

脳神経細胞の形を決めるアクチン繊維のわずかな偏り

- ・アクチン繊維構造のバランスをとる機能をタンパク質 MTSS1 がもつことを発見
- ・神経細胞の微細形態のわずかなズレが突起全体の空間分布を変える機構を証明

脳神経回路は、神経細胞の長く複雑に分岐した突起同士が連結して機能しています。そのため神経細胞の分岐パターンの異常は精神遅延や脳機能障害に直結します。京都大学高等研究院 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS=アイセムス) 見学美根子教授 (同生命科学研究所教授 兼務) らのグループは、MTSS1^{※1)} というアクチンに結合する分子を欠損した遺伝子改変マウスにおいて、神経細胞の突起の数が減ってしまうことを見出しました。

アクチンは、生体内で活発に重合と脱重合を繰り返す生体高分子ポリマーで、細胞の形を作る細胞骨格として機能します。アクチンには真っ直ぐなフィラメント状の構造と分岐を繰り返した網目状の構造の2種類があり、両者のバランスが細胞形態の決定に重要です。グループは MTSS1 がアクチンのフィラメント状構造を作る分子の一つ DAAM1 と結合し、DAAM1 によるアクチンフィラメント伸長促進反応を直接阻害することを明らかにしました。MTSS1 と DAAM1 は幼若期の神経細胞の突起を覆う棘のような微突起に発現しており、MTSS1 が欠損すると微突起内のアクチン構造のバランスが崩れて長いフィラメント状の構造が優位になり、微突起が細長くなります。すると微突起が周りの突起と衝突しやすくなり、突起同士が重なり合うこと避けるために分岐の数を減らしていることが明らかになりました。

MTSS1 はがん細胞の転移を制御する分子として既に知られていますが、今回の研究で脳の神経細胞の突起形成に重要な役割を果たしていることが明らかになりました。神経回路形成の分子機構の理解を深め、神経変性疾患や脳損傷の治療法の開発につながる成果です。また MTSS1 の作用機序が明らかになったことで、癌の病態理解と治療法開発への道も期待されます。

本研究は京大生命科学研究科の渡邊直樹教授、東京大学医学系研究科の三品昌美教授 (現立命館大学教授) らとの共同研究によるもので、2018年7月4日 (日本時間) に電子ジャーナル Cell Reports に掲載されました。

1. 背景

脳の神経細胞は長く分岐した突起を伸ばし、それらが他の神経細胞の突起と結合して複雑で精緻な神経回路を形成します。神経突起の複雑な分岐パターンの形成と維持には、細胞骨格アクチンの制御が重要であり、アクチン制御分子の阻害や過剰発現で突起パターンに異常が生じるといった報告は数多くあります。アクチンは直径数ナノメートルの丸い単量体のアクチンタンパク質が多数重合して数珠状に連なり、繊維状の構造を形成します。細胞には多数のアクチン制御分子があり、フォルミンという重合促進分子の存在下では分岐しないアクチンフィラメントが形成され、ARP2/3 という別の分子複合体の存在下では分岐を繰り返して網目状の繊維が形成されます。これらの経路は互いに拮抗していて、そのバランスがアクチン構造の形を決め、細胞形態に大きく影響します。しかしアクチン分子の作る微細な繊維構造が神経突起のパターン全体をどのように制御しているのか、詳細なメカニズムについてはほとんど分かっていません。

2. 研究内容と成果

今回の研究では、脳の一部の神経細胞に強く発現しているアクチン結合活性をもつ分子 MTSS1 に着目しました。MTSS1 は転移するがん細胞の移動能制御に関与すると考えられていますが、そのメカニズムは不明の点が多く、また神経細胞でどのような機能を担うのかについても明らかではありませんでした。

研究グループは、特に MTSS1 の発現が強い小脳プルキンエ細胞という神経細胞で特異的に MTSS1 遺伝子を欠損させる条件付きノックアウトマウスを作成し、その影響を観察しました。プルキンエ細胞は複雑に分岐した神経突起を形成しますが、ノックアウトマウスでは神経突起の分岐が著しく減り、成体になっても未発達のままでした（図1）。

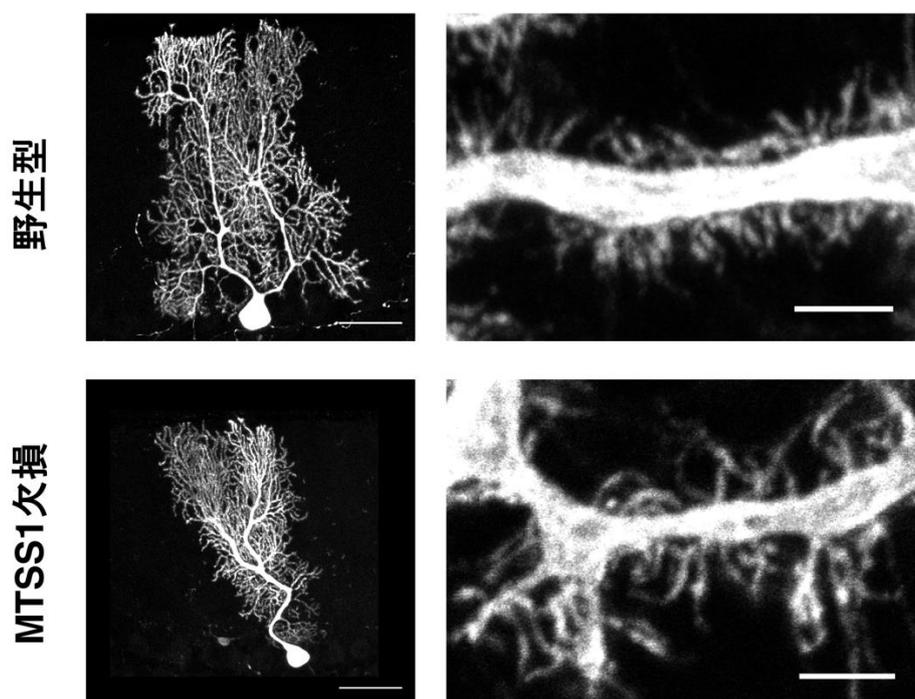


図1) マウス小脳プルキンエ細胞の顕微鏡画像

(左) 正常な野生型マウスのプルキンエ細胞（上）に比べ、MTSS1 遺伝子を特異的に欠損させたプルキンエ細胞（下）は、突起の数が著しく減る。写真右下のバーは、50 μm

(右) 突起を拡大すると長さ 1 μm 程度の微突起で覆われているのがわかる。野生型（上）に比べ、MTSS1 欠損細胞（下）では微突起が有意に長くなる。写真右下のバーは、3 μm

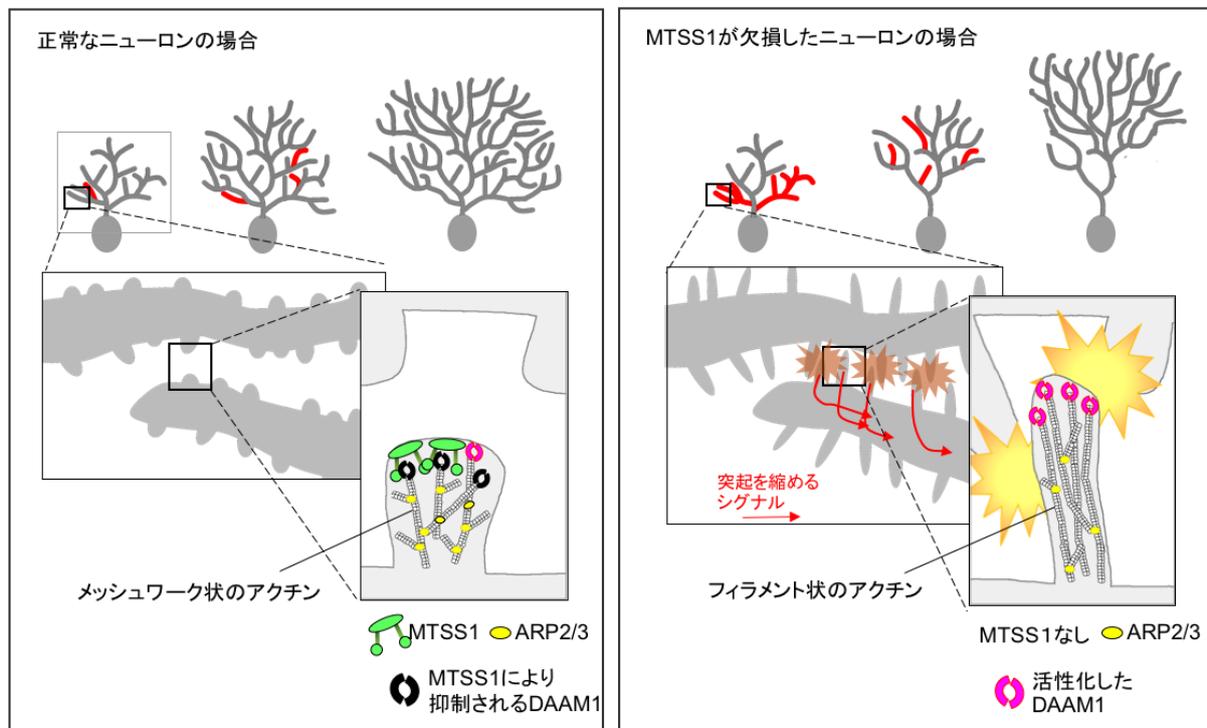
詳細に観察すると、発達中の神経突起を覆う棘のような微突起（通常 1 μm 弱）が 1.5 倍程度長くなっていました。この微突起は神経突起の伸展する方向を決めるセンサーとして働き、微突起が隣の突起と接触すると突起の伸長を停止するか退縮させて、突起同士が重ならないような空間分布を取ることがグループの以前の研究でわかっています。幼若期のプルキンエ細胞を培養して突起伸展の様子をライブイメージング^{※2)} で観察すると、MTSS1 を欠損したプルキンエ細胞では、微突起が長いために隣の突起と衝突しやすくなっており、周りの細胞と重なりを避けるために分岐の数を減らしていることが明らかになりました。

微突起の幅は 100~200 nm で、中はほぼ数十本のアクチン繊維（直径 5 ~8 nm）で満たされています。様々な薬理実験で、正常の神経細胞の微突起では ARP2/3 が作る網目状の繊維が優勢で

あることが分かりました。一方 MTSS1 が欠損しているとフォルミン分子が作るフィラメント形成が優位になり、結果として微突起が細長くなることが分かりました。

さらに、MTSS1 は微突起の先端部分に局在しており、フォルミン分子の一つ DAAM1 と結合していることが明らかになりました。試験管内で DAAM1 はアクチンの伸長反応を連続的に促進し、長いフィラメント構造を作る活性を示しますが、MTSS1 を加えると、伸長が突然停止し、フィラメント形成が著しく減速することが、顕微鏡下と細胞内蛍光単分子イメージングから判明しました。生体内では、MTSS1 が DAAM1 の活性を抑えた状態だと、単量体アクチンが ARP2/3 に受け渡され網目状構造を形成して太く短い微突起を形作ります。MTSS1 欠損の細胞では、DAAM1 が活性化するため ARP2/3 に受け渡されていた単量体がフィラメント構造を作るようになり、微突起の形態が細長く変わると考えられます（図 2）。

このように、MTSS1 はアクチン構造のバランスをとる役割を果たしており、幅 200 nm 以下長さ 1 μm 程度の微突起の微小空間でのアクチンの僅かなバランスのズレが、神経細胞全体の形に反映されていく包括的なメカニズムが明らかになりました。



3. 今後の展開

神経突起の正常な形成は精神活動を含む脳機能に不可欠であり、遺伝的精神遅延や認知症の多くで神経突起の低形成や縮退が認められます。本研究成果により、これらの病態の理解や治療法の開発に繋がる可能性があります。また MTSS1 は癌細胞の転移の制御に関わることが知られており、今回 MTSS1 の機能メカニズムが分かったことで、癌転移の治療薬開発や分子治療への応用が期待されます。

4. 用語解説

※1 MTSS1

Metastasis Suppressor 1 (転移抑制分子1) の略称。複数のガン細胞種で発現の変化が認められ、ガン細胞の高い遊走能を制御すると考えられている。細胞膜およびアクチン結合活性をもち、突起形成や細胞運動を制御するが、詳しいメカニズムは不明である。

※2 ライブイメージング

個体、組織、または分離した細胞を顕微鏡下で生かしたまま連続撮影し、その状態の時間的変化を観察する方法。透過光で細胞や組織のかたちを追跡する以外に、観察対象となるタンパク質に蛍光タンパク質(GFP)をつないで細胞内に導入し、細胞内シグナルの流れを蛍光顕微鏡やレーザー顕微鏡で可視化する方法がある。

5. 研究プロジェクトについて

本研究は、下記支援のもと実施されました。

日本学術振興会科学研究費補助金補助金 (16H06484)

日本学術振興会科学研究費補助金補助金 (16K18363)

科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業CREST (JPMJCR15G5)

日本学術振興会特別研究員 (16J11619)

6. 論文タイトル・著者

“MTSS1 regulation of actin-nucleating formin DAAM1 in dendritic filopodia determines final dendritic configuration of Purkinje cells”

(MTSS1によるフォルミンDAAM1のアクチン形成活性の制御がプルキンエ細胞樹状突起の最終形態を決定する)

著者：川端 Galbraith ケリー、藤島和人、水野裕昭、李聖真、植村健、崎村建司、三品昌美、渡邊直樹、見学美根子

Cell Reports