigated. Here, I show that the mechanism which balances the formation and maintenance of PCP.

研究分野：発生学

キーワード：平面内細胞極性 PCP

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

上皮組織は、頂端-基底軸に沿った極性に加えて、組織平面内において極性を形成する。これは平面内細胞極性 (Planar Cell Polarity : PCP) と呼ばれ、組織機能の発現に重要な役割を担う。例えば、哺乳類では、PCP の働きにより内耳有毛細胞が組織平面内で一定方向に配向し、音の振動を効率よく感知する (図 1)。体毛の配向性異常を示すショウジョウバエ変異体の解析から PCP を司る遺伝子が初めて同定されたのを契機とし (図 1)、PCP の分子レベルでの理解が進み、その後、哺乳動物においてもその分子機構が保存されていることが見出された。PCP の異常は、発生異常や心臓弁膜症などの種々の疾患の原因となることも報告されている。

PCP を制御する分子群は、二つの主要なグループに分類される。一つ目は、膜貫通型タンパク質である Frizzled (Fz) や Strabismus (Stbm)、Flamingo (Fmi) などから構成される「コアグループ」である。このグループに属する分子は非対称に局在化し、個々の細胞における極性を制御することで PCP の形成に関わる (図 1)。二つ目は、非典型的カドヘリン Dachshous (Ds) や Fat (Ft) から構成される「Ds/Ft グループ」である。これらの分子は様々な組織において発現勾配を形成し、コアグループの非対称局在の向きを組織の特定の方向に揃えるための方向情報として機能する (図 1)。

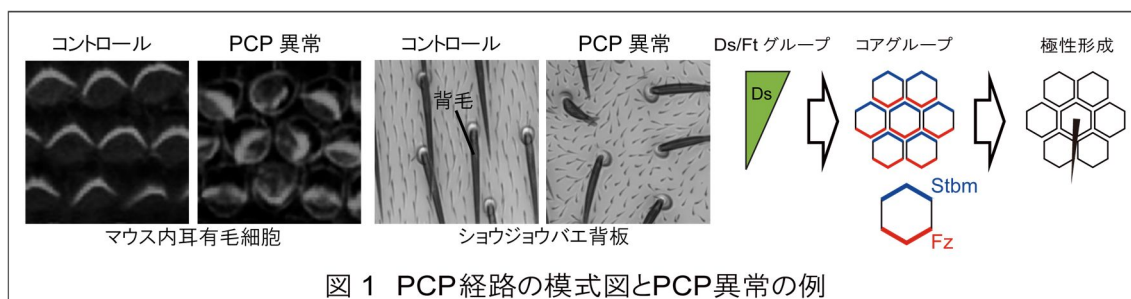


図 1 PCP 経路の模式図と PCP 異常の例

このように PCP の形成を司る機構に関しては分子レベルでの理解が進んでいる一方で、一旦形成された PCP を維持する機構の研究は遅れている。さらに、「PCP の形成と維持」は表裏一体の関係にあり、PCP が確立する過程では形成機構が優位となり、一旦 PCP が形成された後は維持機構が積極的に寄与すると考えられるが、形成と維持のバランスがどのように制御されているのかも全く不明である。最近、研究代表者らは、ショウジョウバエを用いた大規模な遺伝学的解析から、背板上皮の力学的頑強性に関わる遺伝子 (以下、頑強性制御遺伝子と略) を同定し、これらの因子の機能欠損により、PCP の維持が損なわれることを見出している (未発表)。特筆すべきことに、その内の一つである、頑強性制御遺伝子 1 は以下に示す特徴的な性質を有する。

1. PCP 形成の中核であるコアグループ遺伝子または上述の頑強性制御遺伝子を単独でノックダウンすると、背毛の配向性に乱れが生じる。
2. コアグループ遺伝子と頑強性制御遺伝子の二重ノックダウンは背毛の配向性を逆転させる。
3. 他の頑強性制御遺伝子とは異なり、頑強性制御遺伝子 1 の単独ノックダウンは背毛の配向性を逆転させる。上述の項目 2 の知見を考慮すると、この結果は、頑強性制御遺伝子 1 の機能低下により PCP の形成と維持が損なわれたことを意味する。単一遺伝子機能の欠損または低下により、背毛の向きが逆転する例はこれまでに報告されておらず、頑強性制御遺伝子 1 は既存の PCP 制御分子とは一線を画す機能を有すると考えられた。

これらの結果から研究代表者は、頑強性制御遺伝子 1 が「PCP の形成と維持」の両方に関与すると考え、「PCP の形成と維持」をバランスする機構に関する本研究計画を着想した。

## 2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が同定した新規 PCP 分子である頑強性制御遺伝子 1 の機能解析を通して、「PCP の形成と維持」をバランスする機構を明らかにすることを目的とする。上述したように、頑強性制御遺伝子 1 はユニークな性質を有しており、「コアグループ機能」と「組織頑強性」の両方を制御することで、PCP の形成と維持に関わると考えられる。PCP 制御過程における頑強性制御遺伝子 1 の役割を明らかにすることで、これまでほとんど不明な「PCP の形成と維持」をバランスする機構の解明に迫れるものと期待している。

## 3. 研究の方法

### 頑強性制御遺伝子 1 の細胞内局在の検討

上皮細胞における頑強性制御遺伝子 1 の細胞内局在は不明であるため、背板上皮細胞における頑強性制御遺伝子 1 の細胞内局在を検討する。本解析には、頑強性制御遺伝子 1::GFP 系統（頑強性制御遺伝子 1 の fosmid ベクターに in frame で GFP が挿入された系統）を用いる（VDRC より購入済み）。PCP 形成期（蛹化後 28 時間以前）と PCP 維持期（蛹化後 28 時間以降）は異なる発生ステージであるため、これら二つのステージに着目して、上記の検討を行う。

### 頑強性制御遺伝子 1 と既知の PCP 制御グループとの関連

上述のように、研究代表者の解析から、頑強性制御遺伝子 1 のノックダウンによりコアグループの機能が低下することが示唆されている。本研究では、免疫組織染色やライブイメージングの手法を駆使して、頑強性制御遺伝子 1 をノックダウンした背板上皮におけるコアグループ分子群の細胞内局在や動態を解析する。

### 頑強性制御遺伝子 1 を介した組織頑強性の制御

ショウジョウバエ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結合する。PCP 形成期の終盤に、この筋肉は収縮を開始し、その力は背板上皮に伝播する。野生型とは異なり、頑強性制御遺伝子 1 などの頑強性制御分子が欠損した背板上皮では、筋肉を介した牽引力に抗うことができず、上皮が異常な方向に牽引されることで背板構造が異常になる。本研究計画では、この表現型を指標に、研究計画 1 で得た知見等を活用することで、頑強性制御遺伝子 1 が組織の頑強性を維持する機構を明らかにする。最終的には、研究計画 1~3 の結果を全て統合することで、頑強性制御遺伝子 1 が「PCP の形成と維持」をバランスする機構の全体像を理解する。

## 4. 研究成果

### 頑強性制御遺伝子 1 の細胞内局在の検討

詳細は後日公開

### 頑強性制御遺伝子 1 と既知の PCP 制御グループとの関連

頑強性制御遺伝子 1 をノックダウンした背板上皮における Fmi の細胞内局在を検討したところ、興味深いことに Fmi の細胞内局在は正常であった。したがって、頑強性制御遺伝子 1 の機能を損なっても PCP の形成は正常に起こる可能性が示唆された。

### 頑強性制御遺伝子 1 を介した組織頑強性の制御

詳細は後日公開

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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

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 上皮細胞集団の移動が司る新たな平面内細胞極性制御機構
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023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
---------	---------