

研究課題別研究評価

1. 研究課題名：

細胞移動を制御する形態形成場遺伝子の同定

2. 研究者名：

西脇清二

3. 研究のねらい：

3年間のさきがけ研究では線虫の生殖巣先端のリーダー細胞 (distal tip cell: DTC) の移動に関する mig-17 遺伝子の分子解析を行い、その挙動が次第に明らかになってきた。MIG-17 タンパク質は分泌型メタロプロテアーゼであり、基底膜に局在することにより器官形成過程での細胞移動を調節していると考えられる。MIG-17 の働きや相互作用分子を明らかにするために、mig-17 と類似の DTC 移動異常を示す変異体の原因遺伝子の解析と mig-17 抑圧変異体の解析を進める。

4. 研究結果：

1) mig-23 遺伝子の解析

mig-23 遺伝子は apyrase family に属する 2 回膜貫通タンパク質をコードする。MIG-23 はゴルジでの分泌タンパク質の糖鎖付加に関する Golgi UDPase に最も相同性が高い。遺伝的モザイク解析および組織特異的プロモーターを用いた解析から、正常な DTC 移動には mig-23 が筋肉細胞で発現する必要があることが分かった。また mig-23 変異体では実際に UDPase 活性が低下していた。さらに mig-23 cDNA を酵母の apyrase 変異体で発現させたところ、変異体の凝集表現型を部分的に相補した。これらの結果から MIG-23 は活性のある apyrase であると結論された。mig-17 は mig-23 と類似の表現型を示すこと、弱いアレル同士のみ組み合わせで明らかな増強効果が見られること、および MIG-17 と MIG-23 はともに筋肉細胞で発現することから、mig-23 変異体では MIG-17 の糖鎖付加が異常となっている可能性が考えられる。種々のレクチンをプローブとした解析の結果、野生型と mig-23 変異体のバックグラウンドで MIG-17 分子の糖鎖に違いがあることが分かった。これらのことから mig-23 変異体での DTC 移動異常は MIG-17 の糖鎖修飾の異常に起因する可能性が考えられる。

2) mig-29 遺伝子の解析

mig-29 遺伝子を SNP によるマッピングとトランスポゾンタギング法によりクローニングした。MIG-29 タンパク質はヒトおよび酵母の SEC34 と高い相同性がある。SEC34 は ER から Golgi あるいは Golgi 内での小胞輸送に必要なタンパク質であり、タンパク質の分泌に働く。mig-29 と mig-17 変異体の DTC 移動異常の相同性は MIG-29 が MIG-17 の分泌に関する可能性を示唆する。今後、MIG-29 が実際に Golgi に存在するのか、mig-29 変異体で MIG-17 の分泌に異常があるのかなどをさらに検討して行く。

3) mig-22 遺伝子の解析

mig-22 遺伝子を SNP によるマッピングとインジェクションレスキューによりクローニングした。予想される MIG-22 タンパク質は N 末端に分泌シグナルと考えられる配列を持つ新規タンパク質である。ホモロジー検索の結果、MIG-22 と相同性のあるタンパク質をコードする遺伝子がヒトのゲノム中にもあることが分かった。MIG-22 は種間で保存されたタンパク質であるが、今回これが細胞移動に必要であることが初めて示された。今後、本タンパク質の組織分布、相互作用分子の探索などを行っていく方針である。

4) mig-17 抑圧変異体の分離

mig-17 と相互作用する分子を同定するためにナンセンス変異である mig-17(k174)から EMS 処理により抑圧変異体を分離した。10 株の抑圧変異体は少なくとも 6 種類の遺伝子に分類された。これらは mig-17 ナンセンス変異を抑圧するものとして分離されたが、複数のミスセンス変異も抑圧することから単純なナンセンスサプレッサーではなく、おそらく MIG-17 の下流かあるいは並列の経路に影響し、MIG-17 の必要性をバイパスすると思われる。興味深いことに mig-17 抑圧変異のいくつかは mig-17 と遺伝的相互作用がある mig-6 変異をも抑圧できることが分かった。この結果は mig-6 と mig-17 が同じ経路で働くことを強く示唆している。mig-6 遺伝子はカナダのグループによりクローニングされ、進化的に保存された基底膜タンパク質をコードすることが分かっている。

5. 自己評価：

2 年間の延長期間に 2 個の細胞移動遺伝子のクローニングに成功し、また抑圧変異についても分離と初期解析を行うことができた。現時点でさらに 2 個の新規遺伝子がクローニングに近づいている。当初の計画をほぼ達成できたと思っている。非常に幸いであったことは、3 年間のさきがけ研究の成果が延長期間に入ってからではあるが Science 紙に掲載され、理化学研究所に職を得て研究室を主催することができたことである。遺伝子クローニングは手間と時間のかかる仕事であり、一人でやっているかぎり限界があった。細胞移動メカニズムを理解するという意味ではまだまだ研究が不十分であり、今後もさらに精力的に分子レベルでの解析を進めていかなければならないと考えている。

6. 領域総括の見解：

西脇研究者の研究は動物体内における細胞移動を制御し、形態形成を行う遺伝子の解析で、線虫を用い、生殖巣形成のリーダー細胞の解析を進めていた。「さきがけ」期間には線虫変異株を用いての解析から、いくつかの制御遺伝子の候補を見出したが、その中の mig 17 を解析し、分泌型のメタロプロテアーゼであることを明らかにした。他の候補遺伝子の解析の重要性も認められた為、延長期間に入ったが、mig 23 mig 29 mig 22 等、順調に解析が進み、mig 17 とも機能上有機に関連するものであることも次第に明らかにしつつある。これらの成果が認められ、第 9 回化学、バイオつくば賞を受賞すると共に、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センターの細胞移動研究チームのチームリーダーに採用され、更なる進展を見せつつある。

7. 主な論文等：

論文

- (1) Nishiwaki, K., Hisamoto, N., and Matsumoto, K. (2000). A metalloprotease disintegrin that controls cell migration in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 288: 2205-2208.
- (2) Suzuki, N., Buechner, M., Nishiwaki, K., Hall, D. H., Nakanishi, H., Takai, Y., Hisamoto, N. and Matsumoto, K. (2001). A putative GDP-GTP exchange factor is required for development of the excretory cell in *C. elegans*. *EMBO Reports* 21: 530-535.
- (3) Gumienny, T. L., Brugnera, E., Tosello-Tramont, A. -C., Kinchen, J. M., Haney, L. B., Nishiwaki, K., Walk, S. F., Francis, R., Schedl, Y. Q., Van Aelst, L., Hengartner, M. O. and Ravichandran, K. S. (2001). CED-12/ELMO, A novel member of the CRKII/DOCK180/RAC pathway, is required for phagocytosis and cell migration. *Cell* 107: 27-41.
- (4) 西脇清二、久本直毅、松本邦弘 (2000). ADAM プロテアーゼによる細胞移動の制御 実験医学 18:1825-1827.

(5) 西脇清二 (2001). 分泌型 ADAM ファミリーによる細胞移動と形態形成の制御 実験医学
19: 458-462.

(特許、受賞、招待講演等)

受賞

第9回化学・バイオつくば賞「動物の器官形成を制御する新しいタンパク質分解酵素の発見」