

京都大学	博士（医科学）	氏名	小 関 和 馬
論文題目	Lamellipodium tip actin barbed ends serve as a force sensor (ラメリポディア先端のアクチン反矢じり端は力学センサーとして働く)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>細胞は、周囲の硬さや外からの牽引力を感知して伸展し、遊走の方向を変える。しかし、どのようにして細胞が外力を知覚し、細胞突出を開始するかは明らかになっていない。細胞先端においては、アクチンは線維の速い伸長端である反矢じり端を外側に向け、細胞を突出させる力を生み出すと考えられてきた。今回の研究では、細胞内でアクチン重合を可視化する蛍光アクチン単分子イメージングを用い、細胞に与えた牽引力に対するアクチン重合の応答を測定し、アクチン線維の反矢じり端が細胞先端における能動的な「力学センサー」としても振る舞うことを見出した。</p> <p>まず、弾性のある培養基質を通して細胞内蛍光一分子を可視化する手法を確立した。ガラス上にPDMSシリコンラバーを50マイクロメートルの厚さでスピコートし、表面をポリリジンで修飾した。基質中にビーズを混ぜることで、蛍光一分子観察と同時に基質の変位を定量化した。明るく優れた光安定性をもつDyLight550標識アクチンを、電気穿孔法を用い低濃度で導入した細胞をその上に播種した。観察時にPDMSの屈折率近くに最適化されたシリコン浸対物レンズを用いることで、信号の検出を改善した。マイクロニードルで基質を引っ張ることにより細胞端を伸展させると、ラメリポディアの先端のみでアクチン重合が速やかに増加した。この応答は、牽引後8秒以内でほぼ最大に達し、アクチン重合頻度の増加は、速く牽引したときに特に大きい反応がみられた。さらに基質を牽引したのちホールドした段階においても、アクチン重合の促進が保たれたが、そのとき牽引量の増加に従って細胞端に接する反矢じり端にかかる力が減弱することが観察された。これらの牽引から保持の間、細胞端の突出が観察され、30秒間に細胞内アクチン総量の5%に匹敵する分を、細胞局所で余計に重合させることが判明した。また、この牽引力によるアクチン重合の亢進は、先端の主要なアクチン重合促進因子であるWAVE複合体およびEna/VASPタンパク質を先端から取り除いても観察された。フォルミンファミリータンパク質については、同ファミリーが重合する線維へ取込まれにくいGFPアクチンを用いても応答が確認されるため、関与しないと結論付けた。</p> <p>一般に、アクチン重合と細胞を突出させる力の関係は、細胞膜とアクチン反矢じり端との間に生じる間隙に、確率的にGアクチンが入り込み重合することで膜を前方に押し出すブラウンラチェットモデルによって、理論的に説明されている。今回の研究で見つかった牽引力による重合促進の性質は、牽引力の速度が速い領域でより急峻に重合が増加するという、ブラウンラチェットモデルでの予測に一致したものであった。これらの結果から、アクチン反矢じり端そのものが直接外力のセンサーとして働き、線維伸長速度を変化させ、細胞に加えられた牽引力に向かって線維を伸長させる機構が細胞先端に存在することが判明した。ブラウンラチェットモデルを用いた理論的計算によると、牽引力に効率よく応答しアクチン伸長速度を大きく変化させるためには、あらかじめ個々の反矢じり端にかかる力が弱く、重合速度が速い領域にあることが必要であると予測される。実際、細胞先端のラメリポディアでは、アクチン線維が高密度で外向きに並び、求心性流動のため絶えず速い速度で伸長している。今回見出された細胞先端のアクチン重合による力学センサーは、これらのラメリポディアの特殊な状況に支えられたものであり、細胞が外力に即座に応答し突出や遊走の方向を変えるための根源的な仕組みである可能性が示唆される。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>細胞は、基質の硬さや外からの牽引力によって、遊走や伸展の方向を変える。しかし、細胞が外力を知覚する仕組みは明らかになっていない。申請者は、アクチン線維の反矢じり端がブラウンラチェット理論に基づいた「力学センサー」として機能することを見出した。</p> <p>まず、弾性のある培養基質上で細胞内蛍光一分子を可視化する手法を確立した。マイクロニードルで細胞近傍の基質を牽引すると、ラメリポディアの先端でのみアクチン重合が速やかに増加した。アクチン重合頻度は、速く牽引したときに特に大きく増加し、その程度はブラウンラチェット理論の予測と一致した。さらに基質を牽引したのちホールドした段階においてもアクチン重合が促進したが、そのとき牽引量の増加に従って細胞端に接する反矢じり端にかかる力が減弱した。この牽引から保持の間、細胞端が徐々に突出した。ブラウンラチェット理論は、アクチン重合が先端を押す「力の発生」を説明する理論と考えられてきたが、同理論の性質を利用することで、先端に接するアクチン重合端が牽引力方向に細胞を伸展させる力学センサーとして機能することが明らかにされた。</p> <p>以上の研究は、細胞先端のアクチン重合が牽引力に即時に応答し、細胞の伸展方向を変えるための機械受容器として機能することを解明するものであり、細胞生物学の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和3年12月7日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--

要旨公開可能日： 年 月 日以降