

## ショウジョウバエ視細胞における色素顆粒 運動の分子機構 — “虫の瞳” からのぞく細胞生物学 —

### 1. はじめに

生物学の研究者の多くは、子供の頃カマキリやバッタを捕まえたとき、その緑の眼の真ん中の、黒い瞳に見つめられた経験を持っているに違いない。カマキリを動かしても自分の頭を動かしても、この黒い瞳はずっとあなたを見つめ続けていたはずだ。今日は、この“虫の瞳”についての研究を紹介したい。

### 2. ショウジョウバエ視細胞の色素顆粒は明暗で位置が異なり光順応に貢献している。

ショウジョウバエ視細胞の色素顆粒は、明所では光受容膜の直下にあり、光受容膜内に侵入してきた光を吸収・散乱することで、実効光量を低下させる（図1A）。暗所では光受容膜から離れ、そのため光受容膜内に侵入してきた光は、屈折率の高い光受容膜内に留まり、最終的に光受容タンパク質ロドプシンに吸収され光応答を生じる。この色素顆粒の運動によって、暗所では明所よりも約7倍光感度がよくなる。つまり、この色素顆粒の運動はヒトの瞳孔の開閉と同様の役割を持つ。

### 3. 深部偽瞳孔を用いて生体の外部から色素顆粒の運動を観察できる。

色素顆粒は実際には視細胞の内部で数 $\mu\text{m}$ 移動するにすぎないが、複眼の球面上の形状と個眼内部の構造の規則性のために生じる深部偽瞳孔（deep pseudopupil: dpp）の光量変化として、生体の外部から簡単に観察することが可能である（図1B）。深部偽瞳孔は、落射顕微鏡下にハエを置き、複眼の中央部について、表層よりも深い部分に焦点を合わせたときに、はっきりと観察できる。暗順応し色素顆粒が光受容膜から遠い細胞質内にあるときは黒いDPP（写真左）、光によって色素顆粒が光受容膜の直下に移動してきたときは色素顆粒による散乱光のために緑色に反射するDPP（写真右）が観察される。この学術的には深部偽瞳孔と呼ばれるものが、私達が子供の頃から知っている、あの“虫の瞳”の正体である。

### 4. 光依存的な色素顆粒の移動にはミオシンVが関与している。

深部偽瞳孔の観察により光による色素顆粒運動が発見されたのは、1969年のことである<sup>1)</sup>。それから40年の間、この過程に光情報変換系に関わる遺伝子群が必要であることが報告された以外<sup>2)</sup>、その分子機構は全く未知のままであった。

私達は、ロドプシン輸送の分子機構を研究しているが、2005年頃、ロドプシンの輸送にミオシンVが関わること<sup>3)</sup>と、光依存的にロドプシンがエンドサイトーシスされること<sup>4)</sup>を見出し、光のロドプシンやロドプシン輸送に関わる因子の局在に与える影響を観察していた。光が組織に与える影響を調べるためには、光の全くない状態を知る必要がある。そのため私達は実体顕微鏡に暗視接眼レンズを装着して、完全暗黒化で組織を解剖・固定して組織の観察を行っていた。（後に、暗視接眼レンズを装備した実体顕微鏡は、武器製造会社から購入可能とわかり、現在はこちらを使用している（図2A）。）驚いたことに、ミオシンVは光により大きくその局在を変化させた<sup>5)</sup>。明順応時には、ミオシンVは光受容膜の直下に局在するのに対して、暗順応時には、ミオシンVは光受容膜から一定の距離を空けた細胞質、ちょうど光受容膜の下から伸びたアクチン線維（Rhabdomere terminal web: RTW）の先端が位置するところに、きれいにライン上に並んで観察された。しかし、ミオシンVと複合体を形成しているはずのRab11は、このような大きな局在の変化を示さなかった。その後の解析により視細胞に存在するミオシンVの大部分は実はもう一つのRabタンパク質、Lightoid（Rab32/38ホモログ）と結合しており、Lightoid/ミオシンVの複合体が光依存的に移動することが分かった（図2B）。Lightoidが色素顆粒に局在していることは我々の以前の研究や他のグループの研究から分かっていたので<sup>5,6)</sup>、この光運動するLightoid/ミオシンVの複合体が色素顆粒に結合し、その運動に関与することを強く示唆する結果であった<sup>7)</sup>。そこで、深部偽瞳孔を用いてミオシンV変異体での色素顆粒の移動を観察したところ、光を当てても色素顆粒が光受容膜直下へと移動しないことが分かった（図2C）。

暗視接眼レンズを装備した実体顕微鏡を使って完全暗所固定した組織を電子顕微鏡によって観察したところ、暗所においた野生型視細胞で、色素顆粒はそれまで細胞質中に散在していると考えられていたのとは異なり、RTWの先端部分に並んでいることが分かった。さらに、ミオシンV

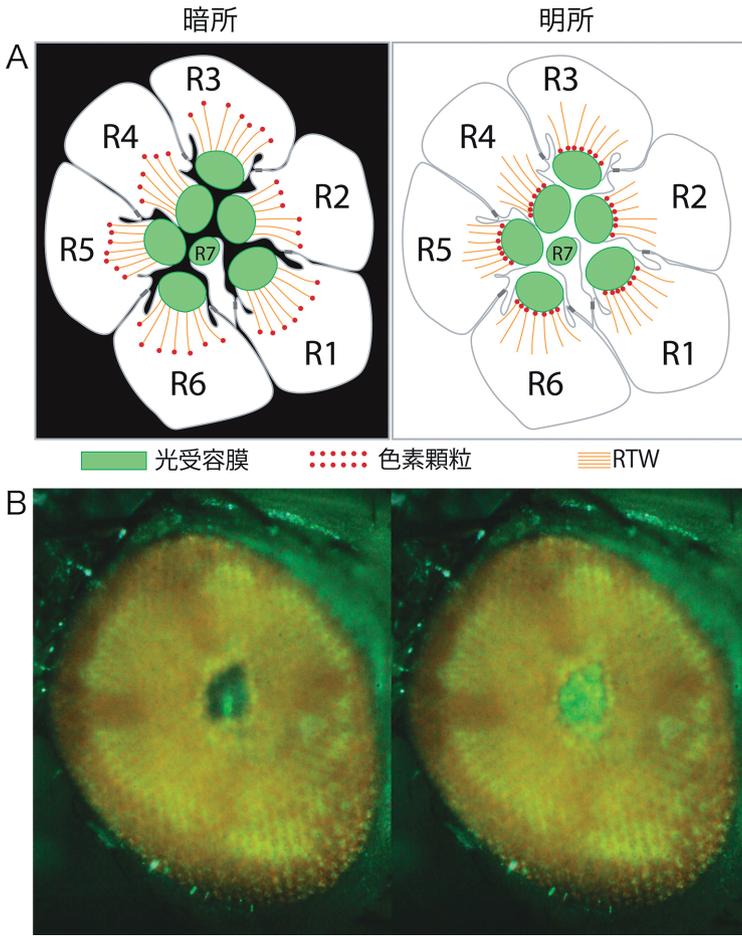


図1 ショウジョウバエ視細胞における色素顆粒運動  
 (A) 暗所と明所におけるショウジョウバエ視細胞の模式図  
 (B) 暗所と明所における深部偽瞳孔の観察. 暗所では黒, 明所では緑の深部偽瞳孔が観察される.

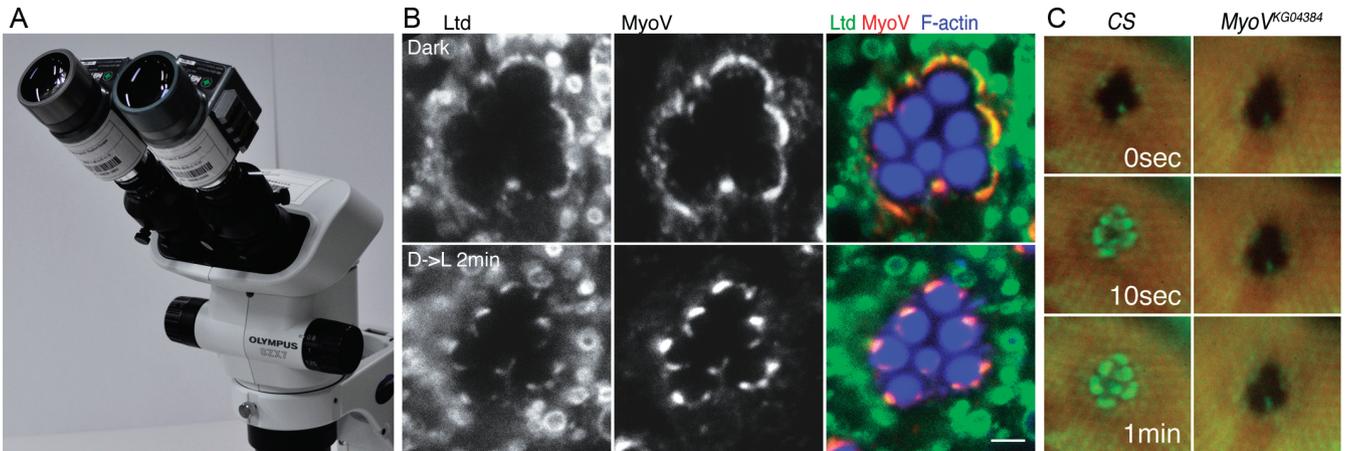


図2 ミオシンVが色素顆粒の運動に必要なである  
 (A) 筆者の用いている暗視接眼レンズを装着した実体顕微鏡  
 (B) ミオシンVとLightoidの両者は, 暗所では光受容膜から一定の距離を持って並んでいる. 明所では光受容膜の基部に局在する.  
 (C) 野生型ハエ (CS) とミオシンVを欠損したハエ (*MyoV<sup>KG04384</sup>*) における深部偽瞳孔の観察. ミオシンVを欠損したハエでは明所でも深部偽瞳孔は黒いまま変化せず, 色素顆粒が移動していないことが分かる.

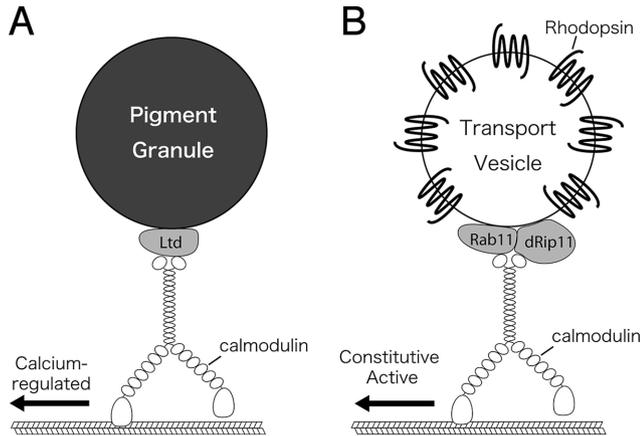


図3 ショウジョウバエ視細胞には2種類のアミオシンV複合体が存在する

(A) アミオシンVとLightoidの複合体は色素顆粒上に局在し、色素顆粒のカルシウム依存的な運動に関与している。  
(B) アミオシンV、Rab11、dRip1の複合体はロドプシンを含んだポストゴルジ小胞の輸送に必要である。この小胞は明暗にかかわらず光受容膜基部へと輸送される。

変異体では色素顆粒は暗所・明所にかかわらずRTWの先端部分に局在し続けることが分かった。これらの結果から、アミオシンVが光依存的に色素顆粒を光受容膜基部へと移動させるモータータンパク質であることが分かった。その他、アミオシンVの色素顆粒への局在がLightoid依存的事であることや哺乳類と同様にカルモジュリンがアミオシンVの軽鎖として働いていることを示した<sup>7)</sup>(図3)。

### 5. カルシウムによるアミオシンVの活性化機構

アミオシンVの構造と*in vitro*でのカルシウム依存的な運動性については、これまでに多くの研究がある<sup>8-10)</sup>。一般的に、積荷タンパク質とカルシウムの両方がない状態ではアミオシンVは折りたたまれた構造にあり機能できず、積荷タンパク質あるいはカルシウムにより伸びた構造をとり活性型となると考えられている。

アミオシンVは細胞内の様々なオルガネラや分泌小胞の輸送に関与することが分かってきている<sup>11)</sup>。しかし、アミオシンVがカルシウム依存的にその活性を変化させて機能しているという*in vivo*の例は意外に少ない。はっきりと示されているのは、このショウジョウバエ視細胞の色素顆粒運動とマウスの海馬でのLTPに伴うカルシウム増加によるアミオシンVの活性化<sup>12,13)</sup>の二つであろう。後者に関しては、現在のところ、アミオシンVの折りたたみによる制御で説明されている。しかし、ショウジョウバエ視細胞の

アミオシンVは明所でも暗所でもLightoidと結合しており、常に伸びた構造を保っていると考えられる。さらに、Rab11と結合しているアミオシンVは光によってその局在を変化させない。従って、ショウジョウバエ視細胞におけるカルシウムによるアミオシンVの活性化は、より複雑に制御された過程であり、アミオシンVの折りたたみで説明できるとは考えにくい。今後、*in vivo*におけるカルシウムによるアミオシンVの活性調節機構を明らかにしていくことが重要である。

### 6. アミオシンVのカーゴ特異性

また、ショウジョウバエ視細胞では、アミオシンVは色素顆粒運動とロドプシンを含んだポストゴルジ小胞の輸送の両者に関与している。前者は光依存的運動であるのに対し、後者は暗所でも活発におこり光依存性を示さない。酵母を始めとして他の生物でも一つの細胞内でアミオシンVが複数の機能を持つ例が存在しており、アミオシンVが複数の役割にどのようにして対応しているのかという問題の詳細は分かっていない<sup>14)</sup>。一例として、選択的スプライシングによるカーゴ特異性の制御が知られている。ヒトの色素顆粒、メラノソームの輸送に関わるアミオシンVは、選択的スプライシングによりエクソンFを持つことによってメラノソームに結合できるようになっている<sup>15)</sup>。ショウジョウバエのアミオシンVは選択的スプライシングにより3種類のタンパク質として翻訳されると考えられている。このうちの二つが視細胞で発現することを確認しており、選択的スプライシングと視細胞におけるアミオシンVの二つの機能について解析を行っている。

### 7. これからの研究展開

現在、私達の研究グループでは、色素顆粒運動が欠損する変異体を深部偽瞳孔の観察を用いてスクリーニングしている。これまでに光による色素顆粒の光受容膜直下への移動が起きない複数の変異体を単離しており、そのうちの一つの変異体ではアミオシンVが色素顆粒上に局在しなくなった。今後、これらの変異体の解析によりアミオシンVを色素顆粒上につなぎとめる分子機構や*in vivo*におけるカルシウムによるアミオシンVの活性調節機構が明らかになってくるものと期待する。

### 8. 最後 に

本ミニレビューでは、色素顆粒というオルガネラの運動やアミオシンVの活性調節の分子機構についての“虫の瞳”

を利用した研究を紹介した。機会があったらぜひ野外で昆虫を捕まえて、その目を観察してみしてほしい。そして、“虫の瞳”を見つけたら、それを学術的に利用した研究があったことを思い出してもらえたら、と思う。

- 1) Kirschfeld, K. & Franceschini, N. (1969) *Kybernetik*, 6, 13–22.
- 2) Lo, M.V.C. & Pak, W.L. (1981) *J. Gen. Physiol.*, 77, 155–175.
- 3) Li, B.#, Satoh, A.K.#, & Ready D.F. (#: contribute equally) (2007) *J. Cell Biol.*, 177, 659–669.
- 4) Satoh, A.K., O'Tousa, J.E., Ozaki, K., & Ready, D.F. (2005) *Development*, 132, 1487–1497.
- 5) Fujikawa, K., Satoh, A.K., Kawamura, S., & Ozaki, K. (2002) *Zool. Sci.*, 19, 981–993.
- 6) Ma, J., Plesken, H., Treisman, J.E., Edelman-Novemsky, I., & Ren, M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 11652–11657.
- 7) Satoh, A.K., Li, B., Xia, H., & Ready, D.F. (2008) *Curr. Biol.*, 18, 951–955.
- 8) Liu, J., Taylor, D.W., Kremntsova, E.B., Trybus, K.M., & Taylor, K.A. (2006) *Nature*, 442, 208–211.
- 9) Thirumurugan, K., Sakamoto, T., Hammer, J.A. 3rd, Sellers, J. R., & Knight, P.J. (2006) *Nature*, 442, 212–215.
- 10) Taylor, K.A. (2007) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19, 67–74.
- 11) Akhmanova, A. & Hammer, J.A. (2010) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 22, 479–487.
- 12) Wang, Z., Edwards, J.G., Riley, N., Provance, D.W. Jr., Karcher, R., Li, X.D., Davison, I.G., Ikebe, M., Mercer, J.A., Kauer, J.A., & Ehlers, M.D. (2008) *Cell*, 135, 535–548.
- 13) Wagner, W., Brenowitz, S.D., & Hammer, J.A. 3rd (2011) *Nat. Cell Biol.*, 13, 40–48.
- 14) Pashkava, N., Catlett, N.L., Novak, J.L., Wu, G., Lu, R., Cohen, R.E., & Weisman, L.S. (2005) *J. Cell Biol.*, 168, 359–364.
- 15) Wu, X.S., Rao, K., Zhang, H., Wang, F., Sellers, J.R., Matesic, L.E., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., & Hammer, J.A. 3rd (2002) *Nat. Cell Biol.*, 4, 271–278.

佐藤 明子

(名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻)

The mechanism of pigment granule migration in *Drosophila* photoreceptors

Akiko Satoh (Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi 464-8602, Japan)

## Sortilin とソーティング障害, そして生活習慣病

### 1. はじめに

高齢化社会の到来もありアルツハイマー病や進行性認知症などの認知機能障害, 2型糖尿病や高脂血症などの生活習慣病が増加している。最近, これらの一般的に遅発性の疾患に共通の病理基盤としてVPS10P (vacuolar protein sorting 10 protein) ファミリーに属するSortilinの機能不全が関与する可能性が次々と報告されている<sup>1-4)</sup>。

Sortilinは, 主にtrans-Golgi network (TGN), エンドソームと細胞膜間を行き来しながらさまざまな機能タンパク質のソーティングに関与している<sup>5)</sup>。近年ではgenome-wide association study (全ゲノム関連解析) によって生活習慣病や進行性認知症に関わるリスクファクター候補としてVPS10P受容体ファミリーメンバーが多数報告されている<sup>1-3)</sup>。

本稿ではインスリン反応性グルコース (糖) 輸送担体 (GLUT4) の細胞内輸送制御に関わるSortilinの役割と2型糖尿病 (インスリン抵抗性病態) におけるその機能不全について主に解説しながら, 生活習慣病をソーティング障害 (sorting disorders) という新たな視点で捉えてみたい。

### 2. Sortilinsの構造と機能

VPS10P受容体ファミリーはI型膜タンパク質で細胞内小胞と細胞膜に存在し, その内腔側領域 (あるいは細胞膜上では細胞外領域) となるN末端には10個のβプロペラドメインからなるトンネル構造を形成するVPS10Pドメインを有している (図1)。いずれのファミリーメンバーもプロセッシング酵素furinにより前駆体型から成熟型となることによってこのVPS10Pドメインが開放され, 多種多様なリガンドタンパク質と結合できるようになる。そのリガンドとなる分子は, カテプシンDなどのリソソーム酵素, ProNGF (神経成長因子前駆体) やProgranulinなどの分泌性タンパク質にとどまらず, チロシンキナーゼ型受容体のTrkA/B/CやグルコーストランスポーターのGLUT4などの膜貫通型タンパク質とも会合することができる<sup>4)</sup>。また, Sortilinの細胞外領域はTACE (TNF-α converting enzyme) によって切断 (shedding) されることが明らかにされており, 各種リガンドのソーティングはこのshedding