

戦略的創造研究推進事業 CREST

研究領域「生物の発生・分化・再生」

研究課題「単一細胞レベルのパターン形成：

細胞極性の制御機構の解明」

研究終了報告書

研究期間 平成 12年 11月～平成 18 年 3月

研究代表者：上村 匡

(京都大学大学院生命科学研究科

細胞認識学分野、教授)

1 研究実施の概要

基本構想

発生において個々の細胞は外界からのシグナルなどを解釈し、細胞骨格を何度も再編成させて様々なベクトルの極性を発達させる。この単一細胞レベルのパターン (single-cell patterning) が正しく形成されてはじめて、誕生した器官に個体の行動や生存のために必要な巧妙な機能、例えば神経活動などが賦与される。しかしながら、多細胞系に属する細胞が、自分が置かれたフィールド内の位置情報をどのようにして読み取るのか、そしてどのような分子装置を駆動させて細胞骨格をある方向に偏らせるのか、多くの点がブラックボックスになっている。近年、先天性聴覚障害や、ニューロンの移動に障害を示す遺伝病の原因遺伝子の産物が、アクチン線維や微小管の動態を制御することが相次いで報告されている。細胞極性化の際に、細胞骨格の再編成を指令し実行する分子機構の全貌を明らかにできれば、まだ研究が進んでいない病気の原因あるいは遺伝病の原因遺伝子の解明への道が開けると期待できる。

本研究において注目している single-cell patterning/細胞極性化は、以下の3つに分けられる。

- (1) 神経系における細胞突起の伸長と分岐のパターン形成
- (2) ニューロンの運動に伴う極性変換のダイナミクス
- (3) 上皮細胞分化と平面内極性の獲得

本研究では、個体の中で single-cell patterning を追跡する手法を用いた。また、培養系を用いるとしても生体内の細胞極性化を再現し、そのプロセスを観察できるシステムを工夫して解析の方法としてきた。その上で、それぞれの細胞極性化の調節機構を、タンパク質の挙動の追跡を含む細胞内分子反応系の解析に踏み込むことを基本姿勢として研究した。以下にその成果を報告する。

研究成果

- (1) 神経系における細胞突起の伸長と分岐のパターン形成

ニューロンは高度に極性化された細胞であり、2種類の神経突起(樹状突起と軸索)を伸展させる。軸索は信号の出力を担う突起であり、一般的に長く伸長して標的細胞とシナプス結合を形成する。一方樹状突起はシナプス入力または感覚入力を受容するアンテナとして働き、軸索よりも短く、複雑に枝分かれする。

我々は以前に、ショウジョウバエをモデル生物とした研究から7回膜貫通型カドヘリン Flamingo

(Fmi) を発見していた。我々や他のグループは、Fmi が神経回路形成に重要な役割を果たすことを示していたが、その分子レベルでの作用機序は明らかではなかった。本研究において、まずほ乳類ホモログの機能アッセイ系を樹立し、ほ乳類においても7回膜貫通型カドヘリンが神経突起の伸長を制御することを示した(文献1)。さらに、少なくとも二つのほ乳類ホモログはGタンパク質と共役する受容体であり、分子間のホモフィリックな結合により活性化されること、そしてそれぞれ異なる様式で突起伸長を調節することを支持するデータを得た。これらの結果を総合して、生体内において神経突起が成長しつつ互いにコンタクトする際に、Fmiファミリーメンバーの分子間結合を介するシグナル伝達経路が、突起伸長を調節するモデルを提案した。また、Fmiは分子間で互いにホモフィリックに結合するだけでなく、未同定のリガンドとヘテロフィリックに結合して機能する局面があることが強く示唆され(文献2)、そのリガンドの候補分子を解析中である。

ニューロンはクラス毎に特徴的な樹状突起パターンを形作り、このパターンの多様性は、神経系が様々な情報を受容し処理するために不可欠であると考えられている。しかしクラス毎に特徴のあるパターンを規定する分子基盤はほとんど明らかになっていなかった。本研究では、ショウジョウバエの dendritic arborization (da) neuron をモデル系として、まず生体内において単一細胞の解像度で樹状突起を可視化できる系を樹立した。そして、転写調節因子群によるクラス選択的な突起パターンの調節機構が存在することや(文献3)、da neuron とその周囲の非神経細胞との間で、接着分子を介する相互作用が特定のクラスの突起形成に重要であることを明らかにした。それらの転写調節因子の標的遺伝子を探索する一方で、突起パターン形成に異常を示す突然変異体を分離し、責任遺伝子の同定を進めている。本研究を進めれば、特徴的な突起パターンを発達させるニューロンを、神経回路の中で適材適所に配置させる遺伝子プログラムの全体像に迫ることが期待できる。

神経突起だけでなく、グリア細胞の突起の発達も神経回路形成と機能に重要な役割を果たす。マウス小脳顆粒細胞で発現する遺伝子の探索から、新規 EGF 関連膜貫通分子 DNER (Delta/Notch-like EGF-related Receptor) を発見し、プルキンエ細胞-バークマングリア-顆粒細胞が細胞間相互作用を通じて互いに分化を制御し合い、小脳皮質層形成を制御していることを明らかにした(文献4)。この過程において、DNER は Notch のリガンドとして働く。生体内で Notch のリガンドを特定し、グリア突起形成における機能を証明したのは本研究が初めてである。

(2)ニューロンの運動に伴う極性変換のダイナミクス

脊椎動物の中樞神経系発達過程で、ニューロンは誕生部位からダイナミックに移動し、機能的に

相関する細胞と共に秩序正しく配列して、層構造や核を形成する。生体内のように複雑な構造の中を移動するニューロンを長時間追跡することは難しく、移動の分子機構については不明な点が多い。本研究では電気穿孔法を用いて、大脳皮質のニューロンあるいは小脳顆粒細胞を長時間追跡できる系を確立し、さらに移動を調節する候補分子の機能を追究する段階に至った。

大脳皮質発生過程においては、ロコモーションと細胞体トランスロケーションという2つの異なる移動様式が知られていたが、さらに第三の移動様式として多極性移動を発見した(文献5)。さらに、大脳皮質の主要構成要素である興奮性神経細胞が、多極性移動からロコモーションへと多段階的に移動様式を変化させることを明らかにした。興奮性神経細胞が多極性細胞の時期を経ることを発見したので、「これらの細胞がどのような外界の情報を受容して脳の表面側を認識し、移動するのか」、そして「ロコモーション細胞として移動を開始するときに、どのように細胞極性が確立し、先端突起を形成するのか」といった問題を提起することが出来るようになった。一方、小脳顆粒細胞はその誕生後に、90度の方向転換を挟む二相性の移動様式をとることが知られていた。本研究においてそれぞれの移動様式を解析した結果、移動ダイナミクスによりシグナル伝達経路が使い分けられており、Cdk5-p35シグナルが差次的に機能することが示唆された。

ニューロンの移動に異常が生じれば、精神遅延やてんかんなどを伴う神経疾患を引き起こす。今後も、細胞移動の継続・方向転換・終了のスイッチから、皮質各層への特異的・選択的配置、そして層形成に至る分子・細胞基盤を解明することを目標に研究を進めることで、これらの神経疾患の原因究明に迫ることが期待できる。

(3) 上皮細胞分化と平面内極性の獲得

上皮細胞は頂部側に微絨毛や接着結合を発達させ、また基側部側には接着斑を形成するなど、構造上または機能上顕著な極性を示す。脊椎動物細胞については上皮細胞株を用いた解析がすでに進められているが、本研究以前には、非上皮細胞が上皮細胞に分化する過程を観察することは出来なかった。本研究ではF9細胞を用いて、単層培養条件下でも、遺伝子発現、接着装置複合体の形成、そして頂端面形成など様々な点において上皮分化誘導が可能な実験系を立ち上げた(文献6)。そして、上皮細胞が形成されるときに細胞間接着機構が果たす役割について解析するために、

カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞を分離し解析している。この系を用いた研究は上皮由来のガン細胞に関する研究にもつながる。

多くの上皮細胞は、頂端部-基底部軸に沿った極性の他に、平面内の軸に従った極性(平面内細胞極性: planar cell polarity, PCP)を発達させる。我々はショウジョウバエの翅を用いた研究から、7

回膜貫通型カドヘリン Flamingo (Fmi) が、Frizzled (Fz) シグナル伝達経路の一つである non-canonical pathway の一員として働くことを、本研究の開始時点で明らかにしていた。さらに Fmi や Fz などの極性制御分子群の時空間的な局在様式が、PCP の獲得に重要であることを以前から提唱した。しかしながら、どのような仕組みで Fmi などの局在が調節されているのかは不明だった。生体内経時観察や電子顕微鏡などを用いた我々の解析は、Fmi や Fz を含む小胞が極性輸送される仮説を支持した。さらに Fz とは別の分子機構が、微小管の配向や極性を調節してその極性輸送を支えていることが強く示唆された(文献7)。PCP は様々な生物で見られる一般的な現象であり、脊椎動物内耳の有毛細胞や呼吸器系および輸卵管の上皮も PCP を獲得する。従って PCP の形成不全は様々な障害をもたらすことが予想される。本研究をさらに推進すれば、極性制御の中核的な分子作動機構を明らかにできることが期待される。

上皮細胞はアクチン線維を基本骨格とする微絨毛を頂端面に発達させる。ショウジョウバエの表皮細胞も類似の突起を形成する。我々はこの突起構造が異常になる突然変異体を分離し、原因遺伝子のクローニングを出発点として、アクチン細胞骨格系の再編成を調節する新規フォスファターゼ Slingshot (SSH) ファミリーを発見した。そして生体内から試験管内反応系までの全てのレベルにおいて、SSH は Actin depolymerizing factor (ADF)/コフィリンを基質とすることを明らかにした(文献8)。アクチンリモデリング研究の重要性は、細胞生物学から神経科学までの分野に益々広がりを見せており、SSH の発見とその活性調節機構の研究はその発展に貢献すると期待できる。

主な発表論文

1. Yasuyuki Shima, Mineko Kengaku, Tomoo Hirano, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Control of dendritic maintenance and growth by a mammalian 7-pass transmembrane cadherin, Celsr2. *Developmental Cell*, 7:205-216 (2004).
2. Hiroshi Kimura, Tadao Usui, Asako Tsubouchi, and Tadashi Uemura. Potential dual molecular interactions of the Drosophila 7-pass transmembrane cadherin Flamingo in dendritic morphogenesis. *Journal of Cell Science*, in press.
3. Kaoru Sugimura, Daisuke Satoh, Patricia Estes, Stephen Crews, and Tadashi Uemura. Development of morphological diversity of dendrites in Drosophila by the BTB-zinc finger protein Abrupt. *Neuron*, 43: 809-822 (2004).
4. Mototsugu Eiraku, Akira Tohgo, Katsuhiko Ono, Kazuto Fujishima, Megumi Kaneko, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. DNER acts as a neuron-specific Notch ligand during Bergmann glial

- development. *Nature Neurosci.* 8, 873-880, (2005).
5. Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. Multipolar migration: The third mode of radial neuronal migration in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.* 23, 9996-10001, (2003).
 6. Komiya, S., M. Shimizu, J. Ikenouchi, S. Yonemura, T. Matsui, Y. Fukunaga, H. Liu, F. Endo, S. Tsukita, and A. Nagafuchi. Apical membranes and junctional complex formation during simple epithelial cell differentiation of F9 cells. *Genes Cells.* 10:1065-1080 (2005).
 7. Yuko Shimada, Shigenobu Yonemura, Hiroyuki Okura, David Strutt, and Tadashi Uemura. Polarized transport of Frizzled along the planar microtubule arrays in *Drosophila* wing epithelium. *Developmental Cell*, in press (scheduled in 2006 Feb. 7 issue).
 8. Ryusuke Niwa, Kyoko Nagata-Ohashi, Masatoshi Takeichi, Kensaku Mizuno, and Tadashi Uemura. Control of actin reorganization by Slingshot, a novel family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin. *Cell*, 108: 233-246 (2002).

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

京都大学ウイルス研究所(現・京都大学大学院生命科学研究科) 上村グループ

上皮平面内極性の形成機構

7回膜貫通型カドヘリンファミリーの神経突起形成における役割

樹状突起分岐の複雑度や受容野のサイズを調節する分子機構

アクチン細胞骨格系の再編成を調節する新規フォスファターゼファミリーの解析

京都大学大学院理学研究科(現・理化学研究所脳科学総合研究センター) 見学グループ

マウス小脳顆粒細胞の移動極性を調節する内在性因子の探索

小脳顆粒細胞二相性移動の分子・細胞機構

神経系細胞の形態分化を制御する新規細胞間シグナル DNER の同定

中枢神経系ニューロンに発現する Septin3 の機能解析

東京慈恵会医科大学(現・慶応義塾大学解剖教室) 田畑グループ

大脳皮質発生過程における神経細胞移動の解析

子宮内電気穿孔法の開発

多極性移動の同定

reelin シグナル欠損マウスにおける移動異常の観察

抑制性神経細胞の移動様式

熊本大学発生医学研究センター 永渕グループ

上皮細胞分化と頂端部-基底部軸に沿った極性形成の分子機構

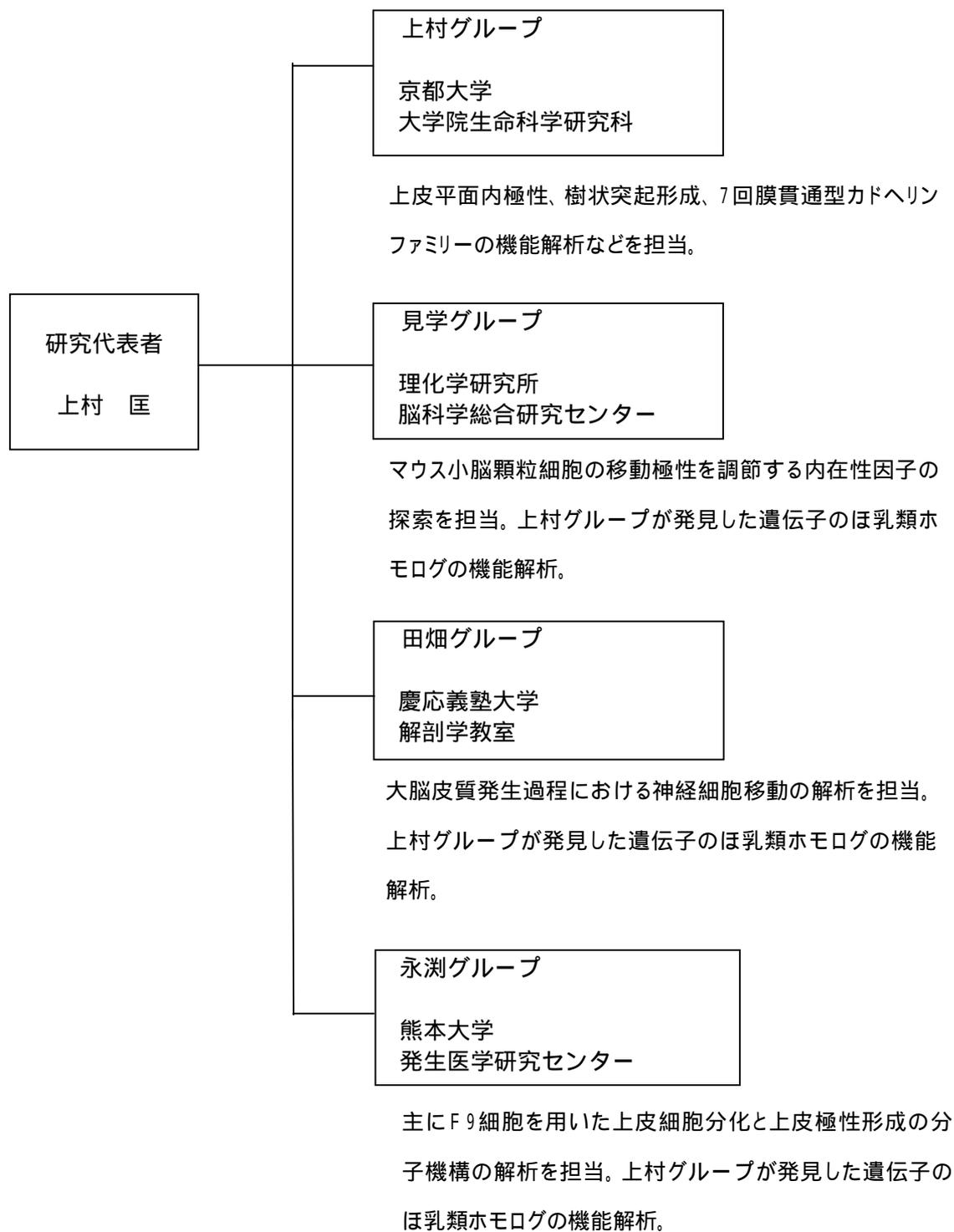
F9細胞の上皮分化条件の最適化

カテニン・プラコグロビンのF9細胞における遺伝子破壊

上皮分化における遺伝子発現プロファイルの解析

上皮極性形成機構の解析

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

「2(1)研究構想」の項目に沿って説明する。

3.1 上皮平面内極性の形成機構(京都大学 上村グループ)

(1)研究実施内容及び成果

平面内極性の形成において、7回膜貫通型カドヘリン Flamingo (Fmi) の時空間的な局在様式が重要であることを我々は以前から提唱していた。ショウジョウバエの翅表皮をモデル系とした研究から、Fmi は翅毛形成に先行して遠近軸方向の境界(PD 境界)に一過的に局在すること、また頂端部-基底部軸に沿って観察すると、頂端部に近いアドヘレンスジャンクションに分布していること明らかにした(図1)。我々が Fmi に関する最初の論文を発表した後、Frizzled (Fz) をはじめとして多くの極性制御タンパク質について、Fmi の細胞内分布と共通する局在様式が他のグループから報告された(Uemura and Shimada, 2003)。我々自身も、Dishevelled (Dsh) の細胞内分布を明らかにした(Shimada et al. 2001)。しかしながら、Fz や Fmi などが、どのような仕組みで PD 境界に局在するのか全く不明であった。例えば Fz は PD 境界に向かって選択的に輸送されるのか(極性輸送モデル)、あるいは輸送に方向性はなく PD 境界に達した Fz のみが細胞膜に安定に存在するのか。それとも、どの境界であれいったん細胞膜に挿入された後、PD 境界に向かって膜上を移動していくのだろうか。我々は生体内経時観察や電子顕微鏡を用いた解析などを総合して、この問題に取り組んだ。

関連論文:

Yuko Shimada, Tadao Usui, Shinichi Yanagawa, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Asymmetric colocalization of Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin, and Dishevelled in planar cell polarization. *Current Biology* 11: 859-63 (2001).

Tadashi Uemura and Yuko Shimada. Breaking cellular symmetry along planar axes in Drosophila and vertebrates. *Journal of Biochemistry (Tokyo)*. 134:625-30 (2003).

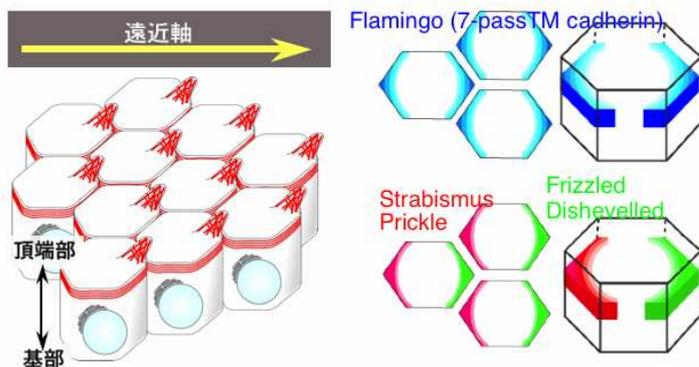


図1
ショウジョウバエ翅の表皮細胞の模式図
(左)と、平面内極性を調節する分子群
の細胞内局在(右)
翅の表皮細胞は、遠位側の細胞端で
アクチン線維を集合させて翅毛をつくる。

主要な発表論文：

Yuko Shimada, Shigenobu Yonemura, Hiroyuki Okura, David Strutt, and Tadashi Uemura. Polarized transport of Frizzled along the planar microtubule arrays in *Drosophila* wing epithelium. *Developmental Cell*, in press (scheduled in 2006 Feb. 7 issue).

我々はまず、Fz::GFP を発現するトランスジェニック系統を用いた、生体内経時観察の系を立ち上げた。観察の結果、細胞質に存在する粒子状の Fz::GFP シグナルが、翅毛形成に先行して遠位側細胞境界に向かって動く傾向を発見した。二重染色や免疫電子顕微鏡法を用いた解析から、このシグナルは Fz::GFP と Fmi を含む小胞（以下 Fz-Fmi 小胞と記す）であることが示され、DE-cadherin は含まれないことがわかった（DE-cadherin はショウジョウバエの上皮型カドヘリンで、PD 境界に限らずどの境界にも存在するアドヘレンスジャンクションに分布する）。翅の微細構造を解析したところ、アドヘレンスジャンクションを含む平面に多数の微小管が存在し、しかも遠近軸に沿って配向していた（図2）。また Fz-Fmi 小胞は、これらの微小管に結合あるいは近接して分布していた。微小管を標的とする薬剤で処理したところ、Fz::GFP や Fmi が PD 境界に分布しなくなり、より発生後期においては、細胞の遠位側の先端ではなくほぼ中央から翅毛が生えた。この表現型は、*fz* や *fmi* 変異体の表現型と酷似していた。以上の結果は、Fz-Fmi 小胞が微小管に沿って細胞境界に輸送される極性輸送モデルを支持している（図3）。

では、なぜ Fz-Fmi 小胞は近位側ではなく、遠位側の細胞境界に輸送されるのだろうか。我々は個々の微小管のプラス端が、近位側と遠位側のどちらを向いているのか検討する目的で、微小管の伸長端（プラス端）を可視化した。その結果、プラス端が遠位側を向いている微小管の方が、近位側を向く微小管よりも多いことが統計的な解析により支持された。

世界的に見てほとんどの研究が固定した試料での解析にとどまっている。その中で本研究は、生

体内経時観察や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を総合して、極性制御タンパク質を局在させる仕組みを解明しようとした。(2)に述べるように、本研究は平面内極性の研究に新たな切り口を与え、我々自身がその先駆的な研究を発展させている。

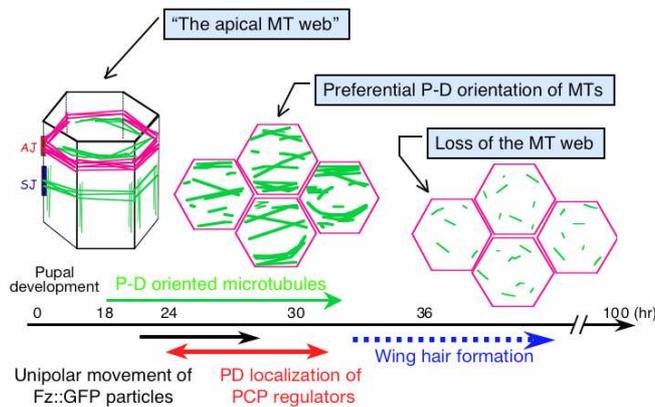


図2 ショウジョウバエ翅の表皮細胞における微小管のダイナミクス

横軸は蛹の発生の時間軸を示す。微小管を緑色の線で、cortical actin をマゼンダで表している。AJ: adherens junction; SJ: septate junction; P-D: proximal-distal.

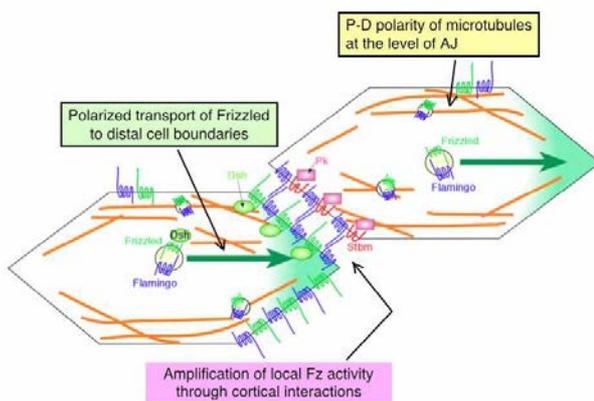


図3 Fz-Fmi 小胞の極性輸送

Fz や Fmi などを含む小胞が、微小管(オレンジの線)に沿って遠位側の細胞境界に輸送される模式図。Fmi はホモフィリックな分子間結合能を持つので、遠位側の細胞境界に到着すると、対面(隣接する細胞の近位側の境界)にも Fmi が集積する。

(2)研究成果の今後期待される効果

個々の細胞が、自分が置かれた平面内での位置情報をどのようにして読み取るのか?この基本問題を解明するために、次に明らかにすべき3つの課題が示された。1)翅の遠近軸に沿って微小管を配向させる仕組みは何か。2)遠近軸に沿った微小管極性のわずかな偏りが、Fz-Fmi 小胞の極性輸送を支えているのか。もしそうならそのわずかな偏りを生じさせる機構は何か。そして 3)Fz-Fmi 小胞の極性輸送を担うモーターの実体は何か。

現在、Fz や Fmi よりも上位で働くと考えられている、非典型的カドヘリン群(Fat と Dachous)を介する細胞間コミュニケーションが、微小管の配向や極性を調節する可能性を検討している。また、数理的な解析方法を導入し、微小管極性の非対称性がわずかであっても、Fz は遠位側細胞境界に選択的に輸送されることを支持する結果を得ている。さらに、この数理的な解析結果から、輸送を

担うモータータンパク質の processivity (微小管に結合してから解離するまでに進む平均進行距離)が低いほど、あるいは Fz-Fmi 小胞に結合しているプラス端あるいはマイナス端に向かうモータータンパク質群の作用が拮抗しているほど、Fz は遠位側細胞境界に運ばれる可能性が高まることが予測された(未発表データ)。この予測と、遺伝学的手法あるいはプロテオミクスによるモータータンパク質の探索を総合して、研究を進めている。

本研究を発展させて上記の問いを解くことができれば、平面内極性の欠陥が原因で生じる障害を、分子レベルで解明できる可能性がある。ヒトを含む脊椎動物の気管支や輸卵管の上皮では、個々の上皮細胞が運動性をもった繊毛を保持している。この繊毛が協調的に一方向性に往復運動をすることで、気管支では内腔に入り込んだ異物を咽頭側へのみ移動させ排出するし、輸卵管では卵子を輸送する駆動力を提供している。また身体の左右非対称性の形成においても、平面内極性の獲得を欠かすことができない。左右非対称性の形成には、ノードに生えている繊毛 (nodal cilia) が生む流れ (nodal flow) が重要な役割を果たす。最近、この繊毛は細胞の頂端部面において身体の後部に偏った位置から生えていることが報告され、ノード細胞が獲得するこの平面内極性が、nodal flow を生むのに重要な役割を果たすことが提唱された。以上の平面内極性に欠陥が生じれば、気管支炎、不妊、そして左右非対称性の異常につながる事が予想される。極性制御の中核的な分子作動機構は、種や器官の違いを超えて保存されていると期待しており、我々自身の極性輸送モデルを出発点としてその解明を目指す。

3.2 7回膜貫通型カドヘリンファミリーの神経突起形成における役割の解析(京都大学 上村グループ)

(1)研究実施内容及び成果

我々は Flamingo(Fmi)の平面内極性における役割を報告する一方で、Fmi が軸索の投射パターンと樹状突起の伸長を調節することを明らかにした (Senti et al. 2003; Reuter et al. 2003)。3.1で述べたように平面内極性においては、Fmi は Fz シグナル伝達経路の一員として働く。一方、軸索および樹状突起における機能は、意外なことに Fz シグナル伝達経路とは異なる経路に属することが示唆されたが (Senti et al. 2003)、ほとんどの研究は変異体の表現型の記述に留まっており、分子レベルでは解析されていなかった。この問題に取り組むために、ショウジョウバエを用いた遺伝学的アプローチに加えて、Fmi のほ乳類ホモログの神経細胞における機能解析系も併用して研究した。

関連論文:

Kirsten-André Senti, Tadao Usui, Urs Greber, Tadashi Uemura[#], and Barry J. Dickson[#]. Flamingo regulates R8 axon-axon and axon-target interactions in the *Drosophila* visual system. *Current Biology* 13:828-832 (2003). [#]: corresponding authors.

John E. Reuter, Timothy M. Nardine, Andrea Penton, Pierre Billuart, Ethan K. Scott, Tadao Usui, Tadashi Uemura, and Liqun Luo. A mosaic genetic screen for genes necessary for *Drosophila* mushroom body neuronal morphogenesis. *Development*, 130: 1203-1213 (2003).

主要な論文1:

Yasuyuki Shima, Mineko Kengaku, Tomoo Hirano, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Control of dendritic maintenance and growth by a mammalian 7-pass transmembrane cadherin, *Celsr2*. *Developmental Cell*, 7:205-216 (2004).

7回膜貫通型カドヘリンは進化的に高度に保存されており、ヒトを含めたほ乳類のゲノムには *Celsr1-Celsr3* (*Celsr*: cadherin, EGF-like, LAG-like, and seven-pass receptor) の3つの遺伝子が存在する。我々はマウスにおいて *Celsr1-Celsr3* のそれぞれが、神経発生において特徴的な発現パターンを示すこと、そして *Celsr2* タンパク質が神経突起に分布することを明らかにした (Shima et al. 2002)。

Celsr2 の樹状突起パターン形成における役割を解析するために、*Celsr2* の発現を RNA 干渉を利用してノックダウンさせた。効果的な干渉 RNA (siRNA: small interfering RNA) を発現するプラスミドを、EGFP 発現プラスミドとともに、遺伝子銃を用いてラット脳のスライスに導入した。siRNA の発現により、プルキンエ細胞や錐体細胞では樹状突起の形態が顕著に単純化した。この表現型は、少なくともプルキンエ細胞に関しては突起の縮退が原因であることが強く示唆された。また、siRNA 発現プラスミドとともに、siRNA に非感受的な *Celsr2* cDNA の発現プラスミドを共導入することによって、表現型を復帰させることができた。従って siRNA 発現プラスミドによる効果は *Celsr2* の機能喪失によるものであることが示された。ノックダウン表現型を復帰させるアッセイを利用して、*Celsr2* のドメインと機能の関係を検討したところ、*Celsr2-Celsr2* 間のホモフィリックな結合を担うカドヘリンリピートが、レスキュー能に欠かせないことがわかった。この結果は、樹状突起-樹状突起あるいは樹状突起-軸索間における *Celsr2* を介する相互作用が、樹状突起の維持または成長に必須であることを示す (図4)。

本研究において、ほ乳類の7回膜貫通型カドヘリンの分子機能をはじめ解析したのみならず、RNAi を利用した研究例の中で、最も厳密な基準を適用した。即ち、ノックダウン表現型が siRNA の発現による非特異的な副作用の結果ではなく、*Celsr2*の機能喪失であることを証明した。この報告で用いた RNAi による遺伝子発現ノックダウン法は、個体レベルでの遺伝子ノックアウト法よりも簡便に行うことができ、かつ発生のより後期での細胞自律的な遺伝子機能を単一細胞のレベルで明らかにできる。従って、個体レベルでの遺伝子ノックアウト法と相補的なアプローチとして、様々な遺伝子の機能解析に利用可能である。

本研究において作製したノックダウンプラスミドを、電気穿孔法により子宮内胎仔大脳皮質で移動中の神経細胞に導入したところ、移動終了後の神経細胞の樹状突起形態が単純化する傾向が観察された(慶応義塾大学田畑チームとの共同研究)。従って生体内でのノックダウン表現型が、脳スライスを用いて得られた結果と一致することが示された。田畑チームとは、他の遺伝子の *in vivo* ノックダウンの試みにおいても共同研究している(後述)。また、7回膜貫通型カドヘリンのほ乳類ホモログの機能解析系の選定については、見学チーム(当時京都大学大学院理学研究科)との共同研究において進めた。当初、見学チームが得意とする小脳顆粒細胞の組織片培養系の利用も検討したが、顆粒細胞内での *Celsr2* の分布を明らかにできないなどの理由から、脳スライス培養系をアッセイ系に選んだ。

関連論文:

Yasuyuki Shima, Neal G. Copeland, Debra J. Gilbert, Nancy A. Jenkins, Osamu Chisaka, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Differential Expression of the Seven-pass Transmembrane Cadherin Genes *Celsr1-3* and Distribution of the *Celsr2* Protein during Mouse Development. *Developmental Dynamics*, 223: 321-332 (2002).

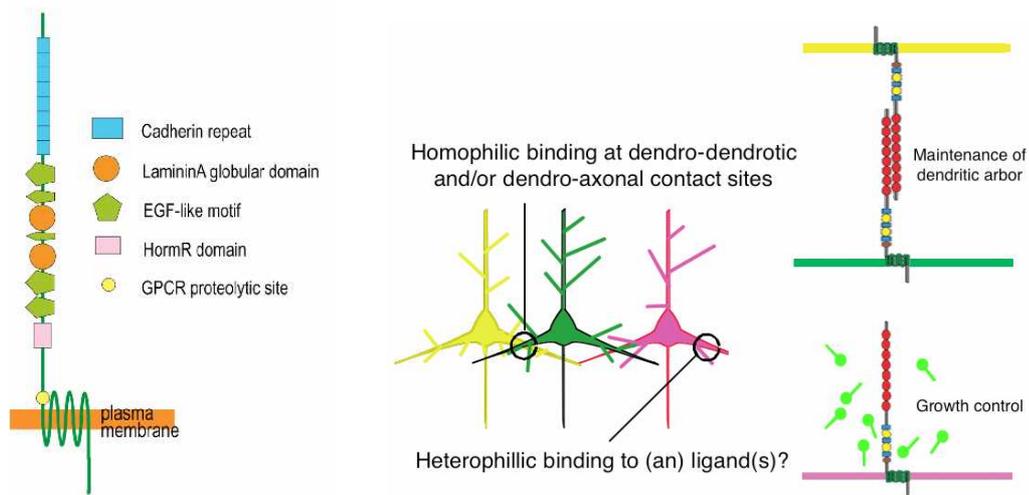


図4 7回膜貫通型カドヘリンのドメイン構造(左)と、神経突起の伸長調節における役割のモデル図(右) 神経突起同士が接する面において、7回膜貫通型カドヘリン間ホモフィリックな結合は、突起の維持または成長に重要な役割を果たす(右上段)。一方、リガンドとのヘテロフィリックな結合によっても突起の伸長は調節される(右下段)。

主要な論文 2:

Yasuyuki Shima, Keisuke Sehara, Manabu Nakayama, Shinya Kawaguchi, Hoshino Mikio, Yoichi Nabeshima, Tomoo Hirano, and Tadashi Uemura Opposing roles in neurite growth control by two 7-pass transmembrane cadherins. 投稿中。

3つのほ乳類7回膜貫通型カドヘリン遺伝子 (*Celsr1-Celsr3*) のうち、*Celsr2*と *Celsr3* は胚期および生後間もない神経細胞で発現している。*Celsr2* と *Celsr3* の機能を、上述した RNAi 法による発現抑制、そして *Celsr2* あるいは *Celsr3* を発現する細胞株との共培養の系において検討した。その結果、いずれの系においても *Celsr2* は突起成長を促進するのに対して、*Celsr3* は抑制する事が示された。改変分子を用いた解析により、両者の機能の差は、7回膜貫通型領域内の1アミノ酸の違いに依存している事が示唆された。それぞれの細胞外カドヘリンリピート領域 (*Celsr2*[EC]、*Celsr3*[EC]) を組換えタンパク質として調製し、分散培養神経細胞の培地に添加したところ、いずれについても細胞内カルシウム濃度を上昇させた。この結果は、7回膜貫通型カドヘリンが G タンパク質と共役することをはじめて実験的に示すものである。また、*Celsr2*[EC] と *Celsr3*[EC] のいずれを

加えても、神経細胞からフィロポディアの伸展が観察できた。ただし、Celsr2[EC] は Celsr3[EC]より大きな細胞内カルシウム濃度の増大を引き起こし、より低い濃度で神経突起の伸長を促進する傾向があった。Celsr2とCelsr3のそれぞれを介して、突起伸長調節を担う細胞内反応系を調べたところ、それらは異なった活性化しきい値を持つカルシウム依存性酵素に依存していることが示唆された。これらの結果から、Celsr2とCelsr3はGタンパク共役型受容体として活性に差があり、その差によって突起成長を異なる様式で制御する仮説を提案する。生体内において神経突起が成長しつつ互いにコンタクトする際に、Celsr2とCelsr3はそれぞれのホモフィリックな結合により活性化され、カルシウムシグナリングを介して、突起成長を伸長あるいは抑制するのではないかと。

主要な論文3:

Hiroshi Kimura, Tadao Usui, Asako Tsubouchi, and Tadashi Uemura. Potential dual molecular interactions of the Drosophila 7-pass transmembrane cadherin Flamingo in dendritic morphogenesis. *Journal of Cell Science*, in press.

ショウジョウバエの dendritic arborization (da) neuron を解析系として用い、樹状突起の形態形成に重要な役割を担う Fmi の機能ドメインを探索した。da neuron の樹状突起は、胚期から幼虫期にかけて、表皮細胞の基底部側表面を二次元的に展開させる(図5)。fmi 変異胚においては、その樹状突起は背側へ過剰に伸長してしまう。この過剰伸長の表現型は、Fmi 全長分子を神経細胞でのみ発現させることで回復した。興味深いことに、ホモフィリックな分子間結合に必要なカドヘリンリピートを欠失した分子を、神経細胞で発現させた場合でも表現型は部分的に回復した。これらの解析やほ乳類 Fmi ホモログのドメイン解析に基づくデータ (Shima et al., 2004) を総合すると、突起の伸長制御において、Fmi はホモフィリックに結合する接着分子として機能するだけでなく、未同定のリガンドのレセプターとして機能している局面があることが強く示唆された(図4)。

この仮想上のリガンドを同定するために、7回膜貫通型カドヘリンの細胞外領域の一部からなる「レセプタープローブ」を作製し、それを用いた発現スクリーニングを行った。現在までに3種類の分泌性タンパク質を単離し、それぞれの突起伸長に与える影響を調べている。また、構造-機能解析の結果を踏まえ、Fmi の下流のシグナル伝達経路をさらに明らかにする目的で、カルボキシル末端側の細胞質領域と結合する分子を探索した。現在候補分子について機能解析を進めている(未発表データ)。

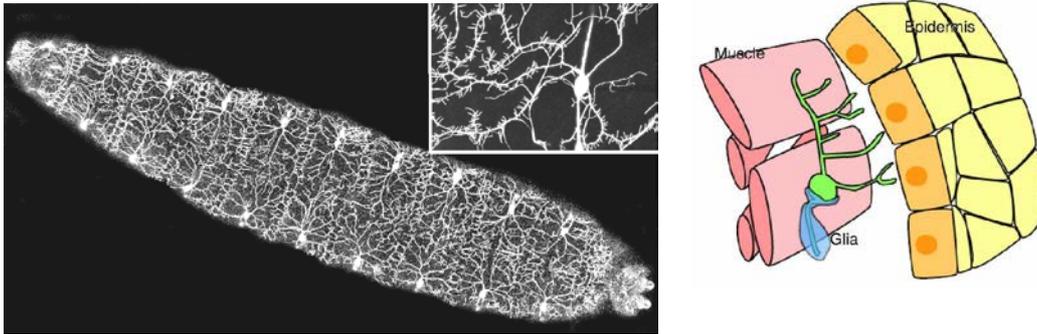


図5 da neuron で GFP を発現するトランスジェニックフライ(左)と、da neuron の空間配置の模式図(右)

第3 齢幼虫のホールマウント写真と単一細胞の拡大写真の例(左側の枠内)。da neuron (右側の緑色の細胞)は表皮細胞と筋肉に挟まれた空間に存在し、その樹状突起を二次元的に展開させる。軸索はグリア細胞に包まれている。

(2)研究成果の今後期待される効果

機能的な神経回路の形成には、神経突起(軸索と樹状突起)の伸長/縮退のダイナミクスが適切に調節されることが必要である。突起が稠密な中枢神経系では、神経細胞同士の相互作用が神経突起成長の調節に大きな役割を果たしていると考えられる。すでに Notch とそのリガンドとの結合などが、突起の伸長を調節する上で重要な役割を果たすことが明らかにされている。本研究では7回膜貫通型カドヘリンファミリーに注目し、従来は変異体の表現型を記述するレベルにとどまっていた研究から、分子レベルでの解析に踏み込んだ。

本研究では神経細胞の初代培養系を用いて、7回膜貫通型カドヘリンが G タンパク質と共役することを支持するデータを得た。Fmi/Celsr を介するシグナリングが、細胞骨格系をどのように調節するか、またそのシグナルが核に到達して遺伝子発現の変動をもたらす可能性があるのかどうかを解析するには、それらの分子を細胞膜上に発現する細胞株があればアッセイが容易になり、さらに研究が進展すると期待できる。しかし培養細胞で Fmi/Celsr を発現させても細胞表面には分布しないらしく、初代培養系を用いた実験のように細胞内カルシウム濃度の上昇を検出できていない。G タンパク質と共役するレセプターの一部については、細胞膜への分布を促進させるアクセサリータンパク質が報告されている。従ってこれらのアクセサリータンパク質との共発現により、細胞表面に分布する7回膜貫通型カドヘリンの分子数を増やせないかを検討している。また、細胞膜貫通ドメインを含む

Fmi 断片と相互作用する分子の単離を開始しており、その中に目的にかなうアクセサリータンパク質がないかを調べる予定である。以上のように、細胞外、細胞膜内、そして細胞内のそれぞれの空間で Fmi/Celsr と相互作用する分子の解析を進めれば、7回膜貫通型カドヘリンが支える神経回路形成の分子機構をさらに深めることができるであろう。

ほ乳類においては、Celsr2 と Celsr3 が異なる様式で神経突起成長を制御する仮説を立てた。神経回路形成の時間軸に沿って、両者による制御機構が使い分けられているのではないかと推測しており、この仮説は動物個体を用いた時期特異的な遺伝子ノックアウト法を用いて検証する必要がある。

3.3 樹状突起のパターン形成:分岐の複雑度、伸長方向、分岐点の配置や受容野のサイズを調節する分子機構(京都大学 上村グループ)

(1)研究実施内容及び成果

神経細胞は高度に極性化された細胞であり、2種類の突起(樹状突起と軸索)を伸展させる。樹状突起はシナプス入力または感覚入力を受容するアンテナとして働き、一般的に軸索よりも短くはるかに複雑に枝分かれする。ニューロンはクラスごとに特徴的な樹状突起パターンを発達させるが、その驚くばかりの多様性がどのように調節されているかは未解決の問題である。軸索はニューロンのクラス間で形態上の差異が小さいため、多数の軸索を集団として扱う実験系を用いて研究が発展してきた。クラス毎に形状が大きく異なり、狭い空間内で複雑に分岐する樹状突起のパターン形成を研究するには、一細胞の解像度で、しかも再現性よく同じクラスのニューロンを可視化する必要がある。そこで我々は、以下に述べるように、ショウジョウバエの dendritic arborization (da) neuron をモデルとして、個体を生かしたまま樹状突起を一細胞レベルで観察できる系を作り上げた。

主要な論文1:

Kaoru Sugimura, Daisuke Satoh, Patricia Estes, Stephen Crews, and Tadashi Uemura. Development of morphological diversity of dendrites in Drosophila by the BTB-zinc finger protein Abrupt. *Neuron*, 43: 809-822 (2004).

da neuron は、分岐の複雑度と樹状突起がおおう領域(受容野)のサイズの順に応じてクラス

IV に分類されており、樹状突起形態の多様性を解析する上で優れたモデル系を提供する (Sugimura et al. 2003; 図5と図6)。クラス I ニューロンとは対照的に、クラス IV ニューロンは幼虫期を通してより高次の分岐を展開し続ける。また、レーザーを用いて突起を切断すると、同じクラス IV ニューロンの他の枝や、隣接するクラス IV ニューロンの枝が、切断された突起が占めていた受容野を素早く埋める応答を示す。

各クラスに特徴的な突起形態を発達させる仕組みを明らかにする目的で、特定のクラスに選択的に発現する遺伝子を探索した。その結果、Zinc finger を持つ転写調節因子 Abrupt(Ab) が、クラス I ニューロンに特異的に発現していることを見出した(神経前駆細胞での発現レベルは低く検出は困難だった)。他のクラスに属するニューロンにおいて、そのニューロンが誕生した後に Ab を強制発現させると、その細胞はクラス I のように分岐の複雑度が低く、かつ受容野の狭い樹状突起を形成させた。クラス IV ニューロンに発現させた場合には、レーザーによる突起切断に対する応答も失われた。対照的に、*ab* 機能喪失変異により、クラス I ニューロンは正常よりも複雑に分岐する突起を形成した。以上の結果から Ab は、(神経前駆細胞のレベルでクラス特異性を決定するのではなく、ニューロンが生まれた後で)クラス I に特徴的な樹状突起パターンを直接制御する可能性が支持された (Sugimura et al. 2004)。

Ab とは対照的に、クラス IV ニューロンで選択的に発現する転写調節因子 Knot (Kn) を見出した。Kn をクラス I ニューロンで強制的に発現させると、その樹状突起は正常細胞に比べはるかに複雑に分岐した。よって Kn の発現はクラス IV に特徴的な突起パターンの形成を賦与するらしい(未発表データ)。以上の結果から、転写調節因子群によるクラス選択的な突起パターンの形成機構が存在することが示された(図7)。Ab や Kn に対して、ホメオドメインを持つ Cut (Ct) はクラス III での発現が最も高く、そのクラスに特徴的な突起形態の獲得に必要なかつ十分であることが他のグループにより示されていた。Ct や Kn についてはほ乳類のホモログが報告されており、我々は Ab のほ乳類ホモログの候補を絞り込んでいる。それらの転写調節因子群が、ほ乳類神経系においても樹状突起形態の多様性を調節するのか興味を持たれる。

関連論文:

Kaoru Sugimura, Misato Yamamoto, Ryusuke Niwa, Daisuke H. Sato, Satoshi Goto, Misako Taniguchi, Shigeo Hayashi, and Tadashi Uemura. Distinct developmental modes and lesion-induced reactions of dendrites of two classes of *Drosophila* sensory neurons. *J. Neuroscience* 23:3752-3760 (2003).

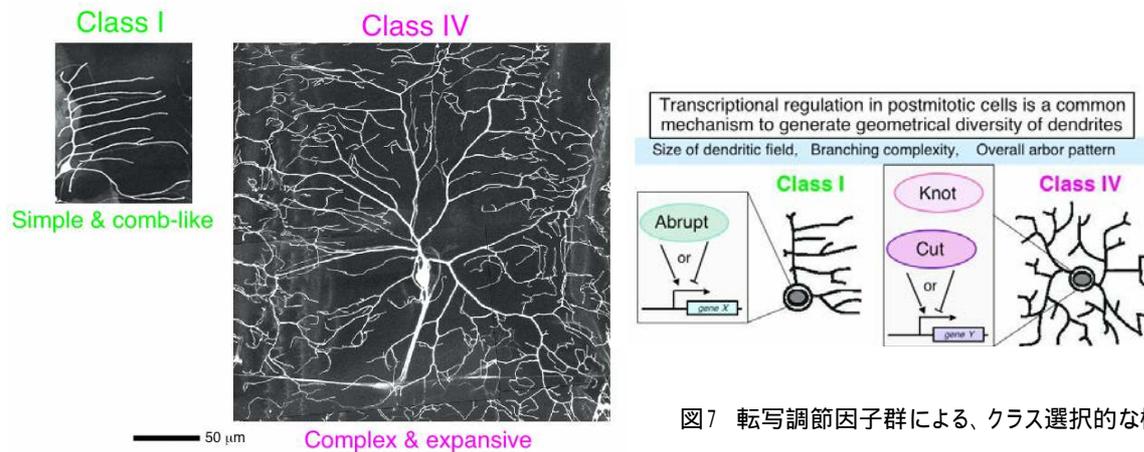


図6 クラス I とクラス IV に属する da neuron の例

図7 転写調節因子群による、クラス選択的な樹状突起パターン形成機構の概念図

主要な論文2:

Misato Yamamoto, Ryu Ueda, Kuniaki Takahashi, Kaoru Saigo, and Tadashi Uemura. Neuron, glia, and epidermal cells: tricellular regulation of neuronal morphology through an immunoglobulin superfamily molecule Neuroglian. 投稿準備中。

樹状突起のパターン形成を含めて、神経細胞の形態形成における細胞間認識の役割を解明することを狙い、da neuron で発現している細胞膜タンパク質を探索した。その結果、Ig super family の中でも L1 family に属する Neuroglian (Nrg) に注目した。Nrg は胚期や終齢幼虫期において da neuron の樹状突起や軸索だけでなく、表皮細胞と da neuron の軸索束を包むグリア細胞にも発現していた。

*nrg*突然変異胚では、クラス I ニューロンが選択的に、樹状突起パターンの異常と軸索からの異所的な分岐形成を示した。樹状突起パターンの表現型は、具体的には二次枝の本数の減少や一次枝との伸長角度の異常などである。野生型胚ではクラス I ニューロンの樹状突起末端は、Nrg が局在する表皮細胞境界に沿うように位置するが、*nrg* 変異胚においてはこの傾向が弱くなっていることを観察した。また、正常な突起パターンが形成されるには、Nrg がユビキタスに発現することが必要であり、da neuron とグリアにおける発現では不十分であることを明らかにした。これらのことから、表皮細胞直下に展開する樹状突起の末端が、Nrg 依存的に表皮細胞境界と相互作用することで、クラス I 特有のパターン形成を調節している可能性が考えられた。

軸索に関する解析から、異所的な分岐形成を抑制するためには、Nrg が da neuron およびグリアの両方で発現することが必要であることがわかった。我々はさらに Nrg の細胞質領域に結合して、

Nrg を膜の裏打ち構造にリンクさせる Ankyrin (Ank) の役割についても、細胞タイプ特異的な RNAi 法によって検討した。その結果、Nrg-Ank 複合体が、グリアおよび da neuron の形態や、da neuron における分子局在を調節することがわかった。以上のことから、da neuron とグリア、あるいは da neuron と表皮細胞境界との Nrg 依存的な相互作用が、軸索分岐抑制と樹状突起パターン形成のそれぞれに重要であることが示めされた。

他の研究実施内容：突然変異体のスクリーニングなど

上記のアプローチに加えて、突起の分岐や伸長の異常を指標とする突然変異体のスクリーニングを行っている。スクリーニング法の一つとして、da neuron で GFP を発現するトランスジェニックシステムのゲノムに突然変異を誘発し、突起パターンに異常を示す変異体を分離した。X 染色体と第3染色体について合計 2170 系統の致死変異株を分離し、各々について樹状突起を観察した。その結果少なくとも 17 系統において、高次の枝の形成が抑えられる異常や突起伸長方向の異常など、様々な表現型が検出できた。突然変異体のスクリーニングは、pan-da マーカーあるいは da neuron のサブセットを可視化するマーカーを用いて行っているが、突然変異の表現型は、なるべくクラス I から IV までのそれぞれに属するニューロンについて調べている。また責任遺伝子のクローニングを進めており、ダイニンのサブユニットをコードする遺伝子の突然変異などを見出した。正常なクラス IV ニューロンの樹状突起は、細胞体から遠い領域においてさかんに分岐するが、この突然変異を持つニューロンの突起は、逆に近い領域で多数の側枝を生やすことがわかった。この突然変異の表現型を指標にすることで、生体内で働く分岐装置の分子の実体を明らかにできると思われる。

突然変異体のスクリーニングに加えて、樹状突起のパターン形成を調節する可能性のある da neuron 内の現象や、da neuron と他の細胞間とのコミュニケーションを解析するために、種々の蛍光タンパク質マーカーを発現するトランスジェニックフライの作製を試みている。例えば、樹状突起形成において細胞膜成分がどのように供給されているのか、そして種々のオルガネラはどのような役割を果たすのかは、生体内ではほとんど解析されていない。そこでゴルジ体などを可視化できるトランスジェニックマーカーを作製しつつあり、その新たなマーカーを利用したイメージングを試みている。また、da neuron とその周囲に存在する血球系細胞群との相互作用にも着目し解析を始めている。

(2)研究成果の今後期待される効果

樹状突起形態の多様性を解明する目的で、転写調節因子 Ab あるいは Knot の標的遺伝子の分離を目指した実験を開始している。マイクロアレイ解析に十分な量の、特定クラスに属するニュー

ロンを単離することが技術的に困難であることが予想されたので、胚あるいは幼虫全体で解析が可能か予備的な実験を行っている。

標的遺伝子を直接探索する試みを続ける一方で、標的遺伝子は複数あることが予想されるので、クラス毎に選択的に用いられる仕組みと、複数のクラスに共通に用いられる機構との接点を探り、遺伝子プログラム全体の解明を目指す必要がある。具体的な方策の一つとして、「(1)研究実施内容および成果」の最後の項目で説明したように、突起パターンに異常を生じる突然変異の責任遺伝子を明らかにし、同じ遺伝子の突然変異が各々のクラスにどのような表現型をもたらすか(特定のクラスに顕著な異常をもたらすのか、それともどのクラスにも共通な表現型が生じるのか)を検討している。また、クラス IV ニューロンについては、その振る舞いを説明できる数理モデルを検討しており、実験の現場へのフィードバックを目指している。

樹状突起パターンの多様性はニューロンのクラスごとに特有な機能を支えており、神経系が様々な情報を受容し処理するために不可欠だと考えられている。それぞれの神経回路の中で、特徴的な突起パターンを発達させたニューロンが適材適所に配置されなければ、ヒトの脳は思考や感情、運動、知覚などの情報を適切に処理しきれないであろう。この突起パターンの多様性を支える遺伝子プログラムの全体像に迫るには、様々なアプローチを用いて da neuron の利点を生かし続ける必要がある。本研究は細胞レベルでの視点からスタートしているが、da neuron の機能を個体の行動をアウトプットとして調べるアプローチも検討している。da neuron を用いた今後の研究から、(個々の遺伝子の発見だけではなく)突起パターン形成プログラムの一部分でも明らかになれば、哺乳類ニューロンの神経回路形成への研究に大きな波及効果を生み出せるであろう。

3.4 Actin depolymerizing factor (ADF)/コフィリンを基質とするフォスファターゼ Slingshot ファミリーの発見と、その活性制御機構の解析(京都大学 上村グループ)

(1)研究実施内容及び成果

発生のコンテキストや、成体が誕生した後の様々な刺激に応答して、細胞骨格は速やかに再編成され、細胞極性の形成や神経突起の伸長などの細胞ダイナミクスが支えられている。actin depolymerizing factor (ADF)/コフィリン(以下コフィリンと総称する)は、アクチン線維の脱重合および切断反応を促進して、このような柔軟で速やかな細胞形態の変換において重要な役割を果たす。コフィリンの時間的・空間的な活性調節については、LIM キナーゼ (LIMK) などによるリン酸化/不活性化と、LIMK 自身の活性化の仕組みが明らかにされていた。一方、コフィリン脱リン酸化/再活

性化によるアクチン系の再編成も重要であると考えられたが、細胞内で働くそのフォスファターゼの実体と機能は不明であった。以下に述べるように、我々は新しいフォスファターゼファミリーを発見し、生体内から試験管内反応系までの全てのレベルにおいて、コフィリンを基質とすることを明らかにした。

主要な論文：

Ryusuke Niwa, Kyoko Nagata-Ohashi, Masatoshi Takeichi, Kensaku Mizuno, and Tadashi Uemura. Control of actin reorganization by Slingshot, a novel family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin. *Cell*, 108: 233-246 (2002).

我々は、ショウジョウバエ表皮の細胞突起の構造に異常を示す突然変異として、*slingshot (ssh)* を分離し、その産物が新規のフォスファターゼであることを見出した。突起形成前の表皮細胞を観察したところ、*ssh* 機能欠損細胞ではアクチン線維の過剰な形成が見られた。さらに、*ssh* 機能欠損細胞においてはコフィリンのリン酸化レベルが顕著に昂進していた。また、*ssh* 変異株の表現型をレスキューするには、SSH の酵素活性が必要であった。以上の結果から、生体内において SSH がコフィリンの脱リン酸化を促し、その結果アクチンの過重合が抑制される可能性が示唆された。細胞レベルの解析においては、ヒト相同分子 (hSSH) が、LIMK1 によって誘導されるアクチン細胞骨格系の異常を抑制することが示された。また SSH および hSSH の強制発現は、培養細胞内のコフィリン分子の脱リン酸化レベルを上昇させた。さらに、試験管内反応系においても、SSH および hSSH はコフィリンの脱リン酸化を引き起こした。以上の結果から、SSH ファミリーがコフィリンを基質とするフォスファターゼであると結論した (Niwa et al., 2002)。

hSSH1L の生化学的な解析から、アクチン線維との相互作用によりフォスファターゼ活性が約 10 倍上昇することを示した。このことは leading edge におけるアクチンの集積それ自体が SSH1L の局所的な活性化の引き金を引き、それにより葉状仮足におけるコフィリンの取り持つアクチンのターンオーバーを刺激することを示す。また、14-3-3 タンパク質が、SSH1L の特定のセリン残基のリン酸化依存的に SSH1L の活性を抑制することも示し、14-3-3 が SSH1L を細胞質中に隔離しておくことで SSH1L の活性を負に調節する可能性が示唆された (Nagata-Ohashi et al., 2004)。

ヒトとマウスのゲノムには3つの *ssh* 遺伝子が存在し、組織別発現を RNA in situ および内在タンパク質のレベルで解析した結果、神経系や上皮ではそれぞれ SSH2L と SSH3L が強く発現してい

ることを明らかにした(Ohta et al. 2003;未発表データ)。SSH2L については遺伝子発現をノックダウンできるプラスミドを作製し、海馬初代培養系に導入してニューロンの極性化のプロセスに異常がないか調べている。また、同じプラスミドを、電気穿孔法により子宮内胎仔大脳皮質に導入し、神経細胞の移動や細胞形態に異常を示さないか検討している(慶応義塾大学田畑チームとの共同研究)。一方、SSH-3L については上皮細胞での役割を検討する目的で、永淵チーム(熊本大学発生医学センター)が得意とする F9 細胞の上皮分化のシステムを利用し、永淵チームと共同で SSH3L の発現をノックダウンできる F9 株を作製した。上皮分化に伴う頂端部-基底部軸に沿った極性の発達や、細胞間接着に異常が生じないかを検討している。さらに、*ssh3L* 遺伝子のノックアウトマウスを作製し、現在2つの遺伝的背景への戻し交配を重ねている(理化学研究所変異マウス作製チームとの共同研究)。なお下記の参考文献は、水野健作教授(東北大学)のグループとの共同研究の成果であり、上村チームは3つの *ssh* 遺伝子について詳細な組織別発現解析を行うとともに、質量分析により SSH1L 結合タンパク質 (14-3-3) を同定した。

関連論文:

Kyoko Nagata-Ohashi, Yusaku Ohta, Kazumichi Goto, Shuhei Chiba, Reiko Mori, Michiru Nishita, Kazumasa Ohashi, Kazuyoshi Kousaka, Akihiro Iwamatsu, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura and Kensaku Mizuno. Activation of cofilin phosphatase Slingshot by actin filaments and its negative regulation by 14-3-3 proteins. *Journal of Cell Biology*. 165: 465-471(2004).

Yusaku Ohta, Kazuyoshi Kousaka, Kazumasa Ohashi, Kyoko Ohashi-Nagata, Yasuyuki Shima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno. Differential activities and expression patterns of three mouse members of Slingshot, a family of phosphatases that dephosphorylate cofilin. *Genes to Cells* 8:811-24 (2003).

(2)研究成果の今後期待される効果

コフィリンを介するアクチンリモデリングの調節異常は、ウィリアムス症候群に特有の視空間構成認知障害と連鎖することが示唆されており、マウスにおいては少なくとも角膜形成異常を起こす。アクチンリモデリング研究の重要性は、細胞生物学、発生生物学、そして神経科学の分野にわたり益々広がりを見せており、本研究を発展させれば、コフィリン SSH LIMK システムが正常に働かないために生じる、先天的あるいは後天的な障害の発見に役立つことが予想される。

3.5 マウス小脳顆粒細胞の移動極性を調節する内在性因子の探索(理化学研究所脳科学総合研究センター 見学グループ)

(1)研究実施内容及び成果

脊椎動物の中樞神経系発達過程で、ニューロンは誕生部位からダイナミックに細胞移動し、機能的に相関する細胞と秩序正しく配置して層構造や核を形成する。細胞移動を行うニューロンは、進行方向に細胞体を牽引する先導突起を形成して極性化する。機能部位に到達したニューロンは樹状突起と軸索を伸展して、周囲の細胞と結合する。本研究は細胞移動と突起形成における中樞神経系ニューロンの極性化機構の解明を目指し、ダイナミックな細胞移動により明瞭な層構造を形成する小脳をモデルにして解析を行った。具体的には、発生中直角な方向転換を挟んで移動様式を変える小脳顆粒細胞に焦点を当て、方向転換と二相性移動の細胞ダイナミクスを解析した。また移動極性変換期に発現する遺伝子を探索し、細胞極性形成におけるそれらの分子機能を解析した。以下に項目別に成果をまとめる。

1)小脳顆粒細胞二相性移動の分子・細胞機構

顆粒細胞は最終分裂を終えるとまず小脳表面に平行に移動(接線移動)し、90度方向転換して小脳内層に移動(放射移動)する。接線移動と放射移動は通常異なる種のニューロンで起こるが、顆粒細胞では連続して起こるため、両者の細胞機構を比較解析する格好のモデルとなると考え、顆粒細胞の接線移動と放射移動の細胞機構を解析した。生後発達期の小脳から未分化な顆粒細胞を含む外顆粒層(EGL)を切り出し組織片培養すると、顆粒細胞が培養皿上で方向転換をはさむ二相性の細胞移動を再構成できる。そこでこの系を利用し、方向転換の前後での形態変化と移動ダイナミクスをタイムラプスレーザー共焦点顕微鏡で詳細に追跡した。その結果、接線移動と放射移動に用いられる先導突起は性質が異なり、それぞれ将来軸索と樹状突起に分化する突起であることが明らかになった(図-1)。さらに核と先導突起の移動ダイナミクスを二相性移動で比較解析した結果、各位相は異なるダイナミクス(somal translocation と locomotion)を介して起ることが明らかになった。すなわち顆粒細胞は機能の異なる先導突起を形成し、移動ダイナミクスを変える事で方向転換を実現していることが明らかになった(図-2; Kawaji et al. 2004)。

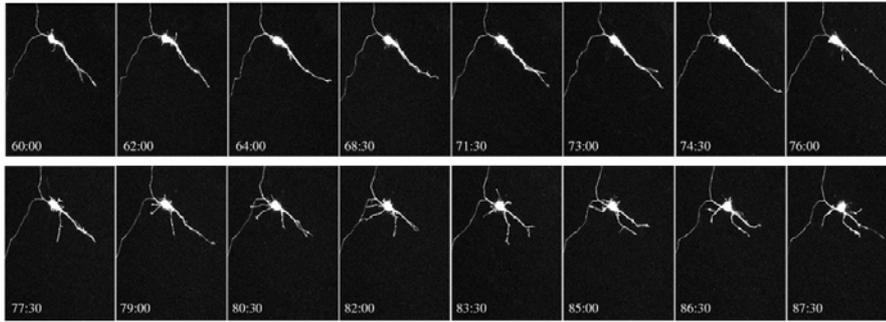


図-1 タイムラプス顕微鏡でとらえた培養顆粒細胞の先導突起から樹状突起への分化過程

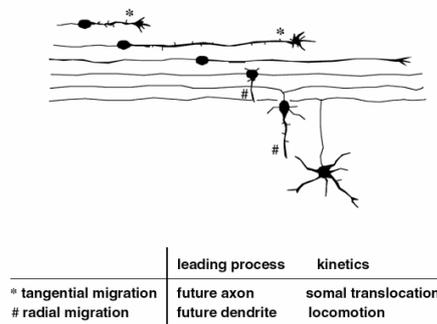


図-2 小脳顆粒細胞の二相性移動のメカニズム

さらに小脳組織内での細胞移動ダイナミクスを解析するため、出生直後のマウスを用いて電気穿孔法で未分化な小脳顆粒細胞に蛍光タンパク質を強制発現させ、数 100 μm のスライス培養下での顆粒細胞の動きを長時間観察する系を確立した(図-3)。この手法を用い、動態を調べたい分子と蛍光タンパク質のキメラを作成して細胞に強制発現させ、移動の分子ダイナミクスを細胞構築が保たれた脳組織内で解析することが可能になった。まず、Cdk5 とその制御因子 p35 それぞれのノックアウト (KO)動物で顆粒細胞の移動に遅延が見られることに着目し、顆粒細胞の移動分子機構を探索する足がかりとして、Cdk5 ドミナントネガティブ阻害分子を強制発現させた顆粒細胞の移動を野生型と比較解析した。その結果 Cdk5 シグナルが阻害されると移動後期相の放射移動の先導突起形態に異常が起こり、放射移動が著しく停滞することが明らかになった。一方前期相の接線移動では先導突起形成は正常で、移動もわずかに遅延する他はほとんど正常であった。すなわち移動ダイナミクスによりシグナル伝達経路が使い分けられており、Cdk5-p35 シグナルが差次的に機能することが示唆された(Umeshima et al. in preparation)。

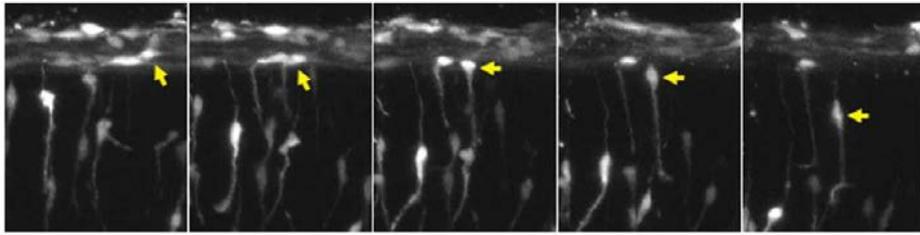


図-3 GFP を強制発現して可視化した小脳組織内での顆粒細胞の二相性移動

最近の顕微鏡技術の発達により、リアルタイムイメージングでニューロンの挙動を追跡することが可能になり、ニューロンの極性移動に様々な位相があることが明らかになっている。しかし生体内や脳切片の複雑な細胞構築内を移動するニューロンの細胞内での分子の挙動を長時間、長距離追跡することは難しく、移動の分子機構はまだほとんど明らかでない。本研究では小脳顆粒細胞の二相性移動の細胞・分子機構を解析し、先導突起の分子的性質および運命を移動ダイナミクスと対応付けた初めての研究といえる。

2) 神経系細胞の形態分化を制御する細胞間シグナル DNER の同定

未分化な顆粒細胞を単離して培養しても生体と同様の二相性移動を行うことから、顆粒細胞の方向転換は細胞に内在する遺伝的プログラムにより細胞極性が再編成されることで実現すると考えられる。従って方向転換の起る時期の顆粒細胞では細胞極性決定に重要な分子が発現すると予想し、この時期に特異的に発現する分子を探索した。上記の小脳 EGL 組織片培養を用い、顆粒細胞の方向転換期に特異的に発現する分子を PCR サブトラクティブハイブリダイゼーション法で単離した。その結果、新規 EGF 関連膜貫通分子 DNER(Delta/Notch-like EGF-related Receptor)を同定した。DNER は分裂後の中枢神経系ニューロンに特異的に発現し、タンパク質は放射移動する顆粒細胞の樹状突起性先導突起のほか中枢神経系ニューロンの樹状突起に局在し、軸索からは能動的に排除される。DNER の樹状突起への局在は、細胞内領域のチロシン残基モチーフとクラスリン被覆小胞アダプター蛋白質 AP の結合を介した選択的小胞輸送経路に一部依存し、チロシン残基に点突然変異を持つ分子は軸索にも分布する事が明らかになった(Eiraku et al., 2002)。本研究結果は、生体内で実際に樹状突起に局在する分子の輸送機構を明らかにした稀少な例で、上皮細胞とニューロンが極性輸送の分子機構を共有する事を裏付けた重要な成果である。

次に DNER の生体における機能解析を行った。分子構造から予測される相互作用を解析し、DNER が細胞分化シグナル Notch のリガンドとしての活性を有し、中枢神経系特異的な新規 Notch リガンドである事を証明した。小脳では DNER は移動中の顆粒細胞の先導突起とプルキンエ細胞樹状突起に強く発現し、Notch は両者と隣接するバグマングリアに発現する。初代培養したバグマングリアを用いた細胞生物学的解析と DNER ノックアウト(KO)動物の表現型の解析から、DNER はバグマングリアの Notch シグナルを活性化し、バグマングリア放射状突起の形態分化を制御することが明らかになった(図-3)。さらに、DNER は顆粒細胞の移動の制御には関わらないが、DNER KO 動物ではバグマングリア突起の形成不全のために顆粒細胞の移動に遅延が起こる事を見出し、プルキンエ細胞-バグマングリア-顆粒細胞が細胞間相互作用を通じて互いに分化を制御し合い小脳皮質層形成を制御していることを明らかにした(Eiraku et al. 2005, Tohgo et al. in press)。

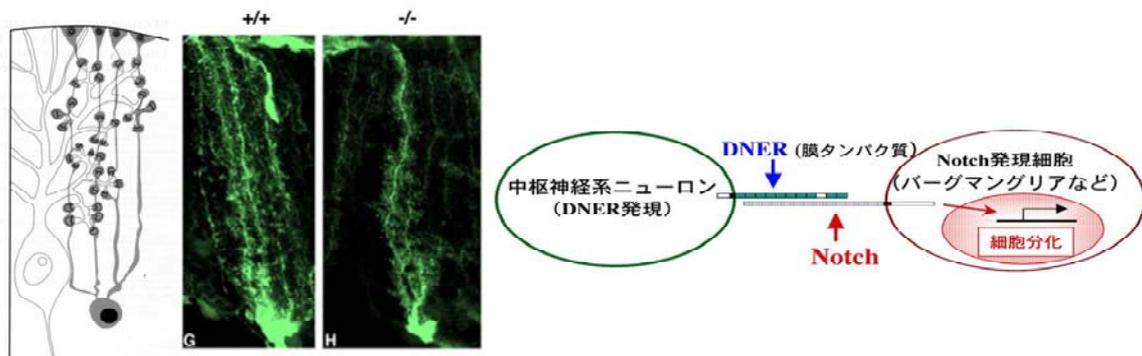


図-3 DNER欠損動物のバグマングリア突起形成異常(左)とプルキンエ細胞-バグマングリアの相互作用(右)

Notch は神経系を含むあらゆる細胞運命決定に関わる重要な発生シグナルである。我々は中枢神経系特異的分子としては初めての真性 Notch リガンドとして DNER を同定した。これまでアストロサイトの形態分化に Notch シグナルが関与することが *in vitro* の実験で示唆されていたが、生体内で Notch リガンドを特定し、グリア突起形成における機能を証明したのは我々の研究が初めてである。

3) 中枢神経系ニューロンに発現する Septin3 の機能解析

上記(2)で用いた PCR サブトラクティブハイブリダイゼーション法で、方向転換後の顆粒細胞の軸索に強く発現する細胞内分子として Septin3 を同定した。Septin ファミリーはグアニンヌクレオチド結合型タンパク質であり、アクチンや微小管骨格と協調して繊維状構造を形成し、細胞質分裂を制御することが明らかになっている。Septin3 も他の Septin 分子同様に重合し、繊維を形成するが、この繊維はアクチン・微小管骨格とは依存しない独自の骨格構造であることが示唆された。さらに Septin3

はGuaninヌクレオチド結合部位を含む Septin 保存領域を介して、神経細胞内で Septin5 および Septin7 と結合し、複合体として軸索のシナプス前膜に局在することが明らかになった(Fujishima et al. 未発表)。さらに Septin3 の機能を明らかにするためノックアウト動物を作製し、表現型を解析した。顆粒細胞の突起伸長と移動には影響がなく、脳形態形成全般にも異常は認められなかった。現在 septin3 KO 動物由来のニューロンで Septin5 と 7 の機能を RNAi 法でノックダウン抑制した場合ニューロンの極性形成に何らかの影響が見られるか検証している。

(2)研究成果の今後期待される効果

1)小脳顆粒細胞二相性移動の分子・細胞機構

本研究により小脳顆粒細胞の移動過程をリアルタイムイメージングで追跡し、細胞構造の微細形態と分子局在の変化を解析することが可能となった。今後、蛍光標識した分子を発現させて細胞移動に伴う細胞骨格再編成を可視化し、それを制御する分子シグナルの実体を明らかにする。現在、それぞれの位相で Cdk5 シグナルによる移動ダイナミクスの時空間的制御を検証している。また移動極性の決定における中心体の機能を解析している。ニューロンの移動は神経回路形成に必須で、移動の異常は精神遅延や癲癇などを伴う神経疾患を引き起こす。今後の展開により、これらの神経疾患の治療法の開発につながる可能性がある。

2)神経系細胞の形態分化を制御する細胞間シグナル DNER の同定

これまでの研究で DNER-Notch シグナルによるグリア突起の形態分化制御を明らかにしたが、DNER と Notch は多くの中枢神経系ニューロンに隣接して発現が見られることから、ニューロン間の相互作用を通じて樹状突起パターンを制御するシグナルとして機能する可能性がある。現在この可能性を初代培養した大脳皮質ニューロンと DNER KO 動物を用いて解析している。Notch シグナルは神経幹細胞の運命決定に重要である。DNER は胎生期から成体まで分化後のニューロンに特異的に発現しており、最近証拠の集まりつつある成体神経発生(adult neurogenesis)に関与する可能性がある。また損傷した神経回路を修復する重要な分子ツールとしての潜在性を有し、再生医療への応用が期待される。

3)中枢神経系ニューロンに発現する Septin3 の機能解析

Septin ファミリー分子は出芽酵母から脊椎動物まで広く保存され、細胞質分裂などの細胞形態制

御に關与する分子であり、ニューロンの極性形成や形態分化にも關与している可能性がある。Septin3 の過剰発現や KO による影響は認められなかったが、他の Septin 分子による機能の補完が考えられる。今後 Septin3 と協調する他の Septin 分子の機能を同時に修飾して解析を行い、Septin がニューロンの極性形成や形態分化に關与する可能性を検証する。

文献：

Mototsugu Eiraku, Yutaka Hirata, Hiroshi Takeshima, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. Delta/Notch-like EGF-related Receptor (DNER), a novel EGF-like repeat-containing protein targeted to dendrites of developing and adult central nervous system neurons. J. Biol. Chem. 277, 25400-25407, 2002.

Kousuke Kawaji, Hiroki Umeshima, Mototsugu Eiraku, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. Dual modes of migration of cerebellar granule cells guided by axonal and dendritic leading processes. Mol. Cell. Neurosci. 25, 228-240, 2004.

Mototsugu Eiraku, Akira Tohgo, Katsuhiko Ono, Kazuto Fujishima, Megumi Kaneko, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. DNER acts as a neuron-specific Notch ligand during Bergmann glial development. Nat. Neurosci. 8(7), 873-880, 2005.

3.6 大脳皮質発生過程における神経細胞移動の解析(慶応義塾大学解剖教室 田畑グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

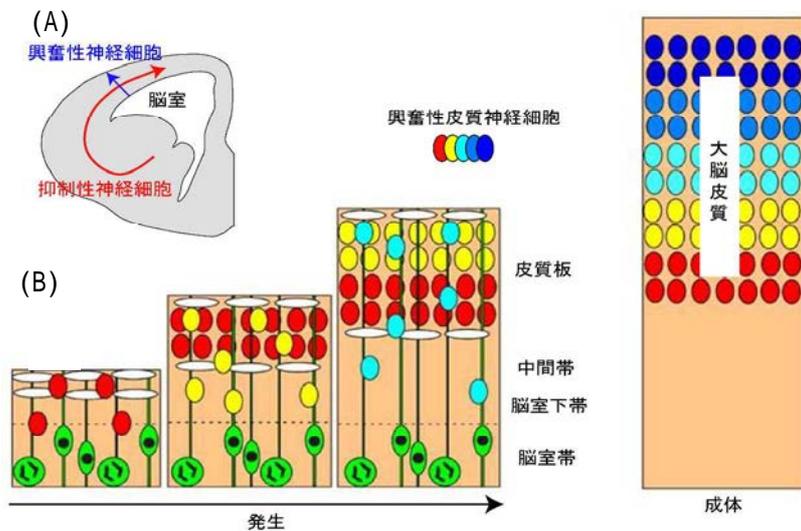


図1 大脳皮質発生過程の模式図

(A)大脳皮質は、放射方向に移動する興奮性神経細胞と接線方向に移動する抑制性神経細胞によって構成される。(B)興奮性神経細胞移動の模式図。時期特異的に産み出された各層の神経細胞は脳の最表面まで移動して皮質板に配置される。このため、早生まれの皮質神経細胞は深層に、遅生まれの細胞は表層に配置される。

中枢神経系の発生過程では、共通の形態や特徴を持った神経細胞同士が集合し、神経核や層構造が形成される。一般的に中枢神経を構成する神経細胞は、分裂を終了して産み出される場所と、最終的に配置される場所が異なっているため、この間を移動する必要がある。この移動が正しく行われないと、神経回路網の形成が損なわれ、ヒトでは精神遅滞を伴う脳奇形や統合失調症、自閉症等の原因となりうる。大脳皮質の主要構成要素である興奮性皮質神経細胞は、主として脳室帯で誕生し、放射状方向に移動して辺縁帯直下にまで達し、皮質板の表層側に付け加えられるように配置される(図1)。また、皮質の抑制性神経細胞は腹側の大脳基底核原基で誕生し、接線方向に移動して皮質に入る(図1)。本研究では、これらの細胞移動の継続・終了のスイッチから、皮質各層への特異的・選択的配置、そして層形成に至る分子・細胞基盤を解明することを最終目標とした。

1) 子宮内電気穿孔法の開発

これまで、大脳皮質神経細胞の移動過程で何が起きているのか、という皮質形成における根本的な問題が、有効な解析手段が無かったために、未解決のまま残されていた。この問題を解決するため、電気穿孔法の原理により、子宮内胎仔大脳皮質で移動中の神経細胞に *in vivo* で容易にプラスミドのまま遺伝子導入できる新たな実験系を開発した(図2、Tabata and Nakajima 2001)。

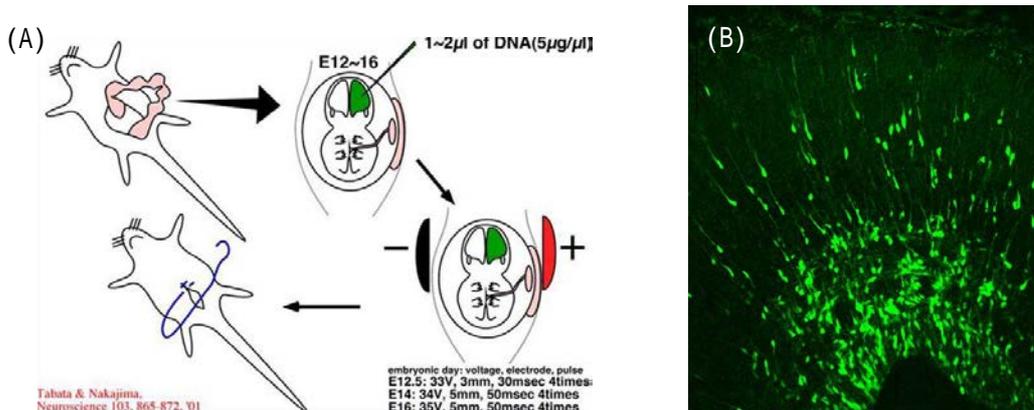


図2 子宮内電気穿孔法 (A)妊娠マウスを麻酔し、子宮の外から側脳室にプラスミドDNAを注入後、子宮の外から電気パルスを与える。操作終了後、子宮を腹腔内に戻し、望みの段階まで発生させる。(B)胎生15日目でGFPベクターを導入し3日後に固定した。脳室帯から移動してきた神経細胞がGFPによって可視化されている。

この方法を用いて緑色蛍光タンパク質(GFP)を組み込んだプラスミドベクターを側脳室の脳室帯細胞に導入することで、脳室帯から移動する神経細胞を可視化することが可能となった。Cytomegalovirus early promoter (CMV promoter)と chicken beta-actin promoter の融合 promoter である CAG promoter を用いた場合、発現は生後3週齢に至っても継続しており、軸索や樹状突起の走行がはっきりと可視化された。本法を用いれば、GFPだけでなく、任意のタンパク質を脳内で発現させることが可能であるため応用範囲が広く、大脳皮質の発生を研究している他の多くの研究者にも有用な新しい実験技術を提供することになった(田畑秀典、仲嶋一範、実験医学、2001; 実験医学別冊、2003)

2) 第三の移動様式: 多極性移動の同定 この実験系を用いて、大脳皮質神経細胞の移動過程を詳細に検討した。大脳皮質発生過程においては、ロコモーションと細胞体トランスロケーションという2つの異なる移動様式が知られていた(図3A, B)。ロコモーションは、脳室帯から辺縁帯にまで伸びる放射状線維を足場として移動する移動様式であり、現在最も広く受け入れられ、教科書でも、過去30年以上の間、この移動様式で神経細胞の移動を説明してきた。一方、細胞体トランスロケーションは、長く伸びた上行性線維が移動開始前から脳表面(移動終了地点)にまで伸びており、これを短縮させながら、細胞体自身が脳表面に向かって移動するというものである。我々は、電気穿孔法により移動神経細胞を可視化したところ、脳室下帯や中間帯では多数の突起を色々な方向に伸ばす多極性細胞が多くを占め、ロコモーションや細胞体トランスロケーションとはまったく異なる形態を有することを見いだした。これらの細胞の出現頻度の高さから、

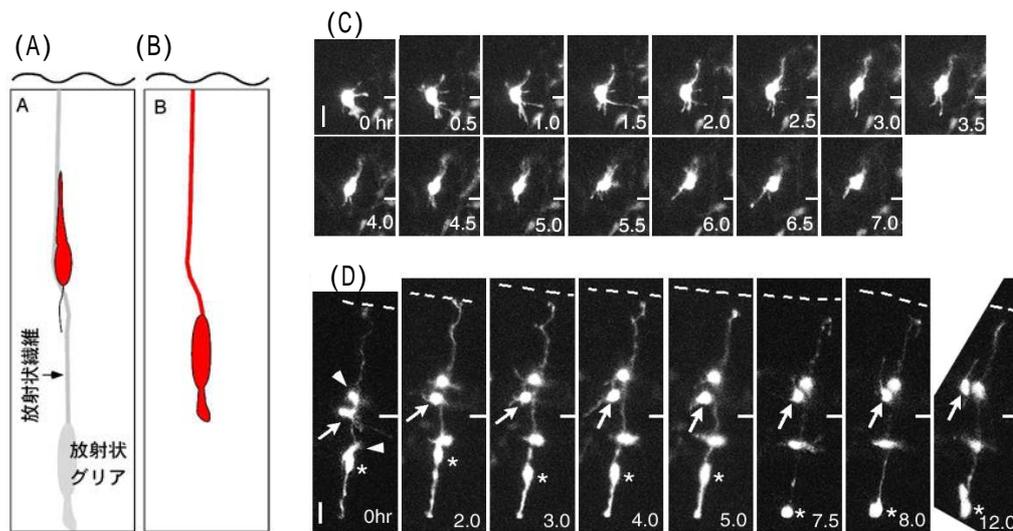


図3 第三の移動様式:多極性移動 (A)ロコモーション、(B)細胞体トランスロケーション、(C)多極性移動のタイムラプス観察1:複数の突起を伸縮させながらゆっくりと移動する。(D)多極性移動のタイムラプス観察2:矢印で示した細胞が多極性移動によって矢頭で示した細胞を追い抜く。

皮質神経細胞の移動において、必須の過程である可能性が考えられた。そこで、この多極性細胞がどのような細胞であるのかを詳細に解析した (Tabata and Nakajima 2003)。多極性細胞は複数の突起を色々な方向に伸ばすが、特に脳室下帯では接線方向に伸ばす傾向が認められ、そのほとんどは、放射状方向に伸びる放射状線維に沿うことなく、独立に伸びていた。これはロコモーション細胞が放射状線維を足場として移動することとは対照的である。これらの細胞の生きた挙動を解明するため、我々は、子宮内電気穿孔法により蛍光タンパク質を発現させた胎児脳からスライスを作り、この中で可視化されている移動神経細胞をタイムラプス観察する実験系を確立した。これによって多極性細胞の運動を観察したところ、これらの細胞は複数の突起を非常にダイナミックに伸縮させながら、ゆっくりと皮質板の方向へと移動していた (図3C, D)。また、多極性細胞は頻りに移動の方向と速度を変化させ (時には同じ場所に留まり、時には脳室側へ後ずさりし)、時折、接線方向に跳躍した。その移動速度は全体としては約 $2 \mu\text{m}/\text{時間}$ というゆっくりとしたものであった。我々は同じ実験系でロコモーション細胞の運動も観察したが、多極性細胞の運動とは異なり、脳の表層側に向かって直線的な運動を示し、速度も $9 \sim 12 \mu\text{m}/\text{時間}$ とかなり速いものであった。多極性細胞の特徴的な細胞移動の様式は、明らかに従来知られている移動様式とは異なるため、我々はこの新たな移動様式を多極性移動 (multipolar migration) と名付けた。多極性移動が認知されたことにより、ロコモーション、細胞体トランスロケーション、多極性移動の三者が、神経細胞の移動過程でどのように使われているのかを解明することが、神経細胞移動によっていかにして皮質が形成されるかを正しく理解するための最重要課題となった。我々はプロモデオ

キシウリジン (BrdU) 標識と子宮内電気穿孔法の組み合わせにより、脳室帯で最終分裂を終了し移動を開始する細胞の大多数は多極性細胞として脳室下帯に集積し、多極性移動を行うが、皮質板に入るまでにロコモーションに変化して、最終目的地に達することを明らかにした。興奮性神経細胞が多段階的に移動様式を変化させながら進行することを *in vivo* で示したことにより、今後の神経細胞移動の研究に基礎的な知見を与えることとなった。これらの *in vivo* の知見に関しては、現在、投稿準備中である。

3) reelinシグナル欠損マウスにおける移動異常の観察

一方、我々は、脳の層構造が逆転してしまう2つの突然変異マウス、*reeler* と *yotari* に注目した。*reeler* の責任遺伝子は *reelin* と呼ばれる分子量 400k を超える巨大なタンパク質をコードし、移動終了地点の辺縁帯内に存在する Cajal-Retzius 細胞から分泌される。*yotari* は、この *reelin* シグナルの細胞内伝達に必要な disabled-1 homologue (*Dab1*) の機能欠失型突然変異体である。その表現型から、*reelin* からのシグナル伝達は脳皮質層構造の形成に決定的な役割を果たしていると言える。しかしながら、そのシグナル伝達がどのような生物学的機能を引き起こして、層構造が形成されるのか、またそれが無いと、なぜ層構造が逆転するのか、といった発生学的意義に関してはほとんどわかっていなかった。そこで、これら両突然変異マウスにおいて移動神経細胞を上記の方法で可視化し、移動から配置のどの段階で異常が現れるのかを検討した (図4、Tabata and Nakajima 2002)。

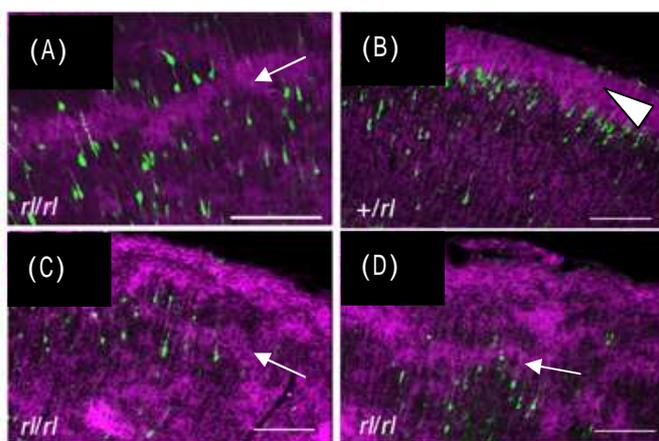


図4 *reeler* マウスにおける電気穿孔法による移動神経細胞の可視化
(A)(C)(D) *rl/rl* での解析。CSPG (紫色) の局在する IPZ (矢印) に沿って GFP 陽性の移動神経細胞が集積する。(B) *+/rl* での解析。辺縁帯 (矢頭) 直下に GFP 陽性細胞が整列する。

遺伝子導入後5日目では、正常マウスではすでに多数の GFP 陽性の神経細胞が辺縁帯直下まで移動し、primitive dendrite の形成を開始していたが、突然変異マウスでは細胞が明らかに深部に留まっていた。深部に留まった移動神経細胞はランダムに分散するのではなく、ある一定の境界線に

沿って並ぶ傾向が認められた。コンドロイチン硫酸(CSPG)に対する免疫染色により、この境界線はこれらの突然変異マウスに特有に認められる internal prexiform zone (IPZ)の境界に一致することを見いだした。IPZは樹状突起のマーカーで染色され、この辺縁に局在する細胞は、IPZ内に向かって主樹状突起を発達分化させる傾向を有することを発見した。このように、後続の神経細胞の移動はすでにそれまでに形成されている異常な組織構築により阻害され、さらに異常な構造を形成するという連鎖が強く示唆された。従って、最初に現れる組織構築異常が、reelin シグナル欠損の直接の表現型であると考えられる。

4) 抑制性神経細胞の移動様式

興奮性皮質神経細胞は、早生まれのものほど深層に、遅生まれのものほど表層に位置する inside-out パターンで配置する。抑制性神経細胞に関しても同様の傾向が認められるという報告はすでにあったが、興奮性神経細胞の配置パターンと抑制性神経細胞の配置パターンの相互比較についてはあまり解析されていなかった。また、抑制性神経細胞には複数のサブタイプが存在し、これらサブタイプごとの配置に関する詳細な検討はされてこなかった。そこで、まず、皮質発生の初期(E 12.5)にチミジンアナログである BrdU を投与した群と、後期(E 15.5)に BrdU を投与した群を生後9日目で固定し、全ての抑制性神経細胞のサブタイプに共通するマーカーである GABA と BrdU との共染色を行い、各時期に最終分裂を終えた抑制性神経細胞の皮質内での分布を調べた(図5、Yozu et al. 2004)。結果は、以前の報告と同様に全体的には inside-out パターンの傾向を示したが、初期に BrdU を投与した群で、興奮性神経細胞は深層側だけに分布のピークが認められるにも関わらず、GABA 陽性細胞では表層側にも明らかな分布のピークが認められた。初期投与群でソマトスタチン陽性細胞に注目すると、表層側のピークは認められないが、カルレチニン陽性細胞では表層側を主とする分布を認めた。こうしたことから、GABA 陽性の抑制性神経細胞はサブタイプごとに異なった配置を示すことが明らかとなり、さらには移動の経路や仕組みの違いを示唆した。

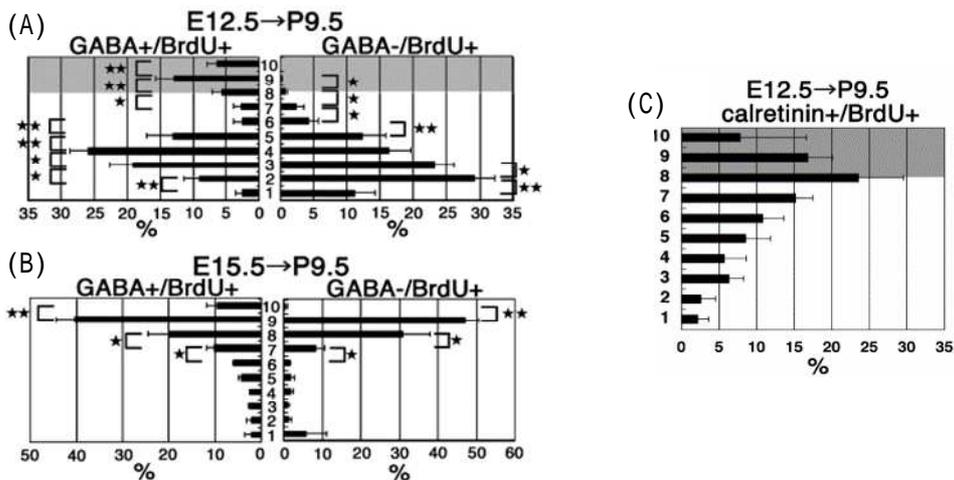


図5 抑制性神経細胞の誕生時期依存的配置

(A)E12.5にBrdUを投与しP9.5に固定。GABA陰性の興奮性神経細胞は深層に配置するが、GABA陽性神経細胞は表層にもピークを持つ。(B)E15.5にBrdUを投与。GABA陽性細胞も陰性細胞も表層側に分布。(C)カルレチニン陽性の抑制性神経細胞はE12.5の早生まれのもので表層に位置する。

大脳基底核には外側基底核原基(lateral ganglionic eminence, MGE、内側基底核原基(medial ganglionic eminence, MGE、尾側基底核原基(caudal GE, CGE)があり、それぞれから異なったサブタイプの抑制性神経細胞が産生されると考えられている。LGEとMGEはスライス培養により移動経路がある程度調べられていたが、抑制性神経細胞の三次元的な移動プロファイルについては報告がなかった。また、CGEに由来する細胞がどのような移動経路を示すのかは、全く明らかになっていなかった。従来通りの冠状断で切ったスライスでは、移動を三次元的に追うことは不可能なため、我々はまず、脳の局所に特異的に外来遺伝子(GFP発現ベクター等)を導入し、全大脳半球培養法と組み合わせることによって、ラベルされた細胞の挙動を*in vitro*で三次元的に観察できる新しい実験系を確立した。この系を用いて基底核原基の各部位に由来する細胞の三次元的移動プロファイルを解析した結果、大脳皮質の抑制性神経細胞は、主にMGEに由来し、外側、さらに背側に移動して広く分布することが見いだされた。一方、尾側基底核原基(caudal GE, CGE)に由来する抑制性細胞は、一気に尾側に移動し、さらに内側に回り込んで、記憶の場として重要な海馬に進入することがわかった(図6、Yozu et al. 2005)。この尾側に移動する経路は、従来報告がないため、caudal migratory stream (CMS)と命名した。MGEやCGEの細胞を採取して、蛍光ラベルした後、異なる脳の各時期のMGEまたはCGEに移植し、その後の挙動を調べる実験を行った結果、少なくとも胎生13.5日(E13.5)までに両者の移動細胞は性質が異なっていること、MGEの細胞が外側に広く移動するためにはE13.5のMGE特異的環境は必要ではなく、一方CGEの細胞が尾側に向かって移動するためにはE13.5のCGE特異的環境が必須であることを見いだした。

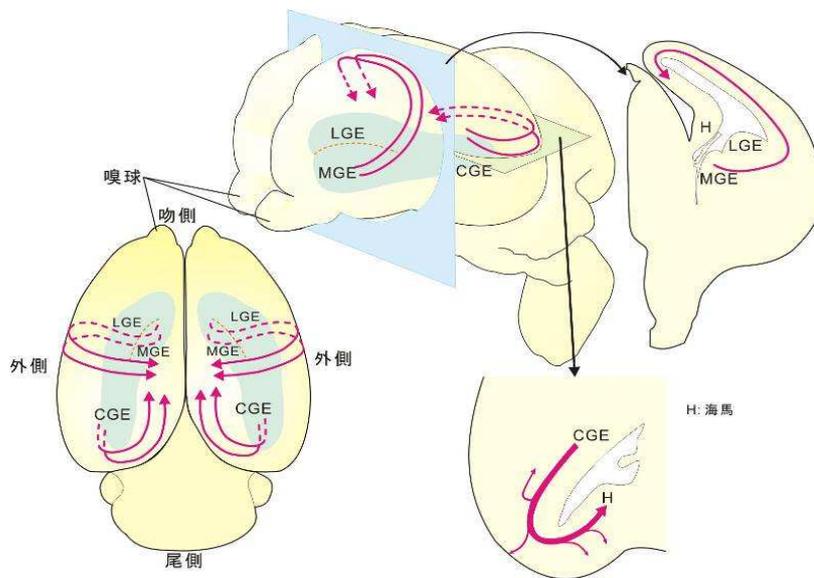


図6 大脳皮質抑制性神経細胞の主な起源と移動経路

尾側基底核原基(caudal GE, CGE)に由来する抑制性細胞は、一気に尾側に移動し、さらに内側に回り込んで海馬に進入することがわかった。この尾側に移動する経路は、caudal migratory stream (CMS)と命名された。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究で興奮性神経細胞は多極性細胞からロコモーション細胞へと変化しながら達成されることが示された。興奮性神経細胞が多極性細胞の時期を経る事実を確認したことで、これらの細胞がどのような外界の情報を受容して脳の表面側を認識し、移動するのか、ロコモーション細胞として移動を開始するときに、どのように細胞極性が確立し、先導突起を形成するのかといった問題を提起することが出来るようになった。抑制性神経細胞の移動についても、サブタイプや由来部位特異的な移動経路の選択性に関する分子機構の解明が待ち望まれる。本研究はこれらの分子機構解明に向けた基礎を築いた。大脳皮質のような一様で大きな器官において、細胞の位置情報がどのように与えられているのかに関しては、ほとんどわかっていないのが現状であり、本研究の成果がこれらの分子機構解明の糸口になることが期待される。

文献：

Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima. Efficient *in utero* gene transfer system to the developing mouse brains using electroporation: Visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neurosci.*, 103, 865-872, 2001

Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. Multipolar migration: The third mode of radial neuronal migration in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci.* 23(31), 9996-10001, 2003

Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima. Neurons tend to stop migration and differentiate along the cortical internal plexiform zones in the Reelin signal-deficient mice. J. Neurosci. Res., 69, 723-730, 2002

Masato Yozu, Hidenori Tabata, Kazunori Nakajima. Birth-date dependent alignment of GABAergic neurons occurs in a different pattern from that of non-GABAergic neurons in the developing mouse visual cortex. Neurosci. Res. 49(4), 395-403, 2004

Masato Yozu, Hidenori Tabata, Kazunori Nakajima. The caudal migratory stream: a novel migratory stream of interneurons derived from the caudal ganglionic eminence in the developing mouse forebrain. J. Neurosci., 25(31), 7268-7277, 2005

3.7 上皮細胞分化と上皮極性形成の分子機構(熊本大学発生医学研究センター 永淵グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

多細胞体制の構築において重要な役割を果たす上皮組織の構築機構の分子レベルでの解明、特に非上皮細胞から上皮細胞が形成されるときに細胞間接着機構が果たす役割について解析を進める。研究は1) F9細胞の上皮分化条件の最適化、2) カテニン・プラコグロビンのF9細胞における遺伝子破壊、3) 上皮分化における遺伝子発現プロファイルの解析、4) 上皮極性形成機構の解析、という相互に関係のある4つのプロジェクトとして進めた。すべての実験系には、古くから試験管内での上皮分化系として知られていたマウス奇形癌腫細胞F9細胞を用いた。

1) F9細胞の上皮分化条件の最適化

これまでF9細胞は細胞集塊をレチノイン存在下で培養した場合にのみ、その最外層の細胞が上皮に分化する事が報告されていた。一旦上皮に分化した後、細胞を単離して単層培養すると上皮としての特性が失われることも報告されていた。しかし、細胞集塊ではなく単層の細胞をレチノイン酸存在下で培養した場合にも、上皮分化と共に形成されると考えられるデスモソームは観

察されることが報告されていた。まず、本当に単層培養条件では上皮分化できないかどうかを確認した。蛍光抗体法で上皮細胞に特異的接着装置複合体の形成を調べたところ、正常な上皮細胞と同様の染色が観察された。またいくつかの上皮細胞特異的な遺伝子の発現をノザンおよびRT-PCRでみたところ、調べたすべての遺伝子の発現誘導が見られた。さらに上皮組織特異的なスプライシングを受ける遺伝子については、期待されるアイソタイプが発現していることを確認した。超微細構造を観察したところ、正常な上皮細胞が持つ特有の形態学的特徴が観察された。以上のようにF9細胞は単層培養条件下でも完全な上皮分化・上皮組織構築を行うことを確認した(Komiya et al., 2005)(図1)。この系を用いて、細胞骨格や細胞接着関連因子が上皮組織構築の過程でどのような変化をするのか詳細な検討が可能になった。実際にアクチン線維が上皮型アドヘレンス・ジャンクション形成に伴い束化していく過程や中間径線維が網の目を構成していく途中過程の観察が可能になった。またタイトジャンクションやデスモソーム構成因子が接着装置を構成していく途中段階の観察も可能になった。現在、細胞骨格関連因子、接着装置複合体の構成因子に関してGFPとの融合タンパク質を作成し、F9細胞に導入している。これらのGFP融合タンパク質の細胞内での局在をタイムラプス顕微鏡で観察することにより、細胞骨格の編成過程、接着装置形成過程を経時的に観察することを試みている。

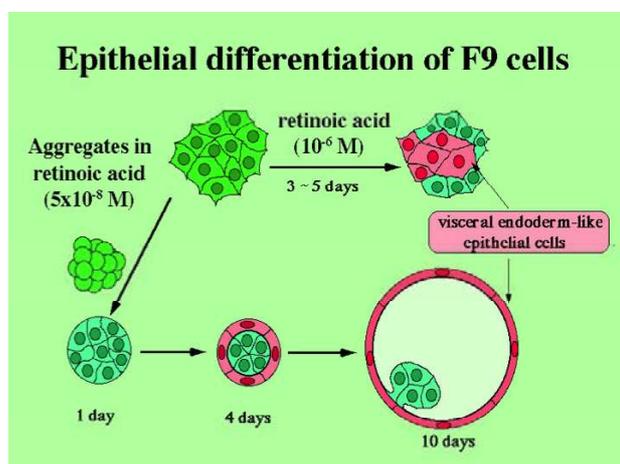


図1 単層培養条件下での上皮分化

高濃度のレチノイン酸で処理することにより、単層培養条件下でも、遺伝子発現、接着装置複合体の形成、頂端面形成などあらゆる点でF9細胞が上皮分化しうる事を明らかにした。

2) カテニン・プラコグロビンのF9細胞における遺伝子破壊

F9細胞におけるカテニンとプラコグロビン遺伝子の破壊は、ES細胞で通常用いられる標的組換えの技術を用いて行った。ただ、細胞レベルの場合はマウスを使った掛け合わせは出来ないため、遺伝子を一つずつ潰していく必要がある。そのため2つの工夫を行った。一つはターゲティング効率を少しでも上げるためにプロモータートラップ型のベクターを作成した。次に選択薬剤

を何度でも使えるように、薬剤耐性遺伝子をloxP配列で挟むことにより、Creで除去できるようにした。この系で既にカテニンの遺伝子破壊に成功している。本研究においてはまずカテニンの遺伝子破壊を行った。F9細胞ではカテニン遺伝子が3アリル存在しており、3回の連続した遺伝子破壊が必要となった。得られたカテニン欠損細胞ではほぼ完全な上皮分化が見られたことから、カテニンの接着および上皮構築における機能はプラコグロビンによってほぼ完全に相補されることが示された。次にカテニン欠損細胞で更にプラコグロビン遺伝子の破壊を行い、カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞の単離に成功した。得られた細胞は強力な接着能を完全に喪失しており、カテニン・プラコグロビンがカドヘリン依存性の強固な細胞間接着に必要であることが直接証明された(図2)。また得られた細胞においては細胞表面に存在するEカドヘリンの減少、Eカドヘリンの細胞質への局在がみられ、カテニン・プラコグロビンがカドヘリンの細胞内輸送に關与する可能性も示された(Fukunaga et al. 2005)。現在、p120と呼ばれる、もう一つのカドヘリン結合因子についても最後のアリルを残して破壊に成功している。また既にカテニンの欠損細胞の単離には成功している。これでカドヘリンの細胞質に結合すると考えられる因子すべての破壊の目処が立った。今後はこれらの細胞の上皮分化能や上皮組織構築の違いを比較することにより、それぞれの因子が果たす役割が解析可能になると考えている。

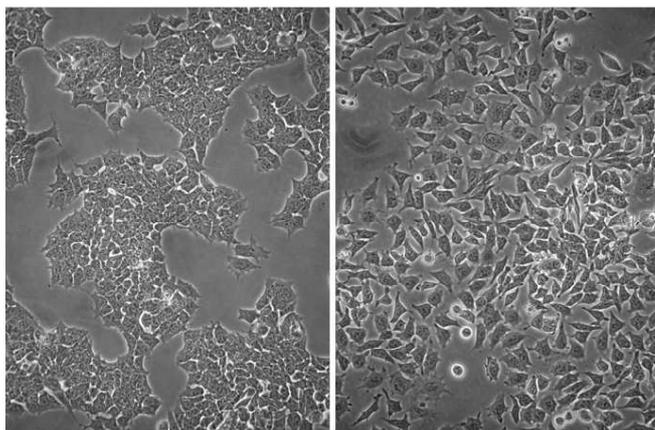


図2 カテニン・プラコグロビン二重欠損F9細胞

強い細胞間接着能をもち、単層培養条件下で、綺麗なコロニーを形成するF9細胞(左図)においてカテニン・プラコグロビンの遺伝子を完全に破壊すると、細胞の強い接着性は喪失し、細胞はコロニーを形成することが出来なくなった(右図)。

3) 上皮分化における遺伝子発現プロファイルの解析

上皮細胞分化に伴う遺伝子発現プロファイルの解析は、F9細胞、カテニン/プラコグロビン二重欠損細胞、さらに既に単離していたカテニン欠損細胞について、DNAチップを用いて行った。まずこのプロファイル解析から、単層培養細胞も細胞集塊も上皮分化させたときにはほとんど

同じ発現プロファイルを示すことが確認された。カテニン欠損細胞を上皮分化させた場合には F9 細胞を分化させた場合より、上皮特異的遺伝子の発現がより顕著になることが、逆に カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞ではそれら遺伝子の発現の減弱が見られた。これらの発現の変化の意味については現在解析を進めているところである。

4) 上皮極性形成機構の解析

上皮極性の形成機構を解析するために上皮細胞の特徴である頂端面局在分子の可視化を中心に進めた。頂端面局在分子としては単層上皮細胞のアピカル膜で t-SNARE としてはたらくシタキシン3と GFP タンパク質の融合タンパク質の発現ベクターを作製した。この融合タンパク質はこれまでの報告通り、分化した F9 細胞で頂端面への濃縮が見られた。面白いことに未分化 F9 細胞ではこの融合タンパク質は特徴的な局在を示さない。つまりシタキシン3だけでは頂端面の決定には不十分であることが明らかになった (Komiya et al., 2005)。

細胞間接着が上皮極性形成に及ぼす影響を調べるために、カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞を単層培養条件下で上皮分化誘導し、接着関連因子の局在、極性関連因子の局在、細胞の超微細形態について調べた。まずカテニン・プラコグロビンが発現していない細胞ではカドヘリンやカテニンの特徴的な局在は見られず、カドヘリンは細胞膜全体に、カテニンは細胞質全体に均質に分布した。接着関連因子の中では唯一ZO-1タンパク質が分化した細胞内で斑点状の局在を示した。さらに一部の細胞ではこのZO-1の斑点が綺麗な円状に並び首飾りのような局在を示した。このZO-1の首飾り状の局在を示す細胞は多くの場合細胞体の上に風船状の構造物を持つ特徴的な形態を示した。この細胞を走査型電子顕微鏡で観察したところ、風船状の構造物の表面は上皮の頂端面に特徴的な微柔毛が発達していることが分かった。先に作製したシタキシン3-GFP融合タンパク質を発現させた所、この頂端面マーカータンパク質も風船状の構造物の表面に局在した。さらに単層上皮細胞のアピカル面に特異的に局在するエズリンもこの風船状構造物の表面に局在し、細胞体の表面での局在は見られなかった。これらの結果から、カテニン・プラコグロビン欠損細胞に置いて細胞間接着は形成されないが、頂端面領域が形成されることが明らかになった。上皮細胞の極性形成においてはPAR-3複合体が重要な役割を果たすことが知られている。上記の単細胞上皮分化細胞において、PAR-3タンパク質の局在を調べたところ、興味深いことにZO-1タンパク質と同様の局在を示した。これまでPAR-3複合体の局在にはカドヘリン・カテニン複合体が形成するアドヘレンス・ジャンクションが重要な役割を果たしていると考えられていた。今回の結果から、PAR-3複合体はアドヘレ

ンス・ジャンクションや細胞間接着とは独立して、上皮細胞の頂端面と側底面の境界に局在していることが示された(Komiya et al. 論文準備中)(図3)。今後、PAR-3複合体の安定化などにおいてカドヘリン・カテニン複合体が果たす役割、カドヘリン・カテニン複合体の局在においてPAR-3複合体が果たす役割などについて、解析が必要である。

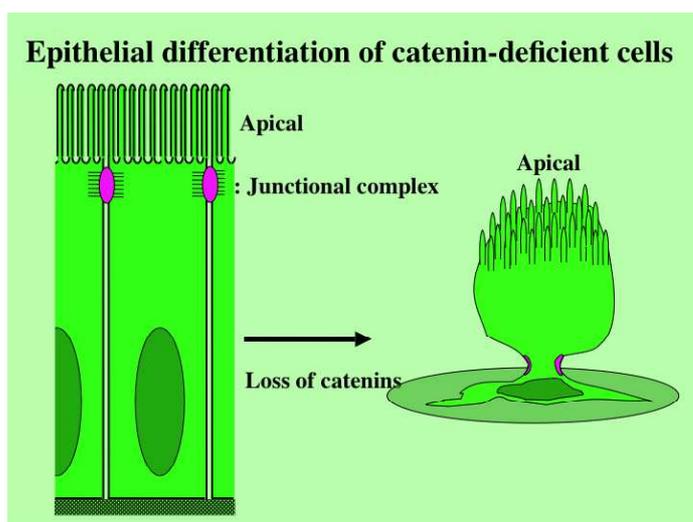


図3 カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞の上皮分化と極性形成

カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞を上皮分化誘導すると、周りの細胞と接着せず単細胞状態で上皮細胞極性を形成しうることを明らかにした。このとき元来細胞間接着領域に集まるPAR-3などの極性タンパク質は頂端面領域と側底面領域の境界(赤色)に局在した。

1)～4)の成果の位置づけ

近年、上皮細胞の極性形成機構については非常に多くの研究がなされている。その多くは個体レベルでの解析が可能なショウジョウバエを用いたものである。脊椎動物細胞については主に上皮細胞株を用いた解析が進められており、非上皮細胞が上皮細胞に分化する過程を観察することは出来なかった。本研究では培養条件下で上皮分化誘導が可能な実験系を確立した。これは、ほ乳類細胞で上皮分化過程における極性形成機構などの解析が可能になったことを意味し同分野の研究の発展に大きく寄与すると考えられる。また遺伝子破壊により個々の分子が上皮形成、上皮分化において果たす役割を直接調べられることを明確に示した点においても、本研究の価値は高いと考えられる。

(2)研究成果の今後の期待される効果

現在上皮極性形成は、多細胞動物の形態形成機構の解明という基礎学問的な意味からも、またガン細胞の形成機構という病理学的な観点からも大きな注目を浴びている研究分野である。上皮極性形成機構は生物種を越えて保存されているが、その詳細については各動物種におい

て微妙に異なる可能性が否定できない。特に細胞間接着機構はほ乳類細胞とショウジョウバエにおいては異なる点も多く、細胞間接着と極性形成との関連において、ほ乳類細胞でショウジョウバエと異なる機構が用いられている可能性は高い。今回、ほ乳類細胞を用いて上皮分化過程における極性形成機構を解析する実験系を立ち上げたことで、これまで主にショウジョウバエで進められてきた多くの実験結果がほ乳類においても当てはまるかどうかを確かめる事が可能になった。これは実際のヒトの細胞がガン化するときに細胞接着・細胞極性がどのように関与しているか知るための重要な知見になると考えられる。さらに今回の結果は将来再生医療の分野への応用も考えられる。現在、再生医療研究は特定の機能を持つ細胞の分化制御に主眼がおかれている。しかし、そのような細胞の分化制御が可能になった後、組織の再構築という次の問題が生じてくる。上皮組織構築は様々な組織が作られるときの主要な形態形成運動である。細胞接着と上皮極性形成の関係を分子レベルで明らかにしていくことは、組織の再構築を考える時の大きな足がかりになると考えられる。

文献：

Fukunaga, Y., H. Liu, M. Shimizu, S. Komiya, M. Kawasuji, and A. Nagafuchi. 2005. Defining the roles of beta-catenin and plakoglobin in cell-cell adhesion: Isolation of catenin/plakoglobin-deficient F9 cells. *Cell Struct Func.* 30:25-34.

Komiya, S., M. Shimizu, J. Ikenouchi, S. Yonemura, T. Matsui, Y. Fukunaga, H. Liu, F. Endo, S. Tsukita, and A. Nagafuchi. 2005. Apical membrane and junctional complex formation during simple epithelial cell differentiation of F9 cells. *Genes Cells.* 10:1065-1080.

4 研究参加者

研究グループ名：上村研究グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
上村 匡	京都大学大学院生命科学研究所	教授	研究の総括	平成12年11月～17年度
碓井 理夫	京都大学大学院生命科学研究所	助手	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成12年11月～17年度
島 康之	京都大学大学院生命科学研究所	CREST研究員	ほ乳類 Flamingo の機能解析	平成13年度～17年度
坪内 朝子	京都大学大学院生命科学研究所	CREST研究員	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成16年度～17年度
島田 裕子	京都大学大学院生命科学研究所	博士課程4年	平面内細胞極性の分子機構	平成13年度～17年度
山本 美暁	京都大学大学院生命科学研究所	博士課程4年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成13年度～17年度
木村 宏史	京都大学大学院理学研究所	博士課程3年	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成13年度～17年度
杉村 薫	京都大学大学院理学研究所	博士課程3年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成13年度～17年度
高坂 和芳	京都大学大学院理学研究所	博士課程2年	アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成14年度～17年度
佐藤 大祐	京都大学大学院理学研究所	博士課程2年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成14年度～17年度
川口 陽	京都大学大学院生命科学研究所	博士課程1年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成15年度～17年度
佐藤 太一	京都大学大学院生命科学研究所	修士課程1年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成16年度～17年度
二股 真由美	京都大学大学院生命科学研究所	研究補助員	研究全般の補助	平成15年度～17年度
北浦 真紀	京都大学大学院生命科学研究所	研究補助員	研究チームでの事務全般	平成13年度～17年度
春本 敏之	京都大学大学院生命科学研究所	博士課程1年	平面内細胞極性の分子機構	平成17年度
木村 香奈	京都大学大学院生命科学研究所	修士課程1年	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成17年度
今野 美知輝	京都大学理学部	四回生	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成17年度
岩崎 慎治	京都大学理学部	四回生	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成17年度
藤本 梓	京都大学理学部	四回生	樹状突起のパターン形成の分子機構	平成17年度
二村 はるか	京都大学理学部	四回生	アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成17年度
瀬原 慧祐	京都大学理学部	四回生	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成17年度
丹羽 隆介	京都大学	CREST研究員	アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成14年度～14年10月
浦 誠司	京都大学	CREST研究員	アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成14年度～16年3月
米倉 淳一郎	京都大学		アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成14年度～17年3月

鈴木 郁夫	京都大学理学部		アクチン骨格系を制御する新規フォスファターゼの機能解析	平成16年度～17年3月
上村 俊子	京都大学	研究補助員	研究全般の補助	平成13年度～14年5月
中村 友紀	京都大学	四回生	7回膜貫通型カドヘリンの神経突起形成における役割	平成16年度～17年3月

研究グループ名：見学グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
見学美根子	理化学研究所脳科学総合研究センター	チームリーダー	研究の総括	平成12年11月～17年度
佐々木信成	理化学研究所脳科学総合研究センター	研究員	神経突起パターンの形成機構	平成16年度～17年度
金清華	理化学研究所脳科学総合研究センター	研究員	DNERシグナルの機能解析	平成16年5月～17年度
永樂元次	理化学研究所脳科学総合研究センター	研究員	DNERシグナルの機能解析	平成12年11月～17年度
金子めぐみ	理化学研究所脳科学総合研究センター	技術員	研究全般の補助	平成16年度～17年度
福田徹子	理化学研究所脳科学総合研究センター	技術員	樹状突起分子の選択的輸送機構	平成17年度
栗栖純子	理化学研究所脳科学総合研究センター	技術員	研究全般の補助	平成17年度
梅嶋宏樹	京都大学大学院理学研究科	博士課程2年	顆粒細胞移動のダイナミクスの解析	平成13年度～17年度
藤島和人	京都大学大学院理学研究科	博士課程2年	Sept in3の分子動態と機能解析	平成13年度～17年度
横山斉輔	京都大学大学院理学研究科	修士課程2年	樹状突起分子の選択的輸送機構	平成15年度～17年度
河路光介	京都大学大学院理学研究科		顆粒細胞移動のダイナミクスの解析	平成13年度～14年3月
石井貴美子	京都大学	研究補助員	研究全般の補助	平成13年度～15年3月

研究グループ名：田畑グループ

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
田畑 秀典	慶應義塾大学・医学部・解剖	助手	研究総括&神経細胞間相互作用と細胞移動の解析	平成12年11月～17年度
仲嶋 一範	慶應義塾大学・医学部・解剖	教授	新規遺伝子導入法の開発と皮質形成への応用	平成12年11月～17年度
久保健一郎	慶應義塾大学・医学部・解剖&精神神経科	助手、研修医	リーリン受容体を介するリーリンの機能発現機構の解析	平成13年度～16年度
味岡 逸樹	慶應義塾大学・医学部・解剖	助手	選択的配座を担う分子群の同定とリーリン機能の分子細胞生物学的解析	平成13年度～17年度
本田 岳夫	慶應義塾大学・医学部・解剖	助手	発生期脳における神経細胞の移動配列に伴う制御機構の解明	平成13年度～17年度
佐々木慎二	慶應義塾大学・医学部・解剖	助手	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成15年度～17年度

衛藤 薫	慶應義塾大学・医学部・解剖&女子医大	共同研究員	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成15年度～17年度
工藤千加子	慶應義塾大学・医学部・解剖&慈恵医大	博士課程4年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成14年度～17年度
四津 真人	慶應義塾大学・医学部・解剖	博士課程3年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成15年度～17年度
権田 裕子	慶應義塾大学・医学部・解剖	博士課程3年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成15年度～17年度
刀川 夏詩子	慶應義塾大学・医学部・解剖	博士課程2年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成16年度～17年度
金谷 繁明	慶應義塾大学・医学部・解剖	博士課程2年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成16年度～17年度
小坂 晃一	慶應義塾大学・医学部・解剖	博士課程1年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成17年度～17年度
得田 久敬	慶應義塾大学・医学部・解剖	修士課程2年	神経細胞移動と皮質形成の制御機構	平成16年度～17年度
船戸 和弥	慶應義塾大学・医学部・解剖	技術員	実験補助	平成15年度～17年度
金井 篤子	慶應義塾大学・医学部・解剖	研究補助員	実験動物の飼育・管理、実験補助	平成13年度～17年度
佐藤 智子	慶應義塾大学・医学部・解剖	研究補助員	試薬調整、実験補助	平成14年～15年度

研究グループ名：永淵グループ（永淵昭良）

氏名	所属	役職	担当する研究項目	参加時期
永淵 昭良	熊本大学・発生医学研究センター	教授	総括	平成12年11月～17年度
清水 正幸	熊本大学・発生医学研究センター	助手	細胞内シグナル伝達	平成13年度～17年度
福永 剛隆	熊本大学医学部大学院	博士課程5年	カドヘリンの接着制御機構	平成13年度～17年度
小宮 智	熊本大学医学部大学院	博士課程5年	上皮極性形成機構	平成13年度～17年度
富永 純司	熊本大学医学部大学院	博士課程2年	細胞内シグナル伝達と細胞接着	平成16年度～17年度
曲棍 智子	熊本大学・発生医学研究センター	研究補助員	研究全般の補助	平成17年9月～17年度
森川 恵理香	熊本大学・発生医学研究センター	研究補助員	研究全般の補助	平成13年度～17年度
吉永 朋代		博士課程終了		平成14年度～16年度
糟谷 泰代		研究補助員		平成15年1月～15年12月
中村 恭子		博士課程終了		平成15年1月～17年度
山口 卓二		博士課程転籍		平成15年4月～16年10月

5 成果発表等

(1)論文発表 (海外 36 件)

2000 年

Takahashi N, Ishihara S, Takada S, Tsukita S, Nagafuchi A. Posttranscriptional regulation of alpha-catenin expression is required for Wnt signaling in L cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 277, 691-8. 2000.

Tachibana K, Nakanishi H, Mandai K, Ozaki K, Ikeda W, Yamamoto Y, Nagafuchi A, Tsukita S, Takai Y. Two cell adhesion molecules, nectin and cadherin, interact through their cytoplasmic domain-associated proteins. *J Cell Biol.* 150, 1161-76. 2000.

Miyagishi M, Fujii R, Hatta M, Yoshida E, Araya N, Nagafuchi A, Ishihara S, Nakajima T, Fukamizu A. Regulation of Lef-mediated transcription and p53-dependent pathway by associating beta-catenin with CBP/p300. *J Biol Chem.* 275, 35170-5. 2000.

2001 年

Yuko Shimada, Tadao Usui, Shinichi Yanagawa, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Asymmetric colocalization of Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin, and Dishevelled in planar cell polarization. *Current Biology* 11: 859-63 (2001).

Youhei Kataoka, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Developmental roles and molecular characterization of a Drosophila homologue of Arabidopsis *Argonaute1*, the founder of a novel gene superfamily. *Genes to Cells* 6:313-25 (2001).

Takao Yamasaki, Kousuke Kawaji, Katsuhiko Ono, Haruhiko Bito, Tomoo Hirano, Noriko Osumi, and Mineko Kengaku. *Pax6* regulates granule cell polarization during parallel fiber formation in the developing cerebellum. *Development* 128: 3133-3144, 2001.

Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima. Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brain using electroporation: Visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience* 103: 865-872 (2001)

2002 年

Ryusuke Niwa, Kyoko Nagata-Ohashi, Masatoshi Takeichi, Kensaku Mizuno, and Tadashi Uemura. Control of actin reorganization by Slingshot, a novel family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin. *Cell*, 108: 233-246 (2002).

Youichi Iwai, Yuki Hirota, Koichi Ozaki, Hideyuki Okano, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. *DN-Cadherin* is required for spatial arrangement of nerve terminals and ultrastructural organization of

synapses. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 19: 375-388 (2002).

Yasuyuki Shima, Neal G. Copeland, Debra J. Gilbert, Nancy A. Jenkins, Osamu Chisaka, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Differential Expression of the Seven-pass Transmembrane Cadherin Genes *Celsr1-3* and Distribution of the Celsr2 Protein during Mouse Development. *Developmental Dynamics*, 223: 321-332 (2002).

Shigeo Hayashi, Kei Ito, Yukiko Sado, Misako Taniguchi, Hiroko Takeuchi, Toshiro Aigaki, Fumio Matsuzaki, Hideki Nakagoshi, Teiichi Tanimura, Ryu Ueda, Tadashi Uemura, Motojiro Yoshihara, Satoshi Goto. GETDB, a database compiling expression patterns and molecular locations of a collection of Gal4 enhancer traps. *Genesis*, 34:58-61 (2002).

Mototsugu Eiraku, Yutaka Hirata, Hiroshi Takeshima, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. Delta/Notch-like EGF-related Receptor (DNER), a novel EGF-like repeat-containing protein targeted to dendrites of developing and adult central nervous system neurons. *J. Biol. Chem.* 277, 25400-25407, 2002.

Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima. Neurons tend to stop migration and differentiate along the cortical internal plexiform zones in the Reelin signal-deficient mice. *J. Neurosci. Res.* 69: 723-730 (2002)

2003 年

John E. Reuter, Timothy M. Nardine, Andrea Penton, Pierre Billuart, Ethan K. Scott, Tadao Usui, Tadashi Uemura, and Liqun Luo. A mosaic genetic screen for genes necessary for *Drosophila* mushroom body neuronal morphogenesis. *Development*, 130: 1203-1213 (2003).

Michiru Nishita, Yan Wang, Chinatsu Tomizawa, Akira Suzuki, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno. Phosphoinositide 3-kinase-mediated activation of cofilin phosphatase Slingshot and its role for insulin-induced membrane protrusion. *J. Biol. Chem.* 279:7193-7198 (2003).

Kaoru Sugimura, Misato Yamamoto, Ryusuke Niwa, Daisuke H. Sato, Satoshi Goto, Misako Taniguchi, Shigeo Hayashi, and Tadashi Uemura. Distinct developmental modes and lesion-induced reactions of dendrites of two classes of *Drosophila* sensory neurons. *J. Neuroscience* 23:3752-3760 (2003).

Kirsten-André Senti, Tadao Usui, Urs Greber, Tadashi Uemura#, and Barry J. Dickson#. Flamingo regulates R8 axon-axon and axon-target interactions in the *Drosophila* visual system. *Current Biology* 13:828-832 (2003). #: corresponding authors.

Yusaku Ohta, Kazuyoshi Kousaka, Kazumasa Ohashi, Kyoko Ohashi-Nagata, Yasuyuki Shima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno. Differential activities and expression patterns of three mouse members of Slingshot, a family of phosphatases that dephosphorylate cofilin. *Genes to Cells* 8:811-24 (2003).

Noriko Kaji, Kazumasa Ohashi, Mika Shuin, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno. Cofilin

activation by Slingshot is required to complete cytokinesis in animal cells. *J. Biol. Chem.* 278:33450-5 (2003).

Subramanian A., A.Prokop, M.Yamamoto, K.Sugimura, T.Uemura, J.Betschinger, J.A.Knoblich and T.Volk. Shortstop recruits EB1/APC1 and promotes microtubule assembly at the muscle –tendon junction. *Current Biology* 13: 1086-1095 (2003).

Mitsuharu Endo, Kazumasa Ohashi, Yukio Sasaki, Yoshio Goshima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno. Control of growth cone motility and morphology by LIM-kinase and Slingshot via phosphorylation and dephosphorylation of cofilin. *J. Neuroscience*, 23:2527-2537 (2003).

Itsunari Minami, Mineko Kengaku, Peter S. Smitt, Ryuichi Shigemoto, Tomoo Hirano. Long-term potentiation of mGluR1 activity by depolarization-induced Homer1a in mouse cerebellar Purkinje neurons. *Eur. J. Neurosci.* 17, 1023-1032, 2003.

Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima. Multipolar migration: the third mode of radial neuronal migration in the developing cerebral cortex, *Journal of Neuroscience*, 23, 9996-10001 (2003)

2004 年

Kyoko Nagata-Ohashi, Yusaku Ohta, Kazumichi Goto, Shuhei Chiba, Reiko Mori, Michiru Nishita, Kazumasa Ohashi, Kazuyoshi Kousaka, Akihiro Iwamatsu, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura and Kensaku Mizuno. Activation of cofilin phosphatase Slingshot by actin filaments and its negative regulation by 14-3-3 proteins. *Journal of Cell Biology.* 165: 465-471(2004).

Kaoru Sugimura, Daisuke Satoh, Patricia Estes, Stephen Crews, and Tadashi Uemura. Development of morphological diversity of dendrites in *Drosophila* by the BTB-zinc finger protein Abrupt. *Neuron*, 43: 809-822 (2004).

Yasuyuki Shima, Mineko Kengaku, Tomoo Hirano, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Control of dendritic maintenance and growth by a mammalian 7-pass transmembrane cadherin, *Celsr2*. *Developmental Cell*, 7:205-216 (2004).

Kousuke Kawaji, Hiroki Umeshima, Mototsugu Eiraku, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. Dual modes of migration of cerebellar granule cells guided by axonal and dendritic leading processes. *Mol. Cell. Neurosci.* 25, 228-240, 2004.

Masato Yozu, Hidenori Tabata, Kazunori Nakajima. Birth-date dependent alignment of GABAergic neurons occurs in a different pattern from that of non-GABAergic neurons in the developing mouse visual cortex. *Neurosci. Res.* 49(4), 395-403 (2004)

2005 年

Mototsugu Eiraku, Akira Tohgo, Katsuhiko Ono, Kazuto Fujishima, Megumi Kaneko, Tomoo Hirano and Mineko Kengaku. DNER acts as a neuron-specific Notch ligand during Bergmann glial development. *Nat. Neurosci.* 8(7), 873-880, 2005.

Masato Yozu, Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. The caudal migratory stream: a novel migratory stream of interneurons derived from the caudal ganglionic eminence in the developing mouse forebrain. *J Neurosci*, 25(31), 7268-7277 (2005)

Fukunaga, Y., H. Liu, M. Shimizu, S. Komiya, M. Kawasuji, and A. Nagafuchi. Defining the roles of beta-catenin and plakoglobin in cell-cell adhesion: Isolation of catenin/plakoglobin-deficient F9 cells. *Cell Struct Func.* 30:25-34. 2005.

Komiya, S., M. Shimizu, J. Ikenouchi, S. Yonemura, T. Matsui, Y. Fukunaga, H. Liu, F. Endo, S. Tsukita, and A. Nagafuchi. Apical membrane and junctional complex formation during simple epithelial cell differentiation of F9 cells. *Genes Cells.* 10:1065-1080. 2005.

Yuko Shimada, Shigenobu Yonemura, Hiro Okura, David Strutt, and Tadashi Uemura. Polarized transport of Frizzled and microtubule array along the planar axis in *Drosophila* wing epithelium. *Developmental Cell*, in press.

Hiroshi Kimura, Tadao Usui, Asako Tsubouchi, and Tadashi Uemura. Potential dual molecular interactions of the *Drosophila* 7-pass transmembrane cadherin Flamingo in dendritic morphogenesis. *Journal of Cell Science*, in press.

Akira Tohgo, Mototsugu Eiraku, Taisuke Miyazaki, Eriko Miura, Shin-ya Kawaguchi, Miyuki Nishi, Masahiko Watanabe, Tomoo Hirano, Mineko Kengaku and Hiroshi Takeshima. Impaired cerebellar functions in mutant mice lacking DNER. *Mol. Cell. Neurosci.* in press

Hong-Lin Su, Keiko Muguruma, Mami Matsuno-Takasaki, Mineko Kengaku, Kiichi Watanabe and Yoshiki Sasai. Generation of Cerebellar granule neuron precursors from embryonic stem cells. *Dev. Biol.* in press

(2)総説など (国内 24 件、海外 5 件)

2000 年

Takeichi, M., Nakagawa, S., Aono, S., Usui, T., and Uemura, T. Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 885-890.2000.

碓井理夫、上村匡：「平面内細胞極性形成の分子機構 Molecular Mechanism of Planar Cell Polarity Formation」細胞工学 19, 1627-1633. 2000.

2001 年

永淵昭良. カドヘリン・カテニン複合体とシグナル伝達関連因子
実験医学 増刊 20 巻 2 号 119-124 頁 2001.

田畑秀典、仲嶋一範. 子宮内マウス胎仔脳に対する電気穿孔法を用いた遺伝子導入法と神経細胞
移動の可視化. 実験医学, 19(10), 1251-1255 (2001)

田畑秀典、仲嶋一範. 発生期の脳における神経細胞移動の可視化. 「クローズアップ実験法 1999-2001」羊土
社, 3月1日 (2001)

2002 年

丹羽隆介、上村匡. アクチン脱重合因子 ADF/コフィリンを脱リン酸化するフォスファターゼ Slingshot. 実験医
学 20: 2354-2356 (2002).

見学美根子. 小脳の層形成と顆粒細胞の移動. 実験医学増刊 92 号「脳・神経研究のフロンティア」、97-104,
2002.

田畑秀典、仲嶋一範. 大脳皮質細胞の移動様式. 蛋白質 核酸 酵素 47(15): 1994-2001 (2002).

永淵昭良. カテニン、カテニン. 「ダイナミックな細胞骨格再編・細胞運動はどのようにして起こるのかーそ
の制御のシグナルー」竹縄忠臣編 2-2-3 章 80-86 頁 2002.

2003 年

Tadashi Uemura and Yuko Shimada. Breaking cellular symmetry along planar axes in Drosophila and
vertebrates. *Journal of Biochemistry (Tokyo)*. 134:625-30 (2003).

上村匡. 細胞の非対称性を生み出し、増幅・維持するメカニズム. 実験医学 21: 444-446 (2003).

島田裕子、碓井理夫、上村匡. 平面内細胞極性の不思議. 実験医学 21: 452-459 (2003).

見学美根子. 神経細胞の移動. 三輪書店「脳神経科学」伊藤正男編、177-188, 2003.

田畑秀典、仲嶋一範. 神経(発生過程における細胞移動). *Molecular Medicine* 40(臨時増刊号「再生医学」):
287-297 (2003)

Takao Honda, Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima

Cellular and molecular mechanisms of neuronal migration in neocortical development, *Semin. Cell Dev. Biol.*,
14, 169-174 (2003)

田畑秀典、仲嶋一範、エレクトロポレーション法による子宮内胎仔脳への遺伝子導入、実験医学別冊 注目のバイオ実験シリーズ 必ず上手いく 遺伝子導入と発現解析プロトコール、38-45 (2003)

永淵昭良。細胞間相互作用。「改訂第二版 分子生物学イラストレイテッド」田村隆明 山本雅編 第6章-1 208-213 頁 2003.

2004年

上村匡。7回膜貫通型カドヘリンによる樹状突起伸長。p145-156。「ブレインサイエンスレビュー2004」(2004).

杉村薫、木村宏史、上村匡。樹状突起のパターンの多様性を支える機構の解明に向けて。蛋白質核酸酵素(臨時増刊「神経回路の機能発現のメカニズム」)49: 310-316 (2004).

丹羽隆介、上村匡。コフィリンフォスファターゼ Slingshot と発生における細胞の形態調節。p108-113。「細胞骨格・運動がわかる—その制御機構とシグナル伝達ネットワーク」(羊土社、編集:三木裕明)(2004).

上村匡。第14章 生殖。p136-141。「生命科学」(東京化学同人、編集:柳田充弘・佐藤文彦・石川冬木)(2004).

上村匡。第15章 卵から成体へ。p142-151。「生命科学」(東京化学同人、編集:柳田充弘・佐藤文彦・石川冬木)(2004).

見学美根子、梅嶋宏樹。「小脳顆粒細胞の移動」。蛋白質核酸酵素増刊号 49 「神経回路の機能発現のメカニズム」、255-260, 2004.

清水正幸、永淵昭良。細胞接着[1] 細胞-細胞間相互作用 111-120頁。「キーワードで理解するシグナル伝達イラストマップ」第2部-7。(羊土社、編修:山本雅 仙波憲太郎)(2004).

2005年

碓井理夫と上村匡、平面内細胞極性:グローバルな非対称性と単一細胞レベルの極性化を結ぶロバストなシステム。蛋白質核酸酵素、臨時増刊号「発生システムのダイナミクス」。50: 601-607 (2005).

永樂元次、見学美根子。小脳ニューロン・グリアの細胞形態形成を制御する細胞間相互作用。神経研究の進歩 49「脳の発生分化と回路形成」, 67-76, 2005.

Shigeaki Kanatani, Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. Neuronal migration in cortical development. J Child Neurol, 20(4), 274-279 (2005)

Mineko Kengaku. Neuronal migration. Springer Encyclopedic Reference of Neuroscience. in press.

福永剛隆、富永純司、永淵昭良。カドヘリン接着機構における カテニン・プラコグロビンの新たな役割。蛋白

質核酸酵素、増刊号「細胞骨格と接着」。印刷中

(3)口頭発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

招待、口頭講演 (国内 71 件、海外 12 件)

2000 年

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST):神経細胞の single-cell patterning: 7回膜貫通型カドヘリンによる調節。第 23 回日本神経科学大会シンポジウム「神経系の形作りの原理を求めて」、横浜、2000.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST):神経系と上皮の single-cell patterning: 7回膜貫通型カドヘリンによる調節。第 73 回日本生化学会大会シンポジウム「多細胞系構築の基盤となる細胞の接着と極性化のダイナミクス」、横浜、2000.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST):神経系と上皮の single-cell patterning. 大阪大学蛋白研セミナー「非対称分裂と細胞極性」、大阪、2000.

Uemura, T. (Kyoto Univ., CREST-JST): Regulation of axon and dendrite patterning by the seven-pass transmembrane cadherin. Gordon Research Conference“Molecular and Cellular Neurobiology”. Hong Kong, 2000.

Uemura, T. (Kyoto Univ., CREST-JST): Control of epithelial and neuronal cell patterning by the seven-pass transmembrane cadherin. 41th Annual Society of Cell Biology Conference. San Francisco, U.S.A. 2000.

見学美根子(京都大学理学研究科・CREST-JST)、山崎崇生、河路光介、大隅典子、平野丈夫.小脳顆粒細胞の遊走を制御する Pax6 の機能解析.第 23 回日本神経科学学会、神経回路学会合同大会シンポジウム「脳の形成と神経細胞の移動 -分子制御の cutting edge」、横浜、2000.

見学美根子(京都大学理学研究科・CREST-JST)、山崎崇生、河路光介、永楽元次、平野丈夫、大隅典子.小脳顆粒細胞の遊走と極性化を制御する Pax6 の機能.第 73 回日本生化学会大会シンポジウム「多細胞系構築の基盤となる細胞の接着と極性化のダイナミクス」、横浜、2000.

永淵昭良(熊本大学発生研・CREST-JST)、前野良人、月田承一郎:カドヘリン接着の制御機構。第 53 回日本細胞生物学会大会シンポジウム「細胞の極性と接着」、福岡、2000.

2001 年

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Control of epithelial and neuronal cell patterning by the seven-pass transmembrane cadherin Flamingo. The British Societies for Developmental Biology and Cell Biology “Cell and tissue morphogenesis”. Brighton, UK on April 3-6, 2001.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST). Control of epithelial and neuronal cell patterning by the seven-pass transmembrane cadherin Flamingo. 第54回日本細胞生物学会大会、シンポジウム「神経細胞の移動と形作りのメカニズム」、岐阜、5月30-6月1日、2001.

丹羽隆介(京都大学ウイルス研)、永田一大橋恭子、竹市雅俊、水野健作、上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST):新規フォスファターゼ Slingshot はコフィリンを脱リン酸化する. 第24回分子生物学会、ワークショップ「蛋白質リン酸化反応からみる植物からヒトまでの生命現象」、横浜、12月9-12日、2001.

見学美根子(京都大学理学研究科・CREST-JST)、山崎崇生、河路光介、小野勝彦、尾藤晴彦、大隅典子、平野丈夫.小脳顆粒細胞の軸索伸長と細胞移動を制御する転写因子 Pax6の機能.第78回日本生理学会大会シンポジウム「神経細胞移動制御の分子メカニズム」、京都、2001.

見学美根子(京都大学理学研究科・CREST-JST)、山崎崇生、永楽元次、河路光介.小脳顆粒細胞の形態分化と移動を制御する内在性極性化因子の探索.第54回日本細胞生物学会大会シンポジウム「神経細胞の移動とカタチ作りのメカニズム」、岐阜市、2001.5.29.

見学美根子(京都大学院理学研究科・CREST-JST)、山崎崇生、永楽元次、河路光介.小脳顆粒細胞の形態分化と移動を制御する内在性極性化因子の探索.第54回日本細胞生物学会大会、シンポジウム「神経細胞の移動とカタチ作りのメカニズム」岐阜、2001.5.30.

永楽元次(京都大学理学研究科)、河路光介、見学美根子.小脳顆粒細胞の移動と形態の極性を司る分子の探索.第24回日本分子生物学会大会シンポジウム「神経細胞の形態と運動制御から見たネットワーク形成」、横浜、2001.12.10.

仲嶋一範(慈恵会医科大学)、田畑秀典:神経細胞移動の可視化と特異的配置の機構.第78回日本生理学会大会シンポジウム「神経細胞移動制御の分子メカニズム」、京都、2001.(3月)

田畑秀典(慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範.エレクトロポレーターを用いた子宮内マウス胎仔大脳へのプラスミド直接導入法.第24回日本分子生物学会バイオテクノロジーセミナー、横浜、12月10日.2001

仲嶋一範(慈恵会医科大学)、田畑秀典.大脳皮質形成のメカニズム -- 移動するニューロンの旅路と着地点の制御.第24回日本分子生物学会年会、横浜、12月10日.2001

仲嶋一範(慈恵会医科大学)、田畑秀典.大脳皮質層形成のメカニズム.第24回日本神経科学・第44回日本神経化学 合同大会(Neuro2001)シンポジウム、京都、9月26日.2001

永淵昭良(熊本大学発生研・CREST-JST).細胞増殖におけるカドヘリン・カテニン複合体の役割.第74回日本生化学会大会シンポジウム「細胞接着システムの多様性と相互依存性」、京都、10月25-28日、2001.

2002年

上村匡 . (京都大学ウイルス研・CREST-JST)細胞突起の形成:上皮細胞そして神経細胞の場合 . 日本分子生物学会・第 2 回春季シンポジウム、広島、5 月 10-12 日、2002 .

丹羽隆介(京都大学ウイルス研・CREST-JST)、永田一大橋恭子、竹市雅俊、水野健作、上村匡 . Control of Actin Reorganization by Slingshot, a Novel Family of Phosphatases that Dephosphorylate ADF/Cofilin. 日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会 . シンポジウム「細胞骨格のダイナミズムに支配される形態形成」、横浜、5 月 21-23 日、2002 .

丹羽隆介(京都大学ウイルス研・CREST-JST)、永田一大橋恭子、竹市雅俊、水野健作、上村匡 . Control of Actin Reorganization by Slingshot, a Novel Family of Phosphatases that Dephosphorylate ADF/Cofilin. 日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会 . シンポジウム「細胞骨格のダイナミズムに支配される形態形成」、横浜、5 月 21-23 日、2002 .

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Reorganization of actin cytoskeleton during formation of epithelial processes in vivo. Gordon Research Conference "Signaling by adhesion receptors". Connecticut College, USA on July 14-19, 2002.

上村匡 . (京都大学ウイルス研・CREST-JST)平面内細胞極性の形成における極性制御分子の動態 . 第 25 回日本分子生物学会、シンポジウム「細胞極性:細胞の非対称性を生み出し、増幅・維持する分子機構」横浜、12 月 11-14 日、2002 .

大橋-永田恭子(東北大学)、丹羽隆介、太田裕作、大橋一正、上村匡、水野健作 . 新規コフィリンホスファターゼ Slingshot の構造-活性相関解析 . 第 25 回日本分子生物学会、ワークショップ「リン酸化修飾による蛋白質の構造と機能の変化」横浜、12 月 11-14 日、2002 .

見学美根子(京都大学理学研究科・CREST-JST)、永楽元次、藤島和人 . 小脳顆粒細胞の方向転換期に発現する新規膜タンパク質 DNER の機能解析 . 第 25 回日本神経科学学会大会シンポジウム「神経細胞移動のメカニズム」、東京、2002.7.7.

永楽元次(京都大学理学研究科)、藤島和人、見学美根子 . 神経細胞樹状突起に局在する膜タンパク質 DNER の機能解析 . 第 25 回日本分子生物学会大会ワークショップ「形態形成における細胞の移動・分化のシグナルとその制御機構」、横浜、2002.12.12.

田畑秀典(慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範、大脳皮質における移動神経細胞の段階的な移動様式の変化、第 25 回日本分子生物学会年会、シンポジウム「細胞骨格の制御と細胞遊走」、横浜、12 月 13 日、2002 .

Kazunori Nakajima (Jikei Univ.), and Hidenori Tabata, Dynamic morphological changes of migrating neurons in the cortical development, Cortical Development: Neurogenesis, migration and epilepsy, Delphi, Greece, May 23-26, 2002

田畑秀典(慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範、発生期大脳皮質における移動神経細胞のダイナミックな形態変化、第45回神経化学学会大会、札幌、7月17-19日、2002

仲嶋一範(慈恵会医科大学)、田畑秀典、大脳皮質神経細胞の移動様式と層形成、第25回日本神経科学大会、シンポジウム「神経細胞移動のメカニズム」、東京、7月7日-9日、2002

永淵昭良(熊本大学発生研・CREST-JST)。The roles of beta-catenin and plakoglobin in epithelial morphogenesis. 第55回日本細胞生物学会・第35回日本発生生物学会合同大会シンポジウム「Morphogenetic regulation of cell adhesion and movement by E-cadherin dynamics.」、横浜、5月21-23日、2002.

永淵昭良(熊本大学発生研・CREST-JST、熊本大21世紀COE)。カテニンによるE型カドヘリンの細胞内分布調節機構。第25回日本分子生物学会年会ワークショップ「病原微生物とその受容体の宿主極性細胞での輸送機構」、東京、12月11-14日、2002.

2003年

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST), Kaoru Sugimura, Misato Yamamoto, Ryusuke Niwa, Daisuke Sato, Satoshi Goto, Misako Taniguchi, Shigeo Hayashi. 感覚神経細胞の樹状突起形成の多様性。CDB2003シンポジウム、神戸、3月5-9日、2003.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST)。感覚細胞のクラス特異的な樹状突起のパターン形成。第56回日本細胞生物学会大会、大津、滋賀、5月14-16日、2003.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST)。樹状突起のパターン形成:その多様性を生み出す基盤。平成15年生理学研究所研究会「神経可塑性の分子的基盤」、岡崎、5月29日、2003.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Towards understanding the basis of morphological diversity of dendritic trees. 6th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE. Prague, Czech on July 10-15, 2003.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST)。Towards understanding the basis of morphological diversity of dendritic trees. ショウジョウバエ研究会第6回研究集会/日韓シンポジウム。こまばエミナース、東京、7月29日-8月1日、2003.

碓井理夫(京都大学ウイルス研)、Kirsten-Andre Senti, Barry J. Dickson、上村 匡。Flamingo Regulates R8 Axon-Axon and Axon-Target Interactions in the Drosophila Visual System. ショウジョウバエ研究会第6回研究集会/日韓シンポジウム。こまばエミナース、東京、7月29日-8月1日、2003.

木村宏史(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、上村 匡。Structure-functional analysis of Flamingo in dendritic morphogenesis. ショウジョウバエ研究会第6回研究集会/日韓シンポジウム。こまばエミナース、東京、7月29

日-8月1日、2003.

大橋一正(東北大学)、渡邊琢也、丹羽隆介、上村匡、水野健作. LIM キナーゼと SSH によるラメリポディア内のアクチン線維ターンオーバーの制御 / 第 76 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、神奈川、10 月 15 日-18 日、2003.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST). 神経細胞の入力受容装置・樹状突起のパターン形成. 広島大学・自然科学研究支援開発センター 第 18 回公開学術講演会 遺伝子科学のフロンティア. 広島、10 月 17 日、2003.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Analysis of roles of a seven-pass transmembrane cadherin in dendrite patterning by biolistic transfection of DNA vectors expressing siRNA. The 10th East Asian Joint Symposium on Biomedical Research, Kyoto on Nov. 18 and 19, 2003.

上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST). Intrinsic and extrinsic control of shaping dendrites スイスとの学振共同セミナー「発生生物学の進歩: 遺伝子、細胞そしてボディープラン」、大仁、静岡、11 月 23-26 日、2003.

島康之(京都大学ウイルス研)、木村宏史、上村匡. 樹状突起形成・維持において 7 回膜貫通型カドヘリンが果たす役割—脳スライス培養と RNAi を組み合わせた解析—. 第 26 回日本分子生物学会、神戸、12 月 10-13 日、2003.

杉村薫(京都大学ウイルス研)、佐藤大祐、Steve Crew、上村匡. 樹状突起のパターン形成の多様性を支える分子機構. 第 26 回日本分子生物学会、神戸、12 月 10-13 日、2003.

Mineko Kengaku (Kyoto Univ., CREST-JST). DNER signaling regulates branching formation of dendrites and glial fibers. International Symposium “Dynamics of Neural Development”, Osaka, 2003.8.11.

永樂元次(京都大学理学研究科)、平野丈夫、見学美根子. Functional analysis of DNER in the developing CNS neurons. 第 76 回日本生化学会大会シンポジウム「神経ネットワークの分子実体」に迫る」、横浜、2003.10.7.

Kazunori Nakajima (Keio Univ.) and Hidenori Tabata, Dynamics of cerebral cortical development, 第 56 回日本細胞生物学会大会(滋賀県大津市)平成 15 年 5 月 14 日 ~ 16 日 (2003)

Kazunori Nakajima (Keio Univ.) and Hidenori Tabata, “Visualization of neuronal migration using *in utero* electroporation” Symposium “Evolving roles of radial glia”, 6th IBRO (International Brain Research Organization) World Congress of Neuroscience (Prague), 2003 年 7 月 10 ~ 15 日(2003)

Kazunori Nakajima (Keio Univ.) and Hidenori Tabata, Neuronal Migration in the Cerebral Cortical Development, 未来開拓学術推進事業研究プロジェクト 国際シンポジウム International Symposium on

“Development and Regeneration of the Nervous System” (岡崎)、2003年12月5日～6日(2003)

2004年

島田裕子(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡. 平面内細胞極性形成における7回膜貫通型レセプター Frizzled の極性輸送と微小管ネットワーク. 京都大学ウイルス研コロキウム「膜輸送研究の新展開」、2月14日-2月15日、2004.

上村匡(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST). 樹状突起のパターン形成の調節. 徳島大学大学院医科学修士課程「発生・分化・再生医学特論」、6月8日、2004.

島康之(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、上村匡. 樹状突起形成における7回膜貫通型カドヘリンの役割: DNA ベクターを利用した RNA 干渉による knock down アプローチ. 国際シンポジウム“Dynamics of Neural Development”、大阪、8月10日-8月11日、2004.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Extrinsic and intrinsic control of dendritic shaping. Neuro 2004, Osaka, September 22, 2004.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Intrinsic and extrinsic control of shaping dendritic trees. RIKEN BSI, November 10, 2004.

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.) and Tadashi Uemura. Molecular basis of morphological diversity of dendrites. The 3rd International Student Seminar, Kyoto, November 25, 2004.

上村匡(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST). 上皮平面内における Frizzled の極性輸送. 基生研研究会「第2回 生体シグナルの可視化を目指して」、岡崎、12月2-3日、2004.

上村匡(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST). 平面内細胞極性形成における Frizzled の極性輸送と微小管の偏った配向. 第27回日本分子生物学会、神戸、12月8日-11日、2004.

梶紀子(東北大学)、上村匡、水野健作. 細胞質分裂におけるコフィリン、LIM キナーゼ、Slingshot の役割. 第27回日本分子生物学会、神戸、12月8日-11日、2004.

Eiraku M (RIKEN BSI), Yokoyama S, Fujishima K and Kengaku M. Contact-dependent regulation of process arborization of neurons and glia involves Delta/Notch-like EGF-related Receptor (DNER). The 6th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, Hong Kong, 2004.2.4.

見学美根子(理研 BSI・CREST-JST). 中枢神経系の神経・グリア突起のパターン形成を司る DNER の機能解析. 第3回日本再生医療学会、東京、2004.3.24.

Mineko Kengaku (RIKEN BSI, CREST-JST). Neuron-derived Delta/Notch-like EGF-related Receptor (DNER) regulates gliogenesis in the developing mouse cerebellum, Kobe Meeting on Vertebrate Brain Development, 神戸、2004.7.21.

Mineko Kengaku (RIKEN BSI, CREST-JST). Novel ligand of Notch DNER regulating neuron-glia interaction during cerebellar development. 第 32 回加齢研シンポジウム "Vertebrate Brain Patterning", 仙台、2004.10.29.

永樂元次 (理研 BSI)、見学美根子. DNER/NOTCH シグナルによるパーグマングリア細胞の形態制御機構. 第 27 回日本分子生物学会大会、神戸、2004.12.10.

田畑秀典 (慶応義塾大学・CREST-JST)、仲嶋一範、大脳皮質神経細胞の移動様式、第 3 回日本再生医療学会総会(幕張)、2004 年 3 月 24 日 (2004)

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima. " Multipolar migration as the third mode of radial neuronal migration during cortical development" Neuronal Migration Meeting, Elba, Italy, 2004 年 9 月 17 ~ 20 日

Kazunori Nakajima (Keio Univ.), Itsuki Ajioka, and Hidenori Tabata. "Dynamics of cerebral cortical development" Symposium "Cellular principles of neocortical development (大脳皮質の細胞構築制御)" (Organizers: Kazunori Nakajima and Makoto Sato). 第 27 回日本神経科学・第 47 回日本神経化学合同大会 (Neuro2004)、大阪、2004 年 9 月 21 ~ 23 日

永淵昭良 (熊本大学発生研・CREST-JST) : カテニン・プラコグロビンによる細胞接着分子カドヘリンの機能制御. 第 36 回日本臨床電子顕微鏡学会シンポジウム「細胞間接着」11 月 5 日 - 6 日、熊本、2004.

2005 年

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.) and Tadashi Uemura. Molecular basis of morphological diversity of dendrites Kyoto University-NUS International Symposium, Singapore, January 27-30, 2005.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Planar cell polarity: directional transport of Frizzled and polarized organization of microtubule. The Keystone meeting "Cell Polarity and Asymmetric Cell Divisions", USA, March 4 - 8, 2005.

島田 裕子 (京都大学大学院生命科学研究所)、米村 重信、D. Strutt、上村 匡. Polarized transport of Frizzled::GFP and polarized organization of ultrastructural analysis of microtubule organization in planar polarization. 46th Annual Drosophila Research Conference, San Diego, California. 2005 年 3 月 30 日 ~ 4 月 3 日.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Revisiting Microtubules by Electron Microscopy: the Polarized

Microtubule Web in a Multicellular System. International Symposium "Inheritance of Life"
Nara-Machi Community Center, 2005 年 5 月 20 日.

山本美暁(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡. Ig スーパーファミリー分子 Neuroglian は樹状突起-軸索の極性を制御する. 日本発生生物学会第 38 回大会、仙台、2005 年 6 月 2 日-4 日.

上村匡(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、島田裕子、米村重信、David Strutt. 平面内細胞極性形成における 7 回膜貫通型レセプター Frizzled の極性輸送と微小管ネットワーク. 日本蛋白質科学会、福岡、2005 年 6 月 30-7 月 2 日.

上村匡(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、神経回路発達におけるニューロンの形態調節プログラム. 京都大学大学院生命科学研究科シンポジウム、京都、2005 年 7 月 1 日-2 日.

Yamamoto, M (Kyoto Univ.). Ueda, R. Takahashi, K. Saigo, K. and Uemura T. Control of dendrite-axon polarity by Ig superfamily molecule Neuroglian in Drosophila embryo. ショウジョウパエ研究会第 7 回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005 年 7 月 7 日-9 日.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Dissection of molecular functions of 7-pass transmembrane cadherins in dendritic and axonal morphogenesis. Symposium "Neuronal Differentiation in Cortical Development" Icho-Kaikan, Suita campus, Osaka University, September 16-17, 2005.

Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Genetic and surgical approaches to study how neurons take shape in vivo. 第 77 回日本遺伝学会年次大会、公開講演会「神経遺伝学の現状と展望」、東京. 2005 年 9 月 27 日-29 日.

島 康之(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、中山 学、川口真也、星野幹雄、鍋島陽一、平野丈夫、上村 匡. Opposing roles of two mammalian 7-pass transmembrane cadherins Celsr2 and Celsr3 in growth regulation of neurites. 第 28 回日本分子生物学会年会、ワークショップ「細胞極性のダイナミクス」、福岡. 2005 年 12 月 7 日-10 日.

Hisanori Tokuda (Keio Univ.), Hidenori Tabata, Yoshimichi Tabata, Masumi Abe, and Kazunori Nakajima. Screening for the transmembrane proteins that are specifically expressed in the multipolar migration cells in the developing neocortex. 第 28 回日本神経科学大会、横浜、7 月 26-28 日、2005.

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST), Takaki Miyata, and Kazunori Nakajima. Fate and origin of multipolar cells during the cortical plate development. 第 48 回日本神経化学学会大会、福岡、9 月 27-30 日、2005.

ポスター発表 (国内 87 件、海外 29 件)

2000 年

島康之(京都大学ウイルス研)、竹市雅俊、上村匡:7回膜貫通型カドヘリン Flamingo のマウスホモログの解析。第 33 回日本発生生物学学会大会、高知、2000.

碓井理夫(京都大学ウイルス研)、島田裕子、上村匡:Roles of Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin in axon/dendrite pattern formation. 第 23 回日本分子生物学会大会シンポジウム「細胞極性」、神戸、2000.

田畑秀典(慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範:電気穿孔法によるマウス胎児に対する子宮内遺伝子導入法の検討。第 23 回日本神経科学大会/第 10 回日本神経回路学会合同大会、横浜、2000 年 9 月 4 日

星野潤、仲嶋一範、田畑秀典、小川正晴、御子柴克彦:発生後期中枢神経系に発現するリーリン遺伝子のスプライシング・アイソフォーム MR-1 の解析。第 23 回日本神経科学大会/第 10 回日本神経回路学会合同大会、横浜、2000 年 9 月 4 日

Tabata, H. (Jikei Univ., CREST-JST) and Nakajima, K.: *in utero* mammalian gene transfer system by electroporation and its application for studying neural cell migration. Society for Neuroscience 30th Annual Meeting, New Orleans, LA, U.S.A., 2000. (11 月)

Hoshino, J., Nakajima, K., Tabata, H., Ogawa, M., and Mikoshiba, K.: Identification of MR-1, novel alternative splicing isoforms of reelin, in the developing mouse brain" Society for Neuroscience 30th Annual Meeting, New Orleans, LA, U.S.A., 2000. (11 月)

2001 年

Usui, T.(Kyoto Univ.) and Uemura, T.: Control of epithelial and neuronal cell patterning by the seven-pass transmembrane cadherin. 41th Annual Drosophila Research Conference. Washington, D. C. USA. 2001.

Niwa, R (Kyoto Univ.). and Uemura, T.: Slingshot, a Putative Dual Specific Phosphatase, Controls Reorganization of Actin Cytoskeleton. 41th Annual Drosophila Research Conference. Washington, D. C. USA. 2001.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、柳川伸一、竹市雅俊、上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST). 7回膜貫通型カドヘリン Flamingo と細胞質因子 Dishevelled の非対称分布:平面内細胞極性の形成. 日本分子生物学会・第 1 回春季シンポジウム、盛岡、5 月 10-12 日.

Ryusuke Niwa (Kyoto Univ.), Nagata-Ohashi, Kensaku Mizuno, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Slingshot, a putative dual specific phosphatase, controls actin cytoskeletal dynamics and epidermal cell morphogenesis in Drosophila. The 14th International Congress of Developmental

Biology. Kyoto July 8-12, 2001.

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.), Misato Yamamoto, Ryusuke Niwa, Tadao Usui, Satoshi Goto, Misako Taniguchi, Shigeo Hayashi, and Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). A genetic hunt for regulators of dendritic outgrowth and branching in vivo. The 14th International Congress of Developmental Biology. Kyoto July 8-12, 2001.

Yuko Shimada (Kyoto Univ.), Tadao Usui, Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Control of planar polarity by asymmetrical distributions of the serpentine cadherin Flamingo and Dishevelled, an intracellular regulator of Frizzled signaling. The 14th International Congress of Developmental Biology. Kyoto July 8-12, 2001.

Yasuyuki Shima (Kyoto Univ.), Debbie Gilbert, Nancy Jenkins, Masatoshi Takeichi, Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Expression patterns of mouse flamingo homologs that encode seven-pass transmembrane cadherins. The 14th International Congress of Developmental Biology. Kyoto July 8-12, 2001.

Ryusuke Niwa (Kyoto Univ.), Nagata-Ohashi, Kensaku Mizuno, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Slingshot, a Putative Dual Specific Phosphatase, Controls Reorganization of Actin Cytoskeleton. 第5回日本ショウジョウバエ研究集会、三島、8月8-10日、2001.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、柳川伸一、竹市雅俊、上村匡(京都大学ウイルス研・CREST-JST). 7回膜貫通型カドヘリン Flamingo と細胞質因子 Dishevelled の非対称分布:平面内細胞極性の形成. 第5回日本ショウジョウバエ研究集会、三島、8月8-10日、2001.

Yuko Shimada (Kyoto Univ.), Tadao Usui, Shin-ichi Yanagawa, Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura (Kyoto Univ., CREST-JST). Asymmetrical distributions of regulators of planar cell polarity: the seven-pass transmembrane cadherin flamingo and intracellular signal mediator Dishevelled. 14th Naito Conference "Insect bioactive molecules and their modes of action". Syonan October 16-19, 2001.

永楽元次(京都大学理学研究科)、平野丈夫、見学美根子(京都大学院理学研究科・CREST-JST). 小脳顆粒細胞の極性形成に関与する新規候補分子の同定. 第24回日本神経科学学会大会、京都、2001.9. 26-28.

Hidenori Tabata (Jikei Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima. Visualization of Neuronal Migration In The Reeler Mutant Mice. 14th International Congress of Developmental Biology, Kyoto, Japan, July 8-12, 2001.

田畑秀典(慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範. 皮質板形成過程における神経芽細胞の細胞運動. 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学 合同大会(Neuro2001)、京都、2001年9月28日

Hidenori Tabata (Jikei Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima. Migration Pattern During the Early Cortical Plate Development Revealed by In Utero Electroporation. 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San

Diego, California, Nov. 13, 2001.

Junichi Ikenouchi, Shoichiro Tsukita, Akira Nagafuchi (Kumamoto Univ., CREST-JST). The role of plakoglobin in simple-epithelial morphogenesis. The 14th International Congress of Developmental Biology. Kyoto July 8-12, 2001.

2002 年

Ryusuke Niwa (Kyoto Univ., CREST-JST), Kyoko Nagata-Ohashi, Masatoshi Takeichi, Kensaku Mizuno, and Tadashi Uemura. Control of Actin Reorganization by Slingshot, a Novel Family of Phosphatases that Dephosphorylate ADF/Cofilin. 43th ANNUAL DROSOPHILA RESEARCH CONFERENCE, San Diego California on April 10-14, 2002.

木村宏史(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、上村匡. 神経突起のパターン形成における7回膜貫通型カドヘリン Flamingo の役割. 日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会. 横浜, 5 月 21-23 日, 2002.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、D.Strutt、竹市雅俊、上村匡. 平面内細胞極性の形成における極性制御分子の動態の終時観察の試み. 日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会. 横浜, 5 月 21-23 日, 2002.

杉村薫(京都大学ウイルス研)、山本美暎、丹羽隆介、後藤聡、谷口美佐子、林茂生、上村匡. 樹状突起のパターン形成の生体内経時観察とその調節機構の解析. 日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会. 横浜, 5 月 21-23 日, 2002.

遠藤 光晴(東北大学)、大橋 一正、佐々木 幸生、五嶋 良郎、丹羽隆介、上村匡、水野健作. Long Control of Growth Cone Motility by LIM-kinase and Slingshot via Phosphorylation and Dephosphorylation of Cofilin. 第 26 回日本神経科学大会、名古屋、7 月 23-25 日, 2002.

碓井理夫(京都大学ウイルス研)、木村宏史、Kirsten A. Senti, Barry J. Dickson、上村匡. 視神経投射のパターン形成における7回膜貫通型カドヘリン Flamingo の役割. 第 25 回日本分子生物学会、横浜、12 月 11-14 日, 2002.

遠藤 光晴(東北大学)、大橋 一正、田所 大、佐々木 幸生、五嶋 良郎、丹羽隆介、上村匡、水野健作. LIM キナーゼおよび Slingshot による神経成長円錐の運動性と形態の制御. 第 25 回日本分子生物学会、横浜、12 月 11-14 日, 2002.

梶 紀子(東北大学)、執印 美加、大橋 一正、丹羽隆介、上村匡、水野健作. 細胞質分裂におけるコフィリンの活性制御と機能. 第 25 回日本分子生物学会、横浜、12 月 11-14 日, 2002.

太田裕作(東北大学)、大橋一正、高坂和芳、島 康之、丹羽隆介、大橋-永田恭子、上村 匡、水野健作.

マウス Slingshot ファミリーの cDNA クローニング、活性、発現分布 . 第 25 回日本分子生物学会、横浜、12 月 11-14 日、2002 .

Kensaku Mizuno (Tohoku Univ.), Michiru Nishita, Kazumichi Goto, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura. LIM キナーゼと Slingshot は、SDF-1a によって誘導される T 細胞の移動を制御する . The 42nd Annual Meeting of American Society of Cell Biolory, San Francisco on December 14-18, 2002.

永楽元次(京都大学理学研究科)、藤島和人、平野丈夫、見学美根子 . 新規膜タンパク質 DNER の神経細胞における選択的輸送機構の解析.日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会、横浜、2002.5.21-23 .

河路光介(京都大学理学研究科)、平野丈夫、見学美根子 . 小脳顆粒細胞の細胞移動と形態分化のダイナミクスの解析.日本発生生物学会第 35 回大会・日本細胞生物学会第 55 回大会合同大会、横浜、2002.5.21-23 .

Eiraku M. (Kyoto Univ.), Fujishima K. and Kengaku M. Delta/Notch-like EGF-related receptor (DNER), a novel dendritic transmembrane protein possibly involved in neuronal polarization. Cold Spring Harbor Laboratories Meeting Axon Guidance & Neural Plasticity, Cold Spring Harbor, 2002.9.26.

田畑秀典 (慈恵会医科大学・CREST-JST)、仲嶋一範、Reelin シグナル欠損マウスにおける神経細胞の移動異常、第 25 回日本神経科学大会、東京、7 月 7 日～9 日、2002 .

Hidenori Tabata (Jikei Univ., CREST-JST), and Kazunori Nakajima, Behavior of migrating neurons during the cortical plate development, 32nd Annual Meeting Society for Neuroscience, Orland, Florida, Nov. 5, 2002.

2003 年

Michiru Nishita, Kazumichi Goto, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, Kensaku Mizuno. LIM キナーゼと Slingshot は、SDF-1a によって誘導される T 細胞の移動を制御する . Keystone symposium, Cell Migration and Invation Breckenridge, Colorado on January 18-23, 2003.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、David Strutt、碓井理夫、上村匡 . Time-lapse analysis of Frizzled during planar cell polarization. 44th Annual Drosophila Research Conference, Chicago, Illinois on March 5-9, 2003.

Yuko Shimada (Kyoto Univ.), David Strutt, Tadao Usui, Tadashi Uemura. Time-lapse analysis of Frizzled during planar cell polarization. 44th Annual Drosophila Research Conference. Sheraton Chicago Hotel & Towers, Chicago, Illinois, USA on March 5-9, 2003.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、David Strutt、碓井理夫、上村匡 . Time-lapse analysis of Frizzled during planar cell polarization. CDB2003 シンポジウム、神戸、3 月 5-9 日、2003 .

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.), Misato Yamamoto, Ryusuke Niwa, Daisuke Sato, Satoshi Goto, Misako Taniguchi, Shigeo Hayashi, Tadashi Uemura. ショウジョウバエ感覚神経細胞の樹状突起形成における、発生様式と傷害への反応性の多様性. CDB2003 シンポジウム、神戸、3月5-9日、2003.

梶紀子(東北大学)、執印 美加、大橋 一正、丹羽 隆介、上村 匡、水野 健作. 細胞質分裂におけるコフィリンのリン酸化と活性制御 / 第56回日本細胞生物学会大会.ピアザ淡海(おうみ)滋賀県立県民交流センター、5月14日-16日、2003.

太田 裕作(東北大学)、高坂 和芳、大橋 一正、大橋-永田 恭子、島 康之、丹羽 隆介、上村 匡、水野 健作
マウス Slingshot ファミリーの発現分布と機能解析 / 第56回日本細胞生物学会大会.ピアザ淡海(おうみ)滋賀県立県民交流センター、5月14日-16日、2003.

渡邊琢也(東北大学)、大橋一正、丹羽隆介、上村匡、水野健作. LIM キナーゼと SSH によるラメリポディア内のアクチン線維ターンオーバーの制御 / 第56回日本細胞生物学会大会.ピアザ淡海(おうみ)滋賀県立県民交流センター、5月14日-16日、2003.

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.), Misato Yamamoto, Daisuke Sato, Satoshi Goto, Shigeo Hayashi, and Tadashi Uemura. Cellular and molecular mechanisms to achieve diversity of dendritic patterns. 6th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE. Prague, Czech on July 10-15, 2003.

Yasuyuki Shima (Kyoto Univ.), Tadashi Uemura. Analysis of roles of a seven-pass transmembrane cadherin in dendrite patterning by biolistic transfection of DNA vectors expressing siRNA. 6th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE. Prague, Czech on July 10-15, 2003.

Mitsuharu Endo (Tohoku Univ.), Kazumasa Ohashi, Yukio Sasaki, Yoshio Goshima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno: Control of Growth Cone Motility by LIM-kinase and Slingshot via Phosphorylation and Dephosphorylation of Cofilin. 第26回日本神経科学大会、名古屋、平成15年7月23日~25日 (2003)

杉村薫(京都大学ウイルス研)、上村匡. Molecular basis of morphological diversity of dendritic trees. ショウジョウバエ研究会第6回研究集会 / 日韓シンポジウム. こまばエミナース、東京、7月29日-8月1日、2003.

島田裕子(京都大学ウイルス研)、David Strutt、碓井理夫、上村匡. How to localize regulators of planar polarity: what drives the biased sorting of Fz::GFP particles? ショウジョウバエ研究会第6回研究集会 / 日韓シンポジウム. こまばエミナース、東京、7月29日-8月1日、2003.

米倉 淳一郎(京都大学ウイルス研)、丹羽 隆介、永田-大橋 恭子、水野 健作、上村 匡. Towards understanding the basis of regulation of the activity of ADF/cofilin phosphatase Slingshot. ショウジョウバエ研究会第6回研究集会 / 日韓シンポジウム. こまばエミナース、東京、7月29日-8月1日、2003.

島康之(京都大学ウイルス研)、上村匡. Roles of a seven-pass transmembrane cadherin in dendritic patterning: a knocking-down approach using DNA vector-based RNA interference国際シンポジウム “Dynamics of Neural Development”. 大阪、8月10-11日、2003.

Yasuyuki Shima (Kyoto Univ.), Masatoshi Takeichi, and Tadashi Uemura. Analysis of roles of a seven-pass transmembrane cadherin in dendrite patterning by biolistic transfection of DNA vectors expressing siRNA. The Cell Biology of the Neuron meeting, New Orleans, USA on November 7, 2003.

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.), Daisuke Satoh, Misato Yamamoto, Stephen Crews, and Tadashi Uemura. Cellular and molecular mechanisms to achieve diversity of dendritic patterns. The Cell Biology of the Neuron meeting, New Orleans, USA on November 7, 2003.

Kaoru Sugimura (Kyoto Univ.). Analysis of roles of a seven-pass transmembrane cadherin in dendrite patterning by biolistic transfection of DNA vectors expressing siRNA. The 10th East Asian Joint Symposium on Biomedical Research, Kyoto on Nov. 18 and 19, 2003.

木村宏史(京都大学ウイルス研)、碓井理夫、島康之、上村 匡. 樹状突起の形態形成における7回膜貫通型カドヘリン Flamingo の構造・機能解析. 第26回日本分子生物学会、神戸、12月10-13日、2003.

永楽元次(京都大学理学研究科)、平野丈夫、見学美根子. 膜タンパク質 DNER の神経回路網形成における機能解析. 日本発生生物学会大会、札幌、2003.6.12.

梅嶋宏樹(京都大学理学研究科)、河路光介、平野丈夫、見学美根子. 小脳顆粒細胞の移動メカニズムの解析. 日本発生生物学会大会、札幌、2003.6.12.

藤島和人(京都大学理学研究科)、永楽元次、平野丈夫、見学美根子. 小脳顆粒細胞の極性転換期に発見するマウス septin3の性質. 日本発生生物学会大会、札幌、2003.6.12.

横山斉輔(京都大学理学研究科)、永楽元次、平野丈夫、見学美根子. 膜タンパク質 DNER の樹状突起特異的輸送メカニズム. 日本発生生物学会大会、札幌、2003.6.12.

田畑秀典(慶応義塾大学・CREST-JST)、宮田卓樹、小川正晴、仲嶋一範. 大脳皮質神経細胞の新規移動様式、第108回日本解剖学会総会、福岡、平成15年4月1日~3日(2003)

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima, Difference of the neuronal migration modes between early and late stages of cortical plate development, 第26回日本神経科学大会、名古屋、7月23日~25日(2003)

Takao Honda (Keio Univ.), Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima, Supportive function of meninges in cortical

development, 第26回日本神経科学大会、名古屋、7月23日～25日 (2003)

Masato Yozu (Keio Univ.), Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima, Alignment of interneurons in the developing cerebral cortex, 第46回日本神経化学会、新潟、9月24日～26日 (2003)

Takao Honda (Keio Univ.), Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima, Supportive function of meninges in cortical development, 第46回日本神経化学会、新潟、9月24日～26日 (2003)

Itsuki Ajioka (Keio Univ.), Hidenori Tabata and Kazunori Nakajima, Cell adhesion properties of the migrating cortical neurons, 第46回日本神経化学会、新潟、9月24日～26日 (2003)

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima, Phase of the multipolar cell is the fundamental process during the migration of cortical neurons. 33rd Annual Meeting of the Society for Neuroscience, New Orleans, 11月8日～12日 (2003)

福永剛隆(熊本大学発生研)、永淵昭良。カテニンとブラコグロピンが細胞の接着・増殖制御において果たす役割。第56回日本細胞生物学会 5月14日-16日、滋賀、2003。

清水正幸(熊本大学発生研)、永淵昭良。カテニンによる細胞増殖制御機構の解析第56回日本細胞生物学会 5月14日-16日、滋賀、2003。

永淵昭良(熊本大学発生研・CREST-JST)。細胞間接着分子カドヘリンの機能を制御するカテニンが細胞移動に果たす役割。第62回日本癌学会総会 5月25日-27日、名古屋、2003。

Akira Nagafuchi (Kumamoto Univ., CREST-JST), Junichi Ikenouchi, Yoshitaka Fukunaga, Masayuki Shimizu, Satoshi Komiya and Tomoyo Yoshinaga: Mouse teratocarcinoma F9 cells as a model to elucidate epithelium formation mechanisms. Borden IMT conferences. October 5-8, Port Douglas, Australia, 2003.

小宮智(熊本大学発生研)、永淵昭良 カテニンの転写後発現調節機構の解析
第26回日本分子生物学会年会 12月10日-13日、神戸、2003。

2004年

島康之(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、上村匡。7回膜貫通型カドヘリン Celsr2 と Celsr3 による神経突起成長の拮抗的調節。第27回日本分子生物学会、神戸、12月8日-11日、2004。

碓井理夫(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡。7回膜貫通型カドヘリン Flamingo の下流シグナル伝達因子の探索。第27回日本分子生物学会、神戸、12月8日-11日、2004。

佐藤大祐(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡。樹状突起の伸長と分岐を調節する遺伝プログラム解明へのアプローチ。第27回日本分子生物学会、神戸、12月8日-11日、2004。

山本美暁(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡. Ig スーパーファミリー分子 Neuroglian は樹状突起パターン形成と軸索の異所的な分岐を制御する. 第 27 回日本分子生物学会、神戸、12 月 8 日-11 日、2004.

島田裕子(京都大学大学院生命科学研究科)、上村匡. 平面内細胞極性形成における Fz::GFP の極性輸送と微小管の偏った配向. 第 27 回日本分子生物学会、神戸、12 月 8 日-11 日、2004.

Mitsuharu Endo (Tohoku Univ.), Kazumasa Ohashi, Yukio Sasaki, Yoshio Goshima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno: Control of Growth Cone Motility and Morphology by LIM-kinase and Slingshot via Phosphorylation and Dephosphorylation of Cofilin. 43rd Annual Meeting, the American Society of Cell Biology. サンフランシスコ、2004.12 月 13-17.

Michiru Nishita (Tohoku Univ.), Wang Yan, Kazumichi Goto, Chinatsu Tomizawa, Akira Suzuki, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura, and Kensaku Mizuno: PI3-kinase-Mediated Activation of Cofilin Phosphatase Slingshot-1L Controls Insulin-induced Membrane Protrusion. 43rd Annual Meeting, the American Society of Cell Biology. サンフランシスコ、2004.12 月 13-17.

梶 紀子(東北大学)、大橋 一正、執印 美加、丹羽 隆介、上村 匡、水野 健作: Cofilin activation by Slingshot is required to complete cytokinesis in animal cells. 43rd Annual Meeting, the American Society of Cell Biology. サンフランシスコ、2004.12 月 13-17.

Kensaku Mizuno (tohoku Univ.), Yusaku Ohta, Kazuyoshi Kousaka, Kyoko Nagata-Ohashi, Kazumasa Ohashi, Aya Muramoto, Yasuyuki Shima, Ryusuke Niwa, Tadashi Uemura: Differential activities, subcellular distribution and tissue expression patterns of three members of Slingshot family phosphatases that dephosphorylate cofilin. 43rd Annual Meeting, the American Society of Cell Biology. サンフランシスコ、2004.12 月 13-17.

島 康之(京都大学大学院生命科学研究科・CREST-JST)、中山 学、上村 匡. Opposing roles of mammalian 7-pass transmembrane cadherins Celsr2 and Celsr3 in growth regulation of neurites. Keystone Symposia "Axonal Connections: Molecular Cues for Development and Regeneration. アメリカ合衆国コロラド州ブレッケンリッジ Beaver Run Resort, 2005 年 3 月 31 日-4 月 4 日.

四津真人(慶応義塾大学)、田畑秀典、仲嶋一範.“マウス大脳皮質視覚野における抑制性神経細胞の配置機構”

日本発生生物学会第 37 回大会、名古屋、2004 年 6 月 4-6 日

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST), Takaki Miyata, and Kazunori Nakajima. "The phase of multipolar cells as a fundamental process of radial neuronal migration during cortical development" 16th International Congress of the International Federation of Associations of Anatomists (IFAA), Kyoto, 2004 年 8 月 22-27 日

Masato Yozu (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. "Comparison of birth-date dependent alignment of GABAergic interneurons and non-GABAergic neurons in the developing mouse visual cortex" 16th International Congress of the International Federation of Associations of Anatomists (IFAA), Kyoto, 2004年8月22～27日

Masato Yozu (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. "Birth-date dependent alignment of GABAergic interneurons in the developing mouse visual cortex" 第27回日本神経科学・第47回日本神経化学合同大会 (Neuro2004)、大阪、2004年9月21～23日

Takao Honda (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. "Action of neuroprotective factor derived from cerebral hemispheres" 第27回日本神経科学・第47回日本神経化学合同大会 (Neuro2004)、大阪、2004年9月21～23日

Hidenori Tabata (Keio Univ., CREST-JST) and Kazunori Nakajima. "The behavior of multipolar cells in the developing cortex" 第27回日本神経科学・第47回日本神経化学合同大会 (Neuro2004)、大阪、2004年9月21～23日

Takao Honda (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. "Supportive function of meninges in cortical development" Society for Neuroscience, 34th Annual Meeting, San Diego, CA, U.S.A., 2004年10月23～27日

Takehiko Sunabori (Keio Univ.), Yumi Matsuzaki, Takeharu Nagai, Akinori Tokunaga, Takaki Miyata, Hidenori Tabata, Kazunori Nakajima, Atsushi Miyawaki, Hideyuki Okano. "Visualizing neural progenitor cells with a destabilized fluorescent reporter: Nestin-d4-Venus" Society for Neuroscience, 34th Annual Meeting, San Diego, CA, U.S.A., 2004年10月23～27日

Yoshitaka Fukunaga (Kumamoto Univ.) and Akira Nagafuchi: Defining beta-catenin functions in cell-cell adhesion using beta-catenin/plakoglobin-deficient F9 cells. The 57th Annual Meeting of Japan Society for Cell Biology May 26-28, Osaka, 2004.

Huijie Liu (Kumamoto Univ.) and Akira Nagafuchi: The effect of reduced expression of p120 on the function and localization of E-cadherin. The 57th Annual Meeting of Japan Society for Cell Biology May 26-28, Osaka, 2004.

永淵昭良 (熊本大学発生研・CREST-JST): カテニン・プラコグロビン二重欠損細胞を用いた細胞間接着におけるカテニンの機能解析. 第63回 日本癌学会学術総会 9月29日-10月1日、2004.

清水正幸 (熊本大学発生研)、福永剛隆、永淵昭良: プラコグロビンのWntシグナル伝達系における機能. 第27回日本分子生物学会年会 12月8日-11日、神戸、2004.

小宮智(熊本大学発生源)、福永剛隆、清水正幸、永淵昭良:頂端面形成とカドヘリン依存性細胞間接着の関係. 第27回日本分子生物学会年会 12月8日-11日、神戸、2004.

2005年

Daichi Sato (Kyoto Univ.), Daisuke Satoh, Kaoru Sugimura, and Tadashi Uemura. Approaches to single-cell analysis of neuronal morphogenesis in vivo. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場 ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日.

Satoh, D (Kyoto Univ.), Sato, D, and Uemura, T. Genetic and surgical experiments to study how neurons take shape in vivo. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日.

Tsubouchi, A (Kyoto Univ., CREST-JST), Aigaki, T., Uemura, T. Analysis of organelle distribution and membrane trafficking in dendritogenesis. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日.

Yuko Shimada (Kyoto Univ), Shigenobu Yonemura, Hiro Ohkura, Toshiyuki Harumoto, David I. Strutt, and Tadashi Uemura. Polarized transport of Frizzled and ultrastructural analysis of microtubule organization in planar polarization. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日.

Kimura, H (Kyoto Univ.), Usui, T, Konno, M, Uemura, T. Homophilic or Heterophilic, that is a question: hunting for a hypothetical ligand of seven-pass transmembrane cadherins. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日

Usui, T (Kyoto Univ.), Kimura, H, Uemura, T. A Search for Downstream Components of Flamingo, the Drosophila Seven-Pass Transmembrane Cadherin. ショウジョウバエ研究会第7回研究集会、淡路夢舞台国際会議場イベントホール. 2005年7月7日-9日.

Satoh, D (Kyoto Univ.), Sato, D, and Uemura, T. Genetic and surgical experiments to study how neurons take shape in vivo. 第28回日本分子生物学会年会、福岡. 2005年12月7日-10日.

梅嶋宏樹(京都大学理学研究科)、大島登志男、平野丈夫、見学美根子. p35 欠損型マウスにおける小脳顆粒細胞の二相性移動の解析. Neuroscience 2005、横浜、2005.7.26-28.

横山斉輔(京都大学理学研究科)、福田徹子、永樂元次、平野丈夫、見学美根子. 膜タンパク質 DNER の樹状突起特異的輸送メカニズム. Neuroscience 2005、横浜、2005.7.26-28.

衛藤薫(慶応義塾大学)、田畑秀典、大澤真木子、仲嶋一範. "MAPK upstream protein kinase (MUK)蛋白質の発生期脳における機能"第110回日本解剖学会全国学術集会、富山、2005年3月29-31日

Masato Yozu (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. A new system for the three dimensional visualization of tangential migration. "Cortical Development" Meeting -Neural stem cells to neural circuits-, Santorini, Greece, May 12-15, 2005.

得田久敬(慶応義塾大学)、田畑秀典、田端義巖、安倍真澄、仲嶋一範 "Screening for the transmembrane proteins that are specifically expressed in the multipolar migration cells in the developing neocortex" 第28回日本神経科学大会、横浜、2005年7月

本田岳夫(慶応義塾大学)、田畑秀典、仲嶋一範 "Analysis of Reelin-Dab1 signal transduction system in layer formation of cerebral neocortex using RNAi" 第48回日本神経化学学会大会、福岡、2005年9月

四津真人(慶応義塾大学)、田畑秀典、仲嶋一範. A new system for the three-dimensional visualization of tangential migration in the developing mouse forebrain、第48回日本神経化学学会大会、福岡、2005年9月

Kazunobu Sawamoto, Xiaoping He, Yuki Hirota, Yoshika Hayakawa, Akio Iwanami, Jun-ichi Yamane, Hiroyuki Kato, Yoshiaki Toyama, Hidenori Tabata, Kazunori Nakajima, Hajime Ishii, Yoshikuni Tanioka, Tatsuji Nomura, Hitoshi Kawano, Jose Manuel Garcia-Verdugo, Arturo Alvarez-Buylla, and Hideyuki Okano. Cell proliferation, migration and differentiation in the postnatal common marmoset subventricular zone, Society for Neuroscience, 35th Annual Meeting, Washington, D.C., U.S.A., 2005年11月

Masato Yozu (Keio Univ.), Hidenori Tabata, and Kazunori Nakajima. Three dimensional profile of the interneuron migration from the subpallium to the pallium, Society for Neuroscience, 35th Annual Meeting, Washington, D.C., U.S.A., 2005年11月

Yoshitaka Fukunaga (Kumamoto Univ.), Satoshi Komiya, Huijie Liu, Masayuki Shimizu and Akira Nagafuchi. Defining beta-catenin functions in cell-cell adhesion and epithelial polarity formation using beta-catenin/plakoglobin-deficient F9 cells. 2005 Gordon Research Conference "Cell Contact and Adhesion", Andover, NH, USA, June 26-July 1, 2005.

Huijie Liu (Kumamoto Univ.), and Akira Nagafuchi. Functional Analysis of p120 in E-cadherin Trafficking. The 58th Annual Meeting of Japan Society for Cell Biology. Omiya, Saitama, Japan June 15-17, 2005.

富永純司(熊本大学発生研)、福永剛隆、永淵昭良: 内在性チロシンリン酸化酵素によるカテニンのリン酸化. 第28回日本分子生物学会年会 12月7日-10日、福岡、2005.

清水正幸(熊本大学発生研)、福永剛隆、永淵昭良: プラクログロビンの転写調節能の再検討: カテニン/プラ

コグロビン欠損細胞を用いた解析。第28回日本分子生物学会年会 12月7日-10日、福岡、2005.

2006年

本田岳夫(慶応義塾大学)、田畑秀典、仲嶋一範. RNA干渉を用いたReelin-Dab1シグナル伝達系の大脳新皮質形成における機能解析、第111回日本解剖学会全国学術集会、相模原、2006年3月

田畑秀典(慶応義塾大学・CREST-JST)、宮田卓樹、仲嶋一範. 皮質脳室帯に由来する2つの集団が示す互いに異なった移動過程、第111回日本解剖学会全国学術集会、相模原、2006年3月

(4)特許出願

国内出願 (4 件)

1. 発明者:丹羽隆介、大橋恭子、水野健作、上村匡

発明の名称:アクチン細胞骨格系の動態を制御するタンパク質、及びその利用

出願人:科学技術振興事業団

出願日:平成 13 年 7 月 26 日

2. 発明者:丹羽隆介、大橋恭子、水野健作、上村匡

発明の名称:アクチン線維脱重合因子・コフィリンを脱リン酸化する酵素を含む、ヒト由来の新規タンパク質およびその遺伝子

出願人:科学技術振興事業団

出願日:平成 13 年 10 月 15 日

3. 発明者:太田裕作、大橋一正、大橋恭子、水野健作、高坂和芳、島康之、丹羽隆介、上村匡

発明の名称:アクチン脱重合因子・コフィリンを脱リン酸化する酵素とその遺伝子

出願人:科学技術振興事業団

出願日:平成 13 年 10 月 29 日

4. 発明者:永樂元次、見学美根子

名称:新たな細胞極性化因子の候補タンパク質、及び当該タンパク質をコードするポリヌクレオチド

出願人:科学技術振興事業団

出願日:平成 13 年 9 月 5 日

5. 発明者:永淵昭良、池ノ内順一、月田承一郎

発明の名称: カテニン及びノ又はプラコグロビンをノックアウト(欠損)させた哺乳類細胞

出願人:科学技術振興事業団

出願日:平成 13 年 12 月 21 日

海外出願 (0 件)

(5)受賞等

受賞

上村 匡:第一回日本学術振興会賞(2005年3月)

新聞報道

日刊工業新聞「膜たんぱく質がグリア細胞の成長促進—脳の再生医療研究進展へ」、6月25日、2005.

化学工業日報「グリア細胞の成長に必須膜貫通たんぱく質発見」、6月20日、2005.

日経産業新聞「『グリア細胞』成長に必須たんぱく質を発見」、6月27日、2005.

科学新聞「グリア細胞成長に必須タンパク質『DNER』」、7月1日、2005.

薬事日報グリア細胞の成長に關与神経細胞の膜蛋白『DNER』、7月1日、2005.

その他

上村 匡:JST基礎研究最前線(印刷中)

(6)その他特記事項

上村 匡:2003年1月より国際誌 Developmental Cell の Associate Editor

見学美根子:2004年1月より、理化学研究所脳科学総合研究センターの神経細胞極性チームのチームリーダー

6 研究期間中の主な活動

(1)ワークショップ・シンポジウム等

なし

(2)招聘した研究者等

なし

7 結び

本研究の開始にあたり、「細胞極性化の調節機構を、タンパク質の挙動の追跡を含む細胞内分子反応系の解析に踏み込んで研究するのが、本研究課題の基本姿勢である。」と謳った。この基本構想はどこまで達成できたのか。5年間の研究成果は、より一層の踏み込みが求められる次の目標を生み出したことを痛感し、さらなる飛躍を目指して前進を続けたい。基本構想に掲げたもう一つの基本姿勢、即ち「本研究では、個体の中で single-cell patterning を追跡する手法や、培養系を用いるとしても、生体内の細胞極性化を再現し、そのプロセスを観察できるシステムを採用する。」に関しては、各グループとも独自の工夫を凝らし、世界をリードする研究を続けている。さらに強調したいことは、「研究実施内容及び成果」にまとめた主要な原著論文の全てについて、共同研究者の多大な支援があったにせよ、一人の大学院生がほぼ全てのデータを自分の力を出し切ったことである。可能な限り高い質のデータを豊富にそろえて、論文の完成度を高める各メンバーの努力に、いささかの妥協もなかったと確信している。我々の研究グループが立ち上がった時は、グループのリーダー全員が40歳以下であり、私自身独立した研究室を立ち上げたばかりであった。この5年間に学位を取得してきた大学院生が、次々と世界の舞台で活躍することを信じている。

このような若いグループを戦略的創造研究推進事業に選んで頂き、手厚いサポートを頂戴してきたことに、改めて科学技術振興機構 / 科学技術振興事業団の皆様、歴代の技術参事と事務参事の皆様、事務所の皆様、そして領域統括とアドバイザーの先生方に厚く御礼申し上げます。



2001年夏 上村グループ



2004年夏。Liqun Luo (Stanford Univ.; 前列中央) を迎えて上村グループのメンバーの一部と共に。



2005 年秋、Thomas Lecuit (Developmental Biology Institute of Marseille; 前列中央) を迎えて上村グループのメンバーの一部と共に。