

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440107

研究課題名(和文)細胞選別に基づく自己組織的な組織構築機構の解明

研究課題名(英文) Synergistic action of nectins and cadherins generates the mosaic cellular pattern

研究代表者

富樫 英 (Togashi, Hideru)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90415240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：2種類の接着分子、ネクチンとカドヘリンによる自律的な細胞パターンの形成について検討を行った。異なる細胞の間で異なるネクチンがヘテロフィリックに相互作用するとカドヘリンを細胞接着面にリクルートする。この際、ホモフィリックな接着面よりもヘテロフィリックな接着面において、より多くのカドヘリンが集まり、細胞の辺ごとに異なる接着力を作り出すことが、異なる種類の細胞の割込みを引き起こし、結果としてモザイク様の細胞パターンを形成することがわかった。ネクチン、カドヘリン単独では複雑なパターンを作ることは出来ないが、両分子が協調することで複数の細胞パターンが作り出せることを示した。

研究成果の概要(英文)：We examined the self-organization mechanism underlying the cellular patterning. When the cells express different combination of nectins and cadherins, heterophilic trans-interaction between nectins preferentially recruits cadherin to heterotypic junctions, and the differential distributions of cadherins between junctions promote cellular intercalations, resulting in the formation of the mosaic pattern. These observations are confirmed by model cell systems, and various cellular patterns are generated by the combinatorial expression of nectins and cadherins. Collectively, the synergistic action of nectins and cadherins generates mosaic pattern, which cannot be achieved by a single mechanism.

研究分野：発生生物学

キーワード：組織形成 細胞接着

1. 研究開始当初の背景

発生過程では、異なるタイプの様々な細胞が互いに適切な相手を認識して選択的に接着、移動、集合して秩序だった組織構築を行う。感覚器では、刺激を伝達する感覚細胞とそれ以外の支持細胞が際立って特徴的なモザイクパターンで並びいわゆる感覚上皮を形成する。聴覚に関わる内耳蝸牛管の聴覚上皮では感覚細胞と支持細胞の2種類の細胞が互い違いに整然と市松模様に配列し、匂いを感じる嗅上皮では、丸く小さな嗅細胞と多角形の支持細胞がモザイク様に並ぶ。しかし、このように細胞が規則的に並び機構は全く不明であるだけでなく、機能的な意味もわかっていない。申請者は、細胞接着分子ネクチンによるヘテロフィリックな相互作用によってモザイク様の細胞選別が起こることを明らかにした。そして、聴覚上皮では感覚細胞と支持細胞がそれぞれ異なるネクチンを相補的に発現し、これらが接着面でヘテロフィリックに相互作用することが市松模様パターンの形成に必須であることを明らかにした。しかし、内耳以外の組織で、ネクチンによる細胞選別過程が関与しているかどうかは不明である。また、ネクチンはカドヘリンなどの他の接着分子と連携して細胞間接着の形成に働くが、細胞選別におけるネクチンと他の接着分子との協調についてもわかっていない。

2. 研究の目的

申請者は、上記のネクチンによる細胞選別が組織形成においても普遍的なものであるかを確認する目的で、鼻腔の嗅上皮に着目した。前述のように、嗅上皮では丸く小さな嗅細胞と多角形の支持細胞がモザイク様に並ぶ。これらの配列が発生過程の細胞の再配列運動によって生じること、また嗅細胞と支持細胞では細胞ごとに異なるネクチンとカドヘリンが特徴的なパターンで発現していることを見出している。具体的には、嗅細胞ではネクチン-2とN-カドヘリン、支持細胞ではネクチン-2と-3そしてN-とE-カドヘリン、というようにそれぞれ異なるカドヘリンとネクチンを発現している。主要な接着分子であるカドヘリンは主にホモフィリックに働くが、ネクチンはホモフィリックよりもヘテロフィリックな相互作用のほうが強い。一般的に、異なるカドヘリンを発現している細胞どうしは分離することが知られている。しかし嗅細胞と支持細胞は異なるカドヘリンを発現しているにも関わらず、これらの細胞は分離しておらず、むしろ逆に混ざり合ったモザイクパターンに並んでいる。またネクチン

とカドヘリンは共に細胞間接着の形成に働くことが知られているが、異なる接着特性をもつ2つの分子が、細胞選別の過程で協調するメカニズムはわかっていない。これまでにネクチン遺伝子や、カドヘリンの裏打ち分子

カテニン遺伝子をノックアウトしたマウスで嗅上皮の細胞パターンに異常があることがわかっている。すなわち、ネクチンとカドヘリンがいずれも嗅上皮における細胞パターンを形成する上で鍵となっている。そこで、嗅上皮組織の細胞パターンをモデルに、ネクチンとカドヘリンが協調して細胞パターンを形成するメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

嗅上皮組織における遺伝子発現解析のデータをもとに、嗅細胞と支持細胞で発現しているカドヘリンとネクチンを明らかにする。これらのデータを元に、嗅細胞、支持細胞が発現しているのと同じ組合せでネクチン、カドヘリンを発現するモデル細胞を培養細胞から作成する。これらのモデル細胞を用いて、様々な組合せの細胞選別実験を行い、細胞が自律的に作り出すパターンを検証する。また、作成したモデル細胞ごとの接着力を比較し細胞選別実験によって作られた細胞パターンとの関係を検討する。

4. 研究成果

発生過程のマウス嗅上皮では、丸く小さな嗅細胞と多角形で典型的な上皮様の形の支持細胞が特徴的なモザイク様に配列している。新生した嗅細胞は胎生14日頃から支持細胞どうしの境界面に不揃いな形で出現し、嗅細胞どうしが4~8個程度で集合する。その後、胎生16日頃から嗅細胞は支持細胞に隔てられて、互いに接することのないように散在していく。この過程を、細胞境界を標識した遺伝子改変マウスを用いて経時的に観察したところ、接した2つの嗅細胞の間に支持細胞が割込むことで、嗅細胞の分離が引き起こされていることがわかった。この再配列運動が細胞の接着親和性の違いによって制御されていると考え、発現している接着分子について検討を行った。嗅細胞ではネクチン-2とN-カドヘリン、支持細胞ではネクチン-2と-3そしてN-とE-カドヘリン、というようにそれぞれ異なるカドヘリンとネクチンを発現している。嗅細胞と支持細胞の間で異なるネクチンがヘテロフィリックに相互作用すると細胞内のカテニンを介してカドヘリンを細胞接着面にリクルートする。この際、ホモフィリックな接着面よりもヘテロフィリックな接着面において、より多くのカドヘ

リンが集まり、細胞の辺ごとに異なる接着力を作り出すことが、異なる種類の細胞の割込みを引き起こし、結果としてモザイク様の細胞パターンを形成することがわかった。ネクチン、カドヘリン単独の働きだけでは複雑なパターンを作ることは出来ないが、両分子が協調して働くことでモザイク様のパターンを作り出せるだけでなく、両分子のサブタイプの組合せによって複数の細胞パターンを作り出せることを示した。本研究によって、複数の接着分子の組合せによって多様な細胞パターンを作り出すための基礎的概念を示すことが出来た。

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 11 件)

1. Synergistic action of nectins and cadherins generates the mosaic cellular pattern of the olfactory epithelium.

Katsunuma, S., Honda, H., Shinoda, T., Ishimoto, Y., Miyata, T., Kiyonari, H., Abe, T., Nibu, K., Takai, Y., and Togashi, H.

J. Cell Biol., 212 巻, 561-575 頁, 2016 年.

査読有

DOI: 10.1083/jcb.201509020

2. 感覚器におけるモザイク様の細胞パターンを制御する分子機構

富樫 英

耳鼻咽喉科ニューロサイエンス, 印刷中, 2016 年.

3. Continuous models for cell-cell adhesion.

Murakawa, H. and Togashi, H.

J. Theor. Biol., 374 巻, 1-12 頁, 2015 年.

査読有

DOI : 10.1016/j.jtbi.2015.03.002

4. 内耳聴覚上皮における市松模様の細胞パターンを制御する分子機構

富樫 英

日本耳科学会誌, 25 巻, 129-133 頁, 2015 年.

5. Aberrant cochlear hair cell attachments owing to nectin-3 deficiency cause hair bundle abnormalities.

Fukuda, T., Kominami, K., Wang, S., Togashi, H., Hirata, K., Mizoguchi, A., Rikitake, Y., and Takai, Y.

Development, 141 巻, 399-409 頁, 2014 年.

査読有

DOI: 10.1242/dev.094995

6. Afadin regulates puncta adherentia junction formation and presynaptic differentiation in hippocampal neurons.

Toyoshima, D., Mandai, K., Maruo, T., Supriyanto, I., Togashi, H., Inoue, T., Mori, M., and Takai, Y.

PLoS ONE, e89763, 2014 年.

査読有

DOI: 10.1371/journal.pone.0089763

7. 感覚器を作る細胞の動態と相互認識の仕組み

富樫 英

細胞工学, 33 巻, 628-632 頁, 2014 年.

8. 嗅上皮の細胞配列を制御するネクチンの働き

勝沼 紗矢香, 富樫 英, 高井 義美, 丹生 健一

耳鼻咽喉科ニューロサイエンス, 28 巻, 21-23 頁, 2014 年.

9. Association analysis of the DISC1 gene with schizophrenia in the Japanese population and DISC1 immunoreactivity in the postmortem brain.

Ratta-Apha, W., Hishimoto, A., Mouri, K., Shirowa, K., Sasada, T., Yoshida, M., Supriyanto, I., Ueno, Y., Asano, M., Shirakawa, O., Togashi, H., Takai, Y., and Sora, I.

Neurosci Res., 77 巻, 222-227 頁, 2013 年.

査読有

DOI: 10.1016/j.neures.2013.08.010

10. Regulation of dendritic filopodial interactions by ZO-1 and implications for dendrite morphogenesis.

Komaki, R., Togashi, H., and Takai, Y.

PLoS ONE, e76201, 2013 年.

査読有

DOI: 10.1371/journal.pone.0076201

11. 神経細胞における接着分子の多様な働き
細胞接着分子によるシナプス形成と神経突起間認識の分子機構

富樫 英

日本薬理学雑誌, 142 巻, 100-105 頁, 2013 年.

[学会発表](計 11 件)

1. Synergistic Action of Nectins and Cadherins Establish the Mosaic Cellular Pattern of the Olfactory Epithelium

Katsunuma, S., Togashi, H., and Nibu, K.

13th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 東京都千代田区, 2015年12月3-4日.

2. Synergistic Action of Nectins and Cadherins Establish the Mosaic Cellular Pattern of the Olfactory Epithelium

Katsunuma, S., Honda, H., and Togashi, H.
The 26th CDB Meeting, Mechanistic Perspectives of Multicellular Organization, 兵庫県神戸市, 2015年9月8-9日.

3. 感覚器におけるモザイク様の細胞パターンを制御する分子機構

富樫 英
第33回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会, 大阪府大阪市, 2015年8月29日.

4. 嗅上皮の細胞の並び方を形成するネクチンとカドヘリンの協調的な働き

勝沼 紗矢香, 富樫 英, 丹生 健一
第33回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会, 大阪府大阪市, 2015年8月29日.

5. The cellular dynamics of mosaic pattern formation in the sensory organs

Togashi, H.
MBI-Japan Joint Symposium on "Mechanobiology of Development and Multicellular Dynamics" Mechanobiology Institute (MBI), Singapore, 2014年12月2-4日.

6. Nectins and Cadherins Cooperatively Regulate Mosaic Cellular Patterning in the Olfactory Epithelium

Katsunuma, S. and Togashi, H.
The 62nd NIBB Conference, Force in Development, 愛知県岡崎市, 2014年11月17-19日.

7. 内耳聴覚上皮における市松模様の細胞パターンを制御する分子機構

富樫 英
第24回日本耳科学会総会, 新潟県新潟市, 2014年10月15-18日.

8. 聴覚上皮における市松様の細胞配列を形成する分子機構

富樫 英
第55回日本組織細胞化学会, 長野県松本市, 2014年9月3-4日.

9. Nectins and Cadherins Cooperatively Regulate the Cellular Rearrangements in the Olfactory Epithelium

Togashi, H., Katsunuma, S., and Takai, Y.

Exciting Biology Series, Biology of Boundaries, クロアチア, 2013年10月17-19日.

10. 嗅上皮の細胞配列を制御するネクチンの働き

勝沼 紗矢香, 富樫 英, 高井 義美, 丹生 健一
第31回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会, 大阪府大阪市, 2013年8月24日.

11. アファディンの海馬神経細胞におけるシナプス形成への関与

丸尾 知彦, 豊嶋 大作, 萬代 研二, 富樫 英, 井上 貴仁, 山本 昆明, 三好 淳, イルワンス プリヤント, 森 正弘, 高井 義美
Neuro2013 日本神経科学会・日本神経化学会・日本神経回路学会, 京都府京都市, 2013年6月20-23日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

富樫 英 (TOGASHI, Hideru)
神戸大学大学院・医学研究科・助教
研究者番号: 90415240