

様式 C-7-1

令和元年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	稲垣 直之		

1. 研究種目名 基盤研究(B)(一般) 2. 課題番号 19H03223

3. 研究課題名 新しい細胞内分子輸送機構アクチン波による細胞の先端端形成と移動の解析

4. 研究期間 令和元年度～令和3年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

本研究では、「アクチン線維がいかにして細胞内で局所的に自己組織化をして細胞移動を引き起こすことができるのか」を、我々の研究グループが最近明らかにした「アクチン波」の移動の分子メカニズムとその特徴的な挙動から解明することを目指す。本研究では、異分野融合型の研究に基づいて、自発的な細胞移動と走化性の発生源に迫る。具体的には、「アクチン波による細胞のかたちの制御」と「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」からなるポジティブフィードバックループの検証を行うことで、アクチン線維の自己組織化と細胞移動の仕組みに迫る。

当初は好中球に分化をさせたHL60細胞を研究材料として用いる予定だったが、HL60細胞がアクチン波の移動に関与する細胞接着分子L1-CAM発現しないことがわかったため、L1-CAM発現するU251グリオーマ細胞を実験材料として用いることにした。本年度は、まず、U251細胞の培養基質にマイクロパターンを加工することにより、細胞の形態を自由に変形させる技術の確立を目指した。具体的には、レーザー加工技術を用いてガラス上に三角形のラミニンのマイクロパターンを施し、そこにU251細胞を培養することで、U251細胞の形態を三角形に変形させることに成功した。

また、アクチン波の構成成分であるアクチン線維とシューティンの局在を調べたところ、興味深いことにアクチン線維とシューティンが三角形の頂点に濃縮することがわかった。さらに、HaloTag-actinを発現させたU251細胞のライブイメージングによって、アクチン波がU251細胞の三角形の辺に沿って移動をし、頂点に向かってダイナミックに濃縮する様子を観察することができた。以上の研究結果は、「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」を示唆する重要な知見である。

7. キーワード

細胞移動 極性形成 アクチン波 シューティン フィードバックループ

8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
本年度は、本研究の基盤技術である細胞の形態を自由に変形させる技術の確立に成功した。また、この手法を用いて、U251グリオーマ細胞の形態を三角形に変形させたところ、アクチン波の構成成分であるアクチン線維とシューティンが三角形の頂点（突き出した部位）に濃縮することがわかった。さらに、ライブイメージングによって、アクチン線維がダイナミックに細胞の突き出した部位に濃縮する過程を可視化することができた。以上の研究結果は、本研究で証明を試みる「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」を示唆する重要な知見である。したがって、本研究はこれまでのところ順調に進んでいると考えられる。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

本年度の研究から、アクチン波がU251細胞の三角形の辺（細胞端）に沿って移動し、頂点（突き出した部位）に向かってダイナミックに濃縮することがわかった。この結果は「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」すなわちアクチン線維が細胞の突出した部位に濃縮する仕組みを明らかにするための重要な端緒となると考えられる。そこで、HaloTag-actinと全反射顕微鏡を組み合わせてアクチン分子の1分子解析（Katsuno et al, Cell Rep, 2015）を行い、アクチン波がU251細胞の細胞端に沿って移動する際のアクチン線維の挙動（重合・脱重合及びその方向性）を解析する。
我々は、これまでに、神経軸索に沿ったアクチン波の移動にシューティンが重要な役割を果たすことを見出ししてきた（Katsuno et al, Cell Rep, 2015）。そこで、U251グリオーマ細胞のシューティンをノックアウトし、U251細胞の三角形の辺に沿って移動するアクチン波の移動速度を解析する。
また、シューティンは細胞接着分子L1-CAMと相互作用することでアクチン波移動のための駆動力を生み出すと考えられる。そこで、シューティンとL1-CAMの連結を切るドミナントネガティブ体（Baba et al, eLife, 2018）を発現させてU251細胞の三角形の辺に沿って移動するアクチン波の移動速度を解析する。
以上の研究を通じて、「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」を、アクチン線維とシューティンの細胞内動態を視点として明らかにする。そしてさらに、「アクチン波による細胞のかたちの制御」と「細胞のかたちによるアクチン波の挙動の制御」からなるポジティブフィードバックループの検証を行うことで、アクチン線維の自己組織化と細胞移動の仕組みに迫る。

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 稲垣直之	4. 巻 91
2. 論文標題 Shootin1による細胞-基質間の力の発生を介した神経細胞の細胞移動、極性形成、軸索ガイダンスおよびアクチン波	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 159-168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 嶺岸卓徳、稲垣直之	4. 巻 Vol.38 No.7
2. 論文標題 神経細胞の移動と軸索ガイダンスのメカノバイオロジー-Shootin1によるクラッチ連結が生み出す推進力の発生機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学増刊「疾患に挑むメカノバイオロジー」	6. 最初と最後の頁 113-120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kazunori Okano, Kio Yagami, Kentarou Baba, Kouki Abe, Naoyuki Inagaki, Hiromi Hagiwara and Yoichiroh Hosokawa
2. 発表標題 Microfabrication of Glass-supported Thin Polymer Film for Arranging and Networking Live Cells by Femtosecond Laser Processing
3. 学会等名 TOIN International Symposium on Biomedical Engineering 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kentaro Baba, Yoshikazu Nagashima, Mizuki Sakai, Yasuna Higashiguchi, Hiroko Kanbe, Naoyuki Inagaki
2. 発表標題 Shootin1b-mediated chemotaxis mechanism in dendritic cell
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室
<https://bsw3.naist.jp/inagaki/>