

A03 進行度の異なる胃癌細胞の非平衡形状ゆらぎのエネルギー散逸と対称性の破れ

京都大学 高等研究院 田中 求
 京都大学 高等研究院 山本 暁久
 京都大学 医学研究科 鶴山 竜昭

細胞組織は癌化に伴い細胞集団の集団秩序が乱れ、浸潤・転移を引き起こす。本研究では、従来型の遺伝学的・分子生物学的研究とは一線を画し、悪性上皮腫瘍であるヒトの胃腺癌において、個々の細胞の癌化に伴う分子レベルでの変質（接着分子の発現パターン変化など）と、細胞の非平衡形状ゆらぎ（自発変形）および運動（遊走）との競奏を定量的に明らかにする。

プロジェクト初期には本研究の根幹となるヒト胃腺癌細胞株（4種）の安定な継代培養を連携研究者（京都大学大学院医学研究科創薬医学講座・鶴山竜昭氏）の協力のもと確立した。細胞間相互作用のモデルとして接着分子 E カドヘリン、また細胞外基質との相互作用のモデルとしてラミニンを結合させた細胞微小環境モデルを構築した（図 1a）。生細胞と表面の接着面積やその形状ゆらぎ、重心の並進運動の定量解析は当グループの専門であるラベルフリーの反射干渉顕微鏡[1]（図 1b、連携研究者・山本暁久氏）を用いて行った。

第一の成果として、カドヘリンで機能化した表面上の接着は低分化型・転移性の細胞株について非常に弱いことが観測された。これはがん化自体がすでに細胞間の接着を著しく弱めることを示唆している。実際ががんの浸潤や転移においてはカドヘリンを介した接着から抜け出し、細胞外基質への接着を強めるのが理にかなっており、実際にそのような報告も過去にいくつか見受けられる。ゆえに以下ではラミニンで機能化した表面での結果を示す。

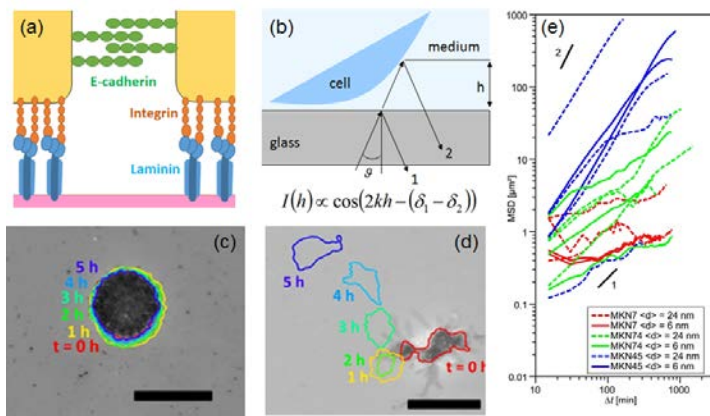


図 1 (a) 細胞間・細胞基質間の接着の模式図、(b) 反射干渉顕微鏡の原理、(c) 高分化型と(d) 低分化型がん細胞の基板接着面の時間発展(e) がんの進行度に対する平均二乗変位の比較 (bar: 20 μm)

図 1c に高分化型細胞(健全に近い)、図 1d に低分化型細胞(がん進行度が高い)の接着面輪郭の時間発展を示す。高分化型がほぼ丸い形を維持し動かないのに対して低分化型の細胞は顕著な変形と遊走を行った。図 1e に示すように平均二乗変位の時間に対する power はおよそ 0.5 (高分化,

sub-diffusion)、1 (中分化, random walk)、2 (低分化, ballistic translocation) とがんの進行に伴い単調増加を示し、がんの進行と運動のタイプに強い相関があることが示された。中でも特筆すべきは低分化型のがん細胞が化学誘導分子など外場のかかっていない状態でも ballistic な運動を行うことにある。

次に細胞の自発変形によるエネルギー散逸の評価法としてパワースペクトル $\hat{F}_m = \langle R_m(t)R_m(t) \rangle$ を計算した。 $m = 0$ で標準化した $m = 2$

(図 2a) や $m = 3$ (図 2b) は、遊走の際の MSD の power と同様のがんの進行に従って単調増加し、自発変形によるエネルギー散逸ががんの進行とともに増加することを示している。これはがんになると細胞の代謝経路が嫌気性の糖代謝に切り替わり、これによって多くのエネルギーを消費するという Warburg 効果との対応が考えられる。一方で、細胞接着面積の値 (図 2c) はがんの進行に対して単調増加せず、中分化型の細胞がもっとも大きな値を示した。この非線形挙動は Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS)によって定量したインテグリンの発現量とも相関しないため、平面極性シグナルなど細胞内部でのプロセスなどとの相関が考えられる。

外部因子 (ケモカイン) が細胞の変形と運動に与える影響についての数理モデルとして、太田隆夫氏 (A01 班・佐野グループ) と共同研究を行った。太田らの自発的粒子の運動モデルの運動方程式 $v = \gamma S_{ij} U_{ijk}$ に実験で得られた摩擦 (移動度) と周期的に変形する力を組み込んだモデルを新たに構築し実験と比較した。化学誘導因子のない系の細胞挙動は線形モデルでよく説明できるが、誘導因子がごく微量でも存在すると細胞変形が小さくなりかつ運動の軌跡の持続性が伸びるといふ観測結果を説明するには、変形と運動の非線形カップリング項を考慮に入れる必要があることを見出した[2]。

このようにがんなど病気の疾患とエネルギー散逸のような「動的表現型」に光を当てた研究は、従来型のマルチカラー染色画像・ハイスループット顕微鏡・深層学習による「静的表現型」とは一線を画するもので、今までに前例がない。現在臨床医学の複数のチームと連携し、我々が提案する「動的表現型」を用いて、化学誘導因子[1]だけでなく薬剤効果 (特に臨床薬の副作用) や化学療法などによる細胞のダメージ、さらには加齢といった内的因子を定量することを試みている[3]。

参考文献：

- [1] A.S. Burk, C. Monzel, H.Y. Yoshikawa, P. Wuchter, R. Saffrich, V. Eckstein, *M. Tanaka, and *A.D. Ho, *Scientific Reports*, **5**, 9370 (2015).
- [2] T. Ohta, C. Monzel, A.D. Ho, and *M. Tanaka, *Scientific Reports*, **8**, 10630 (2018).
- [3] C. Monzel, A.S. Becker, R. Saffrich, P. Wuchter, V. Eckstein, A.D. Ho, and *M. Tanaka, *Scientific Reports*, **8**, 1841 (2018).

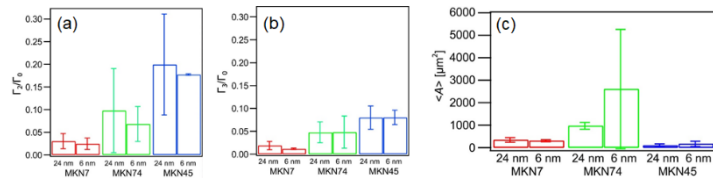


図 2 (a) $m = 2$ 、(b) $m = 3$ に対応するパワースペクトルと(c) 細胞接着面積とがんの進行度の対応