

細胞性粘菌の運動解析 — 細胞状態の抽出に向けて —

高木拓明、佐藤雅之

LP バイオナノプロセス、大阪大学大学院生命機能研究科

1 導入

細胞の運動やその形態の変化は、細胞接着や脱離、フィロポディアの成長や崩壊、細胞重心の移動、細胞表面の動的維持といった様々な要素によって構成される動的な過程である。そこでは、アクチン、ミオシンなどのモーター分子やその他様々な分子コンポーネントがシステマティックに機能して一連の過程を実現している。そして、細胞は外部シグナルが存在しない条件下でも自発的な運動を示す一方で、外部シグナルが与えられるとその情報を処理し、方向性のある移動運動(走性)を示すことが出来る。それは、細胞運動は細胞内のシグナル伝達系、運動系といった各種反応カスケードが互いに絡んだシステムのマクロな出力であること、そして細胞は自身の自発運動をバイアスすることで外部シグナルに対して適切な走性応答を可能にすることを示していると考えることが出来る。従って、細胞の情報処理過程への行動レベルの切り口として、細胞の自発運動や形態変化をきちんと定量化し、その上で外部シグナルに対する細胞の走性応答を議論することが重要であると言える¹。

その際、細胞内の物理的状況を踏まえると以下の視点に注目する必要がある。それは、細胞内の情報処理過程においては揺らぎは無視出来ないということである。そもそも分子はナノメートルスケールである為、絶えず熱揺らぎに晒されその構造や活性が揺らぐ可能性がある。加えて、化学反応自体に起因する確率性の存在や、細胞内の分子のコピー数も少数であることに起因した分子数揺らぎも無視出来ないことが挙げられる。その結果、細胞運動含め細胞内情報処理系の出力自体が揺らぐ可能性がある。特に細胞運動の場合、細胞内での各種分子の時空間的局在性やその機能における並列性による揺らぎも大きく寄与すると考えられる為、その揺らぎは一層顕著であろう。しかし、細胞はそのような揺らぎ塗れの状況下において、入力に対し高感度で安定に応答することが出来る。そこで、細胞運動の解析においては揺らぎの定量化を行い、そのコントロールメカニズムや機能的意義を議論することも重要であると言える。また、システム論的に考えた場合、出力の揺らぎの中にも細胞内反応ネットワークの情報が含まれていることを踏まえれば [1, 5]、揺らぎの解析から細胞情報処理過程に関する知見が抽出出来る可能性もあり、その点からも重要であると言えるだろう。

上記目的の為、我々は実験系として細胞性粘菌を用い、一連の実験と理論的解析を行っている。今回は第一歩として、その自発運動の特徴づけを行った結果を紹介する [6]。

¹事実、実験家は往々にして走化性応答など生理的機能に直結する細胞状態の”活きの良さ”の感覚を持っているが、それは主に細胞形態や運動の様子から判断されている。

2 実験系と解析方法

細胞性粘菌は、細胞のアメーバ状運動の研究に対して確立されたモデル生物の一つである (Fig.1 右下に写真)。運動系、シグナル伝達系など多数の分子ネットワークの研究が進んでおり、また一倍体生物であることから遺伝子操作にも適し、細胞運動等含め各種の突然変異体が採られている。また単独で生活している増殖期の細胞を飢餓状態下におくと発生過程が進行を開始し、細胞の生理的状态が大きく変化して誘引物質 (cAMP) に対し走化性を示すようになる²。その際には、細胞状態が同調していることから、極めて均一性の高い細胞集団を用意することが可能である。従って精密な測定を通じ、モデル推定や意味のある揺らぎの特徴づけを行うのに適した系と言える。また、増殖期の細胞は丸い形態をしておりあまり運動しないが、飢餓状態の細胞は細長い形態 (極性) となって運動方向を維持する性質を示すようになり、速度も速くなるという特徴を持っている。従って、細胞状態の変化と細胞運動との関係を探る上でも恰好の実験系と言えよう。

細胞運動に現れる細胞間相互作用の効果も興味深い点であるが³、ここではまず細胞性粘菌の自発運動の特徴づけを行うことを目的とする。その為測定では細胞密度を適度に低くし、出来るだけ細胞間相互作用がない条件下で、単独状態の細胞の運動を高精度で比較的長時間追跡出来る実験系を使用した。具体的には位相差顕微鏡を用い、粘菌の運動に比して速い時間スケールと言える1秒ごとの時間間隔で、画像による細胞重心位置の計測を40分間にわたって行った。またその際には、増殖期 (図中では0時間と表記)、飢餓状態への移行1時間後、2.5時間後、4時間後、5.5時間後の各状態における細胞運動の計測を行った。これは、増殖期から飢餓状態への移行過程における細胞運動の特徴づけを行うことから、細胞性粘菌の行動戦略の生理的意義や細胞内の反応経路変化、加えて細胞間揺らぎと細胞内揺らぎの関係やその変化に関する情報も探ることを目的としたものである。

実際の解析においては、上記計測で得られる多数の運動軌跡の時系列データ (Fig.1) を基に、統計解析、時系列解析を行っている。前者からは細胞運動の統計力学的考察が可能となり、後者からは重心運動の粗視化された動力学モデル (ランジュバン方程式型の記述) の同定が可能となる。

3 結果

得られた細胞運動軌跡の座標データを基に、まず平均自乗変位 (MSD) を計算したものが Fig.2 である。これより、増殖期から飢餓状態への移行全ての状態で $MSD \propto t^\beta$ かつ $\beta > 1$ ($\beta \simeq 1.4 \sim 1.65$) の領域が広く存在することが分かる⁴。そして、飢餓状態が進行すると、その指数 β と比例定数双方の値が大きくなっていく。即ち、細胞性粘菌は通常のブラウン運動に基づく粒子の拡散より直進性の高い異常拡散運動をしており、運動の直進性は飢餓状態の進行に伴い増大していくことが分かる。

²走電性も示すようになる。

³事実、細胞性粘菌では飢餓状態が進行すると、大量の細胞が集合して移動体 (多細胞体) を形成する。その際には、細胞は運動しつつ環境中の走化性物質 (cAMP) 濃度を検出し細胞間で相互作用を行うことで集合を実現しており、相互作用多体系の集団運動として興味深い対象である。

⁴ $\beta = 2H$ で H はハースト指数。通常のブラウン運動の場合、 $H = 0.5$ となる。

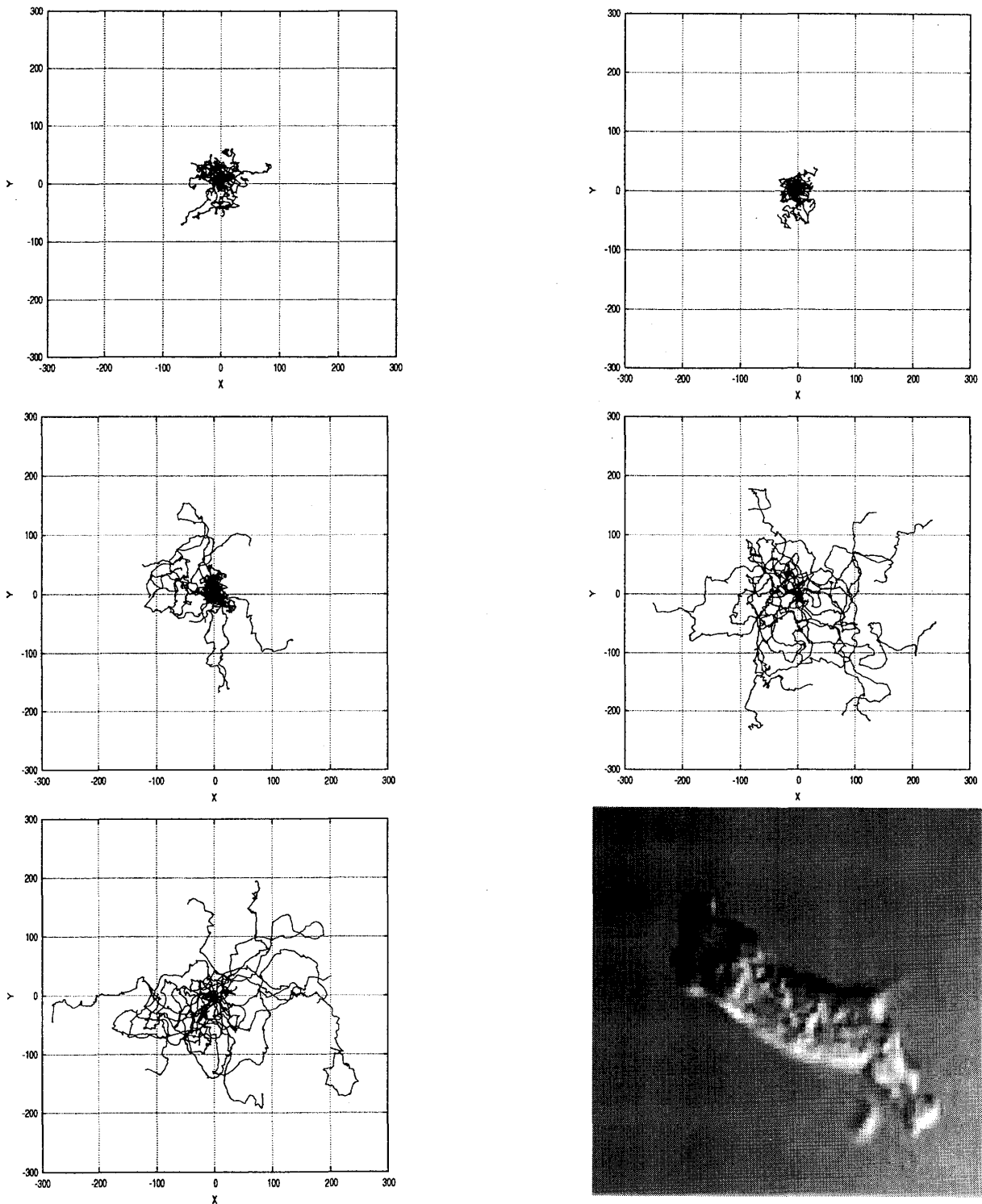


Figure 1: 細胞運動の軌跡と細胞性粘菌 (飢餓状態) の写真。左上から右下へ、増殖期 (0 時間と表記)、飢餓状態 1 時間後、2.5 時間後、4 時間後、5.5 時間後の細胞運動 40 分間の軌跡各 20 本を原点補正して示した。なお、細胞のサイズは長径方向で約 $20\mu\text{m}$ である。

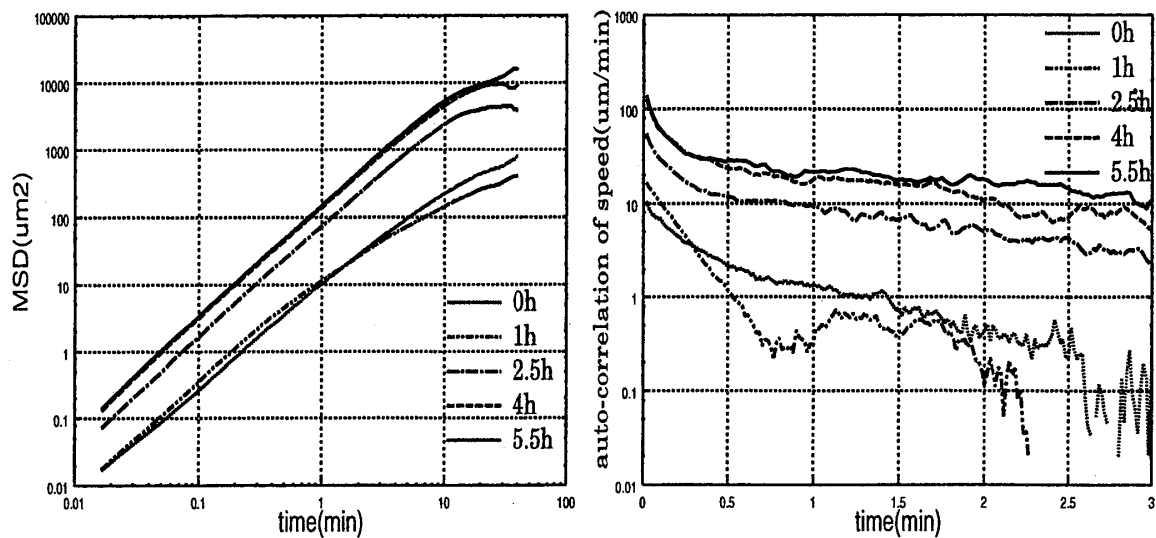


Figure 2: 左：平均二乗変位（両対数表示）。各飢餓状態時間ごとに、40 分間の運動軌跡を約 100 細胞分とり、その全データを使用し解析した。右：速度の自己相関。各細胞での 1 秒ごとの x 方向の速度の時系列を用い自己相関を計算し、多数の細胞での平均値を示した。

次に異常拡散の出現機構であるが、一般にレヴィ型 (fat-tail を持つ分布が起源) と相関型 (時間的あるいは空間的な長時間相関が起源) の二通りが考えられる。そこでその同定を行う為、粘菌運動の速度分布を計算した。短時間 (1 秒単位) で見た x 方向の速度の分布と、速さ (速度の絶対値) の分布を示している (Fig.3)。これより、増殖期の細胞は巾的な裾を持つレヴィ型の異常拡散をしているが (両対数表示をすればより顕著)、飢餓状態の進行に伴いその性質が失われていくことが分かる。また、通常のブラウン運動であれば運動の速さの分布は $P(v) = av \times \exp(-bv^2)$ (ガウス型; a, b は定数) に従うが、ここで得られた速さ分布はそれにはフィッティング出来ない、ということも確認した。さらに、運動速度の時間相関を解析してみると、飢餓状態の進行と共に、相関が増大し、特徴的時間スケールも増加することが見てとれる (Fig.2)。以上を踏まえると、増殖期の細胞性粘菌はレヴィ型の異常拡散をしているが、飢餓状態が進むと相関型の異常拡散に切り替わっていき、速度と共に運動の直進性や履歴が増大するということが言える。実際、細胞運動の短時間 (1 秒単位) 角度変化では、その運動の直進性の分布の変化 (バイアス) も見てとれる (Fig.4)。

そこで次に、細胞性粘菌の重心運動の粗視化された動力学モデルの同定を目指した解析を行った。まず細胞運動の短時間 (一秒単位) 速度と角度変化との相関関係を調べた (Fig.4)。その結果、計測した全ての条件下で、速度と角度変化との間に逆相関の関係が存在することが示された。これは即ち、細胞は運動速度が低い時に大きな方向転換を行う傾向があることを示しており、環境中での情報処理などに関連し、細胞の行動学的な意義もあると考えられる。さらにその逆相関の度合の時間的变化は、細胞極性の強度変化とも関連すると考えられる。またこの逆相関係自体は、細胞が 2 次元のブラウン運動をしていると仮定し、極座標表示の Langevin 方程式に従うとすると現れうるものであり [2]、細胞性粘菌の重心運動に対する粗視化記述の可能性を示唆していると言える。

そこでさらに、細胞の極性を踏まえ、運動方向に水平な方向とそれに垂直な方向双方での速度と加速度の関係、そして速度と揺らぎの関係を計算した。特徴的なものとして、増殖期の運動での解析結果と飢餓状態移行 5.5 時間後の運動での解析結果を示す (Fig.5)。

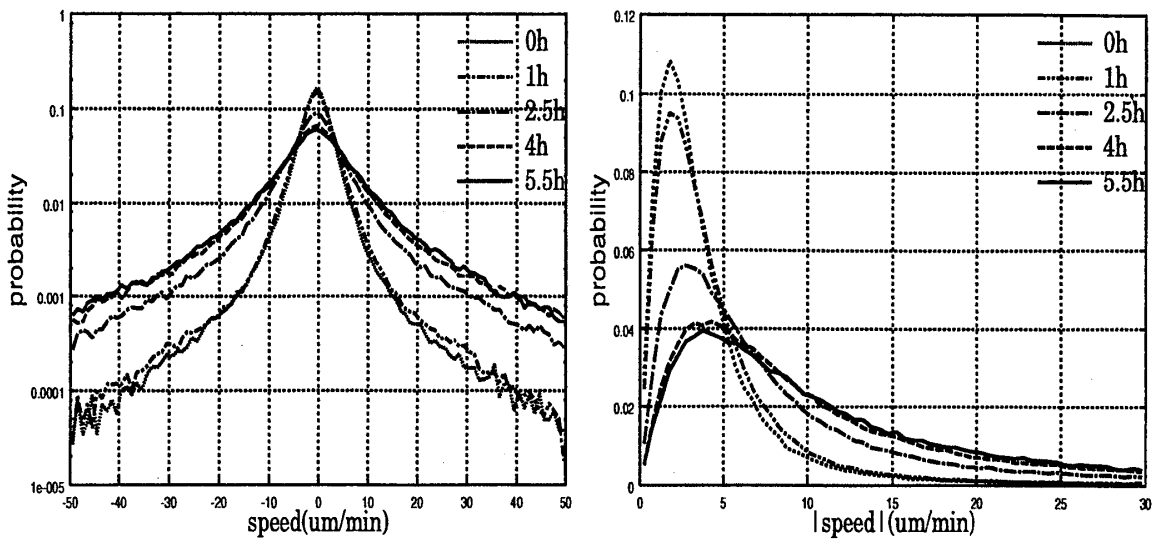


Figure 3: 左：x方向の速度の分布 (片対数表示)、右：速さ (速度の絶対値) の分布。速度は一秒間の短時間速度を分速表示した。

その結果、計測した全ての条件に対して、水平成分の加速度が持つ非線型な速度依存性、そして揺らぎが持つ速度依存性が明らかになった。これらと速度の時間相関の情報から、ランジュバン型の現象論モデルを割り当てることが可能である。特に増殖期の細胞運動では、速度揺らぎがベキ成分を強く持ち、特徴的な時定数を一つ持つ速度相関関数をしていることから、加算的ノイズと乗算的ノイズの積算系として、また飢餓状態の進行した細胞運動では、速度揺らぎが指数成分を強く持ち、特徴的な時定数を二つ持つ速度相関関数をしていることから、記憶項入りの系 [4] としてそれぞれモデル化の可能性がある（共にノイズ源はガウシアンホワイトノイズとした）。

なお通常のブラウン運動の場合は、速度と水平成分の加速度は粘性項の寄与により線型の速度依存性を持ち、また揺らぎは溶媒分子の熱揺らぎ起源の為、速度依存性を持たない。従って、上記の性質は細胞運動に特徴的な振舞いであると考えることが出来る。この非線型の速度依存性は、平均速度周辺に回帰し易い性質を反映していると考えられ、これも細胞行動学的な意義を考えることが出来るだろう。また揺らぎの項も細胞が自身の活動で動的に作っている寄与を見ていると考えられる。よって割り当てたモデルをデータに対してフィッティングすることで、モデル内のノイズ項、記憶項といった各項に対応するパラメータの値を推定し、それによって細胞性粘菌の運動について特徴的な情報を引き出せたり、またその運動変化の様子を、特定の少数パラメータによって記述出来る可能性もあり、今後詳しく検証していく予定である。

4 議論

ここでは細胞性粘菌を用い、増殖期から飢餓状態に移行する過程にわたって、その自発運動の特徴づけと変化の様子の概観を紹介した。その結果、全ての状態で異常拡散をしていること、増殖期の細胞はレヴィ型の異常拡散をしているが、飢餓状態の進行に連れて相関型の異常拡散に切り替わっていき、運動の速度、直進性や履歴が増大することが示された。そして、現象論的運動モデルを割り当てて、記憶項やノイズ項といった諸々の

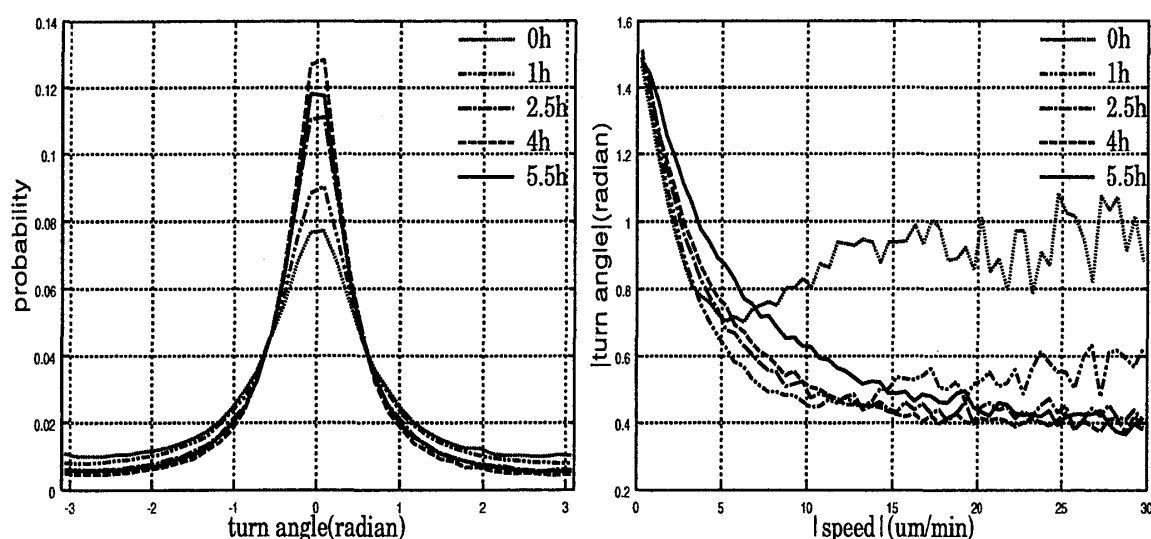


Figure 4: 左：角度変化の分布、右：速度と角度変化との相関関係。角度変化と速度は共に一秒ごとで計測して分布を作成した。

項の意味づけとその定量化が可能であることを議論した。

ここで明らかになった運動論モデルの切り替わりには、生理学的意義がある可能性がある。細胞性粘菌は増殖期においてはレヴィ的な異常拡散運動をすることによって、食餌行動にとって最適な行動をしているが [9]、飢餓状態が進行すると発生過程が進み集合状態に移行する必要性が生じ、その際には直進性の高い運動をして集合を促進出来る運動に切り替わっている可能性である。本研究を進めることでこのシナリオの是非も明らかに出来ると考えている。

今後としては、まず同一環境での細胞間揺らぎと細胞内揺らぎ、そして状態変化によるそれら自体の変化を定量化する必要がある。またその際、異常拡散を統一的に記述出来る統計力学的枠組である Tsallis 統計を用いた記述についても検討していく [8]。そこでは速度分布のフィッティングによって q パラメータの同定が可能であることから、細胞運動の一般化温度や一般化エントロピーといった有効状態量の割り当てが可能である。それらが細胞運動活性やセンシング能力を反映する指標としてどれほどの有効性を持つのかも検討して行きたい。

また、ここで議論した現象論的指標と、細胞性粘菌の情報伝達経路に関する理解とを結びつけていく為、今後は cAMP による走化性実験や走電性実験を行い、その際の粘菌の運動も議論していく予定である。また、走化性応答において反応経路のスイッチ的役割を担い、運動装置にも影響を持つ分子コンポーネントの変異体や、運動の変異体を用いて同様の計測と解析を進め、運動における揺らぎや記憶の発生源や、反応経路の切り替わり方、そしてその生理的意義についても考察を進めていく。これら入出力応答の解析は、自発運動を踏まえた上で、状態と機能の関係の同定を行っていく為にも必要なものである。その際には、生物システムに拡張された揺動応答関係という視点も踏まえて議論していく必要がある [3]。

上記を通じて、細胞運動やそこから抽出される統計的記述とセンシング能力との関係、そして揺らぎの積極利用やコントロールのメカニズムの存在について検討していきたい。特に、危機的状況に追い込まれた際に、細胞が示す状態変化能を検証することから、細胞の”柔らかな”情報処理メカニズムに迫っていきたい。実際、細胞性粘菌では飢餓状態の

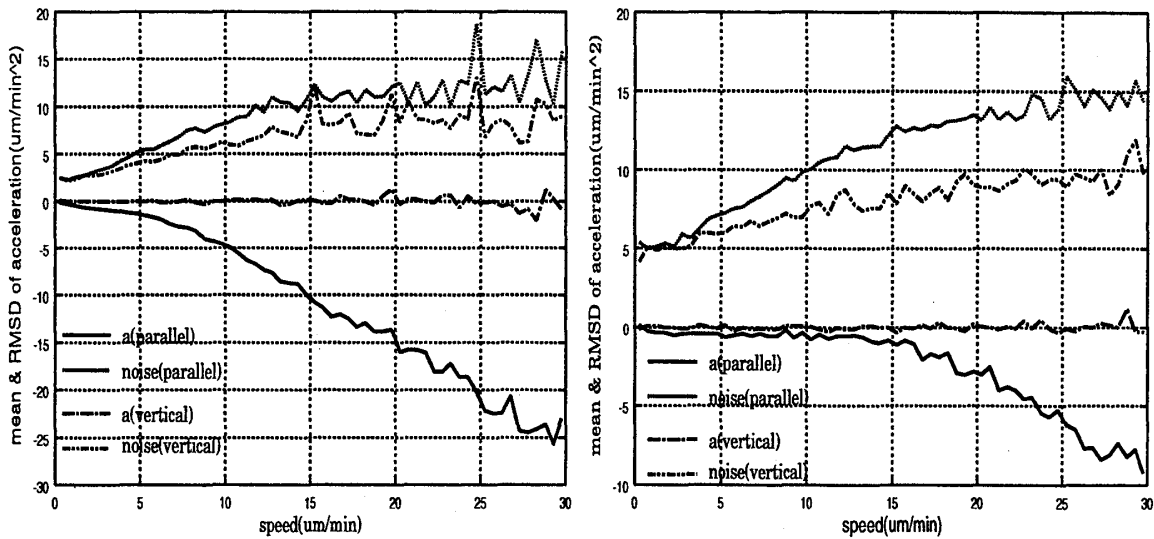


Figure 5: 速度と加速度、揺らぎの関係。運動方向に対して水平方向、垂直方向、双方の成分を示した。左：増殖期の運動、右：飢餓状態 5.5 時間後の運動。

進行と共に、その運動を司るダイナミクスが変化し、さらにここでは示していないが、その遷移過程において運動速度の細胞間、細胞内揺らぎが一端減少し（飢餓状態 1 時間後）、その後に増大する（飢餓状態 2.5 時間後）という傾向が見られる。これはそうしたメカニズムを生み出しうるシステムの可塑性のダイナミクスと比して示唆的である [7]。この様に、細胞性粘菌の飢餓状態への移行過程は、上記目的に有用な実験系であると我々は期待している。

References

- [1] Korobkova, E. et.al. (2004) *Nature* **428** 574-578.
- [2] Miyoshi, H. et.al. (2003) *Protoplasma* **222** 175-181.
- [3] Sato, K. et.al. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100** 14086-14090.
- [4] Selmeczi, D. et.al. (2005) *Biophys. J.* **89** 912-931.
- [5] Shibata, T. and Fujimoto, K. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102** 331-336.
- [6] Takagi, H., Sato, M. and Ueda, M. in preparation.
- [7] Takagi, H. and Kaneko, K. (2005) *Jour. Theor. Biol.* **234** 173-186.
- [8] Tsallis, C. et.al. (1995) *Phys. Rev. Lett.* **75** 3589-3593; Tsallis, C. & Bukman, D.J. (1996) *Phys. Rev. E* **54** R2197-R2200; Upadhyaya, A. et.al. (2001) *Physica A* **293** 549-558.
- [9] Viswanathan, G.M. et.al. (1999) *Nature* **401** 911-914.