

山口大学大学院医学系研究科 岩楯好昭
愛知県立大学情報科学部 作村諭一

魚類表皮ケラトサイト (keratocytes) は、おうぎ型の“かたち”を一定に保ったまま基質上をまっすぐに這う遊走細胞である。細胞の移動は剛体の移動とは異なり、細胞は移動するために、前端が伸長し後端が退縮し続ける形態変化を絶え間なく繰り返している。この絶え間ない形態変化のなかでおうぎ型を保つためには細胞全体で、伸長と退縮がバランスよく行われていなければならない。細胞前端に注目すれば、“細胞前端中央の伸長速度が最大で、両側に向かって遅くなっていることで三日月形が維持されている”といわれている (Graded Radial Extension モデル¹)。本研究では、この伸長速度の空間的な勾配がどのように形成・維持されているか、その一端を明らかにした²。

異なる魚種 (シクリッド、金魚、ブラックテトラ) から採取したケラトサイト (図1) のかたちは、シクリッドは横長で、ブラックテトラは丸く、金魚はその中間であった。この形状から、シクリッドのケラトサイトの先端部の伸長速度勾配は緩やかで、ブラックテトラでは急峻であると予測される。予測した通り、シクリッドのケラトサイトの先端部の伸長速度勾配は緩やかで、ブラックテトラでは急峻であった (図2上)。

次にこの速度勾配を生み出す分子メカニズムを明らかにした。細胞前端の伸長速度は、アクチン重合速度とアクチンレトログレードフロー (ARF) 速度の差として計算される。3魚種の ARF をスペックル顕微鏡法で撮影し、ARF 速度勾配を測定し、アクチン重合速度の勾配も計算により求めた。すると、ARF の速度勾配は伸長速度の勾配 (図2上) と同様にシクリッドのケラトサイトでは緩やかで、ブラックテトラでは急峻であった (図2下)。この結果は、細胞前端の伸長速度の空間的な勾配が ARF の速度勾配によって生み出されること

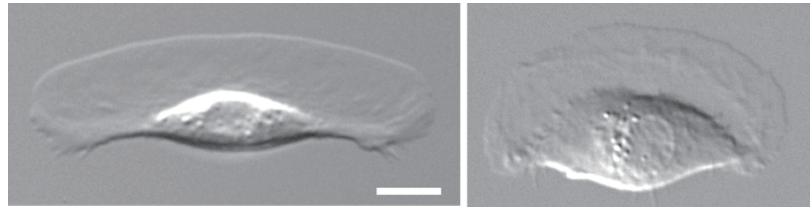


図1. ケラトサイト。左;シクリッド、右;ブラックテトラ由来。Bar = 10 μm 。

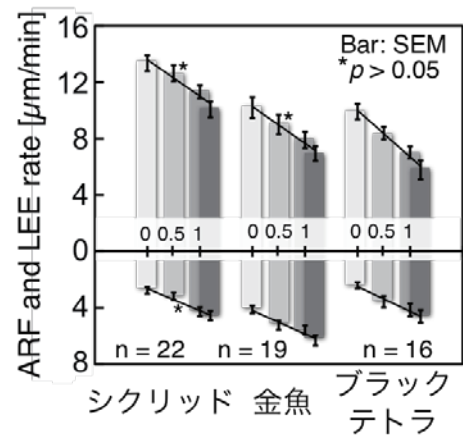


図2. ケラトサイトの細胞前端の伸長速度 (LEE) と ARF 速度。横軸は、細胞前端の中央を0とし、前端に沿って近似円を引いて、その円周と細胞前端が離れる地点を1としている。



図3. ケラトサイトのストレスファイバ。シクリッド由来のケラトサイトを固定し、Alexa phalloidin で染色。矢印; ストレスファイバ。Bar = 20 μm 。

を意味する。

次に、ARF 速度勾配が何によって生み出されるのかを検討した。ケラトサイトは、細胞後部にストレスファイバと呼ばれる構造が存在し（図3）、ストレスファイバの両端は基質に接着している³。ストレスファイバは筋肉のような構造で、その収縮によって、ファイバ両端で基質に牽引力を発揮している。シクリッドとブラックテトラを比較すると、ストレスファイバ両端の基質への接着、及び、牽引力がシクリッドのほうがブラックテトラよりも有意に大きいことが分かった。

シクリッドのケラトサイトで、接着の一部を剥がし牽引力を発揮できなくすれば、剥がした箇所で ARF 速度が速まり曲率半径が小さくなるはずである。シクリッドのケラトサイトの一部に微小なガラスピペットを用いて tripsin-EDTA（接着分子を消化分解する）をスプレーしたところ、スプレーされた側の ARF 速度が速まり曲率半径が小さくなった（図4）。

細胞前端のアクチンフィラメントは、張力が強まると基質に接着し ARF が遅くなるといわれている。以上の結果から、基質に発揮する牽引力が強くなると（図5 A, C）、前端のアクチンフィラメントの張力が強まり ARF 速度が遅くなることで ARF 速度勾配が緩やかになる。一方、牽引力が弱い場合は張力が下がり、ARF 速度が速くなることで ARF 速度勾配が急峻になると考えられる（図5 B, D）。

今後、ストレスファイバの配置が細胞内で決まるメカニズムを含んだケラトサイトのかたちを決めるモデルに発展させ、更に、好中球や細胞性粘菌⁴など他の遊走細胞にも通じる普遍性を導き出すことを目指す。



図4. シクリッド由来のケラトサイトへの tripsin-EDTA のスプレー直後の運動軌跡（6秒毎）。スプレー側（左）の伸長速度が遅くなり、時間経過を表す線の間隔が狭まっている。

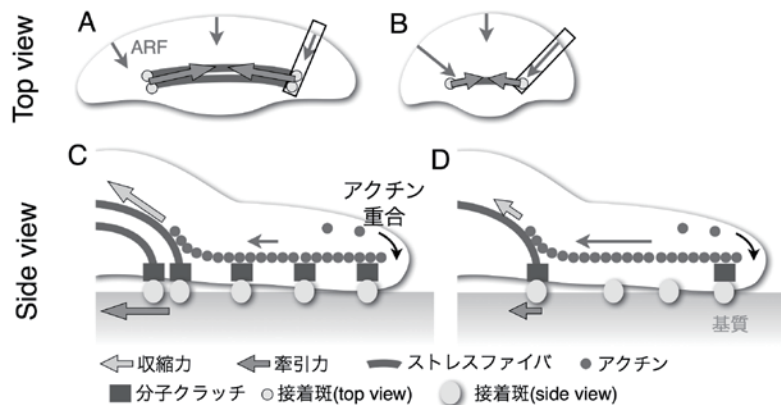


図5. ケラトサイトの“かたち”形成モデル。C, DはA, Bの四角で囲まれた部分を横から見た模式図。

参考文献:

- (1) J. Lee, A. Ishihara, J.A. Theriot, K. Jacobson, *Nature* **362**, 167 - 171 (1993).
- (2) T. Nakata, C. Okimura, T. Mizuno, Y. Iwadate, *Biophys. J.* (in press).
- (3) H. Nakashima, C. Okimura, Y. Iwadate, *Biophys. Physicobiol.* **12**, 21-29 (2015).
- (4) Y. Iwadate, C. Okimura, K. Sato, Y. Nakashima, M. Tsujioka, K. Minami, *Biophys. J.* **104**, 748-758 (2013).