

氏 名 稲葉 弘哲

所属・職名 三重大学大学院医学系研究科 組織学・細胞生物学 講師

#### ○ 受賞の感想と今後の抱負

この度は、三重医学若手研究者賞という名誉ある賞を賜り、誠に光栄に存じます。本研究を進めるにあたり、ご指導いただきました、本学医学系研究科組織学・細胞生物学の後藤英仁教授、ならびに東京科学大の中田隆夫教授をはじめ、多くの先生方に心から御礼申し上げます。本受賞を励みに今後もより一層研究に邁進し、将来的には臨床研究へと繋がるような基礎医学研究を推進して参りたいと存じます。今後ともご指導ご鞭撻のほど、何卒よろしくお願いたします。

#### ○ 受賞テーマ

「光遺伝学とクライオ電子線トモグラフィーによる葉状仮足形成の超微細構造解析」

#### ○ 研究の概要と将来展望

クライオ電子線トモグラフィー(cryo-ET)は、染色や化学固定を行うことなく、生体に近い状態の細胞や組織をサブナノメートルの解像度で三次元観察が可能な手法として近年注目を集めている。従来のクライオ電子顕微鏡法は、精製したウイルスやタンパク質を対象に構造解析を行うものであった。Cryo-ETは脳のCT(Computed Tomography)のように連続した傾斜像を撮影し、元の三次元画像を再構築する方法である。近年の技術革新により、細胞や組織レベルの解析へと応用範囲が広がっている。その結果、細胞内で生体高分子がどのように分布・構築されているのかを分子レベルで理解することが可能になり、基礎研究のみならず、創薬研究においても重要な意義を持つようになった。しかしながら、電子顕微鏡法は基本的には固定が必要であることから、細胞内動態の経時的な解析には限界がある。

光遺伝学は、光感受性タンパク質を利用し、分子の活性を時空間的に自在に、かつ可逆的に制御できる技術である。当初は神経科学で発展したが、現在では人工的に設計された様々なツールが開発され、特定のシグナル伝達分子を高い精度で制御できるようになってきた。

我々は、光遺伝学とcryo-ETとを統合することで、電子顕微鏡法の時間軸の制約を克服し、細胞内構造変化を「擬似タイムラプス」として再現的に解析することを目指した。具体的には、低分子量Gタンパク質Rac1の光遺伝学ツールPA-Rac1を用い、青色光刺激により誘導される葉状仮足の形成過程を観察した。COS-7細胞にPA-Rac1とアクチンマーカであるLifeact-mCherryを発現させ、光刺激と急速凍結のタイミングを精密に合わせることで、葉状仮足の形成過程の異なる段階で固定した。その後、クライオ蛍光顕微鏡を用いて光刺激により形成された葉状仮足を同定し、光学顕微鏡像との相関をとりつつクライオ電子顕微鏡で観察することでナノスケールでの三次元構造を可視化した。

今回は、青色光を2分間照射した後に固定した細胞のみを解析対象としたが、さまざまな伸長度を持つ葉状仮足の超微細構造の可視化に成功した。特に、先端端(leading edge)において、細胞膜とアクチン繊維との微細構造を可視化した。その結果、葉状仮足の先端端において細胞膜が波打つように突出し、アクチン繊維の密度が高い「凸部」と疎な「凹部」が交互に存在することを明らかにした。特に凸部には、約9nmの間隔で架橋された少数のアクチン繊維が細胞膜を押し出している構造が確認された。この構造は従来知られている糸状仮足(filopodia)と類似しているが、より短く、繊維の本数も少ないことから、「mini filopodia」と命名した。さらに、葉状仮足内部の構造や、葉状仮足の後端部のアクチン繊維、小胞体や微小管を可視化した。

これらの結果から葉状仮足形成は従来のアクチン繊維の枝分かれモデルに加え、先端部の局所的なアクチン重合と束化による mini filopodia 形成が細胞移動の駆動力となるモデルを提唱した。

#### ○ 関連分野における本研究の特筆すべき点

本研究の独自性は、光遺伝学と cryo-ET を組み合わせることにより、固定観察が原則である電子顕微鏡法に「時間制御」を導入した点にある。光刺激により分子活性化のタイミングを厳密に制御し、急速凍結でその瞬間を固定することで、細胞内構造を時間軸に沿って解析する新たな方法論を確立した。

葉状仮足は細胞運動の主要な駆動力であるが、アクチン繊維が高密度に配列するため光学顕微鏡では解析が難しく、また、従来の電子顕微鏡法では化学固定・染色や膜可溶化による構造破壊の問題があった。本研究では非破壊・無染色での観察を実現し、細胞膜とアクチン繊維との相互作用を直接可視化した点に革新性がある。さらに、これまでの電子顕微鏡を用いた葉状仮足研究においては主に魚類のケラトサイトの既存構造を対象としていたのに対し、本研究では葉状仮足が形成される過程を捉えたことも大きな特色である。

#### ○ 本研究の将来期待される点

葉状仮足の形成過程におけるアクチン細胞骨格や細胞膜の再構築をナノスケールで可視化できたことは、細胞運動のメカニズム理解に大きく貢献する。今後は、光刺激からの経過時間を段階的に変えた複数の試料を用意することで、葉状仮足の形成過程を時間軸に沿って再構築し、その動態を分子レベルで明らかにしていくことを目指す。葉状仮足は、神経軸索ガイダンス、免疫細胞の遊走、がん細胞の浸潤・転移といった多様な現象に関与しており、本研究の成果は、こうした生命現象の理解にとどまらず、疾患のメカニズム解明や創薬研究にも新たな道を開くものと期待される。

さらに、光遺伝学と cryo-ET を融合させた”擬似タイムラプス”試料を用いた細胞内動態のサブナノスケールイメージングは、光学顕微鏡では小さすぎ、電子顕微鏡では大きすぎるとされる、メゾレベルの構造変化を解析する新しい手法として発展する可能性がある。

#### ○ 本研究に関連する代表的な原書学術論文（1編）

**Inaba H, Imasaki T, Aoyama K, Yoshihara S, Takazaki H, Kato T, Goto H, Mitsuoka K, Nitta R, Nakata T. Cryo-ET of actin cytoskeleton and membrane structure in lamellipodia formation using optogenetics. *iScience*. 2025 Apr 24;28(6)**

#### ○ 略歴

2008年3月 東京大学 農学部 卒業  
2008年4月 東京大学大学院 農学生命科学研究科 入学  
2013年3月 東京大学大学院 農学生命科学研究科 修了  
2013年4月 愛知県がんセンター研究所 リサーチレジデント  
2017年1月 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 助教  
2022年3月 三重大学大学院 医学系研究科 講師

#### ○ 専門分野

細胞生物学

○ 医学博士、専門医資格など  
博士（農学）