

A03 遊走細胞のかたちを決める分子ダイナミクス

山口大学大学院医学系研究科 岩楯好昭
愛知県立大学情報科学部 作村諭一

魚類表皮ケラトサイト (keratocytes) は、おうぎ型の“かたち”一定に保ったまま、その弧を前にして基質上をまっすぐに這う遊走細胞である。現在、このおうぎ型を保つ仕組みは“細胞前端中央の伸長速度が最大で、両側に向かって遅くなっていることで三日月形が維持されている”と幾何学的に説明されている (Graded Radial Extension モデル¹⁾)。しかし、この伸長速度の空間的な勾配がどのように形成・維持されているかは全くわかっていない。

細胞の遊走は、(1) 細胞の基質への接着、(2) 細胞前端でのアクチン分子の重合、(3) 重合したアクチン分子の細胞後方への流れ (アクチンレトログレードフロー; ARF) という分子ダイナミクスが組み合わさって実現されている。我々は、もし、おうぎ型の曲率半径や中心角というかたちのパラメータが異なるケラトサイトが存在し、それらの間の分子ダイナミクスの差異を検討することができれば、細胞前端の伸長速度の勾配が形成・維持されるメカニズムが分かると考え、パラメータの異なるケラトサイトを探すことから研究を始めた。

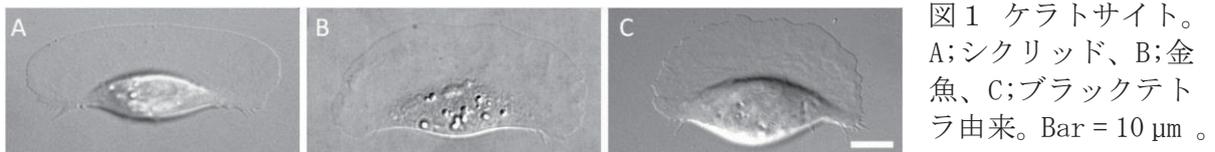


図1 ケラトサイト。
A;シクリッド、B;金魚、C;ブラックテトラ由来。Bar = 10 μm 。

異なる魚種 (シクリッド、金魚、ブラックテトラ) から採取したケラトサイト (図1) のかたちを詳しく調べてみると、おうぎ型の曲率半径 (図2 A) は、大きい順に、シクリッド、金魚、ブラックテトラとなっていることに気がついた。細胞前端の伸長速度は、アクチン重合速度と ARF 速度の差として計算される。3魚種の ARF をスペックル顕微鏡法で撮影し、細胞前端の周辺部の ARF 速度が中央部の ARF 速度よりどれだけ遅れているかを魚種ごとに画像から見積もった。すると、ARF の周辺部と中央部の速度差は、おうぎ型の曲率半径とは反対に、小さい順にシクリッド、金魚、ブラックテトラとなっていた (図2 B)。この結果は、細胞前端の伸長速度の空間的な勾配が ARF の速度勾配によって生み出されることを意味する。

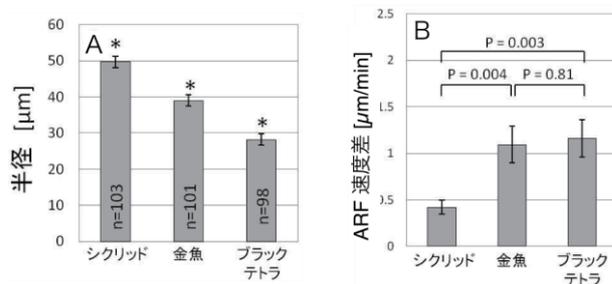


図2 ケラトサイトを扇形に近似した時の3魚種の半径(A)及び ARF の細胞先端周辺部と中央部の速度差(B)。

次に、ARF の速度勾配が何によって生み出されているかを検討した。一般に、ミオシン II と呼ばれるタンパク質は ARF を加速させ、重合したアクチンの基質への接着は ARF は減速する。そこで、細胞前端部のミオシン II と接着分子ビンキュリンの密度が細胞前端の周辺部と中央部で異なるか検討した。間接蛍光抗体法で両分子の分布を観察すると、全魚種において

いずれの分子も周辺部と中央部で密度差が無かった。すなわち、細胞前端のミオシンII、ビンキュリンはいずれもARFの速度勾配には無関係なのである。

基質との力学的な相互作用は遊走細胞の進行方向の決定²など様々な細胞機能を制御している。ケラトサイトは基質に接着し基質に牽引力を発揮できるようになって初めておうぎ型のかたちになる。基質への牽引力がARFの速度勾配を生み出しているかもしれない。そこで、基質への牽引力を3魚種それぞれで計測したところ、牽引力の大きさはARFの周辺部と中央部の速度差とは反対に、大きい順にシクリッド、金魚、ブラックテトラとなっていた(図3)。

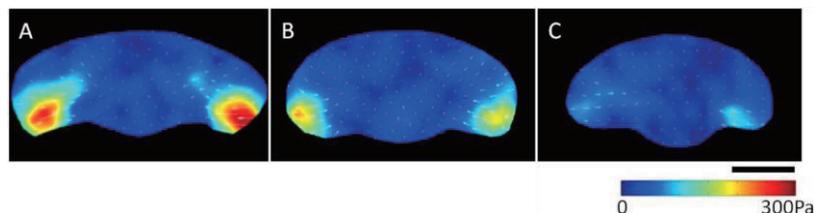


図3 ケラトサイトの牽引力。A;シクリッド、B;金魚、C;ブラックテトラ由来。Bar = 10 μm 。

牽引力がARFの速度勾配の原因であれば、牽引力が大きいシクリッドのケラトサイトで、接着の一部を剥がし牽引力を発揮できなくすれば、剥がした箇所でARF速度が速まり曲率半径が小さくなるはずである。シクリッドのケラトサイトの一部に微小なガラスピペットを用いてtrypsin-EDTA(接着分子を消化分解する)をスプレーしたところ、スプレーされた側の曲率半径が小さくなった(図4)。ARF速度については現在検討中である。

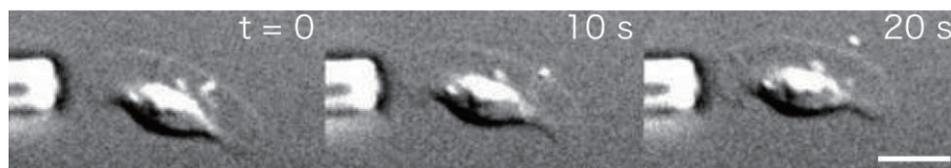


図4 シクリッド由来のケラトサイトへのtrypsin-EDTAのスプレー。スプレー側(左)の細胞前端の曲率半径が小さくなる。Bar = 10 μm 。

ARF速度がtrypsin-EDTAのスプレーによってどのように変わるかの結果が待たれるところではあるが、以上の結果から、基質に発揮する牽引力がARFの速度勾配を生み出し、このARFの速度勾配が細胞前端の伸長速度勾配の原因となってケラトサイトの先端端のかたちを決めていると考えられる。ケラトサイトにおいて基質に牽引力を発揮する分子機械は、細胞後部に進行方向と垂直に配列するストレスファイバー(図5)である。かたちを決める原因が牽引力であれば、その源のストレスファイバーの配置が細胞体内で決まれば、かたちが決まることになる。今後、以上の実験結果からケラトサイトのかたちを決める数理モデルを検討するとともに、ストレスファイバーの配置が細胞内で決まるメカニズムを実験的に検討したい。



図5 シクリッド由来のケラトサイトのストレスファイバー(矢印)。Bar = 20 μm 。

参考文献:

- (1) J. Lee, A. Ishihara, J.A. Theriot, K. Jacobson, *Nature* 362, 167 - 171 (1993).
- (2) Y. Iwadate, C. Okimura, K. Sato, Y. Nakashima, M. Tsujioka, K. Minami, *Biophys. J.* 104, 748-758 (2013).