

くっついて追いかける — 細胞性粘菌が集団的に動く新たな仕組みを発見

1. 発表者：

藤森 大平（東京大学 大学院総合文化研究科広域科学専攻 博士課程（研究当時）／日本学術振興会特別研究員 PD（現在））

澤井 哲（東京大学 大学院総合文化研究科広域科学専攻 教授／東京大学 生物普遍性連携研究機構）

2. 発表のポイント：

- ◆細胞性粘菌の形態形成において、細胞が動く方向が何によって決定されるかが未解明であった。
- ◆微小流路と精製タンパク質による精密な入力シグナルの制御実験によって、粘菌細胞には中間の細胞に接触すると、それに向きをそろえて追従する性質があることが明らかになった。細胞型によって組織の特定の場所に細胞が配置される仕組みがわかった。
- ◆細胞の集団的な運動（発生、再生、ガン浸潤、損傷治癒）における、細胞が目的の場所に配置される原理の理解と操作応用につながることで期待される。

3. 発表概要：

東京大学大学院総合文化研究科の澤井哲教授らの研究グループは、微小流路を用いた粘菌アメーバの運動の詳細な測定から、細胞間の接触によって細胞が細胞を追いかける性質、接触追従運動を明らかにしました。この追従運動に必須の接着タンパク質を特定し、これをコートしたビーズによって、追従運動が人工的に誘起できることを示しました。走化性による誘引と、接着による追従の両方のシグナルが入力されると、細胞型によって走化性と追従が排他的に選択されることから、この性質が組織中の特定の場所に、特定の細胞を配置するというパターン形成の基本にあることが示されました。今回の結果は、粘菌アメーバの解析と操作しやすさと、微細加工技術によって開発した走化性操作のデバイスを用いることで、細胞の集団運動と再配置を決定する運動規則を明らかにしたものです。細胞の集団運動は、胚発生、損傷治癒やガンの浸潤などでもよく知られ、走化性と接触シグナルの双方が関わっていると考えられていますが、その具体的な仕組みの多くは謎にまつまれています。本成果は、そのような複雑な多因子環境の中から一般には抜き出すことが極めて困難な性質を具体的に明らかにしたもので、高等動物やヒトを含めた多細胞生物の組織形成全般に対する共通理解に将来的に寄与することが期待されます。

4. 発表内容：

細胞性粘菌（以後「粘菌」）キイロタマホコリカビは、アメーバ界で多細胞体制を進化させた、謎に満ちた生き物として古くから知られています。飢餓状態に陥ると、子実体と呼ばれる多細胞組織を、細胞運動による集合と再配置によって形成します（図1 A,B）。子実体は主に柄細胞と孢子細胞の2種類の細胞型からなっていますが、これらは集合塊内で当初ランダムな位置で出現し、将来柄となる細胞（予定柄細胞）がやがて頂端へと配置されます（図1 C）。このような細胞選別は高等動物にも共通して見られる現象ですが、細胞の移動方向や配置を決定する基本的ルールは、系が複雑なため、解読することがほとんど困難です。細胞性粘菌の運

動は、細胞自身が分泌するサイクリック AMP (cAMP)が誘引分子として働き、これに向かう走化性運動（注1）がよくわかってきています。一方で、走化性とは別に、細胞の運動方向を決定する仕組みとして、1962年に当時英国ケンブリッジ大学動物学講座の Shaffer 教授が、粘菌細胞間は接触することで後ろの細胞が前の細胞を追いかけているとする、「接触追従」を素朴な顕微鏡観察に基づいて提唱していました。しかし、走化性の実態すら不明であった当時の分子生物学的知見や細胞操作の技術では、運動方向を決定する諸要因を切り分けて解析することができず、長きにわたってこのアイデアが日の目をみることはありませんでした。その後の研究でも、隣接する細胞間の接着を担う細胞間接着分子 TgrB1 と TgrC1（注2）が細胞選別へ関与していることが遺伝学的には示唆されていましたが、選別運動にどのような働きをもっているか分かっていませんでした。

今回、東京大学大学院総合文化研究科の澤井哲教授らの研究グループは、微小流路を用いた粘菌細胞の詳細な測定から、走化性とは別に、細胞間の接触によって細胞の運動方向が決まる性質、接触追従を明らかにしました。この追従運動は、連結した細胞のうち、前方細胞の TgrC1 分子と後方細胞の TgrB1 分子に依存していました（図 2 A）。接触到追従運動する細胞はそれに応じて強い前後の細胞極性（注3）を示し、一方で、細胞外 cAMP 濃度勾配の摂動に対して、その運動方向を追従させにくい、つまり走化性の応答性が低いことが分かりました。細胞間接着領域では、単独で運動する細胞には見られない持続的な SCAR 複合体（注4）の局在と F-アクチン（注4）の強い形成が観察され、これらが追従運動時の細胞先端の顕著な伸張と細胞極性をもたらしていると考えられました（図 2 B）。同様の SCAR 複合体の局在と強い F-アクチンの形成は、精製した細胞間接着分子 TgrC1 と糖結合タンパク質の一種である小麦胚芽凝集素（WGA: 細胞との接着を補強する）をコートしたシリカビーズと細胞との接着領域にも生じました。このことは追従運動が、細胞外に分泌された cAMP とは独立した、Tgr を主とする細胞間接着機構に強く依存した現象であることを示しています（図 2 C）。精製した TgrB1 または cAMP 分解酵素を細胞集合塊に投与し、接着シグナルまたは走化性シグナルが阻害された条件下では、いずれの場合も予定柄細胞が頂端へ選別されなくなることから、cAMP への走化性と Tgr を介した追従運動の双方が、細胞選別時の細胞移動方向の決定に深く関与していると考えられました。そこで、TgrC1 をコートしたビーズへの接着によって形成された細胞極性とは直交する方向に cAMP の濃度勾配を提示したところ、予定柄細胞は cAMP に向かう運動を示したのに対し、予定柄細胞はビーズに接着し極性を保ったままでした（図 3 A）。以上の結果は、走化性誘引分子と細胞間接着分子による移動方向の決定は、細胞型によって排他的に選択されており、これによって細胞型に依存した組織内の配置変え、細胞選別が生じていることを強く示唆しています（図 3 B）。

細胞の方向的な移動、集団運動は、胚発生、損傷治癒やガンの浸潤などで知られ、粘菌同様に、走化性と接触シグナルの双方が関わっていると考えられています。発生や再生においては、特定の細胞が決められた位置に正確に配置されることが極めて重要ですが、走化性の違いによるのか、接着の強弱によるのかなど、諸説が乱立しており、そのほとんどがブラックボックスです。これまでに、動物やヒトの細胞では、細胞間が接触すると、接触した側に細胞後端が形成され、細胞同士が離れようとする「接触阻害」が知られていましたが、今回の発見はこれとは真逆の「接触活性」、つまり接触した側に細胞前端を形成する仕組みを明らかにしたものです。このような接触追従型の運動は高等動物由来の細胞にも存在することが近年示唆され始めており、本成果は先駆的なモデルケースとして、多細胞組織形成に共通する仕組みの理解に寄与することが期待されます。

本研究成果は、文部科学省および学術振興会の科学研究費（新学術領域「生物の3D形態を構築するロジック」、特別研究員制度）、文部科学省・AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（生命動態システム科学推進拠点事業）「複雑生命システム動態研究教育拠点」等の助成のもと、東京大学大学院総合文化研究科の中島昭彦助教、島田奈央助教、澤井哲教授との協同で、藤森大平博士研究員がおこなった博士論文研究によって得られました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Proceedings of National Academy of Science, USA*」（2019年2月19日オンライン版掲載）

論文タイトル：Tissue self-organization based on collective cell migration by contact activation of locomotion and chemotaxis

著者：藤森大平 中島昭彦 島田奈央 澤井哲*

DOI 番号：10.1073/pnas.1815063116

アブストラクト URL：<https://www.pnas.org/content/early/2019/02/15/1815063116>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻
教授 澤井 哲（さわい さとし）

7. 用語解説：

(注1) 走化性運動

細胞表面にあるタンパク質により細胞外の化学物質濃度を検出し、濃度の高い方へ運動する現象。細胞性粘菌でその仕組みが最もよく解析されている。多くの生物種で見られ、動物の形づくりや免疫細胞による異物の駆除などさまざまな場面で重要な役割を果たす細胞機能の一つである。

(注2) 細胞間接着分子 TgrB1 と TgrC1

細胞表面に存在し、隣接する細胞と接着するために用いられるタンパク質を細胞間接着分子と呼ぶ。機械的な接着だけでなく、しばしば接着を介して情報のやりとりが行われる。TgrB1 と TgrC1 は細胞性粘菌のもつ代表的な細胞間接着分子の一つである。TgrB1 同士、TgrC1 同士は接着しない一方、TgrB1 と TgrC1 は接着することが知られている。これをヘテロな結合という。

(注3) 細胞極性

細胞は多様な形に変形する能力がある一方、目的に応じて特定の方向への変形を維持することが知られている。この時に生じる形態的に非対称な状態を細胞極性と呼ぶ。細胞運動時は、細胞膜を伸展させる前端部分と細胞膜を収縮させる後端部分では働くタンパク質が異なる。その非対称な分布がより安定に維持され、形状と運動方向の変化に乏しい状態を細胞極性が強い、という。

(注4) SCAR 複合体、F-アクチン

F-アクチンは、G-アクチンと呼ばれるタンパク質が、いくつも連結してできる大きな繊維状の構造物である。細胞膜付近で F-アクチンが活発に形成されることで、細胞膜が押し出され細胞

運動が生じる。高等動物を含め極めて多数の生物種に存在し、細胞運動、細胞内構造の維持などに重要な生体高分子である。SCAR 複合体は5つのタンパク質が結合して形成される。細胞膜上で活性化した SCAR 複合体は、F-アクチン結合タンパク質の活性化を介して F-アクチン形成を促進する。高等動物を含むさまざまな生物種に存在し、細胞の運動方向決定において重要な役割を果たす。

8. 添付資料：

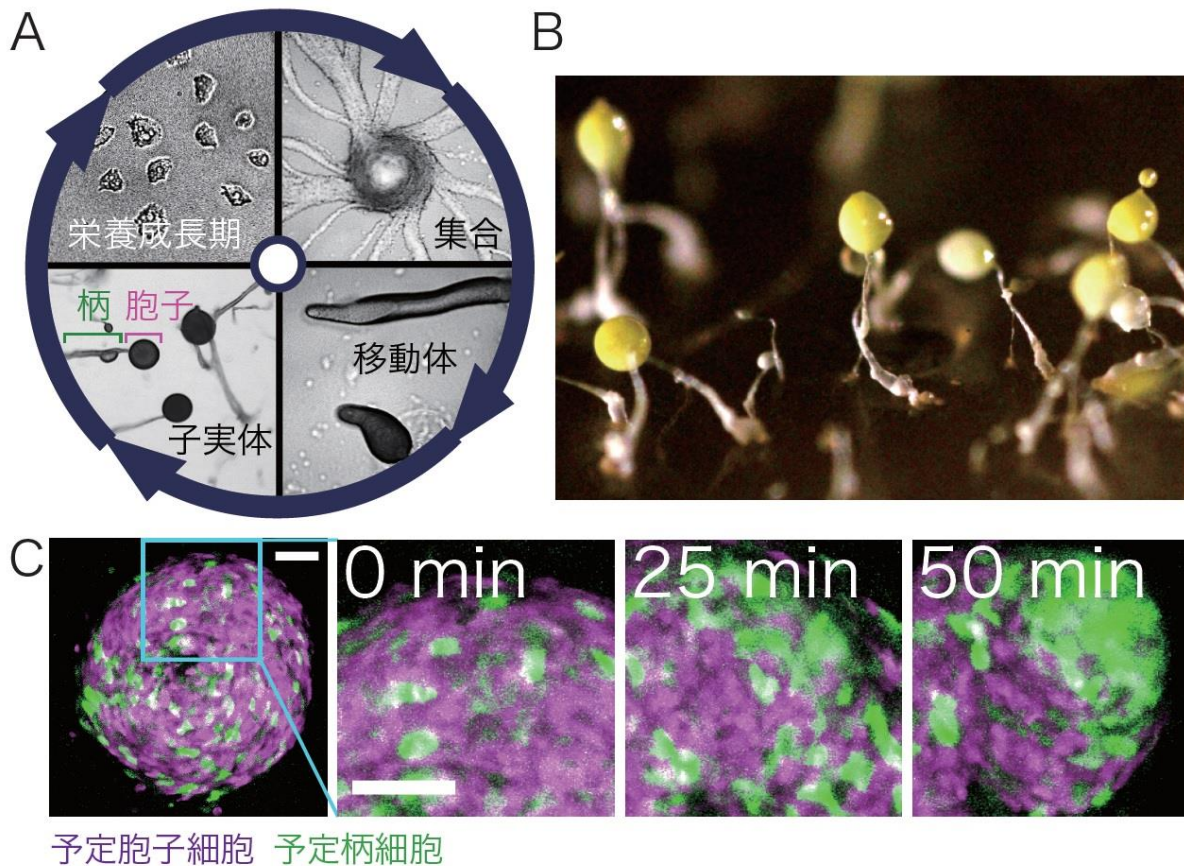


図1：細胞性粘菌キイロタマホコリカビ

(A) 細胞性粘菌の生活環。土壌中では細菌を捕食し増殖する(左上)。飢餓状態に陥ると集合し(右上)、移動体となって地表へ這い出る(右下)。最終的に柄と孢子からなる子実体を形成する(左下)。孢子は栄養環境が好転すると再び単細胞アメーバとして増殖を開始する。(B) 細胞性粘菌の子実体(実体顕微鏡写真) (C) 集合後の細胞塊中で、将来柄になる予定柄細胞(緑)と将来孢子になる予定孢子細胞(マゼンダ)がランダムな配置で出現する。予定柄細胞は徐々に集合塊の頂端へと集まり各細胞タイプは分離する。これを細胞選別と呼び、以降の集団運動と子実体形成に必須のプロセスである。

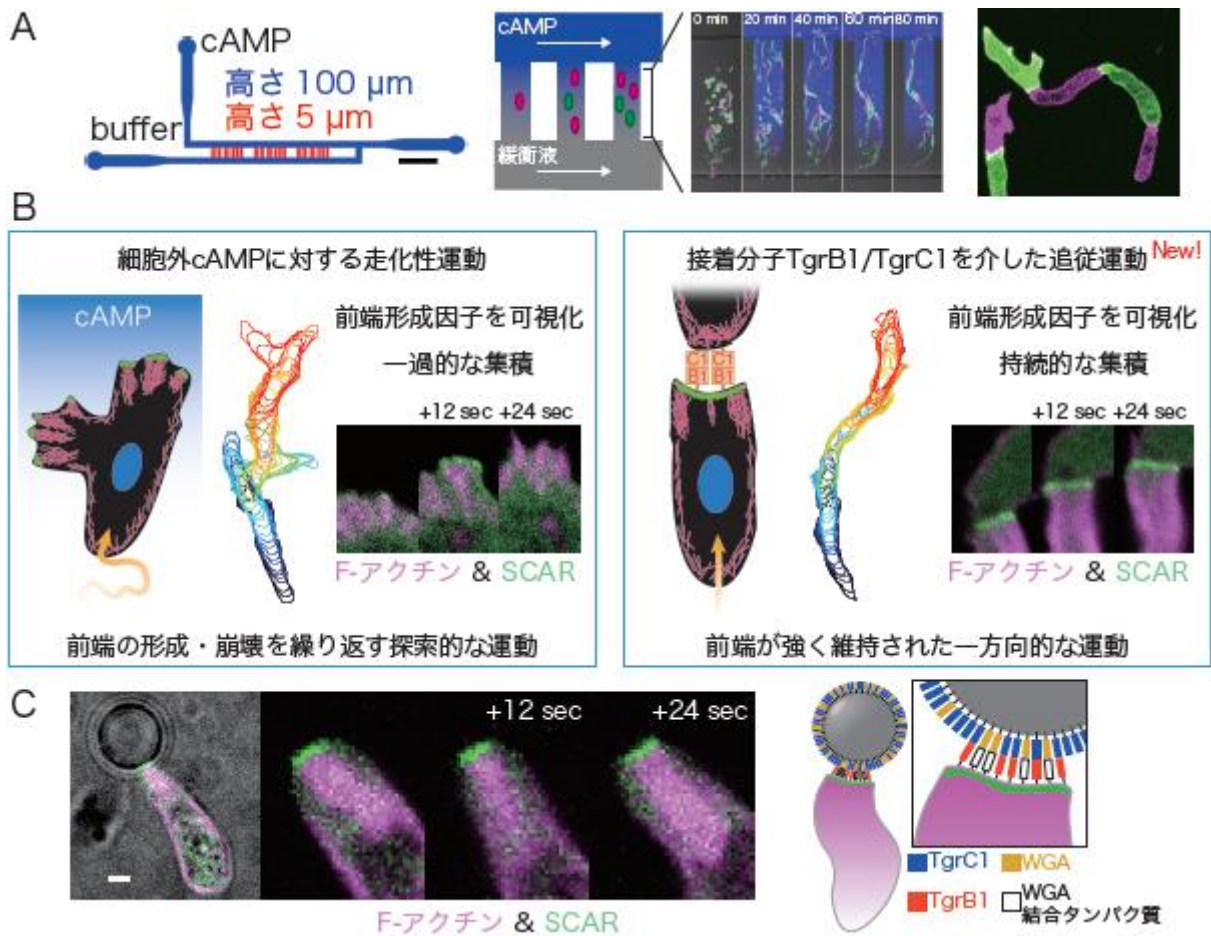


図2：走化性運動と追従運動

(A) 本研究で用いた微小流路の一つ。高さ 5 μm の流路内を細胞が移動する(左)。細胞は徐々に前後に接着し、列をなして運動する(中央)。右は連結して運動する細胞の拡大図。(B) 従来知られていた cAMP に対する走化性運動(左)と、今回明らかとなった細胞間接着分子 TgrB1/TgrC1 を介した追従運動(右)。前端形成を担う SCAR 複合体と F-アクチンに注目すると、走化性運動時は一過的な集積を繰り返すのに対し、追従運動時は細胞間接着領域に持続的に局在する。(C) 精製した TgrC1 と等結合タンパク質 WGA をコートしたビーズにより、追従運動時に見られる持続的な SCAR 複合体と F-アクチンの集積が誘起できる。

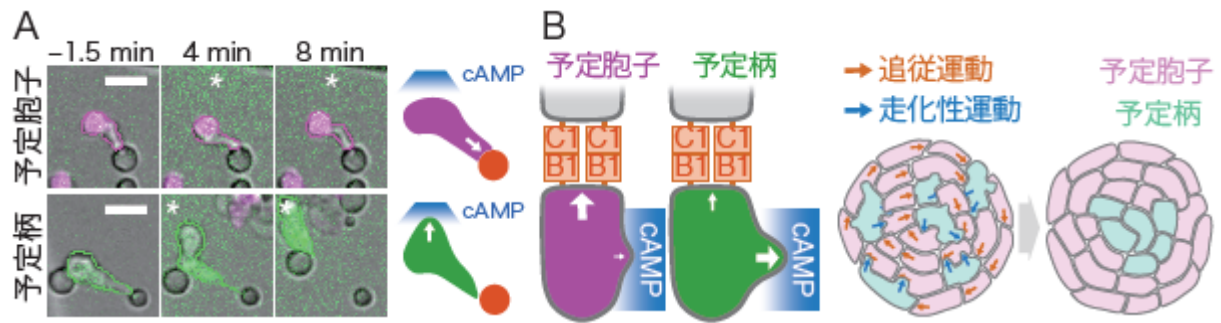


図3：予定柄細胞と予定胞子細胞のシグナルに対する選択性

(A) TgrC1 と WGA をコートしたビーズにより接着シグナルを受容している細胞に対し、ガラスニードルで cAMP 濃度勾配を提示した。予定胞子細胞は接着シグナルを優先しやすいのに対し(上段)、予定柄細胞は走化性シグナルに応答しやすかった(下段)。(B) 予定胞子細胞は接着シグナルを優先することで集団的に運動する一方、予定柄細胞は走化性シグナルに応答しやすいことで予定胞子細胞から離れて頂端に集まることで細胞選別が起こると説明づけた。