Review

ブレブ駆動型アメーバ運動機構

西上 幸範^{1*}·伊藤 弘明²·市川 正敏¹

¹京都大学大学院理学研究科 〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町 ²大阪大学大学院工学研究科 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

Mechanism of bleb-driven amoeboid locomotion

Yukinori NISHIGAMI^{1*}, Hiroaki ITO² and Masatoshi ICHIKAWA¹

¹Graduate School of Science, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan ²Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871, Japan

SUMMARY

Various types of adherent eukaryotic cells perform amoeboid locomotion. Until recently, it had been thought that the motive force of the locomotion was mainly produced by polymerization of actin at leading edge. However, more recently, another mechanism has been proposed. The mechanism is called bleb-driven amoeboid locomotion, typically seen in the locomotion of a giant-free-living amoeba, *Amoeba proteus*. The motive force of the locomotion is intracellular hydrostatic pressure, which is produced by contraction of the cell cortex actomyosin. In this review, we describe the mechanism of bleb -driven amoeboid locomotion through recent studies.

Key words: Amoeboid movement, Blebbing, Actin, Myosin, Actomyosin, Amoeba proteus

はじめに

アメーバ運動は原生生物アメーバだけでなく,多 くの接着性真核細胞が行う細胞運動である.これま で,この運動の駆動力は,仮足先端部分でのアクチ

*Corresponding author Tel: +81-75-753-3694/Fax: +81-75-753-3779 E-mail: nishigami.yukinori.7a@kyoto-u.ac.jp Received: 26 May 2016; Accepted: 30 June 2016. ンの重合によると考えられてきた (Mitchison and Cramer, 1996; Ridley et al., 2003; Parent, 2004; Pollard and Borisy, 2003). しかしながら,近年このアクチン重合型とは異なる運動機構が多種の細胞で報告されてきている. この運動はブレブ駆動型アメーバ運動と呼ばれている. ブレブ駆動型アメーバ運動の駆動力は,細胞表層部でのアクトミオシン (アクチンと II 型ミオシン)の収縮力により生じた細胞内静水 圧であると考えられている (Charras and Paluch, 2008; Fackler and Grosse, 2008; Paluch and Raz, 2013). この 運動機構は、大型の自由生活型アメーバ(Amoeba proteus や Chaos carolinensis)の運動機構として 20 世紀初頭から提唱されてきた後部収縮説と実質的に 同じものである(Mast, 1926).本総説では様々な細 胞を通して近年明らかになってきたブレブ駆動型ア メーバ運動機構やそれに関連する A. proteus のア メーバ運動機構に関する概説を行う.特に A. proteus の運動機構に関して興味のある方は、研究の歴史も 含めたより詳細な総説(Sonobe and Nishihara, 2004; Nishigami et al., 2015; Sonobe, 2016)があるので、そ ちらも参照されるとよいだろう.

ブレブ駆動型アメーバ運動を行う生物

ブレブ駆動型アメーバ運動は多種の細胞で行われ ることが分かっている. 例えば, 原生生物では自由 生活型アメーバ *A. proteus* や *C. carolinensis* (Mast, 1926), 社会性アメーバ *Dictyostelium discoideum* (Yoshida and Soldati, 2006; Langridge and Kay, 2006; Tyson et al., 2014; Zatulovskiy et al., 2014), 寄生性ア メーバ *Entamoeba histolytica* (Maugis et al., 2010) など で観察されている. 近年の細胞イメージング技術の 向上に伴い, これらの二次元基板上を移動する単細 胞生物に加え, 三次元空間中を移動する多細胞生物 の細胞もこの運動機構を利用していることが明らか になってきている. たとえば,始原生殖細胞(Blaser et al., 2006; Terayama et al., 2013), 癌細胞(Sahai and Mashall, 2003; Wolf et al., 2003),好中球(Mandeville et al., 1997), 骨格筋細胞の前駆細胞である衛星細胞

(Otto et al., 2011) などでブレブ駆動型のアメーバ運 動を行うことが報告されている. A. proteus や C. carolinensis 及び始原生殖細胞といった数種類の細胞 はブレブ駆動型アメーバ運動機構だけで移動すると 考えられているが、多くの細胞ではアクチン重合に よる駆動とブレブによる駆動の両方を用いてアメー バ運動を行うことが分かっている (Charras and Paluch, 2008; Fackler and Grosse, 2008; Paluch and Raz, 2013). 例えば, D. discoideum は通常の状態ではア クチン重合駆動により運動を行うが、アガロースゲ ルを細胞に重層し、細胞に抗力をかけるとブレブ駆 動型アメーバ運動を行う (Zatulovskiy et al., 2014; Tyson et al., 2014). また, 発生段階初期細胞の中に もアクチン重合モードとブレブモードを両方行うも のがある (Trinkaus, 1973; Concha and Adams, 1998; Diz-Munoz et al., 2010). さらに転移性がん細胞でも アクチン重合モードとブレブ駆動型アメーバ運動の 両方をスイッチすることがわかっており、このス イッチングは異なる環境の中で細胞の動きを最適化 することで細胞の移動効率を上昇させていると考え られている (Friedl, 2004; Lämmermann and Sixt, 2009;



Fig. 1. Blebbing and bleb-driven amoeboid locomotion. In the upper panels, macrophage exhibited blebs over the cell surface. The arrow-heads indicate newly formed blebs. Since these blebs were generated spatially at random, the centroid of the cell moved only slightly during the blebbing. Bar, 10 μm. In the lower panels, the centroid of *Amoeba proteus* moved actively during bleb-driven amoeboid locomotion, because of continuous and unidirectional formation of the blebs (arrows). Bar, 100 μm.

Friedl and Wolf, 2010; Sanz-Moren and Marshall, 2010) .

さて、これまで得られているブレブ駆動型アメー バ運動に関する知見は大きく分けて二つの系から得 られている.一つは細胞全体で球状突起が形成され ている細胞で,あらゆる方向にブレブが形成と縮退 を繰り返しているので重心移動は殆ど伴わない(Fig. 1上).この現象は様々な生命現象においてしばし ば観察される. 例えば、高浸透圧ショックを与えた 細胞 (Ruan et al., 2015), アポトーシスの execution phase (Robertson et al., 1978), ウイルス感染した細 胞 (Mercer and Helenius, 2008) などである. もう-つはブレブを細胞の一方向に連続的に形成すること で重心移動を行う系である(Fig.1下).この重心移 動を伴う運動が本来のブレブ駆動型アメーバ運動で ある.前者の方が後者と比較して、より多くの仮足 様構造が形成されることから、多くの実験において ブレブ形成のモデル実験系として採用されている. しかしながら,前者の細胞全体に球状突起ができる 運動とブレブ駆動型アメーバ運動が同様の機構でお こる保証はないため、前者の系から得られた知見を 後者の系に適用する際は慎重にならなくてはいけな い.本稿ではこのことを明確にするために前者をブ レッビング,後者をブレブ駆動型アメーバ運動,ま たそれぞれを行う細胞をブレッビング細胞, ブレブ 駆動型アメーバ運動細胞と区別して以下の解説を進 める.

ブレブ形成機構

主にブレッビング細胞を使った研究からブレブ形 成は①惹起 (initiation; Fig. 2B) ②成長 (growth; Fig. 2C and E) ③縮退(retraction; Fig. 2D)という3つの 過程のサイクルによりなされていると考えられてい る (Charras and Paluch, 2008; Fackler and Grosse, 2008; Paluch and Raz, 2013). まず, ブレブの成長に先 立って細胞膜近傍のアクチンフィラメントの崩壊が 起こる (Fig. 2B; Cunningham, 1995). 次に, このア クチンが崩壊した部分に細胞質が流入し、球状の仮 足様構造であるブレブが成長する(Fig. 2C and E). この際,成長中のブレブ中にはアクチンは存在しな い.しかし、次第に形成されたブレブの表層部分に アクチンが結合し、ミオシンと相互作用することで ブレブ表面に収縮力が生じ, ブレブの縮退が起こる (Fig. 2D). この一連の過程が一般にブレブ形成と 呼ばれている.一方で、ブレブ駆動型アメーバ運動 において方向性を持った運動を行う際には、一度形 成された仮足部分に新たな仮足が形成される(Fig. 2E) ため③の縮退過程は起こらない.本総説ではブ レブ駆動型アメーバ運動機構に着目して解説を行う



Fig. 2. Life cycle of a bleb. The process of bleb formation generally consists of three steps. The first step is initiation (A to B), in which a local rupture of actin cortex or a detachment of actin cortex from cellular membrane locally reduces the rigidity of cell surface. The next step is growth (C and E), in which contraction of cortical actomyosin drives the cytoplasmic flow into the newly formed bleb. The final step is retraction (D), in which the bleb is retracted by reconstruction of contractile actomyosin cortex in the bleb.

ので、以下①惹起と②成長に絞って解説する.

惹起過程

惹起過程はブレブの成長に先立ち将来ブレブが形 成される部位を決定する.この過程には二つの異な る機構が存在すると考えられている(Charras and Paluch, 2008; Paluch and Raz, 2013).一つは"表層ア クチンの破壊"であり、もう一つは"部分的な細胞 膜-アクチン結合の乖離"である.これら二つの機 構が存在すると考えられている理由としては、それ ぞれの現象を人為的に独立に起こした場合、それぞ れブレブ形成が確認されるからである.前者の例と しては、アクチンを架橋し網目状構造をつくるタン パク質であるフィラミンの欠損細胞で活発なブレッ ビングが起こることや(Cunningham et al., 1992; Cunningham, 1995)、レーザーの部分照射によって表層 アクチンを破壊すると仮足形成が誘導されること (Sedzinski et al., 2011; Goudarzi et al., 2012),部分的 なアクチン脱重合剤処理をした際にもブレブ形成が 起こること(Charras et al., 2005; Paluch et al., 2005; Sedzinski et al., 2011)などが挙げられる.後者の例と しては,細胞膜ー表層アクチン結合を微小ピペット による部分的な吸引で乖離させ仮足伸長を誘導する 実験が癌細胞(Rentsch and Keller, 2000),細胞性粘 菌(Merkel et al., 2000),寄生性アメーバ(Maugis et al., 2010)などで行われていることや,ブレブ形成の 際に細胞膜-アクチン結合に役割をはたす ezrinradixin-moesin(ERM)ファミリータンパク質のノッ クダウンにより通常より多くのブレブ形成が起こる (Kunda et al., 2008; Diz-Munoz et al., 2010; Fehon et al., 2010)ことなどが挙げられる.

しかしながら生細胞の観察からこれら二つの機構 を明確に区別することはイメージング技術の時間お よび空間分解能の限界から非常に難しい(Sedzinski et al., 2011; Paluch and Raz, 2013). 一方で,大型の 自由生活型アメーバでは細胞サイズが大きいため 20 世紀初期にこの過程が明確に記述されている(Mast, 1926). *A. proteus や C. carolinensis* では仮足伸長に 先立ち,細胞膜-アクチン結合が乖離する.この乖 離したアクチン層は収縮して行き,やがてアクチン 層の構造が破壊され,破壊された部分から細胞質が 仮足部分に流入することで仮足伸長が起きる.つま り大型自由生活型アメーバにおけるブレブ駆動型ア メーバ運動では, "部分的なアクチンー細胞膜結合 の乖離"が起こった後に"アクチン層の破壊"が起 こることがわかっている.

さて, ブレブ駆動型アメーバ運動において継続的 な重心移動が起こるためには,一定期間定まった方 向性の惹起が行われる必要がある. 始原生殖細胞で はカルシウムイオンの部分的な流入によって流入方 向に仮足形成が誘導されるということが報告されて いる (Blaser et al., 2006) . アクチンとアクチン結合 タンパク質からなるゲルは、カルシウムイオンに よってゾル化することが分かっている (Weed, 1982).したがって、カルシウムイオンによるアク チン層の部分的破壊が起こったため方向性を持った 仮足形成が行われたと考えられる.また、カルシウ ムイオンによってミオシンの活性が上昇することも 分かっており(Matsumura, 2005),これにより生じ た局所的な収縮力によってアクチンー細胞膜結合の 乖離がおこった可能性も考えられる (Blaser et al., 2006; Charras, 2008) . A. proteus においても, 試験管 内の実験でカルシウムイオンが表層アクチンー細胞 膜結合を切断することが報告されている(Kawakatsu et al., 2000). また,いくつかの細胞では誘引物質の 濃度勾配に応じてブレブ駆動型の仮足形成が誘導さ れることが分かっている (Doitsidou et al., 2002; Langridge and Kay, 2006). しかしながら, 誘引物質がレ

セプターに結合してからブレブが形成されるまでの 分子メカニズムについては不明な点が多い.一方, アクチンと直接相互作用するものに関しては幾らか 報告がある.例えば,アクチンー細胞膜結合タンパ ク質として知られている ezrin (上述の ERM ファミ リーの一種)は細胞の後部で多いことがいくつかの 細胞で報告されており (Rossy et al., 2007; Lorentzen et al., 2011; Martinelli et al., 2013),このタンパク質分 布の不均等性が運動方向を決めていると予想され る.

ブレブの成長 (表層部分の収縮)

上述の惹起が起こり細胞表層の構造が部分的に弱 くなると、その部分は細胞内静水圧を支えることが できなくなるため細胞質が流入し、細胞膜が押され ることでブレブの成長が起こる(Charras and Paluch, 2008; Fackler and Grosse, 2008; Paluch and Raz, 2013). この細胞内静水圧は細胞表層部分でのアク トミオシン系の収縮によって発生していると考えら れている.実際,試験管内で膜に包まれた微小液滴 の内部にアクトミオシンを再構成すると、アクトミ オシン系によって収縮力が生じた結果,膜の変形が 誘導される(Ito et al., 2015; Nishigami et al., 2016). また、ミオシンの活性化でブレブ形成が促進され

(Blaser et al., 2006; Weiser et al., 2009; Diz-Munoz et al., 2010; Bergert et al., 2012; Goudarzi et al., 2012), 逆に非活性化で抑制される(Blaser et al., 2006; Zatulovskiym et al., 2014) ことから, ブレブの成長にはアクトミオシン系の収縮が重要であることが分かる. つまり, ブレブの成長はブレブ惹起とアクトミオシン系による膜近傍の収縮力という二つの要素で実現されると予想される. 実際にこのことを検証するために膜-表層アクチン結合や膜の張力といった細胞内の物理的特性を考慮した物理モデルの構築やシミュレーションがなされており, その結果は実験とよく一致することが示唆されている(Brugués et al., 2010; Tozluoğlu et al., 2013).

ブレブの成長過程と前述の惹起過程は実験系にお いて明確に区別される. Tinevez et al. (2009) はミオシ ン軽鎖をリン酸化する Rho キナーゼ ROCK の阻害剤 Y27632 を様々な濃度で用いることで,表層アクチ ンーミオシン複合体の収縮力を調節し,細胞表層の 張力が異なる細胞を作製した.その後,これらの細 胞へ紫外線レーザーを部分照射することで表層アク チンを部分的に破壊し,ブレブ形成の誘導を試み た.その結果,ブレブ形成が起こるには細胞表層の 張力が 200 pN/µm よりも高い必要があり,これより 低い張力では表層アクチンの破壊が起きてもブレブ 形成は起こらなかった.また,ゼブラフィッシュの 始原生殖細胞において RNA 結合タンパク質である Dead end をノックダウンすると細胞の運動活性が低 下することが分かっている(Weidinger et al., 2003). 組織中に存在するこの細胞にフェムト秒パ ルスレーザーを部分照射することで表層アクチンを 破壊してもブレブ形成は誘導されないが,ミオシン 軽鎖のリン酸化を誘導する MLCK, ROCK, Rho を過 剰発現した系で同様の実験を行うとブレブ形成が誘 導された(Goudarzi et al., 2012). これらのことから ブレブ駆動型アメーバ運動における仮足形成は明確 に区別できる二つの過程(惹起と成長)で調節され ていると考えることができる.

さて、ブレブ駆動型アメーバ運動において仮足の 伸長はやがて停止するが、この原因の一つとしてブ レブ伸長による余剰細胞膜の減少が挙げられる

(Paluch and Raz, 2013). というのも,形成された ブレブ中にはほとんど小胞は見られず (Charras et al., 2008),脂質二重層はほとんど伸長することがない ため,細胞膜の面積は運動中に一定であると考えら れ,新たなブレブ形成が起こる際の細胞膜は他の余 剰細胞膜が存在する部分から供給されると考えられ るためである.

アクチン重合型とブレブ駆動型アメーバの切り替え

上述したように単細胞生物,多細胞生物を問わず 多くの細胞はアクチン重合駆動型アメーバ運動とブ レブ駆動型アメーバ運動の両方を内外環境に応じて 使い分けている(Weiser et al., 2009; Friedl and Wolf, 2010; Sroka et al., 2011; Bergert et al., 2012). これら 二つの運動モードは駆動力発生機構が異なるだけで なく,運動の性質も変化させる.例えばブレブ駆動 型の運動が活発になると運動速度は速くなるが,運 動の直進性は低下する(Weiser et al., 2009; Diz-Munoz et al., 2010).

この運動モードの切り替えに関わる因子としては, アクトミオシンの収縮力,アクチンの重合,基質へ の接着性,表層アクチンと細胞膜の結合といったも のが報告されている(Lämmermann and Sixt, 2009; Paluch and Raz, 2013).

ミオシン軽鎖をリン酸化する Rho キナーゼ ROCK の活性化によりブレブ駆動型アメーバ運動が誘導さ れること (Sanz-Moreno et al., 2008) や,低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho を介して ROCK を活性化す る Wnt シグナルを調節することでアクチン重合型と ブレブ駆動型アメーバ運動の発現を調節できること が報告されている (Weiser et al., 2007). これに加え て ROCK はミオシン脱リン酸化酵素複合体のサブユ ニット Mypt1 をリン酸化する働きも持ち,ミオシン 脱リン酸化酵素活性を介してミオシン活性を調節し ていることも明らかになっている (Weiser et al., 2009).

アクチンの高次構造制御を行っている WAVE の活 性制御や,その上流にある低分子量 G タンパク質 Rac の GDP/GTP 交換因子である DOCK3, これに結 合し機能を調節する NEDD9 の発現量調節によっ て、運動モードを調節した例もある (Sanz-Moreno et al., 2008). アクチン重合制御タンパク質である Arp2/3 複合体の活性阻害(Langridge and Kay, 2006) でブレブ駆動型アメーバ運動が誘導されることや WAVE のサブユニットである Brk1. Nap1. Wave2 や Arp2/3 複合体のサブユニットである ARPC2 のノッ クダウンにより細胞全体でブレッビングが起こるこ とが明らかになっている (Derivery et al., 2008). し たがって、アクチンの高次構造の調節は、単純に仮 足先端部分のアクチン重合活性を調節しているだけ でなく、細胞全体の柔軟性を調節することで、外環 境に応じた適切な運動を行うことを可能にしている と考えられている.

アメーバ運動と基質への接着性の関係を調べるた めに、アクチン重合駆動型およびブレブ駆動型の両 方の運動を行うウォーカー癌肉腫細胞を用いて、細 胞接着因子であるフィブロネクチンをマイクロパ ターンコートした基板の上でアメーバ運動を誘導す る実験が行われた.この結果、細胞の基質接着性が 上昇するとアクチン重合駆動の運動を行い、接着性 が低下するとブレブ駆動型の運動を行うことが示さ れている (Bergert et al., 2012) . このようなアクチ ン重合駆動型とブレブ駆動型アメーバ運動のスイッ チングに関しては理論的側面からの研究も進んでい る。Tozluoğlu et al. (2013) は、アクチン重合駆動型、 ブレブ駆動型,および両方の運動を同時に行う細胞 のモデルを構築し,基質との接着性や運動を行う空 間条件を変えた際のモデルの挙動を調べた. その結 果,三次元マトリックス様構造内での移動効率がブ レブ駆動型アメーバ運動を行う細胞のモデルで著し く高いことが分かった.一方,基板上での運動に関 してはアクチン重合駆動型アメーバ運動を行うモデ ルの移動効率が高かった.このことから、運動モー ドのスイッチングを行う細胞は主に二次元および三 次元空間中でより高い移動効率を得る為に運動モー ドのスイッチングを行っていると考えられる.実 際, D. discoideum では単細胞期にアクチン重合駆動 型のアメーバ運動を主に行っているが、飢餓状態と なり細胞が集合し移動体となるとそれぞれの細胞は ブレブ駆動型アメーバ運動で動いていることが示唆 されている (Inoue, 2003) .

以上のように多くの細胞では、アクチン重合型お よびブレブ駆動型アメーバ運動を外環境に応じてス イッチングすることで、環境に応じた効率的な移動を 実現していると考えられている(Paluch and Raz, 2013). 一方, A. proteus や C. carolinensis 及び始原 生殖細胞といった細胞はブレブ駆動型アメーバ運動 機構だけで移動する. この原因としては、単細胞か ら多細胞化する D. discoideum や様々な組織間を移動 する癌細胞等と比較して、大きな外的環境変化に適 応する必要が無かったことが考えられる. このよう な細胞においても運動モードのスイッチングを誘導 することができれば、この機構に関して更なる理解 が進むことが期待される.

ブレブ駆動型アメーバ運動と試験管内再構築系

前述の通り、ブレブ駆動型アメーバ運動に必要な タンパク質因子に関する報告は近年増えてきてい る. また,細胞表層部のアクトミオシンの収縮によ り生じた細胞内静水圧によって細胞質が押し出さ れ, 仮足が形成されるという機構も観察結果を矛盾 なく説明しており受け入れられている.しかし、実 際にアクトミオシン系の収縮による力や、その結果 生じた圧力などによる力学的過程のみでブレブ駆動 型アメーバ運動が起こるのかという重要な問いへの 答えは得られていない. 過去にリポソームの中にア クチンとミオシンを封入しコルテックス状の構造を 再構築した系では(Takiguchi et al., 2008; 2011; Tsai et al., 2011; Carvalho et al., 2013), それらがダイナミッ クに変形することは無かった.この問題に答えるた めに、私たちは試験管内再構築系を用いた実験に取 り組んできた. アクチン、ミオシン、細胞膜からな る系を用いることで、タンパク質の活性や物性がど のように脂質膜に作用し変形するのかを明確に示す ことが可能となる.私たちは自由生活型アメーバ A. proteus からアクトミオシンを抽出し、ATP とともに 脂質一重膜に封入することで, 微小液滴を作製し た.この際,膜近傍にアクチンを局在させるために カチオン性脂質を用いると、脂質膜が表層アクチン とともに変形することが観察された (Fig. 3; Nishigami et al., 2016). この新規の現象の機構を検討し た結果、その形状変形の特徴として、「凹みの幅は 変形している膜の曲率に負の相関がある」ことが分 かり,その詳細な変形形状はアクトミオシンコル テックスの収縮性と弾性を考慮した物理モデルで説 明することができた(Ito et al., 2015). この結果 は、細胞膜直下のアクトミオシンタンパク質の分布 が一様であっても、細胞膜の形状によって収縮力の 伝わり方や形状変化の速度は全く異なることを示唆 している. すなわち, 幾何学情報である膜の曲率 が、 タンパク質脂質複合体の運動性の調節に直接か かわっていることを示している.この研究はブレブ の成長過程の駆動力を試験管内で実現したものであ るが、試験管内で惹起過程を誘導することには未だ Lipid



Fig. 3. Membrane deformation induced by the reconstituted actomyosin cortex. The actomyosin fraction extracted from *Amoeba proteus* was enclosed by the spherical monolayer of positively charged lipids. The lipid monolayer and the actin filaments were labeled with ATTO 488-DOPE (upper) and rhodamine-phalloidin (lower), respectively. $\Delta t = 0$ is defined as the beginning time of deformation. Modified from Ito et al. (2015).

成功していない. 今後このプロセスを試験管内で実 現する条件を明らかにすることで, さらにブレブ駆 動型アメーバ運動の本質的メカニズムへの理解が進 むと期待できる.

おわりに

原生生物は多様性と特殊性に満ちている.細胞一 匹が自然界の中で生きていくために、生物種ごとに 全く異なる生存戦略をとって面白い生命現象をみせ る. 私たちは大型の自由生活型アメーバ Amoeba proteus を用いてアメーバ運動の研究を行っている. この細胞のアメーバ運動は他の細胞の運動とは異な る特殊な運動をしていると長年考えられ、一般性と いう意味では肩身の狭い思いをしてきた.近年に なって単細胞・多細胞生物を問わず A. proteus と同じ ブレブ駆動型アメーバ運動機構で動いている細胞が 見つかってきた.一部の原生生物が行う特異な運動 だと思われていたものが、生物界において普遍的に 行われていたのである.この事例が原生生物の特殊 性に関して研究している多くの研究者にとって励み になればと思う.近年では、様々な細胞を使ってブ レブ駆動型アメーバ機構に関して研究が行われてい る. 他のモデル生物と比較すると A. proteus は扱い難 い部分もあるが、この細胞のみが持つ実験上の利点 もある. すなわち, A. proteus はブレブ駆動型アメー バ運動しか行わないことや細胞サイズが一般的な細 胞の数十倍の大きさで観察が容易なことである.こ

れらの利点を活かしてこの生き物ならではの研究を 進め、ブレブ駆動型アメーバ運動機構の解明を目指 して努力していきたい.

謝辞

法政大学の廣野雅文編集長,情報通信研究機構の 岩本政明副編集長には本総説を執筆する機会を与え て頂きました.また,兵庫県立大学の園部誠司博士 にはアメーバ運動に関して一から教えて頂きまし た.皆様に深く感謝いたします.

引用文献

- Bergert, M., Chandradoss, S. D., Desai, R. A. and Paluch, E. (2012) Cell mechanics control rapid transitions between blebs and lamellipodia during migration. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 109, 14434–14439.
- Blaser, H., Reichman-Fried, M., Castanon, I., Dumstrei, K., Marlow, F. L., Kawakami, K., Solnica-Krezel, L., Heisenberg, C. P. and Raz, E. (2006) Migration of zebrafish primordial germ cells: a role for myosin contraction and cytoplasmic flow. Dev. Cell, 11, 613–627.
- Brugués, J., Maugis, B., Casademunt, J., Nassoy, P., Amblard, F. and Sens, P. (2010) Dynamical organization of the cytoskeletal cortex probed by micropipette aspiration. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 107, 15415–15420.
- Carvalho, K., Tsai, F. C., Lees, E., Voituriez, R., Koenderink, G. H. and Sykes, C. (2013) Cell-sized liposomes reveal how actomyosin cortical tension drives shape change. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 110, 16456–16461.
- Charras, G. T., Coughlin, M., Mitchison, T. J. and Mahadevan, L. (2008) Life and times of a cellular bleb. Biophys. J., 94, 1836–1853.
- Charras, G. T. (2008) A short history of blebbing. J. Microsc., 231, 466–478.
- Charras, G. T. and Paluch, E. (2008) Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 9, 730–736.
- Charras, G. T., Yarrow, J. C., Horton, M. A., Mahadevan, L. and Mitchison, T. J. (2005) Non-equilibration of hydrostatic pressure in blebbing cells. Nature, 435, 365–369.
- Concha, M. L. and Adams, R. J. (1998) Oriented cell divisions and cellular morphogenesis in the zebrafish gastrula and neurula : A time-lapse analysis. Development, 125, 983–994.

- Cunningham, C. C. (1995) Actin polymerization and intracellular solvent flow in cell surfase blebbing. J. Cell Biol., 129, 1589–1599.
- Cunningham, C., Gorlin, J., Kwiatkowski, D., Hartwig, J., Janmey, P., Byers, H. and Stossel, T. (1992) Actinbinding protein requirement for cortical stability and efficient locomotion. Science, 255, 325–327.
- Derivery, E., Fink, J., Martin, D., Houdusse, A., Piel, M., Stradal, T. E., Louvard, D. and Gautreau, A. (2008) Free Brick1 is a trimeric precursor in the assembly of a functional wave complex. PLOS One, 3, e2462.
- Diz-Muñoz, A., Krieg, M., Bergert, M., Ibarlucea-Benitez, I., Muller, D. J., Paluch, E. and Heisenberg, C. P. (2010) Control of directed cell migration in vivo by membrane-to-cortex attachment. PLOS Biol., 8, e1000544.
- Doitsidou, M., Reichman-Fried, M., Stebler, J., Köprunner, M., Dörries, J., Meyer, D., Esguerra, C. V., Leung, T. and Raz, E. (2002) Guidance of primordial germ cell migration by the chemokine SDF-1. Cell, 111, 647–659.
- Fackler, O. T. and Grosse, R. (2008) Cell motility through plasma membrane blebbing. J. Cell Biol., 181, 879– 884.
- Fehon, R. G., McClatchey, A. I. and Bretscher, A. (2010) Organizing the cell cortex: the role of ERM proteins. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 11, 276–287.
- Friedl, P. (2004) Prespecification and plasticity: Shifting mechanisms of cell migration. Curr. Opin. Cell Biol., 16, 14–23.
- Friedl, P. and Wolf, K. (2010) Plasticity of cell migration: A multiscale tuning model. J. Cell Biol., 188, 11– 19.
- Goudarzi, M., Banisch, T. U., Mobin, M. B., Maghelli, N., Tarbashevich, K., Strate, I., van den Berg, J., Blaser, H., Bandemer, S., Paluch, E. et al. (2012) Identification and regulation of a molecular module for bleb-based cell motility. Dev. Cell, 23, 210–218.
- Inoue, K. (2003) Pattern formation by cell movement in closely-packed tissues. *In: Morphogenesis and Pattern Formation in Biological Systems*. Sekimura, T., Noji, S., Ueno, N. and Maini, P. K. (ed.). Springer Japan, pp. 191-202.
- Ito, H., Nishigami, Y., Sonobe, S. and Ichikawa, M. (2015) Wrinkling of a spherical lipid interface induced by actomyosin cortex. Phys. Rev. E, 92, 062711.
- Kawakatsu, T., Kikuchi, A., Shimmen, T. and Sonobe, S. (2000) Interaction of actin filaments with the plasma membrane in *Amoeba proteus*: studies using a

cell model and isolated plasma membrane. Cell Struct. Funct., 25, 269–277.

- Kunda, P., Pelling, A. E., Liu, T. and Baum, B. (2008) Moesin controls cortical rigidity, cell rounding, and spindle morphogenesis during mitosis. Curr. Biol., 18, 91–101.
- Lämmermann, T. and Sixt, M. (2009) Mechanical modes of "amoeboid" cell migration. Curr. Opin. Cell Biol., 21, 636–644.
- Langridge, P. D. and Kay, R. R. (2006) Blebbing of *Dicty-ostelium* cells in response to chemoattractant. Exp. Cell Res., 312, 2009–2017.
- Lorentzen, A., Bamber, J., Sadok, A., Elson-Schwab, I. and Marshall, C. J. (2011) An ezrin-rich, rigid uropod-like structure directs movement of amoeboid blebbing cells. J. Cell Sci., 124, 1256–1267.
- Mandeville, J. T., Lawson, M. A. and Maxfield, F. R. (1997) Dynamic imaging of neutrophil migration in three dimensions: mechanical interactions between cells and matrix. J. Leukoc. Biol., 61, 188–200.
- Martinelli, S., Chen, E. J. H., Clarke, F., Lyck, R., Affentranger, S., Burkhardt, J. K. and Niggli, V. (2013) Ezrin/radixin/moesin proteins and flotillins cooperate to promote uropod formation in T cells. Front. Immunol., 4, 1–16.
- Mast, S. O. (1926) Structure, movement, locomotion, and stimulation in *Amoeba*. J. Morphol., 41, 347–425.
- Matsumura, F. (2005) Regulation of myosin II during cytokinesis in higher eukaryotes. Trends Cell Biol., 15, 371–377.
- Maugis, B., Brugués, J., Nassoy, P., Guillen, N., Sens, P. and Amblard, F. (2010) Dynamic instability of the intracellular pressure drives bleb-based motility. J. Cell Sci., 123, 3884–3892.
- Mitchison, T. J. and Cramer, L. P. (1996) Actin-based cell motility and cell locomotion. Cell, 84, 371–379.
- Mercer, J. and Helenius, A. (2008) Vaccinia virus uses macropinocytosis and apoptotic mimicry to enter host cells. Science, 320, 531–535.
- Merkel, R., Simson, R., Simson, D. A., Hohenadl, M., Boulbitch, A., Wallraff, E. and Sackmann, E. (2000) A micromechanic study of cell polarity and plasma membrane cell body coupling in *Dictyostelium*. Biophys. J., 79, 707–719.
- Nishigami, Y., Ito, H. and Ichikawa, M. (2015) Studies of bleb-driven cell locomotion using reconstituted systems. BSJ-Review, 6, 82–91.
- Nishigami, Y., Ito, H., Sonobe, S. and Ichikawa, M. (2016) Non-periodic oscillatory deformation of an actomyosin microdroplet encapsulated within a

lipid interface. Sci. Rep., 6, 18964.

- Otto, A., Collins-Hooper, H., Patel, A., Dash, P. R. and Patel, K. (2011) Adult skeletal muscle stem cell migration is mediated by a blebbing/amoeboid mechanism. Rejuvenation Res., 14, 249–260.
- Paluch, E., Piel, M., Prost, J., Bornens, M. and Sykes, C. (2005) Cortical actomyosin breakage triggers shape oscillations in cells and cell fragments. Biophys. J., 89, 724–733.
- Paluch, E. K. and Raz, E. (2013) The role and regulation of blebs in cell migration. Curr. Opin. Cell Biol., 25, 582–590.
- Parent, C. A. (2004) Making all the right moves: Chemotaxis in neutrophils and *Dictyostelium*. Curr. Opin. Cell Biol., 16, 4–13.
- Pollard, T. D. and Borisy, G. G. (2003) Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. Cell, 112, 453–465.
- Rentsch, P. S. and Keller, H. (2000) Suction pressure can induce uncoupling of the plasma membrane from cortical actin. Eur. J. Cell Biol., 79, 975–981.
- Ridley, A. J., Schwartz, M. A., Burridge, K., Firtel, R. A., Ginsberg, M. H., Borisy, G., Parsons, J. T. and Horwitz, A. R. (2003) Cell migration: integrating signals from front to back. Science, 302, 1704– 1709.
- Rossy, J., Gutjahr, M. C., Blaser, N., Schlicht, D. and Niggli, V. (2007) Ezrin/moesin in motile Walker 256 carcinosarcoma cells: Signal-dependent relocalization and role in migration. Exp. Cell Res., 313, 1106–1120.
- Robertson, A. M. G., Bird, C. C., Waddell, A. W. and Currie, A. R. (1978) Morphological aspects of glucocorticoid-induced cell death in human lymphoblastoid cells. J. Pathol. 126, 181–187.
- Ruan, R., Zou, L., Sun, S., Liu, J., Wen, L., Gao, D. and Ding, W. (2015) Cell blebbing upon addition of cryoprotectants: A self-protection mechanism. PLOS One, 10, e0125746.
- Sahai, E. and Marshall, C. J. (2003) Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis. Nat. Cell Biol., 5, 711–719.
- Sanz-Moreno, V. and Marshall, C. J. (2010) The plasticity of cytoskeletal dynamics underlying neoplastic cell migration. Curr. Opin. Cell Biol., 22, 690–696.
- Sanz-Moreno, V., Gadea, G., Ahn, J., Paterson, H., Marra, P., Pinner, S., Sahai, E. and Marshall, C. J. (2008) Rac activation and inactivation control plasticity of tumor cell movement. Cell, 135, 510–523.

- Sedzinski, J., Biro, M., Oswald, A., Tinevez, J. Y., Salbreux, G. and Paluch, E. (2011) Polar actomyosin contractility destabilizes the position of the cytokinetic furrow. Nature, 476, 462–466.
- Sepich, D. S., Calmelet, C., Kiskowski, M. and Solnica-Krezel, L. (2005) Initiation of convergence and extension movements of lateral mesoderm during zebrafish gastrulation. Dev. Dyn., 234, 279–292.
- Sonobe, S. and Nishihara, E. (2004) Mechanism of amoeboid movement. Jpn. J. Protozool., 37, 159–167 (in Japanese).
- Sonobe, S. (2016) Cell Biology of *Amoeba proteus*. Jpn. J. Protozool., 49, 5–16 (in Japanese).
- Sroka, J., Von Gunten, M., Dunn, G. A. and Keller, H. U. (2002) Phenotype modulation in non-adherent and adherent sublines of Walker carcinosarcoma cells: The role of cell-substratum contacts and microtubules in controlling cell shape, locomotion and cytoskeletal structure. Int. J. Biochem. Cell Biol., 34, 882–899.
- Takiguchi, K., Yamada, A., Negishi, M., Tanaka-Takiguchi, Y. and Yoshikawa, K. (2008) Entrapping desired amounts of actin filaments and molecular motor proteins in giant liposomes. Langmuir, 24, 11323–11326.
- Takiguchi, K., Negishi, M., Tanaka-Takiguchi, Y., Homma, M. and Yoshikawa, K. (2011) Transformation of actoHMM assembly confined in cell-sized liposome. Langmuir, 27, 11528–11535.
- Terayama, K., Kataoka, K., Morichika, K., Orii, H., Watanabe, K. and Mochii, M. (2013) Developmental regulation of locomotive activity in *Xenopus* primordial germ cells. Dev. Growth Differ., 55, 217 –228.
- Tinevez, J. Y., Schulze, U., Salbreux, G., Roensch, J., Joanny, J. F. and Paluch, E. (2009) Role of cortical tension in bleb growth. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 106, 18581–18586.
- Tozluoğlu, M., Tournier, A. L., Jenkins, R. P., Hooper, S., Bates, P. A. and Sahai, E. (2013) Matrix geometry determines optimal cancer cell migration strategy and modulates response to interventions. Nat. Cell Biol., 15, 751–762.

- Trinkaus, J. P. (1973) Surface activity and locomotion of *Fundulus* deep cells during blastula and gastrula stages. Dev. Biol., 30, 68–103.
- Tsai, F. C., Stuhrmann, B. and Koenderink, G. H. (2011) Encapsulation of active cytoskeletal protein networks in cell-sized liposomes. Langmuir, 27, 10061 –10071.
- Tyson, R. A., Zatulovskiy, E., Kay, R. R. and Bretschneider, T. (2014) How blebs and pseudopods cooperate during chemotaxis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 111, 11703–11708.
- Weeds, A. (1982) Actin-binding proteins--regulators of cell architecture and motility. Nature, 296, 811–816.
- Weidinger, G., Stebler, J., Slanchev, K., Dumstrei, K., Wise, C., Lovell-Badge, R., Thisse, C., Thisse, B. and Raz, E. (2003) dead end, a novel vertebrate germ plasm component, is required for zebrafish primordial germ cell migration and survival. Curr. Biol., 13, 1429–1434.
- Weiser, D. C., Row, R. H. and Kimelman, D. (2009) Rhoregulated myosin phosphatase establishes the level of protrusive activity required for cell movements during zebrafish gastrulation. Development, 136, 2375–2384.
- Weiser, D. C., Pyati, U. J. and Kimelman, D. (2007) Gravin regulates mesodermal cell behavior changes required for axis elongation during zebrafish gastrulation. Genes Dev., 21, 1559–1571.
- Wolf, K., Mazo, I., Leung, H., Engelke, K., Von Andrian, U. H., Deryugina, E. I., Strongin, A. Y., Bröcker, E.
 B. and Friedl, P. (2003) Compensation mechanism in tumor cell migration: Mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis. J. Cell Biol., 160, 267–277.
- Yoshida, K. and Soldati, T. (2006) Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. J. Cell Sci., 119, 3833–3844.
- Zatulovskiy, E., Tyson, R., Bretschneider, T. and Kay, R. R. (2014) Bleb-driven chemotaxis of *Dictyostelium* cells. J. Cell Biol., 204, 1027–1044.