

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

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.3

2014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

Newsletter
Vol.3
January 2014

CONTENTS

01 領域代表あいさつ

領域内研究紹介

- 03 **成体脳内を動くニューロンと場**
澤本 和延
- 05 **バームクーヘンを究める**
佐藤 純
- 07 **四肢発生の自発的パターン形成研究の最近の動向**
三浦 岳
- 08 **発生過程で、頭部と体幹部が適切に連結されるしくみ**
松井 貴輝
- 10 **ミクログリアと神経回路形成**
和氣 弘明
- 12 **細胞外マトリックスが細胞移動を制御する**
西脇 清二
- 14 **アクチン/PIP3波の幾何学と膜変形**
澤井 哲
- 16 **細胞内の自発的なゆらぎが走化性を助ける仕組み**
柴田 達夫
- 19 **神経前駆細胞の核移動の意義としくみを発見：
「場」、「ランダムさ」、「異種共同」の重要性**
宮田 卓樹・岡本 麻友美・篠田 友靖

コラム

- 18 **面白い研究って？**
戒家 美紀

会議開催報告

- 21 **「熱き心とDurotaxis」
～第3回「動く細胞」若手の会を終えて**
栗山 正

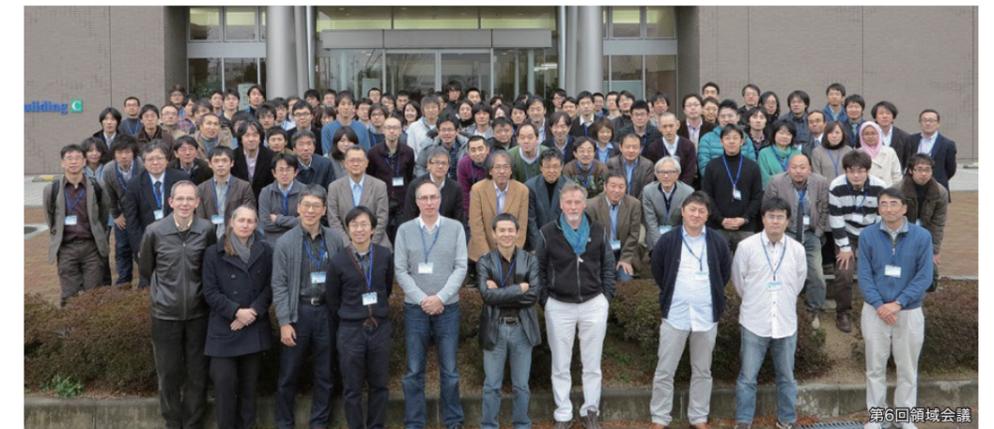
クロアチアへの出張

- 22 **クロアチア行**
富樫 英
- 24 発表論文リスト
- 29 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、早いもので4年目の終盤にさしかかっています。私は最近「群れは意識をもつ」(郡司ベギオ-幸夫氏著, PHPサイエンスワールド新書:動く鳥やカニが登場)に挑んでいますが、同書の副題「個の自由と集団の秩序」は領域推進のための箴言に思えたりもします。前号(ニュースレターVol. 2)以降の歩みを順に振り返ります。

まず、第6回領域会議(2013年1月21日, ニチイ学館, 神戸)と連続して国際会議「Building multicellular systems from cellular cross-talk」が開催されました。これは、新学術領域「秩序形成ロジック」および理化学研究所発生・再生科学総合研究センター(CDB)との合同で行なわれました(1月22-23日, CDBオーディトリウムにて)。Christian Dahmann (Technische Universität Dresden), Jeremy B. A. Green (King's College London), Stéphane Noselli (University of Nice), François Payre (University of Toulouse), Kate Storey (University of Dundee)の海外スピーカー各氏(Richard Adams博士 [University of Cambridge] がインフルエンザによる体調不良のためキャンセル)と国内の招待および選抜スピーカーから話題提供がなされ、ポスター発表と合わせて大変活気のある交流の「場」となりました。



第6回領域会議

次いで、第2回「若手の会」が行なわれました(2013年3月7-8日, ラフォーレ修善寺)。幹事(伊原伸治, 佐藤有紀, 田所竜介, 鈴木誠, 辻岡政経の皆さん)の発案で「ベストプレゼン賞」「ベストポスター賞」が新設され、また領域研究代表が進めるプロジェクト以外の話題も紹介され、熱のこもった議論が続きました。



第2回若手の会

4月、平成25年度となり、新しい公募研究メンバーが決まりました。重複申請が可能となったことも影響してか前回(4.8倍)以上の応募(6.25倍)がありました。中間評価時のコメント・助言への領域としての対応が考慮されつつ、後半戦を担う研究推進者が選ばれました(新規が72%、前期からの継続が28%)。多くの皆さんと形としてはお別れとなりましたが前半期に萌芽した研究の進展とエンドレスな交流を心から祈ります。別の学術領域にご参加あるいは立ち上げに貢献された方がいらっしゃいますが、ご縁を通じて領域間連携が進められると嬉しいです。



名古屋大学
大学院医学系研究科 教授
宮田 卓樹

6月9-10日に後半戦最初の領域会議(通算7回目)が開かれました(名古屋大)。私から領域の生い立ち(発足から前半期の取り組み)と中間評価について説明したのち、すべての新メンバーによる口頭発表と全員のポスター発表を通じてのクロストークが盛り上がりました。前半期同様に総括班を主体とする「技術支援」がなされることを紹介したところ、すぐに複数件の交流が始まりました。また海外での発表を応援する旅費サポートの取り組みも今年度さっそくに利用され、積極的な発信につながっています。



第7回領域会議

9月1日には3つの新学術領域(「神経糖鎖生物学」「大脳皮質構築」「動く細胞と秩序」)の合同シンポジウム「糖鎖・細胞動態・皮質構築」が開かれました(名古屋国際会議場、「包括脳ネットワーク夏のワークショップ」のイベントのひとつとして、仲嶋一範さん、佐藤純さんが共オーガナイザー)。当領域の多様性をシンボライズする公募研究代表5人(脳とは縁の薄い方々も含む)が口頭発表し、相互刺激的な議論が行なわれました。また、10月29日、日本生物物理学会第51回年会でシンポジウム「多細胞システムにおける秩序生成の仕組みを探る」(京都国際会議場、上田昌宏さん、宮田がオーガナイズ)を行ないました。細胞の動きと「場」に対する取り組みを定量的解析の本家の学会で紹介し反響を得ました。

11月10-11日、第3回「若手の会」が開かれました(ラフォーレ那須)。幹事(鈴木孝幸さん、栗山正さん、内川徹さん)のお骨折りで早めの開催が果たされました。講師をお招きする新企画と合わせて、内外への探究心に溢れる充実した交流がなされました。

最後に、来年度(最終年度)に以下のような催しが予定されていること申し添えます。2014年5月、日本発生活物学会大会(ウインクあいち)においてシンポジウムを共催(当領域の伊原伸治さん、西山功一さんがオーガナイズ)。2014年11月16-19日、国際シンポジウム「Force in Development」を共催(岡崎カンファレンスセンター、林茂生さんが共オーガナイザー)。細胞たちの動きからどのような秩序が生まれるかを問う私たちにとっての「集大成」が果たせるよう、いっそう活気をもって自らの身・マインドと「領域場」を動かし、励みたいと思います。どうぞよろしくお願ひします。



第3回若手の会

成体脳内を動くニューロンと場

澤本 和延 (名古屋市立大学大学院医学系研究科)

2010年度より「班友」として領域会議に参加させていただいております澤本和延と申します。時々班員の方々から、班友って何ですか?研究費がないのに何かメリットはあるのですか?というご質問を頂きます。

私は10年以上前から生後脳におけるニューロンの移動メカニズムについて研究しておりますが、未だにわからないことがたくさんあり、むしろ研究すればするほど、疑問が増えていくように感じています。新しいメカニズムを見出すためには、同じ細胞を扱う同業者の研究だけでなく、異なる種類の細胞の移動の研究から学ぶことが重要だと認識しておりましたが、自力で勉強することは困難でした。私にとって、宮田班の領域会議はそれを行う絶好の機会となっています。様々な細胞の動き方とその解析方法を知り、それらの専門家の方々と直接議論し、共同研究の相談をすることもできます。

さて、この度ニュースレターの原稿依頼をいただきましたので、この機会に私の研究内容を簡単にご紹介させていただきたいと思ひます。脳を構成するニューロンの産生(ニューロン新生)は、胎生期に最も活発であり、発達とともに起こりにくくなります。しかし、脳内の特定の部位では継続的に幹細胞からニューロンがつくられており、成体ニューロン新生(adult neurogenesis)と呼ばれています。成体脳でニューロン新生が起こる主な場所として、海馬と脳室下帯という二つの場所が研究されています。これらの場所には、神経幹細胞を維持する特殊な環境(ニッチ)が存在すると考えられています。これらのうち、脳室下帯で生まれる新生ニューロンは、前方へ向かって長距離を高速で移動し、嗅球という匂いの情報を処理する部位で停止し、神経回路に組み込まれます。このような新生ニューロンの移動経路は、rostral migratory stream (RMS)と呼ばれています。RMSは様々な動物に保存されており、霊長類であるコモンマーモセット(Sawamoto et al., 2011)およびゼブラフィッシュ(Kishimoto et al., 2010)にも観察できます。

RMSを通るニューロンの移動形式は、胎生期の移動とは異なっています。成体脳組織には細胞体やそこから伸長する突起が高密度に存在し、細胞が通り抜けるために必要なスペースが少ないため、どのようにして新生ニューロンが効率良く移動しているのか不明でした。アストロサイトという別の種類の脳細胞がチューブ状の構造をつくり、このトンネルの中を新生ニューロンが移動することが知られていました。共同研究者である金子奈穂子講師(本年度より公募班員)からは、新生ニューロンから分泌される反発性シグナル分子Slit1がアストロサイトに発現する受容体Roboに作用することによってトンネル構造が維持されていることを明らかにしました(Kaneko et al., 2010)。つまり、移動するニューロン自身が周囲のアストロサイトに働きかけて、移動経路を確保しながら動いていると考えられます。

トンネルの中では、多数のニューロンが鎖状の細胞塊を形成して、隣の細胞を足場しながら移動します。鎖の中に存在する移動中のニューロンを標識して観察すると、細胞体が活発に動く時間と、休憩時間が繰り返されていることがわかります。つまり、集団を形成しながら移動するニューロンの細胞塊の中には、移動中の細胞と休憩中の細胞が共存していることになります。最近我々は、

FRETイメージングによって、移動中の細胞が休憩中の細胞に接触すると、接触部分においてRac1が活性化することを見出しました(Hikita et al., in press)。Rac1の活性化は、休憩中の細胞の細胞膜を変形させて、凹みをつくります。こうして休憩中の細胞が隣の細胞との間に少しの隙間をつくることにより、後ろから追い越そうとする細胞の移動を助けていると考えられます(図1)。

新生ニューロンが嗅球へ到達すると、スピードを落として停止し、成熟します。嗅球では、古いニューロンが死ぬ一方で、次々と到着する新しいニューロンと入れ替わっています。どんどん細胞が入れ替わっていくのに、なぜ組織の構造を維持できるのでしょうか。我々は、二光子顕微鏡を用いたin vivoイメージングによって、古いニューロンが死んだ場所に、効率良く新しいニューロンが組み込まれることを見出しました(Sawada et al., 2011)。移動するニューロンは、古いニューロンが死んだ場所を認識して移動を停止し、同じ場所を繰り返し使うことによって、神経回路が維持されているものと考えられます。

従来、病気や事故で脳細胞が失われると、二度と再生しないと考えられてきましたが、近年再生医療による治療方法の開発が期待されています。我々は、マウス脳梗塞モ

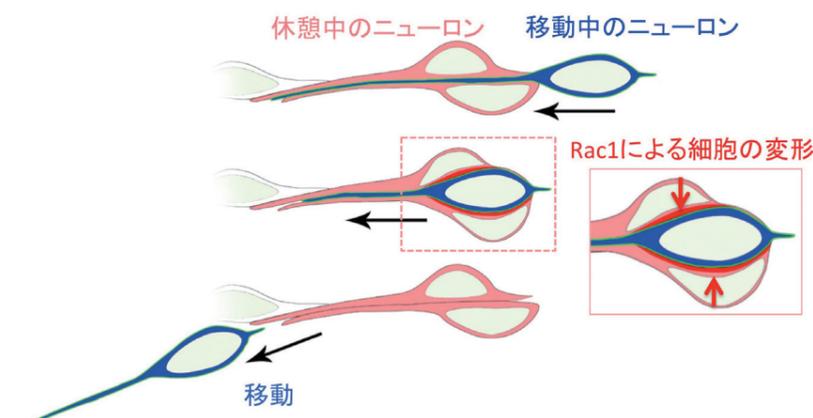


図1 Rac1による新生ニューロンの凹みが鎖状移動を促進する
Hikita T, Ohno A, Sawada M, Ota H, Sawamoto K (2013) J Neurochem in pressより改変

バームクーヘンを究める

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)

1. 研究概要

ショウジョウバエの視覚中枢は層構造・カラム構造といったほ乳類の脳において見られる構造的特徴を有しており、精密な遺伝子操作が可能であるため、脳神経回路の発生を研究する上で優れたモデル系であると考えられます。中でもメダラ神経節は特に重要な機能を果たすと考えられていますが、その発生機構はほとんど分かっていませんでした。私たちの研究室ではハエ視覚中枢のメダラ神経節を様々な視点から研究しています。新学術領域「動く細胞と場のクロストークによる秩序の形成」ではそのうち神経細胞移動に関わる研究をサポートして頂いておりますが、今回は「動く細胞」を含めた私たちの研究内容の全体像をご紹介しますと思います。

2. 研究内容

(1) 全てはバームクーヘンから始まった

メダラ神経節は約100種類4万個の神経細胞が10層の層構造とそれと直交する800のカラム構造を示し、動物・形態・色覚といった全ての視覚情報処理に関与すると考えられています。しかし、メダラにおいて多様な神経細胞を産み出す発生機構は全く分かっていませんでした。成虫においてみられるメダラ神経節は幼虫の時期にはメダラ前駆体として準備されています。半球状のメダラ前駆体の表層には神経幹細胞(NB)が位置しており、これがメダラ前駆体の中心部に向かって多数の神経細胞を産み出します。幼虫期メダラ前駆体のパターン形成に関わる遺伝子を探索する過程で、私たちは同心円状の発現パターンを示す4種の転写因子Homothorax (Hth: Meisファミリー)、Brain-specific-homeobox (Bsh: Bsxファミリー)、Runt (Run: Runxファミリー)、Drifter (Drf: Brnファミリー)を見出しました(図1a)¹。幼虫期メダラ前駆体はバームクーヘンのようなものであり、これがメダラの発生を理解する上での鍵を握っていると考えました。他にも、Lim1など同心円ゾーンの一部においてのみ発現する転写因子も見

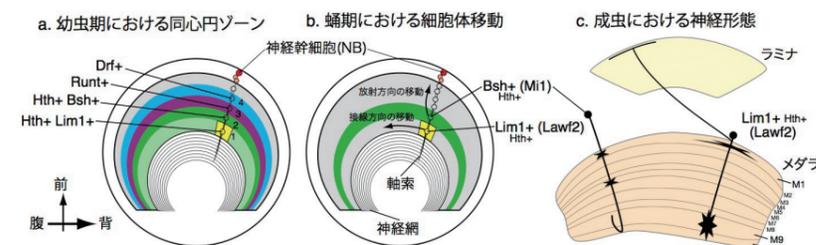


図1. メダラの発生機構

出されており(図1a)、このような転写因子発現の組み合わせが神経細胞の多様性を産み出すと考えられます。

転写因子の発現と神経タイプとの間の相関関係を調べるため、各転写因子の発現を正確に再現するGal4系統を相関組換え・BACTランスジェニックなどの手法を駆使して作製しました。このようなGal4制御下でGFPをモザイク状に発現させることにより、1つ1つの神経細胞の投射パターンを明らかにしました。その結果、Bsh陽性の神経細胞はかならずMi1と呼ばれる種類の神経細胞に分化すること、同様にLim1陽性細胞はLawf2と名付けたこれまでに同定されていないタイプの神経細胞に分化することが分かりました(図1c)。DrfやRun陽性細胞については複数タイプの神経細胞に分化することが分かりました。

これらの転写因子はどのような役割を持っているのでしょうか? Mi1はBshとHthの両方を発現しますが(図1a)、*bsh*変異体でも*hth*変異体でもMi1はTmタイプと呼ば

れるprojection neuronにトランスフォームします²。逆にBshとHthの両方を同時に異所発現することによりMi1に似た神経細胞を異所的に誘導することがわかっており、BshとHthの両方がMi1の分化誘導に必要であると考えられます²。また、私たちはBsh, Hth共に細胞接着因子であるN-cadherinの発現を上昇させ、これによりMi1の形態形成の一部を制御していることを明らかにしています^{1,2}。

(2) 産生順に依存した神経細胞のタイプ決定機構

神経幹細胞は神経細胞を産み出しつつその位置が外側にずれていくので、内側に位置する神経細胞ほど早い時期に生まれ、外側に位置する神経細胞ほど遅い時期に生まれると考えられます(図1a)。ハエの胚期中枢神経系においては体節形成において重要な役割を果たす転写因子群Hb-Kr-Pdm-Casが神経幹細胞において経時的に順番に発現し、これら転写因子の働きに

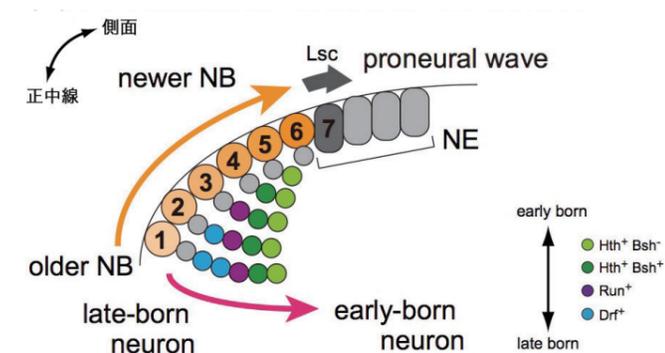


図2. Proneural WaveとNBの産生

デルを用いた標識実験によって、脳室下帯の幹細胞から生まれるニューロンが傷害部位へ向かって移動し、成熟することを明らかにしました(Yamashita et al., 2006)。脳スライスを用いたイメージングにより、移動するニューロンが血管を足場にして移動していることを明らかにしました(Kojima et al., 2010)。哺乳類におけるニューロンの再生効率は非常に低いものですが、誘引作用を持つ細胞成長因子を除去剤として脳内に投与することによって、より多くの細胞を傷害部に到達させることが可能です(Nakaguchi et al., 2012)。

また、以前より、魚類の脳は高い再生能力があることが知られています。ゼブラフィッシュの脳外傷モデルを作成して解析したところ、脳室壁から新生ニューロンが傷害部位へ向かって移動し、約一ヶ月でほぼ完全に脳組織が再生されることがわかりました(Kishimoto et al., 2012)。ゼブラフィッシュ脳では、哺乳類の発生期のみに見られる放射状ファイバーと呼ばれる構造物が成魚においても豊富に存在し、これらを足場にして傷害部位へ移動している様子が観察されました。なぜ魚類の脳は再生能力が高いのか、その理由はまだ不明ですが、ニューロンの移動メカニズムを比較することによって、何らかのヒントが得られるのではないかと期待しております。

このように、成体脳におけるニューロンの移動過程においても、動く細胞と周囲に存在する様々な「場」がクロストークして、調節されていることが明らかになってきました。班友として参加できる期間も残り僅かとなりましたが、私どもの研究にご興味のある方がいらっしゃいましたら、私か金子奈穂子(公募班員)にお気軽にお声をかけていただければ幸いです。今後共々よろしくお願い致します。

文献

Hikita T, Ohno A, Sawada M, Ota H, Sawamoto K (2013) Rac1-mediated indentation of resting neurons promotes the chain migration of new neurons in the rostral migratory stream of postnatal mouse brain. *J Neurochem* in press

Kaneko N, Marin O, Koike M, Hirota Y, Uchiyama Y, Wu JY, Lu Q, Tessier-Lavigne M, Alvarez-Buylla A, Okano H, Rubenstein JL, Sawamoto K (2010) New neurons clear the path of astrocytic processes for their rapid migration in the adult brain. *Neuron* 67:213-223.

Kishimoto N, Alfaro-Cervello C, Shimizu K, Asakawa K, Urasaki A, Nonaka S, Kawakami K, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K (2011) Migration of neuronal precursors from the telencephalic ventricular zone into the olfactory bulb in adult zebrafish. *J Comp Neurol* 519:3549-3565.

Kishimoto N, Shimizu K, Sawamoto, K (2012) Neuronal regeneration in a zebrafish model of adult brain injury. *Dis Models Mech* 5: 200-209.

Kojima T, Hirota Y, Ema M, Takahashi S, Miyoshi I, Okano H, Sawamoto K (2010) Subventricular zone-derived neural progenitor cells migrate along a blood vessel scaffold toward the post-stroke striatum. *Stem Cells* 28:545-554.

Nakaguchi K, Jinnou H, Kaneko N, Sawada M, Hikita T, Saitoh S, Tabata Y, Sawamoto K (2012) Growth factors released from gelatin hydrogel microspheres increase new neurons in the adult mouse brain. *Stem Cells* Int 2012, Article ID 915160, 7 pages, doi: 10.1155/2012/915160

Sawada M, Kaneko N, Inada H, Wake H, Kato Y, Yanagawa Y, Kobayashi K, Nemoto T, Nabekura J, Sawamoto K (2011) Sensory input regulates spatial and subtype-specific patterns of neuronal turnover in the adult olfactory bulb. *J Neurosci* 31:11587-11596.

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, Okano H (2011) Cellular composition and organization of the subventricular zone and rostral migratory stream in the adult and neonatal common marmoset brain. *J Comp Neurol* 519:690-713.

Yamashita T, Ninomiya M, Hernandez Acosta P, Garcia-Verdugo JM, Sunabori T, Sakaguchi M, Adachi K, Kojima T, Hirota Y, Kawase T, Araki N, Abe K, Okano H, Sawamoto K (2006) Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum. *J Neurosci* 26:6627-6636.

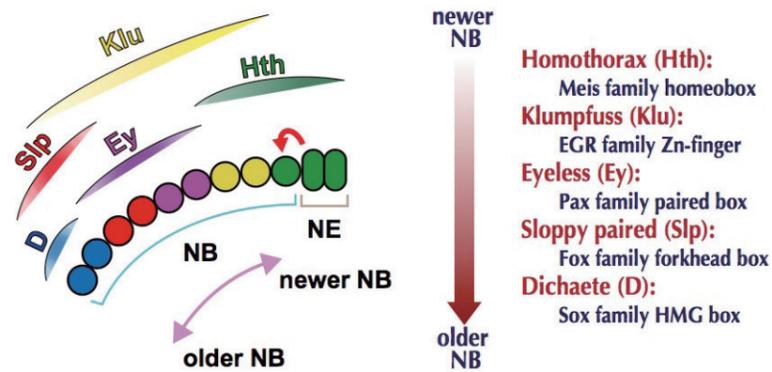


図3. NBにおいて経時的に発現する転写因子

よって神経細胞のタイプが産生順依存的に決定されます。我々の研究から、メダラにおいてはHb-Kr-Pdm-Casとは全く異なる転写因子群が神経細胞のタイプを産生順依存的に決定していることが明らかになりました⁴。

発生初期のメダラ前駆体は神経上皮細胞(NE)から成りますが、NEは正中線側から順に神経幹細胞(NB)に分化します(図2)^{3,5}。この時、最も正中線側に位置するNEがbHLH転写因子Lethal-of-scute (Lsc)を発現し、これによってNBへの分化がトリガーされます。このような分化の波はProneural Waveと呼ばれ、Lscの発現によって可視化されます。正中線側のNBほど古く、側面側のNBほど新しいので、NBにおいて経時的に発現する転写因子はProneural Waveからの距離に応じてストライプ状に発現すると考えられます。実際、我々はそのような発現パターンを示す転写因子を5つ同定しました(図3)⁴。HthはNEおよび分化したばかりのNBにおいて発現し、Klumpfuss (Klu)はより正中線側の領域で、Eyeless (Ey), Sloppy-paired (Slp)はさらに正中線側の領域で発現し、Dichaete (D)は最も正中線側の古いNBで発現します。

これら転写因子の経時的な発現はどのようにして制御されているのでしょうか? 遺伝学的な解析から、EyはSlpの発現を誘導しますが、SlpはEyの発現を抑制すること、SlpはDの発現を誘導しますが、DはSlpの発現を抑制することを見出しました(図4)⁴。このような関係からEy-Slp-Dという転写因子発現の経時的な移り変わりをうまく説明することができます。

一部のNBとその娘細胞をGFPによってラベルした実験から、Hth陽性NBはBsh陽性神経を、Klu陽性NBはRun陽性神経を、Ey

陽性NBはDrf陽性神経を産み出すことが示唆されました(図4)⁴。この時、Hth発現は神経細胞まで維持するので、Bsh陽性細胞はHthも発現することになります。さらに、変異体および過剰発現を用いた実験から、Hth, Klu, EyはそれぞれBsh, Run, Drf陽性細胞の産生を正に制御することが示されました。このように、多様な転写因子が産生順依的に多様な神経を作り分けるカスケードを構成していることが明らかになりました。

(3) 様々な神経細胞移動パターン

シオウジョウバエの神経発生では能動的な神経細胞移動はほとんど知られていませんでしたが、メダラの神経細胞はそのタイプに応じて固有の移動パターンをしめすことがこれまでの研究から分かっています¹。例えばBsh陽性細胞は蛹期に脳の内側から外側に向かって放射方向に移動し、Lim1陽性細胞は接線方向に移動します(図1b)。この過程に関わるガイダンス因子の働き、および細胞移動が神経回路形成において果たす役割については現在解析中であり、近い将来発表したいと考えています。

最近では発生過程のメダラ神経細胞を二光子顕微鏡を用いて撮影することに成功しています。完全に*in vivo*の条件下で複雑

に動き回るメダラ神経細胞の細胞体の動きを、そして神経突起の形態を非常に鮮明に撮影することができるので、この系を用いることによって将来的に様々な知見が得られると期待できます。

(4) 神経回路の機能

上記のメダラ神経細胞の機能についても興味を持って研究を進めています。例えば、Bsh陽性細胞Mi1はONセンサーであるL1ラミナ神経の入力を受け、動体認識において重要な役割を果たすと考えられています。また、Lim1陽性細胞Lawf2の樹状突起はMi1の軸索終末と同じ層において形成されるため、Lawf2はMi1からの入力を受けていると考えられます(図1c)。さらにLawf2は複数カラムをカバーする幅広い樹状突起を持つことから、隣り合うカラムに入力された情報を比較し演算処理している可能性が考えられます。

このような神経回路の機能を明らかにするため、Mi1やLawf2など特定の神経細胞特異的に発現するGal4系統の制御下でshibireなど温度依存的に神経活動を阻害する遺伝子を発現させ、LEDパネル上に提示した視覚刺激に対するハエの応答がどのように変化するか調べています。さらに、ニポウ式共焦点顕微鏡によってGCaMPの蛍光を観察することにより、特定のメダラ神経に対するカルシウムイメージングにも挑戦しています。

3. 今後の展望

当研究室ではハエ視覚中枢のメダラに注目し、神経分化・細胞移動などの発生過程から視覚情報処理などの神経回路機能までを一貫したシステムによって解析しています。このような研究によって脳の形成過程の全貌を明らかにしたいと考えていますが、最近では数理解析の手法を本格的に

取り入れたいと考えています。そのための一歩として、本新学術領域の三浦岳先生(九大)と三浦先生の共同研究者である長山雅晴先生(北大)の協力のもと、神経上皮が神経幹細胞に分化する時に生じる分化の波"Proneural Wave"の伝播機構についての数理モデルを定式化しています(図2)。この試みは順調に進んでいるため、今後は当研究室で行われている様々なプロジェクトについて数理解析の手法を適用できるよう研鑽を積みたいと考えております。まとまりのない文章になってしまいましたが、基本的にはバームクーヘンと関係することは全部やってみるといふスタンスです。最後まで読んで頂きありがとうございました。

四肢発生の自発的パターン形成研究の最近の動向

三浦 岳 (九州大学・医学研究院)

2013年の11月に、バルセロナのCRG (Centre for Genomic Regulation)に学位審査の外部評価委員として招かれて行った。James Sharpe 研のLuciano Marcon という大学院生がScienceに四肢の自発的パターン形成に関する論文を書いたのだが(Sheth:2012ix)、その解説記事¹や昔の仕事から、評価者として最適と思われたらしい。ここは、当領域の森下喜弘さんや鈴木孝幸さんが頑張って戦っている分野で、私自身は傍観者になってから数年が経つ。利害関係がなく冷静な判断ができると思われたのかもしれない。

四肢のパターン形成は、発生生物学の中でもよく研究されている分野である。前後軸、近遠位軸、背腹軸それぞれに関して領域のアイデンティティを決定する分子が既に同定されている²。しかし、それとは別に、四肢の骨格を形成する際に、個々の骨格の要素がほぼ一定間隔に形成されるといふ性質が昔から指摘されて来た。私が知る限り最も古い自発的パターン形成のモデルはStuart Newmanらのものである³。彼

4. 参考文献

- Hasegawa, E., Kitada, Y., Kaido, M., Takayama, R., Awasaki, T., Tabata, T. and Sato, M. Concentric zones, cell migration and neuronal circuits in the *Drosophila* visual center. *Development* 138, 983-993, 2011.
- Hasegawa, E., Kaido, M., Takayama, R. and Sato, M. Brain-specific-homeobox is required for the specification of neuronal types in the *Drosophila* optic lobe. *Developmental Biology* 377, 90-99, 2013.
- Sato, M., Suzuki, T. and Nakai, T. Waves of differentiation in the fly

visual system. *Developmental Biology* 380, 1-11, 2013.

- Suzuki, T., Kaido, M., Takayama, R. and Sato, M. A temporal mechanism that produces neuronal diversity in the *Drosophila* visual center. *Developmental Biology* 380, 12-24, 2013.
- Yasugi, T., Umetsu, D., Murakami, S., Sato, M. and Tabata, T. *Drosophila* optic lobe neuroblasts triggered by a wave of proneural gene expression that is negatively regulated by JAK/STAT. *Development* 135, 1471-80, 2008.

らは反応拡散系の枠組みを用いて、野生型と多指症の突然変異の形態を説明している。ただ、彼らがこの論文で用いているモデルは一変数の反応拡散系であり、安定な形の周期構造を作り出すのは不可能であることが数学的に証明され(Othmer:1986vr)、モデルを用いた研究の信頼性自体が疑われた時期があった。その後彼らはモデルを修正し、ニワトリ胚を使ってパターン形成機構を地道に研究し、activatorの候補を同定している。理論家の側からは、数理生物学の大立者のJames Murrayらが、組織の力学的変形と化学反応をカップルさせた mechanochemical model という枠組みを発表し、四肢発生に応用した⁴。しかし、モデルの構造が複雑すぎて扱いにくかったことと、Lewis Wolpertが実験的に反証を出した⁵ことからだんだん使われなくなった。

上述のような歴史的経緯から、自発的パターン形成を用いた研究は、発生生物学分野全体から見ると異端視され、顧みる人はほとんどいなかった。ところが、このSHHの機能解析の途上で、SHHシグナルを伝える

キーとなるGli3遺伝子欠損マウスでは、アイデンティティのはっきりしない指が多数生じることがわかった⁶。この結果はモルフオゲンの濃度勾配だけでは説明がつかないため、再度自発的パターン形成の側面がクローズアップされてきた。

Sharpeはもともとイメージング機器の開発から、細胞増殖の局在がProgress Zone だけではなくほぼ一様に分布している、というような堅い仕事をしていた。2012年のScience論文は、歴史的な流れとSharpeらのこれまでの研究がうまくマッチした作りになっている。これまでの四肢のパターン形成の理論モデルはstylopod, zeugopod, autopod の形態をすべて説明しようというものが多く、この研究ではautopodの指の形成に絞った話になっている。まず、autopodのHoxクラスターを複数つぶしたマウスでは、その個数に応じて指の本数が増えていくことを確認した。また、指のパターンを見ていると、先端に行くに連れて指が一本から二本に分岐しているパターンがよく見られる。そこで、autopod内での指の平均

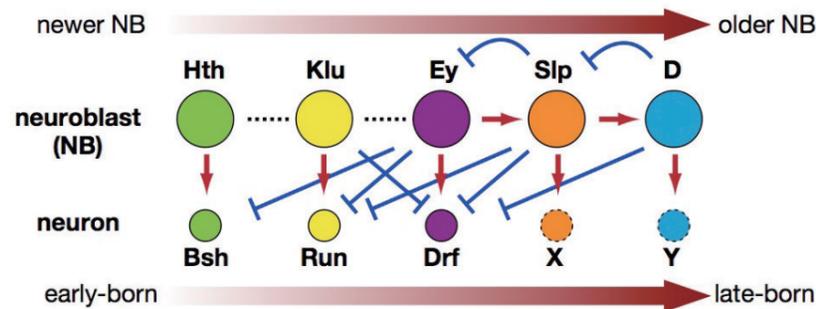


図4. 産生順に従って神経タイプを決定する分子機構

境界が形成される部位(S-I)で、転写抑制因子*ripply1*が異所的に発現してしまうことで、*her1*のストライプが2本から3本へ増えるのが遅延していたので、RAはS4の予定分節境界が形成される際に*ripply1*の発現を抑制することで、分節時計遺伝子*her1*のストライプが適切なタイミングで2本から3本に増えることに貢献していることが示唆された(図D)。

本研究では、体節形成のプロセスをライブイメージングすることで、ゼブラフィッシュ業界で、長い間不思議とされてきた現象に関して答えを見いだすことができました。今後は、細胞の挙動や細胞内シグナルの変化を4Dでイメージングすることで、細胞移動、細胞—細胞の相互作用などがどのように生物の形づくりに貢献しているのかを解析していきたいと考えている。

3. 発表論文名

Retinoic acid controls proper head-to-trunk linkage in zebrafish by regulating an anteroposterior somitogenetic rate difference.

Bambang Retnoaji, Ryutarō Akiyama, Tatsuro Matta, Yasumasa Bessho* and Takaaki Matsui**
Development, in press. *連携研究者、**研究代表者

この体節形成の前半と後半の違い(anteroposterior (AP) difference)を引き起こすメカニズムを理解するために、体節形成に関与する遺伝子群に対して、その発現を阻害するオリゴ鎖(アンチセンスモルホリーノ;MO)を用意した。そのMOをゼブラフィッシュの受精卵にインジェクションして、AP differenceが正常におこるかどうかをタイムラプスで解析したところ、RA合成酵素(*raldh2*)に対するMOを導入した胚でのみ、AP differenceの様式が異なることが分かった。*raldh2*ノックダウン胚では、S4の境界の形成開始のタイミングが遅れ、しかも、そのsegmentation periodが35%程度長くなっていることが判明した(図B)。この変化によって、形成される体節数が1つ減少し、S4の後端とS5の前端部分から形成される第2頸椎が消失することが明らかになった(図C)。以上の結果から、RAはS4の分節化周期とタイミングを制御することで、適切なAP transitionを引き起こすことが示唆された。さらに、AP transitionの異常は、特異的な頸椎の欠落を誘導することから、このRAに依存したAP transition制御は、頭と体幹部を適切に連結するために不可欠であると考えられる。

次に、RAがどのような分子機構でAP transitionを制御しているのかを解析した。*raldh2*ノックダウン胚では、S4の予定分節

ののか、また、この前後での体節形成の違いがその後のボディプランにどのような影響を与えるのかについては明らかになっていなかった。

今回の研究では、ゼブラフィッシュ胚で、体節形成を詳細にタイムラプスイメージングし、前後で体節形成のペースの違いは、体節形成のオーバーラップ様式が前半と後半で異なることに由来することを見いだした。さらに、その分子メカニズムの一端を解明することに成功しました。

2. 研究内容

ゼブラフィッシュの体節の境界は、背側から腹側の方向に形成されるので、体節境界の形成開始と終了を計測できる。そこで、体節形成の詳細をタイムラプス観察したところ、体節の分節化に要する時間(segmentation period)は、どの体節でも同じであった。しかし、最初に形成される4個の体節(S1-S4)とその後に形成される4個(S5-S8)で、体節の境界形成のオーバーラップ様式が異なることを見いだした。すなわち、S1-S4の体節では、前の体節の境界が半分くらい形成されたときに、次の体節の境界形成が開始されるのに対して、後半のS5-S8では、前の体節形成が終了する直前に、次の体節境界が形成されはじめていることが分かった(図A)。

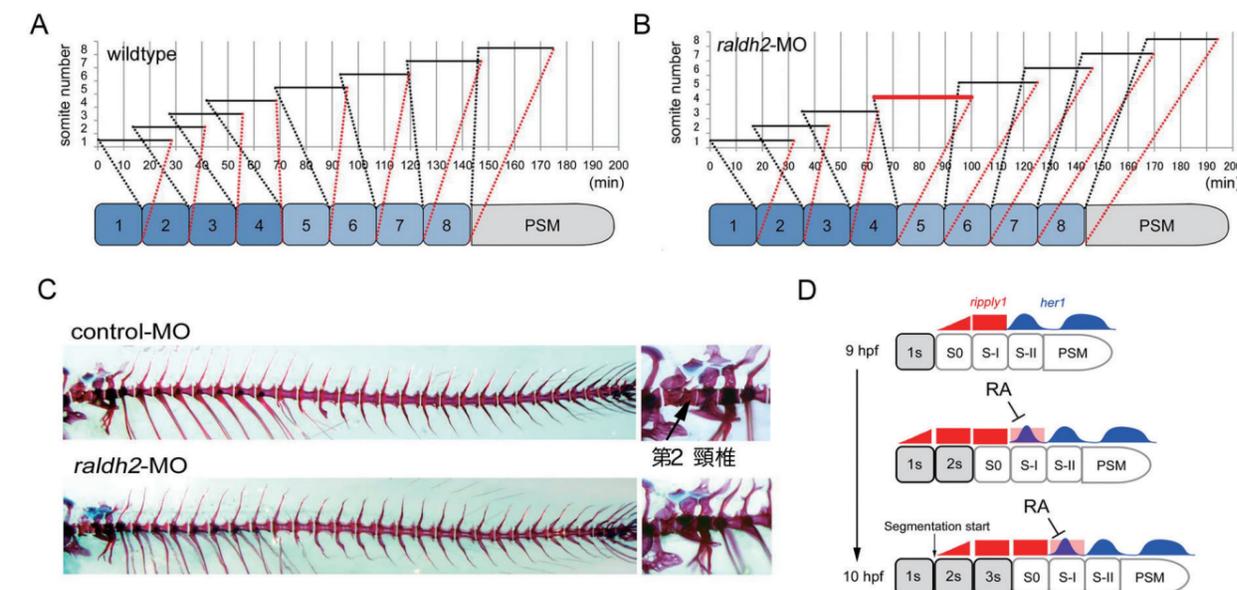


図 ゼブラフィッシュの体節形成におけるAP differenceを引き起こすメカニズム
A,B S1-S8の体節形成。野生型胚(wildtype)では、それぞれの体節のsegmentation period (黒の直線)はほぼ同じだが、S1-S4の体節形成はオーバーラップしている(A)。しかし、*raldh2*ノックダウン胚(*raldh2*-MO)では、S4のsegmentation period (赤の直線)が長くなり、しかも、分節開始が遅れる異常が観察される(B)。
C 1ヶ月齢のゼブラフィッシュの骨格。AP transitionの異常がある*raldh2*ノックダウン胚では、S4とS5に由来する第2頸椎が特異的に消失する(C)。
D RAによる*her1*の発現調節。野生型胚では、S4の予定分節を形成する時期に*her1*ストライプが2本から3本へ増加し、RAはこの変化を正確なタイミングで起こるように調節している。以上の図は、発表論文を改訂している。

instabilityのモデルとその歴史の説明で、要するにイントロに相当の時間をさく必要があるらしい。日本国内だともうこういう前置きをしなくても話が通るようになっていたので、少なくとも発業界では少し日本国内の方が先に行っているように感じた。

1. Miura, T. Turing and Wolpert Work Together During Limb Development. *Sci Signal* 6, pe14-pe14 (2013).
2. Gilbert, S. F. *Developmental Biology*. (2010).
3. Newman, S. A. & Frisch, H. L. Dynamics of skeletal pattern formation in developing chick limb. *Science* 205, 662-668 (1979).
4. Murray, J. D. Mathematical biology. (2002).
5. Wolpert, L. & Hornbruch, A. Double anterior chick limb buds and models for cartilage rudiment specification. *DEVELOPMENT* 109, 961-966 (1990).
6. Litingtung, Y., Dahn, R. D., Li, Y., Fallon, J. F. & Chiang, C. Shh and Gli3 are dispensable for limb skeleton formation but regulate digit number and identity. *Nature* 418, 979-983 (2002).

取っていた。この辺りは、過去の数理生物学者の挫折をふまえて、実測データを積み上げて相手を説得する、という彼らの特徴が出ています。ちょっと面白かったのが、実験データを提供したMarian Rosが実際にはあまりモデルのパターン形成の仕組みについてきちんと理解しておらず、延々と質問を繰り返していたことである。彼らはこの場合はSubstrate-Depletion typeという、通常のTuringパターンと違ってactivator とinhibitorが逆位相になっているものを使っており、その挙動がどうしても納得できないという。数理的にはこれはinhibitorの符号が逆になっているだけなのだが、local positive feedback - global lateral inhibition のような直感的に分かる説明がない。またこの場では彼らは、Turing系の実際の分子の候補を挙げていたのだが、まだ少し説得力に欠ける感じがあった。この系の分子実体が完全に解明されて皆が納得するまでにはもう少し時間がかかるように思われる。

その後、LondonのGenetics Societyの研究会でSharpeさんが発表するというので見物に行った。基本的には2012の論文の内容をベースにした話で、まだ今扱っているcandidateのことはオープンにしていけないのだが、やはりみなそこは知りたいたく真っ先に質問が上がっていた。ここでも感じたのだが、プレゼンの半分くらいがTuring

距離を算出してみると、野生型では指先に行くに従って指の間隔が広がるのに対し、Hoxクラスターのミュータントでは指の先端でも間隔が広がらないことがわかった。この実験事実から、近遠位軸に沿って発現するHox遺伝子がTuringモデルのパラメータの一部を変化させると仮定すると、実測した四肢の二次元形状の上で実際に遺伝子改変マウスで観察されている形状を再現することができた、というものである。

この論文の意義は、Wolpert の位置情報仮説の流れからきたモルフォゲンの濃度勾配による領域決定と、Turingパターンの流れから来る自発的パターン形成という、歴史的な経緯から対立仮説と思われていた2つの概念を組み合わせ、この組み合わせでないと理解できない現象をうまく見つけ出して来て説明した、という点にある。

さて、CRGの学位審査の評価委員は私以外は現地の数値計算の専門家と、Marian Rosというその論文の共著者だった。申請者が時間無制限でプレゼンをした後で、評価委員が一人ずつ時間無制限で延々質問をして行くという制度になっていた。私自身はモデル部分の挙動についてかなり集中的に質問をしたが、申請者はかなりきちんと理解していた。また、モデルをzeugopodやautopod、PD方向の分節形成に拡張するかどうかに関してはかなり慎重な立場を

発生過程で、頭部と体幹部が適切に連結されるしくみ

松井 貴輝 (奈良先端科学技術大学院大学)

1. 研究の背景

脊椎動物の体は、脊椎や肋骨などに代表される繰り返し構造をもっている。この繰り返し構造は、発生の際に一過的にあらわれる体節と呼ばれる球状の器官の等間隔パターンに由来する。体節は、尾部に存在する未分節中胚葉が一定の周期で、しかも、一定の大きさでくびれられることによって形成されるので、時間情報を利用した形態形成のプロセスとして位置づけられる。これまでの

解析によって、この時間的な周期性は、分節時計と呼ばれる分子群(Notchのエフェクター、ゼブラフィッシュでは、*her1*や*her7*など)の発現振動により規定され、体節の大きさの均一性は、繊維芽細胞増殖因子(FGF)とレチノイン酸(RA)の逆向きの濃度勾配によって決定されることが知られている。

時空間的な周期性を利用して、体節/脊椎骨の等間隔パターンが生み出されていることから、体節は同じサイクルで形成されて

いると考えられるが、実際は、初期と後期の体節で形成様式が異なることが報告されている。例えば、ゼブラフィッシュでは、最初に形成される前部の体節4個(将来、頭蓋骨の一部と頸椎を形成する)は、20分周期で形成されるが、それ以降の後部の体節(5個目以降の体節すべて、将来、胸椎、腰椎、仙椎、尾椎など後部の繰り返し構造を形成する)は30分周期で形成されるのである。しかし、どのように体節形成のペースを変化させ

ミクログリアと神経回路形成

和氣 弘明 (自然科学研究機構 基礎生物学研究所)

背景

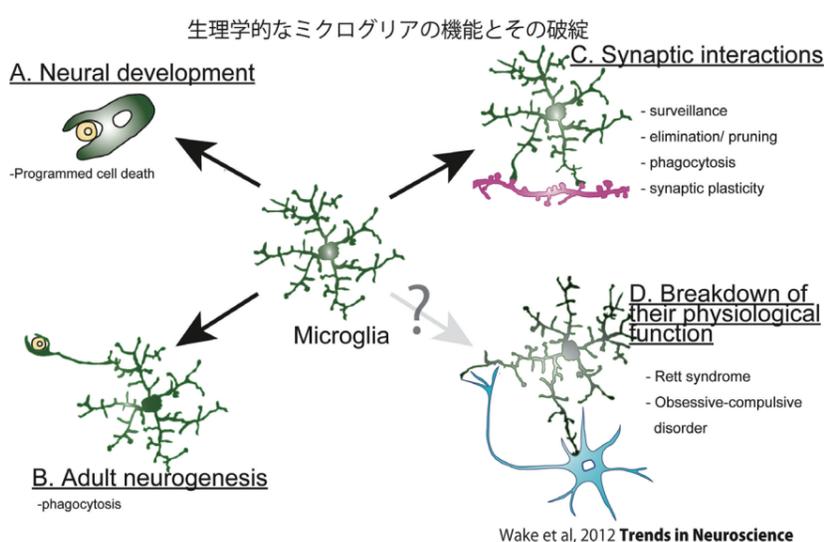
中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアは1920,1930年代にPio del Rio-Hortegaによって初めてグリオーマの患者脳で形態の変化する細胞として描写された¹。形態が疾患において変化するという背景から、疾患においてミクログリアがどのように活性化しその細胞の形態が変化するか、またその結果としての神経毒性・保護作用に着目して多くの研究が行われてきた²。その中でα-synuclein, アミロイドβなどの異常タンパク質の蓄積がミクログリアを活性化し、その結果サイトカイン放出などによって炎症を惹起する結果として疾患に関与するという研究がこれまでなされてきた。

ミクログリアの由来

そのようなミクログリアは、アストロサイトやオリゴデンドロサイトなどの他のグリア細胞および神経細胞と由来が異なる。近年蛍光タンパク質を用いたトレーシング法による fate mappingで胎生期7.5日の卵黄嚢に由来することがわかった³。さらにその研究によって成熟動物において体循環系の骨髄系の細胞が中枢神経系内に侵入し、ミクログリアへと分化しそのターンオーバーに関与するといったこれまでの見解も否定的となった。しかしながら骨髄系の細胞分化に必須であるPU.1が欠失したマウスにおいて、中枢神経系内にミクログリアは欠損していることからいまだ議論が残るところである⁴。

神経幹細胞数の制御

これまで中枢神経系内に侵入したミクログリアは中枢神経系の発達期において、プログラム細胞死(PCD)によって細胞死を起こした神経幹細胞の除去に働くことが示されてきた⁵。しかしながらそのような清掃のみの役割にとどまらず、近年、脊髄、海馬、小脳において能動的にPCDを誘発することが知られている。例えば、ミクログリアは過酸化酸素イオンを放出することによって小脳プルキンエ細胞のPCDを誘導し、PCDを起こした細胞を貪食することが知られている⁶。



このようなミクログリア機能の障害が神経幹細胞の数の異常を来すまたはIL-6などのサイトカイン異常を引き起こすことによって、小脳発達異常を誘発しうるかは今後の研究が待たれる。

さらに成熟動物において神経幹細胞の一部が神経回路に組み込まれ、その他の幹細胞は細胞死が誘導されミクログリアによって除去されることが知られている。近年ミクログリアはその非活性化状態でも幹細胞を貪食し、その数を制御する可能性があることが報告された⁷。このように神経回路に組み込まれる神経幹細胞は、学習・認知に関与することが報告されている。ミクログリア上のCX3CR1を欠失させると、neurogenesisを減少させ、学習機能が損なわれることがわかった⁸。さらに運動をさせたマウスからのミクログリアと共培養させると神経幹細胞の数が普通のマウスより増えることが報告された⁹。このようにミクログリアは発達期および成熟期において神経幹細胞の細胞死を能動的に誘導し、貪食することによってその数を制御し、学習や記憶といった行動に関わると考えられている。

ミクログリアとシナプス

古典的に顔面神経を傷害したモデルにお

いてミクログリアが顔面神経核に集積することが知られていた。このミクログリアには軸索切断によって過興奮となった神経細胞を保護する作用があることが知られている。すなわち神経細胞体に投射している神経前終末をはがす 'synapse stripping' という作用があることが提唱された^{10,11}。シナプスをはがすことによって神経活動の入力を減少させ、過興奮から保護するという考え方である。しかしながら実際にはシナプス前終末と細胞体の間に入ったミクログリアの突起が観察されただけで直接シナプスに作用するかどうかは不明のままであった。

近年の光学技術の発達から、生きたままの動物の中枢神経系内の構造物が可視化できるようになった。そのような光学技術を用いて、ミクログリアは生理的な動物の脳内で絶えずその突起を動かし続けていることがわかった¹²。この動きによって筆者らはミクログリアがシナプスに直接接すること、その接触することによってシナプスの状態をモニターしていること、シナプス活動によって接触特性が変化することを示した¹³。また脳梗塞を動物に起こすことによって生じるシナプス可塑性の高い領域において、ミクログリアがシナプスのターンオーバーに関与することを示した¹³。この研究は後にシナプスへの

ミクログリアの接触に個体の感覚入力依存性があること¹⁴、さらには発達期においてミクログリアは活動の弱いシナプスを貪食することによって、発達期におけるシナプス除去過程に関与することは明らかとなった¹⁵。またミクログリアの貪食過程には古典的な補体カスケードであるC1q,C3,C3Rの関与することが明らかとなってきた¹⁶。このようにミクログリアは、発達期・障害期においてシナプスの数を制御することによって神経回路の形成を促進することがわかった。

ミクログリアの疾患への関与

これらの研究結果よりミクログリアは生理的な中枢神経系において非常に重要な役割を持つことがわかった。これまでミクログリアは病態脳において活性化することによって疾患に関与することが知られている。しかしこのような生理的な役割は疾患に対する2次的な役割のみならず、1次的な役割の存在を示唆する。事実、近年自閉症スペクトラムであるRett症候群におけるミクログリア細胞のMeCP2の遺伝子異常が疾患に関与することが報告された¹⁷。さらに遺伝子異常を持つミクログリアを個体に放射線照射し、骨髄を移植することによってミクログリアを正常のミクログリアの遺伝子を持つものと入れかえると、症状が改善することが報告され、ミクログリアの1次的な疾患への関与が示唆された¹⁸。また強迫性神経障害のモデルもミクログリアとリンクしていることが知られている。つまりHox8bの遺伝子異常を持つマウスはグルーミング過剰行動による脱毛が起きることが知られている。そのマウスの骨髄を移植し、ミクログリアを入れかえることで症状が改善することが報告された¹⁹。このような研究結果により、ミクログリアの生理的な機能の異常によって疾患が発症することが近年示唆されてきた。今後、学習・記憶などの個体の生理的な役割にミクログリアがどう関わるかが解明されるのが待たれるところである。

本文は

Microglia: actively surveying and shaping neuronal circuit structure and function
Wake H, Moorhouse AJ, Miyamoto A, Nabekura J.
Trends in Neuroscience.
Apr;36(4):209-17 2013
を元に記載しました。

- Kettenmann, H., Hanisch, U.K., Noda, M. & Verkhratsky, A. Physiology of microglia. *Physiol Rev* 91, 461-553 (2011).
- Perry, V.H., Nicoll, J.A. & Holmes, C. Microglia in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 6, 193-201 (2010).
- Ginhoux, F. et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 330, 841-5 (2010).
- Beers, D.R. et al. Wild-type microglia extend survival in PU.1 knockout mice with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 16021-6 (2006).
- Ashwell, K. Microglia and cell death in the developing mouse cerebellum. *Brain Res Dev Brain Res* 55, 219-30 (1990).
- Marin-Teva, J.L. et al. Microglia promote the death of developing Purkinje cells. *Neuron* 41, 535-47 (2004).
- Sierra, A. et al. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell* 7, 483-95 (2010).
- Rogers, J.T. et al. CX3CR1 deficiency leads to impairment of hippocampal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci* 31, 16241-50 (2011).
- Vukovic, J., Colditz, M.J., Blackmore, D.G., Ruitenberg, M.J. & Bartlett, P.F. Microglia modulate hippocampal neural precursor activity in response to exercise and aging. *J Neurosci* 32, 6435-43 (2012).
- Blinzinger, K. & Kreutzberg, G. Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 85, 145-57 (1968).
- Trapp, B.D. et al. Evidence for synaptic stripping by cortical microglia. *Glia* 55, 360-8 (2007).
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F. & Helmchen, F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 308, 1314-8 (2005).
- Wake, H., Moorhouse, A.J., Jinno, S., Kohsaka, S. & Nabekura, J. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci* 29, 3974-80 (2009).
- Tremblay, M.E., Lowery, R.L. & Majewska, A.K. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol* 8, e1000527 (2010).
- Paolicelli, R.C. et al. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science* 333, 1456-8 (2011).
- Schafer, D.P. et al. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* 74, 691-705 (2012).
- Maehzawa, I. & Jin, L.W. Rett syndrome microglia damage dendrites and synapses by the elevated release of glutamate. *J Neurosci* 30, 5346-56 (2010).
- Derecki, N.C. et al. Wild-type microglia arrest pathology in a mouse model of Rett syndrome. *Nature* 484, 105-9 (2012).
- Chen, S.K. et al. Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice. *Cell* 141, 775-85 (2010).

細胞外マトリックスが細胞移動を制御する

西脇 清二 (関西学院大学理工学部生命科学科)

私たちの体は、たくさんの細胞からできています。人の細胞数は、60兆個と言われていいます。確かにそうですが、実際には体の体積のかなりの部分は細胞以外の物質で満たされています。例えば軟骨や、器官と器官の間を埋める結合組織と言われるようなところには、細胞から分泌された糖タンパク質が多量に存在し、細胞はまばらにしかありません。このような糖タンパク質の主なもの、コラーゲンやプロテオグリカンなどの繊維状の分子で、これらが複雑に結合して巨大な分子の網目構造、細胞外マトリックスを作っています(図1)。この細胞外マトリックスは、2種類の重要な役割を担っています。一つは、器官と器官を隔てたり、物理的な力に対して細胞を守ったりする働きで、もう一つは、細胞に外部からの情報を伝える働きです。細胞は、細胞外マトリックス中に様々なシグナル分子を分泌し、他の細胞の増殖・分化や運動を調節したり、プロテアーゼを分泌して細胞外マトリックスを分解し、細胞の移動や器官の形作りを促したりします。細胞外マトリックス分子自体もシグナル分子として細胞に働きかけます。細胞と細胞外マトリックスはまさにクロストークを行いつつ、秩序ある形態形成を実現していくのです。

私たちは、線虫*C. elegans*を用いて、器官の形作りにおける細胞外マトリックスの働きを研究しています。*C. elegans*は成虫でも959個の細胞しかありませんが、筋肉、神経、生殖巣、消化管などの器官を備えています。線虫は細胞外マトリックスとして基底膜

を持っていますが、哺乳類のような間葉組織(結合組織など)はありません。基底膜分子は進化的に高度に保存されており、哺乳類が持つ基本的なものはほとんど線虫にもあります。基底膜の基本的な構成要素は4種類の蛋白質です。細胞から分泌されたラミニンがまず細胞表面のインテグリンに結合することにより、基底膜のベースを形成します。この上にIV型コラーゲンのメッシュワークが形成されますが、ナイドゼンとパールカン(プロテオグリカンの一種)がラミニンとの橋渡しのような働きをしていると考えられています(図1)。

線虫の生殖巣は上皮細胞でできたU字型のチューブですが、これは1齢幼虫期に小さな生殖巣原基が作られ、その先端のリーダー細胞であるDTC (distal tip cell)が成虫になるまでの間にU字型に移動すること

によりできあがります。私たちは、筋肉細胞から分泌されるMIG-17と呼ばれるプロテアーゼが、生殖巣DTC表面の基底膜に局在して働くことが、U字型の生殖巣の形成に必須であることを突き止めました^(1, 2)。MIG-17はADAMTS familyに属するメタロプロテアーゼであり、哺乳類ADAMTS10と同一性があります。*mig-17*遺伝子の欠損変異体*mig-17(KO)*では、DTCの蛇行、迷走により、生殖巣がグニャグニャと変形してしまいます。MIG-17の欠損をバイパスし、正常なU字型生殖巣を作るサプレッサー変異体を分離したところ、IV型コラーゲンやフィブリリン1(これも進化的に保存された基底膜分子)のアミノ酸置換が見つかりました(図2)^(3, 4)。これらの変異を*collagen IV(AS1)*および*fibulin-1(AS1)*と呼ぶことにします。IV型コラーゲンやフィブリリン1がMIG-17の基質

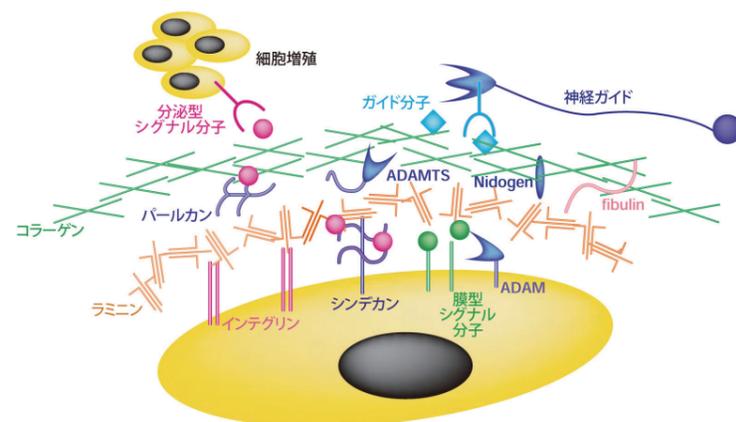


図1 基底膜の概念図

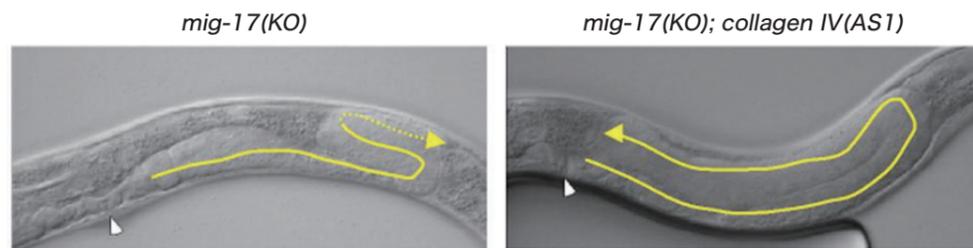


図2 *mig-17(KO)*変異体(左)と*mig-17(KO); collagen IV(AS1)*二重変異体(右) 矢印は生殖巣の形態(DTC移動経路)、矢頭は陰門を示す。

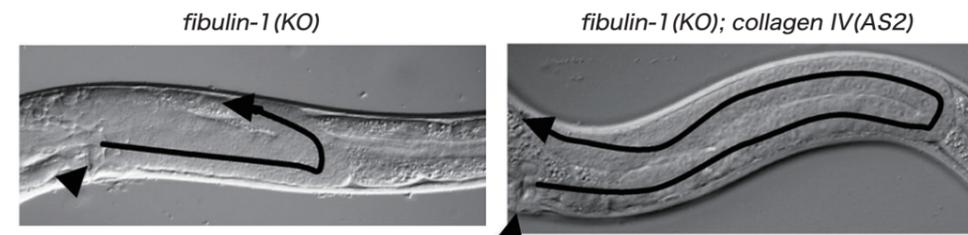


図3 *fibulin-1(KO)*変異体(左)と*fibulin-1(KO); collagen IV(AS2)*二重変異体(右) 矢印は生殖巣の形態(DTC移動経路)、矢頭は陰門を示す。

である可能性がありますが、現在のところこの証拠は得られていません。MIG-17はフィブリリン1を基底膜にリクルートし、おそらく活性化(例えば構造を変化させる)と考えています。MIG-17はIV型コラーゲンの基底膜局在には関与しませんが、これも活性化しているようです⁽⁴⁾。MIG-17はこのように基底膜分子のリクルートメントや活性化を通して、DTCの方向性のある移動を制御しています。

*mig-17*のサプレッサーとして見つかった*fibulin-1(AS1)*変異はアミノ酸置換で、単独では表現型がありません。私たちはフィブリリン1の欠損変異体を分離してみました。*fibulin-1(KO)*ではDTCの移動が2回目の方向転換の直後に停止するために、内部の生殖細胞が成熟できず、不稔になってしまうことがわかりました。私たちはさらに、*fibulin-1(KO)*変異体を変異原で処理し、正常なU字型の生殖巣を形成し稔性を回復するサプレッサー変異体を分離しました。驚いたことに、これはIV型コラーゲンの新たな部位のアミノ酸置換*collagen IV(AS2)*でした(図3)⁽⁵⁾。哺乳類*fibulin-1(KO)*は胚致死で、基底膜分子フィブリリン1は生存に必須ですが、線虫の*fibulin-1(KO)*と*collagen IV(AS2)*の二重変異体はフィブリリン1が無い状態でも、見かけ上全く正常に発生、増殖することができます。*collagen IV(AS2)*は*collagen IV(AS1)*とは逆に、*mig-17*変異体のDTC移動異常表現型を増強することがわかりました。MIG-17、フィブリリン1、IV型コラーゲンは生殖巣基底膜で、互いに相互作用しながらDTCの移動方向制御に働いていると考えられます。

線虫の生殖巣の形成に働くADAMTSプロテアーゼはもう一つあり、GON-1と呼ばれています。GON-1は哺乳類のADAMTS9やADAMTS20のオルソログです。*gon-1*変異体の表現型は*mig-17*とは随分異なり、DTCがほとんど移動できなくなります。私た

ちはGON-1もやはりフィブリリン1、IV型コラーゲンと相互作用しDTC移動を制御していることを突き止めています⁽⁵⁾。MIG-17とGON-1にはどのような役割分担があり、フィブリリン1、IV型コラーゲンの局在や活性をどのように制御しているのか、またそれによってDTCの移動はどのように影響を受けるのか。多くの謎が残されています。本新学術領域ではIV型コラーゲンの局在や代謝などのライブイメージングを用いて、定量的解析を進めています。これまでの研究から、野生型の線虫においても個体間でIV型コラーゲンの局在量に大きなばらつきがあることが分かってきました。もしかするとこのような細胞外マトリックスのゆらぎが、正確なU字型の生殖巣形成に重要であるのかも知れません。

ヒトではこれらのADAMTS遺伝子は、何れも細胞外マトリックスの変性を伴う遺伝病の原因遺伝子であることが分かっています。線虫を用いてADAMTSの機能をさらに追求することにより、人の発生でのADAMTSの働きと、それらの変異による遺伝病発症の機構を理解するヒントも得られると考えています。

1. Nishiwaki, K., Hisamoto, N., and Matsumoto, K. (2000). A metalloprotease distinct integrin that controls cell migration in *Caenorhabditis elegans*. **Science** 288: 2205-2208.
2. Ihara, S. and Nishiwaki, K. (2007). Prodomain-dependent tissue targeting of an ADAMTS protease controls cell migration in *Caenorhabditis elegans*. **EMBO J.** 26: 2607-2620
3. Kubota, Y., Kuroki, R., and Nishiwaki, K. (2004). A fibulin-1 homolog

interacts with an ADAM protease that controls cell migration in *C. elegans*. **Current Biology** 14: 2011-2018.

4. Kubota, Y., Ohkura, K., Tamai, K. K., Nagata, K. and Nishiwaki, K. (2008). MIG-17/ADAMTS controls cell migration by recruiting nidogen to the basement membrane in *C. elegans*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 105: 20804-20809.
5. Kubota, Y., Nagata, K., Sugimoto, A., and Nishiwaki, K. (2012). 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.

アクチン/PIP3波の幾何学と膜変形

澤井 哲 (東京大学 大学院総合文化研究科)

アメーバ状の細胞運動や食作用は好中球やマクロファージなどでよく知られ、癌細胞が浸潤、転移する際にも同様の運動形態をとる。その変形の背景には膜の裏打ちにおけるアクチンの重合と、それによって細胞膜がおさされる過程がある。この運動は全くのたためではなく、膜の伸縮、伸張と移動が柔軟なテンポとタイミングでおこなわれ、かつ細胞全体の変形としての調和がとれている。こうしたアメーバ細胞の形状変化の動的な性質について、私達のグループが得た最近の知見を紹介する。

研究の背景

隔離した状態の細胞性粘菌アメーバの形状は、5-6分の周期性をとまって伸張と回転を繰り返しながら変化している(図1A)。一連の先行研究によると、ガラス基質に接着した細胞膜の裏打ちでは、アクチンとともに、ARP2/3複合体や^{1,4}、フォスファティジリノシトール-3,4,5-三リン酸(PIP3)^{1,5}、活性型Ras^{4,5}が一過的に共局在するというイベントが空間的に伝播する。波面の後側ではMyosinII^{4,5}やPTEN、フォスファティジリノシトール-4,5-二リン酸(PIP2)⁵⁻⁷などが局在している(図1B)。また、細胞端で1次元的に伝播する波については、計画班の上田昌宏先生らのグループによってその詳細が明らかにされている^{3,6,7}。これらの分子局在はちょうど走化性運動中の細胞先端と後端を特徴づけるものに対応するため、細胞極性の形成機構に内在する増幅とフィードバック調節の存在と、それによって駆動される自発的な側面を表しているものと考えられる。

ドイツの研究グループによるTIRF観察から、波面の内部では微細なArp2/3複合体のクラスター形成が無数に生じており、それ自体は移動していないことが知られている^{3,8}。また局所的に退色させた蛍光アクチンの蛍光強度が周辺からの分子の流入によってすぐさま回復しないことから⁸⁻¹⁰、フィラメント自身が能動的に輸送されているのではなく、Arp2/3

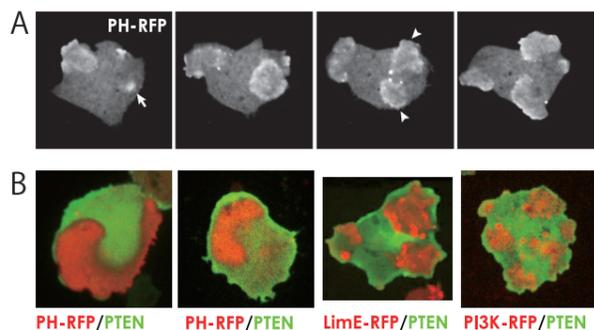


図1 アメーバの自発的形狀変化の背後にある反応拡散波 (A) PIP3の波と細胞形態の変化。矢印は新たに波が出現したところ。(B) 波を特徴づける分子動態。PHドメイン(PIP3)/PTEN, F-actin/PTEN, PI3キナーゼ/PTEN. それぞれ緑色蛍光タンパクと赤色蛍光タンパクによって可視化したもの。

複合体クラスターの一過的な出現というイベントそのものが膜の裏打ちで連鎖的に伝わっていることが強く示唆される。波面では、一過的にArp2/3複合体によってアクチンの樹状フィラメントが形成され、反対に波面の外ではアクチンが並列の束となっている。つまり、アクチンフィラメントが2つの状態間を遷移して、それが時空間的に変動しているのである。この状態遷移が膜の裏打ちを伝わって細胞端に達すると、大きな膜の延長を引き起こし、このことが細胞形状の周期的な変化を生み出していると考えられる。

細胞内の興奮波とそのトポロジー

膜の拡張がいつどこでおこるかは、波がどこで発生し、どこにむかって伝播しているかが重要となる。そこで、我々は、細胞底面の皮層に伝播する波の基本的な形態の性質と起源について、ライブセルイメージングに基づいた定量的な解析から探ってみた。アクチン重合の阻害剤、もしくはPIP2からPIP3へのリン酸化を触媒するPI3キナーゼの阻害剤の影響下では、波の発生が著しく低下し(図2A)、そのためにパターンも単純化することがわかった。波の位相を抽出すると、回転波の中心には位相の特異点が存在していることが明らかになった(図2B)。これは、自己充足的に興奮がくりかえすラセン波の中心(端)である。薬剤処理していない、自由にはいまわっている細胞についても、やはり同様の位相の特異点が出現している場合が見られ、一対となっているものはその間で

維持される波面が比較的平面的に膜を押し出していること、単独に隔離された特異点で維持されるらせん波は、一方向的に回転することで膜を回転させながら押し出していることが明らかになった(図2C)。

膜上では、既存の波と新規に発火する波が常に競合している。波と波が衝突した際に位相がどの程度シフトするかを解析したところ、新規の波が既存の波の裏側で発火したときに、位相が不連続的にリセットされやすいことがわかった。特異点の生成は、まさに波がこのタイミングで摂動されるときにおこっている。このことは、アメーバ細胞内の波が興奮系特有の現象として理解できることを示している。心筋の収縮場が不整脈時に示す特異点や、粘菌の集合場におけるcAMP波と共通した動的構造なのである。この他にも、波と波が正面衝突すると消滅すること、このことではじめ伝播していた方向と垂直の方向に伝播するようになるなどの性質も興奮系としてよく説明できる。

PI3キナーゼの局在がPIP3と同様の動態を示すこと、PI3キナーゼの薬剤阻害やPI3キナーゼの遺伝子欠損によって波の発生が抑制されること、さらにはアクチン重合をアクチンの波が消失した条件でもPIP3の波は見えることなどから、PI3キナーゼの一過的な膜局在と活性化が波に中心的な役割を果たしていると考えられる。興味深いことに、アクチン重合をおさえるとPIP3波の発生

頻度が下がるので、アクチンからPI3キナーゼへの何らかの正のフィードバック^{9,10}が興奮性に重要であることも示唆される。またPIP3の上昇時にPIP2が顕著に低下していることから、興奮性に必要である負のフィードバックとして、基質の枯渇が働いている可能性が考えられる。

以上について比較的単純な反応機構を仮定し(図2D)、数理モデルにより解析したところ、正のフィードバックによりPIP3の微小な濃度ゆらぎが増幅されPI3キナーゼが活性化されると、さらにPIP3が上昇する。これが膜上を拡散して周りにつたわり、さらにPI3キナーゼが活性化されるという連鎖が引き起こされることがわかった。これはいわゆる興奮系の性質(興奮性)である。発生した波は細胞端にむけて伝播し、途中で他の波と衝突すれば、その位相の関係によって消滅する、あるいは特異点を形成する。これらのダイナミクスの組み合わせによって波のパターンは複雑化し、時間的に空間的にリズムをもっている形状変化を引き起こす(図2E)。波の発生はランダムな場所でおこるが、興奮波同士の競合の発展規則は決定論的である。規則性とランダム性の両方がせめぎあうことで、一見複雑な形状変化が自発的に生み出されるのである。今回、私達はゆらぎの増幅が細胞形状のダイナミクスに巧妙にいかされている例を明らかにした。ほ乳類細胞や他のアメーバでも、PIP3/アクチン波が観察されており¹⁰、こうした現象の背後にある共通性の理解が深まること

も楽しみである。

謝辞

本研究は、東京大学大学院総合文化研究科博士課程(当時)の谷口大相、同研究科教授の金子邦彦ならびに助教の石原秀至との共同研究です。また本領域の上田昌宏先生、柴田達夫先生、西村信一郎先生からは、細胞性粘菌の細胞運動とその解析について、多岐にわたってご指摘、ご助言いただいております。この場を借りて、お礼を申し上げます。

【発表論文】

Taniguchi, D. et al. Phase geometries of two-dimensional excitable waves. *Proc Natl Acad Sci USA* 110, 5016-5021 (2013).

【文献】

- Asano, Y., Nagasaki, A. & Uyeda, T. Q. P. Correlated waves of actin filaments and PIP3 in Dictyostelium cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 65, 923-934 (2008).
- Bretschneider, T. et al. Dynamic organization of the actin system in the motile cells of Dictyostelium. *J Muscle Res Cell Motil* 23, 639-649 (2002).
- Bretschneider, T. et al. Dynamic actin patterns and Arp2/3 assembly at the substrate-

attached surface of motile cells. *Curr Biol* 14, 1-10 (2004).

- Schroth-Diez, B. et al. Propagating waves separate two states of actin organization in living cells. *HFSP J* 3, 412-427 (2009).
- Gerisch, G., Ecke, M., Wischnewski, D. & Schroth-Diez, B. Different modes of state transitions determine pattern in the Phosphatidylinositol-Actin system. *BMC Cell Biol* 12, 42 (2011).
- Arai, Y. et al. Self-organization of the phosphatidylinositol lipids signaling system for random cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 107, 12399-12404 (2010).
- Shibata, T., Nishikawa, M., Matsuoka, S. & Ueda, M. Modeling the self-organized phosphatidylinositol lipids signaling system in chemotactic cells based on quantitative image analysis. *J Cell Sci* 125, 5138-5150 (2012).
- Bretschneider, T. et al. The three-dimensional dynamics of actin waves, a model of cytoskeletal self-organization. *Biophys J* 96, 2888-2900 (2009).
- Sasaki, A. T. et al. G protein-independent Ras/PI3K/F-actin circuit regulates basic cell motility. *J Cell Biol* 178, 185-191 (2007).
- Kunida, K., Matsuda, M. & Aoki, K. FRET imaging and statistical signal processing reveal positive and negative feedback loops regulating the morphology of randomly migrating HT-1080 cells. *J Cell Sci* 125, 2381-2392 (2012)

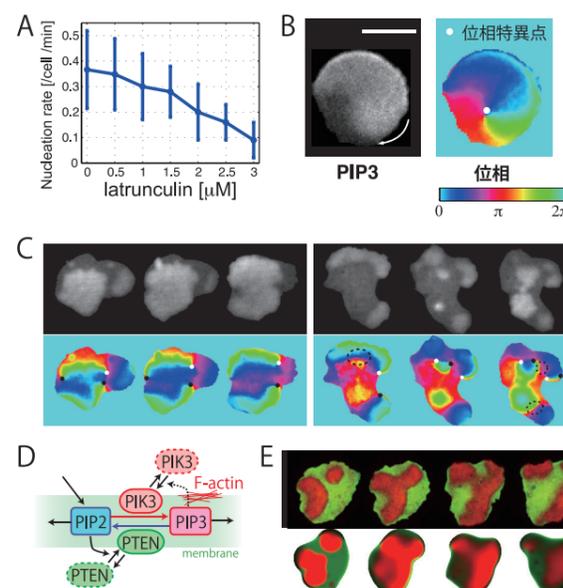


図2 PIP3波パターンは位相の特異点の生成と消滅で支配されている。(A) ラトランキュリンA処理によってPIP3発火の頻度が低下する。(B) PIP3のラセン波パターンを位相抽出により表現。中心に全ての位相が一カ所で交わる特異点が存在することがわかる。(C) 変形を伴う細胞運動中のPIP3波とその位相解析。白/黒の点は時計回り/反時計回りの特異点を表す。(D) 数理モデルで考察したリン脂質のリン酸化反応スキーム(左)。(E) 実際の観察(上)とシミュレーション結果(下)。

細胞内の自発的なゆらぎが走化性を助ける仕組み

柴田 達夫 (理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター)

細胞が特定の化学物質(誘引物質)の方向に移動する性質は走化性と呼ばれ、血球細胞や神経細胞などで免疫応答や組織形成に重要な働きを担っている。単細胞真核生物である細胞性粘菌は飢餓期において、走化性を用いて集合し多細胞体を作る。走化性細胞はわずか数十マイクロメートルの細胞体の前後でほんの数パーセントの濃度差を感じ取って走化性を示す^[1]。一方、細胞は周囲に勾配が無い状態においても細胞内部のゆらぎによりランダムに方向転換しながら自発的に動くことが知られている。そのようななか、一体どのようにして細胞は誘引物質の微小な濃度差を内部環境のゆらぎを乗り越えて検知し、増幅して、正しい方向に動くことができるのだろうか。わたしたちは細胞性粘菌の走化性において、シグナル伝達系の蛍光イメージングと数理モデルを統合的に用い、この問題に取り組んできた。

細胞性粘菌は誘引物質cAMPの濃度勾配に反応して細胞膜上でイノシトールリン脂質の代謝反応を引き起こす。高いcAMP濃度に接した領域ではPI3キナーゼによってホスファチジルイノシトール4,5-三リン酸(PIP2)からホスファチジルイノシトール3,4,5-三リン酸(PIP3)が産生され、逆に低い領域では脱リン酸化酵素であるPTENによってPIP3からリン酸基がとれてPIP2が生成される。そしてPIP3濃度の高い領域ではアクチン繊維が重合して仮足が伸び、走化性を引き起こす。細胞性粘菌の走化性の分

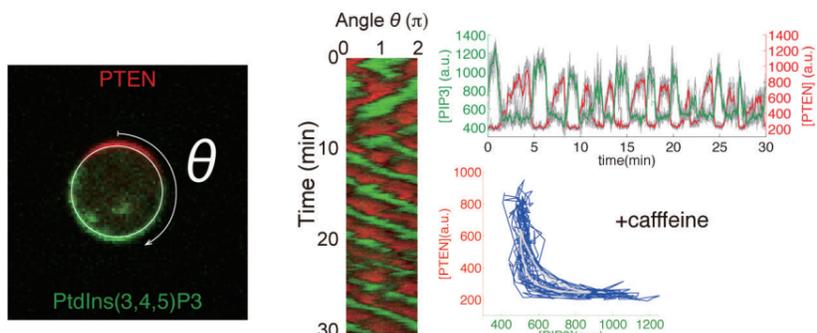


図1 細胞性粘菌の自発的な活性化(左)緑:PIP3タンパク質 赤:PTEN。(中)発現位置と時間。PIP3発現ドメインが細胞膜上を移動している。(右上)細胞膜上のある一点でPIP3とPTEN濃度が交互に増減。(右下)PTEN濃度、PIP3濃度の相関図。

子メカニズムはほ乳類の白血球細胞などと良く似ており走化性のモデル生物として詳しく研究されてきた。また、分子メカニズムの同定がよく進んでいることから、複雑な分子ネットワークの機能発現を解き明かすための、イメージングと数理モデルを組み合わせた定量的な研究が精力的に行われている。

わたしたちは、細胞内部の自発的な極性形成機構の詳細を蛍光イメージングの統計解析によって明らかにし、そのメカニズムを数理モデルによって再構築することに成功した^[2]。さらにこのモデルを用い、その自己組織化する極性機構が、誘引物質への高い感受性と頑強性を助ける仕組みについて明らかにした^[3](以降、自己組織化する極性機構とする)。

自己組織化による極性形成機構をイメージングデータから解き明かす

わたしたちは2010年の論文^[4]において、細胞性粘菌を誘引物質の濃度勾配がない状態で、かつ細胞自身が誘引物質のcAMPを産生することを阻害して細胞間の相互作用を排除した上でPIP3タンパク質の動態を見た。またアクチン重合阻害剤を用いて、アクチンのシグナル反応に値する影響を排除した。すると、細胞膜上でPIP3の発現ドメインがランダムに現れ、それが細胞膜上を動く様子が見られ、内部の自発的な極性形成を見いだした。

そこで、2012年の論文^[2]においては、細胞膜上のあるポイントでの濃度の増減について主成分分析などを用いたあらたな解析方法を開発し、統計解析を行った。図2Aは、

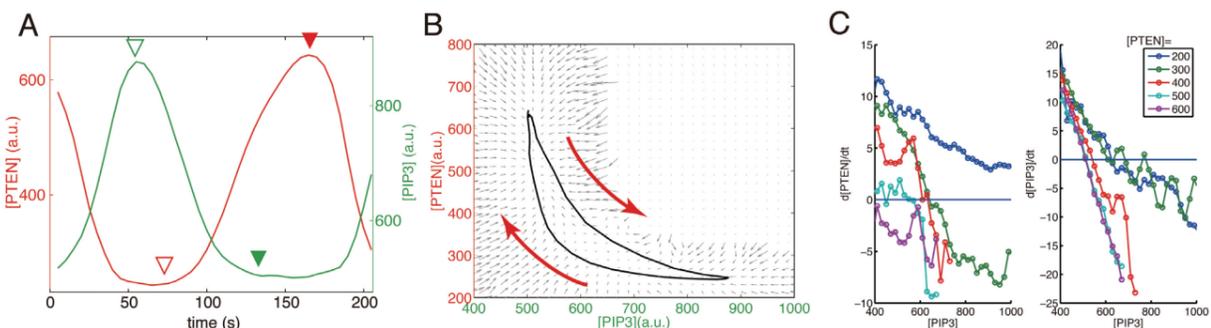


図2 A PTENとPIP3の強度の動態の平均の振る舞い。Bでは、各時刻の2つの強度を2次元中の1点として表した軌跡。時間とともに三日月の形を時計回りに回っている。C PTEN(左)とPIP3(右)の強度の時間変化率を、PIP3の強度に対してプロットした。線の色の違いはPTENの強度の違い。

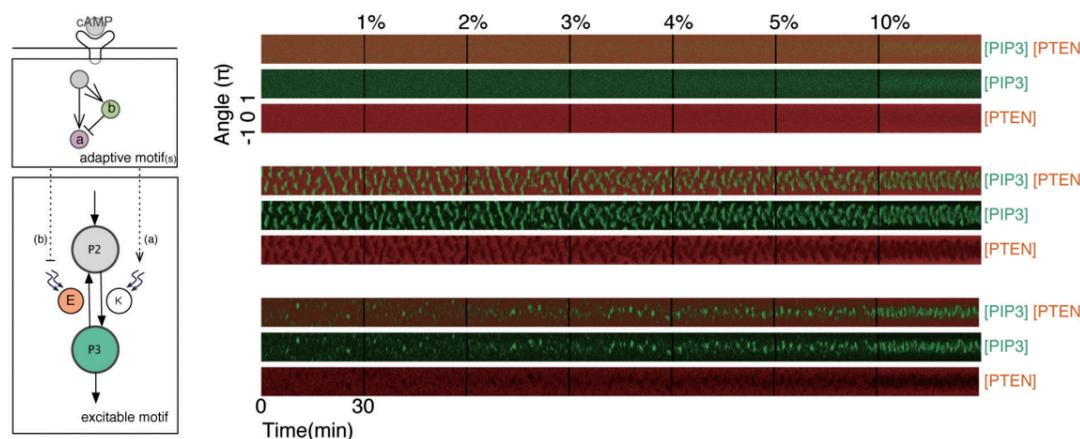


図3(左)新しい反応システムの概念図。上に適応系、下に興奮系のモデルを示す。(右)各パターンでcAMP濃度を段階的に上げていった場合のシミュレーション。ドメインがあらかじめ形成されている場合のほうがcAMPの濃度勾配に対する内部濃度勾配が大きい。(上)静止状態(中)持続的ドメイン形成(下)一過的ドメイン形成。

ある細胞におけるPIP3とPTENの動態である。PIP3とPTENは互いに排他的に局在していることがわかる。しかし、PIP3とPTENのピークは完全に排他的な(ピークの位相が180度ずれている)のではなく、PIP3がPTENよりも10秒程度先行していることがわかった。PIP3がPTENの基質であることを考えると、このことは、両者の関係を単純な酵素と基質の相互作用のみでは表すことは出来ないことが示唆される。また、図2Bでは、PTENとPIP3のそれぞれの強度の時間変化率を、PIP3の強度に対してプロットした。いずれも、PIP3強度の減少関数となっており、PIP3が多いほど、時間変化率が小さくなっていくことがわかった。つまり、PIP3が多い時にはPTENもPIP3も、時間的にほとんど増加しないかあるいは減少していくことを示している。これらのことから次の2点が示唆された。(1) PIP3がPTENに先行して変化を示し、また、PTENの強度の時間変化がPIP3の強度とともに減少していくことから、PTENは細胞膜上のPIP3が少ない箇所により結合しやすいと考えたと納得がいく。(2) また、もしもPIP3に正のフィードバックがあれば、PIP3が多くなった時に、PIP3の時間増加率はふたたび正の値をしめすはずである。すなわち、わたしたちの実験データからは、PIP3のPTENを媒介しない正のフィードバックは見いだされなかった。

これらの解析にもとづいて細胞膜上のイノシトールリン脂質代謝反応に関する反応拡散モデルを構築し、シミュレーションを行った。その結果、上の観察結果と一致しPIP3ドメインが持続的に現れるパターンが得られた。さらにパラメーターの値を調節す

ると、ドメインが現れたり消えたりを繰り返すパターンが得られ、これはcAMP産生を阻害しない場合の観察結果と一致していた。以上より与えたモデルが適正であることが分かる。数理モデルの解析から細胞の自発的な極性形成、すなわち自己組織化する極性機構は神経等でよく見られる興奮系の性質(少しの刺激でも、しきい値を越えれば十分な応答を作り出す性質)を持つことがわかった。ここで見いだされた、PTENとPIP3の間の新たな調節機構については、あらたな分子メカニズムの予測であり、今後の実験的な検証が期待できる。

自己組織化の極性形成による勾配センシング

次に、わたしたちは2013年の論文^[3]において、誘引物質の勾配を入れた場合について解析した。まず実際に細胞性粘菌にcAMPを加えたところ、あらかじめ持続的ドメイン形成パターンがあった場合と、一過的ドメイン形成パターンがあった場合の両方においてcAMPの濃度が高い方向にPIP3ドメインの分布が偏ることを確認した。次に確率的な反応拡散モデルを構築し、2パターンに加え、細胞内部の自己組織化する極性機構が働いていない静止状態を作り出し、それぞれcAMP濃度を段階的に上げてシミュレーションを行った。作用させるcAMPの濃度が上がると、あらかじめ細胞内部に持続的、または一過的ドメイン形成パターンがあった場合の方が、静止状態に比べてより小さなcAMP勾配でも強い応答が見られた。このことから自己組織化する極性機構はcAMP勾配への応答性を促進することが示唆された。

細胞は勾配情報を極性方向の精度と極性化の頻度にコーディングする

また、どのような機構によって濃度勾配の方向に沿ったドメイン形成の偏りが実現されているのかを検証するために、細胞膜上のPIP3ドメインの形成場所と頻度を定量的に解析した。すると誘引物質の勾配がある場合には無い場合よりドメインの形成頻度は増え、濃度勾配が上がると勾配の方向に対するドメイン形成位置の正確性が上がることが分かった。ドメインの持続時間やPIP3の濃度は勾配とは相関が見られなかった。以上のことから、濃度勾配の傾斜が増加するとともに、ドメイン形成の頻度と方向の正確性が上昇して、細胞は高い感受性と頑強性を持った走化性応答を実現できることがわかった。これは、外部環境に応じて細胞内のドメインの形成されやすさに極性が生じ、濃度が高い場所ではドメイン形成のしきい値が下がって形成しやすくなることを示していた。

細胞粘菌は濃度の時間変化と興奮系の閾値制御で誘引物質の波を感じる

細胞性粘菌はcAMPの進行する波に向かって走化性を示すことで集合し、多細胞体を作る。ここで正しく波の来る方向を感じするには濃度が増えて行く方向(波が向かってくる側)のみに動き、減って行く方向(波をおいかける側)へは動かない必要がある。この認識機構について、柴田らは上流に適応反応(刺激に対して一過的に反応し、その後元に戻る反応。視覚や嗅覚などの感覚細胞にしばしば見られる性質)、下流に自己組織化する極性機構を組み合わせた数

神経前駆細胞の核移動の意義としくみを発見：「場」、「ランダムさ」、「異種共同」の重要性

宮田 卓樹・岡本 麻友美・篠田 友靖 (名古屋大学大学院医学系研究科)

はじめに

発生期の脳で神経前駆細胞とその娘細胞たちが細胞周期進行に伴って核の反復運動 (interkinetic nuclear migration = INM) をすることは以前から知られていたが、じつはその動きの「意義」は不明のままだった (図1)。そして、「しくみ」については、個別の核移動を担う細胞内分子機構が (例えば微小管依存的なあるいはアクチン依存的なしくみの重要さと関与タンパクたちのいくつかを示唆されるなど) 近年理解されるようになってきたものの、「行ったり来たり」の入り乱れる「核移動イベント群」をどうやって細胞集団全体としてうまく成立させているのかは謎であった (図1)。多細胞コミュニティのレベルでの「動き」の意義・しくみを、「場」でもある「集団」に目を向けて問うということは、本領域「動く細胞と秩序」における共有的なミッションであり、INMはそのよいモデル系たり得る。

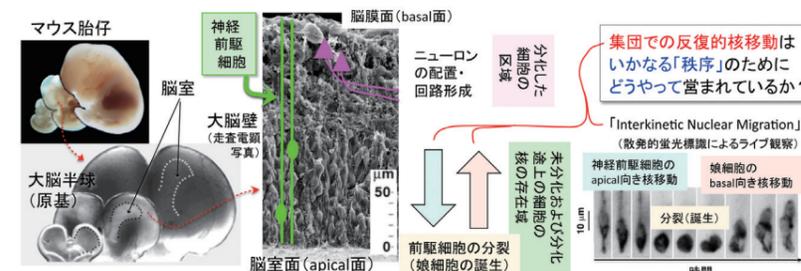


図1. 我々の研究「神経前駆細胞の動と静を制御する場と集団の原理」の問い (舞台, 現象). マウスの大脳原基の壁の深部 (脳室側) には神経前駆細胞の核 (細胞体) が充満している. 反対側 (脳膜側) にはニューロンが回路形成を進める. 前駆細胞各々の核は、その持ち主細胞の細胞周期進行にあわせて脳室脳膜軸 (apicobasal軸) に沿った運動をする (Interkinetic nuclear migration と称される [INMと略]). INMはapical面でループする (G2期細胞のapical向け核移動 → apical面での前駆細胞分裂 [娘細胞誕生] → G1期娘細胞のbasal向け核移動). 集団の核移動が非同調的に起きるため任意の時刻において核は一定の厚み・範囲の中に均一に重層しているように見える (しかし細胞本体が皆apical面とbasal面を結ぶ細長く伸びたかたちをしている [つまり実質的には「単層」である] ので、組織学的には「偽重層」上皮と称される). 個別の核移動の原理は微小管依存のおよびアクチン依存的な機構で説明されるようになったが、無数のINMたちがどのように、うまくとりまとまって (折り合って) 秩序だった発生期組織構造が維持されているか、集団レベルでの理解はまだなかった. また、胎生期の集団的INMが、追って進められるべき秩序だった脳構造の形成に対してどういう意味を持つのかも不明であった.

実験結果

今回、当研究グループでは、発生期マウス大脳でTAG-1 (タグワン) というタンパク質を無くす実験などを通じて、上記の疑問に対して一定の答えを得ることができた (図2). ノックダウン操作によってTAG-1を奪うと、神経前駆細胞は本来の長く伸びたかたちをとれず、INMに支障をきたした. 渋滞した前駆細胞は、次いで過剰な力学的負荷から逃れるように本来の位置 (脳室に近い部分) から逸脱してしまい、組織構造を乱した. この結果、まず、INMの組織づくりに対する不可欠さ・意義が分かった. そして、長い形態 (basal process構造) という核にとっての

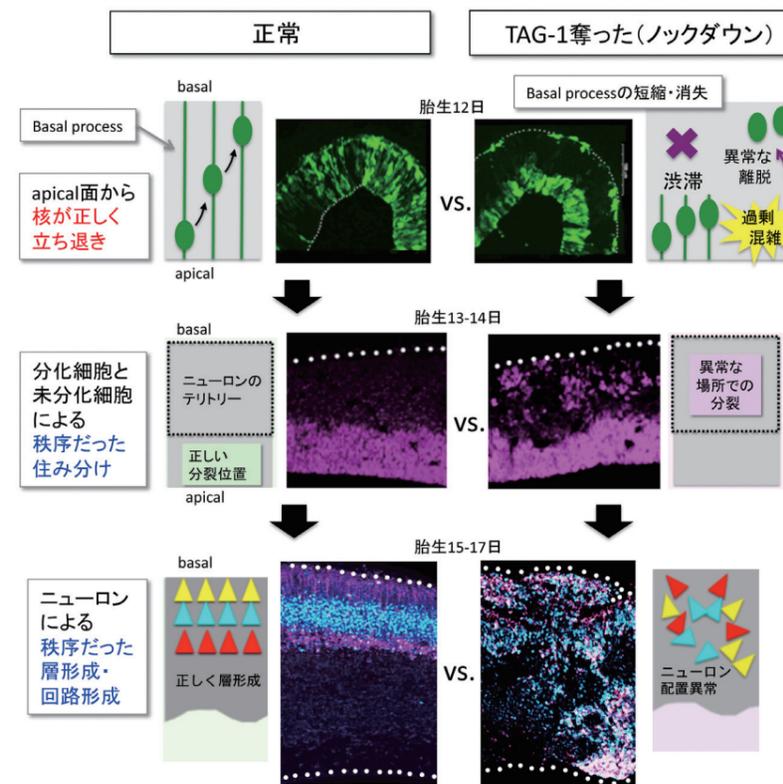


図2. TAG-1ノックダウン実験によって分かったこと. 細胞表面分子TAG-1は本来、神経前駆細胞のbasal processが終着する付近に強く発現する (図中省略) が、ノックダウン操作によって消失した. すると前駆細胞は短くなってしまい、核移動異常をきたした (上段). apical側に渋滞・混雑した前駆細胞は、次いで、過剰な力学的負荷に反応して、apical面から脱離し、basal区域に侵入した (中段). 本来はニューロンが占拠すべき区域での、「異常脱離前駆細胞」による異所的な分裂は、ニューロンの配置異常、組織全体の構造破綻をもたらした (下段). 発生早期の細胞核トラフィックコントロールが「のちのち」のために果たす役割の大きさが分かった.

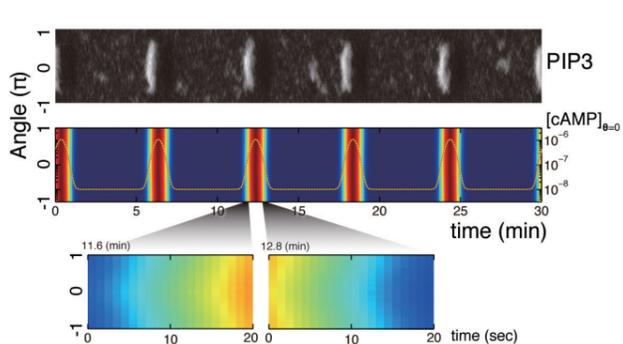


図4 円形状の細胞に、角度0°の方向から、走化性誘引物質の6分周期の進行する波 (中段、下段) を与えたときのPIP3の応答 (上段)。

理モデルを検討した (図3左)。このモデルに、空間的にcAMPの濃度の進行する波を適用したところ、濃度が上昇するタイミングのみ細胞は波の向かって来る方向が応答した (図4)。この結果より、細胞は濃度が上がっているのか、下がっているのかということ自体を認識して自己組織化する極性機構のしきい値をコントロールし、波の向かって来る方向に動いていることが示唆された。

まとめ

今回、これまで知られている分子生物学の知識と、蛍光イメージングのデータの詳

細な検討から、実験を比較よく説明する数理モデルを構築できた。その結果から、分子機構や、勾配感知の振る舞いについて、新たな知見が得られ、今後実験的な検証が待たれる。また、自己組織化を用いた機能発現については、同じ概念が他の多くの場合にも適用されるはずで、細胞スケールのシステムが、高い応答性と頑強性を兼ね備えるための設計原理のひとつと考えることができるだろう。

参考文献

1. Ueda M, Shibata T (2007)

Stochastic signal processing and transduction in chemotactic response of eukaryotic cells. *Biophys J* 93: 11-20.

2. Shibata T, Nishikawa M, Matsuoka S, Ueda M (2012) Modeling the self-organized phosphatidylinositol lipid signaling system in chemotactic cells using quantitative image analysis. *J Cell Sci* 125: 5138-5150.
 3. Shibata T, Nishikawa M, Matsuoka S, Ueda M (2013) Intracellular encoding of spatiotemporal guidance cues in a self-organizing signaling system for chemotaxis in dictyostelium cells. *Biophys J* 105: 2199-2209.
 4. Arai Y, Shibata T, Matsuoka S, Sato MJ, Yanagida T, Ueda M (2010) Self-organization of the phosphatidylinositol lipids signaling system for random cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 12399-12404.

面白い研究って?

研究者はみんな面白い研究をしたいと思っています。もちろん私もそう思っていますし、面白い研究の話を知ると興奮します。ですが、どういう研究が面白いのかという定義は、なんとなくのイメージはあっても、明確な言葉にしたことはありませんでした。本新学術領域に参加させていただいて、研究には色々な面白さがあるなと感じるようになったこともあり、この場を借りて面白さを分析 (というほどでもありませんが) してみたいと思います。私見では、面白いと感じる研究は、大きく4つに分類できました。

1. 現象自体の魅力

見た目が非常に美しい組織構造や、ユニークな生物行動などには、この現象を研究したいと思わせる魅力があります。また、多くの生物で通用するような普遍的な現象や、日常生活で身近に触れる現象にも、興味を惹きつける魅力があります。ノックアウトの表現型が劇的、とかもやる気がでますよね。

2. 意外性

一見複雑に見える現象をシンプルなくみで説明できた時や、全く関係ないと思っていた2つの現象につながりがあった時など、意外な展開があると嬉しくなります。これまでの常識を覆すのが研究の醍醐味ですよね。

3. 手法のすこさ

研究手法が新しい、珍しい、計測技術がすごい、などもインパクトがあります。歴史を振り返っても、生物学研究の流れを大きく変えてきたのは、多くの場合、新しい手法の登場でした。個人的にも、新しい手法あるところに新しいデータあり、と自分に言い聞かせることは多いです。

4. 役に立つ

人類の役に立つ研究には、ゆるぎない価値があります。研究者の自己満足では? という不安に晒されることもないですし、その研究によって病気が治るようになったなどという報告を聞いたら、どんなに幸せだろうと思います。

以上4つの分類は、研究の面白さの全てを網羅できているわけでもなく、互いに排反でもありません。ただ単純に、色々な面白さがあることが面白いですし、色々なタイプの面白い研究に出会いたいと思っていますので、本新学術領域のような場は楽しいです。次回の領域会議では、みなさんの発表を聞きながら、ひそかに面白さを分類してみようと思っています。事前予想では、なんとなく2のタイプの面白さが好きな方が普通より多そうですが、どうでしょうか?

戎家 美紀

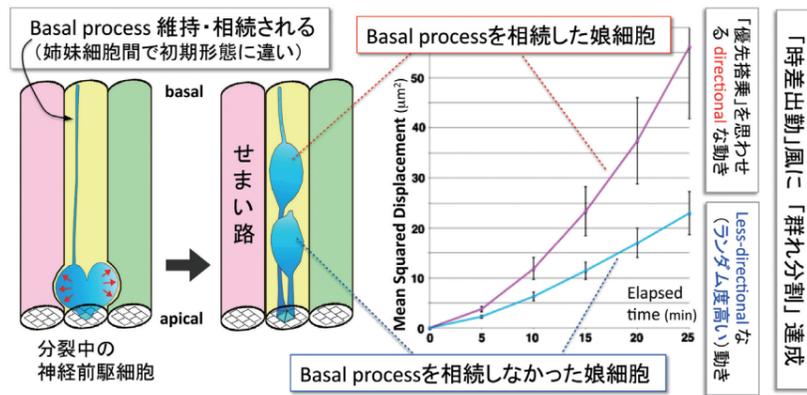


図3. 「娘細胞の群れのbasal向け初動」を分割するためのくふう。神経前駆細胞はbasal方向に伸びたファイバー様構造(basal process)を維持したままapical面での分裂をおこない、basal processは片方の娘細胞にまるごと相続される(形態的に非対称・非均等)。「相続」娘細胞は、「非相続」娘細胞よりも早くapical面付近から立ち去る(「相続」娘細胞の核が高いdirectionalityを示すのに対して、「非相続」娘細胞の核は躊躇傾向を示す)。結果、せまい流出路に向けて縦列的な(順序づけられた)娘細胞供給が合理的に果たされる。Basal processとその確保に不可欠なTAG-1がそれぞれ「場」として動きを先導することに加えて、ランダム度(躊躇性)の高い(始まりを慌てない)動きが一定割合で存在することの意義が読めた。MSD解析(本領域の発足までは当ラボの誰も知らなかった)が、新しい知を得る上でとても役に立った。

「道」あるいは「命綱」の重要性も分かった。これは「場」の意味を問う本領域の趣旨にも沿う学びであると喜んだ(図3)。

同時に、核の動きにはこうした「綱」を利用しての高directionalityのものに加えて、ランダム傾向(躊躇性)を示すものが厳存していることも分かった(図3)。これは、mean squared displacement(MSD)を得る解析を通じて明示された(細胞性粘菌の動きの分析や一分子イメージングにおける常套手段であるこの手法を阪大上田さん[当領域 計画研究]にご指導いただいた)。皆に「われもわれも」とdirectionalな動きばかりをとらせるのではなく一部の動きの逡巡をむしろ善しとする(つまりまるで「異種共同」を意図でもするかのように感じられる)「集団としての知恵(?)」が(basal processの非対称・一子相伝的な相続という工夫を通じて)発揮されている!...と感心させられた(図3)。

もうひとつ、INM障害によって渋滞・過剰混雑をきたした神経前駆細胞が思いがけずとった異常挙動(脳室面からの離脱とそれに続くbasal部における異所的分裂:図2)からは、前駆細胞が力学的刺激を感知しそれにもとづいて行動することが示唆された。微小レーザー照射(CDB近藤さん・林さん[当領域 計画研究])などによる力学的試験と力学シミュレーション(京大・安達研究室)の結果がこの可能性をサポートした。ここでも学際的研究の恩恵を受けた。

考察

神経前駆細胞は、上皮としての性格を有するあまたの細胞たちの中であって背丈(apicobasal長)で際立ち「偽重層化」の度合いが高い(すなわち派手なINMを示す)。高度な偽重層化は、「一定apical面積あたりの細胞生産性(分裂頻度)を高める」という効果を発揮し得る。なぜなら、もし仮に細胞周期全体に対してM期が1/10の長さであるとして、いっさい偽重層化していない前駆細胞(一辺を例えば10μmとするサイコロ型)が10個、単層に横並びしている場合、任意時刻にふと眺めた私たちは「10個のうち1個が分裂」(すなわち「apical面積1000μm²あたり1個」の分裂)と目撃するであろうが、同じ「一定apical面積(1000μm²)」において核が5層にタテに積み重なるような組織像を呈する偽重層化の場合は、前駆細胞は、総数が5倍、形態が細長く、個別のapical面積が上記「サイコロ」(100μm²)の1/5に減ると同時に、対象apical面全体での分裂頻度は「1000μm²あたり5個」となる。

この「高生産性・空間的経済性」には物流上のリスクが伴う。脳原基のapical面はそこに終着する個々の細胞のendfootのアクチオシン依存的な収縮性にもとづいて面全体として狭くなるようになっている。同時にapical面は、丸く膨らんで分裂する(つまりかさばる)M期細胞をその直下に抱えこむ責務を負う(図3)。この空間的背反(ジレンマ)の存在下、apical-basal軸上での「物流」(核の往来)が増せば増すほど(すなわ

ち高度偽重層化の状況においては)、渋滞・過剰混雑のリスクが増すだろう。したがって、「結果」で述べた工夫(核の整流的「時差出勤」:図3)は、神経前駆細胞が背負う「ハイリターン・ハイリスク」への対処策のひとつ(乗客の安全のためだからと言って地下鉄ホームを無限に広くしたり電車運行頻度を極端に減したり決してできないかわりに、上り通路と誘導方法を充実させるかのよう)なであろうと合点する。

おわりに

本研究で行なった全細胞イメージングや力学的試験は、「群集」の規模・様態が細胞(核)間のメカニカルな関係性に依存した「物流」の手段・戦略をあみ出させている可能性も示唆する。本成果を端緒として、「集団レベルでのうまいくみ」をさらに理解できるように研究を進めたい。

謝辞

上に紹介した皆さん以外にも「異種共同」の研究を慶応大・仲嶋さん(当領域 計画研究)、基生研・藤森さん、名古屋大・貝淵研究室、新潟大・武内チームに支えていただきました。この場を借りて心よりお礼申し上げます。

発表論文

Okamoto, M., Namba, T., Shinoda, T., Kondo, T., Watanabe, T., Inoue, Y., Takeuchi, K., Enomoto, Y., Ota, K., Oda, K., Wada, Y., Sagou, K., Saito, K., Sakakibara, A., Kawaguchi, A., Nakajima, K., Adachi, T., Fujimori, T., Ueda, M. Hayashi, S., Kaibuchi, K., Miyata, T. TAG-1-assisted progenitor elongation streamlines nuclear migration to optimize subapical crowding. *Nature Neuroscience* 16: 1556-1566 (2013)

Schedule

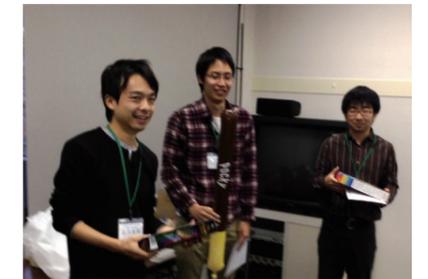
「熱き心とDurotaxis」～第3回「動く細胞」若手の会を終えて

栗山 正(秋田大学医学部 分子生化学 准教授)

今回、「動く細胞」若手の会の幹事の一人を務めました栗山が、僭越ながら会のレビューを書かせていただく事になりました。この班で言うところの「若手の会」というのがどういったものなのか分からないままに、鈴木(孝幸)さんに誘われて幹事をやることにしたので、「いっその事、分からないまま好きにやってみよう」とずいぶん勝手にしてしまったかなと思います。九州大学から木戸秋悟先生と大川泰行先生をお呼びすることになったのもこの「勝手に」の賜物です。快く講演に係る経費を融通していただいた先生方には感謝しています。木戸先生には「動く細胞」にピッタリなDurotaxisを応用した方向性移動の整流化、という何とも未来的なトピックでお話いただきました。光架橋ゼラチンとプロジェクターによる基質のデザインは若者のみならず出席した人々にはかなりインパクトがあったのではないかと思います。今後、共同研究などにつながってほしいですね。多忙ですぐに帰られたのが残念でした。大川先生はこれから必須のテクニクになっていくであろうChIPseqの分かりやすいアプリケーションの解説などを織り交ぜながらも、Histoneに潜む次世代シーケンサーが無ければ到底たどりつけなかった謎を明らかにしていくところが綺麗なプレゼンテーションでした。TALENやCRISPRのnon-specificな効果の検定を依頼されればやりますよ、という小ネタをたまたま引っ張り



ベストポスター賞のお二人。説明が一番簡潔で短かった森本さん(理研)とずっとポスター前に居た澤田さん(阪大)



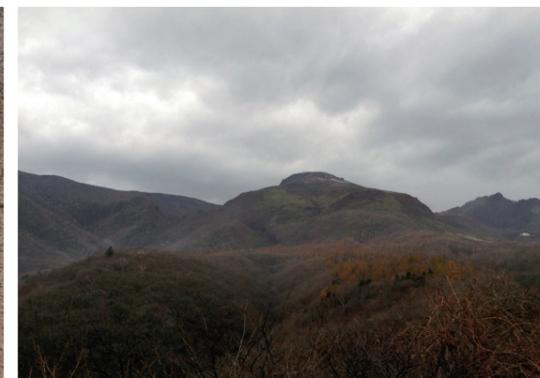
ベストプレゼン賞を獲得した3人が微妙な賞品をもらって微妙な表情を浮かべています。

だしたのは私のお手柄でしょうか。学生さん達の発表で目を惹いたのは「熱い」部分。個人的にこれまで接して来た最近の学生さんは「頭は良いけど熱くならない」と思っていたのですが、さすがに計画班の先生方に鍛えられているのか自分の発表に自信があるし、様々な質問にも一生懸命に考えて答えを返してくれて楽しめました。私は日頃から100人中80人くらいが不思議に思う質問はもっと気の効いた質問者に任せて、なるだけカブらない質問・発表者が待ち構えていなかった質問をするように心がけています。会に来ていた若手研究者からもそこそこ活発に質問がありましたが、一回も質問できなかった人は違うニッチを取るつもりで話を聞いてみたらどうでしょうか。ベストポスター賞を勝ち取った澤田莉沙さん(阪大)は一際長い間、自分のポスターの前にトラップされて

いたので「そろそろ勘弁して欲しいんじゃないの?」と聞くと、「いえ、いろんな質問がためになるのでこの機会に聞いておこうと思って」と学生さんの鏡のような発言。感心しました。今回のベストプレゼン賞はもはや老獪ささえも感じさせた原佑介さん(基生研)のプレゼンテーション。未開拓のメカノバイオロジーに進化する姿は彼が学生の時から知っていましたが、見事に結実した完成されたプレゼンテーションでした。これから留学してもメカノバイオロジーを続けるそうで、まさに個体レベルのDurotaxis(ハードな方を選ぶ)ですね。フェイマンラチュエットの中の細胞の様に、ずんずん進んでいって欲しいものです。さて、もう一人特筆すべきは鈴木孝幸さんの発表で、Just do itの会('12 CDB 神戸理研)、発生学会('13島根)、班会議('13名古屋)と今回が彼の話聞くのはか



何気にワタナベさんとワタナベさんの縁談がほほえましいシュールな一枚。



那須の連山の一つ茶臼山。溶岩ドームですかね?



九尾の狐「玉藻」がラスボス進化し、最終的に爆発して飛び散ったカケラがコレ。



那須の谷間の集落にある北温泉。秘湯の雰囲気ばつぐん。原佑介さんが映画「テルマエ・ロマエ」のロケ地として有名になったということでバスで向かおうとしたところをレンタカーで一緒に行きました。



天狗の湯。インパクト大。

らくは那須のすばらしい自然や温泉と戯れるでもなく学生さん達が帰って行ってしまったので、excursionなどをやってもっと遊んで帰って欲しかったなあと思いました。昨今の世知辛い世の中では難しいむきもありますが、学生やポスドクの間にはこのような機会に仲良くなって、世界でいるんな技術や知識を身につけて、帰って来て再会して新たに異なる技術や知識で交流する、というのが将来の日本の科学にプラスになるのではないのでしょうか。ということで次回参加できるならばまた素敵な自然に囲まれた温泉宿などで交流を深めましょう。(決して温泉宿をもっと楽しみたいとか私利私欲のためではありませんよ!)

* ベストプレゼン、ポスター賞共に複数受賞者がいらっしゃいますがすべての方を紹介できなくてすいません

れこれ4回目になりますが、聞く度に新しいネットワークや技術を取り入れてバージョンアップをしていく様を見ると、感心することしきりです。この新学術領域を含め、刺激・交流を与えてくれているのを私ももっと

活かしていかなければいけないなあと思います。私は学生の時にラボ同士の交流などをやる機会があまり無かったので、修士や博士課程の間にこのような会に参加できる学生さん達をうらやましく思います。惜しむ

クロアチアへの出張

クロアチア行

富樫 英 (神戸大学大学院医学研究科)

2013年の10月に、この新学術領域からのサポートを受けてクロアチアに行ってきた。Exciting BiologiesというCell Pressなどが主催するミーティングに参加するためである。Exciting Biologiesシリーズは毎年開催されているが、年ごとにお題が変わり、今年のお題は“Biology of Boundaries”である。いちおう発生物学をやっている身としては、体節形成などで見られるBoundaryを思い浮かべるが、そのように限定された意味でのBoundaryではなく、生命現象に現れる様々な意味でのBoundariesである。事前配布されたスピーカーのリストを見ても知らない名前が多い。もっとも、自分の研究もBoundaryの形成とか維持ではなく、boundaryで接した細胞たちがモザイク様や市松模様混ざって規則的に並ぶことが対象である。開催場所のクロアチアといえば世界遺産にもなっているドゥブロブニクなどが観光地として有名だが、今回の開催地はそれよりずっと北のイストリア。行ったことはないが、クロアチア国旗には赤白の市松模様が入っていて(サッカーのクロアチア代表ユニフォームといえば、思い出す方も多いただろう)、研究テーマに通じる親近感が湧く。旅行前にイストリアについてWikipediaなどで調べてみると、大まかには以下の様なことが書いてある。

—イストリア。アドリア海の最北部に位置するアドリア海最大の半島で、イタリア、スロベニア、クロアチアにまたがる。気候は温暖な地中海性気候で、トリュフとイストリアワインが有名。

10月とはいえ、まだ半袖で過ごせる日本から3本の飛行機を乗り継いでたどり着いたのはイタリア北東のトリエステ。途中、乗り継ぎの

ために降りたパリが心底寒かったのに比べるとはるかに暖かい。ここから学会が用意してくれたシャトルバスに乗って、会場へと向かう。途中スロベニアとの国境検問所ではパスポートチェックがあった。クロアチアはEUに加盟したばかりのため、まだ国境の自由通過が認められていないのだ。もっとも、国境というわりにははっきりとした地理的境界はなく、畑ばかりで、申し訳程度に検問所のまわりをフェンスで囲っただけ。バスに乗り込んできた警察官は目つきが厳しく腰に下げた拳銃も物々しいが、パスポートをちょっと見て、ハンコをべたんとつくとして終わり。1990年代まで戦争をしていた国のイメージはも



参加者集合写真



部屋からの眺め

はや過去のことなのだろうが、地域によっては地雷が埋められたままだったりするらしい。バスはその後、ブドウ畑やオリーブ畑の続く丘陵地を通り過ぎ、到着した会場のホテルは、アドリア海を一望できる海沿いの高台にあった。自腹だったら間違いなく泊まることを躊躇するくらいにゴージャスである。チェックインすると、すぐにレセプションが始まり、お酒とともに軽い食事が振る舞われる。参加者は50人程度。見知った人は少ないが、挨拶などしてから、ワイングラスを手にしたままで最初のセッションが始まる。演題は、発生物学のみならず、がんの転移や植物細胞の原形質間連絡、それに細胞内小器官の膜構造からマンマシインターフェースまでと、もう何でもありである。ミーティングで取り上げる話題は豊富だが、スケジュールはゆったりしている。自由時間にホテルの周辺を散歩したが、シーズンオフで寂しい海岸の周辺には、お店らしいお店もなく、人気の感じられない別荘があるばかりで、結局、ホテルからは外出することもなく過ごすことになった。

2日目、眺望の良いレストランで、ウェイターが丁寧な仕草で一皿ずつ出してくれる昼食を食べながら、Olivier Pourquieさん(ストラスブルグ大)が、これまでに会った日本人研究者との思い出などを話してくれた。様々な名前が出た中には私の恩師でもあるマサトシや、そのまた恩師であるトキンドといった名前も出てきた。恩師の恩師だから私から見たら父どころか、祖父、曾祖父に相当する世代である。これだけ世代を経てもなお人柄や研究が強い印象を残して語り継がれている。今回のミーティングでは、私の発表を面白いと言ってくれる人もいた。しかし、その面白さはその場限りのものであって、まだまだ強い印象を残すことは出来ていない。私達の世代は、昔と比べればはるかに海外発表の機会に恵まれているだろう。それにもかかわらず、昔の日本の研究者は良かったが、今は…、などとは言われ

たくないものである。これまでは先達の背中を追うことだけで無我夢中であったが、いつかそれは越えていかなければならない。今回の出張で、様々な人達と話をし、私の研究に対する自覚は深まった。セッションが全て終わった最後の夜、みなでイストリアワインのワイナリーを見学した後、地元レストランにかけ、デザートにまでトリュフを使った食事を楽しんだ。イストリアワインを飲みながらの食事は夜遅くまで続いた。主催者の一人であるイプセン財団の方と話をし、このミーティングが世界中の研究者どうしの交流を活発にするため、様々な支援のもとで開催されていることを知った。翌日、日本に夕刻に到着する飛行機で帰ってきた。神戸に戻ってきたのは日付が変わって深夜であった。短い時間ではあったが、恵まれた環境のもと、このような機会でもなければ話すことのない分野の研究者達と交流出来た収穫は大きかった。出張の機会を与えて頂いた当領域の先生方とともに、渡航のための手続きでお世話になった慶応大学仲嶋研究室の岡田樹里さんにも心より感謝したい。



ワイナリー訪問

2013

Ying BW^{**}, Tsuru S, Seno S, Matsuda H and Yomo T. Gene expression scaled by distance to the genome replication site. *Mol BioSyst.*, in press.

Ying BW^{**}, Akeno Y and Yomo T. Construction of synthetic gene circuits in the Escherichia coli genome. *Methods Mol Biol.*, 1073: 157-168 (2013).

Matsumoto Y, Murakami Y, Tsuru S, Ying BW^{**} and Yomo T. Growth rate-coordinated transcriptome reorganization in bacteria. *BMC Genomics*, 14:808 (2013).

Kim H-S, Kitano Y, Mori M, Takano T, Harbaugh TE, Mizutani K, Yanagimoto H, Miwa S, Ihara S^{**}, Kubota Y, Shibata Y, Ikenishi K, Garriga G and Nishiwaki K^{**}. The novel secreted factor MIG-18 acts with MIG-17/ADAMTS to control cell migration in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* in press.

Kitazawa A, Kubo K , Hayashi K, Matsunaga Y, Ishii K and Nakajima K^{**}. Hippocampal pyramidal neurons switch from a multipolar migration mode to a novel "climbing" migration mode during development. *J. Neurosci.*, in press.

Shibata T^{**}, Nishikawa M, Matsuoka S & Ueda M^{**} . Intracellular Encoding of Spatiotemporal Guidance Cues in a Self-Organizing Signaling System for Chemotaxis in Dictyostelium Cells. *Biophys J.*, 105: 2199-2209 (2013).

Hiraiwa T, Baba A & Shibata T^{**} . Theoretical model for cell migration with gradient sensing and shape deformation. *Eur Phys J E Soft Matter*, 36: 9846 doi: 10.1140/epje/i2013-13032-1 (2013).

Inomata H, Shibata T^{**}, Haraguchi T & Sasai Y. Scaling of Dorsal-Ventral Patterning by Embryo Size-Dependent Degradation of Spemann's Organizer Signals. *Cell* , 153: 1296-13311 (2013).

Nitanda Y, Matsui T^{**}, Matta T, Higami A, Kohno K, Nakahata Y and Bessho Y. 3'UTR-dependent regulation of mRNA turnover is critical for differential distribution patterns of cyclic gene mRNAs. *FEBS Journal*, doi: 10.1111/febs.12582. [Epub ahead of print] .

Retnoaji B, Akiyama R, Matta T, Bessho Y and Matsui T^{**}1. Retinoic acid controls proper head-to-trunk linkage in zebrafish by regulating an anterior-posterior somitogenetic rate difference. (1Corresponding author) *Development*. [Epub ahead of print] (2013).

Tahara N, Bessho Y and Matsui T^{**}1. Celf1 Is Required for Formation of Endoderm-Derived Organs in Zebrafish. (1Corresponding author) *Int. J. Mol. Sci.*, 14: 18009-18023 (2013).

Ageta-Ishihara N, Miyata T^{**}, Ohshima O, Watanabe M, Sato Y, Hamamura Y, Higashiyama T, Mazitschek R, Bito H & Kinoshita M. Septins promote dendrite and axon development by negatively regulating microtubule stability viaHDAC6-mediated deacetylation. *Nat Commun*. 2013 Oct 11;4:2532. doi: 10.1038/ncomms3532.

Shibata Y, Sawa H, and Nishiwaki K^{**}. HTZ-1/H2A.z and MYS-1/MYST HAT act redundantly to maintain cell fates in somatic gonadal cells through repression of ceh-22 in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, in press.

Okamoto M^{*}, Namba T, Shinoda T^{*}, Kondo T, Watanabe T, Inoue Y, Takeuchi K, Enomoto Y, Ota K, Oda K, Wada Y, Sagou K, Saito K, Sakakibara A^{*}, Kawaguchi A^{*}, Nakajima K^{**}, Adachi T, Fujimori T, Ueda M^{**}, Hayashi S^{**}, Kaibuchi K

& Miyata T^{**}. TAG-1-assisted rogenitor elongation streamlines nuclear migration to optimize subapical crowding. *Nature Neuroscience* , Published online 22 September 2013, DOI:10.1038/nn.3525 (2013)

Fujimoto Y, Tanaka SS, Yamaguchi YL, Kobayashi H, Kuroki S, Tachibana M, Shinomura M, Kanai Y, Morohashi K, Kawakami K and Nishinakamura R^{**}. Homeoproteins Six1 and Six4 Regulate Male Sex Determination and Mouse Gonadal Development. *Developmental Cell*, 26: 416-430 (2013).

Kim KS, Arima Y, Kitazawa T, Nishiyama K^{**}, Asai R, Uchijima Y, Sato T, Levi G, Kitanaka S, Igarashi T, Kurihara Y and Kurihara H. Endothelin Regulates Neural Crest Deployment and Fate to Form Great Vessels through Dlx5/Dlx6-independent Mechanisms *Mech. Dev.*, [Epub ahead of print] (2013).

Doi M, Minematsu H, Kubota Y, Nishiwaki K^{**} and Miyamoto M. The novel Rac effector RIN-1 regulates neuronal cell migration and axon pathfinding in *C. elegans*. *Development*, 140: 3435-3444 (2013).

Tabata H^{*}, Tsuyoshi H, Nagata K, Sakakibara Y and Nakajima K^{**}. Screening for candidate genes involved in the production of mouse subventricular zone proliferative cells and an estimation of their changes in evolutionary pressure during primate evolution. *Front. Neuroanat.*, 2013 Jul 31;7:24. doi: 10.3389/fnana.2013.00024 (2013).

Hasegawa A^{**}, Iwamura C, Kitajima M, Hashimoto K, Otsuyama K, Ogino H, Nakayama T^{*} and Shirai M. Crucial role for CD69 in the pathogenesis of dextran sulphate sodium-induced colitis. *PLOS ONE* , 8(6):e65494. doi:10.1371/journal.pone.0065494. Epub 2013 Jun 13 (2013).

Banjo T, Grajcarek J, Yoshino D, Osada H, Miyasaka KY, Kida YS, Ueki Y, Nagayama K^{**}, Kawakami K, Matsumoto T, Sato M, Ogura T. Haemodynamically dependent valvulogenesis of zebrafish heart is mediated by flow-dependent expression of miR-21. *Nature Communications*, 2013 Jun 10;4:1978. doi: 10.1038/ncomms2978 (2013).

Kushiyama A, Sakoda H, Oue N, Okubo M, Nakatsu Y, Ono H, Fukushima T, Kamata H, Nishimura F, Kikuchi T, Fujishiro M, Nishiyama K^{**}, Aburatani H, Kushiyama S, Iizuka M, Taki N, Encinas J, Sentani K, Ogonuki N, Ogura A, Kawazu S, Yasui W, Higashi Y, Kurihara H, Katagiri H, Asano T. Resistin-Like Molecule β Is Abundantly Expressed in Foam Cells and Is Involved in Atherosclerosis Development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, [Epub ahead of print] (2013).

Suzuki T, Kaido M, Takayama R and Sato M^{**}. A temporal mechanism that produces neuronal diversity in the Drosophila visual center. *Developmental Biology* , 380: 12-24 (2013).

Sato M^{**}, Suzuki T and Nakai T. Waves of differentiation in the fly visual system. *Developmental Biology* , 380: 1-11 (2013).

Hasegawa E, Kaido M, Takayama R and Sato M^{**}. Brain-specific-homeobox is required for the specification of neuronal types in the Drosophila optic lobe. *Developmental Biology* , 377: 90-99 (2013).

Miyamoto A, Wake H^{**}, Moorhouse AJ, Nabekura J. Microglia and synapse interactions: fine tuning neural circuits and candidate molecules. *Front Cell Neurosci.*, 2013 May 15;7:70. doi: 10.3389/fncel.2013.00070. Print 2013.

Wake H^{**}, Moorhouse AJ, Miyamoto A, Nabekura J . Microglia: actively surveying and shaping neuronal circuit structure and function.

Trends Neurosci., 2013 Apr;36(4):209-17. doi: 10.1016/j.tins.2012.11.007. Epub 2012 Dec 20.

Miura T^{**}. Turing and Wolpert Work Together During Limb Development. *Sci. Signal.*, Vol. 6, Issue 270, p. pe14. 9 April 2013. [DOI: 10.1126/scisignal.2004038]

Oshikawa M, Okada K, Nakajima K^{**} and Ajioka I ^{**}. Cortical Excitatory Neurons Become Protected from Cell Division during Neurogenesis in an Rb Family-Dependent Manner. *Development* , 140: 2310-2320 (2013)

Matsuda T^{**}, Horikawa K, Saito K and Nagai T^{*}. Highlighted Ca(2+) imaging with a genetically encoded 'caged' indicator. *Sci Rep.*, 3: 1398 (2013).

Hoi H, Matsuda T^{**} ,Nagai T^{*} and Campbell RE. Highlightable Ca2+ indicators for live cell imaging. *J Am Chem Soc.*, 135: 46-49 (2013).

Sakaguchi S, Taoka A^{**} and Fukumori Y. Analysis of magnetotactic behavior by swimming assay. *Biosci. Biotech. and Biochem.*, 77(5), 940-947 (2013).

Hasegawa E, Kaido M, Takayama R and Sato M^{**}. Brain-specific-homeobox is required for the specification of neuronal types in the Drosophila optic lobe. *Developmental Biology* , [Epub ahead of print] (2013).

Wu J, Liu L, Matsuda T^{**}, Zhao Y, Rebane A, Drobizhev M, Chang Y-F, Araki S, Arai Y, March K, Thomas HE, Sagou K, Miyata T^{**}, Nagai T, Li W-H and Campbell RE. Improved orange and red Ca²⁺ indicators and photophysical considerations for optogenetic applications. *ACS Chem. Neurosci.*, [Epub ahead of print] (2013).

Taniguchi D[‡], Ishihara S[‡]. Oonuki T, Honda-Kitahara M, Kaneko K and Sawai S^{**}. Phase geometries of two-dimensional excitable waves govern self-organized morphodynamics of amoeboid cells. (‡ Equal contribution) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* , 110: 5016-5021 (2013).

McQuade KJ, Nakajima A, Ilacqua AN, Shimada N and Sawai S^{**}. The green tea catechin epigallocatechin gallate (EGCG) blocks cell motility, chemotaxis and development in Dictyostelium discoideum. *PLOS ONE* , 8(3):e59275. doi: 10.1371/journal.pone.0059275. Epub 2013 Mar 14 (2013) .

Masaki N[‡], Fujimoto K[‡], Honda-Kitahara M, Hada E and Sawai S^{**}. Robustness of Self-Organizing Chemoattractant Field Arising from Precise Pulse Induction of Its Breakdown Enzyme: A Single-Cell Level Analysis of PDE Expression in Dictyostelium. (‡ Equal contribution) *Biophys. J.* 104: 1-12 (2013).

Toriyama M, Kozawa S, Sakumura Y and Inagaki N^{**}. Conversion of a Signal into Forces for Axon Outgrowth through Pak1-mediated Shootin1 Phosphorylation. *Curr. Biol.*,23: 529-534 (2013) .

Iwadate Y^{**}, Okimura C, Sato K, Nakashima Y, Tsujioka M and Minami K. Myosin II mediated directional migration of Dictyostelium cells in response to cyclic stretching of substratum. *Biophys. J.*, 104: 748-758 (2013).

Matsuoka S, Shibata T^{**} and Ueda M^{**}. Asymmetric PTEN distribution regulated by spatial heterogeneity in membrane-binding state transitions. *PLoS Computational Biology*, 9, e1002862. (doi:10.1371/journal.pcbi.1002862) (2013).

Kondo T and Hayashi S^{**}. Mitotic cell rounding accelerates epithelial invagination. *Nature* , 494: 125-129 (2013).

Dong B, Kakihara K, Otani T, Wada H and Hayashi S^{**}. Rab9 and retromer regulates retrograde trafficking of luminal protein required for epithelial tube length control. *Nature Communications*, 15;4:1358. doi: 10.1038/ncomms2347 (2013).

Sato Y^{**}. Dorsal aorta formation: Separate origins, lateral-to-medial migration, and remodeling *Dev. Growth Differ.*, 55: 113-129 (2013) .

Sakakibara A^{*}, Sato T, Ando R, Noguchi N, Masaoka M and Miyata T^{**}. Dynamics of centrosome translocation and microtubule organization in neocortical neurons during distinct modes of polarization. (1 corresponding author) *Cereb. Cortex* , [Epub ahead of print]

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, Kawachi 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 α5β1. *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, Horch 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 dmrt2a 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 β1 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, Iruie 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. (1Corresponding 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, Koshiha 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. Trp1 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 adenylohypophysis 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, Iwadate 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	大阪大学大学院理学研究科・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
細胞接触センサーから直接伝わる細胞骨格編集シグナルの研究	栗山 正	秋田大学大学院医学系研究科・准教授
蛍光プローブによる細胞移動の予測と移動秩序の分子機構の解明	中井 淳一	埼玉大学脳科学融合研究センター・教授
由来の異なる細胞間相互作用による神経細胞移動制御機構の解明	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

A02「細胞から組織へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
耳ブラコード発生におけるユニークな上皮内細胞動態の解析	若松 義雄	東北大学大学院医学系研究科・講師
場と動きとの共鳴から出現する多細胞ダイナミクスの解析	澤井 哲	東京大学大学院総合文化研究科・准教授
かたちをつくる血管細胞の集団的ふるまいと制御系の理解	西山 功一	東京大学大学院医学系研究科・助教
細胞配置を制御する外部シグナルと細胞特性の研究	高木 新	名古屋大学大学院理学研究科・准教授
動く細胞による神経回路リモデリング機構	日比 正彦	名古屋大学生物機能開発利用研究センター・教授
細胞運動の秩序を担う細胞接着斑・細胞骨格・核の力学的協調作用の解析	長山 和亮	名古屋工業大学大学院工学研究科・准教授
細胞の動きが規則的な空間パターン形成に与える影響の構成的理解	戎家 美紀	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
ギャップ結合が作る細胞間相互作用と生物の形	渡邊 正勝	大阪大学大学院生命機能研究科・准教授
感覚組織形成におけるモザイク様細胞配列形成機構の解析	富樫 英	神戸大学大学院医学研究科・助教
後腎間葉の細胞移動による尿管芽誘導機構	西田 満	神戸大学大学院医学研究科・准教授
細胞集団形成における細胞と場のクロストーク	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
血行性転移における動く細胞と場のクロストーク	齋藤 大介	東北大学大学院国際高等教育研究機構・助教
肺内インビボライブイメージングによる浸潤リンパ球の秩序形成過程の解析	長谷川 明洋	山口大学大学院医学系研究科・准教授
集団的細胞運動を支える細胞内小胞輸送とアクチン細胞骨格再編成のクロストーク制御	坂根 亜由子	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教
脂質メディエーターとHippoシグナル経路が織りなす細胞集団の秩序化機構の解明	佐藤 卓史	熊本大学発生病学研究所 分化制御分野・研究員
心臓中隔や弁の前駆組織をつくりだす部位特異的な細胞運動とそれを誘導するメカニズム	坂部 正英	奈良県立医科大学大学院医学部・助教
ショウジョウバエ脳における動くグリア細胞によるグリア組織網の再構築	粟崎 健	杏林大学医学部・准教授
線虫C. elegansをもちいたライブイメージングによる細胞浸潤機構の解明	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
ミクログリアによる神経回路修飾とその破綻による精神疾患	和氣 弘明	自然科学研究機構 基礎生物学研究所 光脳回路研究部門・助教
マウス胚発生における細胞間の力学マップの作成と力学的ルールの抽出	小山 宏史	基礎生物学研究所 初期発生研究部門・助教

A03「組織から器官へ」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
細胞動態と生化学場との統合によるAnisotropyを生み出す力学場の解明	鈴木 孝幸	名古屋大学大学院理学研究科・助教
肺上皮の集団運動のメカニズムとmorphogen gradient	三浦 岳	九州大学大学院医学研究院・教授
器官として移動する胸腺・副甲状腺の駆動力源を周囲の間葉系細胞との関係性から探る	片岡 浩介	横浜市立大学生命医科学研究科・准教授
腎臓形成におけるネフロン前駆細胞の動態制御	西中村 隆一	熊本大学発生病学研究所 器官構築部門・教授
傷害脳内を移動する新生ニューロンと活性化アストロサイトのクロストーク	金子 奈穂子	名古屋市立大学大学院医学研究科・助教
4次元細胞動態解析による器官誘導能を有する毛包幹細胞とそのニッチの解析	豊島 公栄	東京理科大学総合研究機構・研究員
初期神経系の形成における非筋型ミオシンのダイナミクスと意義	鈴木 誠	基礎生物学研究所 形態形成研究部門・助教

A04「動く細胞の理論」

研究課題名	代表者氏名	所属・職
微細藻類運動系における秩序形成のモデル化と応用	佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科・教授
細胞増殖に伴う集団秩序維持	應 菫文	筑波大学生命環境科学研究科・准教授
細胞の3次元運動理論	西村 信一郎	九州大学大学院理学研究院生物科学部門・学術研究員
細胞運動における細胞レオロジーと応力場のクロストーク	中垣 俊之	北海道大学電子科学研究所 生命科学研究部門・教授
成長組織場における細胞の時空間認識メカニズムの理論的定式化と実験的検証	森下 喜弘	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
細胞スケールから器官まで、運動する細胞が織りなす協同現象のフィジカルバイオロジー	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