

**医学奨励賞 2019 –がん領域–**
**研究成果報告書（追加助成）＜概要＞**

<b>所 属</b>	九州大学理学研究院
<b>氏 名</b>	池ノ内順一
<b>研究テーマ</b>	がん細胞の運動メカニズムの解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
（図表、写真などの貼付を含む）

**研究目的**

近年、がん細胞が生体内を浸潤、転移する際の運動様式として、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）の関与が報告されている。ブレブを用いたアメーバ運動は、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、様々ながん細胞がブレブを形成して運動することが報告されている。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が、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。私は、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。本研究において、私はブレブを用いた細胞運動の分子メカニズムの解明を試みた。

**研究方法**

ヒト大腸がん由来 DLD1 細胞は、Type I Collagen 上に播種すると、ブレブを形成して運動することを私たちは以前に報告した（Aoki et al. *PNAS* 2016）。ブレブの形成・退縮の分子機構は殆ど明らかになっていない。先行研究において、私たちは、ブレブの拡大期に低分子量 G タンパク質の一つ Rnd3 が形質膜にリクルートされることを見出し、ブレブの形成・退縮の分子機構の解明の端緒を開いた（Aoki et al. *PNAS* 2016）。本研究では、GFP を融合させた遺伝子ライブラリーを発現することによって、拡大期及び退縮期のブレブにおいて興味深い挙動を示す分子の探索及び機能解析を行った。また、DLD1 細胞で得られた知見が他のがん細胞のブレブによる運動においても観察されるかを確かめるために、異なる実験系を立ち上げた。マウス肺がん由来 4T1 細胞を Matrigel 内で腫瘍塊を形成させた後、低酸素条件下で培養すると、細胞は接着を失い、ブレブを形成して遊走性を獲得することが知られており、この実験系を用いてブレブの観察を行った。

**研究成果**

本研究においてがん細胞のライブイメージング観察を通して、ブレブ形成時における細胞の変形が、アクチンフィラメントが豊富で流動性の低い“ゲル”状の細胞質から、アクチンフィラメントが脱重合し流動性の高い“ゾル”状の細胞質への性質の変化により引き起こされることを見出した。さらに、ライブイメージングによる局在スクリーニングにより、アクチン重合促進分子 Mena を始めとした複数の分子が、ブレブ拡大時の細胞質にのみ特異的に濃縮することを見出した。これらの結果は、拡大中のブレブ内の細胞質の流動性が高く、また、タンパク質の組成もそれ以外の細胞質とは質的に異なることを示唆している。さらに、細胞質のカルシウムイオン（Ca<sup>2+</sup>）濃度のプローブである GCaMP を用いたライブイメージングから、ブレブ拡大期の細胞質で Ca<sup>2+</sup>濃度の急激な上昇が起こっていることを見出した。また、これらの局所的な細胞質領域における Ca<sup>2+</sup>濃度の増加を阻害することで、DLD1 細胞、4T1 細胞のアメーバ運動を抑制できることを見出した。これらの成果を論文として報告した（Aoki et al. *Nat Comm* 2021）。

## 医学奨励賞 2019 -がん領域-

## 研究成果報告書（追加助成）＜発表実績/予定一覧＞

所 属	九州大学理学研究院
氏 名	池ノ内順一

## 1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 論文 PDF 添付ありとなしに分けてリストを作成のこと。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

## ① &lt;論文 PDF 添付あり&gt;

1	Matsuzawa K, Ohga H, Shigetomi K, Shiiya T, Hirashima M, <u>Ikenouchi J.</u> "MAGIs regulate aPKC to enable balanced distribution of intercellular tension for epithelial sheet homeostasis" <i>Commun Biol</i> 4(1):337. 2021 査読有
2	Aoki K, Harada S, Kawaji K, Matsuzawa K, Uchida S, <u>Ikenouchi J.</u> "STIM-Orai1 signaling regulates fluidity of cytoplasm during membrane blebbing" <i>Nat Commun</i> 12(1):480. 2021 査読有
3	
4	

## ② &lt;論文 PDF 添付なし&gt;

1	
2	
3	

様式 4-3②

<b>2. 学会発表実績</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1		
2		
3		
4		
<b>3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める）</b>		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		