

関西学院大学 研究成果報告

2019年 5月 20日

関西学院大学 学長殿

所属：理工学部
職名：教授
氏名：西脇 清二

以下のとおり、報告いたします。

研究制度	<input type="checkbox"/> 特別研究期間 <input type="checkbox"/> 自由研究期間 <input type="checkbox"/> 大学共同研究 <input checked="" type="checkbox"/> 個人特別研究費 <input type="checkbox"/> 博士研究員 ※国際共同研究交通費補助については別様式にて作成してください。
研究課題	ADAMTSプロテアーゼによる基底膜制御のライブイメージング解析
研究実施場所	理工学部 7号館 西脇研究室
研究期間	2018年 4月 1日 ～ 2019年 3月 31日 (12ヶ月)

◆ 研究成果概要 (2,500字程度)

上記研究課題に即して実施したことを具体的に記述してください。

線虫 *C. elegans* のU字型の生殖巣はチューブ状に並んだ上皮細胞から成り、DTC (distal tip cell: 遠端細胞) と呼ばれるリーダー細胞が移動することにより形成される。生殖巣は基底膜と呼ばれる特殊な細胞外マトリックス (Extracellular matrix: ECM) で覆われており、ADAMTS (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs) ファミリーマトリックス分解酵素である GON-1 (gonad development abnormal-1) と MIG-17 (cell migration abnormal-17) が基底膜分子を切断、再構築することでDTCの適切な移動を制御していると考えられている。 *gon-1* 変異体は、DTCの移動不全により生殖巣の伸長が不完全となる。一方、 *mig-17* 変異体はDTCが蛇行、迷走するため、生殖巣形態形成異常を引き起こす。このように、両者は同じADAMTSファミリーに分類されるにも関わらず、表現型が異なる。当研究室ではこれまでに、 *gon-1* 変異体や *mig-17* 変異体の異常を抑圧する遺伝学的サプレッサーとして、基底膜分子の *fbl-1/fibulin-1* やIV型コラーゲンのサブユニットをそれぞれコードする *emb-9/a1* と *let-2/a2* の変異を単離している。しかし、2種のADAMTSがどのように協調して基底膜を制御しているのかはまだ分かっていない。本研究では、GON-1とMIG-17の基底膜制御における、それぞれの機能を明らかにすることを目的とする。先行研究においてDTCの先端でIV型コラーゲンが過剰に蓄積すると分かっている *gon-1* 変異体では生殖巣基底膜の代謝が野生型とどのように異なるのかを調べるため、UV照射によって色の変換が可能なEMB-9-mKikGRを用いてDTC基底膜に

における蛍光強度を経時的に測定を行いIV型コラーゲンの定量を試みた。

gon-1変異体およびfbl-1変異体の生殖巣伸長速度

成虫でgon-1変異体およびfbl-1変異体は生殖巣がU字型ではなく1度目のターン後にDTCの移動が停止した形をとる。今回、gon-1変異体およびfbl-1変異体の生殖巣伸長速度を測ると、野生型と比較してgon-1変異体ではその速度が約2割となりとても遅くなっていることが分かった。一方、同じような表現型を取るfbl-1変異体では野生型に比べると約6割と遅くなっているが、ある程度の伸長が見られた。また、生殖巣の形態異常が抑制されるfbl-1 gon-1二重変異体ではgon-1変異体とあまり差がなく、生殖巣の伸長は回復せず遅いままであることが分かった。この結果からDTCの移動や生殖巣の形態はそのDTCの移動速度によって必ずしも左右されるわけではないと考えられる。

EMB-9-mKikGRを用いた基底膜IV型コラーゲン代謝の定量

DTCの先端におけるIV型コラーゲンの代謝を測定すると野生型、gon-1変異体およびfbl-1変異体それぞれでDTCの先端からもともとあったIV型コラーゲンが移動し新たにIV型コラーゲンが付加されていることが分かった。また、gon-1変異体ではDTCの先端からのIV型コラーゲンの減少速度が遅く増加速度が速くなっていた。これによってDTCの先端での過剰なIV型コラーゲンの蓄積が起こると考えられる。先行研究においてもDTCの先端でのIV型コラーゲンの蓄積は観察されており、今回の結果からIV型コラーゲンの代謝のバランスが異常になるとDTCの先端からのIV型コラーゲンの移動や蓄積が異常になりこれが生殖巣形成の異常を引き起こすと考えられる。GON-1は基底膜の分解や代謝に関わっており、gon-1変異体ではその機能が弱くなるためDTCの先端からIV型コラーゲンが正常に移動されず、過剰に蓄積してしまうためDTCの移動に影響が出てしまうのではないかと考えられる。一方、fbl-1変異体ではDTCの先端にあるIV型コラーゲンの減少速度及び増加速度が共に遅くなっていた。fbl-1がコードするフィブリンは基底膜分子の一つであり基底膜の構造に関わっている。fbl-1変異体ではフィブリンが存在せず、それによって基底膜の構造が変化し外的要因による構造変化に影響があったのではないかと考えた。そのためfbl-1変異体ではDTCの先端での基底膜IV型コラーゲンの移動が異常となり生殖巣の伸長停止が見られるのではないかと考えられる。生殖巣形成異常が抑制されるfbl-1gon-1変異体ではgon-1変異体で見られるDTCの先端でのIV型コラーゲンの過剰な蓄積が抑制され代謝のバランスが野生型に近づいていた。この結果から、基底膜の分解や代謝機能が弱まったgon-1変異体に基底膜の強度が弱くなったfbl-1変異体を組み合わせることで基底膜の代謝における力のバランスが取れ、DTCが正常に移動できるようになったのではないかと考えた。

UV照射後8時間における赤色に変換されたIV型コラーゲンの移動距離を測定したが、個体によってのばらつきがかなり大きくなってしまった。gon-1(q518)変異体では移動距離が著しく短くなっており、この結果からもGON-1が基底膜IV型コラーゲンの移動に機能することが分かった。

以上

提出期限：研究期間終了後2ヶ月以内

※個人特別研究費：研究費支給年度終了後2ヶ月以内 博士研究員：期間終了まで

提出先：研究推進社会連携機構（NUC）

※特別研究期間、自由研究期間の報告は所属長、博士研究員は研究科委員長を経て提出してください。

◆研究成果概要は、大学ホームページにて公開します。研究遂行上大学ホームページでの公開に支障がある場合は研究推進社会連携機構までご連絡ください。