

令和元年6月10日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2018

課題番号：18K14700

研究課題名(和文) 張力シグナルと生化学シグナルの相互制御による集団細胞運動の協調性確立メカニズム

研究課題名(英文) Elucidating the mechanical and biochemical signals that regulate the cooperative behavior of collectively migrating cells

研究代表者

松沢 健司 (Matsuzawa, Kenji)

九州大学・理学研究院・助教

研究者番号：30778668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 400,000円

研究成果の概要(和文)：集団細胞運動は、血管形成や上皮性がんの転移において極めて重要である。本研究では、細胞接着装置の構成分子であるカテニンの張力依存的な構造変化に着目し、集団細胞運動における役割を実験観察と数理モデリング解析などを行なった。その結果、カテニンの張力依存的な構造変化が、RhoAの活性を亢進することによりアクチン細胞骨格の重合化を極限させ、細胞間接着における収縮力を調節し、効率的な集団細胞運動に寄与することを明らかにした。また、数理モデリングを通して、偏りのあるカテニンの張力依存的な構造変化が、不均衡な張力分布をもたらし、上皮細胞単層の協調的な遊走を可能にすることを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、力の情報を介した細胞集団のコミュニケーション機構が生化学的シグナルとどのように統合され、細胞集団運動を發揮するのかという重要な未解決課題に着目している。そして、細胞接着の質的・量的変化が、細胞集団において不均衡な張力分布をもたらすことを明らかにした。本研究の成果は新しいがんの浸潤・転移に対する新たな予防法や治療法の確立につながる事が期待できる。加えて、上皮細胞シートの協調的な運動メカニズムの解明は、創傷治癒応答の遷延化によっておこる褥瘡などの疾患に対する新たな予防法や治療法を開発する上で基礎となる知見である。

研究成果の概要(英文)：Collective cell migration underlies many physiological and pathological processes. The aim of this study was to elucidate the mechanisms that regulate collective cell migration by focusing on the cell adhesion machinery, specifically β -catenin, which undergoes a structural change in response to mechanical stress. We found that the conformational activation of β -catenin occurred anisotropically at the cell junctions of collectively migrating cells. RhoA activity was elevated and F-actin and myosin accumulation at cell junctions was enhanced in cells expressing constitutively altered β -catenin; collective cell migration was slowed in these cells due to a lack of directional cohesion among neighboring cells. We also showed that the establishment of anisotropic force distribution at cell junctions regulates stable directional alignment of multiple cells during collective cell movement by mathematical modeling and simulation.

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞接着 細胞運動 シグナル伝達 細胞骨格

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

正常組織への浸潤および転移はがん細胞の特徴である。最近の研究により、集団性の細胞移動が扁平上皮がんなどの接着性組織に由来するがんの進行過程で特に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。接着性組織では、細胞間で絶えず張力が発揮されており、組織内の個々の細胞には変化する力に適切に応答する能力が求められる。近年の研究から、がん細胞が集団を維持したまま効率良く運動する背景には、細胞接着装置を介して、細胞同士が引っ張り合い、細胞接着部位にかかる力に応じて柔軟に細胞内部の構造を協調的に変化させる能力が重要であることが明らかになった。しかしながら、細胞集団の協調性を裏付ける分子メカニズムの理解は不十分である。

2. 研究の目的

このように、がん細胞の集団的な運動現象はその分子メカニズムが十分に解明されていない。本研究では、細胞接着装置の構成分子である α カテニンの張力依存的な構造変化に着目し、集団細胞運動における役割を実験観察と数理モデリングを通して解明することを目指した。

3. 研究の方法

α カテニンの張力依存的な構造変化の役割を調べるために、構造解析の結果に基づいて、常に張力を受けた状態の構造を維持する α カテニン変異体を設計し、これを安定的に発現する細胞株を樹立した。この細胞株を用いイメージング解析や生化学シグナルの解析を行なった。

4. 研究成果

(1) α カテニンは、遊走する上皮細胞単層の細胞接着部位において偏りを持ってその構造を変化させる

先行研究より、遊走する上皮細胞単層の細胞接着部位にかかる張力は、低細胞密度/遊走状態の周辺細胞領域では小さく、高細胞密度/静止状態の中心細胞領域では大きいことが報告されている [1]。また、前項で記載した通り、 α カテニンは細胞接着部位にかかる張力依存的にその立体構造を変化させる。そこで、遊走する上皮細胞単層で遊走状態の領域と静止状態の領域における α カテニンの構造変化を蛍光免疫染色で比較したところ、 α カテニンは周辺細胞領域の細胞接着部位では偏りを持って構造変化する一方、中央細胞領域の細胞接着部位では全周にわたって一様に構造変化的ことが明らかになった (図1)。

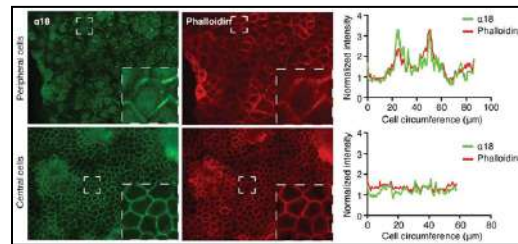


図1 α カテニンは運動性の高い細胞において偏りを持って構造変化する

(2) α カテニンの張力依存的な構造変化は集団細胞運動において隣接する細胞同士の協調性を制御する

α カテニンの張力依存的な構造変化が、細胞集団の動態にどのように影響するかを明らかにするために、構造解析の結果に基づいて、常に張力を受けた状態の構造を維持する α カテニン変異体を設計し、これを安定的に発現する細胞株 (CAres) を樹立した。まず、野生型と CAres 細胞からなる細胞集団の運動性を比較したところ、CAres 細胞集団は遊走速度が顕著に低下していることが明らかになった (図2)。

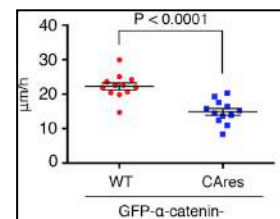


図2 α カテニンの構造変異体細胞では集団細胞運動が低下する

しかしながら、この様な解析では、遊走速度の低下が、単細胞レベルの固有の運動能から生じた違いか、または多細胞レベルの協調から生じた違いかを区別することが困難である。そこで、隣接細胞間の遊走方向性の相関を調べるため、単層内の個々の細胞の遊走方向をマッピングする粒子画像速度測定法 (Particle image velocimetry; PIV) による解析を行った。すると、遊走開始初期は野生型細胞と CAres 細胞共に、隣接細胞間の遊走方向の協調性を欠いていたが、野生型細胞は、5時間までに単層全体で遊走方向の協調性を確立することがわかった (図3)。

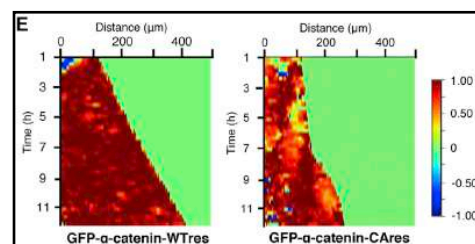


図3 PIV解析で得られたベクトルマップのカイモグラフ

(3) α カテニンの張力依存的な構造変化は RhoA を活性化しアクチン細胞骨格の再構築を誘導する

α カテニンの構造変異体細胞では、細胞接着領域においてアクチン線維の増加とミオシンの集積が認められた。アクチン細胞骨格は RhoA によって時空間特異的に形成される。そこで、

CAres 細胞における RhoA の活性化をプルダウン法を用いて調べた結果、活性型 RhoA は CAres 細胞で優位に増加していた (図 4 左)。また、遊走している野生型細胞集団で活性型 RhoA の局在を確認したところ、活性型 RhoA は構造変化した α カテニンと共局在した (図 4 右)。

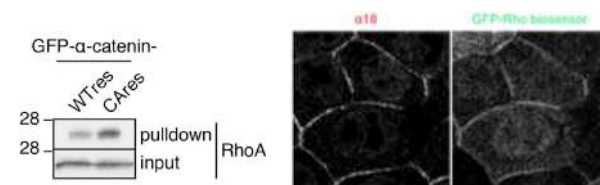


図 4 α カテニンの構造変化による RhoA の活性化

(5) 細胞間張力によって制御される集団細胞運動の理論モデルと数学的シミュレーション

野生型細胞では α カテニンが細胞間で生じる張力に応じて構造変化することで、遊走方向に沿った不均衡な張力の分布が生じる。対照的に、CAres 細胞では、 α カテニンが細胞の全周の細胞接着部位で均一に構造変化しており、張力分布の異方性が失われる。これらの結果から、細胞間張力が隣接する細胞間で非対称的に生じて維持されることが協調性の高い集団細胞運動を可能にしていると考えられる。

そこで、この理論モデルの妥当性を検証するために、数学的シミュレーションを行った (詳細なパラメータ設定については [2] を参照)。その結果、GFP- α -catenin-CAres 細胞株で観察された方向性の協調性の低下が、数学的シミュレーションによって再現された (図 5)。

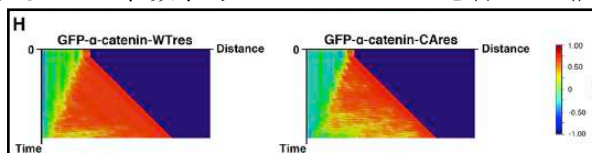


図 5 シミュレーションで得られたベクトルマップのカイモグラフ

<引用文献>

1. X. Trepat, M. R. Wasserman, T. E. Angelini, E. Millet, D. A. Weitz, J. P. Butler, and J. J. Fredberg. “Physical forces during collective cell migration,” *Nat Phys* 5:426-430. (2009)
2. Matsuzawa K, Himoto T, Mochizuki Y, Ikenouchi J. “ α -catenin controls the anisotropy of force distribution at cell-cell junctions during collective cell migration.” *Cell Reports* 23:3447-3456. (2018)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Matsuzawa K, Himoto T, Mochizuki Y, Ikenouchi J. “ α -catenin controls the anisotropy of force distribution at cell-cell junctions during collective cell migration.” *Cell Reports* 23:3447-3456. (2018) 査読有り

[学会発表] (計 2 件)

1. 松沢 健司 「アルファカテニンによる集団細胞運動の制御機構」 新学術領域「数理シグナル」第 2 回若手ワークショップ 2018 年 8 月 31 日～9 月 2 日・大津市 口頭発表
2. Kenji Matsuzawa, Takuya Himoto, Yuki Mochizuki, Junichi Ikenouchi 「Alpha-catenin controls the anisotropy of force distribution at cell-cell junctions during collective cell migration」 第 70 回日本細胞生物学会・第 51 回日本発生生物学会合同大会 2018 年 6 月 5 日～8 日・東京都 口頭発表

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/252>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。