

## 細胞移動における変形・分子間相互作用とその役割に関する研究

針貝 亮博 指導教員：作村 諭一

## 1 はじめに

## 1.1 研究背景

細胞移動は様々な生物現象において中心的な機能である。例えば、神経伸長や免疫細胞による免疫運動、癌細胞の転移などが上げられる。よって細胞移動のメカニズム解明は病的・生理的現象の理解が期待されている。これまでの研究で細胞移動に重要とされる分子はある程度解明がされているが、細胞移動の移動原理は未だ解明されていない。従来研究における細胞移動はほとんどが Rho ファミリータンパク質などの上流分子による下流分子の制御によって引き起こされていると考えられている。しかし、上流分子の移動に関するシグナルが確実に細胞移動に変換されるとは限らない。その理由は、細胞移動が、外部環境と力学的のみならず分子的な相互作用をしながら実現されるからである。本研究では下流分子である Myosin II と移動・形態変化の局所的な相互作用に関して定量的な解析を行い、それらの具体的な因果関係を解明した。

## 2 細胞の概要

## 2.1 移動方法

多くの細胞は、移動時に体の一部を伸長させて仮足を形成し、仮足を基質に接着させ、接着面を足掛かりとして仮足方向に前進する。一方でその反対側では細胞を収縮させて基質から接着を解放する。この伸長・接着・退縮・解離を繰り返すにより細胞は移動を行う。

## 2.2 Myosin II

ほとんどの動く細胞（哺乳類の筋肉細胞など）に存在するタンパク質であり、細胞が伸縮するための重要な生体分子である。細胞内の複数のアクチンフィラメント（以下、AF と略す）と架橋し、活性化することで AF を並行にスライドさせることで収縮力を生み出す。濃縮することでも活性化の絶対量が増えるために収縮する。刺激がない状態では細胞内に均一に分布しており、機械的刺激を受けた箇所局所的に濃縮が起こることが実験によって明らかとなっている。また、収縮力を生み出さない E476K-Myosin II（以下、E476K と略す）による仮足形成を阻害するという報告がある。一般的な Myosin II の役割は AF と架橋し、収縮させることであるが、E476K はこれらのうち AF の架橋のみを行う。このことから Myosin II の存在自体が細胞移動を阻害していることが考えられる。しかし、この効果が実際の細胞移動においても発揮されているかどうかは未だ不明である。つまり、E476K が濃縮している方向に細胞移動しないことを有意に示す知見はない。

## 3 細胞の移動戦略

細胞移動が機械的力による移動方向決定の特徴から細胞の移動戦略を解明する。

## 3.1 異方性基質上での移動方向

細胞を培養する基質の素材をシリコン製の柔軟な物にすることにより、培養する基質に機械的力を付加が可能、機械的刺激による細胞移動の反応が確認可能となる。これを用いて細胞の移

動経路を観察する実験が行われた [1]。図 1 から基質の硬さが横方向が硬く、縦方向に柔らかい異方性基質上での細胞移動は垂直方向（基質が柔らかい方向）に移動がしやすいことが分かる。異方性基質上での細胞移動の特徴については卒業研究で方向転換の確率の違いとして解明を行っており、結果から垂直方向（基質が柔らかい方向）に方向転換がしやすいことを解明した（図 2）。

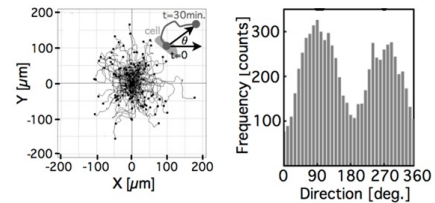


図 1 (左) 基質の硬さが横方向に硬く、縦方向に柔らかい異方性基質での細胞の移動経路の重ね合わせ。(右) 異方性基質での移動方向の統計結果 [1]。

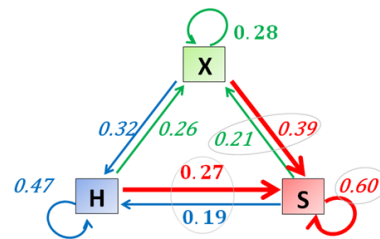


図 2 移動方向の方向転換確率の結果。

## 3.2 角度統計 [2]

異方性基質での移動方向の特徴をより詳細に解明するために角度統計を用いた。角度統計は、角度データを平面上のベクトルとして扱うことで統計的処理を行うことが可能となる。移動方向の特徴を詳細に解明するために角度統計の歪度と尖度について求めた。

歪度 (skewness) 分布の歪みを表す数字。

$$b = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sin 2(\alpha_i - \bar{\alpha}) \quad (1)$$

尖度 (kurtosis) 分布の鋭さを表す数字。

$$k = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \cos 2(\alpha_i - \bar{\alpha}) \quad (2)$$

## 3.3 移動方向の歪度・尖度の関係

図 3 から異方性基質の X 方向においての歪度が等方性基質より大きい値を持つことから、Soft 方向への旋回が多いことが考えられる。また、尖度においては Soft 方向において異方性と等方性では大きな差があることが分かる。これは Soft 方向においては他の方向に旋回することがあまり無いということが考えられる。

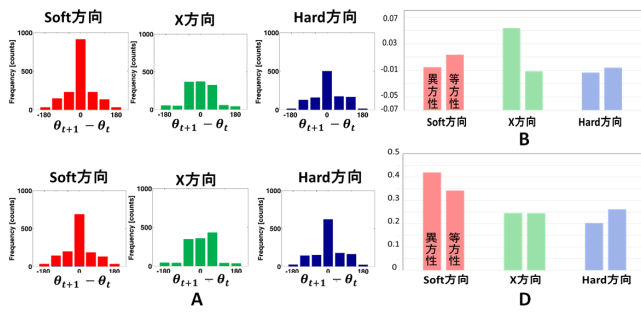


図 3 (A 上段) は異方性基質における方向依存による旋回相対角度。(A 下段) 等方性基質における方向依存による旋回相対角度。(B) 異方性基質と等方性基質における歪度。(D) 異方性基質と等方性基質における尖度。

#### 4 細胞移動と E476K 濃縮の関係性

細胞性粘菌のタイムラプス画像から時々刻々と変化する移動方向と E476K 濃縮度との関係性の定量化を行った。この定量化から細胞移動が分子と移動・形態変化の相互作用による関係であることを解明した。

##### 4.1 細胞の移動方向

細胞の一部で仮足が形成されると細胞全体の重心が仮足形成の方向にシフトする。ゆえに本解析では移動方向を重心移動方向と見なした。時刻  $t$  における細胞の重心を  $\mathbf{c}_t = (x_t, y_t)$ 、時刻  $t+1$  では  $\mathbf{c}_{t+1} = (x_{t+1}, y_{t+1})$  とした場合、以下の式で移動方向を求める。

$$\mathbf{v}_t = \mathbf{c}_{t+1} - \mathbf{c}_t \quad (3)$$

##### 4.2 E476K の計測のための観測軸の設定とラベル付け

移動によって E476K が濃縮されやすいエッジ付近での濃縮具合を計測するために観測軸を設定した (図 4A)。観測軸とエッジの交点を中心に周囲の E476K の濃度計測を行った (図 4B)。細胞移動の方向を 3 方向に離散化 (図 4C) を行い、各方向での E476K の濃縮について  $t$  検定を用いて解明を行った。また、Myosin II 濃縮によってエッジの移動量に変化があるかどうかを解明するために、各観測軸におけるエッジの移動量と局所平均 Myosin II 濃縮について以下の式から求めた。

$$M_{t,\theta} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N m_{t,\theta}(i) \quad (4)$$

$$\mathbf{v}_{t,\theta} = \|\mathbf{x}_{t+1} - \mathbf{x}_t\| \quad (5)$$

#### 5 解析結果

Myosin II は移動前後において、後ろ方向で濃縮が起りやすいことがわかる (図 5A,B)。これは濃縮した箇所においてエッジ伸長が行われていないことが示唆され、実際に Myosin II の濃縮によって移動量の変化について解析を行った結果、Myosin II が濃縮していくほど移動量が減っていくことが解明できた (図 5B)。また、図 5C より Myosin II の濃縮は移動によって引き起こされていることが分かった。エッジの退縮が起きた際の、Myosin II 濃縮について同時刻の結果を見たところ、退縮が発生した後に遅れて、Myosin II が濃縮している。

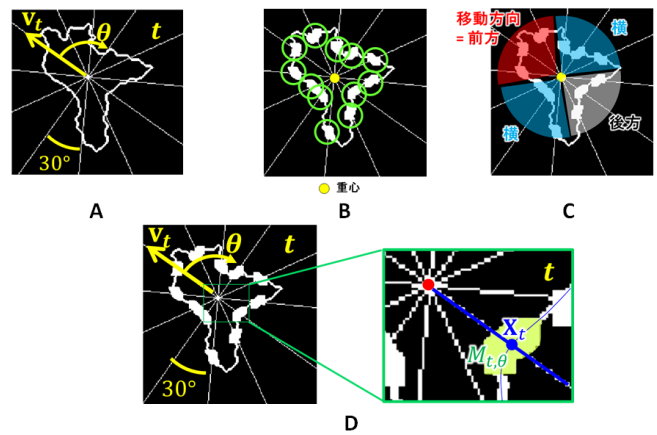


図 4 (A)  $\mathbf{v}_t$  に対して相対角度で 30 度間隔で観測軸の設定。(B) エッジ付近での E476K を計測する注目領域の設定。(C) 移動方向を 3 方向 (前・横・後) にラベル付けて離散化。(D) 観測軸での局所的 E476K の観測とエッジの移動量の計測

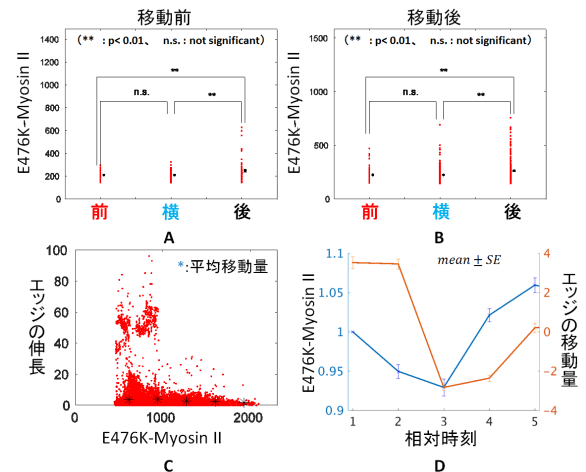


図 5 (A) 移動前における移動方向毎での E476K の溜まりやすさについての解析結果。(B) 移動後における移動方向毎での E476K の溜まりやすさについての解析結果。(C) エッジの移動量が E476K が濃縮するほど抑えられている、(D) エッジの移動量により E476K 濃縮が起きる。

#### 6 考察

移動によって Myosin II 濃縮がおきていることと、Myosin II 濃縮によって移動が妨げられることも解明された。このことから、Myosin II と移動・形態変化による局所的な相互作用によって移動が行われていることが考えられる。

#### 参考文献

[1] Yoshiaki Iwadate and Chika Okimura et al.(2013) "Myosin-II-Mediated Directional Migration of Dictyostelium Cells in Response to Cyclic Stretching of Substratum" BiophysicalJournal,104(4): 748-758  
 [2] Philipp Berens "CircStat: a MATLAB toolbox for circular statistics" Journal of Statistical Software September 2009, Volume 31, Issue 10.