

Biochemistry

生体物質化学 I

I ショウジョウバエをモデル系とした上皮形態形成の機構

Mechanisms of epithelial morphogenesis using *Drosophila* as a model system

稲木美紀子

Inaki, M.

上皮細胞は組織を構成する層状の構造をもつ細胞集団であり通常移動能をもたないが、発生の必要な段階で間葉系の細胞に転換してアメーバ状に移動したり、シート構造を維持したまま集団で移動する。適切な移動能の制御は、正常な組織の形態を獲得するのに必須であると同時にがん化して転移することを防ぐためにも重要である。多彩な遺伝子操作やモデル化への適応が可能なショウジョウバエを用いて、これらの制御機構を解明する研究を行なっている。

(1) 上皮細胞の移動能獲得機構の解明

ショウジョウバエ卵巣のボーダー細胞は、上皮層から分化し移動能を獲得して 8-10 細胞程度の集団で自由に移動する。上皮間葉転換しつつ細胞同士の接着を維持し、集団でガイダンスシグナルを読み取って移動する。これまでの研究で、集団移動のガイダンス機構および JAK/STAT シグナル伝達の下流で運動性と浸潤性が独立に獲得されることを示してきた。しかしながら、具体的にどのような遺伝子が、細胞のどのような特性を変化させるのに必要十分であるかはわかっていない。これまでに、移動能獲得状態の異なる 3 つの遺伝子型（野生型、slbo 突然変異体、JAK/STAT 阻害）のボーダー細胞において RNA シーケンス法により遺伝子発現解析を行なった。主成分解析および遺伝子オントロロジー解析を行い、これらの遺伝子型の遺伝子発現プロファイルを比較した。また、有意に 2 倍以上発現差のある遺伝子に関して表現型解析をするための系統を作製した。

(2) 左右非対称な消化管の形をつくる上皮シートの移動に関する研究

ヒトの大腸と小腸にあたるショウジョウバエ胚の後腸は、初め左右対称な構造として形成された後、胚の後方からみて反時計回りに 90 度回転し、左右非対称な形態となる。これまで、その回転に必要な細胞移動および三次元の細胞の形態変化をシミュレーション結果に基づき明らかにしてきた。また、この左右性は、1 型ミオシンである Myosin1D により決定されることが知られている。しかしながら、Myosin1D が左右非対称な細胞移動を制御する機構は明らかになっていない。また、3 次元の形態変化に、主に上皮の形態変化に寄与するといわれている頂端面に加えて基底面の変形も重要であることがシミュレーションから示唆されているが、基底面の変形の機構もわかっておらず、これらを解明する研究を行なっている。

(2-1) 後腸の左右性を決める因子の探索

Myosin1D の突然変異体では、内臓がランダム化するのではなく、逆位となるため *Myosin1D* がない状態で左右の向きを決定する因子が存在する。その候補として、別の 1 型ミオシンである *Myosin1C* が考えられるが *Myosin1C* の突然変異を加えても表現型に変化はない。*Myosin1D* の突然変異体の左右性

を決定する因子を探索する目的で、他の系で左右性に関わることが知られている II 型ミオシンをコードする *sqh* 遺伝子およびアクチン重合因子であるフォルミンをコードする *DAAM* 遺伝子との相互作用を調べた。その結果 *sqh* 遺伝子は、Myosin1D の突然変異体でみられる左右性をランダム化する活性があることがわかった。今後さらに、I 型ミオシンと II 型ミオシンの作用機序を明らかにする。

(2-2) 後腸変形に寄与する基底膜動態の解明

後腸回転の 3 次元シミュレーションの結果から、後腸の回転には、個々の後腸上皮細胞の基底面の回転が重要であることが示唆されている。通常上皮細胞の基底面は基底膜に覆われているが、予測された基底面の動きが可能になるには基底膜が柔らかい必要があるのではないかと予測し、基底膜成分の局在を調べたところ後腸の周りで特異的に局在が抑えられていることを発見した。その局在抑制は、後腸上皮によるラミニンの発現抑制に起因するのではないかと仮説を立て、後腸上皮でのラミニンの過剰発現と同時に貪食細胞から分泌されるコラーゲン IV を同時に可視化できる系の構築を試みた。QF—QUAS 系を用いて GFP 標識したコラーゲンを発現させる系統を作製した。

II 肝細胞の細胞極性と低分子有機化合物に対する生体 防御系の機能制御

Regulation of Anti-organochemical Detoxification System in the Liver

衣斐義一、稲木美紀子
Emi, Y., Inaki, M.

我々のからだには、体内で合成されたホルモンなどの生体物質のほか、食物などから摂取した多種の有機化合物を、適切に処理して無害化して排出する仕組みが備わっている。肝臓で行われている異物代謝経路は、初めに酸素添加などにより官能基を導入し、続いてグルクロン酸などの水溶性原子団を抱合し、最後に代謝物を細胞外へ排出する 3 つのステップに分けられる。

ビリルビン为例にとると、ビリルビンの蓄積によって起きる黄疸の重症化で神経核などが障害される。そこでビリルビンの毒性に対する防御が必要となる。血中のビリルビンは、肝細胞の類洞側細胞膜にある輸送体 (OATP1B1 および OATP1B3) によって取り込まれ、小胞体の UDP-グルクロン酸転移酵素によってグルクロン酸抱合され、肝細胞の胆管側細胞膜にある輸送体 (ABCC2) によって排出される。これらのタンパク質の機能や局在化を正常に保つことによって、ビリルビンの過剰な蓄積を防止している。当研究室では、これらの防御系タンパク質の発現制御、生合成されたタンパク質の局在や機能を制御するしくみを解き明かし、化学物質に対する生体防御系の制御機構を明らかにすることを目標にして研究を進めてきた。

現在、肝細胞での化学物質の取り込みと排出に関わる輸送体タンパク質に焦点を当て研究を進めている。ABCC2 はグルクロン酸抱合体などを肝細胞から胆管へ排出する輸送体であり、肝細胞において血管側ではなく胆管側の細胞膜に極性をもって局在化する。ABCC2 と同じファミリー C に分類される ABCC1 と OATP1B1 および OATP1B3 は、肝細胞において胆管側ではなく血管側の細胞膜に局在化する。同じ細胞膜であっても、このように極性の異なる局在化様式があるが、極性局在化を制御するしくみに関して全容解明から程遠いのが実状である。そこで、極性局在化の制御を明ら

かにする研究を進めている。

(1) ABCC2 の極性局在化を決定するシグナル配列の一つとして見出された、283 番目のセリンから始まる配列 (SQDAL) と結合するタンパク質として、GPRASP2 を酵母ツーハイブリッド法により見出しており、ABCC2 を細胞膜に標的化させる機構を明らかにする研究を進めている。

(2) 酵母ツーハイブリッド法によって ABCC2 のカルボキシ末端部に結合するタンパク質をスクリーニングし、その一つとしてクラスリン被覆小胞に付随するタンパク質として知られている NECAP1 を見出した。エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれた ABCC2 を細胞膜に再循環させる過程において、NECAP1 がはたらいていることを証明すべく研究を進めている。

(3) 12 回膜貫通型でファミリー C に分類される ABCC4 や ABCC7 について、上皮細胞の頂端側細胞膜への極性局在化を規定するシグナルの一つとして、トリプトファンから始まる配列 (WDRE) で表されるモチーフを見出した。また、ABCC4 の局在化シグナル (WDKE) を見出した。

(4) OATP1B1 および OATP1B3 の極性局在化を決定する仕組みを解明する研究が進行中である。

発表論文 List of Publications

- I-1 Higashi T., Shin D., Nomura T., Neugebauer F., Inaki M., Matsuno K., " Identification of mechanisms underlying left-right symmetry breaking in the embryonic midgut using an image-standardization technique in *Drosophila*." 第 57 回日本発生生物学会、2024 年 6 月、京都
- I-2 Inaki M., Okuda S., Matsuno K., " Self-organized mechanism of epithelial deformation in the *Drosophila* embryonic hindgut." Self-Organization in Biology: Freiburg Spemann-Mangold Centennial Symposium、2024 年 9 月、ドイツ
- I-3 北村 大樹、西川 遥波、稲木 美紀子、松野 健治 「I 型ミオシンが誘発する細胞キラリティとキラルなアクチンファイバーの関連性の解明」 第 47 回日本分子生物学会年会、2024 年 11 月、福岡
- I-4 西川 遥波、北村 大樹、稲木 美紀子、松野 健治 「細胞キラリティを形成する I 型ミオシンによって誘発されるキラルなアクチン・ファイバーの細胞内動態」 第 47 回日本分子生物学会年会、2024 年 11 月、福岡
- I-5 Neugebauer F., Higashi T., Umetsu D., Inaki M., Nakamura A., Matsuno K., " Unraveling the genetic regulatory network controlling L-R asymmetry formation in the anterior gut of *Drosophila melanogaster*." 第 47 回日本分子生物学会年会、2024 年 11 月、福岡
- I-6 Inaki M., Okuda S., Matsuno K., " Distinct collective cell behaviors independently regulate the rotation and elongation of the embryonic gut in *Drosophila*." 2025 Gordon Research Conference on: Directed Cell Migration、2025 年 1 月、イタリア
- II-1 Emi Y. and Sakaguchi M., " Cellular mechanisms controlling localization of ABCC2 to the apical plasma membrane in polarized epithelial cells." 第 47 回日本分子生物学会年会、2024 年 11 月、福岡

科学研究費補助金等

- 1 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術変革領域研究(A)公募研究 (令和5年度～令和6年度)
課題番号 23H04312
研究課題 非細胞素材の局在制御による消化管の形態形成機構の解明
研究代表者 稲木美紀子

- 2 日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術変革領域研究(A)公募研究 (令和6年度～令和7年度)
課題番号 24H01285
研究課題 細胞の左右極性を決定するメゾ複雑体の同定
研究代表者 稲木美紀子

- 3 (公財) 第一三共科学研究振興財団 PI セットアップ研究助成 (令和6年度～令和7年度)
研究課題 ショウジョウバエ卵巢上皮をモデル系とした集団移動性獲得機構の解明
研究代表者 稲木美紀子