

A03 進行度の異なる胃癌細胞の非平衡形状ゆらぎのエネルギー散逸と対称性の破れ

京都大学 物質-細胞統合システム拠点 田中 求
京都大学 物質-細胞統合システム拠点 山本 暁久
京都大学 医学研究科 鶴山 竜昭

組織の形態観察に基づく病理学的画像診断では、がんの進行に伴う細胞組織構造の乱れが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：エピジェネティックな遺伝子損傷、タンパク質の発現パターンの変化）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の定量的な知見はない。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」と非平衡形状ゆらぎや遊走の競奏を定量的に明らかにする。

細胞システムとしては、連携研究者・鶴山（京都大学医学研究科）の協力のもと H26 年度中に確立した 3 種に新たに 1 種を加えた 4 種のヒト胃腺癌細胞株の安定継代培養を用いた。これまでは、細胞間接着分子 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上での細胞間の相互作用の実験を主に行ってきたが、H28 年度からは新たに細胞・細胞外基質間相互作用のモデルとしてラミニン再構成タンパク質で機能化したモデル界面を用いた実験を行っている。これは、進行型・転移型の癌細胞は E カドヘリンの発現量が非常に低く、細胞間接着強度が極度に落ちていることによる（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)。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結果、ラミニン基板では細胞の接着・変形・運動だけでなく増殖速度までもがその表面密度に強く依存することを見出した[1]。また今年度からは新たに外部因子として癌細胞の転移における走化性をつかさどる化学因子として知られる、SDF1 α を培地中に溶解させこれが癌細胞の接着・変形・運動に与える影響を実験的に検証している。

SDF1 α のような外部因子（ケモカイン）が細胞に与える影響については、個々の分子に関する現象論的知見は得られているものの、これを物理学的視点に立脚して定量解析した例はない。そこで本研究では出発点として、すでにある程度実験結果がある[2]ヒト造血幹細胞に SDF1 α が与える影響を解析し、数理モデルとの比較を行った（佐野研究室・太田との共同研究）。ここでは従来の自発的粒子の運動モデルに摩擦（移動度）を加え

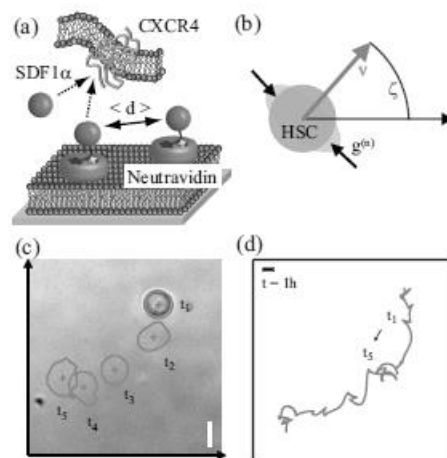


図 1. (a)幹細胞実験系と(b)モデルにおけるモード n の変形する力の模式図 (c)タイムラプス観測と(d)1時間の遊走の軌跡（スケールバーは 10 μm ）

た基本モデル $v = \gamma S_{ij} U_{ijk}$ に、さらに実験結果に合わせて周期的に変形する力を組み込んだモデルを構築した。実験的には癌細胞と同様、接着分子の表面密度すなわち摩擦（モデル上では移動度 γ ）をシステムチックに変え、細胞運動の軌跡や速度、細胞変形のパワースペクトル

$$\hat{\Gamma}(m) = \frac{\langle C_m C_{-m} \rangle}{\sum_m \langle C_m C_{-m} \rangle}$$

を計算した。SDF1 α のない系の細胞挙動は線形モデルでよく説明できるが、

SDF1 α がごく微量でも存在する (5 ng/mL) と細胞変形が落ちかつ運動の軌跡の持続性が伸びるという観測結果を説明するには、変形と運動の非平衡カップリング項を考慮に入れる必要があることを見出した。このように時間・空間のスケールを実験と理論で定量的に合わせることで、今後ほかの外部因子、特に臨床薬剤やその候補の細胞機能に与える効果を物理学的に理解することが期待される ([3]Ohta et al., submitted)。

またこのような単一細胞レベルでの自発的な粒子の変形と運動を多細胞系へとさらに大きく展開するために、無限の再生能力をもつことで広く知られるヒドラを用いた研究も行った。ここではヒドラ組織切片が成体へと再生する初期過程における、組織の力学特性を精密なアクチュエータで制御されたマイクロロボットを用いて箸のように「つまんで」計測した(大阪大学・新井健生教授との共同研究)。ここでは組織の変形を一定に保って、そのストレス緩和から組織の粘弾性を計測したほか(計画班吉川グループ・伊藤との共同研究)、組織が周期的に変形しながら生み出す力(約 10nN)を計測することに成功した[4]。現在これをさらにダイナミックに展開し、環境変化や遺伝子操作のような外場が組織の非平衡ダイナミクスに与える影響を明らかにすべく実験を進めている。

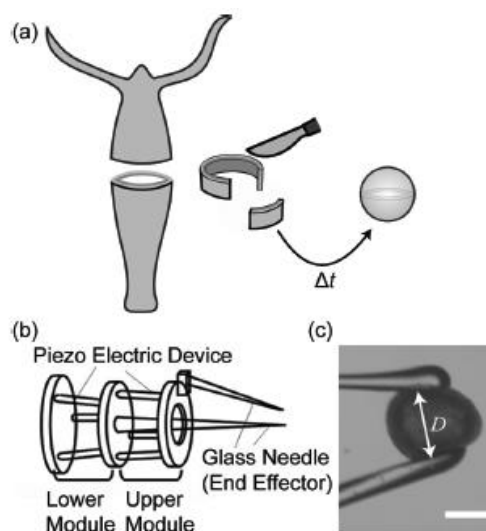


図 2. (a)ヒドラ組織切片の実験と (b)マイクロロボット観測の模式図 (c)「マイクロお箸」で変位を正確に制御しながら力学計測を 1nN 精度で行う (スケールバーは 200 μm)

参考文献：

- (1) A. Yamamoto, Y. Sakamaki T. Tsuruyama, M. Tanaka, in preparation.
- (2) A. Burk, C. Monzel, H. Yoshikawa, P. Wuchter, R. Saffrich, V. Eckstein, M. Tanaka, A. Ho, *Sci. Rep.* **5**, 9370 (2015).
- (3) T. Ohta, C. Monzel, A. Becker, A. Ho, M. Tanaka, submitted.
- (4) M. Veschgini, F. Gebert, N. Khangai, H. Ito, R. Suzuki, T.W. Holstein, Y. Mae, T. Arai, M. Tanaka, *Appl. Phys. Lett.*, **108**, 103702 (2016).