

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「器官形成に於ける細胞遊走の役割及びそのシグナリングと再生への応用」

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

竹縄 忠臣 (東京大学医科学研究所 教授)

主たる共同研究者

遠藤 剛 (千葉大学理学部生物学科 教授)

3. 研究内容及び成果

細胞運動(遊走)は免疫担当細胞の移動、皮膚創傷の治癒、癌細胞の浸潤、転移から器官形成や再生に至る、様々な生命活動に関係する、生物の根幹をなす現象の一つである。形態形成には様々な細胞が決められた時期、所定の場所に遊走し、器官を形成すると考えられる。我々は WASP/WAVE ファミリータンパク質が細胞のアクチン骨格系の再構成を介して細胞運動を制御し、形態形成にかかわっていることを本プロジェクトで証明した。

竹縄グループの研究成果:

まず WASP/WAVE ファミリー蛋白質がどのように細胞の運動や組織形成に関与しているかを明らかにする基礎的データを得るため、細胞がいかにして運動するのか、遊走細胞先端部でどのようにして細胞推進力を生じているのかを調べた。

N-WASP や WAVE の C 末には verplorin 相同領域(V)と cofiln 様領域(C)及び酸性に富むアミノ酸配列(A)がある。V 領域は単量体アクチン結合領域であり、CA 領域は Arp2/3 複合体に結合、活性化して、アクチンの重合を促す部位であることを示した。よって VCA 領域はアクチン重合の触媒領域であり、WASPファミリータンパク質の Arp2/3 複合体活性化に必要な最小領域である。Arp2/3 複合体はアクチンの核化を引き起こし、メッシュ状の新たなアクチン線維の形成に必須の役割を果たす。次に、N-WASP や WAVE のどの領域がメッシュ状のアクチン構造形成に必要であるかを調べた。その結果、VCA 領域に加え、塩基性領域が枝分かれ構造形成に必須であることが分かった。塩基性の領域はすでに存在しているアクチン線維のサイドに結合する活性を有し、Arp2/3 複合体をアクチン線維の側鎖にリクルートする。その結果、アクチンがすでに存在する線維の側鎖から伸び、枝分かれ状の構造を作ることが分かった。これらの構造は遊走している細胞の先端部で見られる構造と同一であり、細胞が推進力を得るのに必須であると考えられた。

次に、WAVE 蛋白質の形態形成期での機能を調べるため、WAVE1 および WAVE2 のノックアウトマウスを作成した。WAVE1 のノックアウトマウスは生後3-4週まで生きていたが、WAVE2 のノックアウトマウスは胎児期の 10.5 日で死亡した。WAVE1 ノックアウトマウスでは

脳の層構造に一部異常が認められたものの、著明な変化はなかった。一方、WAVE2 のノックアウトマウスでは胎児期の10日頃に起こる、血管新生に異常が起こり、出血で死亡した。この原因を詳しく解析するため、様々な部位での血管の切片を切って組織染色し調べた。すると発生初期の頃に起こる原始的な血管の形成は正常に起こっているが、その後起こる血管のリモデリング、血管新生に異常が見られることが分かった。ノックアウトマウスでは 10 日ころに生じる神経管の中への血管の進入も認められず、いったんでき上がった血管の複雑な血管への移行が妨げられることが分かった。また血管の内皮細胞を取りだし、VEGF による遊走を調べた。WAVE2 ノックアウトマウスから取った内皮細胞は VEGF 刺激による、遊走先端部での葉状仮足形成が著しく阻害されていた。これらの結果から WAVE2 は血管新生において内皮細胞の遊走に関わり、複雑な血管網を作るのに必須であると考えられた。

遠藤グループの研究成果:

筋再生の過程でみられる筋細胞分化や筋成熟、および筋肥大は IGF-1 シグナリングにより誘導される。IGF-1 シグナリングは蛋白質合成を促進することにより筋再生や筋肥大を誘導すると考えられている。しかし筋再生や筋肥大には、蛋白質合成の亢進とともに、収縮構造である筋原線維の形成が必要である。そこで IGF-1 シグナリングがどのような分子機構で筋再生や筋肥大における筋原線維形成を誘導するかを調べた。筋再生の過程で筋原線維の Z 帯の形成とともに N-WASP が Z 帯に局在化していった。また IGF-1 刺激により N-WASP が Z 帯に局在化した。この N-WASP の Z 帯への局在化は、Z 帯に入り込んでいる nebulin の C 末端の SH3 ドメインに、N-WASP のプロリンに富んだ領域が結合することによりもたらされた。この nebulin との結合により N-WASP は活性化され、Arp2/3 複合体を介してアクチン重合を引き起こした。Nebulin の C 末端側は GSK-3 \cdot によりリン酸化され、このリン酸化により nebulin と N-WASP の結合は抑制された。しかしこの結合の抑制は、IGF-1 シグナリングで活性化される PI3K-Akt により GSK-3 \cdot がリン酸化されることによって解除された。さらに N-WASP ドミナントネガティブ変異体を発現させることにより、筋再生における筋成熟および、IGF-1 による筋肥大が抑制された。したがって IGF-1 シグナリングによる筋再生と筋肥大における筋原線維形成は、このシグナリングによって誘導される nebulin-N-WASP の結合によるアクチン重合を介してもたらされると考えられた。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

研究代表者は従来から細胞骨格のダイナミズムおよび細胞運動に関する細胞生物学の研究で大きな成果をあげてきたが、本研究プロジェクトはそれをさらに発展させて、器官形成や細胞移動の分子機構を明らかにすることを期したものである。実際、WASP/WAVEファミリー蛋白質に関する分子解剖学的解析をすすめ、アクチンとの相互作用の詳細を明らかにして細胞の遊走における推進力の分子機構を明らかにすることができた。またこれらの遺伝子

のノックアウトマウスを作成してその発生過程を追跡することにより、神経系の発生や血管形成におけるこれらの細胞移動機構の重要性を証明することができた。さらに共同研究者との協力により、筋再生におけるN-WASPの新しい機能を明らかにしたことも重要な研究の展開であったと高く評価される。本研究により、従来はきわめて細胞生物学的であった研究代表者の研究が発生生物学における器官や組織の構築の機構の研究に巾を広げることとなったことは、さらに今後の研究の展開が期待できる。これらの研究成果は Nature, Science, Develop. Cell などのトップジャーナルに発表されており、CREST研究として十分に高い成果をあげたと評価できる。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

本研究プロジェクトの成果は基礎医学的なものですぐに医療応用につながるというものではないが、再生医療などの基礎過程の研究として重要な貢献をしたものと評価できる。再生医療にせよ移植療法にせよ、細胞移動や組織の構築における分子過程の理解は必須であり、このような地道な基礎研究の支えがなければ発展し得ないものである。細胞生物学の高度な研究をしてきた研究代表者がその成果を応用して発生生物学の研究に進む第一歩が成功したことは、今後の研究に大きく貢献するものであり、本研究領域の戦略目標ともよく一致するものである。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

(受賞)

竹縄忠臣： 東レ科学技術賞(2006年3月)