

遊走する細胞と運動制御

佐藤雅之¹, 高木拓明^{1,2}

¹ 大阪大学大学院 生命機能研究科 ナノ生体科学講座

^{1,2} 文部科学省 リーディングプロジェクト (バイオナノプロセス)

概要

揺らぎ塗れの状況下において細胞は入力に対し感度よく安定に応答することが出来る。我々は細胞性粘菌を用い、細胞遊走の特徴づけと、外部シグナルに対する走性応答を定量的に解析することで揺らぎのコントロールメカニズムや機能的意義を明らかにすることを目指し、一連の実験と理論的解析を行っている。本講演ではその遊走運動の特徴づけと、走電性応答の振舞いについて紹介する。

Migrating cell and motion control

Masayuki J. Sato¹, Hiroaki Takagi^{1,2}

¹ Graduate School of Frontier Biosciences

Nanobiology Laboratories

Osaka University ² MEXT Leading Project (Bio Nano Process)

Abstract

Cells can respond external signals sensitively and stably under the fluctuating environment. We aim to elucidate cellular mechanism to control fluctuations and its functional meaning by analyzing spontaneous motion and tactic behaviors of *Dictyostelium* cells. In this presentation, I introduce a series of our experimental and theoretical studies of spontaneous motion and electrotaxis.

1 導入

アメーバ様細胞は外部シグナルが存在しない条件下でも自発的な運動を示す一方、外部シグナルが与えられるとその情報を処理し、方向性のある移動運動(走性)を示すことが出来る。それは、細胞運動が細胞内のシグナル伝達系、運動系など各種反応カスケードの絡むシステムの出力であること [1]、そして細胞は自身の自発運動をバイアスすることで外部シグナルに対して適切な走性応答をしていると考えることが出来る。他方、細胞内の物理的状況を踏まえれば、分子の熱揺らぎ、数揺らぎの効果は避ける事は出来ないことから、細胞内情報処理系の出力自体が揺らぎを必然的に伴う。特に細胞運動の場合、細胞内での各種分子の時空間的局在やその機能における並列性による揺らぎも大きく寄与すると考えられる為、その揺らぎは一層顕著である。しかし、細胞はそのような状況下においても入力に対し感度よく安定に応答することが出来る。従って、細胞の情報処理過程への行動レベルの切り口として、細胞の自発運動や形態変化を揺らぎまで含めて定量化し、その上で外部シグナルに対する細胞の走性応答を議論することによって、そのコントロールメカニズムや機能的意義を明らかにすることが重要となってくる。またシステム論的に考えた場合、出力の揺らぎの中にも細胞内反応ネットワークの情報が含まれていることも踏まえれば [2, 3]、揺らぎの解析から細胞情報処理過程に関する知見が抽出出来る可能性もある。これらの目的の為、我々は実験系として細胞性粘菌を用い、一連の実験と理論的解析を行っている。本講演ではその自発運動の特徴づけ [4] と走電性応答の振舞い [5] について紹介する。

2 実験系と解析方法

細胞性粘菌は、細胞のアメーバ運動の研究に対して確立されたモデル生物の一つである (図 1) [6]。運動系、シグナル伝達系など多数の分子ネットワークの研究が進んでおり、また一倍体生物であることから遺伝子操作にも適し、細胞運動等含め各種の突然変異体が採られている。また飢餓状態におくことで細胞状態を同調させることが可能であり、均一性の高い細胞集団を用意出来ることから、精密な測定を通じ、細胞システムにとり意義のある揺らぎの特徴づけに適した系と言える。他方、細胞内情報処理の仕組みを解明する為には高精度に制御された入力刺激に対する細胞の応答を計測し、入出力関係を定量的に議論することが必要であるが、高精度の入力が容易な電場による走電性応答はそれに叶った系である [7]。その点に関しても細胞性粘菌は高く速い応答を示す (直流電場下で陰極側へ移動する) ことが知られており、また情報伝達分子の同定が進んでいるなど実験上多くの利点も有している。そこで我々はまず細胞性粘菌の遊走の特徴づけを行い、更に高速、低ノイズで任意の電位波形を発生させる実験系を開発した上で、細胞性粘菌の走電性応答における入出力関係の定量化を行った (図 1)。その際には個々の細胞応答を定量化する目的から、細胞密度を適度に低くし、出来るだけ細胞間相互作用がない条件下で、単独状態の細胞の運動を高精度で比較的長時間追跡出来る実験系を使用した。そしてその計測で得られる多数の細胞軌跡の時系列データ (図 2) を基に、統計解析、時系列解析を行った。前者からは細胞運動の統計力学的考察が可能となり、後者からは重心運動の粗視化された動力学モデルの同定が可能となる [8, 9]。

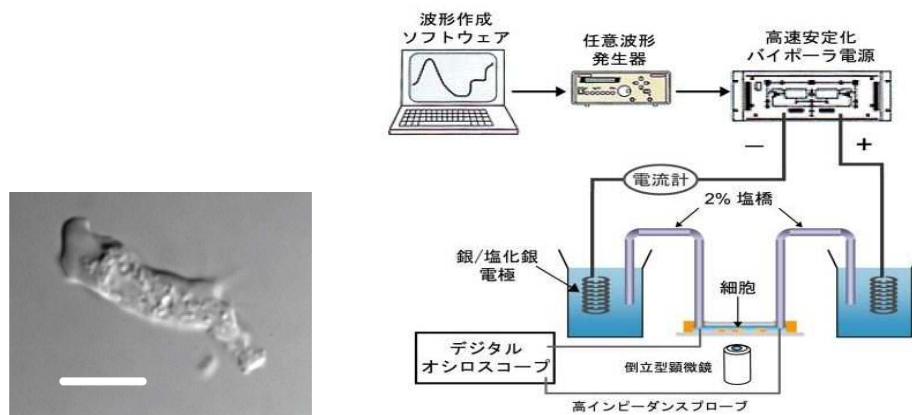


図 1: 細胞性粘菌 (飢餓状態、スケールバーは 10 μ m)。走電性実験装置の模式図。

3 細胞遊走の特徴づけ

まず細胞性粘菌の遊走の特徴づけについて述べる。我々は得られた細胞運動軌跡の座標データを基に、平均自乗変位 (図 2A)、速度分布 (図 2B)、速度の自己相関関数 (図 2C)、平均速度と平均加速度、加速度の揺らぎの関係 (図 2D) を解析した。その結果、

1. 細胞性粘菌はブラウン運動に基づく粒子の拡散より直進性の高い異常拡散運動をしていること
2. それは相関型の異常拡散であること
3. 平均加速度 (運動方向)、加速度の揺らぎ (運動方向・垂直方向) に非線形な速度依存性が存在すること

が明らかになった。これらの結果を基にランジュバン型の現象論モデルを割り当てることが可能である。特に速度揺らぎが指数成分を強く持ち、特徴的な時定数を二つ持つ速度相関関数をしていることから、細胞性粘菌の遊走は記憶項の存在する乗算的+加算的ノイズ系 [9, 4] としてモデル化可能であることを示すことが出来る (ノイズ源はガウシアンホワイト、 $\beta(v(t))$ 、 $\sigma(v(t))$ は $v(t)$ の多項式、また $\vec{V}(t) = \alpha \int_{-\infty}^t e^{-\gamma(t-t')} \vec{v}(t') dt'$ である)。

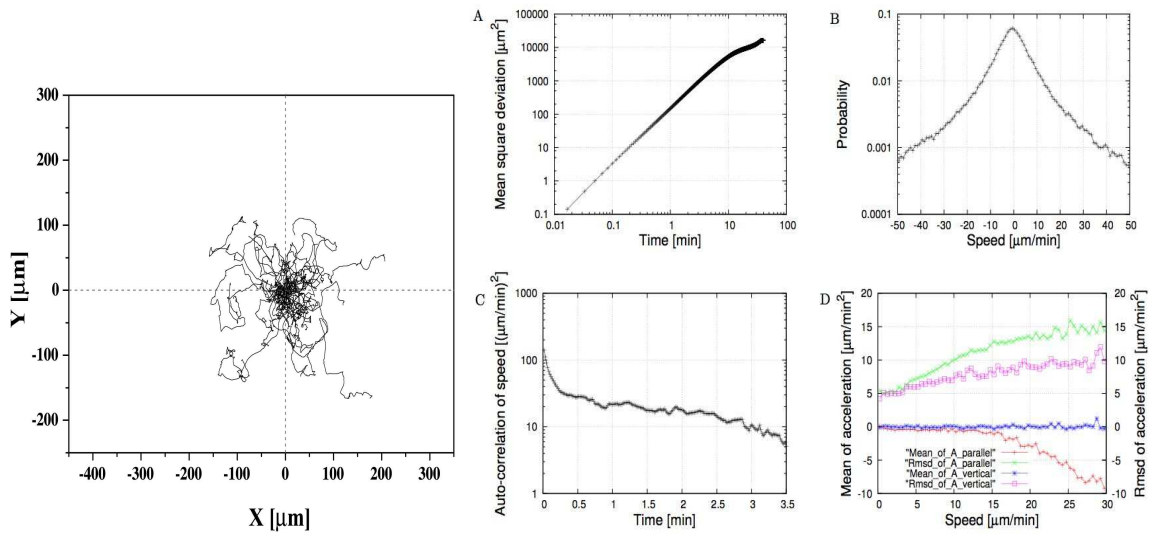


図2: 細胞性粘菌の運動軌跡。(A) 平均二乗変位 (両対数表示)。(B) x 方向の速度の分布 (片対数表示、速度は一秒精度の速度を分速表示した)。(C) 速度の自己相関 (片対数表示)。(D) 平均速度と平均加速度、加速度の標準偏差の関係 (運動方向に対し水平、垂直方向に分類)。解析は全て 100 細胞以上のデータを用いている。

$$\frac{d\vec{v}}{dt}(t) = -\beta(v(t))\vec{v}(t) + \alpha\vec{V}(t) + \sigma(v(t))\vec{\eta}(t) \quad (1)$$

$$\frac{d\vec{V}}{dt}(t) = \alpha\vec{v}(t) - \gamma\vec{V}(t) \quad (2)$$

4 運動制御

前説では細胞性粘菌の遊走の特徴づけを示したが、本説では細胞性粘菌を用いた走電性実験について述べる。細胞性粘菌は直流電場下では陰極に移動していくが、与える電位勾配を大きくしていくと陰極側へ向かう移動の効率が高くなっていく。そこで電位勾配 (入力) と走電性の効率 (出力) の関係を明らかにするために、細胞の移動運動を定量化した (平均変位速度: Mean Displacement Speed (MDS)) [10]。その結果、MDS は電位勾配 $E[V/cm]$ に対してシグモイダルに変化し (図 3)、その入出力関係は以下の式で記述できることがわかった。

$$MDS = V_{max} \frac{E^2}{E^2 + K_E^2} \quad (3)$$

ここで、 V_{max} は陰極方向への最大平均変位速度であり、 K_E は MDS が 50% となる電位勾配である。これにより、様々な実験条件下における走電性効率は、電位勾配の二乗に影響を受けること、細胞の電場感受性の指標など少数の現象論的パラメータで記述出来ることが明らかとなった [5]。

5 議論

ここでは細胞性粘菌を用い、その遊走運動の特徴づけと外部入力 (電場) への応答変化の様子について紹介した。通常のブラウン運動の場合は、速度と水平成分の加速度は粘性項の寄与により線型速度依存性を持ち、また揺らぎは溶媒分子の熱揺らぎ起源の為、速度依存性を持たない。従って、上記の性質は細胞運動に特徴的な振舞いであると考えることが出来る。この非線型速度依存性は、平均速度周辺に回帰し易い性質を反映していると考えられ、細胞行動学的な意義を考えることが出来るだろう。また揺らぎの項も細胞が自身の活動で動的に作っている寄与を見ていると考えられる。また異常拡散性や記憶項の存在は、細胞性粘菌の直進性の高い運動を表し、移動体形成への集合を促進していると考えられる。また電場入力に関する応答は、細胞の感受性と二次的非線形性によって特徴づけられることも分かった。これらを

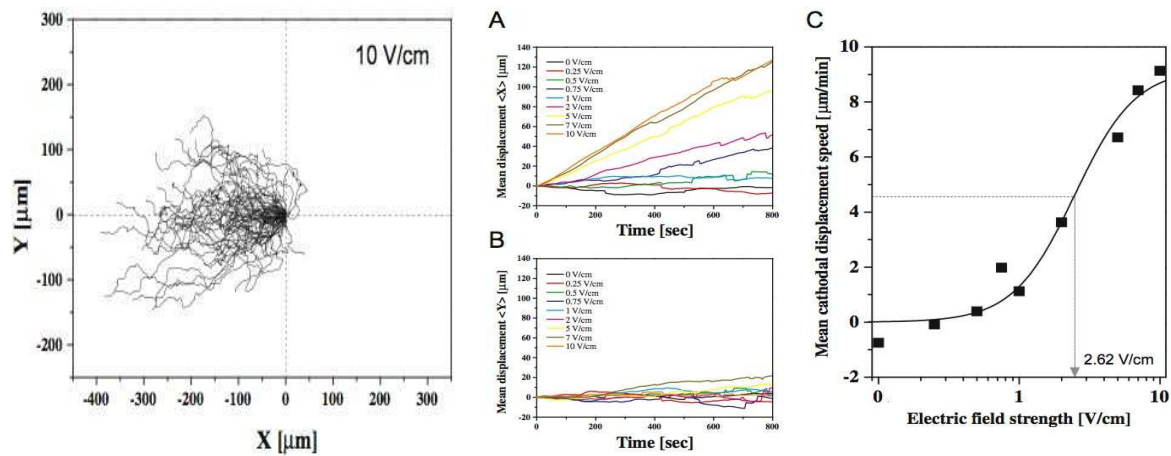


図 3: 細胞性粘菌の走電性応答の入出力関係。(A) 電場方向の平均変位の時間変化。(B) 電場と垂直方向の平均変位の時間変化。(C) 平均変位速度の電場強度依存性。実線は (3) 式によるフィッティング。

基に、割り当てたモデルをデータに対してフィッティングすることでパラメータ値を推定し、細胞性粘菌の運動や外部入力への応答に関する特徴的な情報を抽出可能である。更に、これらの現象論的指標と、細胞性粘菌の分子コンポーネントに関する理解とを結びつけることにより、細胞システムの理解の進展が期待される。その為に今後は、反応経路のスイッチ的役割を担い、運動装置にも影響を持つ分子コンポーネントの変異体や、特徴的な運動異常を示す変異体を用いて同様の計測と解析を進め、運動における揺らぎや記憶の発生源や、反応経路の切り替わり方、そして遊走運動と入出力応答との相関関係 [11] やその生理的意義についても研究を進めていきたい。

参考文献

- [1] D. Bray, *Cell movements: from molecules to motility* (Garland publishing, New York, 2001).
- [2] T. Shibata and K. Fujimoto, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **102**, 331-336 (2005).
- [3] E. Korobkova, T. Emonet, J. M. G. Vilar, T. S. Shimizu and P. Cluzel, Nature **428**, 574-578 (2004).
- [4] H. Takagi, M. J. Sato, T. Yanagida and M. Ueda, in preparation.
- [5] M. J. Sato, M. Ueda, H. Takagi, T. M. Watanabe, T. Yanagida and M. Ueda, to appear in BioSystems.; M. J. Sato, H. Kuwayama, H. Takagi, T. Yanagida and M. Ueda, in preparation.
- [6] R. H. Kessin, *Dictyostelium: Evolution, Cell Biology, and the Development of Multicellularity* (Cambridge University Press, 2001).
- [7] M. Zhao et al. Nature **442**, 457-460 (2006).
- [8] H. Miyoshi, N. Masaki and Y. Tsuchiya, Protoplasma **222**, 175-181 (2003).
- [9] D. Selmecki, S. Mosler, P. H. Hagedorn, N. B. Larsen and H. Flyvbjerg, Biophys. J. **89**, 912-931 (2005).
- [10] H. C. Berg, *Random walks in biology* (Princeton University Press, 1983).
- [11] K. Sato, Y. Ito, T. Yomo and K. Kaneko, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **100**, 14086-14090 (2003).