

分野： 生命科学・医学系 キーワード： タイトジャンクション、LUZP1、アピカル収縮、神経管形成

神経管形成メカニズムの新規分子機構を明らかに 鍵は「タイトジャンクション」にあった！ ～上皮形態形成機構解明に光～

【研究成果のポイント】

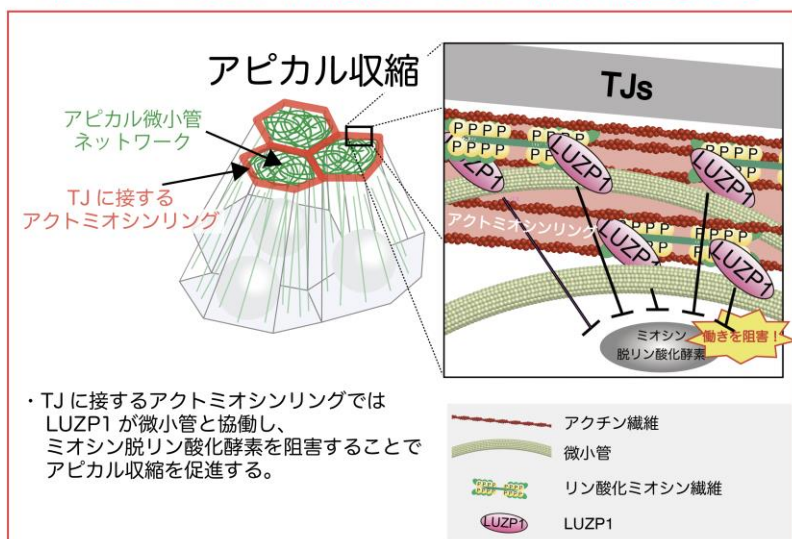
- ◆ 上皮細胞シートにおいて、上皮細胞のアピカル部（細胞の表面、頭頂付近）が収縮し上皮細胞の形態を変化させる、アピカル収縮^{*1}は神経管形成等、上皮形態形成に重要である。本研究ではその詳細新規メカニズムを発見した。
- ◆ 細胞接着の1つである密着結合（タイトジャンクション； TJ）^{*2}において微小管結合タンパク質である LUZP1^{*3}が、ミオシン脱リン酸化酵素を阻害することで、アピカル収縮を制御していることを見出した。
- ◆ アピカル収縮の TJ における LUZP1 を介した新規分子機構の解明は、神経管形成異常、消化管形成異常などの更なる病態解明、ひいては治療へと繋がることが期待される。

❖ 概要

神経管は上皮細胞シート^{*4}がアピカル収縮という機構で湾曲し、内腔へと陥入していくことで形成されます。神経管形成異常は無脳症や二分脊髄などの重篤な先天性の神経系奇形の原因として知られています。神経管形成のメカニズムの解明の重要性は言うまでもないですが、その中心的な役割を果たす上皮細胞におけるアピカル収縮の分子メカニズムは十分には解明されていませんでした。

今回、大阪大学大学院医学系研究科の矢野智樹助教、大学院生命機能研究科の月田和人特任研究員（京都大学大学院医学研究科臨床神経学）、田村淳特任准教授（帝京大学医学部准教授）、月田早智子特任教授（帝京大学戦略的イノベーション研究センター教授）らの研究グループは、微小管結合タンパク質 LUZP1 が細胞の密着結合、タイトジャンクション（TJ）に局在し上皮細胞においてアピカル収縮を制御していることを見出した（図）。TJ に局在する LUZP1 がアピカル収縮に重要なアクトミオシンリング（circumferential ring: CR）^{*5}の収縮について、ミオシン軽鎖の脱リン酸化活性を直接阻害することで、アピカル収縮阻害を起こすという、これまで認識されていなかった新規の分子機構の発見といえます。さらに、その阻害効果が微小管により増強されるという点も新しい所見として注目されます。将来的には神経管形成異常、消化管形成異常など広い病態の治療へ繋がっていくことが期待されます。

図. タイトジャンクションに局在する微小管と LUZP1 が協働しアピカル収縮が促進される



本研究成果は、欧州科学誌「The EMBO journal 誌」に2020年12月22日（火）午後8時（日本時間）に公開されました。



❖ 研究の背景

上皮細胞は、主に TJ と接着結合(アドヘレンスジャンクション; AJ)^{※6}が共同して AJC(apical junctional complex) として機能することにより、互いに側面で強く接着し、上皮細胞シートを形成します。個体はその発生過程において、2次元的に広がる上皮細胞シートが折り畳まれることで、3次元的な立体構造を構築します。典型的な例のひとつとして、神経管の形成があります。神経管は上皮細胞シートが湾曲し、内腔側に折れ曲がることにより管を作って上皮細胞シートから切り離されることで体腔内に形成されますが、この上皮細胞の湾曲を引き起こす原動力が上皮細胞シートのアピカル収縮による形態変化です。

上皮細胞のアピカル収縮は、脊椎動物においては、AJC に沿ってその細胞質側に形成された CR が収縮することにより引き起こされます。この CR の収縮には ROCK1 (Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1)^{※7}によるミオシン軽鎖のリン酸化が必須であることが知られていましたが、今回 TJ に局在する LUZP1 によるミオシン軽鎖の脱リン酸化阻害は全く新しい観点といえます。

❖ 研究の内容

研究グループは TJ に微小管が配行する意義に興味をもち、TJ に局在する微小管結合タンパク質の探索を行い、微小管結合タンパク質 LUZP1 を同定しました。そして、培養上皮細胞やマウス上皮組織において、LUZP1 が TJ に沿った CR に局在することを見出しました。次に研究グループは、LUZP1 遺伝子をノックアウト (KO)した培養上皮細胞を詳細に解析し、LUZP1 欠損細胞では、CR のミオシン軽鎖のリン酸化が著しく低下し、それによりアピカル収縮が顕著に阻害されていることを発見しました。さらに、その分子機構を詳細に解析し、LUZP1 が、リン酸化ミオシン軽鎖に強く結合して、脱リン酸化酵素の働きを抑えることを見出しました。その働きは LUZP1 が微小管に結合することでより増強されました。

これらの結果により、TJ に局在する LUZP1 は脱リン酸化酵素を阻害することで、CR のミオシン軽鎖の脱リン酸化を防ぐことがわかりました。それにより、ミオシン軽鎖のリン酸化レベルが保たれ、CR の収縮が促進されて、アピカル収縮が引き起こされると考えられます。

LUZP1 遺伝子欠損のマウスでは神経管形成異常を引き起こすと報告されており、**今回新たに発見された LUZP1 に基づくアピカル収縮の分子機構は、神経管形成異常にとどまらず、消化管形成異常などの更なる病態解明、ひいてはその治療法の開発へと繋がる**ことが期待されます。

❖ 本研究成果が社会に与える影響 (本研究成果の意義)

神経管形成異常によって無脳症、脳瘤、二分脊椎など先天性の重篤な神経系奇形が引き起こされますが、詳細な分子メカニズムは十分には明らかになっておらず、治療法も不十分です。今回、神経管形成の中心機構となる上皮細胞アピカル収縮の新規メカニズムの詳細な解明により、将来的には神経管形成異常の治療や消化管形成異常などの治療へと繋がっていくことが期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、欧州科学誌「EMBO journal 誌」に2020年12月22日(火)午後8時(日本時間)に公開されました。

タイトル: "A microtubule-LUZP1 association around tight junction promotes epithelial cell apical constriction"

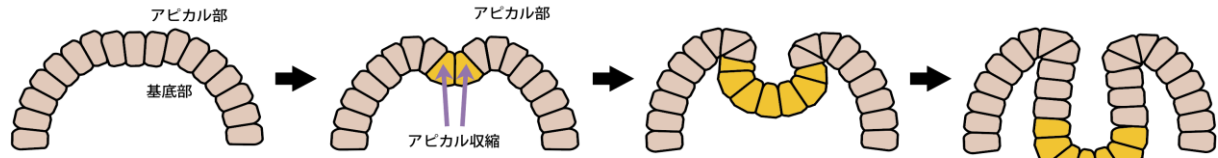
著者名: Tomoki Yano, Kazuto Tsukita, Hatsuho Kanoh, Shogo Nakayama, Tomoaki Mizuno, Hiroka Kashiwara, Hiroo Tanaka, Takeshi Matsui, Yuhei Goto, Akira Komatsubara, Kazuhiro Aoki, Ryoosuke Takahashi, Atsushi Tamura, and Sachiko Tsukita

本研究成果は、科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 CREST「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」(研究総括: 山本 雅 沖縄科学技術大学院大学 細胞シグナルユニット 教授) における「細胞間接着・骨格の秩序形成メカニズムの解明と上皮バリア操作技術の開発」(研究代表者: 月田 早智子 教授)、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費補助金特別推進「JP19H05468」(研究代表者: 月田 早智子 教授)、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費補助金若手研究「JP18K14696」(研究代表者: 矢野 智樹)、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費補助金基盤研究 B「JP16H05121」(研究代表者: 田村 淳) の一環として得られました。

❖ 用語説明

※ 1 アピカル収縮

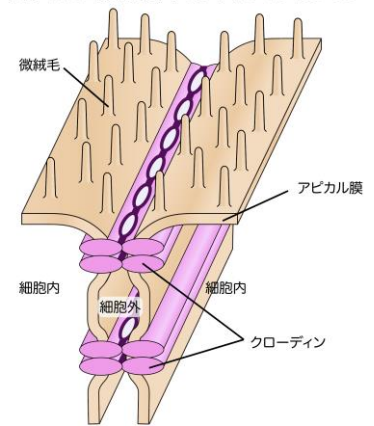
上皮細胞シートにおいて、上皮細胞のアピカル部が収縮し上皮細胞の形態を変化させる現象。上皮細胞シートが陥入する駆動力となる。神経管形成をはじめ、腸管形成にも関与している。



陥入
隣り合う上皮細胞間のタイトジャンクション

※ 2 密着結合 (タイトジャンクション; TJ)

膜タンパク質クローディンにより隣り合う上皮細胞の間隙の距離をほぼ0にするほど密着させる細胞間接着装置。上皮細胞のアピカル側に上皮細胞を囲むように帯状に配置している。TJ が形成されることで、上皮細胞シートは生体の外界と内界を隔てることが可能になり、これにより生体内の恒常性が保たれる。TJ が破綻すると生体内の恒常性が崩れ、様々な病態を引き起こすことが知られている。



※ 3 LUZP1

TJ に局在する微小管タンパク質として同定した。LUZP1 ノックアウトマウスでは神経管形成異常を呈する事が報告されていた。

※ 4 上皮細胞シート

上皮細胞は、主に TJ と接着結合 (アドヘレンスジャンクション; AJ) が共同して AJC (apical junctional complex) として機能することにより、互いに側面で強く接着し、(2次元に広がる) 上皮細胞シートを形成。

※ 5 アクトミオシンリング (circumferential ring: CR)

AJ と TJ からなる AJC と並行して配置されるアクチン繊維とミオシン繊維からなる構造体。AJC は AJ や TJ に局在するアクチン結合タンパク質を介して CR と相互作用している。

※ 6 接着結合 (アドヘレンスジャンクション; AJ)

膜タンパク質カドヘリンにより隣り合う上皮細胞を繋いでいる細胞間接着装置。TJ の直下に配置され、TJ と同様に上皮細胞を囲むように帯状に配置している。ただし、隣り合う上皮細胞の間隙として、20 nm 程の距離がある。

※ 7 ROCK1 (Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1)

低分子 GTPase である RhoA の下流で働くセリンスレオニンキナーゼである。ROCK1 がミオシン軽鎖をリン酸化する事でアクトミオシンが収縮する。

【研究者のコメント】 矢野 智樹 助教、月田 和人 特任研究員

神経管形成におけるアピカル収縮と細胞間接着との連関の研究には、歴史的に、ショウジョウバエがモデル動物としてよく用いられてきました。しかし、無脊椎動物であるショウジョウバエには TJ がありませんので、TJ についてはほとんど注目されていませんでした。今回 TJ がアピカル収縮の制御に重要であることが示されたことはアピカル収縮と細胞間接着研究にとって新しい展開であると考えています。また、TJ に結合する微小管の役割がはじめて明らかになったことも細胞生物学的新規性が高いと思われます。アピカル収縮を引き起こすために、TJ でミオシン軽鎖の脱リン酸化酵素が阻害されることは、細胞間バリアを形



帝京大学
Teikyo University



国立大学法人 大阪大学

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-1

TEL: 06-6877-5111 (代)

www.osaka-u.ac.jp

Press Release

成する TJ における CR の収縮力学制御の観点で非常に興味深いことと思います。この発見が、**神経管形成異常や消化管異常などの病態の解明や治療法の開発の一助になることを期待**いたします。

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関すること>

大阪大学 大学院生命機能研究科 特任教授／帝京大学 戦略的イノベーション研究センター 教授
月田 早智子（つきた さちこ）

TEL:06-6879-4633

E-mail:atsukita@biosci.med.osaka-u.ac.jp

<報道に関すること>

大阪大学 生命機能研究科 庶務係

TEL:06-6879-4692

E-mail:seimei-syomu@office.osaka-u.ac.jp

帝京大学 本部広報課（担当:板橋キャンパス広報担当者）

TEL:03-3964-4162

E-mail:kouhou@teikyo-u.ac.jp