

動きまわる人工細胞、その鍵は摩擦にあり

～細胞が狭い空間を利用して運動する仕組みを解明～

ポイント

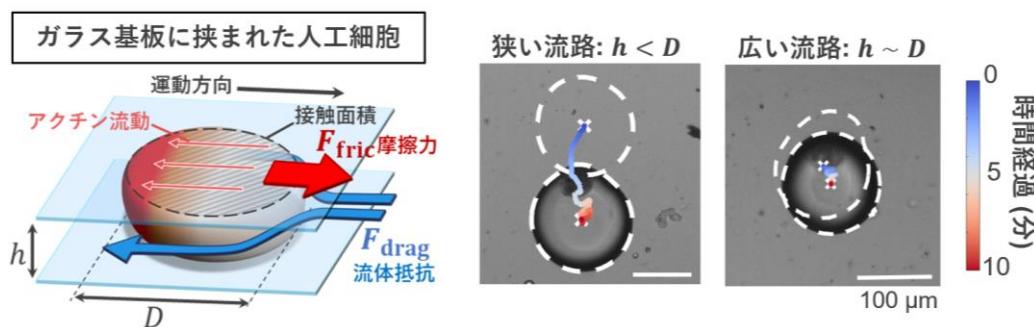
- ① 狭い生体組織内のガン細胞は、細胞内の収縮力を細胞外の組織に伝達することで移動していることが知られていたが、その力伝達の仕組みは細胞の複雑さのために未解明
- ② 生体組織内の細胞の動きを単純化した「人工細胞」^{注1)} を世界で初めて開発し、収縮力を生み出す細胞骨格と細胞膜の相互作用が力伝達を可能にすることを解明
- ③ 生体組織内の細胞運動の理解に応用し、ガン細胞の運動制御法の開発などへの応用が期待

概要

私たちの体の生体組織は細胞と細胞外基質から構成され、細胞間の隙間はコラーゲン線維などの細胞外基質で埋め尽くされた狭い空間です。この生体組織内を移動するガン細胞から白血球の運動に至るまで、単一細胞の自律運動では細胞内から細胞外への力伝達が不可欠です。そこでは、細胞内に網目状に張り巡らされたアクチン細胞骨格^{注2)}の収縮力が外部の基板に伝達され、細胞を前進させます。しかし、効率的な力伝達を可能にする仕組みは細胞の複雑さのため研究が困難でした。

九州大学理学院 前多裕介准教授、坂本遼太同博士課程学生（現：イェール大学 ポストドクトラルフェロー）、Ziane Izri 同学術研究員（現：ミネソタ大学 ポストドクトラルフェロー）らの研究グループは、京都大学白眉センター 宮崎牧人特定准教授、情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 島本勇太准教授らと共に、生体内を移動するガン細胞を模した、自律的に運動する「人工細胞」を開発し、力伝達の仕組みを初めて明らかにしました。本研究チームは、脂質膜に囲まれた液滴のカプセルにアクチンを閉じ込めて単純化した人工細胞を作成しました。この人工細胞を2枚のガラス板に挟むと、アクチンの流れが人工細胞の表面とガラス基板の間に摩擦力を生み、自律的に運動できることを世界で初めて発見しました。さらに、狭い空間に拘束された運動を記述する新しい理論モデルを構築し、界面摩擦力と流体抵抗のバランスで運動速度が決まることを解明しました。本研究により、効率的な力の伝達に不可欠な物理的要因を明らかにしたことは、生体組織内を運動する細胞運動の力伝達メカニズムの理解に貢献する成果です。今後、ガン細胞の転移を抑える方法論の開発の一助となり、狭い空間を移動するマイクロ・ロボットの設計などへの波及効果が期待されます。

本研究成果は、2022年7月20日（米国東部時間）に米国科学雑誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」で公開されました。



(参考図)

ガラス基板に挟まれた人工細胞の模式図（左）と、実際に運動している人工細胞を上から見た顕微鏡写真。破線は初期/最終位置の輪郭を示す。

【研究の背景と経緯】

細胞の自発運動は形態形成や創傷治癒、腫瘍転移に関わり、その運動原理の理解は物理学から生命科学に広がる重要な課題です。これまで、細胞が2次元基板上での接着と脱着の繰り返しで歩くように動く“接着型運動”について多くの知見が得られていました。しかし、近年、生体組織や微小流路などの狭い空間に拘束された細胞の新しい運動様態として、接着を介さずに自発運動する“非接着型運動”が注目を集めています（**図1 a**）。非接着型運動を行う細胞では、接着型運動のように強い接着点をはがす必要がないために運動速度が10倍程度速く、狭い空間を素早く移動できるという利点があります。ガン細胞から免疫細胞にいたるまで、生体組織内では様々な細胞がこの運動様式を採用していることが明らかにされてきました。非接着型運動の運動メカニズムの理解は、ガン細胞の運動抑制や免疫細胞の運動活性化につながることで期待されるため、近年活発に研究が行われています。

この非接着型運動で最も重要な役割を担うのは、細胞内に網目状に張り巡らされたアクチン線維と、そこに結合して収縮力を発揮するミオシン分子モーターの複合体から成る“アクチン細胞骨格”です（**図1 b**）。特に、非接着型運動を行う細胞の特徴的な能力は、細胞内で生み出されたアクチン細胞骨格の収縮力を細胞外へと伝える“力伝達”にあります。細胞内で生成された収縮力は生体組織などの周囲環境に伝達され、その反作用によって細胞は前進することができます。しかし、細胞が生体組織内の3次元的な拘束にさらされることで非接着型運動に転じるメカニズムや、接着を介さずに効率的な力伝達を行う力学的な原理はよくわかっていませんでした。これまでの研究では、生きた細胞内でのアクチンと細胞膜の相互作用の複雑さや、アクチンの収縮力活性を制御するシグナル伝達（生化学反応）などの副次的要因のために、力伝達に関わるアクチン細胞骨格の力学的な寄与のみを独立に調べるのが困難であることが課題となっていました。

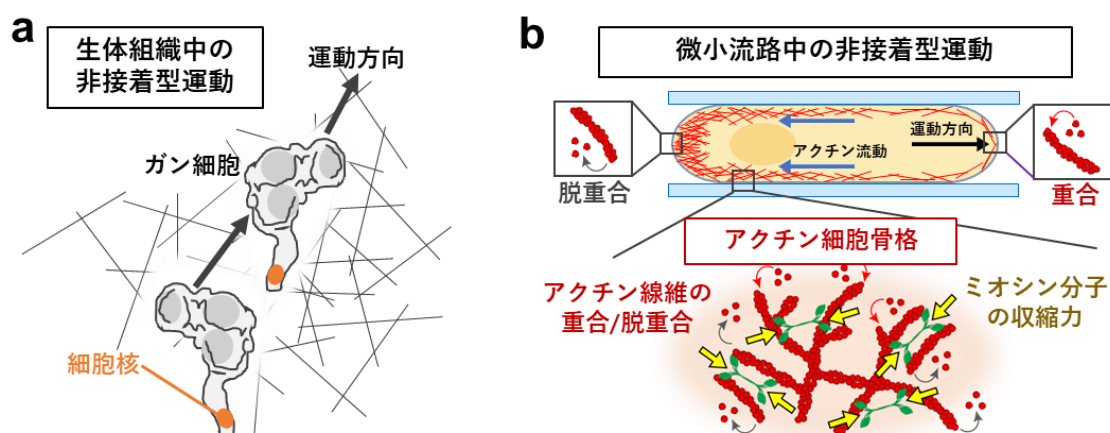


図1. (a) 生体組織中のガン細胞は非接着型運動によって運動を行う。(b) 微小流路などの3次元拘束下では、接着型運動から非接着型運動に転じ、アクチン細胞骨格の収縮力によって生じるアクチン流動と逆向きに細胞は前進することが知られている。アクチン流動はアクチン線維の重合と脱重合によって維持される。下はアクチン細胞骨格の模式図。

【研究の内容と成果】

本研究ではこれらの課題を克服し、細胞運動の駆動原理を実験的に探るべく、アクチン細胞骨格を含む細胞質抽出液を油中液滴（直径 50-400 μm ）に閉じ込め、油水界面にリン脂質膜を配列した人工細胞を構築しました（**図 2 a**）。この人工細胞を用いることで、アクチン細胞骨格の収縮力に由来する力学的な寄与のみを切り取り、力伝達の力学的メカニズムを調べることが可能になります。特に本研究では、細胞における力伝達に重要と考えられるアクチン細胞骨格と細胞膜の相互作用に着目し、アクチン細胞骨格と細胞膜の結合を促すリン脂質（ PIP_2 ）を加えることでアクチン細胞骨格を膜界面に局在しました（**図 2 a**）。すると、結合が強い箇所にアクチンが局在し、生きた運動性細胞に特徴的な“極性”の実現に成功しました（**図 2 b**）。さらに驚くべきことに、その極性方向にアクチンの流れが生じ、まるで生きた細胞のように自発運動を行う人工細胞を世界で初めて開発しました（**図 2 b,c**）。この人工細胞は、アクチンと膜の相互作用、膜の組成、外部基板との相互作用などを定量的に制御できるため、アクチン細胞骨格のみに由来する力伝達の力学的メカニズムや、3次元的な拘束下における自発運動の物理的性質を調べることが可能にします。

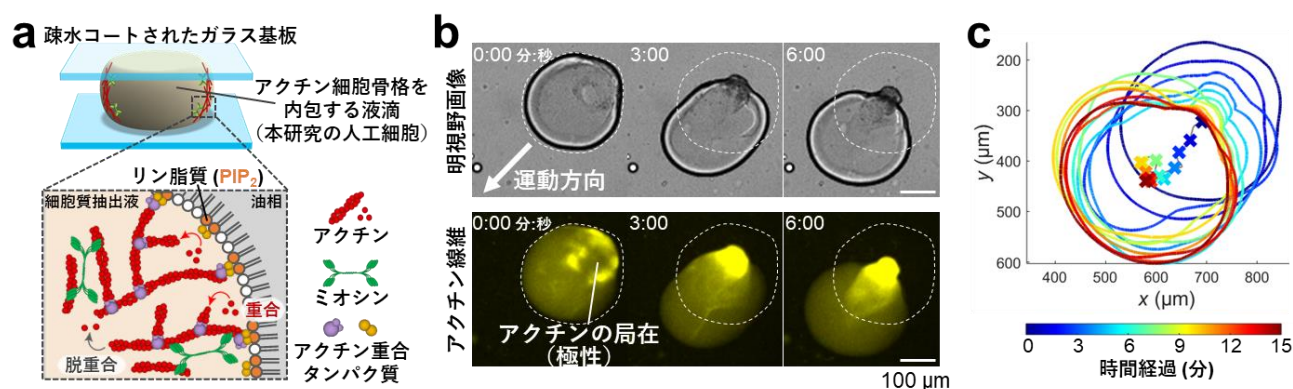


図 2. (a) 実験系を横から見た模式図。疎水コート基板で人工細胞を挟み込み、その運動を解析する。人工細胞内ではアクチン線維の重合/脱重合、ミオシンによる収縮力が発生する。(b) 自発運動する人工細胞を上から見た顕微鏡写真の時間経過。点線は初期位置における人工細胞の輪郭を示す。(c) 人工細胞の輪郭の時間経過の重ね合わせ。時間経過を異なる色で示す。×印は人工細胞の重心を表す。

そこでまず、この人工細胞を高さ 30-100 μm の微小流路に挟み込み、空間的な拘束下での運動を解析しました。実験の結果、人工細胞は微小流路の拘束条件下でのみ、活発な自発運動を行うことができることを明らかにしました（**図 3 a**）。人工細胞の膜界面と微小流路には特異的な接着がないため、非接着型運動によって液滴が移動したと考えられます。ではこのとき、細胞外への力伝達はどのようにして可能になるのでしょうか？この疑問に答えるべく、生きた細胞ではこれまで調べるのが困難であった、アクチン線維と膜界面の結合に着目しました。アクチン線維と膜界面の結合を介した力伝達を可視化するため、人工細胞の下側の基板上に蛍光ビーズを敷き詰め、そのビーズがアクチン細胞骨格の収縮に伴う流れによって輸送されるかどうかを調べました。その結果、アクチン線維と膜界面の結合がある場合にのみ、収縮するアクチン細胞骨格と共にビーズが移動することが分か

りました (図 3b)。この結果から、アクチン線維と膜界面の結合というシンプルな条件のみで、アクチン細胞骨格の収縮力が外部に伝達されるということを、世界で初めて実験的に示すことに成功しました。

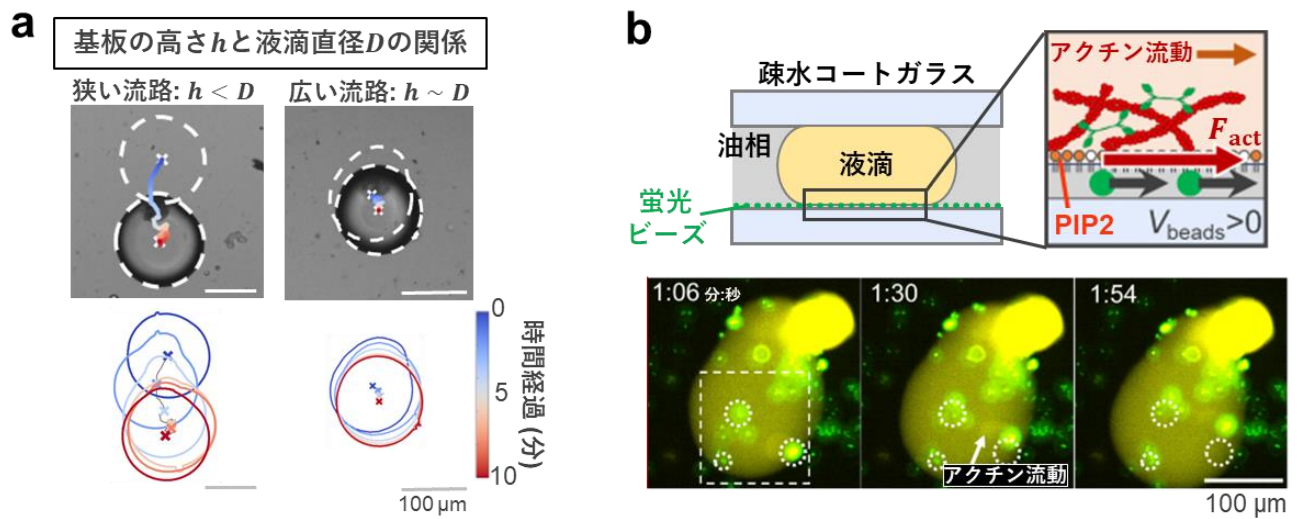


図 3. (a) 異なる高さの基板に、同程度の大きさの人工細胞を挟んだ場合の運動を上から見た顕微鏡写真。基板との接着面積が大きい場合にのみ長距離を運動することができる。(b) 基板への力伝達を可視化する実験系を横から見た模式図と、アクチン流動の方向に移動する蛍光ビーズの蛍光顕微鏡写真の時間経過 (上から見た画像)。アクチンと膜界面の結合がある場合にのみ、人工細胞の外側にある蛍光ビーズが移動する。

以上の結果を基に、人工細胞の運動速度はアクチン流動による界面摩擦力と周囲環境の流体抵抗のバランスで決まるというモデルを考案し、狭い空間に拘束された人工細胞の自発運動を記述する新しい理論モデルを構築しました (図 4a)。理論モデルの解析から、3次元的な拘束にさらされた人工細胞の形状 (基板の高さ h と人工細胞の直径 D の比率) によって運動速度が決まることが予測されました。この閉じ込めの形状による運動速度の増減を実験的に検証するため、基板の高さと人工細胞の大きさを系統的に変化させ、運動速度を調べました。解析の結果、基板に挟まれた人工細胞では接着面積の増加に伴い運動速度が増すことから、界面摩擦力が接着面積に比例して大きくなることがわかりました (図 4b, グラフの上図(i),(iii))。一方で、基板の高さが極端に低く狭い空間では運動速度が遅くなることを発見しました (図 4b, グラフの右図(ii),(iii))。この結果は、狭い空間ほど流体抵抗の寄与が大きくなり、人工細胞の動きが制限されることを意味します。さらに、これらの運動速度の変化が、考案した理論モデルと一致していることも示すことで (図 4b, 理論曲線)、非接着型の細胞運動を閉じ込めの形状によって制御できることを初めて明らかにしました。以上の結果は、狭い空間を移動するガン細胞などが受ける物理的制約についての理解を深めることに繋がると期待されます。

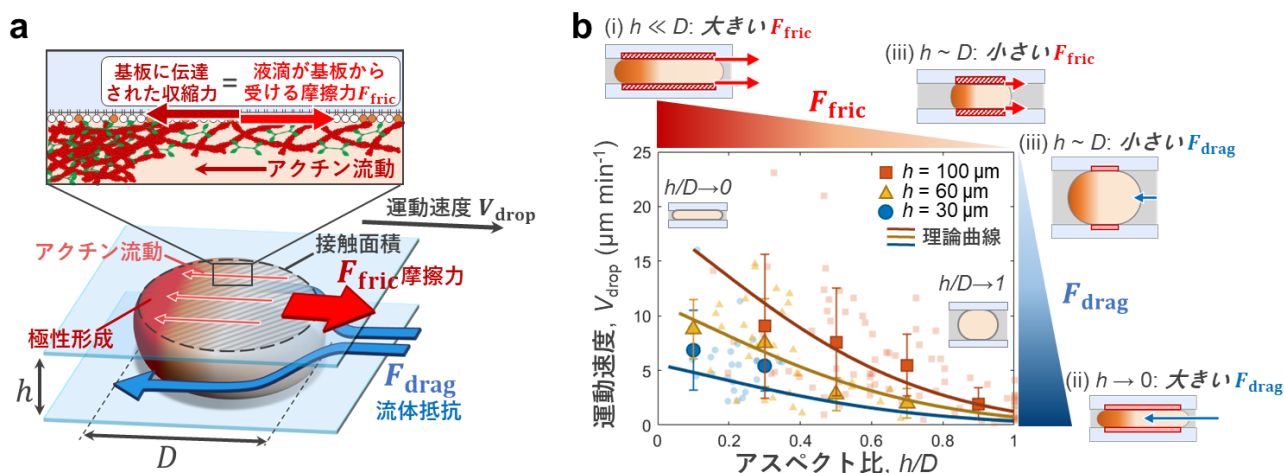


図4. (a) アクチン流動による界面摩擦と流体抵抗のバランスで人工細胞の運動速度が決まるモデル. (b) 基板の高さ h , 人工細胞の直径 D を変化させたときの運動速度の閉じ込め形状への依存性. 2つの長さの比 (アスペクト比) である h/D が1よりずっと小さい人工細胞は扁平な形, h/D が1に近い場合は球形をしている. 同じ高さでは, 図の右から左に向けて液滴の直径が大きくなることで摩擦力が増加し, 運動速度が増加する. 図の上から下にかけて, 基板の高さが低くなることで流体抵抗の寄与が大きくなり, 運動速度が減少する.

【今後の展開】

本研究では, 単純化した人工細胞モデルを開発することで, 力伝達には (i) アクチン-膜結合および (ii) 基板との物理的接触の二つの要素が必要であることを示し, 効率的な力の伝達に不可欠な物理的要因を明らかにすることができました. この単純化された人工細胞は, 非接着型の細胞運動における力学的側面の探究に最適なプラットフォームになると期待されます. 非接着型運動の運動効率を決める物理的要因を明らかにすることで, ガン細胞の運動性を抑制し, 逆に免疫細胞の運動性を活性化させるなど, アクチン流動によって駆動される細胞運動を制御する方法論の開発の一助となることが期待されます.

本研究の特色として, 細胞運動に不可欠な極性形成と力伝達が, 生化学的シグナル伝達や特定の接着タンパク質の助けを借りずに, 膜界面に結合されたアクチン細胞骨格の自己組織化のみによって実現できることを示した点が挙げられます. また, これまでの人工細胞研究では, 膜界面とアクチン細胞骨格の相互作用が見過ごされてきました. 本研究では細胞運動のような一見複雑に見える現象が, アクチンと膜界面との結合という単純な相互作用から生じ得るということを示したという点で意義深く, アクチン細胞骨格の収縮現象を記述するアクティブ・ゲル物理学から細胞生物物理学にわたるまで広くアクチン細胞骨格の物理的理解を発展させるものです. 本研究で得られた理解は, 細胞が周囲環境を巧みに利用しながら自律的に動作する原理の解明に貢献するだけでなく, バイオミメティクス (生物模倣) 工学における設計原理の開発などへの波及効果が期待されます.

【用語解説】

(※1) 人工細胞

生きた細胞から「部品」となる構成要素を取り出し、それらを細胞サイズの油中液滴などに封入することで単純化したもの。人工細胞を用いることで、細胞内のタンパク質の種類と濃度、細胞サイズ、膜の組成を定量的に制御することができる利点がある。

(※2) アクチン細胞骨格

細胞の変形や運動など、細胞内の力生成の多くをアクトミオシン細胞骨格が担う。アクチン細胞骨格は主として、重合と脱重合によって長さが変わる二重螺旋状のアクチン線維と、そこに結合し ATP（アデノシン三リン酸）を消費して収縮力を発生するミオシン分子モーターから成る。その他にも種々の架橋タンパク質や重合/脱重合タンパク質が関わることで、生体内の多様な力学を担っている。

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 JP18H05427, JP20H01872, JP21K18605（研究代表者：前多裕介）、JP19J20035（研究代表者：坂本遼太）、JP 19H05393（研究代表者：宮崎牧人）、JP19H03201, JP20K21404（研究代表者：島本勇太）、Human Frontier Science Program 研究グラント（RGP0037/2015, 研究代表者：前多裕介）、JST 戦略的創造研究推進事業さきがけ（JPMJPR20ED, 研究代表者：宮崎牧人）、京都大学白眉センター（研究代表者：宮崎牧人）の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

タイトル：Geometric trade-off between contractile force and viscous drag determines the actomyosin-based motility of a cell-sized droplet

（収縮力と粘性抵抗の幾何学的バランスがアクトミオシンによる細胞サイズ液滴の運動性を定める）

著者名：Ryota Sakamoto, Ziane Izri, Yuta Shimamoto, Makito Miyazaki, and Yusuke T. Maeda

D O I : <https://doi.org/10.1073/pnas.2121147119>