

平成22年度名古屋市立大学医学会賞

受賞論文

非筋細胞ミオシン II によるマウス上衣細胞繊毛の平面極性制御

廣 田 ゆ き

名古屋市立大学大学院医学研究科 再生医学

Planar polarity of multiciliated ependymal cells on the lateral ventricular wall of mouse brain regulated by non-muscle myosin II

YUKI HIROTA

*Department of Developmental and Regenerative Biology,
Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences*

SUMMARY

Motile cilia generate constant fluid flow over epithelial tissue, and thereby influence diverse physiological processes. Such functions of ciliated cells depend on the planar polarity of the cilia and on their basal bodies being oriented toward the downstream direction of the fluid flow. Recently, another type of basal-body planar polarity, indicated by the anterior localization of the basal bodies in individual cells, was reported in the multiciliated ependymal cells that line the surface of brain ventricles. However, little is known about how this polarity is established or the underlying cellular and molecular mechanisms. Here we report that basal bodies move in the apical cell membrane during differentiation to accumulate in the anterior region of ependymal cells. The planar cell polarity (PCP) signaling pathway influences the basal bodies' orientation, but not their anterior migration, in the neonatal brain. Moreover, we show by pharmacological and genetic studies that non-muscle myosin II is a key regulator of this distribution of basal bodies. This study demonstrates that the orientation and distribution of basal bodies occur by distinct mechanisms.

はじめに

側脳室の側壁に面した脳室下帯は、マウス成体脳における最大のニューロン新生領域である。脳室下帯では生涯を通じてニューロンが新生され、嗅球へとニューロンを供給し続ける¹⁻³⁾。脳室下帯で産生された新生ニューロンは前方へと高速に移動し、嗅球に到達する(図1)。脳室壁表面には運動性繊毛を有する上衣細胞がシート状に存在し、繊毛運動により脳脊髄液流を発生させる(図1)。筆者らは以前、脳室下帯における新生ニューロンの移動が上衣

細胞繊毛の協調的運動によって形成される脳脊髄液流に方向付けられることを明らかにした⁴⁾。このことは上衣細胞の平面細胞極性の形成がニューロン新生において重要な生理的意義を持つことを示しているが、その平面細胞極性決定のプロセスには不明な点が多く残されている。今回筆者らは、上衣細胞平面極性決定プロセスの詳細な観察とその形成に関わる分子機構を検討した。

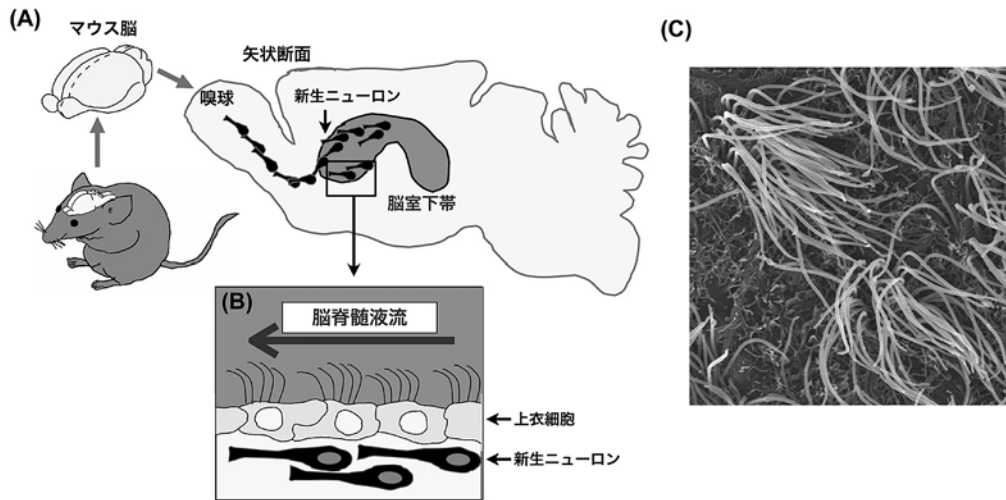


図1 脳室下帯におけるニューロン新生と繊毛運動。

(A) 脳室下帯で産生された新生ニューロンは前方へと高速に移動し、嗅球に到達する。(B) 上皮細胞は脳室壁表面にシート状に存在し、繊毛運動により脳脊髄液流を発生させる。(C) 上皮細胞繊毛の走査型電子顕微鏡像。

上皮細胞繊毛の向きの決定

上皮細胞繊毛が脳脊髄液流を発生させるためには、繊毛の運動方向を一方方向へ揃えることが必要である。上皮細胞が分化する際には、まず繊毛の基部である基底小体が細胞のアピカル面にランダムな方向に形成され、そののちに発生が進むと一方方向に揃う。一方、脳室壁表面には脈絡叢からの脳脊髄液の分泌とモンロー孔における吸収により、一定の液流が繊毛形成以前から存在していると考えられる。筆者らは以前、上皮細胞の繊毛の向きの決定に液体の流れが関わるかを調べるために、培養下で上皮細胞を分化させ、人工的に液流を与えたところ、繊毛の向きが液流と同一方向に揃うことを示した⁵⁾。また、この液流の効果は限局された時期のみに有効であった。さらに進化的に保存された平面極性を制御するシグナル経路である Wnt/PCP 経路の関与を検討するために、PCP 経路因子の膜蛋白質 Vangl2 の発現を調べたところ、分化中の上皮細胞の細胞後部と繊毛に局在がみられた。また、Vangl2 のミュータントマウスから培養した上皮細胞では、液流を与えても繊毛の方向が揃わなかった。さらに、繊毛が欠損するマウスでは Vangl2 の細胞後部への局在は保

たれるが繊毛の運動方向が乱れることから、繊毛に局在する Vangl2 が何らかの経路を介して液流刺激を受容し、繊毛の運動方向の決定に関与していることが示唆された。液流刺激による多数繊毛細胞の繊毛の方向決定はアフリカツメガエル胚でも報告されており⁶⁾、進化的に保存された重要な平面極性決定のプロセスであると考えられる。

上皮細胞繊毛の新規の平面極性

上皮細胞は前述のように一定方向へ運動する繊毛を持つが、その他に平面極性を示す構造を有しているかは明らかではなかった。筆者らは、幼若マウス脳室壁の発生段階を追った観察により、上皮繊毛の基底小体は細胞の前側に偏って局在することを見いだした。卵管や気管の繊毛細胞ではこのような特徴はみられないことから、脳室上皮細胞に特異的な新規の平面極性であると考えられる(図2)。筆者らは蛍光標識した基底小体のライブイメージング観察により、上皮繊毛の基底小体が細胞のアピカル面を前方に向かって移動することによって繊毛が細胞前部へ局在化し、平面極性が確立することを明らかにした⁷⁾。また、この過程に伴って繊

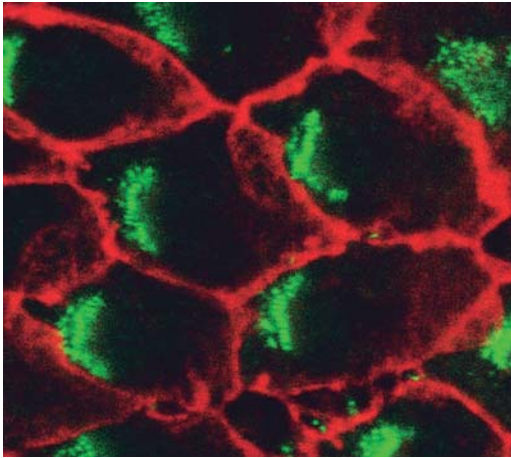


図2 上皮細胞の新規の平面極性。
脳室壁のホルマウント標本の細胞境界マーカー（赤）、基底小体マーカー（緑）による二重染色。基底小体が上皮細胞の前側（図中の左側）に局在する。

毛運動が変化するかを調べるために、繊毛を蛍光色素により標識し、高速度ライブイメージングを行った。その結果、基底小体が細胞の前部に局在するのとほぼ同時期に、繊毛形態が成熟し、繊毛運動の方向が揃うことが明らかになった。これらの結果は、基底小体の細胞の前部への局在が形成されるのと同時期に、繊毛の機能的成熟が起こることを示唆している。

上皮細胞の平面極性を決定する分子機構

次に、基底小体の前方局在を制御する分子機構を明らかにするために、先述の Wnt/PCP シグナル経路の関与を検討した。PCP シグナルの中心的なアダプター分子である Dishevelled のドミナントネガティブ型変異体を分化中の上皮細胞に導入したところ、繊毛の方向に乱れを生じたが、基底小体の前方への局在は影響を受けなかった。次に、基底小体の前方局在に関与する候補分子として、非筋細胞ミオシン II に着目した。非筋細胞ミオシン II は細胞内モーター蛋白質であり、様々な組織で細胞の形態・運動を制御することが知られており、最近では内耳有毛細胞の平面細胞極性を制御することが報告されている。上皮細胞の分化時に、非筋細胞ミ

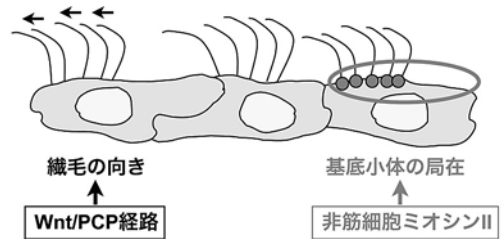


図3 上皮細胞の2種類の平面極性。
繊毛の向きと基底小体の局在はそれぞれ Wnt/PCP 経路と非筋細胞ミオシン II によって制御される。

オシン II の活性を阻害剤によって阻害したところ、基底小体の細胞アピカル面での分布が異常になった。また、このときの繊毛運動を観察したところ、正常な運動がみられた。さらに、RNA 干渉法によって非筋細胞ミオシン II を阻害したところ、基底小体の前方への局在が有意に減少した。これらのことから、上皮細胞繊毛の基底小体の前方局在には非筋細胞ミオシン II の細胞自律的な機能が必要であることが明らかになった。また、繊毛の運動方向と基底小体の前方への局在という2種類の平面極性は、独立的な制御を受けている可能性が示された（図3）。

おわりに

本研究によって上皮細胞繊毛に今まで知られていなかった平面極性が存在することが明らかになり、その形成機構について新しい知見を得た。この平面極性の形成には繊毛が関与することが別の研究グループから報告されているが⁸⁾、その詳細な作用機構は不明である。今後さらに詳細な解析により、上皮細胞繊毛運動の生理的意義への理解が深まることが期待される。

謝 辞

このたびは第61回名古屋市立大学医学賞という荣誉ある賞をいただき、心より感謝申し上げます。御指導頂きました澤本和延先生を始め、再生医学研究室の皆様、東京大学大学院理学系研究科・下澤東吾博士、樋口秀男先生、慶應義塾大学医学部・岡野栄之先生、INSERM 研究所・Alice Meunier 博士、Nathalie Spassky 先

生，東北大学医学部・木田泰之博士，小椋利彦先生，金沢大学医学部・中谷雅明博士，基礎生物学研究所・野中茂紀先生に対しまして深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Kaneko, N. and K. Sawamoto, *Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions*. Neurosci Res, 2009. 63(3): p.155-64.
- 2) 廣田ゆき，澤本和延. 成体脳室下帯の神経発生・再生学. 小児の脳神経31: 428-431, 2006.
- 3) 澤本和延. 成体脳室下帯におけるニューロン新生のメカニズム. 小児の脳神経33: 27-29, 2008.
- 4) Sawamoto, K., et al., *New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain*. Science, 2006. 311 (5761): p. 629-32.
- 5) Guirao, B., et al., *Coupling between hydrodynamic forces and planar cell polarity orients mammalian motile cilia*. Nat Cell Biol, 2010. 12 (4): p. 341-50.
- 6) Mitchell, B., et al., *A positive feedback mechanism governs the polarity and motion of motile cilia*. Nature, 2007. 447 (7140): p.97-101.
- 7) Hirota, Y., et al., *Planar polarity of multiciliated ependymal cells involves the anterior migration of basal bodies regulated by non-muscle myosin II*. Development, 2010. 137(18): p. 3037-46.
- 8) Mirzadeh, Z., et al., *Cilia organize ependymal planar polarity*. J Neurosci, 2010. 30(7): p.2600-10.