

令和6年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		癌細胞における細胞極性関連因子 RhoGEF の機能解析		
新規・継続の別		新規・継続		
研究代表者	所属	藤田医科大学・医学部・情報生命科学	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	准教授・国田 勝行		
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属		/	/
	職名・氏名			
	所属		/	/
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	教授・茂木文夫、講師・西村有香子		
概要 (100～150字程度)		RhoGEF の一つである GEF-H1 は、細胞変形においてアクチン骨格および微小管の制御因子として知られている。本研究では、GEF-H1 の生細胞イメージングデータに基づき、その時空間動態および細胞変形との時間順序関係を定量化するためのデータ解析プラットフォームの構築に取り組んだ。		
研究目的 (300字程度)		癌細胞はアメーバのように形態を自在に変えながら運動し、原発巣から離れて遠隔転移と生着を引き起こす。アクチン細胞骨格は細胞移動の機動力を生み出し、その際には極性を持った配向が見られることが知られている。この極性の維持には、別の細胞骨格である微小管が重要な働きを担う。一方で、アクチン骨格と微小管の相互作用とその制御機構には、未解明な点が多く残されている。本研究では、アクチン細胞骨格の活性化分子である低分子量 G タンパク質 Rho ファミリーの活性が微小管を制御する分子メカニズムの解明を目的とする。特に、Rho ファミリーの活性化因子であり、微小管への結合が知られている RhoGEF の一つ GEF-H1 に着目し、その時空間的制御機構を明らかにする。		
研究内容・成果 (1000字程度・Web 会議の回数も記載)		本研究では、細胞辺縁付近における GEF-H1 の時空間動態を定量化するために以下の2つの研究に取り組んだ。 1) 時空間動態を定量化するための画像解析手法の構築 ：本研究では、受け入れ研究で取得された GEF-H1 の生細胞イメージングデータに基づいて、時空間動態を定量化するための画像解析手法を開発した。まず、GEF-H1 の蛍光画像に対して二値化処理および形態学的処理（クロージング処理とオープニング処理）を実施し、細胞体のマスク画像を作成した。次に、このマスク画像から細胞輪郭情報を抽出し、その座標情報を GEF-H1 の蛍光画像に転写することで、細胞辺縁部における両		

	<p>分子の蛍光強度を抽出した。さらに、細胞輪郭のフレーム間差分を定量化することで、細胞エッジ速度を算出した。これらの解析により、細胞辺縁部における細胞エッジ速度と GEF-H1 の蛍光強度の時空間的变化をヒートマップとして可視化及び定量化した。</p> <p>2) 分子活性と細胞変形の時間順序関係の定量化：特定の細胞変形に対応した分子活性の時間ダイナミクスを抽出するため、細胞エッジ速度および GEF-H1 の時空間ヒートマップに対して、研究代表者が以前に開発した MTA (Motion -Triggered Average) 法を適用した。MTA 法では、はじめに細胞端部のエッジ速度ヒートマップから代表的なエッジ速度パターン (拡張、退縮、加速、減速、定速) をスクリーニングし、それぞれのパターンでラベル付けを行う。次に、各速度パターンに基づいて該当する分子活性データを抽出・集約し、エッジ速度および分子活性の時系列データを平均化することで、代表的な動態パターンを導出する。MTA を適用した結果、すべての変形パターンにおいて、エッジ速度と GEF-H1 の時間的变化パターンが逆相関することを定量的に示した (例えば、細胞エッジ速度が持続的に減速する場合、GEF-H1 はエッジ速度に対して、マイナス 0.9 以上の負の相関係数を示しなら持続的に増加する)。さらに、細胞変形と GEF-H1 との時間的な順序関係をより詳細に評価するため、相互相関解析を実施した。その結果、定速パターンを除くすべての変形パターンにおいて、GEF-H1 の応答タイミングはエッジ変形とほぼ同時であることを定量化した。今後はより長時間スケールでのエッジ速度パターンに基づく MTA の適用を検討している。</p> <p>支援期間中において、受け入れ研究室を 2 回訪問して研究打ち合わせを行った。研究議論に加えて、受け入れ研究室内で Metamorph を用いた画像解析、MATLAB を用いた信号解析及び数値モデリングのチュートリアルを実施した。</p>
成果	<p>【学会発表】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと Katsuyuki Kunida, Yuichi Sakumura, “Model-Based Prediction of Cellular Deformation Dynamics Using Pseudo-Simultaneous Observations of Multi-Molecular Activities”, The 12th Annual Winter q-bio meeting, Hawaii, 2025 年 2 月</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ、IF 入力のこと 国田勝行&作村諭一、“細胞の変形動態を複数の Rho GTPase 活性</p>

	の統合から解読する”、生物物理 64(5)、2024 年
	【新聞報道】 該当なし
	【学位取得者】 学部名・学年または職名・氏名入力のこと 該当なし