

# 神経軸索成長を制御する分子クラッチ機構

西村一成・上口裕之

軸索成長過程にある神経細胞の葉状仮足および糸状仮足では、極性のあるアクチン骨格がミオシン系モーターの駆動により先端端から中心方向に向かって流れている(アクチン求心性流動)。分子クラッチとは、接着分子と相互作用してアクチン求心性流動と細胞外基質を連結する蛋白質複合体である。神経軸索の成長を促す前方移動の牽引力は、アクチン求心性流動と細胞外基質とのクラッチ接続により伝達される。これまで分子クラッチの実体は未解明であったが、最近、アクチン-スペクトリンに結合するアンキリンが、神経軸索形成において分子クラッチとして機能することが実証された。

**Key words** 神経突起形成 神経成長円錐 アクチン求心性流動 分子クラッチ

## はじめに

脳神経系の機能をつかさどる神経回路網の正確かつ精緻な神経接合は、発生過程における神経突起形成(neurotogenesis, neurite initiation), 細胞体移動(neuronal migration), 軸索伸長(axonal elongation)といった、神経細胞局所の形態変化を伴う前進運動を経ることによって形成される。神経突起形成は、神経分化を終えたばかりの形態学的に丸く極性のない神経細胞体から、その周囲構造を打ち破って膜を突出する、細胞局所的前方移動により引き起こされる<sup>1)</sup>。突起形成につづく細胞体の移動は、先端突起によって導かれる微小管依存的な核移動を伴う前方移動である<sup>2,3)</sup>。移動する細胞体から伸びる未熟な神経突起は、先端の前方移動により発達して、形態的・機能的に異なる樹状突起(dendrite)と軸索(axon)に分化する。軸索先端の成長円錐(growth cone)は、細胞外環境のガイダンス分子を局所的に感知して前方移動や旋回運動(turning)をすることにより、進むべき軸索伸長の方向を誘導する<sup>4)</sup>。以下では、神経細胞体からの突起(軸索)形成と、標的への軸索の伸長をあわせて、神経軸索成長(axon outgrowth)とよぶことにする。

一般に、細胞の形態変化に伴う前進運動には、細胞骨格の動態や構造変化および細胞外基質(substrate)と接

着分子との相互作用が深く関与する。神経軸索成長を促す前方移動には、分子クラッチ(molecular clutch)による配向性のあるアクチン骨格構造と基質との接続が重要な意味をもつ(クラッチ仮説)。一方、線維芽細胞の前方移動では、インテグリンからなる接着装置フォーカルアドヒージョン(focal adhesion)に連結する、極性不明瞭なストレスファイバーの収縮が関与する(収縮移動モデル)。本稿では、はじめに細胞移動の力学的な仮説モデルである収縮移動モデル(contraction model)とクラッチ仮説(clutch hypothesis)の相違について簡単に整理したうえで、最近、筆者らが明らかにした、クラッチ仮説に基づく神経軸索成長の分子メカニズムを中心に概説する。

## I. 細胞移動と神経軸索成長の力学的モデル

### 1. 収縮移動モデル

多細胞生物の生体内では、損傷修復時の創傷治療や、血管新生における血球系細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞などの損傷部分に向かう遊走など、多様な局面で極性化した細胞が移動・遊走する<sup>5)</sup>。線維芽細胞に代表され

Kazunari Nishimura, Hiroyuki Kamiguchi, 理化学研究所脳科学総合研究センター 神経成長機構研究チーム E-mail: kxn@brain.riken.jp

The molecular clutch mechanisms regulating axon outgrowth

る一般的な培養細胞の基質上の移動については、細胞の形態変化による力学的な移動モデルが提唱されている<sup>6,7)</sup>。この仮説モデルはアクチン骨格の再構築により細胞が伸展と収縮をくり返すため、収縮移動モデルとよばれる<sup>6)</sup>。ここでは、細胞移動を実現する細胞形態変化の一連の過程が、突出(protrusion)、接着(adhesion/attachment)、収縮/牽引(contraction/traction)、後尾退縮(tail retraction)、の4つのステップに分けられる(図1a)。まず第1に、アクチン骨格の再構築により先端の細胞膜が波打ち(ruffling)、進行方向へ細胞膜が突出す

る。第2に、突出した細胞膜と細胞外基質が接着する。第3に、細胞が伸展したために発生した張力(tension)を解消するため細胞が収縮し、後方の核を含む細胞体が前方へ向けて牽引される。そして最後に、残された細胞後尾が基質との接着力を弱め(de-adhesion)、尾突起が退縮することで、細胞全体が前方へ移動する。

## 2. Rho によるアクチン骨格の動態制御

収縮移動モデルにおいて、細胞体を前進させる牽引力(traction force)は、ストレスファイバーの収縮力(con-

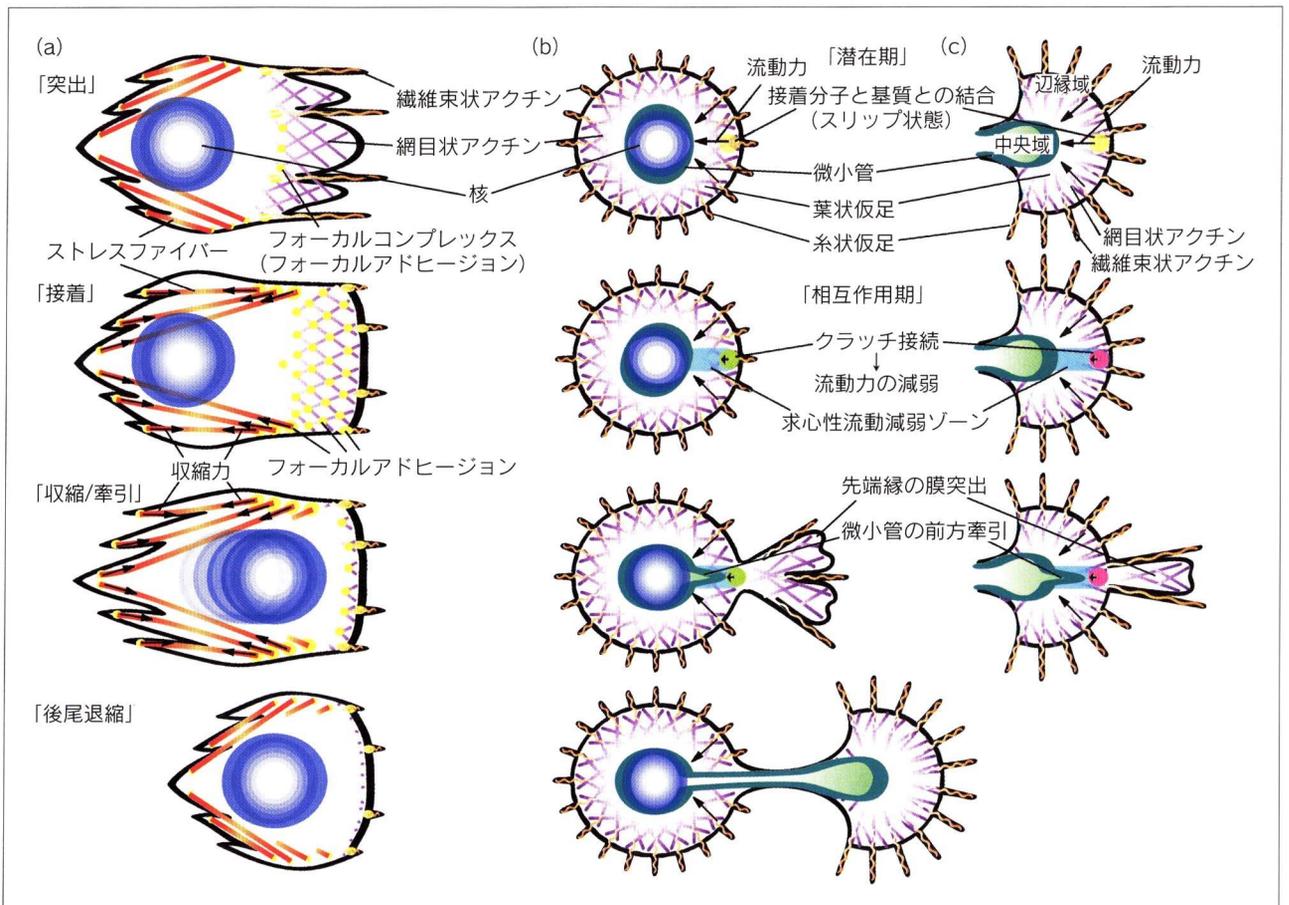


図 1 2次元平面基質上の細胞移動の力学的仮説モデル

(a)収縮移動モデル。膜の前方突出(突出)に続き、先端端側の葉状仮足のフォーカルアドヒージョン(黄色の楕円)が基質と接着する(接着)。細胞前後で接着力の強弱差が生じた結果、ストレスファイバー(赤の実線)に発生する収縮力(矢印)が、前方移動を促す牽引力に変換される(収縮/牽引)。最後に、後方のフォーカルアドヒージョンの脱着により後尾退縮が起こる。

(b)分子クラッチによる核周辺部局所の微細管の前方牽引と、膜突出につづく神経突起形成、および、(c)分子クラッチによる成長円錐の微細管の前方牽引と膜突出。細胞体周囲や成長円錐の辺縁域に含まれる網目状アクチン(紫の実線)と繊維束状アクチン(橙色の波線)は、膜の先端端から中心方向に流れている(3本の矢印で示した流動力; 求心性流動)。細胞外基質(リガンド)と接着分子との結合直後は、アクチン求心性流動と接着分子が接続しない潜在期である(スリップ状態)。細胞局所の接着分子のリガンド(基質)結合が持続すると、分子クラッチが集積して接着分子の細胞内領域と相互作用する(相互作用期)。ここでは、分子クラッチが基質とアクチン骨格をクラッチ接続(黄緑とピンクの楕円)させることで求心性流動が減弱される(クラッチ接続部位の後方、水色の求心性流動減弱ゾーン)。その結果、膜先端の前方突出とクラッチ接続部位に向かう微細管の前方牽引が起こる。

tractile force) が先端側のフォーカルアドヒージョンで細胞外へ伝達されることで発生する<sup>7,8)</sup>。ストレスファイバーはFアクチンが密に束化した分子極性の不明瞭な繊維構造であり、低分子量GTP結合蛋白質のRhoA (Ras-homologous member A) により構築される。Rhoファミリー(RhoA, Rac1, Cdc42)はアクチン骨格の再構築を制御する分子スイッチであり、収縮移動モデルの各ステップに関連する<sup>9~12)</sup>。第1ステップの突出では、Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate)が葉状仮足(lamellipodia)の形成と突出部への小胞輸送、および、Cdc42 (cell-division cycle 42) が糸状仮足(filopodia)の形成に関与する。第2ステップの接着では、Rac1とRhoAがフォーカルアドヒージョンの接着力を強化させる。第3ステップの収縮では、同じくRhoAがミオシンを調節することで張力(収縮力)を発生させる。

神経細胞の分化・成熟過程における軸索や樹状突起の形態変化にも、Rhoファミリーによるアクチン骨格の再構築は深くかかわる<sup>13)</sup>。しかし、収縮移動モデルで細胞移動を正に制御するRhoAの活性化は、神経突起形成と成長円錐の運動については抑制や退縮を誘起する<sup>14,15)</sup>。これは、軸索成長には収縮移動モデルとは異なるアクチン骨格制御による力学的プロセスが関与することを示唆する。神経細胞体の周囲や成長円錐の辺縁域にはストレスファイバーはなく、分子極性のあるアクチン骨格構造と細胞外基質との接続が前進運動を生み出している。

### 3. アクチン求心性流動とクラッチ仮説

初代培養系神経細胞の細胞体周囲や神経成長円錐の辺縁域(peripheral domain)は、厚みの薄い葉状仮足と糸状仮足からなる<sup>16,17)</sup>。葉状仮足と糸状仮足は、それぞれ網目状、繊維束状のFアクチンを多く含み、つねに活発に運動している(図1b, c)。この繊維束状・網目状アクチンには分子極性があり、重合するプラス端(反矢じり端)を先端端(leading edge)に向け、脱重合するマイナス端(矢じり端)は中心付近に向いている。葉状仮足や糸状仮足では、繊維束状・網目状アクチンが先端端から中心部に向かって流れるアクチン求心性流動(retrograde actin flow)が観察される。繊維束状・網目状アクチンを後方へ流動させる力の発生源は単量体アクチンの重合-脱重合反応ではなく、ミオシン系モーターのATPaseによる駆動力である<sup>18,19)</sup>。

軸索成長の方向と逆向するアクチン求心性流動が、前方移動を促す原動機(エンジン)として働くことを説明する仮説モデルを、クラッチ仮説あるいは基質-細胞骨格連結モデル(substrate-cytoskeletal coupling model)とよぶ<sup>16~18,20,21)</sup>。この仮説モデルは2つのステップからなる(図1b, c)。第1ステップの潜在期(latency period)では、細胞体の周囲あるいは成長円錐の辺縁域で接着分子が不動性の細胞外基質(リガンド)と結合し、細胞膜上での接着分子の可動性が制限される。リガンド結合の直後は、接着分子の細胞内領域とアクチン求心性流動との連結はスリップした状態にある(クラッチ解離状態)。第2ステップの相互作用期(interaction period)では、細胞局所での持続的な接着分子へのリガンド結合により分子クラッチが結合部位に集積し、基質-接着分子とアクチン骨格が連結する(クラッチ接続)。クラッチ接続の結果、細胞局所的にアクチン求心性流動の速度が減弱される領域が発生する。そして、最終的に求心性流動の減弱と相関して、先端細胞膜の前方突出と、成長円錐の中央域(central domain)や核周辺部の微小管(細胞質の一部)を前方へ牽引する張力が発生する。

先端細胞膜の突出には、クラッチ接続によるアクチン求心性流動の減弱に伴うアクチン重合の優位と、細胞膜に結合するミオシンによる膜を前へ押し出す相対的な力の発生が関与する<sup>6,18)</sup>。また、微小管の牽引力の発生には、Fアクチンのマイナス端側の脱重合と、アクチン骨格と微小管との相互作用の関与が想定されている<sup>17,22,23)</sup>。クラッチ接続による求心性流動の減弱により、アクチン骨格はマイナス端から前方へ向けて逐次脱重合する。成長円錐の辺縁域ではアクチン骨格と微小管は動的に相互作用しており<sup>24)</sup>、Fアクチンの前方への脱重合に伴い両細胞骨格のあいだに張力が生じる。その結果、成長円錐中央域や核周辺の微小管がクラッチ接続部位に向けて牽引されると考えられている。

なお、クラッチ仮説の分子メカニズムを模式的に示したアニメーションが、筆者らの研究室のホームページ[[http://www.brain.riken.go.jp/japanese/bj\\_rear/b0j\\_top.html](http://www.brain.riken.go.jp/japanese/bj_rear/b0j_top.html)]からダウンロードできるので、参照されたい。

### 4. 力学的仮説モデルの相違と協調

クラッチ仮説と収縮移動モデルとでは膜の突出と基質接着の順序が逆であり、突出部に後続する細胞体と成長円錐の中央域を牽引する力の発生機序も異なる(表1、

表 1 細胞運動の力学的仮説モデルの諸相

	収縮移動モデル	クラッチ仮説(基質-細胞骨格連結モデル) / 指向性移送モデル
関連するアクチン骨格構造	ストレスファイバー	繊維束状・網目状アクチンの求心性流動
骨格-基質間の連結装置	フォーカルアドヒージョン、インテグリン	分子クラッチ複合体
膜突出と接着の順序関係	膜突出→接着	接着・クラッチ接続→膜突出
牽引力の発生源	ストレスファイバーの収縮力	Fアクチンの求心性流動力
牽引方向の決定要因	接着の極性(前後の強弱差)	アクチン骨格の配向性
RhoA との関連	接着力と収縮力の増強	アクチン求心性流動には無関係
関連する細胞運動	主として核移動が連動する細胞移動	主として神経突起形成と軸索伸長

図 1). クラッチ仮説における膜突出は細胞外基質とアクチン骨格の連結(クラッチ接続)の結果であるのに対し、収縮移動モデルでは膜の突出が先行したあと突出した膜先端が基質と接着する。クラッチ仮説の牽引力のベクトルの向きは、細胞骨格構造の配向性(oriented track)によって決まる。骨格構造の配向性で牽引力の方向性が一義的に決まる移動モデルを、指向性細胞移送モデル(directional transport model)とよぶ<sup>6)</sup>。一方、収縮移動モデルの牽引力のベクトルの向きは、前後のフォーカルアドヒージョンの接着力の強弱差で決まる。牽引力の発生源である張力(収縮力)のベクトルは、ストレスファイバー両端のフォーカルアドヒージョンから内側に向くため、全体としては方向性がない。収縮移動モデルで細胞体が前進するのは、頑強に基質と接続する先端側のフォーカルアドヒージョンで収縮力が牽引力に変換されるためである<sup>6)</sup>。

収縮移動モデルは、培養された線維芽細胞などの非神経系細胞の移動を説明する力学的な仮説モデルであるが、これらの細胞移動にも一部に分子クラッチ機構が関与する可能性がある。移動中の線維芽細胞では、先端側の葉状仮足にある静止したフォーカルアドヒージョンの前駆体(フォーカルコンプレックス<sup>25)</sup>)を起点に膜が突出(葉状仮足の前方伸展)する(図 1a)<sup>10, 26)</sup>。そして逆に、静止した線維芽細胞では、フォーカルアドヒージョンは細胞の先端から中心方向へ移動する<sup>26)</sup>。これら生細胞の観察から、フォーカルアドヒージョン(フォーカルコンプレックス)は分子クラッチに類似した機能をもつと考えられる<sup>8, 26)</sup>。しかし、移動する線維芽細胞の葉状仮足では、遅いアクチン求心性流動がみられるものの<sup>24, 27, 28)</sup>、フォーカルアドヒージョン(フォーカルコンプレックス)とアクチン求心性流動との接続は実証されていない。静止した線維芽細胞のフォーカルアドヒージ

ョンの移動は、ミオシン II によるストレスファイバーの収縮に起因することが確認されている<sup>8, 26)</sup>。

## II. 神経軸索成長における分子クラッチ機構

### 1. 神経突起形成を制御する分子クラッチ

神経突起は細胞体周囲の葉状仮足が細胞外基質と接着した領域で形成される。このことから、アクチン求心性流動を原動力とした局所的な前進運動が神経突起形成に関与することは古くから想定されていたが<sup>16, 22)</sup>、接着分子や分子クラッチの実体についてはまったく不明であった。神経突起形成や軸索伸長を誘起する接着分子は、免疫グロブリンスーパーファミリー、カドヘリンファミリー、インテグリンファミリーの大きく 3 つに分類でき、おのおのの細胞内領域とアクチン骨格を連結する固有のアダプター蛋白質が存在する。これらの分子クラッチとしての機能を実証するのがたいへん困難であるのは、アクチン求心性流動と連結する動的な複合体の機能を、細胞局所的前方移動と関連づける必要性があるためである<sup>21)</sup>。最近、筆者らは、スペクトリン結合蛋白質であるアンキリン B が、アクチン求心性流動と接着分子を連結する分子クラッチとして機能し、神経接着分子 L1 に依存した神経突起形成に関与することを明らかにした<sup>29)</sup>。

### 2. 神経接着分子 L1 とアンキリン

L1 は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する 1 回膜貫通型の糖蛋白質である。その構造は、6 個の免疫グロブリンドメインと 5 個のフィブロネクチン III 型ドメインをもつ細胞外領域、膜貫通領域、細胞内領域で構成される。L1 は、発生過程における末梢・中枢ニューロンの軸索と神経成長円錐に存在し、神経軸索の伸長お

よび神経線維束の形成に関与する。ヒトおよびマウスの L1 の変異は水頭症の原因となり、L1 の機能不全により脳梁および皮質脊髄路(大脳皮質の1次運動野から脊髄に投射する)などの主要な軸索路が欠落する<sup>30-32</sup>。L1 は、細胞外領域のホモフィリック結合(L1 どうしの結合)もしくはヘテロフィリック結合(L1 と異種分子の結合)により、細胞間接着に働く<sup>33</sup>。L1 依存的な細胞間の接着力は、L1 のシス多量体化、あるいは、L1 細胞内領域とアンキリン(スペクトリン結合蛋白質)の結合により増強される<sup>34, 35</sup>。

一般的にアンキリンは、スペクトリンとアクチンとともに2次元的な網目構造をつくり、細胞膜を裏打ちする細胞骨格蛋白質として知られる。アンキリンは、細胞膜構造を物理的に支える細胞骨格の一部を構成するという単純機能にとどまらず、細胞骨格とさまざまな膜貫通蛋白質を結びつけるアダプターとして多様な細胞生理機能を調節する<sup>36</sup>。アンキリンが多細胞生物に備わる高度な生理機能に関与することは、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のゲノムにアンキリン遺伝子が存在しないことからもうかがえる<sup>36</sup>。線虫 *Caenorhabditis elegans* のアンキリン機能欠失突然変異体 *unc-44* には軸索路の形成異常がみられる<sup>37</sup>。哺乳動物のゲノムには、アンキリン R (R; restricted), アンキリン G (G; general or giant), アンキリン B (B; broadly) の3つをコードする遺伝子が存在する。アンキリン R の主要な機能は赤血球細胞膜の裏打ちであり、アンキリン G とアンキリン B は神経系に多く発現し、ともに L1 サブファミリー (L1, Nr-

CAM, neurofascin) の細胞内領域と結合することが明らかとなっている<sup>38, 39</sup>。

### 3. 分子クラッチとして機能するアンキリン B

アンキリン B 遺伝子ノックアウトマウスより神経細胞(後根神経節ニューロン, 小脳顆粒細胞)を培養すると、L1 依存的な神経突起形成は有意に抑制されるが、Nカドヘリンやラミニン(インテグリン)依存的な突起形成は対照群と比べ有意差がなかった。また、L1 のアンキリン結合部位を欠失した L1 変異体の強制発現は、後根神経節ニューロンの神経突起形成を抑制する。細胞体周囲の葉状仮足の突起形成予定領域にはアンキリンのクラスター化が認められ(図2), 蛍光共鳴エネルギー移動 (fluorescent resonance energy transfer; FRET) によって、突起形成予定領域での L1 とアンキリン B の分子間相互作用も確認された<sup>29</sup>。これらは、L1 依存性の神経突起形成には L1 とアンキリン B の相互作用が重要であることを示している。

さらに、光ピンセットを用いて、細胞体周囲の葉状仮足に L1 細胞外領域あるいは抗 L1 抗体でコートした直径  $0.8\mu\text{m}$  のラテックスマイクロビーズを接触させ、細胞局所の L1 ホモフィリック結合を模倣した。葉状仮足上のビーズの運動軌跡は、L1 とアクチン求心性流動の接続状態を示す(図3)。野生型後根神経節ニューロンでは、ビーズは中心方向へ移動してアクチンおよびアンキリン B の求心性流動と連動したが(図3, 図4), アンキリン B 遺伝子ノックアウトマウスではビーズの移動速

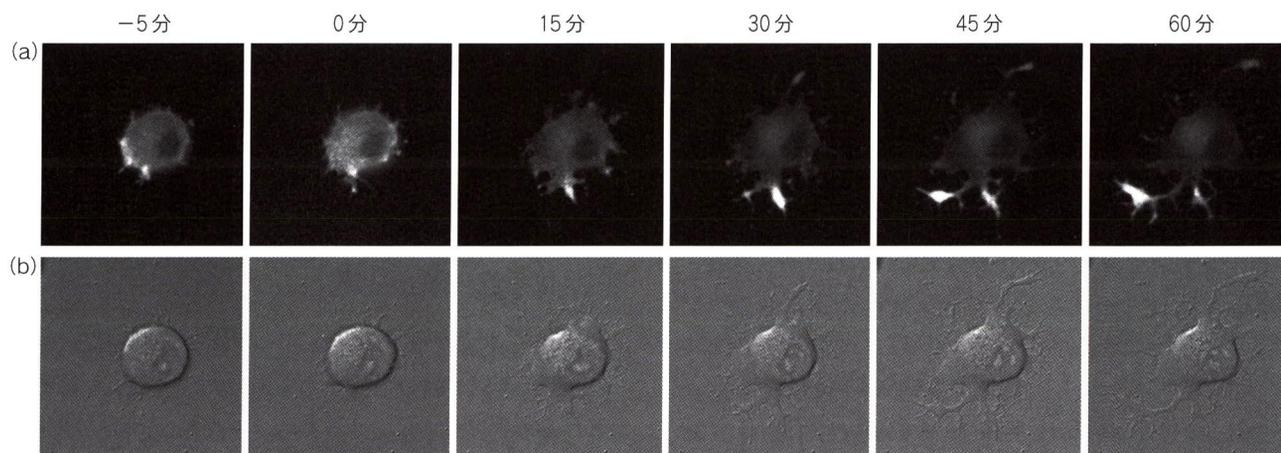


図2 神経突起を形成する後根神経節ニューロンの時間推移解析<sup>29)</sup>

0分の時点で、培養後根神経節ニューロンからの神経突起形成を L1 基質により誘導した。(a)黄色蛍光蛋白質 Venus を付加したアンキリン B の蛍光像。(b)微分干渉顕微鏡像。

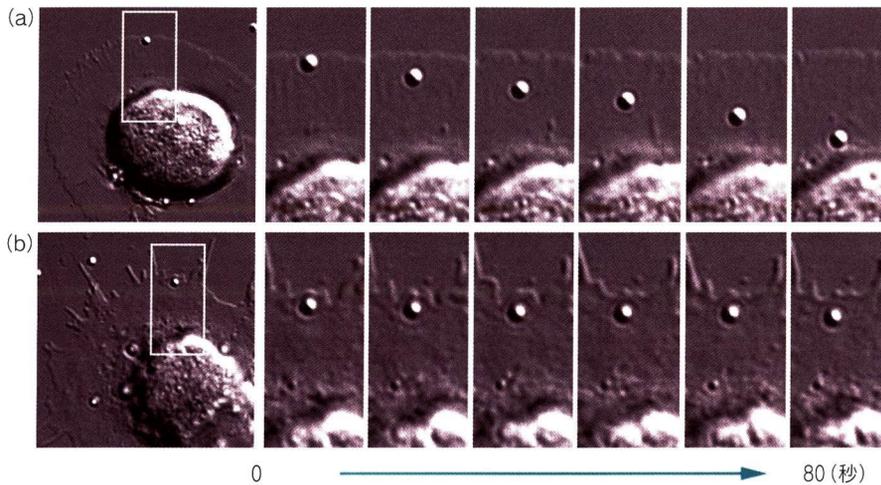


図3 神経細胞体周囲の葉状仮足でのクラッチ接続<sup>29)</sup>  
 光ピンセットを用いてL1をコートしたマイクロビーズを葉状仮足の辺縁端に接触させ、ビーズの運動軌跡を解析した(白線で囲まれた領域)。(a)野生型後根神経節ニューロン。(b)アンキリンB遺伝子ノックアウトマウス由来後根神経節ニューロン。  
 [動画参照⇒<http://www.kyoritsu-pub.co.jp/pne/clutch.html>]

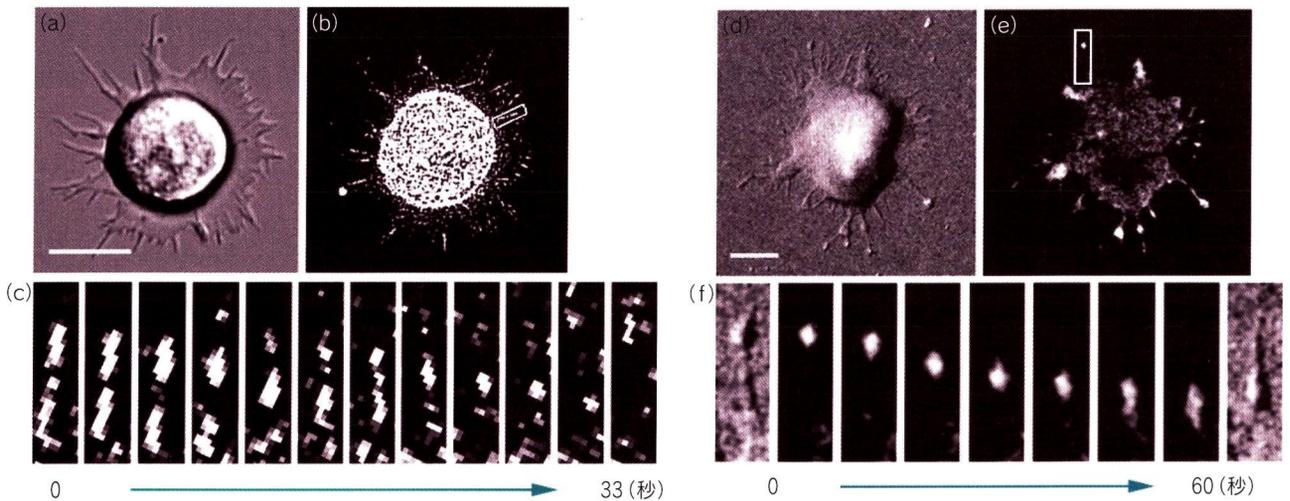


図4 後根神経節ニューロン細胞体周囲の葉状仮足および糸状仮足におけるFアクチンとアンキリンBの動態<sup>29)</sup>  
 (a)~(c)は、蛍光スペckル顕微鏡法<sup>\*1</sup>によるアクチン求心性流動の可視化。(a)微分干渉顕微鏡像。(b)Fアクチン上に発生した蛍光スペckル像。(c)は(b)の白線で囲まれた領域の蛍光スペckル像の時間推移。(d)~(f)は、Venus-アンキリンBの求心性流動の解析。(d)微分干渉顕微鏡像。(e)Venus-アンキリンBの蛍光像。(f)は(e)の白線で囲まれた領域の蛍光像の時間推移。スケールバーは10μm。  
 [動画参照⇒<http://www.kyoritsu-pub.co.jp/pne/actin.html>]

度が有意に減少した(図3)。これはアンキリンBが、接着分子であるL1とアクチン求心性流動を連結する分子クラッチであることを意味する。以上の結果から、アンキリンBは分子クラッチとして機能することで神経突起形成に関連すると結論された<sup>29)</sup>(図5)。

#### 4. 神経軸索伸長を制御する分子クラッチの実体ははっきりしない

神経成長円錐における細胞外基質との局所的なクラッチ接続は、軸索の伸長や誘導に関与する前方移動を制御すると考えられる。クラッチ接続による成長円錐の前方

\*1 蛍光スペckル顕微鏡法(fluorescent speckle microscopy ; FSM)

生きた細胞での細胞骨格の動態を蛍光スペckル像として可視化する技術。蛍光標識された低濃度の単量体アクチンやヘテロ2量体チューブリンなどを細胞内に導入すると、重合反応によりそれぞれFアクチンと微小管に取り込まれる。細胞骨格に1%以下の比率で取り込まれた蛍光分子は、細胞骨格の構造に沿った不均一な斑点(蛍光スペckル)として分布する。高感度の冷却CCDカメラを用いて蛍光スペckルの時間推移を撮影すると、アクチン求心性流動や微小管の挙動を観察できる。図4および図6で示した蛍光スペckル像は、Fアクチンに特異的に結合する蛍光標識ファロイジンを用いて得られている。

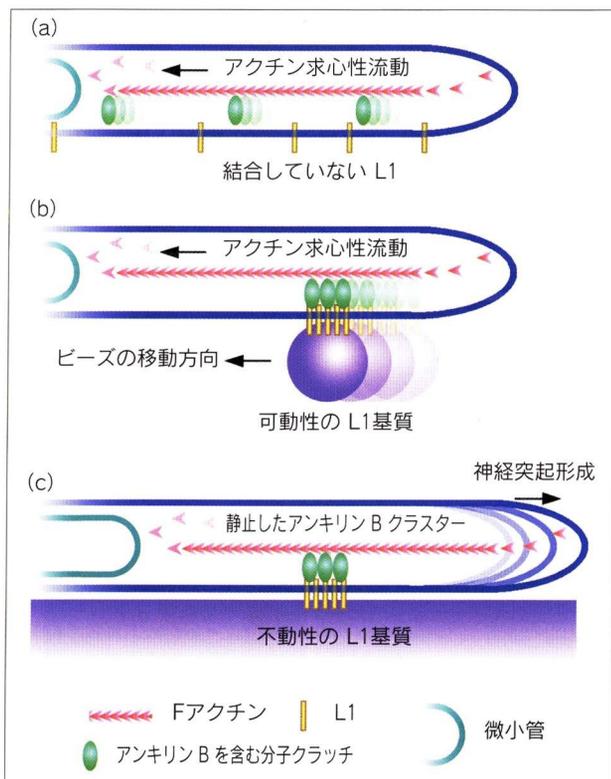


図5 分子クラッチにより制御されるL1依存的神経突起形成のモデル<sup>29)</sup>

(a)細胞体周囲の葉状仮足および糸状仮足で、アンキリンBはアクチン求心性流動と連結するが、基質と結合しないL1とは連結しない(分子クラッチのスリップ状態)。 (b)L1へのリガンド結合(L1をコートしたビーズの接触)によりL1とアンキリンBが結合し、クラッチが接続される。可動性のビーズはアクチン求心性流動により細胞体の方向へ牽引される。 (c)L1が不動性のL1基質と結合すると、アンキリンBによるクラッチ接続によりアクチン求心性流動が減弱・制限され、微小管の牽引と膜突出により神経突起が形成される。

[文献29より改変，許可を得て転載]

移動は、海産軟体動物アメフラシ *Aplysia californica* の神経分泌細胞である bag cell neuron の培養系について実証されている<sup>23)</sup>。アメフラシには脊椎動物の神経接着分子 NCAM に対応する相同蛋白質 apCAM がある。アメフラシ bag cell neuron の成長円錐の葉状仮足に抗 apCAM 抗体をコートしたマイクロビーズを接触させ、ビーズの求心性流動を機械的に制限すると、先端端が突出するとともに中央域(微小管)がビーズ接触部に向かって牽引される<sup>23)</sup>。apCAM とアクチン求心性流動を連結する分子クラッチは不明だが、Src ファミリーチロシキナーゼの活性化が apCAM によるクラッチ接続を調節することが明らかとなっている<sup>40,41)</sup>。

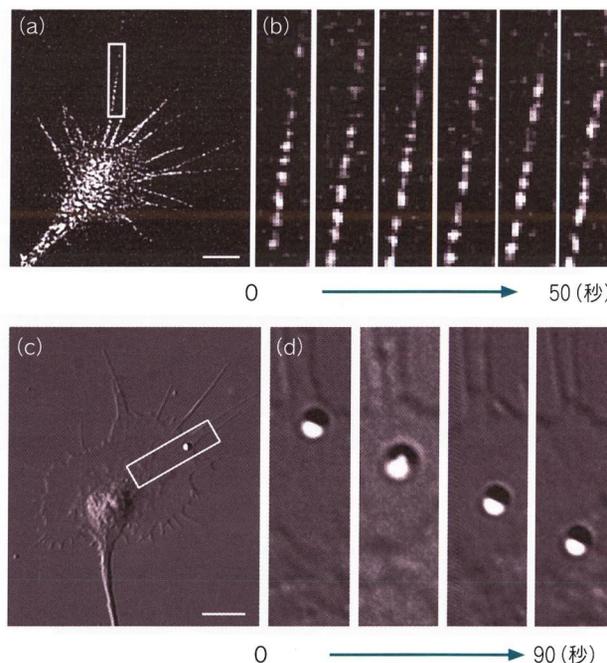


図6 神経成長円錐におけるアクチン求心性流動とクラッチ接続

(a)蛍光スペクル顕微鏡法<sup>\*1</sup>による成長円錐のアクチン求心性流動の可視化。(b)は(a)の白線で囲まれた領域の蛍光スペクル像の時間推移。(c)神経成長円錐辺縁部におけるL1をコートしたビーズの運動軌跡。(d)は(c)の白線で囲まれた領域の運動軌跡の時間推移。L1のホモフィリック結合によりクラッチ接続し、ビーズは先端端から求心性に移動する<sup>42)</sup>。(a)と(c)のスケールバーは、それぞれ5 $\mu$ mと10 $\mu$ m。

L1をコートしたマイクロビーズも成長円錐の葉状仮足上で求心性に移動することから、L1依存的な軸索伸長や軸索誘導は分子クラッチ機構により制御されると考えられる<sup>42)</sup>(図6)。しかし筆者らは、神経突起形成の場合とは異なり、アンキリンBはL1依存性の軸索伸長には無関係であることを見いだしており、FRETによる解析結果から、成長円錐ではL1とアンキリンBの分子間相互作用はないと考えている<sup>29)</sup>。これらは、L1依存的な成長円錐の運動制御には、アンキリンBとは異なる蛋白質が分子クラッチとして機能していることを示唆する。

成長円錐の葉状仮足および糸状仮足で神経接着分子L1とアクチン求心性流動を連結する分子クラッチは不明だが、ERMファミリー(エズリン、ラディキシン、モエシンの頭文字から命名された)のエズリンが候補のひとつとして想定されている<sup>29,43)</sup>。ERMファミリーとL1は放射移動する神経細胞や成長円錐が存在する胎生

期大脳皮質の中間層 (intermediate zone) で一過性に共局在し, 酵母 two-hybrid システムによりエズリンと L1 の細胞内領域の結合が実証されている<sup>44,45)</sup>. また, エズリンのドミナントネガティブ体の強制発現は, L1 基質上の軸索に形態異常を誘起する一方, ラミニン基質上の軸索形態には影響しない<sup>45)</sup>.

## 5. そのほかの分子クラッチの候補蛋白質

ERM ファミリー, カテニン, タリン, ピンキュリンは, 接着分子と F アクチンを連結することから, 分子クラッチとして機能することが推察される. しかし, これらアダプター蛋白質の軸索成長や細胞移動と関連した分子クラッチとしての機能解析はほとんど進められていない. 神経成長円錐のラディキシンとモエシンは協調的に葉状仮足の形態を安定化させることで軸索伸長に関与する<sup>346,47)</sup>, アクチン求心性流動との連結は不明である. p120 カテニンは脳室下帯(subventricular zone)から嗅球 (olfactory bulb) へ向けて接線移動する神経芽細胞に発現し, Rac1 と Cdc42 を活性化する Vav2 に結合する<sup>48,49)</sup>.  $\beta$  カテニンは発生中の大脳皮質層形成に関与する p35-Cdk5 キナーゼと結合する<sup>50)</sup>. これらはカテニンが細胞骨格の再構築を調節して, 神経細胞体の移動に関与することを示唆する. また, N カドヘリンをコートしたマイクロビーズが Rac1 依存的にアクチン求心性流動と連結し, カテニンがビーズ接触部に局在することは示されている<sup>51)</sup>. しかしながら, カテニンの細胞体移動に関連した分子クラッチとしての機能については不明である. 顕微鏡下レーザー分子機能不活化法 (chromophore-assisted laser inactivation; CALI) を用いたタリンとピンキュリンの機能阻害実験の解析結果によれば, タリンは神経成長円錐の糸状仮足の運動に関与し, ピンキュリンはアクチン骨格構造の安定化に必要である<sup>52)</sup>. タリンは分子クラッチとして機能することが推察されるが, アクチン求心性流動との相互作用は明らかでない.

## おわりに

神経軸索の成長過程には, 細胞骨格の動態と接着分子との相互作用, ミオシンによる牽引, 小胞輸送などが関与する. 今回, 筆者らは, アンキリン B が軸索形成を制御する分子クラッチとして機能することを実証したが, 成長円錐の運動を制御する分子クラッチの実体は不明である. 成長円錐の前方移動と旋回運動が細胞外基質

との局所的なクラッチ接続により制御されることは明らかであり, 分子クラッチは軸索伸長の速度・方向の制御に関与するものと考えられる. よって, 分子クラッチの制御機構の解明は, 発生期の脳神経系の構築メカニズムの理解のみならず, 将来的には神経軸索再生・修復技術の応用・開発につながることを期待される.

## 文献

- 1) da Silva, J. S., Dotti, C. G. : *Nature Rev. Neurosci.*, 3, 694-704 (2002)
- 2) Feng, Y., Walsh, C. A. : *Nature Rev. Neurosci.*, 2, 408-416 (2001)
- 3) Nadarajah, B., Parnavelas, J. G. : *Nature Rev. Neurosci.*, 3, 423-432 (2002)
- 4) Goodman, C. S. : *Annu. Rev. Neurosci.*, 19, 341-377 (1996)
- 5) Lauffenburger, D. A., Horwitz, A. F. : *Cell*, 84, 359-369 (1996)
- 6) Mitchison, T. J., Cramer, L. P. : *Cell*, 84, 371-379 (1996)
- 7) Sheetz, M. P., Felsenfeld, D. P., Galbraith, C. G. : *Trends Cell Biol.*, 8, 51-54 (1998)
- 8) Horwitz, A. R., Parsons, J. T. : *Science*, 286, 1102-1103 (1999)
- 9) Nobes, C. D., Hall, A. : *Cell*, 81, 53-62 (1995)
- 10) Ballestrem, C. et al. : *J. Cell Biol.*, 155, 1319-1332 (2001)
- 11) de Curtis, I. : *EMBO Rep.*, 2, 277-281 (2001)
- 12) Rivelino, D. et al. : *J. Cell Biol.*, 153, 1175-1186 (2001)
- 13) Luo, L. : *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 18, 601-635 (2002)
- 14) da Silva, J. S. et al. : *J. Cell Biol.*, 162, 1267-1279 (2003)
- 15) Zhang, X. F. et al. : *Neuron*, 40, 931-944 (2003)
- 16) Smith, C. L. : *J. Cell Biol.*, 127, 1407-1418 (1994)
- 17) Suter, D. M., Forscher, P. : *J. Neurobiol.*, 44, 97-113 (2000)
- 18) Tanaka, E., Sabry, J. : *Cell*, 83, 171-176 (1995)
- 19) Lin, C. H. et al. : *Neuron*, 16, 769-782 (1996)
- 20) Mitchison, T., Kirschner, M. : *Neuron*, 1, 761-772 (1988)
- 21) Jay, D. G. : *J. Neurobiol.*, 44, 114-125 (2000)
- 22) Smith, C. L. : *J. Neurosci.*, 14, 384-398 (1994)
- 23) Suter, D. M. et al. : *J. Cell Biol.*, 141, 227-240 (1998)
- 24) Rodriguez, O. C. et al. : *Nature Cell Biol.*, 5, 599-609 (2003)
- 25) Galbraith, C. G., Yamada, K. M., Sheetz, M. P. : *J. Cell Biol.*, 159, 695-705 (2002)
- 26) Smilenov, L. B. et al. : *Science*, 286, 1172-1174 (1999)
- 27) Wang, Y. L. : *J. Cell Biol.*, 101, 597-602 (1985)
- 28) Choquet, D., Felsenfeld, D. P., Sheetz, M. P. : *Cell*, 88, 39-48 (1997)
- 29) Nishimura, K. et al. : *J. Cell Biol.*, 163, 1077-1088 (2003)
- 30) Rosenthal, A., Jouet, M., Kenwrick, S. : *Nature Genet.*, 2, 107-112 (1992)
- 31) Van Camp, G. et al. : *Nature Genet.*, 4, 421-425 (1993)
- 32) Kamiguchi, H. et al. : *Annu. Rev. Neurosci.*, 21, 97-125 (1998)
- 33) Kamiguchi, H., Lemmon, V. : *Curr. Opin. Cell Biol.*, 12, 598-605 (2000)

- 34) Silletti, S. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **149**, 1485-1502 (2000)
- 35) Tuvia, S., Garver, T. D., Bennett, V. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 12957-12962 (1997)
- 36) Bennett, V., Chen, L. : *Curr. Opin. Cell Biol.*, **13**, 61-67 (2001)
- 37) Otsuka, A. J. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **129**, 1081-1092 (1995)
- 38) Davis, J. Q., Bennett, V. : *J. Biol. Chem.*, **269**, 27163-27166 (1994)
- 39) Needham, L. K., Thelen, K., Maness, P. F. : *J. Neurosci.*, **21**, 1490-1500 (2001)
- 40) Suter, D. M., Forscher, P. : *J. Cell Biol.*, **155**, 427-438 (2001)
- 41) Suter, D. M., Schaefer, A. W., Forscher, P. : *Curr. Biol.*, **14**, 1194-1199 (2004)
- 42) Kamiguchi, H., Yoshihara, F. : *J. Neurosci.*, **21**, 9194-9203 (2001)
- 43) Gil, O. D. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **162**, 719-730 (2003)
- 44) Mintz, C. D. *et al.* : *J. Comp. Neurol.*, **464**, 438-448 (2003)
- 45) Dickson, T. C. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **157**, 1105-1112 (2002)
- 46) Paglini, G. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **143**, 443-455 (1998)
- 47) Castelo, L., Jay, D. G. : *Mol. Biol. Cell*, **10**, 1511-1520 (1999)
- 48) Chauvet, N. *et al.* : *Mol. Cell. Neurosci.*, **22**, 467-486 (2003)
- 49) Noren, N. K. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **150**, 567-580 (2000)
- 50) Kwon, Y. T. *et al.* : *Curr. Biol.*, **10**, 363-372 (2000)
- 51) Lambert, M., Choquet, D., Mege, R. M. : *J. Cell Biol.*, **157**, 469-479 (2002)
- 52) Sydor, A. M. *et al.* : *J. Cell Biol.*, **134**, 1197-1207 (1996)

#### 西村一成

略歴：1998年 東京理科大学大学院薬学研究所博士後期課程修了，東京理科大学生命科学研究所を経て，1999年より理化学研究所脳科学総合研究センター研究員。 関心事・抱負：大学院で発生期の神経細胞死をテーマとしたことで，ニューロンの分化・成熟に興味をもつようになった。分子クラッチのプロジェクトを完成させ，現在はニューロンの極性化をテーマに研究を進めている。

## PNE 特集号バックナンバー

特集タイトル	編者	掲載号
トランスポゾンによる進化, 変異導入の生物学的意義	竹田潤二・岡田典弘	2004年10月号
染色体運動の制御起点	高橋考太	9月号
脂質を見る	小林俊秀	8月号
自然免疫応答と異物認識	倉田祥一郎	6月号
幹細胞の運命を決定するシグナル	仲野 徹	5月号
ウイルスの感染防御突破戦略	藤井暢弘	3月号
動物の性はどのように決まるか?	長濱嘉孝	2月号
シグナル応答と転写制御の最前線	加藤茂明	2003年12月号
植物が放つ揮発性物質を介した動植物の相互作用	高林純示	10月号
RNA ウィルス複製機構解明がもたらすもの	永田恭介・加藤 篤	8月号
システムバイオロジーのフロンティア	北野宏明・黒田真也	6月号
DNA 二重らせん構造の半世紀(2)	本誌編集委員会	5月号
DNA 二重らせん構造の半世紀(1)	本誌編集委員会	4月号
上皮組織ベクトル輸送の分子基盤と機能制御	倉智嘉久・杉山雄一	2月号

バックナンバーのご注文は，<http://www.kyoritsu-pub.co.jp/pne/>よりお申し込みください

共立出版(株)販売課 Tel. 03-3947-2513 FAX03-3947-2539