

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23870006

研究課題名（和文） 集団的な細胞移動における方向検出・極性・運動の協同性

研究課題名（英文） Coherence of directional sensing, polarity, and motility in collective cell migration

研究代表者 中島 昭彦 (NAKAJIMA AKIHIKO)

東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員

研究者番号：90612119

研究成果の概要（和文）：200文字程度

普遍的な環境応答の仕組みである走化性運動に果たす細胞の集団的効果について、細胞性粘菌を材料に調べた。接着因子 Tgr タンパク質の型が一致する細胞間でのみ細胞は協調的な集団的移動を行うことが明らかになり、細胞が極性を揃えたり運動を同調させたりする機構の存在が示唆された。また、動的な走化性誘因場を人工的に作り出す実験系を新規に構築し、その元で細胞が一方向運動することを示した。

研究成果の概要（英文）：

Chemotaxis is one of basic cellular functions to response to environment. We have studied multicellular effect on chemotaxis in slime mold *Dictyostelium discoideum*. Migration behaviors during aggregation were analyzed quantitatively. It was found that cells harboring different Tgr proteins separate within a few minutes after contact, while cells harboring the same proteins migrated together. Cells surrounded by the same type moved faster and aligned polarities with others. Such coordinated behaviors were observed in only two cells isolated from aggregate. Taken together, self/non-self recognition via Tgr proteins modulates collective migration behavior. We also developed a microfluidics system to generate spatio-temporal chemoattractant field artificially. Using this system, we demonstrated cells were able to migrate directionally in such chemoattractant field.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：生物物理

科研費の分科・細目：生物学・細胞生物学

キーワード：細胞運動、粘菌、走化性、適応、自己組織化、反応拡散波、振動

1. 研究開始当初の背景

細胞は栄養物質や成長因子などの環境情報を読み取って移動する走化性を示す。多細胞生物の場合、発生過程やガンの浸潤などさまざまな場面で、細胞が集団を形成して目的の場所へ移動する集団的細胞移動(collective cell migration)が観察される。走化性を考える際物質勾配の場は静止したものと思いがちだが、現実の環境ではシグナルは時空間的に大きくゆらぐ。また、実際の自然環境や多細胞組織環境は一般的には時間・空間的にダイナミックに振る舞うものと考えられる。細胞の環境知覚や意思決定に及ぼす集団の効果についてよくわかっていない点が多いが、集団的な細胞移動が果たしうる役割として、正確な方向検出や効率的な細胞移動を可能にすることで複雑な形態形成に寄与していると予想される。

2. 研究の目的

再現性の高い環境条件での実験と定量的な解析が可能である粘菌細胞を用いて、走化性応答における集団的な細胞移動のメカニズムと機能的意義を明らかにすることを目的とする。集団的細胞移動を示す細胞集団の数を2から数万まで変えられる細胞性粘菌の特性を利用することで、細胞の方向検出や極性が集団形成によって受ける変調を、分子—細胞—組織のスケールにわたる解析から明らかにする。また、細胞が集団で移動することが方向検出の正確さや細胞運動能の向上に寄与するかを検証する。

3. 研究の方法

(1) マイクロ流路の構築

フォトリソグラフィの技術を用いて流路の型(モールド)を作製した後、それを元にポリジメチルシロキサン(PDMS)で铸造することにより独自に設計した微小流路を作製した。シリンジポンプおよび圧力制御装置による流量制御をおこなうことによって時空間的な誘因物質刺激を高精度で実現した。

(2) 細胞の観察方法

粘菌細胞に蛍光ラベルされた走化性シグナルタンパク質を発現させた細胞に対してcAMPパルス刺激を6分おきに2-5時間与えた(飢餓処理)。飢餓処理後、細胞を流路やデイスリッシュに導入して細胞を基質に接着させた。細胞の観察は、倒立型の多点スキャニング型の共焦点顕微鏡を用い、細胞運動と細胞内シグナル因子の時空間動態をタイムラプス観察した。

(3) データ解析および理論モデルの構築と解析

タイムラプス観察によって得たデータから細胞および分子動態についての情報を得るため、ImageJおよびMATLABを用いて画像解析を行い、蛍光シグナルの時空間動態や細胞形状、位置の変化などの振る舞いを定量化した。理論モデルの構築はMATLABおよびC言語によるプログラムを作成し、解析を行った。

4. 研究成果

(1) 粘菌細胞では、接着因子TgrB1とTgrC1のヘテロフィリックな結合を通じて粘菌細胞が自己と非自己を識別し、細胞選別がおこって、Tgrの型が同一の細胞のみで多細胞

体を形成する。多細胞体化するときの細胞集団の移動の様子をタイムラプス観察し細胞の軌跡を追跡したところ、Tgr タンパク質の型が一致する細胞同士では数十分は連れ添って移動するが、一致しない細胞の間では接触しても数分のうちに解離し独立に移動することが明らかになった。この振る舞いは、一度多細胞体をバラバラにして確率的に細胞のペアを作らせた場合でも同様の結果がみられた。また、接触した細胞間で Tgr タンパク質の型が一致しない場合よりも、一致する場合の方が細胞の平均移動速度が大きくなるということが見いだされた。Tgr タンパク質の型が一致しない場合でも2つの細胞が接着する様子は観察されるが接着と解離をランダムに繰り返し、細胞の極性や仮足形成が接着の影響を受けている様子はない。これらのことから、Tgr タンパク質の型が一致する細胞間でのみ細胞は集団的移動を行い、細胞が極性を揃えたり運動を同調させたりする機構が存在していることが示唆された。今後は、細胞内分子の局在の向きや分布、局在・消失タイミングに注目し、集団形成がこれらの挙動にどのように変調を与えるか解析する。また、集団的移動をマイクロ流路内で高精度に観察する新規計測系の開発を進める予定である。

(2) 粘菌細胞が集合体を形成する際には、静的な cAMP 勾配ではなく、細胞間のシグナルリレーによって cAMP の動的な進行波の場が形成される。細胞は、作り出された cAMP の進行波に反応し、波がやってくる方向に向かって移動する。このような場合には、細胞が受ける空間的な勾配は常に一定ではなく、波が細胞を通過するごとに勾配の方向が反転してしまう。空間勾配を検知するだけでは、繰り返し反転する場に対して細胞

は行ったり来たりしてしまい、一方向に進むことが難しいはずと考えられている。この問題を考えるために、微小流路を用いて進行波刺激を再現することに取り組み、進行波刺激系を構築することに成功した。これにより、進行波の時空間スケールを任意に変えるなどして、進行波に対する細胞応答を詳細に解析することが可能になった。これを用いて、異なる進行速度の cAMP 波に対する細胞応答の定量的計測をすすめた。その結果、細胞の移動方向は波の速度に依存して変わることがわかった。刺激の通過が速いと細胞は空間勾配を認識できずに止まり、逆に遅いと、波の通過に合わせて細胞も U ターンし波を追いかけた。一方で、細胞は適切な時間スケールで細胞を通過する cAMP 刺激に対してのみ、波がやってくる方向へ一方向移動した。つまり、細胞は刺激時間が細胞応答の時間スケールと一致する適切な範囲でのみ、刺激のやってくる方向への一方向運動が可能だとわかった。さらに理論モデルを構築して調べたところ、進行波に向かう一方向運動を説明するには、細胞は空間一様な刺激に対して、刺激強度によって応答強度が決まる持続的な応答ではなく、適応的な応答をすることが必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Kyle J. McQuade, Akihiko Nakajima, April N. Ilacqua, Nao Shimada, Satoshi Sawai, The Green Tea Catechin Epigallocatechin Gallate (EGCG) Blocks Cell Motility,

Chemotaxis and Development in
Dictyostelium discoideum., PLoS One 8 (3),
2013 e59275, 査読有り

〔学会発表〕 (計 7 件)

- ① Akihiko Nakajima, Shuji Ishihara,
Sawai Satoshi, Directed cell migration
induced by travelling waves of
chemoattractant, 第50回日本生物物理
学会年会, 2012年09月24日, 名古屋大学
(愛知県、名古屋市)
- ② Akihiko Nakajima, Sawai Satoshi,
Relation between collective cell
migration and self-organization of
chemoattractant waves, 第49回生物物
理学会年会, 2011年9月17日, 兵庫県
兵庫県立大学
- ③ Akihiko Nakajima, Sawai Satoshi,
Frequency switch in cAMP waves and its
relation to cell migration, Annual
International Dictyostelium
Conference, 2011年8月14日,
Baltimore, USA

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 中島昭彦、澤井哲、細胞性粘菌:研究の新展
開~モデル生物・創薬資源・バイオ~』八章 細
胞動態の自己組織的な振る舞い、株式会社 ア
イピーシー、2012、552ページ (423-444ペー
ジ)

〔その他〕

ホームページ等 <http://sawailab.c.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 昭彦 (NAKAJIMA AKIHIKO)
東京大学・大学院総合文化研究科・特任研究員
研究者番号: 90612119

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: