

文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究

動く細胞と場のクロストークによる 秩序の生成

Cross-talk between moving cells and microenvironment
as a basis of emerging order in multicellular system

Newsletter

Vol.2

January 2013

C O N T E N T S

- 01 領域代表あいさつ
- 02 領域評価委員からの言葉

領域内研究紹介

- 03 **タリンは細胞骨格と細胞膜を繋ぎ、細胞変形を導く**
辻岡 政経
- 04 **発生期大脳皮質の動く神経細胞の挙動を
制御するしくみを解明**
仲嶋 一範
- 06 **組織形成における細胞運動の制御機構とその破綻：
GEP100-Arf6-AMAP1 経路の制御破綻と
癌の浸潤・転移形質獲得の分子機序**
橋本 茂
- 11 **高速原子間力顕微鏡を用いた生細胞分子イメージング**
田岡 東
- 12 **基質牽引力に基づく遊走細胞の前後極性形成**
岩楯 好昭
- 13 **血管のかたちづくりを理解したい**
西山 功一
- 15 **免疫細胞が炎症組織内で集合体を作るしくみ**
長谷川 明洋
- 17 **Tre1 GPCRシグナルによる幹細胞の分裂方向制御機構**
吉浦 茂樹

コラム

- 08 **あなたは天才？ それとも凡人？**
林 茂生
- 16 **神経細胞に魅せられて**
六車 恵子
- 18 **動くリンパ球がもたらす動的な秩序：
in vivoイメージング事始め**
木梨 達雄
- 20 **リンパ球の遊走の仕組み**
片桐 晃子

班会議開催報告

- 21 **第5回領域会議に参加して**
柴田 幸政
- 22 発表論文リスト
- 25 研究一覧

領域代表あいさつ

新学術領域「動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成」(略称「動く細胞と秩序」)は、発足3年度目の終盤にさしかかっております。今年度は、公募研究を迎えての2年目となり、昨年度から萌芽していた交流がいよいよ本格化した例なども含め、さまざまな活動が盛んに行なわれてきました。ニュースレター前号以降を振り返りますと、まず昨年度後半(3月)、「若手の会」が行なわれました(有馬)。合宿形式で、口頭発表に引き続いての深夜にまで及ぶ濃密なディスカッションが繰り広げられました。そして、9月に班会議を行ないました(湘南国際センター)。昨年度からの進捗が披露され、充実した相互刺激、そしてさらなる連携開始の場となりました。

今年度は、中間評価の年度です。領域内からの情報収集(これまでの研究内容、その成果発表、技術支援、交流、アウトリーチ等について)、評価用資料提出(6月)、ヒアリング(9月)と進み、おかげさまで10月に「A(研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる)」との判定をいただきました。領域の各研究代表者、各チームの構成メンバー、班友、評価委員、さらには領域間の交流等でお世話になった多くの先生方など関係者各位に、代表として感謝申し上げます。以下に、「評価・コメントを踏まえた今後の対応」として提出を求められた私からの意思表示(抜粋)をお示しします。なお、評価・コメントの内容は以下のHPでご覧いただけます。

http://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/d_biosci/cross-talk/images/3202.pdf

まず、当領域の取り組みを評価いただいたことを感謝したい。多様な系・細胞タイプを対象とする研究者の「寄せ集め」ではとの危惧は、領域申請時から公募研究決定を経て現在までの自問に他ならず、多様な集まりであればこそその学術上の「秩序」が生じるよう、連携の意識を持ち合うことを通じて努力をしてきたが、その意図、取り組みを基本的にお認め下さったことに安堵し、励まされる。期待に応えるべく、ご指摘の点につき、下記のように努める。

ここまでの領域内連携(主には技術的な)によって「個々の現象の説明」に対して解決を与えた事例があることは評価いただいたが、これからは、その次のステップとして「個々の現象を越えた理解」をめざすようエンカレッジされた。不足点および方策として示された以下の2項目について真摯に受け止め、取り組みたい。

1. コンセプト・言葉の定義の共有化

①「どのように(how)動くか」という研究に加えて「何のために(何故)動くのか」という研究。②「動き」「ゆらぎ」「ランダムさ」などの言葉の定義について実験系と理論系で共通認識を持つ必要

<対応方針>

... それぞれの研究において細部から全体像に向けてのズームアウトを常に意識し、生物界における効率の研ぎすまされ方、巧みさを分野および細胞種を越えて学び合う姿勢をこれまで以上に持ち合う必要がある。領域研究の前半では、多様な研究者集団が初めて一堂に会したため、個の系・対象細胞の紹介・把握にある程度時間を要した、と省みることが、現時点ではできる。それが「連携の意義が個における突破にとどまっている」との指摘につながったと考える。したがって、領域研究の後半では、「個」の紹介の際に、常に、その研究が「全体(生物界の)」の理解を支える一翼であるという意識を紹介者と聞き手が「共有」することがまず重要と考える。班会議での発表にもそうした姿勢をあらかじめ求める。例えば、アブストラクトの一部に(あるいはページを追加して)「全体」の学び、共通性の抽出につながりそうな概念上、機構上の特徴点・利点を、「なぜ動く」の既知・未知も交えつつ、明記する。「言葉」についても、そうした「全体のための記載部分」において『めいめいにとつての『動き』『ゆらぎ』『ランダムさ』の捉え方』をまず明記し、それを相互比較・批判しながら、正確かつ共有的な使用法を得る。「ゆらぎ」については、技術支援の一環で統計的な解析手法が「ゆらぎ」定義に深く貢献することを講義・実習してきており、こうした取り組みを後半も充実させる。

2. 解析方法上の連携

「数理モデル」「シミュレーション」「理論解析」「能力の高い数理研究者を積極的にリクルート」

<対応方針>

中間審査に向けて「自己評価」を領域総括班の「評価委員」の意見を踏まえつつ行なう過程において、「ゆらぎから秩序」の理解を「共有」する大きな力はモデル化であろうとの領域申請時の「初心」を再確認した。そのため、平成25-26年度の公募研究では、前半に設けた3研究項目、すなわち「A01 分子から細胞へ」「A02 細胞から組織へ」「A03 組織から器官へ」という階層上昇的な枠組みに加えて、階層通貫的に「A04 動く細胞の理論」を設けることにした。領域内での「支援」の一項目として統計学的解析手法の学習コースを複数回にわたり開催してきたが、後半も継続する。また、定量的データ取得と数理モデル化の具体的な成功事例の紹介をH24年度後半の班会議においてジョイント発表形式で行なうことにしているが、次年度以降もそうした枠を設ける。H24年度に他の新学術領域と定量的解析、数理モデル化に関するの合同集会を共催し、モデル化についての意識・情報を共有できたが、今後も学術的交流と情報交換を続け、適材適所の人材確保をサポートし合う。

「動く細胞と秩序」、後半の活動を一層充実してまいりたいと思います。どうぞよろしくお願いいたします。



名古屋大学
大学院医学系研究科 教授
宮田 卓樹

新領域「動く細胞と秩序」の 領域活動に期待すること

藤森 俊彦 (基礎生物学研究所)

生き物の醍醐味は“動き”である。もちろん、その“動き”には空間・時間的に様々なスケールが見られる。本領域では、空間では大きくても1つの個体まで、時間は長くても数日までというスケールを研究対象としている。様々な種類の生物、その細胞がどのように動き、その動きがどのように制御されているかを多面的に攻める研究が集まっているのが特徴である。

班会議で発表を聞かせてもらった時、木梨グループが進めている2光子顕微鏡を用いてリンパ球が組織内で動き回る様子を撮影した画像は衝撃的であった。発生における細胞の動きなどを見ているのとはかなり違う速い時間スケールでしかも高品位の画像として細胞の動きを捉えられることに驚いた。宮田グループの神経上皮細胞が混み合った集団の中で動く様子、それを念入りに追いかける研究も印象的だった。根性に入った観察を進める研究が公募研究を含め領域内に集まってきており、領域内で班員同士が相互に良い刺激になっているに違いない。“見る”ことに関して、系は異なるが画像取得についてはそれぞれが工夫を

凝らしており、高い技術でそれぞれ対象とする細胞の動きが良く見えるようになってきている。得られている膨大な画像データをどのように処理できるかという点に、今後もっと工夫をされるべきであろう。現状では、“根性”で人の目をつかって解析を早く終了し、得られる生物学としての新しい情報にたどり着き、仕事としてまとめるというのが現実的な進め方なのかもしれない。一方で、本領域内で先行している印象がある上田グループが進めるような、画像からの自動解析化、さらにはモデルを立ててのシミュレーションなどの手法を身近に見て取れることの影響は大きい。学会活動では会うことのない研究者同士が、「動く細胞」をキーワードにつながることは容易ではないだろうと想像していたが、それが意外と上手く相互作用しあっていると感じている。

今後は、それぞれの系の研究を大切に、高め合いながらも、本領域の目指す「細胞と場が作用しあうことで生まれる秩序形成」のロジックが階層を超えてひもとかれていくことで生物学に新たな理解をもたらすことに大いに期待したい。

タリンは細胞骨格と細胞膜を繋ぎ、細胞変形を導く

辻岡 政経（大阪大学大学院理学研究科 上田グループ）

生体中の細胞は通常、周囲の細胞または細胞外基質と接着しており、細胞-基質間の接着構造を特に接着斑と呼ぶ(図1)。接着斑は細胞が運動するための足場であり、また、細胞はこれを介して外界とシグナルのやり取りを行うため、まさに細胞と場のクロストークを担う領域である。接着斑では、 α 鎖と β 鎖からなるヘテロ二量体接着分子のインテグリン(integrin)が基質との接着を担い、その細胞質側では多様なタンパク質が複合体を形成している。接着斑の中心的な構成分子であるタリン(talin)は、インテグリンを活性化して接着できる状態にするとともに、インテグリンとアクチン細胞骨格を繋ぎ、運動駆動力を基質に伝える役割を果たしている。また、シグナル伝達系の分子とも結合し、細胞と外界とのシグナルのやり取りにも関与している。細胞の運動や外界とのやり取りが適切に行われるためには、接着斑が形成されるだけでなく、適切なタイミングで解消されなければならない。例えば、細胞は移動する時、細胞前端で新たに接着し、後端では接着が解消される。細胞前端での接着斑の形成にタリンが必要であることはよく知られていたが、今回我々は、細胞性粘菌のタリンホモログの一つであるタリンAが、細胞後端に集積してアクトミオシンと接着分子を繋ぎ、アクトミオシンの収縮に伴って接着を解消させることを見出した(Tsujioka et al. PNAS 2012)。この報告ではまた、アクトミオシンと細胞膜を繋ぐタリンの機能が、細胞分裂にも関与していることを示した。今回の研究で用いた細胞性粘菌は、活発なア

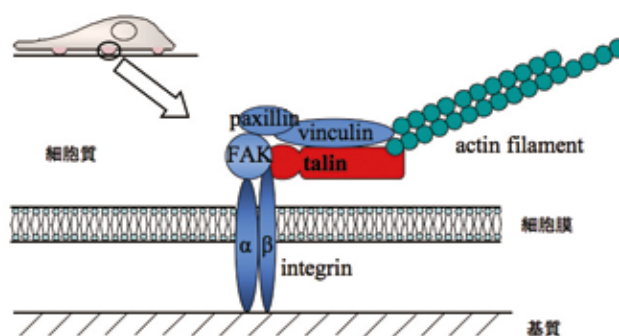


図1 接着斑の簡略図

メーバ様運動を行い、かつミオシンII遺伝子を1つしか持たないため解析がし易い。上記の報告について以下に紹介したい。

細胞後端で接着解消を促進するタリン

細胞は移動する際、アクチン重合により前端を伸長して新たに基質に接着し、後端は収縮して接着が解消される。細胞後端の収縮は、アクチンとミオシンIIからなる収縮性のアクトミオシン繊維が細胞膜直下で収縮することによりなされる。アクトミオシンの収縮に伴って細胞の変形が起こるためには、アクトミオシンが細胞膜と繋がっている必要がある。

細胞性粘菌のタリンホモログの一つであるタリンAは、直進する細胞の後端に局在しており、これはミオシンIIの局在と良く一致していた。また、ミオシンIIを欠損させると、タリンAの細胞後端への局在が失われることから、タリンAとミオシンIIの相互作用が示唆された。次に、タリンAの細胞後端にお

ける役割を調べた。タリンA欠損細胞は直進する際、後端に細長い尾を引きずる傾向があり、細胞膜が細胞外基質からうまく剥がれない様子だった。そこで、細胞性粘菌においてインテグリンの役割を果たすSibAを同時欠損させたところ、細胞後端の尾は生じなくなった。これらの結果から、タリンAが細胞後端でアクトミオシンとSibAを繋ぎ、アクトミオシンの収縮による後部収縮の際、SibAを物理的に引っ張って接着を剥がすというモデルを提案した(図2)。タリンA欠損細胞では、アクトミオシンとSibAが適切に繋がれていないため、SibAが引っ張られず、接着が解消されにくいと予想している。

タリンによる収縮環と細胞膜のリンク

アクトミオシンは細胞分裂においても重要な役割を果たしている。分裂する細胞では、中央領域の細胞膜直下にアクトミオシンがリング状に配置して収縮環が形成される。これが収縮することによって中央領域が括れて分裂溝が形成され、やがて細胞は二つに分裂する。この場合も、収縮環が細胞膜に繋がっていないと、分裂溝形成を導くことはできない。タリンA欠損細胞は、振盪培養下で多核化することが知られていたため、我々は細胞分裂におけるタリンAの機能にも注目した。細胞分裂時のタリンAの局在を調べたところ、分裂溝でミオシンIIと共局在していた。タリンA欠損細胞の分裂を詳しく観察すると、分裂溝のくびれに対する物理的抵抗が大きくなるアガロースシート下

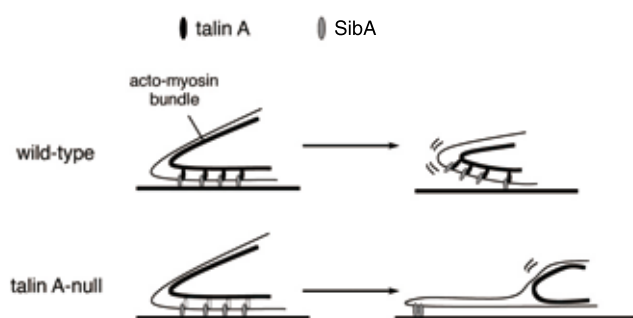


図2 接着解消におけるタリンAの機能

上段:野生株の細胞後端では、アクトミオシンの収縮に伴い、タリンAが接着分子SibAを引っ張って接着解消を促進する。下段:タリンA欠損細胞では、SibAを効率よく引っ張ることができないため、接着が維持され、尾を引きずる。

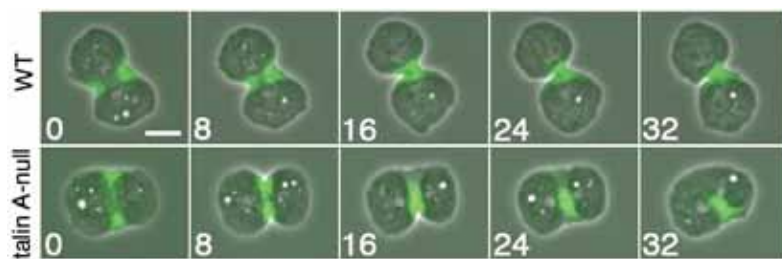


図3 タリン A欠損細胞の分裂失敗の様子。野生株(上段)ではGFP-myosin II(緑)が集積する分裂溝が細く括れるが、タリンA欠損株では初期の段階で収縮環と細胞膜が乖離し(16分後)、分裂に失敗する。

では、収縮環から細胞膜が剥離してしまい、細胞分裂に失敗した(図3)。したがって、タリンA欠損細胞では収縮環と細胞膜のリンクが弱いことが示唆された。以上の結果から、細胞後端同様、分裂溝でもタリンAがアクチオシンと細胞膜側を繋いでいる可能性が高い。

タリンによる細胞膜 –アクチオシン間リンクの分子機構

最後に、アクチオシンと細胞膜の、タリンAによるリンクの分子機構について考察を行った。タリンにはN末端に脂質に結合するFERMドメインがあり、細胞膜成分であるホスファチジルイノシトール二リン酸[PtdIns(4,5)P2]がこの領域に結合することによって活性化されることが知られている。生化学的実験により、タリンAのFERMドメインもPtdIns(4,5)P2に結合すること

が示された。また、タリンAが局在する前進細胞の後端や分裂溝周辺の細胞膜は、PtdIns(4,5)P2に富んでいることが示唆されている。一方、タリンのC末端にはI/LWEQモジュールと呼ばれるアクチン結合ドメインがある。タリンAのI/LWEQモジュールのみにGFPを繋いで細胞内局在を観察すると、タリンA全長同様、前進細胞では後端、分裂細胞では分裂溝に局在していた。また、タンパク質の結合実験では、タリンAはミオシンIIと直接結合しているのではなく、アクチンを介してアクチオシンと結合していることが示唆された。これらの結果から、タリンAは細胞後端や分裂溝でPtdIns(4,5)P2によって活性化され、SibAなどの膜タンパク質と結合し、C末端でアクチンと結合することにより、細胞膜側とアクチオシンを繋ぐと予想している。分裂溝でのタリンAの結合相手はまだ分かっていないが、PtdIns(4,5)P2

への結合のみではアクチオシンの収縮力を膜に伝えるには恐らく不十分なので、膜タンパク質への結合を想定している。

以上の研究から、タリンAがアクチオシンと細胞膜をつなぐことにより、正常な細胞移動や細胞分裂が導かれていることが示唆された。哺乳類のタリン欠損細胞においても、細胞膜とその直下のアクチン細胞骨格との剥離が観察されており、今回粘菌細胞を用いて明らかにしたタリンの機能は、種を越えて保存されている可能性が高い。今後、タリンや関連分子の機能解析を進め、細胞膜と細胞骨格がリンクするメカニズムの全容を明らかにしていきたい。

また我々は、タリンAに加えて、粘菌のもう一つのタリンホモログ、タリンBの機能にも注目している。細胞性粘菌は、単細胞アメーバの時期と、それらが集合して多細胞体として形態形成を行う時期が存在する。これまでの研究から、単細胞期にはタリンA、多細胞期にはタリンBが重要であることが分かっており、細胞が、異なる細胞外環境に対して接着斑の構成分子を変えていることが窺える。今後は、タリンAとタリンBの特性を比較することにより、細胞が外環境の違いに応じて、運動やシグナルのやり取りの仕方をどのように変えているのかについてのヒントを得たい。

発生期大脳皮質の動く神経細胞の挙動を制御するしくみを解明

仲嶋 一範 (慶應義塾大学医学部)

1. 研究の背景

ヒトの脳において最も大きな容積を占め、記憶や学習などの高度な機能を担う大脳皮質は、脳表面近くで神経細胞が層状に集まる部分(灰白質)と、その深部で神経細胞から伸びる軸索が束となって走る部分(白質)とから構成されます。大脳皮質を構成する神経細胞は、脳の深部で誕生した後、脳表層側へと移動して整然と配置され、全体として整然とした層構造を形成することが知られています。

近年の私たちの研究で、大脳皮質神経細胞の約8割を占める興奮性神経細胞は、脳の深部で誕生した後にはすぐには移動を開始せず、多数の突起を活発に伸縮させる多極性細胞となって、生まれた場所の近くに長時間さまようように留まることがわかりました(「多極性移動」と呼びます)。やがて、突起の一本が神経細胞同士を連絡する軸索になり、脳表面に平行な特定方向(横方向)に長く伸びるようになります。またこれと前後して、細胞本体は脳表層側に向かう太

い突起を持つ形態に変化し、比較的速い速度で脳表面(縦方向)への移動を開始します(図A)。

これらのことから、多極性細胞の突起の伸縮は、周囲の環境を探りながら、軸索を伸ばす方向や細胞が移動すべき方向を決定することに役立っているのではないかと考えました。つまり、細胞は細胞の外から「こちらに動きなさい」というシグナルをただ待っているという「指示待ち族」ではなく、積極的に周囲の微細な環境の変化を探りにいく「主

体的な存在」であって、この特徴的かつ積極的な動きこそが、安定かつ精緻な細胞移動を可能にしているのではないかと考えました。細胞移動の障害と滑脳症などの比較的稀な脳形成障害との関連は以前から指摘されていますが、近年ではさらに軽微な細胞移動・軸索伸長の異常と発達障害やてんかん、統合失調症などの精神・神経疾患との関連が指摘され、注目されています。しかしながら、多極性細胞の特徴的な突起伸縮がどのような仕組みで起きているのかは、ほぼ未解明のまま残されていました。

伸びつつある軸索の先端には、成長円錐と呼ばれる手のひらの様な構造があります。軸索が伸張する過程では、この成長円錐が活発に運動しながら、周囲の環境を感知し、軸索を正しい方向に導くことが知られています。成長円錐の運動は、アクチン線維の重合と脱重合によって調節されています。今回の研究では、まず多極性細胞の突起伸縮運動が成長円錐の運動と非常に類似していることを明らかにし、さらに多極性細胞の突起伸縮にもアクチン線維の重合／脱重合とそれを制御する分子群が働いている可能性について検討を行いました。

2. 研究内容

成長円錐は数分の時間内で突起の伸張や退縮を行っていることが知られていました。そこでまず、多極性細胞の運動を2分間隔で観察しました。その結果、多極性細胞の突起は成長円錐と同様に分単位で刻々と変化しており、その突起の形態も成長円錐のものと非常に類似していることがわかりました。また、多極性細胞の突起はアクチン

線維を非常に豊富に含んでいることも確認しました。そこで、成長円錐においてアクチン線維の重合／脱重合を制御してその運動に関わるラメリポディン(Lpd)に注目し、その多極性細胞における役割を検討しました。

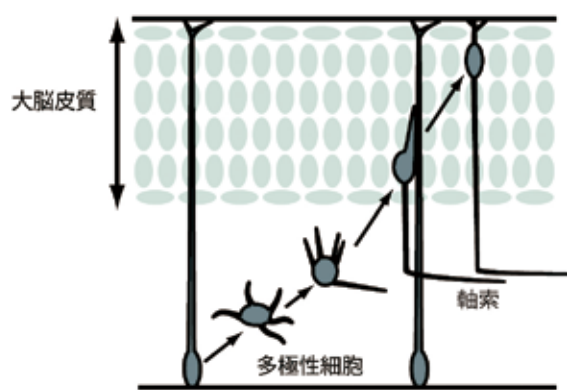
まず、LpdのメッセンジャーRNAとタンパク質が多極性細胞に存在することを確認した後、その発現をshort hairpin RNA (shRNA)により抑制する実験を行いました。すると、多極性細胞の突起は減少することが確認されました。

培養細胞レベルの実験から、LpdはMenaやVASPという別のタンパク質(Ena/VASPファミリータンパク質)を細胞膜に連れて来ることで、アクチン線維の動態を制御することが知られています。そこで、これらのタンパク質に関して、多極性細胞の突起形成への役割を検討しました。まず、Ena/VASPタンパク質が多極性細胞に存在することを確認しました。次に、細胞内のEna/VASPタンパク質を強制的にミトコンドリアに移行させて、細胞膜にあるLpdと結合できなくする人為的な組換えタンパク質(FP4-mito)を作成して多極性細胞で発現させたところ、多極性細胞の突起が減少することが確かめられました。興味深いことに、Lpdの発現をshRNAにより抑制した状態の多極性細胞に、Ena/VASPを強制的に細胞膜に移行させる組換えタンパク質FP4-CAAXを発現させると、突起が減少しなくなることがわかりました。このことはLpdがMena/VASPを細胞膜に移行させることにより多極性細胞の突起形成を制御していることを示唆しています。

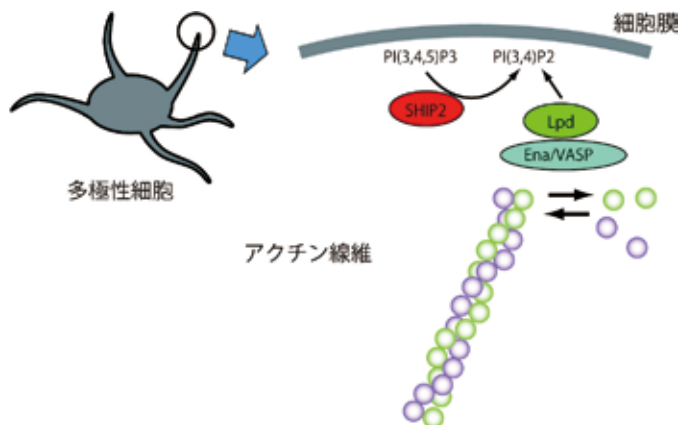
次に、Lpd自体が細胞膜に移行する仕組

みに関して解析しました。Lpdは細胞膜に存在するPI(3,4)P₂というリン脂質に結合することが知られています。PI(3,4)P₂が多極性細胞で観察したところ、伸びている突起や、突起がこれから伸びようとする細胞膜上の小さな部位に集中して局在する可能性が示されました。PI(3,4)P₂は、PI(3,4,5)P₃という別のリン脂質から、SHIP2という酵素によってリン酸基が1つ外れて産生されます。そこで、SHIP2の発現をshRNAによって阻害してみたところ、突起が減少しました。また、SHIP2の酵素活性を阻害剤によって特異的に遮断したところ、やはり突起の減少が観察されました。PI(3,4,5)P₃はそれ自体で多くの生理活性を持っており、SHIP2はこれをPI(3,4)P₂に分解することにより、PI(3,4,5)P₃の働きを負に調節する作用が知られていましたが、今回の研究により、多極性細胞の突起形成に関してSHIP2及びPI(3,4)P₂が正の調節因子として機能することがわかりました。最後に、Lpdの発現をshRNAで抑制した状態の細胞に、通常のLpdタンパク質を発現させると突起の減少が回復する一方で、Lpdタンパク質がPI(3,4)P₂に結合するために必要な部分(PHDメイン)を欠損させた変異型Lpdを発現させた場合には回復が認められないことを確認しました。これらの知見から、SHIP2が局所的にPI(3,4)P₂を細胞膜上に産生し、そこにLpdが結合し、さらにLpdがEna/VASPといったアクチン線維の動態を制御する分子を連れてくることにより、多極性細胞の突起が形成されることが示唆されました(図B)。

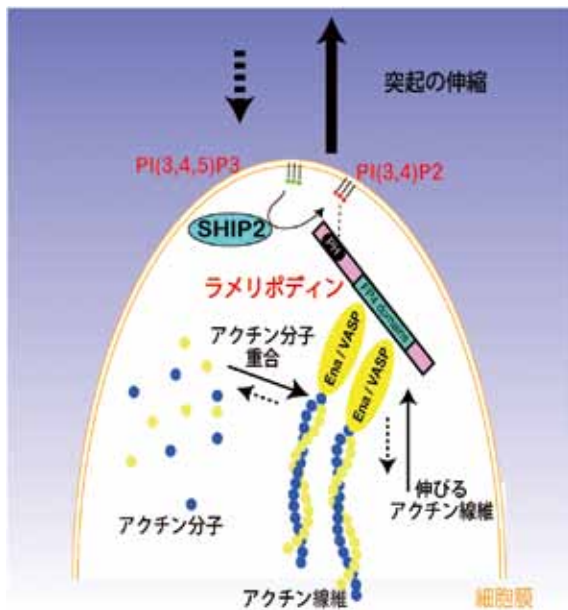
3. 今後の展開



図A. 脳の深部にある脳室面近くで誕生した興奮性神経細胞は移動初期段階で多極性細胞となり、活発な多数の突起の伸縮を行う。やがて多極性細胞は軸索を横方向(脳表面に平行な方向)に伸ばし、それと前後して、太い先導突起を脳表面側に向けて伸ばして、放射状線維という足場を使って放射状方向(縦方向)に速い移動を開始する。



図B. 多極性細胞が突起を伸縮する仕組みの一端が今回の研究で明らかになった。多極性細胞の突起やこれから突起が伸びる部分の細胞膜においてSHIP2タンパク質が活性化し、PI(3,4,5)P₃がPI(3,4)P₂に変換される。ここにラメリポディン(Lpd)タンパク質が結合し、さらにLpdはEna/VASPタンパク質を細胞膜に連れてくる。Ena/VASPはアクチン線維の動的調節を行う。



図C. SHIP2-PI(3,4)P2-Lpd-Ena/VASPという一連の流れによって、アクチン分子の重合が促進されたとき、アクチン線維は伸張し、結果として突起は伸びる。今後の研究で、細胞外のシグナルが細胞内のSHIP2タンパク質の活性を変化させるメカニズムが解明できれば、多極性細胞がどのように周りの環境を探りつつ自らの振る舞いを調節するかを明らかにできると期待される。

今回の研究で私たちは、多極性細胞の特徴的な突起の伸縮運動が、SHIP2、PI(3,4)P₂、Lpd、Ena/VASPといった分子を介して、アクチン線維の重合／脱重合により制御されていることを明らかにしました。今回の研究は細胞内の仕組みを明らかにしたのですが、今後は、どのような細胞外からのシグナルによってこの細胞内の仕組みが制御されているかを明らかにする必要があります。特にSHIP2は、これら一連の分子の上位で働いているので、外界からのシグナルが受容体タンパク質によりキャッチされた後、

SHIP2の酵素活性がどのような調節を受けるのか(=どのように細胞が場の空気を読ん

でいるか)が興味深い点です。これらを明らかにすることで、大脳皮質神経細胞の移動の初期過程がどのように精緻に制御されているのかを解明し、将来的には発達障害やてんかんの病態解明、治療法の開発へと繋げていきたいと考えています。

4. 発表論文名

A phosphatidylinositol lipids system, Lamellipodin and Ena/VASP regulate dynamic morphology of multipolar migrating cells in the developing cerebral cortex.

Satoshi Yoshinaga, Takahiro Ohkubo, Shinji Sasaki, Mutsuo Nuriya, Yukino Ogawa*, Masato Yasui, Hidenori Tabata*, and Kazunori Nakajima**.

J. Neurosci., 32 (34), 11643-11656 (2012).

*連携研究者、**研究代表者

本論文の成果は、以下のメディアで紹介されました。

2012年8月22日 キャリアブレインCB newsにて紹介

「発達障害やてんかんの治療法開発へ - 慶大、神経細胞制御の仕組み解明」

<http://www.cabrain.net/news/article/newsId/37933.html>

2012年8月22日 マイナビニュースにて紹介

「誕生直後の興奮性神経細胞は積極的に周囲を調べて脳内を移動する - 慶應大」

<http://news.mynavi.jp/news/2012/08/22/104/>

組織形成における細胞運動の制御機構とその破綻: GEP100-Arf6-AMAP1経路の制御破綻と癌の浸潤・転移形質獲得の分子機序

橋本 茂 (北海道大学大学院 医学研究科)

はじめに

組織形成過程において組織幹細胞は、微小環境とのクロストークにより、増殖を伴いながら移動し、多様な高次機能システム構築に関わる。これらのプロセスにおける制御破綻は、癌などの種々の難治性疾患の発症や進行に繋がる。

乳腺組織は、乳管上皮細胞と筋上皮細胞の2種類の細胞から構成される乳管組織を基底膜が周囲を囲み、その周辺に線維芽細胞、脂肪細胞、マクロファージなどのスト

ローマ細胞群が存在する構造を形成している。その形成過程は、他の組織と同様の発生・分化段階において誘導されると共に、成人における妊娠期において、エストロゲン等のホルモン作用及び、微小環境に存在するストローマ細胞群等との相互作用、細胞外マトリクスの物理学的ストレス等によって、乳管上皮細胞が増殖を伴いながら集団として移動するプロセスが誘導され、複雑な分岐構造を有する乳腺組織が形成される。この乳腺組織リモデリング過程において、乳

腺幹細胞(mammary stem cell; MaSC)の関与が示唆されている。例えば、マウスMaSCの細胞表面抗原マーカーであるCD29⁺/CD24⁺あるいはCD49f⁺/CD24⁺の細胞集団を分取し、乳腺除去したマウスに移植することによって乳腺組織の再構築が惹起される。さらに、MaSCが乳腺組織リモデリング過程で伸長する乳管先端部位(terminal end bud: TEB)に局在することが報告されている⁽¹⁾。また、神経幹細胞を移植しても乳腺組織リモデリングが誘導され

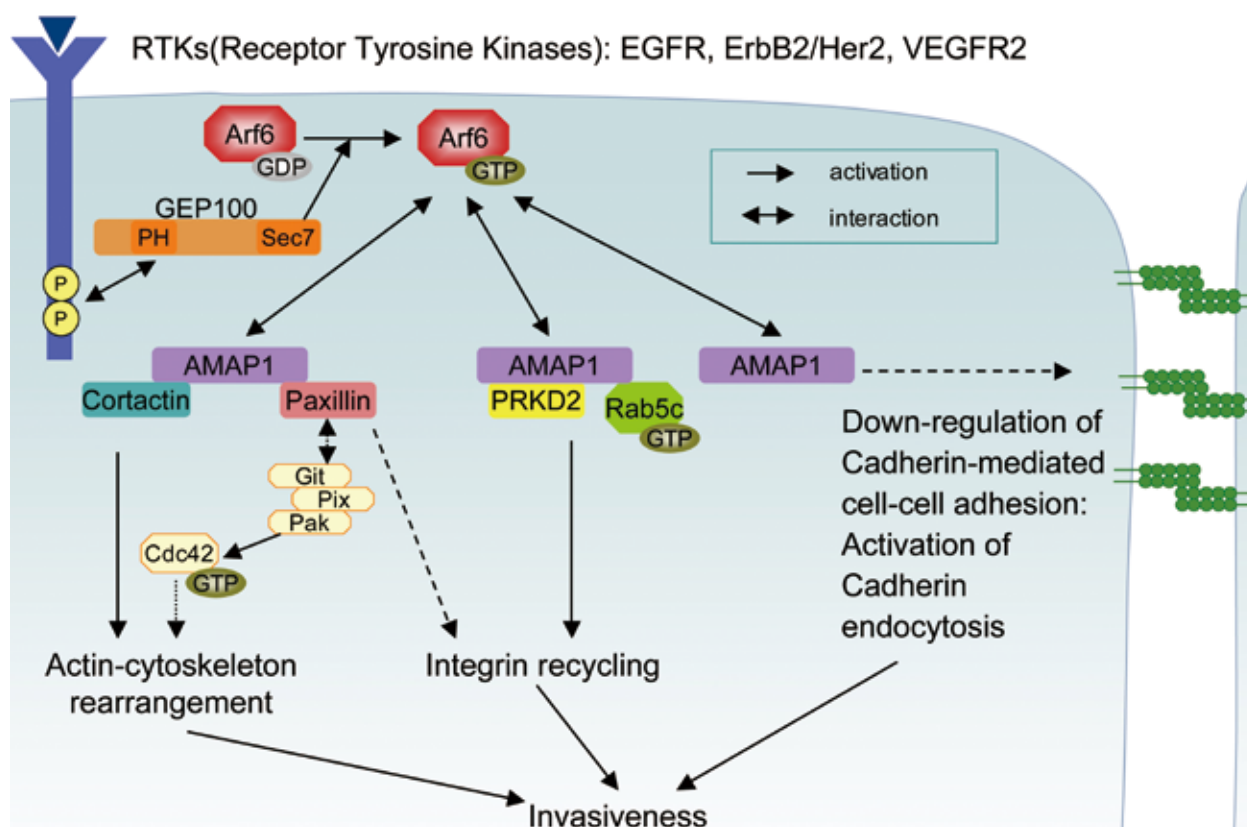


図 RTK-GEP100-Arf6-AMAP1 経路の活性化を介した浸潤形質獲得モデル

EGF、ErbB2、VEGFR2などのリセプター型チロシンキナーゼの活性化に伴い、リン酸化チロシン残基にGEP100がPH domainを介して直接結合し、Arf6をGDP型からGTP型へと活性化し、エフェクター分子AMAP1をリクルートすることにより、Actin細胞骨格のリモデリング、Integrinのリサイクリング、さらに、Cadherinを介した細胞-細胞間接着の消失が誘導され、上皮細胞や血管内皮細胞において浸潤性が引き起こされる。

ることから乳腺組織の微小環境が組織特異的幹細胞ニッチとして機能することが示唆される。さらに、最近、MaSCの誘導と維持の制御に上皮-間充細胞形質転換(epithelial-mesenchymal transition: EMT)のマスター遺伝子の1つであるSlug/Snail2が関与することが報告されている⁽²⁾。

これまでに、細胞表面抗原を用いたMaSCの同定や分化に関わる転写調節因子やその活性化に関わるサイトカインシグナル伝達に関する解析から乳腺組織リモデリングを誘導する制御機構が明らかとなりつつある⁽¹⁾。しかしながら、MaSCが増殖を伴いながら集団として運動するプロセスにおいて、どのような分子装置が細胞運動性を統合的に制御し、乳腺組織リモデリングの秩序の形成に関わっているのか、また、その制御機構の破綻が、発癌や癌の悪性度の進展とどのように関連するのか、その分子機構は不明のままである。

癌の最大の脅威はその浸潤・転移性にある。腫瘍組織において自己複製能と、腫瘍を構成する腫瘍形成能を有しない多様な形

質を示す癌細胞を産生することにより腫瘍組織の不均一性を創出する多分化能と共に、薬剤耐性及び放射線療法抵抗性を有する少数の癌化の起源となる細胞(癌幹細胞)の存在が、転移巣の形成及び治療後の再発の主要因であることが示唆されている。癌幹細胞の由来に関して、各組織に存在する正常組織幹細胞や前駆細胞にgenetic/epigeneticな変異が蓄積することにより生じる可能性⁽³⁾、分化した上皮細胞における遺伝子変異の蓄積と共にiPS誘導において見られるような遺伝子発現リプログラムによる脱分化が誘導されることにより生じる可能性⁽⁴⁾、さらに、癌細胞と骨髄由来の間葉系幹細胞との細胞間融合により生じる可能性⁽⁵⁾などが報告されている。

乳癌幹細胞に関して、Clarkeらのグループはヒト乳癌組織を用いた解析からCD44^{high}/CD24^{low}の発現を示す細胞群が幹細胞様の形質を獲得していることを報告している⁽⁶⁾。さらに、乳癌細胞の浸潤・転移と幹細胞様形質との獲得に関連して、Weinbergらのグループによって乳癌幹細胞がTGFβシグナル伝達を介したEMTに

よって誘導される可能性が例示された⁽⁷⁾。しかしながら、乳癌幹細胞の起源及び、その浸潤・転移形質を担う分子装置について未だ不明な点が多い。

本稿では、癌の浸潤形質獲得の分子機序と低分子量G蛋白質Arf6の活性化との関連に関して、最近の知見を概説すると共に、我々のモデルについて紹介したい。

1) 低分子量G蛋白質Arf6

低分子量G蛋白質Arf (ADP-ribosylation factor)は、コレラトキソゲンのADP-ribosylation活性に関わるcofactorとして同定された。Arfファミリー蛋白質は、膜の細胞内輸送や再構成の制御に関与することが知られており、6種類のアイソフォームから成り、構造的／機能的類似性から3つのクラスに分けられている。クラスIは、Arf1, 2, 3; クラスIIは、Arf4, 5; クラスIIIは、Arf6を含む。Arfの発現はubiquitousであり、それらのアミノ酸配列は真核生物で良く保存されている。これら6種類のArfファミリー蛋白質の発現は、真核生物の最も古い

祖先と考えられるランブル鞭毛虫 (*Giardia lamblia*) において確認されている。一方、rasファミリー-蛋白質や、G-protein coupled receptor群については存在が確認されていない。ランブル鞭毛虫は、数十億年前の酸素の無かった時代からの単細胞生物と考えられ、鞭毛を使って運動し、細菌を貪食していたと推察されている。このことは、Arfファミリー-蛋白質が真核生物の細胞生物学的機能の基本である『運動・貪食』を担う根幹的な分子であることを強く示唆する⁽⁸⁾。

Arf ファミリー-蛋白質は、他の低分子量G蛋白質と同様に、GTP結合型(活性化型)とGDP結合型(不活性化型)の構造を取る。ヒトゲノムには、6種類のArfアイソフォームに対して、前者の活性化を担うArfGEF遺伝子が15種類、ArfGAP遺伝子が20種類以上存在することから重複した制御が想定される。Arf6は、形質膜及び、リサイクリングエンドソームに局在し、その間の物質輸送、

即ち、エンドサイトーシス、形質膜の再構成、細胞表面レセプター分子のリサイクル、さらに、pseudopods形成、神経突起形成、細胞運動、phagocytosis等におけるactin細胞骨格の再構築の制御に関与することが明らかにされている⁽⁹⁾。

2) 癌の浸潤形質獲得に關与するArf6シグナル伝達経路

我々は、これまでに、低分子量G蛋白質Arf6が乳癌細胞の浸潤活性に根幹的役割を果たしていること、癌浸潤におけるArf6のエフェクターがAMAP1/ASAP1であることを見出した⁽⁹⁻¹¹⁾。引き続き、EGFレセプター経路の活性化に伴う乳癌細胞の浸潤形質獲得においてArf6を活性化するGEFとして、GEP100/BRAG2を同定した。さらに、GEP100がPH(Pleckstrin-homology)ドメインを介して、活性化EGFレセプターのリン酸化チロシン部位 (pY1068/pY1086)

に直接結合することでArf6を活性化し、乳癌細胞の浸潤形質を誘導する作用機序を明らかにした。また、病理学的解析から、GEP100の発現がヒト浸潤性乳管癌の約80%に観察されることを見出した⁽¹²⁾。さらに、ヒト乳癌細胞MCF7は殆ど浸潤性を示さないが、Arf6とGEP100を同時に発現させると、EGF刺激に依存したEMT様の変化、即ち、E-カドヘリンを介した細胞-細胞間接着の消失、間葉系細胞様の形態誘導、細胞浸潤性の亢進が誘導された。これらのことから、GEP100-Arf6-AMAP1経路が癌細胞のEMT誘導に関与することが示唆された⁽¹²⁾。

GEP100 PHドメインが結合するEGFRのチロシンリン酸化部位は、Grb2 結合部位として知られており、ErbB2/Her2、c-Metなどのレセプターにも類似した配列が見られることから、GEP100-Arf6-AMAP1経路が、EGFR以外の浸潤形質誘導に寄与するチロシンキナーゼ型受容体シ

あなたは天才？ それとも凡人？

しばらく前に数学上の大難問「ABC予想が解決か？」というニュースがNatureからスポーツ紙までを賑わした。問題の証明を果たしたとされる京大の望月新一教授は若くして頭角を現した数学者で学会の誰もが認める実力者だと言う事が困った事に彼の証明が独自の数学体系の中で行われており、彼に続く人たちはまず彼の数学世界にどっぷり入り込んで、何年もかけて理解しないと証明を確認する事は出来ないだろうとの事。ここまで来ると選ばれた天才のみが参加できる研究分野で、あこがれとともにただただ恐れ入るばかりである。凡人の付け入る余地はない。

翻って生物学。進化論の登場や、遺伝の法則の発見、また分子生物学の黎明期など重要な転換期にはそれまでの発想をひっくり返す思考が現れた。しかし今では多くの実験手法は大衆化し、それなりの施設があれば一定以上の質の研究を行う事が可能だ。オーガナイザー、体細胞クローンなど、これまで生物学上の多くの重要な発見は個人がこつこつと進めてきた研究の成果だ。天才でなくても正しい方向付けと、たゆめぬ努力、それと少しの運があれば偉大な発見を引き寄せる機会はやってくる。凡人にもチャンスは巡るのが生物学だ。

iPS細胞が話題になって、大型プロジェクトの成果だとか、オレが選んだ、などと宣伝する人たちが大勢現れた。確かに多くのサポーターと研究資金の援助あってこそその成果だが、成功の本質は明確なビジョンに支えられた個人の熱意に他ならない。科学研究の政策がノーベル賞の美酒に浮かれ、努力する個人へのサポートをおろそかにして、目につきやすい大型プロジェクト偏重に走る事は戒めなくては行けない。号令のもとでの大行進で研究が進む訳ではないのだ。

新学術領域研究の目的の一つはグループグラントとして研究費を獲得する互助会機能だ。数ある新学術領域のなかで本研究領域の特色と言えるのはテーマが比較的幅広い生物分野を包含する事。研究費申請にあたっては危ない選択だったかもしれないが、幸い宮田代表らの御尽力で激戦をかいぐって発足にこぎ着けました。本研究領域のもう一つの特色は公募班員の枠が大きいことで、広範囲の分野を網羅して多くの方々に参加していただく事が出来ました。切れる刀で藪を切り開いてどんどん進む人もいれば、鋤でゆっくりと大地を耕す方もおられるでしょう。私にとって研究班とは研究者の豊かな個性がぶつかり合う競技場のようなものです。中間評価もパスして後半戦となりました。本研究領域が個人の卓越した研究を育む場としてさらに発展する事を願っています。

林 茂生

グナル伝達経路にも関与する可能性が推測された。

肺癌は日本の部位別癌死亡率の第一位であり、正常な気管支上皮細胞の多段階のプロセスを介して発癌することが知られている。肺癌は他の上皮組織由来の癌と比較して、浸潤・転移性が高いことが知られている。組織学的解析により、小細胞癌、非小細胞癌（腺癌・扁平上皮癌・大細胞癌）の4種類に分類される。腺癌の15～40%においてEGFレセプターファミリーに属するErbB2の増幅と予後不良との相関が知られている⁽¹³⁾。

共同研究者である毛受暁史氏（京大医・呼吸器外科）が中心となって、肺腺癌由来細胞H522においてErbB2の活性化に伴ってGEP100がPHドメインを介して結合することにより、Arf6が活性化されること、GEP100-Arf6-AMAP1経路を構成する分子の発現を抑制することにより浸潤活性が抑制されることを見出した。さらに、病理学的解析から、GEP100とErbB2との共発現と肺癌の悪性度の進展との間に統計的に有意な相関があることを明らかにした⁽¹⁴⁾。

3) 血管新生におけるArf6活性化

固形癌の場合、その増殖はGomperzian growth曲線に沿った増殖様式を取る。即ち、腫瘍が小さい時点では指数関数的に増殖するが、腫瘍が一定のサイズを超えると緩やかなカーブを描き、最終的にはプラトーに達する。この現象の要因の1つが腫瘍組織内で酸素と栄養素の拡散効果の制約である。酸素や糖分は通常100-150 μ mしか拡散されないため腫瘍の増殖に伴って腫瘍塊の一部に低酸素及び低栄養環境が生じる。このような状況を回避するために、癌細胞は血管内皮増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor)などの液性因子を産生し血管新生を誘導する。さらに、低酸素状態が癌細胞の浸潤形質や幹細胞様形質を活性化する分子機序が明らかとなっている⁽¹⁵⁾。血管新生におけるArf6の関与について、Ikedaらは、Arf6のdominant-negative変異体を用いて血管内皮細胞のVEGFレセプター(VEGFR)シグナルによって誘導されるRacの活性化に依存した細胞運動性、ROS産生、VEGFR2の細胞膜上での局在の制御にArf6が関与することを報告した⁽¹⁶⁾。また、Jonesらは、VEGF刺激による血管内皮細胞の細胞運動性を誘導するArf6の活性化がSlit-Roboシグナル経路により抑制されることで血管安定性の維

持、即ち、血管新生の抑制が制御されていることを報告した⁽¹⁷⁾。さらに、最近、炎症に関わるIL-1 β レセプターを介したシグナル経路において、IL-1 β 刺激に伴ってアダプター分子であるMyD88がArf1-3やArf6のGEFとして知られているARNOと結合することによりArf6が活性化され、NF- κ Bの活性化とはindependentなシグナル経路を介して、VE-cadherinのエンドサイトーシスが誘導されることにより血管内皮細胞の細胞透過性が亢進することが明らかにされている⁽¹⁸⁾。

研究協力者である橋本あり氏（北大院医・分生・助教）が中心となって、独自に、VEGFRからのシグナル経路とArf6活性化との関連に着目した解析を進め、活性化されたVEGFR2にGEP100がPH domainを介して結合することにより、Arf6が活性化されること、VEGFによって誘導される3D培養における管腔形成及び、*in vivo* モデルマウスによる腫瘍血管新生にGEP100-Arf6-AMAP1経路が関与することを明らかにした。さらに、VEGFによる内皮細胞間の透過性亢進において、接着分子VE-cadherinのinternalizationにGEP100-Arf6-AMAP1経路が関与していることを見出した。一方、高齢者の失明原因の一つで、現在急増していることが知られている加齢黄斑変性の病態モデルである脈絡膜血管新生においてGEP100-Arf6-AMAP1経路が活性化されること、そして、その経路の活性化阻害剤を用いることによって病態が改善することを例示した⁽¹⁹⁾。これらの結果から、腫瘍組織あるいは慢性炎症組織における既存の血管に誘導される血管新生において、血管内皮細胞のVE-cadherinを介した細胞-細胞間接着を緩め、integrinの活性化に伴う細胞-基質間接着を促進する集团的細胞運動の誘導と管腔形成にGEP100-Arf6-AMAP1経路が関与することが示唆される。

3) IntegrinリサイクリングにおけるArf6の関与

細胞の接着と運動は、接着分子integrinの細胞外基質への結合と、それに伴う細胞内でのシグナル伝達や細胞骨格及び、膜の再構成を介して制御される。その際、ある種のintegrinはダイナミックな細胞内動態を示し、細胞表面からエンドサイトーシスされ、リサイクリングエンドソームを介して運動方向先端部にエキシサイトーシスされる。Liらは、HeLa細胞を用いた解析からArf6特異的ArfGAP、ACAP1が血清やEGF、insulin

刺激に依存して活性化されたAktによりセリン残基のリン酸化を受け、リン酸化型ACAP1が β 1-integrinと結合することにより、 β 1-integrinのリサイクリングを誘導し、刺激に依存した細胞運動の制御に寄与していることを報告している⁽²⁰⁾。また、Dunphyらは、HeLa細胞を用いた解析からArf6の活性が β 1-integrinのリサイクリングの制御に関与し、ArfGEFであるGEP100に依存することを報告している⁽²¹⁾。一方、Caswellらは、ヒト卵巣癌A2780細胞などを用いた解析から低分子量G蛋白質RabファミリーのRab25が、直接 β 1-integrinに結合し、ファイブロネクチン依存的な α 5 β 1 integrinの運動方向先端部へのリサイクリングを活性化し、癌の浸潤形質を誘導することを報告した⁽²²⁾。これまでに、Rab25に関して、乳癌や子宮癌でその発現の亢進と癌の悪性度との関連が示唆されている⁽²³⁾。

我々は、浸潤性の高い乳癌細胞において、AMAP1が、integrin裏打ち蛋白質paxillin、及び、actin細胞骨格の再構築に関与するcortactinと三者複合体を形成することが浸潤形質獲得に必須であること、この複合体の一つの結合インターフェースが特有の結合様式を持つこと、さらに、このインターフェースが乳癌のみならず、肺癌や神経膠芽腫等の浸潤・転移を阻害するための優れた分子標的となることも例示した^(10,11)。このことから、AMAP1が浸潤先端領域でのintegrinのリサイクリングとactin細胞骨格の再構築の動的制御に関与することが推察された。

研究協力者である小野寺康仁氏（北大院医・分生・助教）が中心となって、AMAP1のエフェクター機能を解析する過程の中で、EGF刺激による乳癌細胞の浸潤性の亢進に伴ってAMAP1がPRKD2(protein kinase D2)を介して β 1-integrinと結合することを見出した。PRKDは浸潤性の高い乳癌細胞が3D培養で形成するinvadopodiaに局在すること⁽²⁴⁾、上皮細胞において β 1-integrin及びE-cadherinのbasolateralソーティングに関与すること⁽²⁵⁾が知られている。EGF刺激に伴うAMAP1とPRKD2の結合には、Arf6活性化とはindependentに、Rab5cの活性化が必須であること、PRKD2と β 1-integrinが結合すること、AMAP1及びPRKD2の発現を抑制することにより β 1-integrinの形質膜へのリサイクリングが顕著に抑制されることを見出した⁽²⁶⁾。これまで β 1-integrin/CD29は、マ

ウスにおけるMaSCの表面抗原リセプター (CD29^{hi}CD49f^{hi}CD24^{+/mod}Sca-1) の1つとして知られていたが、単なるマーカーではなくMaSCの形質維持や細胞系譜の制御に関与することが明らかにされている⁽²⁷⁾。さらに、我々は、ヒト乳癌幹細胞と類似の遺伝子発現パターンを示す高浸潤性乳癌細胞において、GEP100-Arf6-AMAP1経路が浸潤形質獲得のプロセスに必須であることを見出している(未発表)。これらのことなどから、GEP100-Arf6-AMAP1経路が、MaSCにおける細胞運動性・浸潤性の制御に関与している可能性が示唆された。

おわりに

癌の浸潤形質は、由来する組織によって多様であり、さらに、癌の微小環境の物理的・化学的变化と、そこに集積するストローマ細胞群の影響によってその多様性・複雑性が増強される。現在、次世代シーケンサー、プロテオーム等の網羅的解析やIPA (Ingenuity Pathways Analysis) を用いた遺伝子ネットワーク/パスウェイ解析により、個々の癌及び、それらの微小環境のストローマ細胞群における浸潤・転移に関与する分子群の遺伝子発現に関する時空間的制御が明らかにされつつある。しかしながら、癌の浸潤・転移形質を実質的に作動させる分子装置の作用機序に関して、多くの未解決の問題が残されている。

乳癌細胞の浸潤・転移形質獲得にArf6を中心としたシグナル伝達経路が根幹的役割を果たしていることは、我々が、独自に、他に先駆けて示してきたものである。今後、本新学術領域において、GEP100-Arf6-

AMAP1経路による正常乳腺組織リモデリングにおける集団的細胞運動の制御機構とその破綻を明らかにことにより、癌の浸潤・転移形質獲得過程の全体像の理解に結びつけたいと考えている。

謝辞

ここで述べた研究成果は、北海道大学大学院医学研究科生化学講座分子生物学分野を中心として、多くの共同研究者の方々となされたものです。佐邊壽孝教授、ならびに、共同研究者の方々に感謝申し上げます。

参考文献

- Gjorevski et al. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 12:581-593 (2011).
- Guo et al. *Cell* 148:1015-1028 (2012).
- Bjerkvig et al. *Nat Rev Cancer* 5:899-904 (2005).
- Kondo T & Raff M. *Science* 289:1754-1757 (2000).
- Lu X & Kang Y. *Cancer Res.* 69:8536-8539 (2009).
- Al-Hajj et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100:3983-3988 (2003).
- Mani et al. *Cell* 133:704-715 (2008).
- Donaldson JG & Jackson CL. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 12:362-375 (2011).
- Hashimoto et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:6647-6652 (2004).
- Onodera et al. *EMBO J.* 24:963-973 (2005).
- Hashimoto et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103:7036-7041 (2006).
- Morishige et al. *Nat Cell Biol.* 10:85-92 (2008).
- Meert et al. *Br J Cancer* 89:959-965 (2003).
- Menju et al. *PLoS One* 6:e25301 (2011).
- Bertout et al. *Nat Rev Cancer* 8:967-975 (2008).
- Ikeda et al. *Circ Res.* 96:467-475 (2005).
- Jones et al. *Nat Cell Biol.* 11:1325-1331 (2009).
- Zhu et al. *Nature* Nov 11. Published Online (2012)
- Hashimoto et al. *PLoS One* 6:e23359 (2011).
- Li et al. *Dev. Cell* 9:663-673 (2005).
- Dunphy et al. *Curr. Biol.* 16:315-320 (2006).
- Caswell et al. *Dev. Cell* 13:496-510 (2007).
- Cheng et al. *Nat Med.* 10:1251-1256 (2004).
- Bowden et al. *Oncogene* 18:4440-4449 (1999).
- Yeaman et al. *Nat Cell Biol.* 6:106-112 (2004).
- Onodera et al. *J Cell Biol.* 197(7):983-996 (2012).
- Taddei et al. *Nat Cell Biol.* 10:716-722 (2008).

高速原子間力顕微鏡を用いた生細胞分子イメージング

田岡 東（金沢大学理工研究域自然システム学系）

1. 研究背景

もし、生きた細胞の中で、蛋白質などの生体分子の構造変化や動態を自在に観察することができるならば、その分子の機能に関する重要な情報が得られるだろう。細胞内の分子イメージングにはクライオ電子顕微鏡や、蛍光顕微鏡を用いた方法がよく用いられている。しかしながら、これらの方法では、高い空間分解能と時間分解能を同時に得ることはできない。1分子の生体分子の構造変化や動態をビデオレートで解析するための観察ツールが必要と考えられる。金沢大学理工研究域バイオAFM先端研究センターでは、安藤敏夫教授のもと、原子間力顕微鏡（AFM）の走査速度を向上させ高速原子間力顕微鏡（高速AFM）を開発している。高速AFMを用いることで、緩衝液中などの生理的条件下で機能している生体分子の構造変化とその動態を、染色や固定などの化学的な修飾を行うことなく、ナノオーダーの空間分解能とサブ秒の時間分解能で観察することができる。これまでに、高速AFMは様々な生体分子の観察に用いられ、その動的プロセスの可視化に成功している。しかし、生きた細胞中の分子を直接観察したという報告はなかった。そこで、本研究では、高速AFMを用いて、生きたバクテリアの外膜表面の観察を行った。

2. 研究内容

本研究では、観察試料として磁性細菌 *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 を用いた。まず、生きた細胞を、AFM観察のための基板であるマイカ（雲母片）に固定する方法を検討した。マイカ基板をpoly-L-lysineでコートした後に、グルタルアルデヒド溶液で処理した。その後、余剰なグルタルアルデヒドを洗い、細胞の懸濁液をのせることで、細胞をマイカ表面に固定した。LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kits (Molecular Probes)を用いてマイカ表面に固定された細胞の生死を調べたところ、ほとんどの細胞がマイカ上で少なくとも固定後1時間以上、生存していることを確認した。

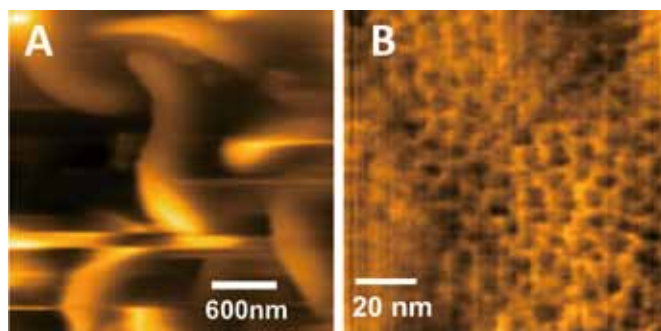


図1 (A)高速AFMを用いて液体培地中で観察した磁性細菌。(B)細胞表面を高倍率で観察したAFM像。細胞表面は網の目状の構造で覆われている。

この時間は、高速AFMを用いた観察に十分な時間である。

マイカ上に固定した細胞を液体培地中で高速AFMを用いた観察したところ、細胞表面は比較的滑らかであったが、拡大して観察すると、網の目状の構造が観察された（図1）。この構造は、ちょうどメロンの網の目のような構造であり、細胞の表面全体を完全に覆っていた。網目の直径は $7.3 \pm 1.4 \text{ nm}$ 、くぼみの深さは $0.85 \pm 0.52 \text{ nm}$ であった。さらに、この網の目構造の動態を観察したところ、 $3.2 \pm 0.4 \text{ nm}^2/\text{s}$ というゆっくりした速度で外膜の表面をランダムに移動していることが明らかになった。

次に、どのような分子が網の目構造を構成しているかを調べるために、磁性細菌の外膜を密度勾配遠心分離法を用いて単離し、高速AFMで観察した。その結果、単離した外膜の断片にも同様の網の目構造が確認できた。AFMは、探針に加える力を変化させることで、観察中の試料の微解剖を行うことが可能である。AFMを用いて、単離した外膜中の網の目構造の微解剖を行ったところ、3量体構造をもった蛋白質から構成されていることが明らかになった。さらに、既知の蛋白質の立体構造をもとにシミュレーションを行った結果、網の目状構造を構成していた蛋白質はポーリン3量体の構造と類似していた。このことは、単離した外膜を構成する蛋白質のほとんどがポーリンで占められていることも矛盾しない。

本研究の結果、バクテリアの外膜表面は組織された構造をもっており、多くの蛋白

質で混み合った環境であることが明らかになった。これは、ランダムに膜蛋白質が存在するというこれまでのバクテリアの外膜表面のイメージとは異なっていた。しかしながら、このポーリン分子がどのように網の目構造を形成するのか、また網の目構造をとることの生理的意義は不明であり、今後の研究が必要である。本研究は、高速AFMを用いて培養液中で生きている細胞中の分子を直接観察した初めての報告である。

3. 謝辞

本研究は、金沢大学理工研究域数物科学系の安藤敏夫教授、内橋貴之准教授、山下隼人博士研究員、同自然システム学系の福森義宏教授との共同研究である。この場をお借りして感謝いたします。

4. 発表論文

Yamashita H†, Taoka A†, Uchihashi T, Asano T, Ando T, Fukumori Y. Single molecule imaging on living bacterial cell surface by high-speed AFM. (†H.Y. and A.T. contributed equally to this work.) *Journal of Molecular Biology*, 422(2), 300-309 (2012).

基質牽引力に基づく遊走細胞の前後極性形成

岩楯 好昭 (山口大学 大学院医学系研究科)

細胞運動は、原生動物アメーバの移動から血球の遊走、神経細胞のネットワーク形成までみられる細胞の普遍的な機能です。この運動はおもにアメーバ運動によって行われています。アメーバ運動では、細胞の進行方向前端が伸長し後端が退縮します。このとき、伸長と退縮がそれぞれ勝手に行われていれば、運動が破綻し、やがて細胞そのものも崩壊してしまうでしょう。

外部に誘引物質があるとき、細胞は、細胞膜に存在する受容体でその濃度勾配を感知し、濃度の高い方向に移動します。誘引物質が無い場合、細胞は運動を停止するのではなく、でたらめな方向に運動します。これは、誘引物質が無い場合でも細胞はアメーバ運動ができなくなるわけではなく、でたらめながらも方向を決めて運動できるということです。細胞の右半分が右に進み、左半分が左に進もうとして、細胞がちぎれて死んでしまうようなことはまずありません(図1)。細胞が誘引物質が無くても前後極性を作って運動できるのは、一見、当たり前のようで、実はなかなか大変なことではないでしょうか？

外部からの刺激がなにもない状況で細胞が破綻せずに動く、これはきっとアメーバ運動のシステムの中で非常に階層的低い根本的な現象でしょう。だとすれば、その現象はすごく単純なメカニズムで成り立っているに違いないだろうと私たちは期待しました。アメーバ運動するために、細胞は接着している基質に牽引力を発揮しないわけにはいきません(図2)。だとすると細胞はこの牽引力

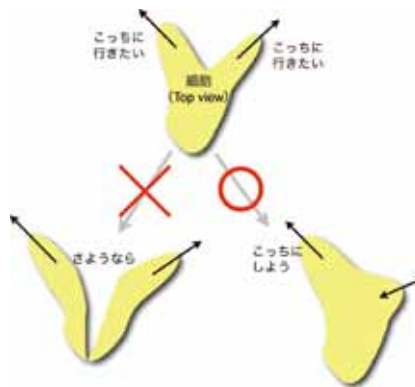


図1 細胞は誘引物質などがなくとも細胞全体で統合された運動をする。

の反作用の力を、程度の差こそあれ、必ず細胞膜や細胞骨格の変形として受容しているはず。私たちは、この細胞自身が基質に発揮する“力”が運動のための前後極性を形成するための根本的なシグナルになっていないだろうかと考えました。

細胞が基質に発揮する自分自身の“力”の反作用を受けて前後極性を形成するかどうか、どうすれば確かめられるでしょう？反作用の力とは基質から受ける力です。従って、まず、細胞が基質から繰返し同じ方向に力を受け続けたとき、決まった方向に細胞が運動するかどうか確かめることにしました。細胞性粘菌(*Dictyostelium discoideum*)をシリコンでできた基質上に這わせ、基質を一方方向に人為的に繰返し伸展させてみました(伸展率20%、10秒周期)。すると期待した通り、粘菌細胞は決まった方向に運

動したのです¹⁾。さらにおもしろいことに、その方向は伸縮とは垂直な方向、つまり基質から力を受けなかった方向だったのです(図3A)。さて、基質からの力に粘菌アメーバが反応することはわかりました。しかし、これだけでは粘菌アメーバが自分自身の牽引力の反作用にตอบสนองしていることにはなりません。そこで今度は、粘菌アメーバを縦横で硬さの違う基質の上に這わせ、方向によって細胞がかけられる牽引力が異なるようにしてみました。もし自分自身の牽引力の反作用を受けて粘菌アメーバが前後極性を作るなら、粘菌アメーバは硬い方向か柔らかい方向のいずれかに進むはず。粘菌アメーバの牽引力で縦方向は歪ませられ、横方向は歪ませられない絶妙な硬さの基質を作成しその上を粘菌アメーバに這わせると、果たして粘菌アメーバは柔らかい縦方向に進みました(図3B)。これは基質伸展で粘菌アメーバが進んだ方向、すなわち基質からの力を受けない方向、とも矛盾しませんでした。これらの結果より、アメーバ運動する細胞のうち少なくとも粘菌アメーバは、自らの基質牽引力の反作用で運動の前後極性を形成することがわかりました。

では前後極性形成のメカニズムはどうなっているのでしょうか？一般に、アメーバ運動の原動力については、細胞の前端部ではアクチンの重合が起きており、細胞膜を伸展させているといわれています。一方、後部にはミオシンIIが集積しアクチンミオシンとして後部を収縮させるといわれています²⁾。従って、基質牽引力によって運動の前後極性が決ま

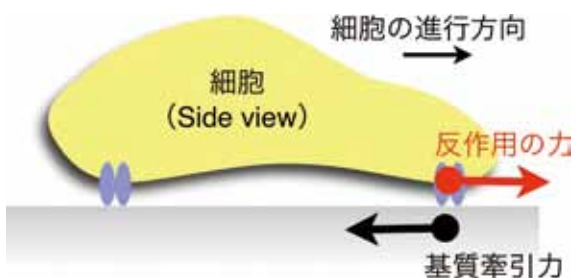


図2 アメーバ運動する細胞は基質に牽引力を発揮し、基質からその反作用力を受ける。

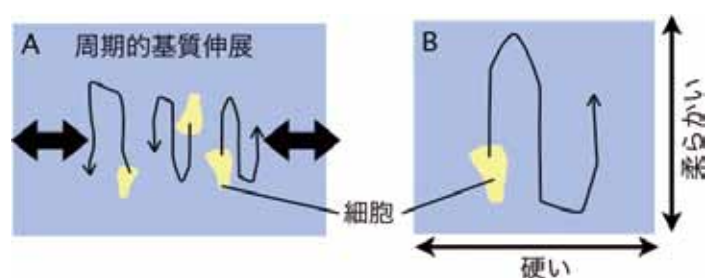


図3 周期的基質伸展刺激下と縦横で硬さの違う基質上での粘菌アメーバの30分間の運動軌跡。細胞は伸展刺激を与えない方向、及び、基質の柔らかい方向に運動した。

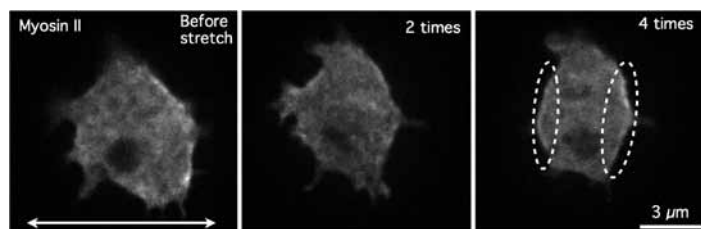


図4 周期的基質伸張によるミオシンIIの集積(点線)。

るなら、運動の動力源であるアクチンかミオシンIIに影響がなくてははいけません。徳島大学の佐藤克也先生らが開発した微小伸展装置³⁾を使って、細胞を伸縮させアクチンフィラメントとミオシンIIそれぞれの細胞内の様子を観察してみました⁴⁾。すると、アクチンフィラメントは特定の方向に配向することはありませんでしたが、そのかわり、ミオシンIIが伸縮両側に均等に分布したのです(図4)。またミオシンIIが欠損した細胞は、周期的基質伸張刺激下でも縦横で硬さの違う基質上でも方向性のある運動は示しませんでした。

これからの結果から、粘菌アメーバでは大きな牽引力が発揮されたところにミオシンIIが集積し仮足形成が抑制されるということが時々刻々起きていて、その結果、牽引力を発揮しない方向に向かって運動するように、前後極性を形成させることが予想されます(図5)。現在、愛知県立大の作村諭一先生に数理モデルを作成して頂き、牽引力の発揮しない方向に細胞が運動することが論理的にあり得るかどうか検討しています。

細胞自身が基質に発揮する“力”が運動のための前後極性を形成する、ということがアメーバ運動のシステムの中で最も階層の低

い根本的な現象であるなら、この現象が、粘菌アメーバのみならず、他の細胞でも普遍的に成り立っていて欲しいものです。そこで、好中球および魚類表皮ケラトサイトが周期的基質伸張刺激下や縦横で硬さの違う基質上で、どのような運動を示すか現在興味もたれるところです。

引用文献リスト

- 1) Iwate, 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.

- 2) Iwate, Y. and S. Yumura. 2008. Actin-based propulsive forces and myosin-II-based contractile forces in migrating *Dictyostelium* cells. *J. Cell. Sci.* 121: 1314-1324.
- 3) Sato, K., S. Kamada and K. Minami. 2010. Development of microstretching device to evaluate cell membrane strain field around sensing point of mechanical stimuli. *Int. J. Mech. Sci.* 52: 251-256.
- 4) Iwate, Y., C. Okimura, K. Sato, Y. Nakashima, M. Tsujioka and K. Minami. submitted. Myosin II mediated directional migration of *Dictyostelium* cells in response to cyclic stretching of substratum.

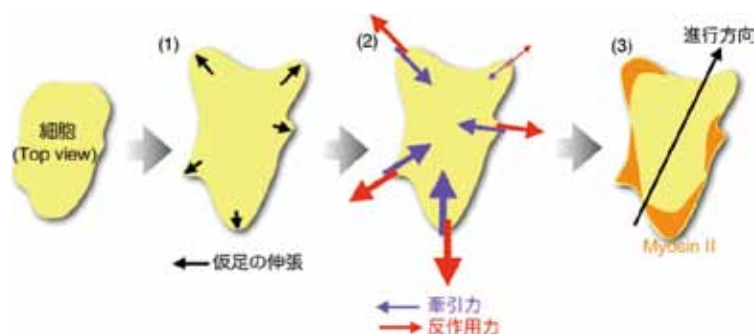


図5 基質牽引力に基づくアメーバ運動の前後極性形成機構の仮説。(1)ランダムな仮足の伸張(2)基質への牽引力の発生と同時に、基質からの反作用力の受容(3)反作用力の大きい箇所へのミオシンIIフィラメントの集積と仮足伸長の抑制(4)反作用力の分布に基づく前後極性の形成(反作用力が小さい方向に進む)。

血管のかたちづくりを理解したい

西山 功一(東京大学大学院医学系研究科 代謝生理化学)

まえがき

6月にドイツのウィースバーデンであった血管生物学の学会参加後、フランクフルトにあるゲーテの家を訪れました。そこに併設されていた「ヘンゼルとグレーテルの森」に立寄り物思いに耽っていた時に、ふと我に返る瞬間が…。今月ラボ旅行で箱根の紅葉狩りに出か

けました。そこで「黒たまご」をおいしくいただきながら富士山と紅葉のコラボレーションを眺めている時に、一瞬あたまの中を何かが走り抜けたような…。最近、枝分かれしたかたちをみてしまうとそれが血管に見えてならない、研究ベースに考えると好ましい状態が続いています(図1)。さて、今回このように紙面を割かせて

頂く機会を得ましたので、私の頭からなかなか離れてくれない“血管のかたち”を対象とした私たちの研究について、これまであまり皆さんに伝えられていない私見をもちこみながらそのエッセンスを紹介していきたいと思います。



図1 枝分かれ構造

官培養系において、血管細胞たちが自発的にかたちをつくる様子を4次元的に観察した結果、血管の初期のかたちをつくる際には細胞の集団運動が非常に重要であることが観えてきました（もちろんどこかで細胞が分裂し、かたちをつくる場に供給される必要があります）（図2（a））。また、その集団運動の過程は予想以上に一見複雑そうであり驚きでした。一細胞レベルにおいて、運動速度や進行方向は常に変化し、あたかもランダム運動であるかの様に観察されます。集団としてみれば、常に細胞の相対的位置関係を変化させることで細胞が位置的に混ざり合い、しかし全体としては絶妙にかたちをつくっていく様子が捉えられてきました。その中でも非常に興味深いことは、血管の先端に位置するいわゆるチップ細胞さえも入れ替わっていたことです（図2（b））。これまで、このチップ細胞は他の細胞とは違い特別な細胞と位置づけられ、血管新生はそのチップ細胞に後続の細胞が追従するかたちで進行する極めて静的な現象であると漠然と想定されてきました。しかし、私たちおよび競合グループからのこれらの報告により、これまでの血管新生の理解をもう一度見直していくことが必要視されてきています（Development 138(21):4763, 2011）。

ここまで示した解析データはex vivoでの現象をみたものですが、マウス網膜の血管新生を一つのモデルとして解析した結果、ex vivoでみられた細胞動態が個体内でも存在することが示唆されています。

次に捉えた細胞動態がどのように血管のかたちに繋がっていくのか検討しました。血管のかたち全体を一度にその対象とすると少し面倒ですので、血管のかたちがつくられる過程

研究の背景

血管は、一部の例外を除いて体中いたるところに存在します。そして組織・器官の恒常維持には欠かせないものです。ですから、その分病気にも広く関係してきます。もし血管を単に作ったり壊したりするだけでなくそのかたちや機能そしてその配置パターンを自由自在に操ることができるになれば、現代の医療は間違いなく大きく前進することでしょう。それは、私たちの研究の理想的な到達点とも言えます。

私たちの世の中には、血管と同じように枝分かれ構造を繰り返すかたちのもの、さらにそのかたちを利用した巧みな機能ネットワークを形成している事象が数多く存在します。血管のかたちを研究することを通して、それらの背後に存在する普遍的なしくみに近づくことが私たちの二つ目の大きな目標です。

さて現実的なところに話を戻します。血管のかたちのつくられ方として、脈管発生vasculogenesisと血管新生angiogenesisの二つの主な様式が存在します。血管が既にあるところから新たな血管が出芽的に伸びていくことで血管が増生する現象を血管新生と言います。一般的に血管がつくられる現象として最初にイメージされるのはこの様式でしょう。この過程は、血管のより細かい配置が生じるのに重要ですし、中枢神経系や腎臓においては血管をつくる主な方法として採用されています。また、血管が再生される時にもこの様式が最も重要であると考えられています。血管新生においては、血管の構成細胞である内皮細胞が連なって並び、壁細胞がそれを覆うことで、おおまかな血管のかたちや配置がひとまず決まっていきます。それより少し位相がずれるかたちで次々に管腔が形成されていき、その結果内腔をもつ連続体となっていきます。最終的に必要な血管だけが残存し、より機能的になるようそのかたちを再構成する（リモデリング）過程を経

て成熟した血管のかたちが出来上がります。

私たちはこの領域内の研究として、いかに血管新生のはじめの段階でみられる血管細胞たちの初期配置がおこなわれているのか、特に細胞レベルの現象に焦点をあてて理解することをひとまずの目標としています。たった二種類の細胞がつくる単純な帯状の構造と思えるのですが、そのかたちができるさまは意外によくわかっていません。

研究内容

生体内でおこっている血管新生は、1) 血管の細胞たちの集まりが自発的にかたちをつくる現象が2) 血管外環境因子によって修飾されることによって成り立つ現象であると考えることができます。よって、生体内の現象をより良く理解するためには、生体内で存在する血管外環境因子を除いた1)の状態での現象を理解することが非常に重要であると考えています。

最近、私たちはマウスの大動脈片を用いた器

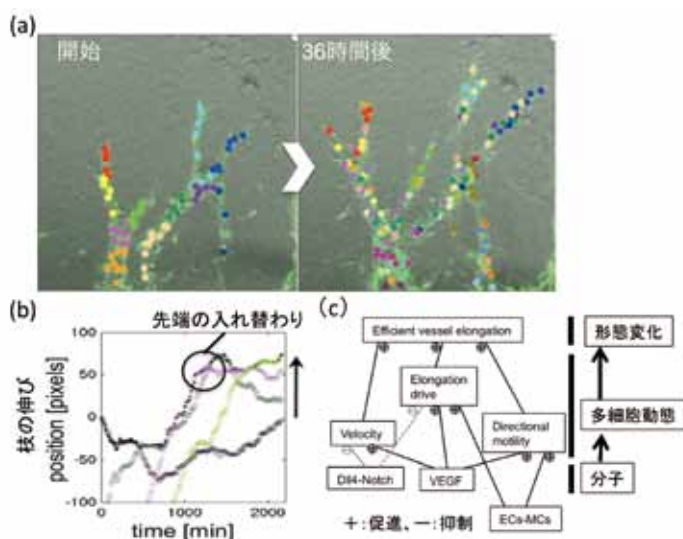


図2: 血管の自己組織化における細胞動態 (A)、枝の伸長時の細胞動態を示すキモグラフ (B)、統計解析による階層間の連結 (C)

を枝の伸長、分岐の形成等のモジュールに分解します。ここでは、枝が伸長する血管新生モジュールをとりあげます。細胞個々や集団での運動の特徴を表す指標(速度、方向性、協調性など)により細胞の動きを定量化します。さらに、一つ上の階層(かたち)である血管の伸びも定量化し、両者に統計解析を施すことで、両者間の関連性とその重みをみることができます。また、分子介入を行った状況で同様に解析することで、その運動要素とその下層に位置する分子とを連結して考えることも可能となります。紙面の都合上詳細は割愛しますが、このような解析を行っていくことで、分子が細胞の動きのどの要素に主に影響し、結果、血管のかたち(枝の伸長)にどのように繋がっていくのかをある程度見当づけることができます(図2(c))。(Development 138(21):4763, 2011)

最近の進展内容

ではこの個々の細胞の動きがどのように統合されることで全体としてのかたちに繋がっているのでしょうか?私たちはこの点に迫るため数理生物学的アプローチを導入し現在解析を進めています。これまで、エージェント・ベース・モデルに添うことで、細胞の運動性が確率的に遷移する一次元の血管伸長モデルを組み立ててきました。驚くことに、この単純なモデルによって血管伸長時の細胞動態の特徴をある程

度再現できることがわかりました(図3)。このことから、イメージング解析では一見複雑に観えていた血管伸長時の細胞の動きですが、それを駆動している中枢部分のしくみは思ったよりシンプルであることが推測されます。これは非常に大きな進展であると私たちは考えています。現在、公募班員の一人である京都大学の三浦岳先生にご協力いただき、離散モデルを支配する方程式の導出に取り組んでおり、現在ゴールも間近に見える状況になってきています。

しかし、今回のモデルにてあまり再現できなかった部分があります。それは、先端の細胞の動態です。この結果から、先端の細胞の動きは、他の細胞に比し何か特別な機構で制御されていることがクローズアップされてきました。したがって、今後先端の部分の制御機構の解析に焦点をあてていくことで、血管の伸長現象を担う細胞メカニズムの本質は理解できいくと思われま

あとがき

班会議では多種多様な動く生き物が登場し、そしてさまざまな動きを見せてくれます。非常にワクワクし心が躍るわけですが、私の場合すぐに現実に引き戻され血管内皮細胞の動きと比較する思考過程が作動します。子供の学芸会において、かわいい我が子を他人のお子様とどうしても多少なりとも比べてしまうように。かた

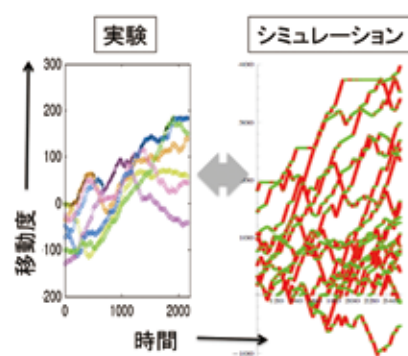


図3:実験とシミュレーション結果の比較
枝の伸長時の個々の細胞動態(各々の線)を表すキモグラフ

ちをつくるといった一つのゴールに向かう多種多様な生き物たちのさまざまな動きの中に、共通性を何か見出すとすれば、“それぞれの個性をうまく生かしている”ということくらいしか現時点では私の頭には浮かんできません。

私の頭から、“血管のかたち”の残像が消えてしまってくれるためには、まだまだ研究という修行が必要なようです。

Arima S, Nishiyama K, et al. Angiogenic morphogenesis driven by dynamic and heterogeneous collective endothelial cell movement. *Development* 138, 4763-4776 (2011)

免疫細胞が炎症組織内で集合体を作るしくみ

長谷川 明洋 (山口大学大学院医学系研究科)

免疫系は外界から侵入する様々な異物を排除することによって感染症や伝染病などから生体を守るための防御システムです。それらの役割を担うのは血液中の白血球ですが、その中に含まれる免疫細胞にはT細胞やB細胞のほか、好中球やマクロファージ、NK細胞など様々な種類の細胞が存在しています。各免疫細胞はそれぞれに決められた役割をもっており、それらが協調的に働くことによって効率的に異物を排除します。

近年生活衛生環境が向上し、感染症や伝染病の脅威が少なくなるにしたがって本来無害な外来異物に対しても免疫反応が起きてしま

うアレルギー疾患がクローズアップされるようになってきました。アレルギー疾患の代表としてアレルギー性喘息を例にあげて説明すると、吸入によって抗原に暴露された肺組織にT細胞や好酸球の浸潤が起こり炎症が誘導されます。

CD4陽性のヘルパーT細胞(Th)には、Th1、Th2、Th17細胞などいくつかの違ったサブセットが存在します。それぞれのTh細胞は産生するサイトカインが異なるため、それぞれ違った局面での免疫反応を担っています。そして、アレルギー性喘息の場合にはTh2細胞がその発症に深く関わっていることが知られています。これまでにリンパ組織において抗原提示細胞か

ら抗原提示を受けて活性化したTh2細胞がB細胞に働いてIgEなどの抗体産生を誘導したり、IL-5などを産生して好酸球の活性化や浸潤を誘導することは知られていましたが、T細胞は数の上では浸潤細胞の数パーセント程度であり、Th2細胞が実際の肺の炎症の場でどのような機能を果たしているのか、特にTh2細胞が浸潤するタイミングや浸潤様式、浸潤したTh2細胞の活性化状態などのダイナミックな細胞動態はほとんどわかっていませんでした。

そこで蛍光標識したTh2細胞を移入し気道炎症を起こしたマウスの肺での挙動を解析するためのリアルタイム可視化モニタリング系を

構築して、その細胞挙動を解析しています。抗原特異的Th2細胞を移入し、抗原吸入後の肺への集積を調べてみると、Th2細胞の肺への集積は抗原吸入6時間後から観察され、抗原吸入18～24時間後に最も多くなることがわかりました。また肺に集積してきたTh2細胞は肺組織内で細胞集団を形成し、少なくとも抗原吸入72時間後まで細胞集団が維持されていました¹。

次に生きたマウスの肺のなかでの抗原特異的Th2細胞の動態をビデオ撮影して解析したところ、定常状態の肺では肺血管内を移動する細胞が一定数あり、その一部が肺組織内へ移動し、一方、肺組織内から退出する細胞もほぼ同数あり、肺組織内の全体の細胞数が一定に保たれていることが観察されました。また定常状態では肺組織中を動きまわるTh2細胞は約10%で、ごく限られた細胞だけが活動していることがわかりました。抗原吸入6時間後の肺では小さな細胞集団が形成されはじめ、血管内を移動する細胞数や血管から肺組織内へ移

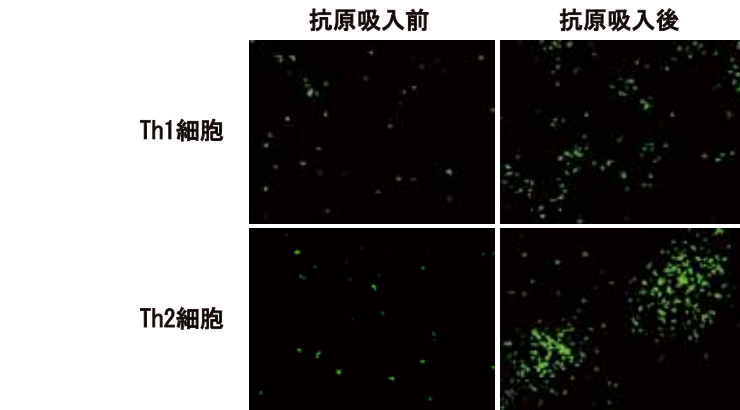


図1 Th1細胞とTh2細胞の肺への集積様式の違い。

Th2細胞は明瞭な細胞集団を形成するが、Th1細胞は肺全体に不均一に集積し、明瞭な細胞集団を形成しない。

動する細胞の数が増加していました。一方、肺組織内から出ていくTh2細胞の数は定常状態と変わりませんでした。これらのことから、抗原特異的なTh2細胞の肺への流入と集積が抗原吸入後6時間までに上昇し細胞集団の形成

がはじまることが明らかとなりました。抗原吸入12時間後では細胞集団が大きく成長し、血管内を移動して肺に流入してくるTh2細胞の数がさらに増加するとともに肺に集積するTh2細胞もさらに増加していました。一方、肺から

神経細胞に魅せられて

幼い頃から私は動物が好きで、小学生の頃は校内で飼育されていた小動物の世話を日課にしたものでした。自然の成り行きで、「理科」に対して親しみをもち、高校でも理系を選択して、曲がりなりにも専門的に向き合う機会を得ました。ところが、(いまでこそ生き物を扱うことを生業としていますが)当時の授業の中で最も苦手で、且つ、目も当てられない点数をとり続けたのは「生物学」でした。ぼさぼさの髪で、いつ洗ったか分からない白衣を身に纏い、とても借りたくはない汚れたよれよれのタオルを首に掛けておられたその先生は非常に熱心な方で、天気良ければしばしば野外授業になり、辺りに潜んでいる虫や蛇・鳥などを観察に連れ出してくれました。図鑑の中でしか見たことのない生き物たちを目の当たりにすることにワクワクさせられ、授業を毎回楽しみにしたのですが、そんなに甘いだけじゃないことを知るのはすぐそのあとの事でした。試験問題の殆どを「アリを正確に描写せよ」「ザリガニの特徴を述べよ」「蛇の横顔を描け」等々が占めており、いくら記憶を辿っても本物とは似ても似つかぬ姿が答案用紙に描かれる羽目になって大いに苦しまされました。実際に「見て」いたはずなのに、実は全く「観察」が出来ておらず、彼らが持つ特徴を全然捉えられていなかったのです。案の定、結果は悲惨なもので、私には生物学は向いていないと早々に諦めるきっかけとなってしまいました。その一方で、(スーツにネクタイ、白くてアイロンの掛かった白衣というお姿に惹かれたわけではありませんが)、「化学」は非常に面白く、得意でもありました。合成化学も分析化学も生化学も、理論的でスマートな学問に見え、すっかりその面白さに引き込まれていき、(後になって、この認識が大きな過ちであることに気づくのですが)、大学の選択もこのときの興味に大きく左右され、結局、薬学部の製薬化学科に入りました。実際に、有機合成化学や量子力学は興味深いものでしたが、「機能形態学」と「薬理学」に出会ったことが生物一特に脳一を相手に研究をしたいと、その扉を叩ききっかけになりました。私達の身体の至る所に様々な特異的機能をもつ器官や組織があり、それは小さな細胞達一つ一つがその機能に見合った構造・形態を作り上げた故であると知りました。彼らはまるで自分たちが果たすべき役割とその結末を知っているかのように、意思を持って動き回り、互いに干渉し合い、組織を作り上げていきます。その過程も結果も見えていて本当に楽しく美しい。BGMを流しながらその姿を映像として残し、振る舞いを理解したいと思わずにはいられません。初めて手にしたDilを夢中になってトレースした頃のこと、免疫組織学的に細胞を染色した時の感激、「見る」と「観察する」の違いを痛感させられた日々を忘れずに神経細胞を追い続けたいと思っています。

一見体の中を奔放に動き回っているように見える様々な細胞達が、無意識にしろ、実は互に関わりあいながら遂には私たちの身体を作り上げていくというその過程は、個人的には、本新学術領域の異種混合性とその目指すところと重なって見えます。この領域に参加出来たことを新たな力にして、細胞達をもっと理解していきたいと思っています。

六車 恵子

出ていくTh2細胞数は定常状態と比べて変化していませんでした。また抗原吸入12時間後の肺では集積したTh2細胞の90%が活性化状態で肺組織内を動きまわっていました。したがって、抗原依存的なTh2細胞の肺への流入と集積が抗原吸入12時間後には大きく上昇していくと考えられました。しかし、抗原吸入21時間後の時点になると血管を通して肺に流入してくるTh2細胞の数は大きく減少していました。したがって、抗原依存的に肺へ流入あるいは集積するTh2細胞の数は抗原吸入21時間までに最高レベルに達すると考えられました。

このマウス喘息モデルでは抗原吸入後に激しい好酸球浸潤がみられるのが特徴です。そこで、抗原特異的Th2細胞を移入した後に抗原を吸入させて経時的な肺の組織染色を行ったところ、抗原吸入24時間後までにTh2細胞が肺に集積して細胞集団を形成し、そのあとにTh2細胞の集団が形成された場所に好酸球の浸潤が起こって炎症巣が形成されることがわ

かりました。すなわち、炎症巣の形成過程において抗原特異的Th2細胞が炎症の開始と場所を制御していると考えられました。

その後、Th2細胞以外の機能的T細胞サブセットについて抗原吸入後の肺への集積能を調べたところ、その種類によって肺組織内での集積の様式が異なり、Th1細胞はTh2細胞と異なり肺に集積した後も明瞭な細胞集団を形成しないことがわかってきました(図1)。

現在この領域研究において、肺という臓器内で起こる炎症誘導という「秩序」形成の過程の中で、T細胞がどのように動き、集合体を形成して炎症誘導を行うのかという疑問を明らかにしたいと考えています。T細胞が肺組織内へ移動しその中で動きまわるためには、まわりの細胞上の接着分子が重要な役割を果たしていると考えられ、またTh2細胞のように集合体を形成するためには何らかの液性因子が関与していると考えられることから、現在これらの分子の解析を進めています。また浸潤細胞の

種類や炎症モデルの違いによって肺組織内への浸潤様式が異なることが明らかになってきたことから、その細胞挙動の差を解析して分子メカニズムの違いを解明したいと考えています。最終的に集合体が形成される場所を規定している細胞や因子を明らかにして炎症巣という秩序形成のメカニズムの解明につなげたいと考えています。この肺内ライブイメージング技術は他の炎症性疾患の解析にも応用可能であり、がん細胞の肺内転移浸潤の動態と抗腫瘍リンパ球の浸潤がん組織での反応などの解析で成果を上げつつあります²。今後重症の肺障害を引き起こす感染症での肺の炎症モニタリングなどにも応用していきたいと考えています。

- 1) Hasegawa, A. et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125: 461-468 (2010).
- 2) Hayashi, K. et al. *Anticancer Res.* 31: 3665-3672 (11).

Tre1 GPCRシグナルによる幹細胞の分裂方向制御機構

吉浦 茂樹 (理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター)

今回のニュースレターでは、私たちが2012年1月に発表した論文、“Tre1 GPCR Signaling Orients Stem Cell Divisions in the *Drosophila* Central Nervous System” (Dev Cell 22, 79-91, January 17, 2012) について解説します。

私たちの体を構成する多種多様な細胞は、それらが適切な場所に配置され、適切なパートナーと相互作用する事によって初めて、その機能を十分に発揮する事ができます。細胞が適切な場所に位置する為には、その細胞が正しい場所に生み出され、正しい場所へと移動して行く事が必要となり、これらの細胞挙動の一つ一つが、最終的な個体の組織形成において重要な役割を果たします。私たちはこれらの細胞の挙動のうち、細胞が生まれる場所がどのようにして制御されているのかという問題に注目して研究を進めました。

生物個体を構成する様々な細胞は、幹細胞と呼ばれる一群の未分化な細胞から生み出されます。そしてこの幹細胞の分裂から生み出さ

れる娘細胞の位置は、幹細胞が存在する場所とその分裂の方向によって決定されます。ではこの幹細胞の分裂方向の制御は、一体どのようなメカニズムによって行われているのでしょうか？これまでの研究から、幹細胞の分裂方向の制御は、組織ごとに異なったメカニズムによって行われていることが明らかとなっています。例えばショウジョウバエの外感覚器官を生み出す外感覚器官前駆細胞 (Sensory Organ Precursor) の分裂方向は、組織が持つ平面内細胞極性 (Planar Cell Polarity) によって決定されていることが知られており、またショウジョウバエの成体脳を作り出す幼虫期の神経幹細胞の分裂方向は、細胞分裂時の紡錘体の極となる中心体が細胞内の一定の場所に留まる事によって決定されていることが知られています。これらのメカニズムは、特定の組織においては十分有用なシステムとして幹細胞の分裂方向を制御できるのですが、別の組織においては必ずしもそうではありません。例えばPlanar Cell Polarityによる分裂方向の制

御は、上皮組織のような二次元的な組織においてはその力を十分発揮できるのですが、三次元的な組織においては、その限りではありません。また中心体を固定する方法は、成体脳のような比較的静的な組織においては有用なメカニズムなのですが、他の多くの組織は、その発生過程において変形や再構成を繰り返すため、このメカニズムではその変化に対応出来ず、娘細胞を正しい場所へと生み出す事ができません。このように幹細胞の分裂方向の制御には、その幹細胞が属する組織がどのような形態を持っており、発生過程においてどのような変化を遂げるのか、という事が大きく影響し、それゆえ組織ごとに異なるメカニズムが採用されているのではないかと考えられます。

では、三次元的であり、かつ発生過程において大きく変形するような組織においては、幹細胞の分裂方向はどのようなメカニズムによって制御されているのでしょうか。この問題を解明する為に、私たちはショウジョウバエ胚期の神経幹細胞 (Neuroblast, NB) の分裂方向制御

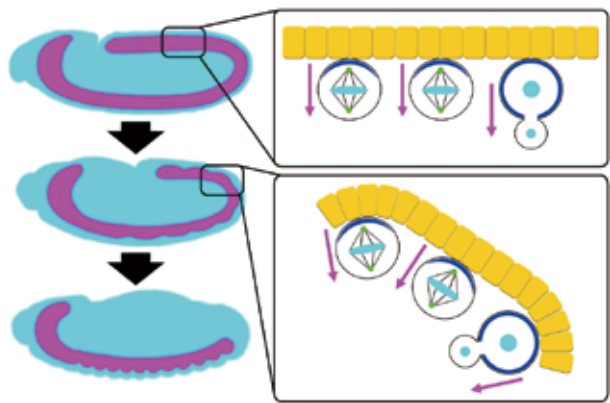


図1. ショウジョウバエ胚における中枢神経系の形態変化とNBの分裂方向。中枢神経系（マゼンタ）はその発生過程において大きな変形と分節化を行う。このような形態変化にも関わらず、NBは必ず上皮細胞層（黄）に対して垂直に分裂する。またこの時、極性タンパク質複合体（青）は必ずNBのapical側に局在する。

をモデルシステムとして研究を進めました。ショウジョウバエ胚は、発生過程においてその形態が大きく変化します。特に中枢神経系は、胚の腹側前方から背側前方まで伸びたU字型の形態から、腹側前方から腹側後方までのI字型へと縮み、またその過程で分節化が起こる事によって、平坦だった組織表面が凹凸を持ったものへと変形します。このように中枢神経系組織がダイナミックにその形態を変化させるに

も関わらず、NBは必ず組織に対して一定の方向、組織表面に存在する上皮細胞層に対して垂直な方向、へと分裂する事が知られています（図1）。では、このダイナミックに変形する中枢神経系組織内において、NBの分裂方向はどのようなメカニズムによって制御されているのでしょうか？これまでの研究から、NBの頂端（apical）側に位置する上皮細胞が何らかのシグナルをNBに伝える事によって、NBの分裂

方向が制御されていることが示唆されていましたが、その分子的な実体は明らかとはなっていませんでした。そこで私たちは、この上皮細胞からの細胞外シグナルによるNBの分裂方向制御の分子メカニズムの解明を目的として、以下の研究を行いました。

私たちはまず、上皮細胞からの細胞外シグナルを受容するレセプターの同定を行うために、NBに発現する膜貫通型のタンパク質に対するスクリーニングを行いました。その結果、Gタンパク質共役型受容体（GPCR）をコードする*tre1*という遺伝子の変異体において、NBの分裂方向に異常が見られる事がわかりました。前述のように、野生型胚ではNBの分裂方向は上皮細胞層に対して必ず垂直なのですが、*tre1*変異体においては、この分裂方向がランダムになります（図2A、B）。このときNBの分裂そのものには異常が見られず、生み出す娘細胞の種類や数は正常であることから、*Tre1*はNBの分裂方向を特異的に制御している事がわかりました。また、*Tre1*がNBの細胞膜上全周にわたって局在していることや、組織特異的なし

動くリンパ球がもたらす動的な秩序： in vivoイメージング事始め

リンパ球に発現しているLFA-1はローリングしながら一秒以内におこる血管内皮との停止接着や、抗原提示細胞と免疫シナプスを形成して数時間にわたって接着するのに重要な接着分子です。振り返ってみると私はTim Springerの研究室に留学して以来、20年近く、インテグリンと付き合っていることになりますが、大きく見てこれまで3度転機がありました。一つは留学中にVLA-5がSCFによって接着性を变化させることを見出したことです。それまで接着分子の研究は接着分子とリガンドの同定が主でしたので、これ以来、このダイナミックな接着機構を中心に研究していくことになっていきます。SCF/Kitはマトリックスとの接着だけでなく、melanocyteやgerm cellの移動に関与していることが指摘されていたので、インテグリンを介する接着と移動という一見、相反する現象なのではないかと考えていました。今でもそのレベルから抜け出しているとは言いがたいのが悔しいところです。

90年代にケモカインが次々に発見され、リンパ球では血管内皮に発現しているケモカインがLFA-1を活性化し、ローリングから停止を誘導していることが明らかにされていました。私はインテグリンの接着性を調節している分子を追求め、2000年になってやっと低分子量G蛋白質Rap1が中心的な役割を果たしていることを北里大学教授片桐晃子先生らと発見したことが次の転機になりました。

Rap1はLFA-1の接着性を亢進するだけでなく、ケモカイン刺激した時と同様な細胞形態を誘導し、ICAM-1上で活発な動きを誘導する動きがあることがわかりました。活性化型Rap1を発現したリンパ球が動いている様子をタイムラプスで見たときは本当に感動しました。その後、現在までにRap1はエフェクター分子RAPLを介してMst1を活性化し、LFA-1の親和性と局在の調節するというシグナル過程が見えてきました。

2000年代になると欧米では2光子励起レーザー顕微鏡なるものによってリンパ節内で活発に移動するリンパ球が初めて撮影されました。2光子って何？程度の知識でしたが、リンパ球の動きの速さにはびっくりしました。これは是非、うちでも2光子とやらを導入して生体内での動きとRap1シグナルの役割を明らかにしよう、と思い立ったのはよかったのですが、価格が一億円もする。。。共焦点顕微鏡でさえ、汗水ながして手にいれたのにと恨み節です。幸いにも、岡崎の生理研では2光子顕微鏡があると聞き、鍋倉先生、根本先生の研究室を訪問し、熱く？説得したおかげで使わしていただけることになりました。しかし、ことはすんなり進まず、生きたマウスのリンパ節を露出してレンズの下においてイメージングすると論文に書いてありますが、詳細は研究室の秘密らしくよくわからない。マウスの実験が得意なスタッフがやってみるとマウスは頻繁にステージ上で死ぬし、イメージングできてもリンパ球はほとんど止まっている。今度こそと勇

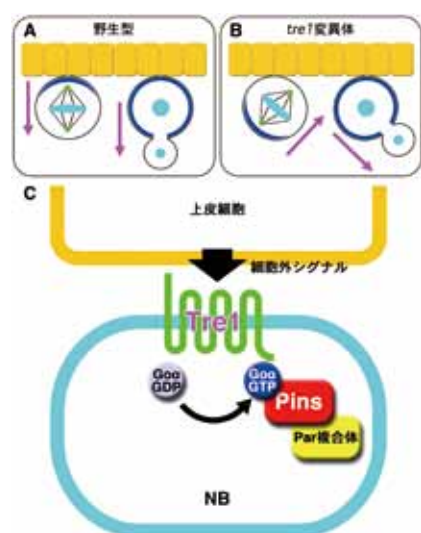


図2. (A, B) 野生型及び*tre1*変異体におけるNBの分裂方向。野生型では必ずNBは上皮細胞層に対して垂直に分裂するが、*tre1*変異体ではその方向がランダムになる。(C) Tre1 GPCR-PinsシステムによるNBの分裂方向の制御メカニズム。

スキュー実験の結果などから、Tre1はNBにおいて細胞自律的に機能している事が明らかと

なり、これらの結果から、Tre1が、上皮細胞からのシグナルを受容するレセプターとして機能する事によって、NBの分裂方向を制御している事が示唆されました。

次に私たちは、Tre1のシグナル伝達経路の解明を行いました。GPCRは多くの場合、三量体Gタンパク質 α サブユニット($G\alpha$)の活性化を通じてシグナルを伝達していることから、Tre1も同様に、 $G\alpha$ の活性化を通じて下流にシグナルを伝達している可能性が考えられました。この可能性を検証するため、Tre1と、ショウジョウバエに7つ存在する $G\alpha$ タンパク質との物理的な相互作用の有無を調べた所、Tre1はGo α 47A (Go α)と選択的に相互作用する事がわかりました。Go α はNBに発現しており、Tre1同様、NBの細胞膜全周にわたって局在している事が知られていましたが、その機能については不明でした。そこでGo α がNBにおいて果たす機能を調べるため、NBにおいてGo α の活性化(GDP-GTP交換)を阻害する実験を行いました。その結果、Go α の活性化を阻害すると、*tre1*変異体同様、NBの分裂方向がランダ

ムになる事がわかりました。これらの結果から、Tre1は、Go α の活性化を通じてNBの分裂方向を制御している事が示唆されました。

では、これまでの結果から明らかとなったTre1-Go α シグナルは、どのようにしてNBの分裂方向を制御しているのでしょうか。NBの分裂方向は、NBの極性の向きによって決まります。NBの極性は、細胞極性の形成を司るPar複合体と、紡錘体の配向を制御するPins-Gai複合体(両者合わせて極性タンパク質複合体)が、NBの片側に局在する事によって形成されます。この極性タンパク質複合体によるNBの細胞極性は、細胞自律的に形成されることが知られているのですが、その方向(つまり、極性タンパク質複合体が細胞内のどこに局在するか)の決定には、上皮細胞からの細胞非自律的なシグナルが必要となります。このことから、Tre1-Go α シグナルは、NB内における極性タンパク質複合体の局在場所の制御を通して、NBの分裂方向を制御しているものと考えられました。この可能性を検証するため、私たちはTre1もしくはGo α と、極性タンパク質複合体を構成するタン

んで泊りがけでトライしても、帰りは疲労困憊、みな押し黙って電車で帰る羽目になりました。根本先生に今度だめだったら終わりにしようかとこやかに言われ、挙句の果てに中心でやっていたスタッフはやめてしまい、崖っぷちにたたされました。そこで一念発起して、今までの失敗原因をよく考え、ゴールデンウィークをつぶして大阪日本橋を歩き回り、材料を集めて脚の固定と温度コントロールを両立する装置らしきものをつくり、それを試して、さらに改良型を設計して試作品を作ってもらいました。今度は短い時間(10分程度)でしたが、活発に動く様子をとらえることに初めて成功し、これが3度目の転機となりました。リンパ球は細胞質が乏しく、ミトコンドリアが少ないせいか快適な温度と酸素たっぷりの血流がないとすぐにへばり、動きを止めます。これに気づきしっかりコントロールできれば長時間イメージングが可能なのわけです。短いイメージングを繰り返し再生してPRし、最初は顕微鏡の部分、次にレーザーを買い足し、やっと2009年に念願の2光子顕微鏡が研究室で立ち上がりました。途中、新学術の立ち上げもトライしましたが失敗しました。しかし、その縁で代表の宮田さんと知り合い、この班が立ち上がったのは次の展開に非常に重要になりました。

宮田さんはスライス培養を用いて神経の層構造を作る過程をイメージングし、核のエレベータ運動の様子を示しておられました。どうやって柔らかい脳組織を切っているのかとうとビブラトームなるもので振動しながら切れるとのこと。しかし、宮田さんは、私は機械を使わず手で切っていますが、とも説明されました。とにかく、リンパ組織でスライスできれば、イメージングとともに抗体や阻害

剤の投与が容易でその効果を直接判定にできる。in vivoが立ち上がったのでその両者を比較検討できる。すぐに、器用な連携研究者の片貝君がリンパ節のスライスをを用いた2光子イメージングを立ち上げ、LFA-1/ICAM-1がリンパ節内の高速移動に重要なことを抗体や阻害剤を用いて明らかにしています。また連携研究者の植田君は同様の手法で胸腺のスライスを樹立して、負の選択環境下での未熟Tリンパ球の接着、移動過程を撮影し、自己抗原を発現する胸腺上皮細胞との相互作用を初めて明らかにしました。胸腺はin vivoイメージングが困難で、動態的に謎の多い組織です。胸腺内で自己抗原に遭遇に遭遇するとそれに結合する抗原受容体を持つ未熟Tリンパ球は死んでしまい、末梢に出てこないと考えられています。この過程における移動や接着調節について今後、詳細が明らかになっていくと思います。

イメージングができるようになると数理解析の重要性があらためて認識させられます。リンパ組織内での移動は基本的にランダムに起こりますが、リンパ球移動の目的は外来抗原の探索にあり、胸腺では自己抗原の探索です。この過程が最適になるようにリンパ球の移動は調節されているのだろうか、という素朴な疑問が浮かびます。かなりの工夫が必要ですが、リンパ球の動きを操作し、抗原探索過程を可視化して定量的なイメージングを行うこととシミュレーションによる予想から答えがでてくると期待しています。あ! 上田さんが粘菌でもうやっていた。みなさん、この班でどんどん連携して学問の垣根を壊し、新しい分野を作っていきましょう。

木梨 達雄

パク質との物理的な相互作用の有無を調べました。その結果、Pins-Gαi複合体を形成するPinsとGoαとが物理的に相互作用できる事が明らかとなりました。この相互作用について詳しく調べた結果、Tre1-Goα-Pinsは三者で複合体を形成できること、また、PinsとGoαの*in vivo*での相互作用にはTre1によるGoαの活性化が必要である事が示唆され、これらの結果から、Tre1-Goαシグナルは、Goαの活性化を通じて、PinsをGoαが活性化している部位にリクルートする事によって、Pinsの局在場所を制御している事が示唆されました。

以上の結果から、次のようなモデルが考え

られました(図2C)。上皮細胞からの細胞外シグナルによって、Tre1がNBのapical側で活性化され、これによってGoαもNBのapical側で活性化されます。活性化されたGoα(Goα-GTP)はPinsと相互作用することによって、PinsをNBのapical側へとリクルートします。Pinsは他の極性タンパク質複合体と相互作用することが出来るので、このPinsのリクルートによって、NB内での極性タンパク質複合体の局在場所が決定され、NBの分裂方向が決定されると考えられます。

今回の私たちの研究から、細胞の分裂方向を決定する新たなメカニズム、Tre1 GPCR-

Pinsシステムの存在が明らかとなりました。このシステムを用いることで、NBは中枢神経系表面(上皮細胞層)に対する相対的な位置関係を常に把握する事ができ、これによって三次元的かつ動的な組織内において、その分裂方向を正確に制御する事を可能にしていると考えられます。またPar複合体は、ショウジョウバエNBのみならず、哺乳類など他の動物種においても多くの細胞種の細胞極性の形成を制御している事が知られており、このTre1 GPCR-Pinsシステムが、進化的に保存された細胞極性の方向を決めるメカニズムとして機能している事が考えられます。

リンパ球の遊走の仕組み

リンパ球は15-20 $\mu\text{m}/\text{min}$ という他の細胞に比べ最も早いスピードで遊走することができます。この最速の移動の基盤となっているのは、リンパ球特有の極性形成(図1)と白血球特異的なインテグリンLFA-1を介する接着です。インテグリンLFA-1を介する接着が、Rap1-RAPL-Mst1シグナルによって制御されていること^{1,2)}を研究する過程で、LFA-1分子が細胞内も含めて、ほとんど全てといっていいほど、極性をもったリンパ球の先端部へ集積し(図2)、それを接着ポイントとして、ICAM-1上を移動することがわかりました。RAPL-Mst1は何も刺激がないと、細胞質にdiffuseに存在していますが、接着するとその部位へ集まり、RAPL-Mst1がdiffuseになると、脱接着がおこります。また、リンパ球が移動しているときは、RAPL-Mst1が集積している接着ポイントそのものが移動しているように見えるので、この接着ポイントは移動装置でもあると思われます(接着後の移動様式は、他の細胞と同じ仕組みかもしれません)。RAPL及びMst1ノックアウトマウスの解析から、リンパ球の移動の様々な場面で、主要な役割を果たしていることが証明されました^{3,4)}が、RAPL-Mst1が何をしているのか、いまだ明らかにできていません。LFA-1クラスターが存在する先端膜が細胞の中から生じ、それがICAM-1に接着すると移動装置となると考えられますので、この膜分画はなんであるのか解明するために、Rab family 低分子量Gタンパク質の解析を始めました。LFA-1と一緒に動き、その局在を制御するRab分子は見つけました。それがRAPL-Mst1とどのような関係にあるのかを解明し、リンパ球の遊走制御の仕組みの一端を明らかにできればと思っています。新領域の中で様々な細胞の動きとその制御様式を学び、またリンパ球の移動の特殊性を、他の分野の研究者にも知ってもらい、すでにとても有意義なアドバイスをいただいています。また、共同研究で貴重な研究材料の御供与や技術指導を受けており、本領域研究を介してリンパ球遊走を制御する特有の仕組みを解明するという、目標に少しでも近づきたいと思っています。

片桐 晃子

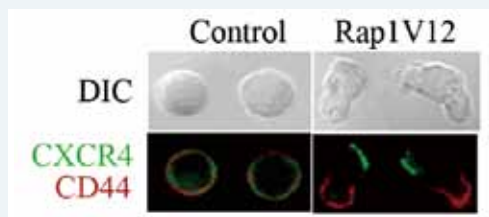


図1 リンパ球の極性は接着非依存症にRap1活性化により誘導される。

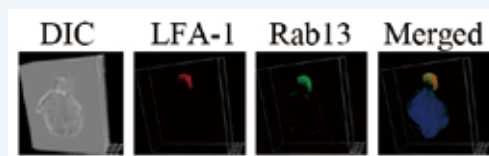


図2 LFA-1は先端膜に集積する。

- 1) Katagiri K, et.al. RAPL, a Rap1-binding molecule that mediates Rap1-induced adhesion through spatial regulation of LFA-1. Nat. Immunol. 4 :741-8, 2003
- 2) Katagiri K, et.al. Spatiotemporal regulation of the kinase Mst1 by binding protein RAPL is critical for lymphocyte polarity and adhesion. Nat. Immunol. 7:919-28, 2006
- 3) Katagiri K, et.al. Crucial functions of the Rap1 effector molecule RAPL in lymphocyte and dendritic cell trafficking. Nat. Immunol. 5:1045-51, 2004
- 4) Katagiri K, et.al. Mst1 controls lymphocyte trafficking and interstitial motility within lymph nodes. EMBO J. 28:1319-31, 2009

2012/01/28,29 第4回領域班会議を開きました(名古屋大学 東山キャンパス)

2012/09/08,09 第5回領域班会議を開きました(湘南国際村センター)

第4回領域班会議



第4回領域班会議集合写真

第5回領域班会議に参加して

柴田 幸政 (関西学院大学 西協研)

今回で領域班会議の参加も4回目になります。いつも領域班会議に参加すると、刺激を受けて帰るのですが、今回もやはりそうでした。いつも一番インパクトがあるのが磁性細菌を研究してみえる金沢大の田岡先生の話です。おなじみの細菌に加え、磁力に反応する生き物が何種類もいるのは驚きでした。生物の面白さってこれだよなという感じで、純粋に楽しめました。また、名古屋大、宮田研の篠田先生の話にあった、突起の話も非常に印象的でした。世界中の研究者が何年も観察しているような場所でも、未だに未知の何か面白そうな現象が残っているものなんだと感心しました。しっかり観ることの重要性を再確認し、自分の研究にも生かしていきたいと思いました。同じことは、基生研の鈴木先生の発表からも毎回感じます。奈良先端大の松井先生の話は、直感とシミュレーションが繋がるのを実感できる点がすばらしかったです。シミュレーションや数理解析の話は、最近色々なところで

よく聞くのですが、内容的には箔がつくだけという感じのものや、話が数式寄りすぎてついていくのがやっと(ついていけない場合も多々ある)、という話が多い中、松井先生の話は話が終わった時に、「なるほどね」とすっきり終われる少ない例でした。とはいえ、もっと自分が数理解析を勉強すればこういうすっきり終われる話が、増えるのでしょうか。これ以外にも、ほとんどの話が面白く印象的でした。会議の後は、逗子駅の近くで、おいしいプリンとケーキを買って帰りました。



2012

Arima Y, Miyagawa-Tomita S, Maeda K, Asai R, Seya D, Minoux M, Rijli FM, Nishiyama K**, Kim K-S, Uchijima Y, Ogawa H, Kurihara Y* and Kurihara H*. Preotic neural crest cells contribute to coronary artery smooth muscle involving endothelin signaling. *Nature Communications*, in press

Sekine K, Kawauchi T, Kubo K, Honda T, Herz J, Hattori M, Kinashi T** and Nakajima K**. Reelin controls neuronal positioning by promoting cell-matrix adhesion via inside-out activation of integrin $\alpha 5 \beta 1$. *Neuron*, 76(2), 353-369 (2012).

Ueda Y*, Katagiri K**, Tomiyama T, Yasuda K, Habiro K*, Katakai T*, Ikehara S, Matsumoto M, Kinashi T**. Mst1 regulates integrin-dependent thymocyte trafficking and antigen-recognition in the thymus. *Nature Communications*, 3:1098. doi:10.1038/ncomms2105. (2012).

Watanabe T, Ochiai H, Sakuma T, Horsch W.H, Hamaguchi N, Nakamura T**, Bando T, Ohuchi H, Yamamoto T, Noji S and Mito T. Non-transgenic genome modifications in a hemimetabolous insect using zinc-finger and TAL effector nucleases. *Nature Communications*, 3:1017. doi:10.1038/ncomms2020 (2012).

Nakazawa H, Sada T, Toriyama M, Tago K, Sugiura T, Fukuda M and Inagaki N**. Rab33a mediates anterograde vesicular transport for membrane exocytosis and axon outgrowth. *Journal of Neuroscience*, 32(37), 12712-12725 (2012).

Matsui T**1, Sasaki A, Akazawa N, Otani H and Bessho Y. Celf1 regulation of dmr2a is required for somite symmetry and left-right patterning during zebrafish development (1 Corresponding author) *Development*, [Epub ahead of print]

Shibata T**, Nishikawa M, Matsuoka S and Ueda M**. Modeling the self-organized phosphatidylinositol lipids signaling system in chemotactic cells based on quantitative image analysis. *Journal of Cell Science*, [Epub ahead of print]

Yoshinaga S, Ohkubo T, Sasaki S, Nuriya M, Ogawa Y*, Yasui M, Tabata H* and Nakajima K**. A phosphatidylinositol lipids system, Lamellipodin and Ena/VASP regulate dynamic morphology of multipolar migrating cells in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.*, 32 (34), 11643-11656 (2012).

Onodera Y, Nam JM, Hashimoto A, Norman JC, Shirato H, Hashimoto S**, Sabe H. Rab5c promotes AMAP1-PRKD2 complex formation to enhance $\beta 1$ integrin recycling in EGF-induced cancer invasion. *J Cell Biol.*, 197(7), 983-996 (2012).

Tsujioka M, Yumura S, Inouye K, Patel H, Ueda M** and Yonemura S**. Talin couples the actomyosin cortex to the plasma membrane during rear retraction and cytokinesis. *Proc. Natl. Acad. USA*, [Epub ahead of print]

Nakano T, Ando S, Takata N, Kawada M, Muguruma K**, Sekiguchi K, Saito K, Yonemura S**, Eiraku M and Sasai Y. Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell* .. 10(6), 771-785 (2012).

Yamashita H†, Taoka A**†, Uchihashi T, Asano T, Ando T, Fukumori Y. Single molecule imaging on living bacterial cell surface by high-speed AFM. (†H.Y. and A.T. contributed equally to this work.) *Journal of Molecular Biology*, 422(2), 300-309 (2012).

Gonda Y, Andrews WD, Tabata H*, Namba T, Parnavelas JG, Nakajima K**, Kohsaka S, Hanashima C and Uchino S. Robo1

regulates the migration and laminar distribution of upper-layer pyramidal neurons of the cerebral cortex. *Cereb. Cortex*, [Epub ahead of print]

Suzuki M**, Morita H and Ueno N*. Molecular mechanisms of cell shape changes that contribute to vertebrate neural tube closure. *Dev. Growth Differ.*, 54(3), 266-276 (2012).

Toyoshima K, Asakawa K, Ishibashi N, Toki H, Ogawa M, Hasegawa T, Irue T, Tachikawa T, Sato A, Takeda A and Tsuji T**. Fully functional hair follicle regeneration through the rearrangement of stem cells and their niches. *Nat. Commun.*, 3:784. doi: 10.1038/ncomms1784 (2012).

Nishimura SI, Ueda M** and Sasai M. Non-Brownian dynamics and strategy of amoeboid cell locomotion. *Physical Review E*, 85, 041909 (2012).

Muguruma K** and Sasai Y. In vitro recapitulation of neural development using embryonic stem cells: From neurogenesis to histogenesis. *Dev. Growth Differ.*, 54(3), 349-357 (2012).

Xie M-J, Yagi H, Kuroda K, Wang C-C, Komada M, Zhao H, Sakakibara A*, Miyata T**, Nagata k, Iguchi T and Sato M. WAVE2-Abi2 complex controls growth cone activity and regulates the multipolar-bipolar transition as well as the initiation of glia-guided migration. *Cereb. Cortex*, [Epub ahead of print]

Matsui T1** and Bessho Y. (1 Corresponding author). Left-right asymmetry in zebrafish. *Cellular and Molecular Life Sciences*, [Epub ahead of print]

Kusuzawa S, Honda T, Fukata Y, Fukata M, Kanatani S*, Tanaka D.H*, and Nakajima K**. Leucine-rich glioma inactivated 1 (Lgi1), an epilepsy-related secreted protein, has a nuclear localization signal and localizes both to the cytoplasm and nucleus of the caudal ganglionic eminence neurons. *Eur. J. Neurosci.*, 36(3), 2284-2292 (2012).

Nochi R, Kato T, Kaneko J, Itou Y, Kuribayashi H, Fukuda S, Terazono Y, Matani A, Kanatani S*, Nakajima K**, and Hisatsune T. Involvement of mGluR5-signaling in activity-related proliferation of adult hippocampal neural stem cells. *Eur. J. Neurosci.*, [Epub ahead of print]

Tanaka D.H* and Nakajima K**. GABAergic interneuron migration and the evolution of the neocortex. *Dev. Growth Differ.*, 54(3), 366-372 (2012).

Kubota Y, Nagata K, Sugimoto A, and Nishiwaki K**. Tissue Architecture in the *Caenorhabditis elegans* Gonad Depends on Interactions among Fibulin-1, Type IV Collagen and the ADAMTS Extracellular protease. *Genetics.*, 190, 1379-1388 (2012).

Tanaka D.H* and Nakajima K**. Migratory Pathways of GABAergic interneurons when they enter the neocortex. *Eur. J. Neurosci.*, 35(11), 1655-1660 (2012).

Obata Y, Takahashi D, Ebisawa M, Kakiguchi K, Yonemura S**, Jinnohara T, Kanaya T, Fujimura Y, Ohmae M, Hase K, Ohno H. Epithelial cell-intrinsic notch signaling plays an essential role in the maintenance of gut immune homeostasis. *J Immunol.*, 188, 2427-2436 (2012).

Hanawa-Suetsugu K, Kukimoto-Niino M, Mishima-Tsumagari C, Akasaka R, Ohsawa N, Sekine SI, Ito T, Tochio N, Koshiba S, Kigawa T, Terada T, Shirouzu M, Nishikimi A, Urano T, Katakai T, Kinashi T**, Kohda D, Fukui Y**, Yokoyama S. Structural basis for mutual relief of the Rac guanine nucleotide exchange factor DOCK2 and its partner ELMO1 from their autoinhibited forms. *Proc. Natl. Acad. USA.*, 109, 3305-3310 (2012).

Tabata H*, Yoshinaga S, and Nakajima K**. Cytoarchitecture of mouse and human subventricular zone in developing cerebral neocortex.

Exp. Brain Res., 216, 161-168 (2012).

Yoshiura S**, Ohta N, and Matsuzaki F. Tre1 GPCR signaling orients stem cell divisions in the *Drosophila* central nervous system.

Dev Cell 22, 79-91 (2012).

Katagiri K**, Kinashi T**. Rap1 and integrin inside-out signaling.

Methods Mol Biol. 757, 279-296 (2012).

2011

Natsume S, Kato T, Kinjo S, Enomoto A, Toda H, Shimato S, Ohka F, Motomura K, Kondo Y, Miyata T, Takahashi M and Wakabayashi T. Girdin maintains the stemness of glioblastoma stem cells.

Oncogene 31, 2715-2724 (2011).

Ogino H, Azuma Y, Hosoyama A, Nakazawa A, Matsutani M, Hasegawa A**, Otsuyama K, Matsushita K, Fujita N, and Shirai M. Complete genome sequence of NBRC 3288, a unique cellulose-nonproducing strain of *Gluconacetobacter xylinus* isolated from vinegar.

J. Bacteriol. 193, 6997-6998 (2011).

Hayashi K, Kimura H, Yamauchi K, Yamamoto N, Tsuchiya H, Tomita K, Kishimoto H, Hasegawa A**, Bouvet M, and Hoffman R M. Comparison of cancer cell seeding, viability and deformation in the lung, muscle and liver, visualized by subcellular real-time imaging in the live mouse.

Anticancer Res. 31, 3665-3672 (2011).

Menju T, Hashimoto S**, Hashimoto A, Otsuka Y, Handa H, Ogawa E, Toda Y, Wada H, Date H, Sabe H. Engagement of overexpressed Her2 with GEP100 induces autonomous invasive activities and provides a biomarker for metastases of lung adenocarcinoma.

PLoS One. 6 (9):e25301 (2011).

Hashimoto A, Hashimoto S**, Ando R, Noda K, Ogawa E, Kotani H, Hirose M, Menju T, Morishige M, Manabe T, Toda Y, Ishida S, Sabe H. GEP100-Arf6-AMAP1-cortactin pathway frequently used in cancer invasion is activated by VEGFR2 to promote angiogenesis.

PLoS One. 6(8):e23359 (2011).

Suga H, Kadoshima T, Minaguchi M, Ohgushi M, Soen M, Nakano T, Takata N, Wataya T, Muguruma K, Miyoshi H, Yonemura S**, Oiso Y, and Sasai Y. Self-formation of functional adenohipophysis in three-dimensional culture.

Nature. 480,57-62 (2011).

Shibata Y, Uchida M, Takeshita H, Nishiwaki K**, and Sawa H. Multiple functions of PBRM-1/Polybromo- and LET-526/Osa-containing chromatin remodeling complexes in *C. elegans* development.

Dev Biol. 361, 349-357 (2011).

Katagiri K**, Ueda Y, Tomiyama T, Yasuda K, Toda Y, Ikehara S, Nakayama KI, Kinashi T**. Deficiency of Rap1-binding protein RAPL causes lymphoproliferative disorders through mislocalization of p27kip1.

Immunity. 34, 24-38 (2011).

Nakamuta S, Funahashi Y, Namba T, Arimura N, Picciotto M R, Tokumitsu H, Soderling T R, Sakakibara A*, Miyata T**, Kamiguchi H, and Kaibuchi K. Local Application of Neurotrophins Specifies Axons Through Inositol 1,4,5-Trisphosphate, Calcium, and Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein kinases.

Science Signal. 4, ra76 (2011). [DOI: 10.1126/scisignal.2002011]

Noguchi T, Koizumi M, and Hayashi S**. Sustained elongation of sperm tail promoted by local remodeling of giant mitochondria in

Drosophila.

Curr Biol. 21, 805-814 (2011).

Kamino K, Fujimoto K and Sawai S**. Collective oscillations in developing cells: Insights from simple systems.

Develop. Growth Differ. 53, 503-517 (2011).

Tajiri R, Misaki K, Yonemura S**, and Hayashi S**. Joint morphology in the insect leg: evolutionary history inferred from Notch loss-of-function phenotypes in *Drosophila*.

Development 138, 4621-4626 (2011).

Uyeda Q.P.T, Iwade Y**, Umeki N, Nagasaki A and Yumura S. Stretching actin filaments within cells enhances their affinity for the myosin II motor domain.

PLoS ONE 6(10): e26200 (2011).

Arima S[§], Nishiyama K^{§***}, Ko T, Arima Y, Hakozaki Y, Sugihara K, Koseki H, Uchijima Y, Kurihara Y, and Kurihara H. ([§]the authors contributed equally to this work, ^{*}corresponding author). Angiogenic morphogenesis driven by dynamic and heterogeneous collective endothelial cell movement.

Development 138, 4763-4776 (2011).

Nukazuka A, Tamaki S, Matsumoto K, Oda Y, Fujisawa H and Takagi S**. A shift of the TOR adaptor from Rictor towards Raptor by semaphorin in *C.elegans*.

Nature Communications. (2011 Sep 27.) Volume:2, Article number:484 DOI:doi:10.1038/ncomms 1495.

Nishikimi M, Oishi K, Tabata H*, Torii K, and Nakajima k**. Segregation and pathfinding of callosal axons through EphA3 signaling.

J. Neurosci. 31, 16251-16260 (2011).

Yonemura S**. Cadherin-actin interactions at adherens junctions.

Curr Opin Cell Biol. 23, 515-522 (2011).

Yonemura S**. A mechanism of mechanotransduction at the cell-cell interface: Emergence of α -catenin as the center of a force-balancing mechanism for morphogenesis in multicellular organisms.

Bioessays. 33, 732-736 (2011).

Wada K, Itoga K, Okano T, Yonemura S**, Sasaki H. Hippo pathway regulation by cell morphology and stress fibers.

Development 138, 3907-3914 (2011).

Tanaka D.H*, Toriumi K, Kubo K, Nabeshima T, and Nakajima K**. GABAergic precursor transplantation into the prefrontal cortex prevents phencyclidine-induced cognitive deficits.

J. Neurosci. 31, 14116-14125 (2011).

Sansores-Garcia L, Bossuyt W, Wada K, Yonemura S**, Tao C, Sasaki H, and Halder G. Modulating F-actin organization induces organ growth by affecting the Hippo pathway.

EMBO J. 30, 2325-2335 (2011).

Tanaka-Okamoto M, Hori K, Ishizaki H, Itoh Y, Onishi S, Yonemura S**, Takai Y, and Miyoshi J. Involvement of afadin in barrier function and homeostasis of mouse intestinal epithelia.

J. Cell Sci. 124, 2231-2240 (2011).

Kim W, Matsui T**, Yamao M, Ishibashi M, Tamada K, Takumi T, Kohno K, Oba S, Ishii S, Sakumura a Y and Bessho Y. The period of the somite segmentation clock is sensitive to Notch activity.

Molecular Biology of the Cell 22, 3541-3549 (2011).

Oshima M, Mizuno M, Imamura A, Ogawa M, Yasukawa M, Yamazaki H, Morita R, Ikeda E, Nakao K, Takano-Yamamoto T, Kasugai S, Saito M, Tsuji T **. Functional Tooth Regeneration Using a Bioengineered Tooth Unit as a Mature Organ Replacement Regenerative Therapy.

PLoS ONE 6(7): e21531 (2011).

Kim H-S, Murakami R, Quintin S, Mori M, Ohkura K, Tamai K, Labouesse M, Sakamoto H, and Nishiwaki K**. VAB-10 spectraplakins act in cell and nuclear migration in *Caenorhabditis elegans*.
Development 138, 4013-4023 (2011).

Hirano Y, Hatano T, Takahashi A, Toriyama M, Inagaki N** and Hakoshima T. Structural basis of cargo recognition by the myosin-X MyTH4-FERM Q1 domain.
EMBO J 30, 2734-2747 (2011).

Inagaki N**, Toriyama M and Sakumura Y. Systems biology of symmetry-breaking during neuronal polarity formation.
Dev. Neurobiol. 71, 584-593 (2011).

Matsui T**, Thitamadee S, Murata T, Kakinuma H, Nabetani T, Hirabayashi Y, Hirate Y, Okamoto H, and Bessho Y (2011) Canopy1, a positive feedback regulator of FGF signaling, controls progenitor cell clustering during Kupffer's vesicle organogenesis (*Corresponding author)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108: 9881-9886 (2011).

Sekine K, Tabata H*, and Nakajima K**. Cell polarity and initiation of migration (Chapter 24).
Developmental Neuroscience: A Comprehensive Reference, Elsevier.

Sekine K, Honda T, Kawauchi T, Kubo K and Nakajima K**. The outermost region of the developing cortical plate is crucial for both the switch of the radial migration mode and the Dab1-dependent "inside-out" lamination in the neocortex.
J. Neurosci., 31 (25), 9426-9439 (2011).

Tomita K, Kubo K, Ishii K and Nakajima K**. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (Disc1) is necessary for migration of the pyramidal neurons during mouse hippocampal development.
Hum. Mol. Genet., 20 (14), 2834-2845 (2011).
(K. Tomita and K. Kubo are co-first authors)

Ihara S**, Hagedorn E. J, Morrissey M. A, Chi Q, Motegi F, Kramer J. M, and Sherwood D. R. Basement membrane sliding and targeted adhesion remodels tissue boundaries during uterine-vulval Attachment in *C.elegans*.
Nature Cell Biology 13, 641-651 (2011).

Ajioka I**, Ichinose S, Nakajima K**, and Mizusawa H. Basement Membrane-like Matrix Sponge for the Three-dimensional Proliferation Culture of Differentiated Retinal Horizontal Interneurons.
Biomaterials, 32, 5765-5772 (2011).

Tamura Y, Matsumura K, Sano M, Tabata H*, Kimura K, Ieda M, Ara Ti, Ohno Y, Kanazawa H, Yuasa S, Kaneda R, Makino S, Nakajima K**, Okano H, and Fukuda K. Neural crest-derived stem cells migrate and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction.
Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 31, 582-589 (2011).

Otani T, Oshima K, Onishi S, Takeda M, Shinmyozu K, Yonemura S**, and Hayashi S**. IKKε regulates cell elongation through recycling endosome shuttling.
Dev. Cell 20, 219-232 (2011).

Tanaka D. H*, Oiwa R, Sasaki E, and Nakajima K**. Changes in cortical interneuron migration contribute to the evolution of the neocortex.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 108 (19), 8015-8020 (2011).

Ishizuka K, Kamiya A, Oh E. C, Kanki H, Seshadri S, Robinson J. F, Murdoch H, Dunlop A. J, Kubo K, Furukori K, Huang B, Zeledon M, Hayashi-Takagi A, Okano H, Nakajima K**, Houslay M. D, Katsanis N, and Sawa A. DISC1-dependent switch from progenitor proliferation to migration in the developing cortex.

Nature 473, 92-96 (2011).

Yip YP, Zhou G, Kubo K, Nakajima K**, and Yip JW. Reelin inhibits migration of sympathetic preganglionic neurons in the spinal cord of the chick.
J. Comp. Neurol. 519 (10), 1970-1978 (2011).

Shikanai M, Nakajima K**, and Kawauchi T. N-Cadherin regulates radial glial fiber-dependent migration of cortical locomoting neurons.
Communicative & Integrative Biology, 4 (2), 326-330 (2011).

Honda T, Kobayashi K, Mikoshiba K and Nakajima K**. Regulation of cortical neuron migration by the Reelin signalin pathway.
Neurochem. Res. 36 (7), 1270-1279 (2011).

Takemoto M, Hattori Y, Zhao H, Sato H, Tamada A, Sasaki S, Nakajima K** and Yamamoto N. Laminar and areal expression of Unc5d and its role in cortical cell survival.
Cereb. Cortex 21 (8), 1925-1934 (2011).

Sawamoto K, Hirota Y, Alfaro-Cervello C, Soriano-Navarro M, He X, Hayakawa-Yano Y, Yamada M, Hikishima K, Tabata H*, Iwanami A, Nakajima K**, Toyama Y, Itoh T, Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM and Okano, H. Cellular composition and organization of the subventricular zone and rostral migratory stream in the adult and neonatal common marmoset brain.
J. Comp. Neurol. 519 (4), 690-713 (2011).
(Sawamoto K, Hirota Y, Alfaro-Cervello C and Soriano-Navarro M contributed equally to this work)

2010

Miyata T**, Ono Y, Okamoto M, Masaoka M, Sakakibara A, Kawaguchi A, Hashimoto M and Ogawa M. Migration, early axonogenesis, and Reelin-dependent layer-forming behavior of early/posterior-born Purkinje cells in the developing mouse lateral cerebellum.
Neural Development Vol.5, AN.23 (1 September 2010).

Ogawa H, Shionyu M, Sugiura N, Hatano S, Nagai N, Kubota Y, Nishiwaki K**, Sato T, Gotoh M, Narimatsu H, Shimizu K, Kimata K and Watanabe H. Chondroitin sulfate synthase-2/chondroitin polymerizing factor has two variants with distinct function.
J Biol Chem. 285, 34155-34167 (2010).

Kubo K, Tomita K, Uto A, Kuroda K, Seshadri S, Cohen J S, Kaibuchi K, Kamiya A and Nakajima K**. Migration defects by DISC1 knockdown in C57BL/6, 129X1/SvJ, and ICR strains via in utero gene transfer and virus-mediated RNAi.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 400, 631-637 (2010).
(K. Kubo and K. Tomita are co-first authors).

Kubo K, Honda T, Tomita K, Sekine K, Ishii K, Uto A, Kobayashi K, Tabata H* and Nakajima K**. Ectopic Reelin Induces Neuronal Aggregation with a Normal Birthdate-Dependent "Inside-Out" Alignment in the Developing Neocortex.
The Journal of Neuroscience 30, 10953-10966 (2010).

Arai Y, Shibata T, Matsuoka S, Sato MJ, Yanagida T and Ueda M**. Self-organization of the phosphatidylinositol lipids signaling system for random cell migration.
Proc Natl Acad Sci USA. 107, 12399-12404 (2010).

(**は研究代表者、*は研究分担者又は連携研究者、ボールドは領域内共同研究による論文)

■計画研究一覧

A01「分子から細胞へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
細胞運動の自発的なゆらぎを利用した柔軟な環境応答の分子メカニズム	上田 昌宏	大阪大学大学院生命機能研究科・教授
細胞接着の時空間制御による免疫動態調節機構	木梨 達雄	関西医科大学生命医学研究所・教授

A02「細胞から組織へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
動いて脳を作る細胞群の動態制御機構	仲嶋 一範	慶應義塾大学医学部・教授
線虫の生殖巣形成における上皮と基底膜のクロストーク	西脇 清二	関西学院大学理工学部・教授

A03「組織から器官へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
神経前駆細胞の動と静を制御する場と集団の原理	宮田 卓樹	名古屋大学大学院医学系研究科・教授
上皮細胞の動態を制御する場としての力の発生とその応答	林 茂生	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター・グループディレクター

■公募研究一覧

A01「分子から細胞へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
乳腺組織リモデリングにおける細胞運動性の統合的制御機構の解明	橋本 茂	北海道大学医学系研・准教授
個体・組織での1細胞機能イメージングを可能にする光活性化機能センサータンパク質	松田 知己	大阪大学産業科学研究所・助教
「磁場」を感知するバクテリアの磁気オルガネラを支える細胞骨格	田岡 東	金沢大学理工研究域自然システム学系 助教
ショウジョウバエ視覚中枢において神経細胞の移動と形態を結びつける分子機構	佐藤 純	金沢大学脳・肝インターフェースメディスン研究センター・教授
アメーバ運動の“力”による細胞の自律的な前後極性形成メカニズム	岩橋 好昭	山口大学理学部・准教授
免疫細胞の動態制御機構	片桐 晃子	北里大学理学部生物科学科・教授
動く細胞の情報プロセスによって、ゆらぎから生起する秩序の情報論的な解明	柴田 達夫	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター・ユニットリーダー

A02「細胞から組織へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
樹状構造をつくる血管内皮細胞の集合運動とその制御システム	西山 功一	東京大学大学院医学系研究科・助教
細胞運動と誘因場の不整合性が生み出す乱れと自己組織化のダイナミクス	澤井 哲	東京大学大学院総合文化研究科・准教授
腫瘍神経細胞が無秩序に動き始める転移能獲得のメカニズム	味岡 逸樹	東京医科歯科大学 脳統合機能研究センター・准教授
時空間的に変換するGABA _A 受容体作用による大脳皮質の層依存的な細胞移動の調節	熊田 竜郎	浜松医科大学医学部・助教
細胞の集団的移動と接触阻害の分子メカニズムの解明	榎本 篤	名古屋大学大学院医学系研究科・特任准教授
細胞配置を制御する多面的な細胞特性と外部シグナルの研究	高木 新	名古屋大学大学院理学研究科・准教授
赤血球・血管内皮細胞の相互作用に基づいた血液循環の成立機構を解明する	飯田 敦夫	京都大学再生医科学研究所・研究員
尾をつくるための表皮細胞の動きと秩序形成機構の解明	熊野 岳	大阪大学大学院理学研究科・助教
脳形成における細胞移動とクロマチン動態のイメージング解析	菅生 紀之	大阪大学大学院生命機能研究科・助教
細胞移動を基礎とした器官形成のしくみ	松井 貴輝	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・助教
細胞内シューティンのゆらぎと細胞外シグナル勾配のクロストークによる神経極性形成	稲垣 直之	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・准教授
浸潤リンパ球による炎症巣形成過程のインビボライブイメージング解析	長谷川 明洋	山口大学大学院医学系研究科・准教授
コオロギのダイナミックな細胞移動を伴った胚形成に関与する細胞動態制御機構の解明	中村 太郎	徳島大学 産学官連携推進部・研究員
血管のトランスポジション現象をひき起こす血管—体節—内胚葉間相互作用	佐藤 有紀	熊本大学大学院先端機構・特任助教
基底膜のダイナミクス及びプロテオグリカンにより制御される細胞浸潤の解析	伊原 伸治	国立遺伝学研究所構造遺伝学研究センター・助教
Wntシグナルは細胞間接着の調節を通して脊索形成での細胞運動を制御する	木下 典行	基礎生物学研究所 形態形成研究部門・准教授
GnRHニューロンの鼻から脳への移動におけるGABA興奮性作用の役割	渡部 美穂	浜松医科大学神経生理学講座・助教
神経細胞の自律的回転・旋回運動による神経回路形成の精緻化メカニズム	玉田 篤史	新潟大学研究推進機構超域学術院・准教授
神経/グリア相互作用による神経細胞の位置決定機構の解明	吉浦 茂樹	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター・研究員
上皮シート維持の分子機構	米村 重信	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター・室長
色素細胞の表皮内空間配置とメラニン色素輸送のメカニズム	田所 竜介	京都大学大学院理学研究科・助教

A03「組織から器官へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
ストレスホルモンによる場(神経回路)の変化とマイクログリアの相互作用	高鶴 裕介	群馬大学大学院医学系研究科・助教
肺の枝分かれ構造形成における細胞集団運動のメカニズムの解明	三浦 岳	京都大学大学院医学研究科・准教授
器官形態形成における細胞動態制御機構の解明	辻 孝	東京理科大学総合研究機構・教授
神経形成における集団的細胞運動を支える非筋型ミオシンのダイナミクスと機能	鈴木 誠	基礎生物学研究所形態形成研究部門・助教
ブルキン工細胞の秩序ある配置のための細胞と場の動的相互作用	六車 恵子	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター・専門職研究員

http://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/d_biosci/cross-talk/

文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究
動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成
Newsletter Vol.2

2013年1月発行
編集人 西脇 清二
発行人 宮田 卓樹
発行所 新学術領域研究
「動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成」事務局
E-mail: kazunori@z6.keio.jp