

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 石田元彦

細胞が特定の分子に高い特異性をもって一方向的に運動する性質は、一般に走化性運動とよばれ、自由変形しながら這い回る真核細胞は、誘引分子濃度の空間的差異を、膜上の受容体の占有率が反応拡散過程を介して読み取られていると考えられている。一方で、実際には濃度勾配の読み取りから解釈困難な振る舞いがいくつかの先行研究に散見されており、その実態の解明は、細胞運動の生物物理学的な基礎のみならず、免疫細胞の組織内の遊走や、損傷治癒、ガンの転移などと関係しており、極めて重要な課題である。

石田元彦氏の博士論文「動的な誘引刺激に対する好中球様細胞の先導端応答と方向性運動の解析」は、ヒト好中球様培養細胞である HL60 を対象に、その運動方向の決定にかかわる動力学的特徴づけを目指したもので、全 8 章、139 ページからなる。第 1 章では序論並びに論文の構成が述べられ、第 2 章では、研究背景として、本テーマの意義づけならびに先行研究からの分野状況の詳細が述べられている。第 3 章では、測定デバイス、細胞株、蛍光タンパク発現、蛍光共鳴エネルギー移動効率の推定、画像解析に関する手法が述べられ、第 4 章から第 7 章が結果、第 8 章が考察とまとめを構成している。第 4 章では一山型のプロフィールをもった進行波刺激にたいする HL60 細胞の応答を解析し、伝搬速度が速いと、全く移動せず、中程度の伝搬速度では波前面でのみ一方向的に移動し、さらに遅いと、前面でも背面でも勾配を登る方向への双方向的な応答がみられることを見出している。各種の阻害剤による摂動解析により、波前面での応答が細胞の先端のアクチン重合の調節に関わる低分子量 GTPase Cdc42 に強く依存していること、遅い波における波背面での応答が細胞後端の収縮力調節に関わる ROCK タンパク質に強く依存した現象であることを突き止めている。第 5 章では、Cdc42 などの活性化を蛍光測定により特徴づけ、中間速度の進行波前面において、細胞先導端付近の顕著な Cdc42 活性化

がみられるのに対し、背面では活性の空間的差異がほとんどみられないこと、遅い進行波では波の前面背面を問わず Cdc42 活性の空間的な違いがほとんどみられないことを見出している。ROCK 阻害下においても、この Cdc42 活性の振る舞いは同様であることから、波前面と背面で異なるシグナルが細胞の運動方向を決定していることを示しています。さらに第 6 章では、空間的に一様な刺激の時間的ステップ入力にたいする Cdc42 活性を解析し、これが誘引分子の濃度上昇にたいして、一過的に強く応答し、濃度現象にたいしては、ごく弱い応答性のみを示すことを明らかにしました。進行波前面の Cdc42 活性化が時間的濃度上昇に依存した現象である一方で、進行波背面における濃度勾配への振り返り運動が ROCK 阻害によって消滅する性質は、Cdc42 活性とは独立していることを強く示唆している。第 7 章では、光遺伝学的手法により活性型 Cdc42 を細胞内に局在化させる実験をおこない、Cdc42 活性化が通常とは異所的なものであっても、先導端形成が Cdc42 活性によって直接引き起こせることを示した。このことは、進行波背面における振り返りが生じていないことと、Cdc42 の活性化が空間的に均一であることが強く相関しているという、前章までの結果と整合している。

第 8 章では、以上の結果をまとめ、波前面における Cdc42 依存的な移動は、これまで粘菌で提案されてきた刺激増減に対する非対称的な適応的応答による反応拡散過程による先導端形成から説明できることが提唱されている。一方、fMLP と LTB4 にたいする Cdc42 の適応応答の時定数が、先導端形成による波背面での振り向き運動から予想される性質とは逆であること、また、ROCK がミオシンによる細胞後端側の収縮と、運動方向の持続性に深く関与することからも、波背面における方向反転運動が、後端調節に依存した現象であることが考察されている。

本論文は、細胞運動の方向を決定すると考えられてきた勾配検出機構からの予想を覆す内容を多く含んでおり、誘引分子の到達時間差による方向検出と履歴依存的な細胞極性との競合から理解されることを示しており、新規性が高い。これらは、今後、免疫細胞の細胞型による探索性や指向性の違いや、細胞組織中の細胞運動の理解に資するものである。本論文は論文の提出者が主体となって、おこなったものであり、よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。