

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月29日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21570199

研究課題名（和文） 細胞分裂時の細胞形態変化を制御するメカノセンシングシステム

研究課題名（英文） Mechanosensing system for regulating the cell morphology during cytokinesis

研究代表者

祐村 恵彦 (YUMURA SHIGEHICO)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70183986

研究成果の概要（和文）：細胞は自分の形をモニターしており、変形し過ぎた場合にはそれを戻すようなフィードバック機構があるに相違ない。このような機構が細胞の形態を維持し、細胞質を等分に分割することを補償するシステムではないかと考え、本研究ではこの分子機構を解明することを目的として行なった。メカノセンサーとしてアクチン繊維が機能していること、PTEN、ミオシンが関与することが分かった。これらの異常は最終的に細胞質異常を引き起こす結果となった。

研究成果の概要（英文）：Cells always monitor their size and shape. The excess shape change, which may result in tearing the cell membrane, should be put back by a feedback mechanism. Such mechanism may guarantee the equal division of cell volume during cytokinesis. In this study, we found actin filaments act as a mechanosensor in Dictyostelium cells. Additionally, myosin and PTEN also participated this function. The defects of this mechanism induced abnormal cytokinesis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：細胞質分裂，アクチン，ミオシン

1. 研究開始当初の背景

細胞質分裂は、細胞分裂の最終段階で細胞を二分する過程である。細胞質分裂を失敗すると、細胞は複数の核を持つことになり、このような多核化は癌化の初期過程で多くみられる。癌化の原因には細胞質分裂の制御遺伝子が関与していることが多く報告されてき

ている。例えば、家族性乳癌や肺癌の癌遺伝子は細胞質分裂時の分裂面へのミオシン II の集合に必要である。細胞は通常ほぼ100%の確率で細胞質分裂を成功させる。細胞が細胞質分裂を確実に成功できるのは、何重もの補償機構が働いているからであると考えられる。

2. 研究の目的

細胞は自分の形をモニターしており、変形し過ぎた場合にはそれを戻すようなフィードバック機構があるに相違ない。このような機構が細胞の形態を維持し、細胞分裂時には細胞質を等分に分割することを補償するシステムではないかと考え、本研究ではこの分子機構を解明することを目的として行なった。

3. 研究の方法

(1) 細胞への機械刺激の応答 分裂細胞への機械刺激として、細胞上に寒天のブロックを載せる加重実験、マイクロキャピラリーによる吸引、伸展装置による伸展刺激を行なった。これにともなうミオシン、アクチンの局在を、GFP タグ法を用い蛍光顕微鏡、共焦点顕微鏡で観察した。

(2) ミオシン分子が直接センサーとして機能している可能性を考え、改変ミオシン（リン酸化不能、モーター不能）を発現している細胞での上記レスポンスを調べた。

(3) ミオシンの上位シグナルとして、癌抑制遺伝子の1つである PTEN の可能性を、PTEN 欠損細胞を用いて上記の実験を行ない調べた。また機械刺激応答に伴う、PTEN の動態についても共焦点顕微鏡を用いて調べた。

(4) センサーとしてアクチン繊維の可能性について調べた。ミオシン S1 に GFP タグしたタンパク質を細胞に発現させて、その動態を調べた。

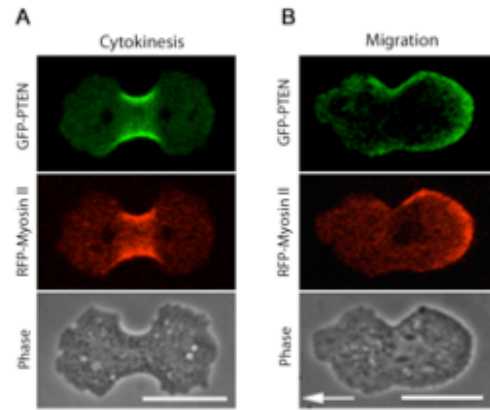
4. 研究成果

研究の主な成果

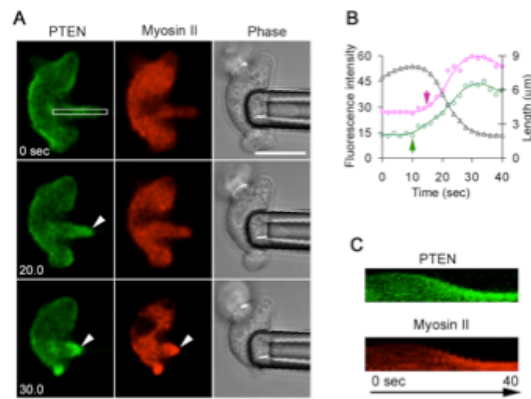
(1) 細胞を細いガラス管で吸引した時、吸引された細胞質は吸引され続けるのではなく引き戻そうとする。この時、ミオシンが吸引された細胞質の先端に集合し、そのモーター活性が働いて引き戻す力を発生している。

(2) 分裂細胞の上から寒天のシートをかけて物理的圧力を加えると分裂面でのミオシンの集合量が増加する。このことは、ミオシンが機械刺激に応答していることを示している。

(3) 発癌抑制因子である PTEN はミオシンと同じように分裂細胞では分裂面に局在がみられる。PTEN 遺伝子欠損細胞では分裂面に集合するミオシン量が減少する。PTEN 欠損細胞では吸引実験でミオシンの集合がみられない。また、ミオシンに先立ち吸引細胞質先端に集合することから、PTEN はメカノセンシング時のミオシンの集合の制御する上位シグナルであると考えられる。下の図は PTEN がミオシンと共局在することを示している。

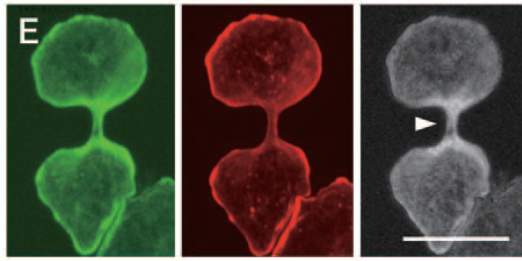


下の図は細胞吸引実験で、PTEN がミオシンより早く吸引部先端に集まることを示している。



(4) 細胞分裂時、FRAP などの結果から、ミオシンの分裂面での滞在時間が極に比べ長いことがわかった。これがミオシンを分裂面に集合させるための1つの機構と思われる。

(5) アクチン繊維は機械ストレスで伸長すると、ピッチが変化する。一方、この変化で、アクチン結合タンパク質はアクチン繊維結合が変化するが知られている。このことは、アクチン繊維がストレスセンサーとして機能する可能性を示唆している。そこで、ミオシンの頭部 S1 を細胞に発現させると、S1 はアクチンに近い分布を示すが、アクチンとの Ratio 像から細胞内でよりストレスを受けていると思われる部位、例えば分裂面などに S1 がより集まる結果を得た。このことは、細胞内でアクチン繊維がストレスで伸長する部位にミオシンが集合できる可能性を示している。下の図は、GFP-S1 (緑) を発現している分裂細胞で、同時に蛍光ファロイジンで染色している。その蛍光のレシオ像 (白黒) から tension のかかる分裂面に GFP-S1 がより集合していることが分かる。



得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

アクチン繊維が機械センサーとして機能している可能性が示せたことは、今後の細胞生物学にとって充分インパクトを与えるものと思われる。

今後の展望

細胞には他の機械センサーも存在する可能性は充分あり、今後全体像を明らかにする必要がある。

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 3 件)

① Uyeda T, Iwadate Y, Umeki N, Nagasaki A, Yumura S. Stretching actin filaments within cells enhances their affinity for the myosin II motor domain. PLoS One, 6, e26200, 2011 (査読有).

② Iwadate Y, and S. Yumura (2009). Cyclic stretch of the substratum using a shape-memory alloy induces directional migration in *Dictyostelium* cells. Biotechniques, 47:757-767. 2009 (査読有).

③ Pramanik Md. K., M. Iijima, Y. Iwadate, and S. Yumura (2009). PTEN is a mechanosensing signal transducer for myosin II localization in *Dictyostelium* cells. *Genes to Cells*, 14: 821-834. (査読有).

[学会発表] (計 14 件)

① 藤本甲子郎, 祐村恵彦 ミオシン II による細胞極性制御 山口大学研究推進体 2011.12.20 山口市

② 宇野博之, 祐村恵彦 細胞性粘菌の細胞運動の 3 次元観察 山口大学研究推進体 2011.12.20 山口市

③ 山内大史, 祐村恵彦 細胞質分裂に関する新規遺伝子の網羅的検索 山口大学研究推進体 2011.12.20 山口市

④ 藤本甲子郎, 祐村恵彦 ミオシン II による仮足形成の制御 日本生化学会 2011.9.22 国立京都国際会館 京都市

⑤ A. Y. K. Md. Masud Rana and S. Yumura. Role of Dynamin in cytokinesis of *Dictyostelium*. 日本生化学会 2011.9.22 国立京都国際会館 京都市

⑥ 藤本甲子郎 細胞極性におけるミオシン II の役割 細胞運動研究会 2011.9.10 広島大学, 東広島市

⑦ A. Y. K. Md. Masud Rana S. Miyagishima, and S. Yumura. Dynamin contributes to the cytokinesis and cell migration in *Dictyostelium*. 細胞運動研究会 2011.9.10 広島大学, 東広島市

⑧ K. Fujimoto and S. Yumura. Regulation of cell polarity by myosin II. 日本細胞生物学会大会 2011.6.27 北海道大学(札幌)

⑨ A. Y. K. Md. Masud Rana and S. Yumura. Dynamin affects cytokinesis and cell migration in *Dictyostelium* cells. 日本細胞生物学会大会 2011.6.27 北海道大学(札幌)

⑩ N. Uematsu and S. Yumura Mechanism for association of actin and myosin II filaments at the equatorial region during cytokinesis in *Dictyostelium* discoideum 日本細胞生物学会大会 2010.5.19 大阪国際会議場 大阪市

⑪ M. Tsujioka, S. Yumura, S. Yonemura Talin A couples acto-myosin bundles to the plasma membrane. 日本細胞生物学会大会 2010.5.19 大阪国際会議場 大阪市

⑫ R. Masud, S. Miyagishima, S. Yumura. Dynamin is involved in cytokinesis of *Dictyostelium*. 日本細胞生物学会大会 2010.5.19 大阪国際会議場 大阪市

⑬ T. Uyeda, Y. Iwadate, S. Yumura, and A. Nagasaki Stretched actin filaments in cells have a high affinity for S1 of myosin II. 米国生物物理学会シンポジウム 2010.1.9 シンガポール

- ⑭ Y. Iwadate and S. Yumura A possible mechanism of directional migration in Dictyostelium cells induced by the cyclic stretch and shrinkage of the substratum, 2009.10.30 日本生物物理学会 徳島文理大学 徳島市

〔図書〕(計2件)

① 祐村恵彦・上田太郎 部分執筆 (前田靖男編) 細胞運動, 分裂の分子モーター「モデル生物: 細胞性粘菌」アイ.ピー.シー社 2012年 印刷中

② 祐村恵彦 研究をささえるモデル生物 吉川 寛他編 部分執筆 195-197. 化学同人 2009.8

〔その他〕

ホームページ等

<http://web.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~nenkin/TOPYUMURA.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

祐村 恵彦 (YUMURA SHIGEHICO)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 70183986

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

上田 太郎 (UYEDA TARO)
バイオメディシナル情報研究センター・副
研究センター長
研究者番号: 90356551

岩楯好昭 (IWADATE YOSHIKI)
山口大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 40298170