

**【目的】** 癌細胞が遊走性を獲得する機序として、上皮間葉転換現象 (Epithelial mesenchymal transition : EMT) 以外にも、ブレブと呼ばれる特徴的な細胞膜構造を形成しながら運動するアメーバ運動 (Amoeboid Movement) が挙げられる。ブレブを用いた細胞運動は、細胞性粘菌や単細胞アメーバの運動において観察されていたが、脊椎動物ではゼブラフィッシュの始原生殖細胞がブレブを用いて運動することが記載されて以降、様々なヒトの癌細胞がブレブを形成して運動することが報告されるようになった。ブレブは、細胞膜と細胞骨格が脱離することによって生じる細胞膜の突出構造である。ブレブの分子機構や、細胞膜と細胞骨格の相互作用がどのような分子群によって制御されているかについては明らかになっていない。我々は、ヒト大腸癌由来 DLD1 細胞を I 型コラーゲンの上に播種すると顕著にブレブを形成し運動性を獲得することを見出した。本研究課題において、この実験系を用いてブレブの形成・退縮に関わる新規分子の探索、我々がこれまでに見出したブレブの形成機構に関する知見に基づく数理モデルの構築や、癌細胞が低酸素応答に伴ってブレブによる運動性を獲得する分子メカニズムの解明を試みた。

**【方法】** 本研究では、いくつかアプローチによってブレブの分子機構の解明を行った。一つには、DLD1 細胞に GFP タグを付けた遺伝子のライブラリーを発現させて、1 クローンずつライブイメージングで観察することで、ブレブの形成・退縮に伴い興味深い動態を示す分子の探索を行った。二つ目には、我々がこれまでに見出したブレブの形成メカニズムに基づいて、ブレブの動態を記述する数理モデルを構築し、その実験的検証を行った。三つ目には、低酸素応答に伴ってブレブによる遊走性を獲得するマウス肺癌由来の 4T1 細胞を用いて、ブレブの形成を抑制する化合物の探索を行った。

**【結果】** DLD1 細胞に GFP タグの遺伝子ライブラリーを発現し、ブレブの形成・退縮過程における挙動を観察したところ、拡大中のブレブの細胞質にのみ濃縮する分子を同定した。このタンパク質は拡大中の細胞質に濃縮し、退縮時には細胞質の濃度が減少に転じる。細胞質は均質な溶液であるというこれまでの定説と異なり、拡大中のブレブは他の細胞質領域とタンパク質の組成が異なることが示唆された。また、ブレブを形成した細胞において、細胞質の流動性を調べたところ、急速に細胞膜が変形し拡大する拡大期のブレブの細胞質では他の細胞質領域に比べて流動性が上昇していることが明らかになった。このことは、ブレブの拡大時に、細胞質の流動性を上昇させる制御機構が存在することを示唆している。また、これまでに我々の明らかにしたブレブの分子機構に着目した数理モデルの構築を行い、低分子量 G タンパク質の Rnd3 と RhoA 間の Double negative feedback loop がブレブの形成・退縮の中心的なメカニズムであることを検証した。最後に、低酸素環境下でブレブを形成して浸潤性を獲得する肺癌由来細胞 4T1 細胞を用いて、化合物ライブラリースクリーニングを実施し、ブレブによる運動性を抑制する化合物を複数同定した。

#### 低酸素環境下における癌細胞のアメーバ運動

