

## 論文内容の要旨

# 論文題目 細胞性粘菌の cAMP リレー応答と集団的振動の 細胞運動依存性の解析

氏 名 福神史仁

### 背景と目的

餌や外敵や仲間、等の細胞外環境を認識して行動を変化させるということは、生物の基本的な能力である。そのような行動は一細胞レベルにおいても見られる現象であり、誘引物質の濃度勾配等の細胞外環境の情報が細胞内のシグナル伝達機構で処理される結果生じる最終的な出力として、細胞が形状を変化させたり運動したりする。しかし、複数の研究報告から、細胞が運動することや形を変えるということ自体が逆にシグナル伝達機構に寄与することで、細胞外環境からの情報の処理を偏重させると期待されている。

細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) が集合する過程において、環状アデノシン一リン酸 (サイクリック AMP, cyclic AMP, cAMP) を刺激として与えられると細胞内で cAMP を一過的に合成し分泌する (cAMP リレー応答)。この応答が細胞集団により時空間的に周期的に行われ、cAMP の濃度場は大域的ならせん波様の形状となる。この cAMP 濃度場の集団的振動的な振る舞いを、cAMP 振動と呼ぶ。細胞は、cAMP を誘引物質とする走化性運動により、自己組織的に形成された波状の cAMP 濃度場に対してその波に向かう方向へと進む。その結果、らせん波の中心に向かって細胞が集合するに至る。この際、cAMP リレー応答が細胞運動と強く相関する振る舞いを示すことから、細胞外シグナル分子に対する応答と細胞運動との間で相互的な制御が行われていると期待される。アクチン等の細胞骨格タンパク質の反応による細胞の形状変化や運動を単

なる最終的な出力として捉えるだけでは、なにか重要な情報を見落とすことになりかねない。他の様々な応答との関係を精査することで、細胞運動が、ある種の“シグナル伝達因子”の役割を担っていると考えることができれば、細胞の挙動の理解はより進むと期待される。

本研究では細胞性粘菌を材料として、細胞外 cAMP に対する cAMP リレー応答が、アクチンや、細胞の運動にどのように依存するのかを解析することとした。その上で、その依存性が細胞集団レベルの cAMP 振動にどのように影響するのかを検証することで、運動に依存する cAMP リレー応答の意義を明らかにすることを目的とした。

## 手法

細胞内 cAMP 濃度を可視化するため、蛍光共鳴エネルギー移動の原理に基づいた cAMP センサーである Epac1-camps の遺伝子をゲノムに組み込んだ細胞株を用いた。F-アクチンの動態を観察する際は、F-アクチンの蛍光プローブである Lifeact-mRFPmars の遺伝子をさらにゲノムに組み込んだ細胞株を用いた。これらの細胞を蛍光顕微鏡にて観察した。また、cAMP 振動の観察には、暗視野顕微鏡も用いた。

## 結果

細胞性粘菌の集合過程で見られる cAMP 振動は、アクチン重合を阻害する薬剤ラトランキュリン A (LatA) を投与することでその周期が増大した。LatA 濃度勾配下では、低濃度側での cAMP 振動の周期は短く、また低濃度側で多くのらせん波中心が生成されることがわかった。一細胞レベルの cAMP リレー応答は、LatA の投与によりその応答強度が抑制された。脱適応のキネテイクスは、LatA の投与による変化はなかった。cAMP 振動の周期が増大した要因は、一細胞レベルの cAMP リレー応答の応答強度が抑制されたことによるものと考えられる。また、細胞の基質への接着を促進した状態においても、cAMP 振動の周期の増大と、一細胞レベルの cAMP リレー応答の強度の抑制が観察された。一細胞レベルの cAMP リレー応答と細胞集団の cAMP 振動は、F-アクチンや基質への接着に依存する現象である可能性が示唆された。この特徴は、野外環境においてアクチン重合を阻害するような地点が存在したときに、そこからの距離が遠い地点に集合中心が生じやすくなる、という生存戦略を担っていると期待される。

F-アクチンの動態を可視化したところ、LatA の投与や PLL の基質へのコートにより、F-アクチン量が減少することがわかった。cAMP リレー応答と、基質接着面から離れた面における細胞側面での F-アクチンの動態を同時可視化したところ、低濃度 cAMP 刺激下でのみ、細胞側面における F-アクチン量と cAMP リレー応答の強度は正に相関することがわかった。cAMP リレー応答と、基質接着面側での F-アクチンの動態を同時可視化したところ、高濃度 cAMP 刺激下でのデータも含めて、基質接着面側での F-アクチン量と cAMP リレー応答の強度は正の相関す

ることがわかった。また、基質接着面から離れた面における細胞側面での F-アクチン量と異なり、基質接着面側での F-アクチン量は cAMP 刺激濃度依存的に上昇した。以上のことから、cAMP 刺激濃度に依存して F-アクチン量が増加し、また細胞内の F-アクチン量と細胞内 cAMP 濃度とは強く相関する可能性が示唆された。

細胞の形状の周期的変動と細胞内 cAMP 濃度の周期的変動の位相が一致する様子が時折観察された。細胞の形状からのフィードバックが期待されたが、両者の量的関係については、弱い相関が見られるにとどまった。

以上の結果から、一細胞レベルの cAMP リレー応答と細胞集団の cAMP 振動は、F-アクチンや基質への接着に依存する現象である可能性が示唆された。細胞の形状や運動と cAMP リレー応答との間の関係を明確には示せておらず、細胞運動依存性の全容を明らかにするには至らなかった。しかし、本研究で得られた結果のみからでも、細胞の応答の運動依存性が生物学的にも意義のある重要な特徴であることを示すことができた。細胞の挙動の理解をより深める上で、本研究のように、細胞の応答の運動依存性を解析することは重要であると考えられる。