氏　　名	島田裕子（しまだ ゆうこ）
学位(専攻分野)	博　士（生命科学）
学位記番号	生　博　第 58 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学研究科統合生命科学専攻
学位論文題目	平面内細胞極性形成における Frizzled の極性輸送と微小管ネットワークの解析
論文調査委員	（主査）教授 上村　匡　教授 竹市雅俊　教授 米原　伸

論文内容の要旨

多くの上皮細胞は，頂部基部軸に沿った極性の他に，それとは直交する平面に第 2 の軸に従った極性，平面内細胞極性（planar cell polarity, PCP）を発達させる。PCP は，組織全体で統一された非対称性の確立に寄与しており，細胞の機能発現に重要な役割を果たす。例えば，脊椎動物内耳の有毛細胞が作る不動毛は組織全体で一方向を向いており，この配向性が聴覚機能に必須である。

進化的に保存された PCP シグナル伝達経路は，主にショウジョウバエの翅毛形成を対象とした研究から明らかにされてきた。個々の翅表皮細胞は，細胞の遠位端（翅の先端に近い側）にアクチン線維を集合させて 1 本の翅毛を形成する。この翅毛形成に先行して，7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo（Fmi）が細胞の遠近軸方向の境界（PD 境界）に一過的に偏って分布することが，申請者が所属する研究グループによって示された。また，申請者自身も，細胞質因子 Dishevelled が Fmi と共局在することを明らかにし，両者の機能的な相互作用を解析した。その結果，これらの PCP 制御分子群の時空間的な局在様式が重要であることが強く示唆された。しかしながら，PCP 制御分子群の分布の偏りを生み出す細胞生物学的な分子基盤は全く不明であった。

そこで，本研究は，PCP 制御分子群の分布の偏りを生み出す機構を明らかにするために，7 回膜貫通型レセプター Frizzled（Fz）の挙動を生体内で経時観察する実験系を立ち上げた。緑色蛍光融合タンパク質 Fz::GFP を発現するトランスジェニック系統を用いて，その挙動を時間的空間的に追跡した結果，細胞質に存在する粒子状のシグナルが，主に遠位境界に向かって移動することを発見した。このことから，Fz は偏って輸送された結果，遠位境界にのみ局在することが示唆された。

Fz の極性輸送を担う細胞内装置を調べるために，電子顕微鏡を用いて翅の微細構造を解析したところ，PCP 制御分子群が濃縮するアドヘレンスジャンクションを含む平面において，多くの微小管が遠近軸に沿って配向していた。また，免疫電子顕微鏡法により，Fmi を含む小胞が，それらの微小管上またはそのごく近傍に存在する像を得た。そこで，薬剤処理法および遺伝子導入法により微小管構造を破壊したところ，Fz::GFP や Fmi は PD 境界に分布しなくなり，粒子状シグナルが遠位方向に移動する割合が著しく減少した。さらに一部の細胞では，*fz* や *fmi* 変異体と同様に，翅毛が細胞の中央で形成された。以上より，上皮平面の微小管ネットワークが PCP 制御分子の細胞内分布を制御することで，PCP 形成に貢献することが強く示唆された。

さらに，本研究に基づいて構築された数理モデルは，遠近軸方向における微小管の極性の非対称性がわずかであっても，Fz が遠位境界に選択的に輸送される仮説を支持した。このことは，Fz の極性輸送を駆動する仕組みが，個々の微小管の極性の偏りにまで遡ることができる可能性を提示する。以上の結果から，上皮平面において非対称性を生み出すメカニズムと，それを支える分子群の機能的な役割について議論する。

論文審査の結果の要旨

上皮細胞の形態形成過程において，頂部基部軸に沿った極性化はよく調べられているのに対して，それとは直交する平面内に発達する極性，平面内細胞極性の分子機構は未だ不明な点が多く残されている。ショウジョウバエの翅表皮細胞において，多くの極性制御分子群が遠近軸方向の細胞境界（PD 境界）に一過的に偏在することが知られているが，それらの分布の偏りを生み出すメカニズムについて，細胞生物学的な理解はほとんどなされていなかった。

申請者は，この問題にアプローチするため，蛹個体を用いた生体内経時観察方法を考案し，極性制御分子群の一つである7回膜貫通型レセプター Frizzled（Fz）の蛍光融合タンパク質 Fz::GFP のふるまいを解析した。細胞質に検出された粒状のシグナル，Fz::GFP particle は，同じ極性制御分子である Flamingo（Fmi）と共局在する一方，上皮の接着分子である *D*E-cadherin::GFP とはほとんど共局在しなかった。また，経時観察の結果，Fz::GFP particle が細胞の遠位境界に偏って移動することを見出した。このことから，*Fz* や *Fmi* は，*D*E-cadherin とは異なる小胞に選別されて，遠位境界に輸送される可能性が示唆された。

また，申請者は，電子顕微鏡を用いて上皮平面の微細構造を解析し，多くの微小管が遠近軸に沿って配向することを見出した。薬剤処理によって微小管構造を破壊したところ，Fz::GFP や Fmi は PD 境界に分布しなくなり，particle が遠位方向に移動する割合が著しく減少した。一部の細胞では，*fz* や *fmi* 変異体と同様に，翅毛が細胞の中央で形成された。以上より，遠近軸に沿った微小管ネットワークを介して Fz::GFP や Fmi の細胞内分布が調節されることが，平面内極性の形成に寄与することが強く示唆された。

最後に，申請者は，上皮平面の微小管の極性において，遠近軸方向に偏りがあることを支持する結果を得た。そこで，その微小管ネットワークの非対称性を介して，Fz が遠位境界に選択的に輸送される「Fz の極性輸送」仮説を提示した。

従来の研究のほとんどが固定試料を用いた光学顕微鏡レベルでの解析にとどまっているのに対して，本研究は，生体内経時観察や電子顕微鏡レベルの微細構造解析などの細胞生物学的アプローチと，遺伝学的アプローチとを総合して，極性制御分子を局在させる仕組みを追究した。本研究は，微小管ネットワークが Fz や Fmi の細胞内分布を制御することで PCP 形成に貢献することをはじめて示し，上皮平面において非対称性を生み出すメカニズムの研究に先鞭をつけた。

本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

平成18年1月23日，論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。