

YIA-3

Wnt シグナル関連分子 Dishevelled による上皮極性・形態形成制御機構についての解析

松本 真司^{1,2}、菊池 章¹、岡本 哲治²

(¹広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子細胞情報学研究室、

²広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 先進医療開発科学講座
分子口腔医学・顎顔面外科学)

Wnt シグナル経路は高等真核生物において種を越えて高度に保存されたシグナル伝達経路であり、細胞の増殖や分化、細胞運動や細胞極性など、多彩な細胞機能を制御している。Wnt シグナル経路の構成分子である Dishevelled (Dvl)は、ショウジョウバエやアフリカツメガエルを用いた遺伝学的・発生生物学的解析から、Wnt シグナルによる細胞極性制御に必須の分子であることが知られているが、その詳細な制御メカニズムはこれまでほとんど明らかになっていない。臓器形成の基盤となる個々の細胞の極性および形態形成は、生体内では広く認められるものの、培養皿上での二次元的な単層培養では再現することが困難であった。本研究では、細胞外基質内での三次元培養系を用いて、上皮細胞による頂基底極性を伴った管腔構造形成や分枝形態形成を *in vitro* で再現し、これを Dvl による極性制御メカニズムの解析に応用した。MDCK 細胞 (イヌ腎臓由来細胞株) は、マトリゲル内で三次元培養することで管腔を有する球状の小胞 (cyst) を形成することが知られている。このとき cyst を構成する上皮細胞は、管腔側に頂端面 (apical)、基質側に基底面 (basal) を向けた頂基底極性を形成する。また HPPL 細胞 (マウス肝前駆細胞株) は、hepatocyte growth factor (HGF) 存在下にコラーゲンゲル内で三次元培養すると分枝形態を形成する。上皮細胞による管腔形成や分枝形成は多くの器官発生において認められる重要な形態形成パターンの一つである。そこで siRNA を用いて Dvl を knockdown したところ、管腔形成における頂基底極性の配向異常と分枝形態形成の抑制を認めた。頂基底極性の決定には、細胞基質間接着の形成が重要である。そこで Dvl と接着班 (focal adhesion) 蛋白との相互作用を検討した結果、Dvl は focal adhesion kinase (FAK) と複合体を形成した。さらに Dvl の knockdown により細胞基質間接着活性が抑制され、focal adhesion のターンオーバーが阻害された。また分枝形態形成において枝状に伸長する細胞を観察したところ、伸長先端部に paxillin・FAK 等の focal adhesion 蛋白や、adenomatous polyposis coli (APC) が集積していた。APC は細胞の極性・形態形成に関与する微小管プラス端集積因子である。Dvl は細胞の伸長先端部においてこれらと共局在した。さらに Dvl の knockdown により APC の細胞辺縁部への集積が抑制された。これらの結果から Dvl は、focal adhesion や APC を介した細胞基質間接着、および細胞骨格制御を介して管腔形成や分枝形態形成に関与していることが示唆された。現在は、Dvl によるこれらの分子の局在および安定性制御のメカニズムについてさらなる解析を進めている。