

A03 胃癌細胞の非平衡形状ゆらぎのもたらす時空間秩序と転移の相関

京都大学物質-細胞統合システム拠点 田中 求

京都大学大学院医学研究科 鶴山竜昭

細胞組織は癌化に伴いその構造が乱れていくことがよく知られており、組織の形態観察に基づく診断が病理学的に重要な指標となっている。しかし、個々の細胞の癌化に伴う分子レベルでの変質（例：表面タンパク質の発現パターンの変化やそれに伴う細胞接着強度の変質）が、診断において注目される個々の細胞の多型性（polymorphism）や組織内における細胞集団の構造秩序の変化（図 1a）といった「見た目」からのリードアウトとどのように相関するのかについて定量的な知見をもたらすような先行研究はない。そこで本研究では、悪性上皮腫瘍であるヒトの胃腺癌細胞に注目し、がんの進行や転移といった「細胞機能の変化」と「細胞同士の接着強度」、そして非平衡形状ゆらぎや遊走における「細胞が自発的に生み出す力」の競奏を定量的に明らかにする。

ヒト胃腺癌細胞株（3 種）の安定な継代培養は技術的になかなか困難であったが、連携研究者（京都大学病理診断科・鶴山准教授）の協力のもと H26 年度中に確立した。H27 年は細胞間の相互作用（図 1b）のモデルとして、ヒスチジンでタグ付けされた接着分子 E カドヘリンの再構成タンパク質を結合させた細胞膜モデルを構築した（図 1c）。この細胞膜モデルの物性を蛍光顕微鏡や X 線鏡面反射で定量し、その品質（接着分子の表面密度と流動性の制御）を本研究のために最適化した。一方技術的には細胞接着力計測・解析装置を本研究のために改善した。細胞接着と遊走のダイナミクスを、位相差顕微鏡 (PC) と反射干渉顕微鏡 (RICM) で同時タイムラプス観察により定量した。

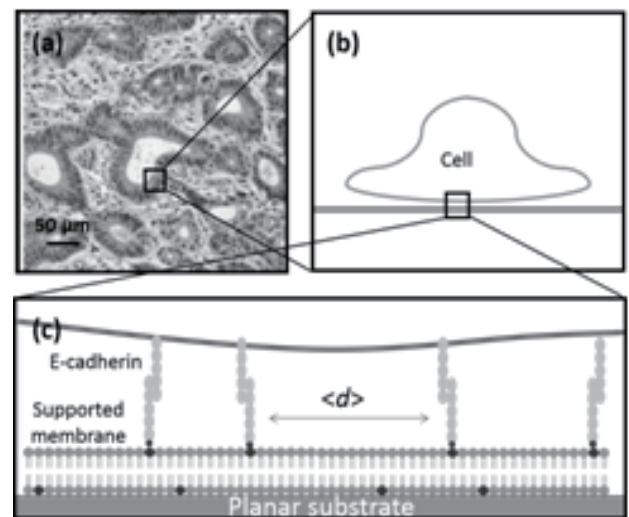


図 1. (a)ヒト健常胃上皮の免疫組織染色画像、(b)細胞間接着を模倣した実験系の模式図と(c)その基板付近の拡大図

図 2 に示すように、高分化型の健常細胞では安定した接着斑による強い接着がみられ、細胞が基板を牽引する力を生み出していることがわかる。その反面、低分化型のがん細胞では播種後 24 時間を経ても明確な接着斑が形成されず、細胞と基盤の接着が非常に弱い。このことは、がん化によって細胞同士の接着が弱くなるという病理画像にみられる傾向と一致する。一方、転移性細胞は健常細胞よりもはるかに遅いダイナミクスながら、24 時間後には大きな接着斑を形成することを見出した。細胞の接着面積分子レベルでは上皮細胞間の接着をつかさどる E カドヘリンの発現量のがん化に伴って落ちることが予測されるので、現在 E カドヘ

リンの発現量を Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS、京都大学医学部研究支援センター)を用いて定量中である。

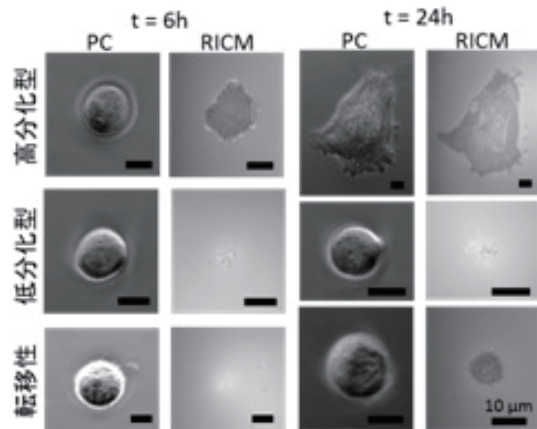


図2. 胃腺がん細胞の位相差(PC)画像とRICM画像 (t = 6h, 24 h)。RICM画像では暗くみえる領域が基板と細胞膜の相互作用の強い接着領域に対応。

細胞接着面の非平衡形状ゆらぎの解析プラットフォームは、すでに実験が進行していたヒト造血幹細胞の実験結果を用いて確立した (Burk,....Tanaka*, Ho*, *Sci. Rep.* (2015))。ここではまず、重心から細胞縁への距離を極座標でとったものの時間発展 $r(\theta, t)$ を記録し、そのゆらぎ振幅の自己相関関数を実空間で求めた。さらにこのパワースペクトル $\widehat{\Gamma}_m = \langle FT(r) * FT(r) \rangle$ を変形モードの関数で計算した。骨髄中で造血幹細胞の遊走を制御するケモカイン CXCL12 が溶液中に有るか無いかによって、ヒト造血幹細胞が非平衡揺らぎによって散逸するエネルギーの違いを比較したところ、(A) 造血幹細胞は接着リガンド

の表面密度によらずモード2の変形運動を行う (B) 自発的変形運動によるエネルギー散逸は接着分子密度に対して明確な非線形応答を示す (C) 変形によるエネルギー散逸は溶液中のケモカインによって抑圧される、といった実空間での画像解析では検出できないレベルの情報を抽出することに成功した。CXCL12 は胃腺がんの転移誘導因子でもあるので、現在この解析手法を胃腺癌細胞の実験結果の解析に直接応用している。

今後はわれわれが確立した接着強度 (摩擦係数) を精密に制御可能な細胞表面モデルから得られた定量的な実験結果と、計画班佐野グループ・太田が構築中の変形可能な粒子の自発運動 (遊走) に基板との接着を考慮に入れた数理モデルとを組み合わせ、基質に接着した細胞が CXCL12 のようなケモカイン (外場) の存在下で変形しながら遊走する現象に普遍的な原理を解明していきたい。

参考文献：

- (1) Burk, A.S., C. Monzel, H.Y. Yoshikawa, P. Wuchter, R. Saffrich, V. Eckstein, *M. Tanaka, and *A.D. Ho, Quantifying Adhesion Mechanisms and Dynamics of Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *Scientific Reports*, 2015. **5**. 9370
- (2) Ito, H., N. Kuss, B.E. Rapp, M. Ichikawa, T. Gutschmann, K. Brandenburg, J.M.B. Pöschl, and *M. Tanaka, Quantification of the Influence of Endotoxins on the Mechanics of Adult and Neonatal Red Blood Cells. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2015. **119**(25): p. 7837-7845 (計画班市川らとの共著論文) .