

博士論文(要約)

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* の多細胞組織化における

接触依存的な運動機構

藤 森 大 平

■ 研究背景

多細胞生物の発生における様々な場面で、細胞集団は分泌した拡散性の因子や細胞間接着を介して互いの運動を制御し合う。それらのシグナルをどのように組み合わせ、目的の形態を形成するのかを明らかにすることは発生の仕組みを理解する上で重要である。しかしながら、高等動物は高度に組織化されているためシグナルは多種多様であり、その解析は困難な場合が多い。本研究では、より単純な多細胞組織を形成する細胞性粘菌に注目し、細胞性粘菌の多細胞組織化における運動制御機構を解析した。

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は土壤中に生息する単細胞アメーバである。バクテリアを捕食して無性生殖により増殖するが、飢餓状態に陥ると集合し多細胞体を形成する。多細胞体は最終的に貧栄養環境耐性の高い胞子と、胞子を支える柄に分化し、子実体を形成する。細胞の分化は集合後期から徐々に進み、集合塊中では予定胞子細胞と予定柄細胞が空間的に混在した状態として出現し、その後、細胞選別によって予定胞子細胞集団の上に予定柄細胞集団が配置する。これは頂端形成と呼ばれ、その後の発生過程へ進むために重要なステップである。予定胞子細胞と予定柄細胞の細胞選別は、走化性速度の差異により生じると考えられてきた(differential chemotaxis 仮説)。一方で、cAMP だけでなく細胞間接着分子の寄与も示唆されてきたが、細胞間接着分子による運動制御の実態は不明であった。そこで本研究では、顕微鏡下における生細胞イメージング手法に基づき、細胞性粘菌における細胞間接着依存的な運動制御、ならびにこれが頂端形成に果たす役割について、実験解析をおこなった。

■ 研究結果

cAMP 濃度勾配下で運動する集合期の細胞性粘菌を観察し、単独で運動する細胞と対となった 2 細胞集団の前方細胞、後方細胞それぞれの運動の特徴を解析した。その結果、流路内を単独で運動する細胞または 2 細胞ペアの前方の細胞は、時折り細胞側面から新たな膜突出(側方仮足)を出して運動方向を変えながら運動した。一方で、2 細胞ペアの後方の細胞は細胞間接着領域を前方として伸びた形状(極性)を強く維持しながら前方の細胞を追従した。局所蛍光退色法により樹状アクチンネットワークの成長を解析した結果、単独の細胞や細胞列の先頭細胞の前端よりも、追従する細胞の進行方向の細胞間接着領域において樹状アクチンネットワーク成長速度が大きいことがわかった。これは SCAR 複合体やミオシン II の局在からも支持された。追従する細胞で見られる持続的な樹状アクチンネットワーク形成を司る細胞間接着分子を探索するため、細胞間接着分子の欠損株と野生株の混合集団を観察し、細胞の前後配置の組み合わせの出現頻度を定量することで追従運動に必要な接着分子を特定した。接着分子の過剰発現や精製した接着分子をコートしたビーズを用いることで、細胞間接着依存的に F-アクチン形成を維持し、細胞極性を維持する機構が存在することを示した。

さらに、走化性運動と本研究で発見した細胞間接着による極性維持とが、どのように組み合わされているのかを明らかにするため、分化した予定柄細胞と予定胞子細胞の細胞選別を解析した。接着シグナルへの摂動で細胞選別が阻害された一方、走化性阻害では予定胞子細胞と予定柄細胞の内と外の分離は

生じたが、予定柄細胞が細胞塊の頂端に集合しなかった。さらに、細胞間接着を模倣したビーズを用いて、予定胞子細胞と予定柄細胞の走化性ならびに接着依存的な極性との応答の差を特徴づけた。以上、本研究により、細胞性粘菌における細胞間接着依存的な F-アクチン形成と細胞極性が明らかになった。頂端形成には、細胞間近接シグナルによる極性維持と、走化性運動による極性形成の二つの仕組みの細胞型による使い分けが重要であることが結論づけられた。