

一般的な遊走細胞であるオオアメーバは、細胞遊走時に細胞の一部を変形させて仮足を形成する。そして、前方の基質と接着した後に自身を引っ張ることによって推進力を獲得することができる。つまり、遊走細胞は不規則な細胞形態の変形を繰り返すことによって前方へ進む。この運動をアメーバ運動と呼ばれる。それとは対照的に、魚類表皮細胞ケラトサイトは通常時に円形状の形態だが、細胞遊走を始めるときに半月状の形態に変形する。さらに、細胞遊走中はその半月状形態が維持される。この現象は、細胞の変形がケラトサイトの細胞遊走を実現するために重要な特徴であることを示唆している。しかし、半月状形態がどのように形成され、維持されるのかは明らかになっていない。本研究の目的は、細胞内メカニズムを考慮した物理シミュレーション実験により、ケラトサイトが半月状形態を形成、維持する細胞内メカニズムを解明することである。

先行研究では、細胞骨格であるアクチン分子が重合してF-actin を形成することによって細胞膜へ伸長することが報告されており、これが細胞膜の変形および細胞の推進力の原因として示唆されてきた。アクチン分子の重合には極性があり、F-actin の一定の端でしか起こらない。アクチン分子は、細胞の前方に多く集中しており、アクチン分子濃度が高い場所であるほど重合の効率が良いこともわかっている。重合が起こらない端では逆に、F-actin からアクチン分子が解離していく脱重合という現象が起こっている。また、細胞後部の左右に広がるストレスファイバーと呼ばれる部位がアクチン分子を引き戻すアクチンレトログレードフロー (ARF) も報告されている。ARF に関して、ストレスファイバーの方向へアクチン分子が引き戻される時に、アクチン分子の重合方向が調整される配向効果も報告されている。つまり、細胞遊走中のアクチン分子は、細胞膜を押すために重合と脱重合を繰り返して伸長しているが、ARF によって細胞後方へ引き戻されているということになる。さらに、ケラトサイトの核を取り除いた場合でも半月状が形成されることが報告されており、半月状形成が遺伝情報などではなく細胞膜の構造などの純粋な物理的要因によるものであることが強く主張されている。

本研究のシミュレーションでは、細胞膜は互いに相互作用する単純な粒子のネットワークによってモデル化され、初期条件として円柱形の表面に置かれた。各細胞膜分子は、隣接する分子から弾性力を受け、重合によって近づいてきたアクチン分子から反発力を受けると仮定した。また、アクチン分子は単純な棒によってモデル化され、重合および解重合はそれぞれ棒の一端の確率的伸びおよび他端の収縮によって表現した。初期条件として、アクチン分子は長さがなく、U 字型の領域にランダムに分布しており、各分子のアクチン重合の方向はランダムに決定した。ARF の効果に、アクチン分子は確率的にストレスファイバーに向かって移動し、その時に重合方向をARF の方向と揃うようなF-actin の回転を仮定した。全てのアクチン分子重合の方向はランダムに決定されるため、アクチン分子が真上や真下に伸長して細胞膜へ飛び出してしまうケースがある。そのような場合のために、ある条件に当てはまったアクチン分子を然るべきの位置へ移動させる再配置条件を設定する必要がある。そのためにまず、エリアの概念を導入する。シミュレーション空間のケラトサイトが接着している面を格子状に分割したエリアを作成する。そして、その分割したエリアごとにアクチン分子の密度を計算する。その密度の値が再配置条件で設定した閾値以下であった場合、そのエリアに存在するアクチン分子は全て細胞膜の近くへ再配置する。このエリアの所属情報は細胞膜-アクチン分子間の作用でも利用できる。近傍であ

ることを判定するために全分子の距離を計算すると計算量が膨大になるため、同一エリア内での分子同士でしか反応しないこととした。

シミュレーション実験の結果、上記のシミュレーション条件下でアクチン分子は半月状に凝集した。ARF の発生源の位置をSF からずらした場所に設定したり、もしくはARFがアクチン分子を引き戻す強さを弱めたりなど諸条件を変更すると、凝集したアクチン分子の分布が半月状の形状から遠ざかった。ARFの発生源をずらすということはアクチン分子がどの地点に向かって移動するのか、重合方向の回転の大きさが変わることになる。また、ARF を無くした場合ではアクチン分子が細胞膜が反応できずに細胞膜を突き出た。つまり、アクチン分子重合の方向調整をARF の方向と整列させることが半月形の形成に重要であり、そしてARF によるアクチン分子の凝集サイズ収縮を維持することが細胞膜の過度の拡大を防ぐことが示唆された。

アクチン分子が単純に重合と脱重合を繰り返すだけでは細胞膜を拡張させるだけなので、ブレーキの役割としてARF の作用が働いていると考えられる。だが、ARFが常に一定の力でアクチン分子を引き続けるとアクチン分子はある位置で停滞してしまう。ストレスファイバが初期状態からあるものではなく、脱重合によってF-actin から解離したアクチン分子と細胞後部に多く存在するミオシン分子が会合して形成されるアクトミオシンの束である。細胞前方でのアクチン分子のネットワークの形成が進むと同時に細胞後部のストレスファイバの形成がなされ、ARF の効果が発現すると考えられる。また、実験では、ストレスファイバーからの距離に依存せずに全てのアクチン分子を引き戻した場合の方が距離依存型ARF の場合よりも半月状に近い形態を形成した。場所によってARF の影響の大きさが異なった方がアクチン重合の細胞膜への影響に勾配が生じて、半月状の形態が形成されやすいかと思われたが結果は異なった。つまり、ARF がアクチン分子に与える影響は均等であることは前提として、アクチン分子が半月状に広がる要因は二つ考えられる。一つ目の説は、別の未発見の細胞内メカニズムによってストレスファイバから距離があるアクチン分子はARF の影響が薄くなり、結果的に横方向へ伸長するという説である。アクチン分子の重合とARF が釣り合ってアクチン分子がその場で停滞してしまう事象は全く別の要因で解決されているのではないかと考えた。二つ目の説は、ARF そのものの効果が時間が経つにつれて変化しているという説である。ARF のアクチン分子の影響が一定でないと仮定すると、アクチン分子がその場で停滞することはなくなる。また、アクチン分子を引き戻さずに重合方向の回転のみが行われたり、重合方向の回転をせずに引き戻しのみが行われる場合もある可能性もある。本シミュレーション実験の結果、距離依存型ARF では半月状形態の形成が距離非依存型ARF の場合よりも形が崩れたこと、ARF の強さを弱める、もしくは無くすとアクチン分子の重合が放射状に拡散して細胞膜を突き破ることから上記の二説を提案する。