

論文内容の要旨

申請者氏名 藤川 良祐

細胞は移動や変形をする際に、様々な物理化学的な外部刺激を感知し、基質に対して方向性を持った機械的力を生み出す。ゆえに、細胞移動の原理を解明するため細胞が生み出す力を推定する研究がなされた。最も利用される方法は、細胞によって変形された培養基質から細胞の力を逆算する Traction Force Microscopy (TFM) である。TFM は、基質表面に埋め込んだ蛍光ビーズの位置を計測するため、基質の変形を部分的にしか計測できない。一部の基質の変形から全域にわたって力を推定するこれまでの推定方法は基質の応力を推定している。細胞が生み出す力が局所的であっても、基質は広い範囲で変形することでその細胞の局所的力とつりあう。細胞運動を理解する上で必要な力はこの局所的な力である。しかし、細胞が生み出す局所的な力を推定するアルゴリズムは未だ存在しない。

本研究は、生物学的知見に基づき、力が細胞領域内だけで発生すること、および力が細胞内向きに発生しやすいことを制約条件として導入した力推定を行った。本手法の有効性を示すため、HT1080 細胞の形状を用いた細胞モデルと、細胞の力で変形する基質モデルを用意した。モデル細胞内に比較的ランダムに配置した力でモデル基質を計算機上で変形させ、その変形をランダムにサンプリングし、力推定を行った。本研究で開発した推定法と先行研究の推定法で精度を比較した。その結果、本研究の推定法は従来のそれと比較して、蛍光ビーズの配置に対して頑健であること、細胞形状が複雑であるほど精度が良いこと、特に低密度の蛍光ビーズの条件で精度が良いことが分かった。また、従来法が力を 20%程度に過小評価をするのに対し、本研究の手法は 50-90%の過小評価に抑えられることが分かった。

続いて、神経成長円錐、ケラトサイト、細胞性粘菌の TFM 画像に本研究手法および従来手法を適用したところ、本研究の手法がより生物学的知見に合う力を推定した。本手法で推定した力を用い、細胞骨格から細胞外基質への力の伝播に関する解析を行った。神経成長円錐の細胞膜はアクチンフィラメントを内側に押し、膜上タンパク質 L1 を介して細胞外基質に伝達される。この過程を力学法則に基づいて定式化した。定量的なモデル選択のために、本手法で推定した力を利用し、アクチンフィラメントや L1 の加速のしやすさや、アクチンフィラメント、L1、細胞外基質が互いの速度差に応じて相互作用する強さなどを同定した。数理モデルの理論的な解析により、アクチンフィラメントや L1 の流動が遅くなると、基質に大きい力が伝わることを確認したほか、力が伝達するまでにかかる時間を推定した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 藤川 良祐

細胞を含めた如何なる物質も機械的力を用いて変形を行う。作用反作用の法則は力学の基本法則であるが、細胞運動においては細胞と基質の接触部において成立する法則である。接触部分における力の生成過程は細胞と基質において異なる。細胞は細胞骨格を用いて局所的に力を生成するのに対し、基質は力が及ぶ範囲を歪ませることで応力を発生し反作用力とする。したがって、基質の歪みだけでは正確な力を推定することができない。力の情報を豊富に含む細胞形状を力推定に用いることが重要である。しかし、細胞形状は任意性が高いため数学的な記述が極めて困難である。従来の研究が基質の歪みのみから力を推定してきた理由は細胞形状の導入の難しさにあった。

本研究の最大の新規性は、力推定に細胞形状のバイアスを数学的に導入可能にしたことである。どのような細胞形状に対しても妥当な内向きの力を定義可能にした。これにより細胞が生成するであろう力の事前分布を導入可能とし、基質の歪みを生成するモデルを用いた尤度を計算することで、ベイズ推定の枠組みで細胞の力推定の精度向上を可能にした。いくつかの改善点が必要であるものの、困難さゆえに未解決のままだった問題の解決の糸口を提示したことは非常に意義のあることである。推定結果においては、従来の手法が力推定を大きく過小評価し、本研究の手法の過小評価が抑えられることを示した。この結果は、細胞の力が広い範囲で基質の歪みに変換される事実を反映するものであり、本研究の手法の妥当性を示すものである。牽引力顕微鏡で計測された基質の歪みに対して本研究の手法を適用した結果は、正解の力が不明なため評価は難しいが、いくつかの間接証拠に基づく評価においては本研究の推定結果が妥当であることを示している。今後、本研究の手法の発展系が期待され、力推定の精度向上とメカノバイオロジー分野での応用が大いに期待できる。

後半の研究は、力推定の結果の応用例であり、細胞内で生成した力を細胞外に伝達する効率を解析したものである。これまでこのような力の伝達効率に関して定量的に解析された研究はなく、新規性の高いものである。細胞骨格で発生した力は複数の段階を経て細胞外に伝達され、それぞれの段階が複数の異なる細胞走性に関わる。本研究の結果は2つの伝達効率について評価したものであり、実験データを追加することで、3つの細胞走性を統合できる可能性を秘めている。

以上のように、本論文は細胞運動における力の推定に貢献するもので、学術上および応用上で貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士(理学)の学位論文として価値あるものと認めた。