

カラクシンの欠損が繊毛病の発症を引き起こす
～海産生物から脊椎動物まで保存された繊毛調節機能～

研究成果のポイント

1. カラクシン^{※1)}は海産生物であるホヤではじめて発見された繊毛分子モーターを調節するカルシウムセンサーです。しかし、脊椎動物におけるカラクシンの機能については不明でした。
2. カラクシンを欠損したマウスの繊毛は見かけ上正常で、活発な運動が見られましたが、繊毛波形やその伝播に異常が見られました。その結果、内臓逆位や水頭症^{※2)}といった繊毛病^{※3)}が発症しました。
3. カラクシンを欠損した魚類でも同様の繊毛運動異常と繊毛病が見られることから、カラクシンの繊毛調節機能はホヤから脊椎動物に至るまで保存されていることがわかりました。

筑波大学生命環境系（下田臨海実験センター）の稲葉一男教授、佐々木恵太元大学院生、柴小菊助教、中村彰宏元研究員らは、大阪大学微生物学研究所伊川正人教授、佐藤裕公元講師、国立成育医療研究センター細胞医療研究部宮戸健二博士、東京大学大学院医学系研究科吉川雅英教授、明治大学農学部河野菜摘子准教授、本学生命環境系馬場忠教授、基礎生物学研究所野中茂紀准教授、愛知教育大学上野裕則准教授らの各研究グループと共同で、繊毛のカルシウムセンサーであるカラクシンが繊毛病の発症に関わることを明らかにしました。

カラクシンは、鞭毛や繊毛の分子モーターであるダイニンのカルシウムセンサーで、海産生物であるホヤで発見されました。ホヤでは、カラクシンが鞭毛の波形制御を介した精子の走化性（卵に向かって動いていく現象）に必要であることが明らかにされています。しかし、脊椎動物における機能は不明でした。今回、本研究チームは、カラクシンを欠損したマウスおよび魚類（ゼブラフィッシュ）を用いた解析により、カラクシンが欠損しても鞭毛や繊毛は正常に形成され、運動も活発に見られるものの、屈曲波形の伝播が異常になること、その結果、水頭症（マウス）や内臓逆位（マウス、ゼブラフィッシュ）といった繊毛病を引き起こすことを明らかにしました。本研究は、繊毛運動のカルシウム調節が生物で保存されていることを示したことに加え、繊毛病発症のメカニズムを解明する上でも重要な成果であり、医学など他分野への貢献が期待されます。

本研究の成果は、2019年6月20日付け「Communications Biology」誌に公開されました。

* 本研究は、科学研究費補助金 新学術領域「シリア」（No. 15H01201）、基盤研究B（No. 22370023）、基盤研究A（16H02502）、CREST（JPMJCR14M1）によって実施されました。

研究の背景

鞭毛や繊毛は、細胞の運動や上皮の周りの水流を起こす「細胞の毛」です。環境刺激のセンサーとして働く一次繊毛や感覚繊毛を除き、運動性の鞭毛や繊毛は周期的に屈曲し、それを伝播することで推進力を出しています。この運動の調節因子として古くから知られているものとして、カルシウムイオンがあります。カルシウムがいかに作用して運動が調節されるか、そのメカニズムについては完全に明らかにされていません。本研究グループは数年前に、海産生物であるホヤの精子から、鞭毛の分子モーター（ダイニン）をカルシウムに依存して直接制御する新規のタンパク質を発見し、カラクシンと名付けました。カラクシンは鞭毛や繊毛の屈曲をカルシウム依存的に調節することにより、ホヤの精子が卵に誘引される現象（走化性）を制御すること、ウニ胚繊毛運動の協調性を制御することがすでにわかっています。しかし、脊椎動物におけるカラクシンの機能についてはわかっていませんでした。

研究内容と成果

本研究では、カラクシンを欠損するノックアウトマウスを解析しました。カラクシンは、ホヤでは精子の走化性に重要であることから、これを欠損したマウスは不妊になると期待されました。しかし予想に反し、仔マウス数は減少するものの、雌雄とも不妊にはなりません。カラクシン欠損マウスにもっとも顕著に現れた症状として、脳室が拡大する水頭症と、心臓や肝臓の位置が左右逆転する内臓逆位が見られました。これらは繊毛病と呼ばれる症候群に見られる症状です。一方、精子の鞭毛や気管上皮繊毛、脳室の上皮細胞繊毛を調べた結果、鞭毛や繊毛は正常に形成され、それらの内部構造も見かけ上、正常のマウスと変わりませんでした。しかしながら、これらの鞭毛や繊毛の運動を詳細に解析した結果、形成される屈曲波の伝播に異常が見られることがわかりました。

さらに、左向き水流を起こすことにより内臓の非対称性を司っていることが知られているノード繊毛^{※4)}を調べてみたところ、カラクシン欠損マウスではその数が著しく減少し、方向性を持った水流は起こりませんでした。魚類のクッペル胞（ノードに相当）においても水流がランダムになることが観察されましたが、繊毛は正常に形成されました。

以上の結果から、カラクシンの欠損により、正常に繊毛形成が起こりつつも屈曲運動が異常になり、結果的に繊毛病につながることで、マウスのノード繊毛形成にはカラクシンが重要な役割を果たすことが明らかになりました。魚類クッペル胞の繊毛は、内部構造がマウスのノード繊毛とは異なることから、カラクシンの機能は繊毛の構造と密接に関係している可能性も示唆されました。

今後の展開

カラクシンは特定のダイニンに結合していることがわかっています。今後の研究により、カラクシンがどのように鞭毛繊毛の屈曲を制御し、これらの運動制御、ひいては繊毛形成に関わっているのか、そのメカニズムや、体内受精における精子運動の制御といった基礎生物学的な知見がさらに明らかになっていくと期待されます。また、ヒトにおいて水頭症、内臓逆位、呼吸器障害、不妊といった症状を引き起こす繊毛病のメカニズムを解明する上でも重要な成果であり、医学など他分野への貢献が期待されます。

参考図

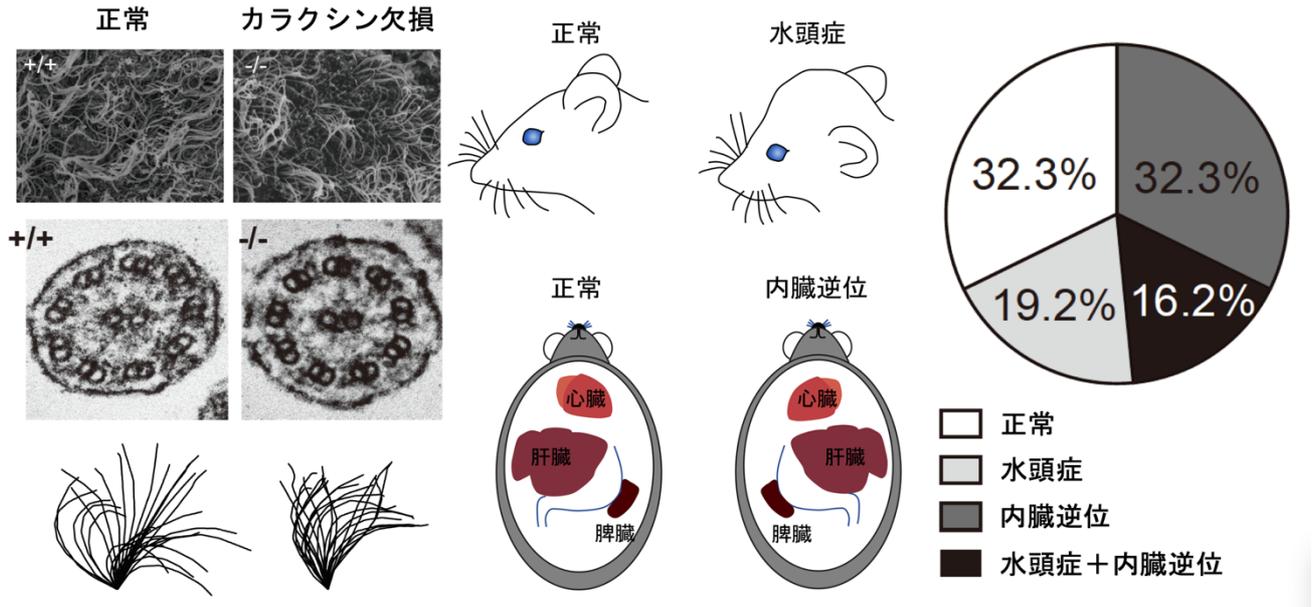


図 左：カラクシン欠損マウスの脳室上衣細胞の繊毛と内部構造（上・中）は正常と変わらないが、波形に異常が見られた（下）。中：水頭症と内臓逆位（模式図）。右：カラクシン欠損マウスの約半分の個体に水頭症や内臓逆位が見られた。

用語解説

注1) カラクシン

神経カルシウムセンサーに近いカルシウム結合タンパク質。カルシウムがあるとダイニンに結合し、モーター機能を抑制する。本研究グループによりホヤで最初に発見されたが、生物の中でも菌類と動物にのみ存在することがわかっている。マウス、ゼブラフィッシュでは、それぞれ *Efcab1*、*efcab1* という遺伝子によってコードされている。

注2) 水頭症

脳脊髄液が脳室に溜まってしまい、脳全体が大きくなる疾患。脳室の上皮細胞には繊毛が生えており、その運動により脳脊髄液が循環しているため、繊毛の異常はしばしば水頭症を引き起こす。

注3) 繊毛病

鞭毛や繊毛に関係する遺伝子の異常が原因で起こる疾患。多発性嚢胞腎、網膜色素変性症、多指症などは運動しない繊毛が原因で起こるのに対し、不妊、呼吸器不全、水頭症、内臓逆位などは運動性の鞭毛、繊毛の異常が原因で起こる。遺伝子の種類により、鞭毛、繊毛が全くなってしまうたり、それらの内部構造の一部が欠失する場合が多い。

注4) ノード繊毛

マウスの受精後 7.5 日胚に現れるくぼんだ領域（ノード）に生えている繊毛。9本の微小管が環状になった 9+0 構造の骨格（軸糸）を持つ。この運動により、ノードには左向き水流が生じる。この水流が左右で非対称な遺伝子発現を誘導し、その結果、心臓は左、肝臓は右といった臓器の非対称が生じる。同じ働きをする繊毛は魚類のクッセル胞と呼ばれる領域にも存在するが、軸糸は中央に2本の微小管が加わった 9+2 構造で、マウスのノード繊毛とは構造が異なる。

掲載論文

【題 名】 Calaxin is required for cilia-driven determination of vertebrate laterality

(カラクシンは繊毛によって駆動される脊椎動物の左右性決定に必要である)

【著者名】 佐々木恵太* (筑波大・下セ), 柴小菊* (筑波大・下セ), 中村彰宏* (筑波大・下セ), 河野菜摘子 (明治大), 佐藤裕公 (大阪大), 山口博史 (東京大), 森川源大 (東京大), 柴田大輔 (筑波大・下セ), 梁瀬隆二 (筑波大・下セ), 城倉圭 (筑波大・下セ), 野村真未 (筑波大・下セ), 宮戸真美 (成育医療セ), 高田修治 (成育医療セ), 上野裕則 (愛知教育大), 野中茂紀 (基生研), 馬場忠 (筑波大・生環), 伊川正人 (大阪大), 吉川雅英 (東京大), 宮戸健二 (成育医療セ) 稲葉一男** (筑波大・下セ) (*筆頭著者、**責任著者)

【掲載誌】 Communications Biology (DOI: 10.1038/s42003-019-0462-y)

問合わせ先

稲葉 一男 (いなば かずお)

筑波大学 生命環境系 教授 (下田臨海実験センター)