

領域略称名：多細胞生命自律性  
領域番号：21A305

令和6年度  
科学研究費助成事業「学術変革領域研究（A）」  
に係る中間評価報告書

「競合的コミュニケーションから迫る多細胞生命システム  
の自律性」

略称：多細胞生命自律性

領域設定期間

令和3年度～令和7年度

令和6年6月

領域代表者 京都大学・大学院生命科学研究科・教授・井垣 達吏

# 目 次

## **研究組織**

1	総括班・総括班以外の計画研究	2
2	総括班・総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者	3
3	公募研究	6

## **研究領域全体に係る事項**

4	研究領域の目的及び概要	9
5	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	11
6	研究の進展状況及び主な成果	13
7	研究発表の状況	30
8	研究組織の連携体制	35
9	若手研究者の育成に係る取組状況	36
10	アウトリーチ活動に係る取組状況	37
11	研究費の使用状況・計画	38
12	今後の研究領域の推進方策	39
13	総括班評価者による評価	41

**研究組織**

(令和6年6月末現在。ただし完了又は廃止した研究課題は完了・廃止時現在。)

**1 総括班及び総括班以外の計画研究**

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数[2]
X00 総	21H05283 競合的コミュニケーションから迫る多 細胞生命システムの自律性	井垣 達吏	京都大学・生命科学研究科・ 教授	1
A01 計	21H05284 多様な細胞競合現象の同定とその普遍 的法則および生理的意義の解明	井垣 達吏	京都大学・生命科学研究科・ 教授	1
A01 計	21H05285 細胞競合の普遍的制御分子の同定とそ の動作機序の解明	藤田 恭之	京都大学・医学研究科・教授	1
A01 計	21H05286 細胞間接着を起点とした細胞競合の分 子機構とその生理的制御機構の解明	小田 裕香子	京都大学・生命科学研究科・ 教授	2
A01 計	21H05287 モルフォゲン勾配システムの自律性を 支える細胞競合の物理化学的基盤の解 明	石谷 太	大阪大学・微生物病研究所・ 教授	1
A01 計	21H05288 マウス胚多細胞システムの自律性を支 える細胞競合の分子基盤と動態の解 明	佐々木 洋	大阪大学・大学院生命機能研 究科・教授	1
A01 計	21H05289 上皮幹細胞システムの自律性を支える 細胞競合原理の解明	西村 栄美	東京大学・医科学研究所・教 授	1
A01 計	21H05290 (廃止) 多細胞自律性を支える細胞競合機構の 数理・物理学的解明	平島 剛志	京都大学白眉センター・特定 准教授	1
A01 計	21H05291 細胞の競合的コミュニケーションの設 計による組織自律性の生成原理の解 明	戸田 聡	大阪大学・蛋白質研究所・准 教授	1
A01 計	21H05292 細胞競合における細胞間相互作用を計 測するための空間オミクス技術開発	原田 哲仁	九州大学・生体防御医学研究 所・准教授	1
総括班及び総括班以外の計画研究 計 10 件 (廃止を含む)				

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 総括班及び総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者

研究項目：X00

研究課題名：競合的コミュニケーションから迫る多細胞生命システムの自律性

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	井垣 達吏	京都大学・生命科学研究科・教授	領域班会議長、事務局、ショウジョウバエ遺伝学的スクリーニング・解析センター
分担	藤田 恭之	京都大学・医学研究科・教授	細胞競合 in vitro 解析支援センター、若手支援、国際連携支援
分担	小田 裕香子	京都大学・生命科学研究科・教授	細胞間接着・組織修復解析センター
分担	石谷 太	大阪大学・微生物病研究所・教授	in vivo イメージング支援センター、企画・運営
分担	佐々木 洋	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	生体ゲノム編集センター
分担	西村 栄美	東京大学・医科学研究所・教授	組織幹細胞培養・細胞系譜解析センター
分担	平島 剛志 (廃止)	京都大学白眉センター・特定准教授	力学・数理解析センター、広報、ウェブ
分担	戸田 聡	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	多細胞システム合成センター、広報
分担	原田 哲仁	九州大学・生体防御医学研究所・准教授	マルチオミクス解析センター
合計 9 名			

研究項目：A01

研究課題名：多様な細胞競合現象の同定とその普遍的法則および生理的意義の解明

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	井垣 達吏	京都大学・生命科学研究科・教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

研究項目：A01

研究課題名：細胞競合の普遍的制御分子の同定とその動作機序の解明

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	藤田 恭之	京都大学・医学研究科・教授	研究全体の統括と遂行

合計 1 名

**研究項目 : A01**

**研究課題名 : 細胞間接着を起点とした細胞競合の分子機構とその生理的制御機構の解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	小田 裕香子	京都大学・生命科学研究科・教授	細胞間接着の破綻による細胞競合の理解とその人為的操作法の確立
分担	大谷 哲久	東京都立大学・理学研究科・准教授	細胞間接着の破綻が誘導する細胞競合の分子機構の解析
合計 2 名			

**研究項目 : A01**

**研究課題名 : モルフォゲン勾配システムの自律性を支える細胞競合の物理化学的基盤の解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	石谷 太	大阪大学・微生物病研究所・教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

**研究項目 : A01**

**研究課題名 : マウス胚多細胞システムの自律性を支える細胞競合の分子基盤と動態の解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	佐々木 洋	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

**研究項目 : A01**

**研究課題名 : 上皮幹細胞システムの自律性を支える細胞競合原理の解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	西村 栄美	東京大学・医科学研究所・教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

**研究項目 : A01**

**研究課題名：多細胞自律性を支える細胞競合機構の数理・物理学的解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	平島 剛志 (廃止)	京都大学白眉センター・特 定准教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

**研究項目：A01****研究課題名：細胞の競合的コミュニケーションの設計による組織自律性の生成原理の解明**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	戸田 聡	大阪大学・蛋白質研究所・准 教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

**研究項目：A01****研究課題名：細胞競合における細胞間相互作用を計測するための空間オミクス技術開発**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	原田 哲仁	九州大学・生体防御医学研 究所・准教授	研究全体の統括と遂行
合計 1 名			

### 3 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	22H05618 上皮細胞の恒常性維持における力覚応答に關与する RhoGEF, Solo の機能解析	令和4年度 ～ 令和5年度	大橋 一正	東北大学・生命科学研究科・教授	1
A01 公	22H05619 競合的コミュニケーションと細胞集団-細胞間相互作用の協調システムの解明	令和4年度 ～ 令和5年度	西川 星也	東京大学・大学院総合文化研究科・特別研究員	1
A01 公	22H05620 多細胞生命自律性を支える細胞競合制御因子の網羅的同定と分子基盤の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	小川 基行	東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・特任研究員	1
A01 公	22H05621 力学的細胞間相互作用によるタイリングパターン制御機構の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	佐藤 純	金沢大学・新学術創成研究機構・教授	1
A01 公	22H05622 造血の加齢変化における幹細胞競合パラドックスの解明	令和4年度 ～ 令和5年度	田所 優子	金沢大学・がん進展制御研究所・助教	1
A01 公	22H05623 精子幹細胞競合の in vivo・in vitro 解析システムの構築と分子基盤解明	令和4年度 ～ 令和5年度	高島 誠司	信州大学・学術研究院繊維学系・准教授	1
A01 公	22H05627 幹細胞ニッチを介した競合的選択による細胞集団の最適化	令和4年度 ～ 令和5年度	長澤 丘司	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	1
A01 公	22H05633 哺乳類発生休止の最適化における胚細胞の競合的コミュニケーション	令和4年度 ～ 令和5年度	高岡 勝吉	徳島大学・先端酵素学研究所・准教授	1
A01 公	22H05634 肝臓における幹細胞の多様性と競合的コミュニケーションの理解	令和4年度 ～ 令和5年度	鈴木 淳史	九州大学・生体防御医学研究所・教授	1
A01 公	22H05635 体外胚培養システムの構築による哺乳類器官形成期の組織自律性の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	諸石 寿朗	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授	1
A01 公	22H05637 細胞の組織からの離脱と組織の修復を両立させる、細胞社会における細胞終焉機構の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	川根 公樹	京都産業大学・生命科学部・准教授	1

A01 公	22H05638 糖感知が細胞競合に果たす役割の 解明	令和4年度 ～ 令和5年度	佐野 浩子	久留米大学・付置研究所・講 師	1
A01 公	22H05639 生殖細胞の進化的競合がもたらす 発生・遺伝の自律効果の検証	令和4年度 ～ 令和5年度	池田 達郎	基礎生物学研究所・生殖細胞 研究部門・特任助教	1
A01 公	22H05640 ニッチ細胞スクリーニングで切り 開く新しい幹細胞競合モデル	令和4年度 ～ 令和5年度	森本 充	国立研究開発法人理化学研 究所・生命機能科学研究セ ンター・チームリーダー	1
A01 公	22H05642 細胞集団の自律性を司る競合的コ ミュニケーションと互惠的コミュ ニケーションの連携	令和4年度 ～ 令和5年度	高田 慎治	大学共同利用機関法人自然 科学研究機構(機構直轄研究 施設)・生命創成探究センタ ー・教授	1
A01 公	22H05643 インプリンティング異質性の解消 に細胞競合が果たす生物原理の解 明	令和4年度 ～ 令和5年度	森 雅樹	国立研究開発法人国立循環 器病研究センター・研究所・ 室長	1
A01 公	24H01391 多細胞生命自律性を支える細胞競 合を介した恒常性維持機構の理解	令和6年度 ～ 令和7年度	小川 基行	順天堂大学・生命薬学領域 (薬学部)・助教	1
A01 公	24H01387 生殖細胞間の競合的な細胞質の獲 得による生存競争の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	木村 健二	北海道大学・遺伝子病制御 研究所・講師	1
A01 公	24H01398 3D力学動態モデリングによる細 胞競合現象の理論的な理解	令和6年度 ～ 令和7年度	奥田 覚	金沢大学・ナノ生命科学研 究所・准教授	1
A01 公	24H01406 ヒト細胞競合モザイク疾患の疾患 概念確立と病態解明	令和6年度 ～ 令和7年度	久保 亮治	神戸大学・医学研究科・教授	1
A01 公	24H01402 幹細胞におけるニッチの変容を介 した競合的選択による細胞集団の 最適化とその分子機構	令和6年度 ～ 令和7年度	長澤 丘司	大阪大学・大学院生命機能 研究科・教授	1
A01 公	24H01416 細胞接着因子のリモデリングによ る癌細胞排除機構の解析	令和6年度 ～ 令和7年度	青木 一洋	大学共同利用機関法人自然 科学研究機構(機構直轄研 究施設)・生命創成探究セン ター・教授	1
A01 公	24H01389 ヒト胚着床オルガノイドモデルを 活用した母子間競合的細胞コミュ ニケーションの解析	令和6年度 ～ 令和7年度	柴田 峻	東北大学・医学系研究科・助 教	1
A01 公	24H01394 1細胞から細胞集団までの競合的 コミュニケーションが組織全体に	令和6年度 ～ 令和7年度	西川 星也	東京大学・大学院総合文化 研究科・特別研究員	1



	及ぼす力学的作用				
A01 公	24H01393 多細胞化の起源を秘める菌類の排 他的コミュニケーションの解明	令和6年度 ～ 令和7年度	小田 有沙	東京大学・大学院総合文化 研究科・助教	1
A01 公	24H01415 s y n N O T C H システムを使っ たニッチ細胞スクリーニングと幹 細胞競合モデル	令和6年度 ～ 令和7年度	森本 充	国立研究開発法人理化学研 究所・生命機能科学研究セ ンター・チームリーダー	1
A01 公	24H01396 力学的細胞間相互作用における力 の発生メカニズム	令和6年度 ～ 令和7年度	佐藤 純	金沢大学・新学術創成研究 機構・教授	1
A01 公	24H01413 空間バーコード可視化による生殖 細胞のクローン競合機構の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	池田 達郎	基礎生物学研究所・生殖細 胞研究部門・特任助教	1
A01 公	24H01405 T o l l 受容体群を介した異所的 細胞排除機構による多細胞生命自 律性の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	梅津 大輝	大阪大学・大学院理学研究 科・講師	1
A01 公	24H01417 インプリンティング・モザイクを 解消するエンターシス競合の生理 的役割の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	森 雅樹	国立研究開発法人国立成育 医療研究センター・小児生 理学部・部長	1
A01 公	24H01414 3次元細胞シミュレーションによ る細胞排除のメカニクスの理解	令和6年度 ～ 令和7年度	小山 宏史	基礎生物学研究所・初期発 生研究部門・助教	1
A01 公	24H01400 メカニカルコンペティションの遺 伝学的解析	令和6年度 ～ 令和7年度	井川 敬介	名古屋大学・理学研究科・助 教	1
公募研究 計 32 件 (廃止を含む)					

[1] 公：公募研究

[2] 公募研究は研究代表者が1名で実施

## 研究領域全体に係る事項

### 4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

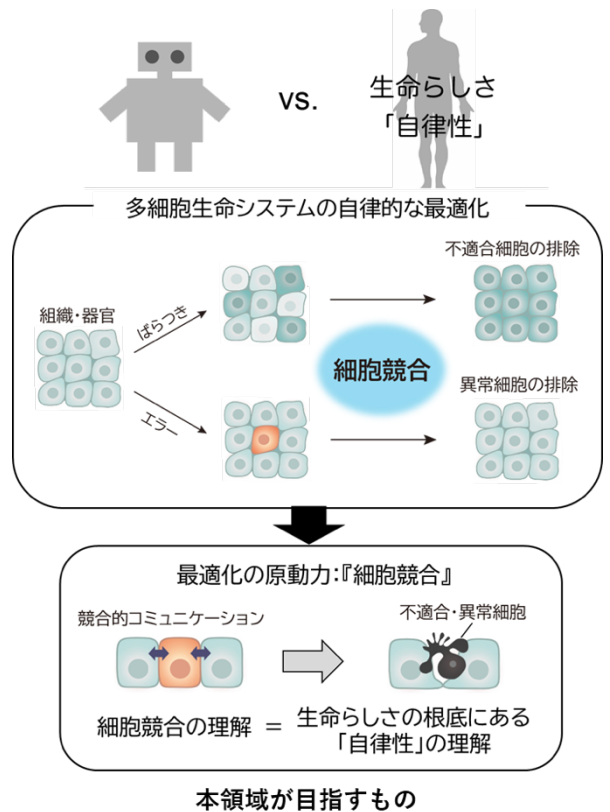
#### 学術的背景と研究目的

多細胞生命システムが無生物と決定的に異なるのは、そのシステムが自律性をもっていること、すなわち自発的に組織や器官を構築し、その構造や機能を自ら最適化できる点にある。個体発生やオルガノイドを対象とした様々な細胞間の協調機構の研究から、細胞集団が自発的に構造を作り出す仕組みが徐々に明らかになりつつある。しかし、その形成・維持過程において、細胞集団が自身の構造・機能を最適化するメカニズムはほとんどわかっていない。その理由として、細胞集団レベルの自己最適化現象を捉えてこれを研究するための優れたアプローチが存在しなかったことが挙げられる。このような状況の中、近年のシングルセル解析技術の進歩により、これまで均一と考えられてきた様々な細胞集団の中には実は「ばらつき」が存在し、そのばらつきが時間経過とともに解消されることがわかってきた。また、細胞

集団の中に性質や状態がわずかに異なる細胞が生まれた際、細胞間の相互作用を介して異質な細胞が積極的に排除される「細胞競合」と呼ばれる現象が存在することがわかってきた。細胞競合は、単独では生存できる「やや異質な」細胞が、正常細胞と共存した場合には集団から競合的に排除される現象で、これにより様々な細胞集団の構造・機能が最適化されることが本領域の計画研究代表者らの以前の研究により明らかになった。そこで本領域研究では、細胞間の競合的コミュニケーションというこれまでになかった視点から、多細胞生命システムの自律性という「生命らしさ」の最大の謎の一つに迫る（右図）。

これを達成するため、日本がこれまで世界をリードしてきた細胞競合研究の強みを結集し、細胞の競合的コミュニケーションの動作原理とその生理的役割の包括的な研究を飛躍的に発展させるとともに、得られた知見から多細胞生命システムの自律性が生み出される原理を解くために必要な方法論と専門分野を加えた統合的アプローチを推進する。具体的には、多様な競合的コミュニケーションの分子機構を解明するとともに、様々な生物種における細胞競合のマスターレギュレーターや特異的のマーカ

分子を同定し、細胞競合現象を生体内で捕捉・可視化・制御し、多様な細胞競合の生理的役割を解明する。一方で、多細胞集団内で競合する細胞間の空間マルチオミクス解析技術を開発し、領域研究を大きく加速させる。また、細胞競合の再構成、人工設計、数理モデリング解析等の領域内共同研究を通じて、細胞の競合的コミュニケーションの動作原理と普遍法則を理解し、細胞集団が自律的に自身の機能・構造を最適化する原理を解明する。多細胞生命システムがもつ自律性の生成原理を理解するには、競合的コミュニケーションの動作原理の解明のみでは不十分であり、得られたデータを基に個々のコミュニケーションが細胞集団の自律性を生成するロジック、つまり多細胞システム内の変化・乱れに応答する細胞の動態がどのようにシステムを最適な状態に導くのかを解明する必要がある。そこで、「分子基盤」研究と「自律性生成原理」の研究を相互にフィードバックしながら同時進行することで、本領域の目標を達成する。これにより、これまでの生命システム研究に変革と転換をもたらすと同時に、基礎生物学・医学など様々な学問分野に新たな研究視点と波及効果をもたらす新次元の研究領域へと発展・昇華させていく。



どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか

本領域は、日本が世界的にリードしてきた細胞競合の分子機構と生理的役割の統合的理解を通じて、**多細胞生命システムの自律性の生成原理に迫る**ものである。細胞競合とは、隣接する細胞間の相互作用を介して一方の細胞が集団から排除される現象である。このとき、集団から排除される細胞を細胞競合の「敗者」、集団に残って生存する細胞を「勝者」と呼ぶ。例えば、細胞集団内で生存能や増殖能が低下しない程度の変異をもった細胞（敗者）でも、野生型細胞（勝者）に近接すると細胞死や細胞離脱を起こして排除される。すなわち細胞競合は、ある細胞の「生存運命」が近接する細胞との質の差によって決定されるという、他の細胞間コミュニケーションには見られない独自のルールを細胞集団にもたらすものであり、異常細胞の排除を通じて細胞集団のクオリティを最適化する役割を果たすと考えられる。これまで細胞競合の分子機構については、本領域の計画研究代表者である井垣 (*Nature*, 2012, 2017 ; *Dev Cell*, 2009, 2011, 2016, 2019, 2020 他) や藤田 (*Nat Cell Biol*, 2009, 2017 ; *Nat Commun*, 2014 ; *Curr Biol*, 2020, 2021, 2022 他) が世界をリードする成果を挙げてきた。一方、生理的な細胞競合現象として、マウス着床前胚の多能性細胞集団（エピブラスト）において集団内に自然発生する多能性の低い細胞が細胞競合によって排除され、これにより多能性細胞集団の品質と多細胞構造が最適化されることが本領域の佐々木によって見いだされた (*Dev Cell*, 2019)。また、マウス成体の表皮幹細胞集団において種々のストレスを受けた幹細胞が細胞競合によって排除され、これにより皮膚の老化が抑えられることが西村によって明らかにされた (*Nature*, 2019)。さらに、ゼブラフィッシュの胚発生過程において、細胞の位置情報を規定するモルフォゲン勾配を乱す異常細胞が自然発生するが、これらの細胞が細胞競合によって排除されることで頑強なモルフォゲン勾配が自律的に形成されることが石谷によって見いだされた (*Nat Commun*, 2019)。このように、細胞間の競合的コミュニケーションは細胞集団内に生まれた不適合細胞や異常細胞を排除し、集団全体の機能・構造を最適化できる特別なツールであり、多細胞生命システムが自律性を生み出す要の一つであるといえる。したがって、**細胞競合を本質的に理解することで、多細胞生命システムの自律性の生成原理に迫ることができる**と考えられる。このような着眼点とそれに基づいた独自の研究領域の構築は、本領域計画研究代表者らが世界に先駆けて発見してきた現象に立脚したものであり、世界的にみても他に例のない、これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる試みである。

上述の目標を達成するため、本領域研究では設定期間終了までに以下の6つの課題をクリアすることを領域設立当初から明確に打ち出し、領域研究の推進と領域内共同研究の促進を行ってきた。

1. 細胞競合を誘発する細胞間の質の差の解明
2. 細胞競合のコア経路の解明
3. 細胞競合マーカー分子の同定
4. 生理的細胞競合の役割と動作原理の解明
5. 空間マルチオミクス解析技術の開発
6. 多細胞集団の自律性生成メカニズムの解明

領域終了後には、細胞競合の基本メカニズムが明らかになり、細胞競合を駆動する細胞の「フィットネス（適応度）」を規定する分子が明らかになり、細胞競合を生体内で捉え、その生理的役割を理解することができるようになることを目指す。また、種を超えて保存された細胞競合の普遍原理を理解することを目指す。さらに、細胞競合の理解を通じて、細胞集団が競合的コミュニケーションを介して多細胞生命システムに自律性を生み出す原理を理解することを目指す。これらの目標が達成されれば、細胞集団の競合的ふるまいから生命システムの動作原理を解く新たな生命システム研究の領域が開拓され、その成果は広く基礎生物学や医学に新たな視点と研究スタイルをもたらすものと期待される。将来的には、細胞競合を生体内で可視化し、これを人為的に制御する方法論を確立することで、がんをはじめとする様々な疾患の理解やその治療戦略の構築に貢献するものと期待される。

本領域研究は、以下の4名の領域アドバイザーから適宜アドバイスと評価をいただきながら推進している。Ginés Morata 博士（マドリッド自治大学）、西田栄介博士（理化学研究所 生命機能科学研究センター）、菊池章博士（大阪大学 感染症総合教育研究拠点）、三浦正幸博士（東京大学 大学院薬学系研究科）

## 5 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### 採択時の審査結果の所見

採択時の「審査結果の所見」として、以下のような指摘をいただいた（原文記載）。

『本研究領域の代表者や中心となる構成員は、細胞集団の中に存在する異質な細胞を細胞間の相互作用を介して排除することで、細胞集団のばらつきを解消し、品質や構造を最適化する細胞競合現象の解析を分子細胞生物学的に進め、この分野を発展させてきた。初期の研究では、人工的な系で作られた環境の中で明らかにされた現象であるが、現在までに、細胞競合現象は、ヒトを含む様々な動物種で見出されている。本研究領域は、細胞競合を多細胞生命システムの自律性によって構造や機能を最適化する現象と捉え、その本質を明らかにすることを目指しており、この分野で世界の最先端を走る研究者が異分野統合的に参加する、学術の変革に相応しい研究計画であって、学術体系の再構築が期待される。

また、これまでの研究で細胞競合現象の本質に迫る多くの因子が見出されている。計画研究者の間でこれら因子の共有化を進める本研究計画は、領域代表者のリーダーシップが十分に認められ、その成果が期待される。

一方、細胞競合が生命現象、病態理解や細胞機能でどの程度のインパクトを持つのかに関しても、十分に検討されるべきである。多細胞生物の発生、そして恒常性の維持に直接関与している細胞競合に関する系統的な研究計画は、提案されているモデルを見る限りでは、今後の見通しを含め十分な再検討が必要である。』

### 本領域における対応状況

まず、「細胞競合が生命現象、病態理解や細胞機能でどの程度のインパクトを持つのかに関しても十分に検討されるべきである」との指摘をいただいた。細胞競合が多細胞システムの構築・維持・破綻にどのようなインパクトを持つのかを理解するには、まず細胞競合の分子機構を解明し、その特異的のマーカ分子を見出し、それをを用いて生理的あるいは病態における細胞競合を捕捉するとともに、細胞競合を人為的に制御してそのアウトプットを検証する必要がある。細胞競合の分子機構については、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、哺乳類培養細胞、およびマウスにおける様々な細胞競合現象の動作原理の解析を領域全体で進めており、種を超えた細胞競合制御因子候補を領域内ですでに複数見出すことに成功している（2022年12月および2023年9月に開催した領域班会議において領域全体の総合討論を開催して確認）。細胞競合の特異的のマーカ分子については、ショウジョウバエ上皮組織において種々の変異によって引き起こされる細胞競合の敗者細胞で共通して転写因子 Xrp1 の発現誘導およびそれを介した翻訳開始因子 eIF2 $\alpha$  のリン酸化が起こることを見いだしており、Xrp1 および eIF2 $\alpha$  のリン酸化を細胞競合マーカーとして利用できることを見いだした（井垣班）。また、ゼブラフィッシュにおける RNA-seq 解析を通じて、種々のトリガーによって引き起こされる細胞競合の敗者細胞で共通して発現上昇する分子（転写因子）をゼブラフィッシュおよびマウスにおいて種を超えた細胞競合マーカーとして利用できることを見いだした（石谷班・佐々木班；「6.研究の進展状況及び主な成果」の非公開部分参照）。これらの細胞競合マーカー候補分子、および今後領域内で見いだされるマーカー分子群を用いて種々のモデル動物において生理的な細胞競合を捕捉し、細胞競合を人為的に操作することで、細胞競合の生命現象や細胞機能におけるインパクトを解明していく。

一方、病態における細胞競合のインパクトを理解することを目的として、ショウジョウバエ、哺乳類培養細胞、およびマウスの系で正常細胞-がん原性細胞間の細胞競合の分子機構解析を進めている（井垣班、藤田班）。加えて、マウスを用いてがん制御における細胞競合の役割とその機構を解析する研究を公募班として取り込んで解析を進めた（公募班：諸石）。これらの解析から得られるデータを相互にフィードバックしながら検証を進め、領域内共同研究を促進することで、がんの発生・進展における細胞競合の役割とその動作原理の解明を進めている。加えて本領域研究においては、インプリンティング病（ベックウィズ・ヴィーデマン症候群）の発症・消退過程に細胞競合が関わるという可能性（公募班：森）、ミベリ型汗孔角化症の病変の拡大に細胞競合が関わるという可能性（公募班：久保）、および白血病の進展において

変異造血幹細胞が正常な造血幹細胞を競合的に排除する「造血幹細胞競合の新仮説」(公募班:長澤)を見いだしており、これらの解析を進めることで病態における細胞競合のインパクトの解明を進めている。

次に、「多細胞生物の発生、そして恒常性の維持に直接関与している細胞競合に関する系統的な研究計画は、提案されているモデルを見る限りでは、今後の見通しを含め十分な再検討が必要である」との指摘をいただいた。この点に関しては、まず正常発生過程での細胞競合現象である**マウス着床前胚のエピブラストでの細胞競合**の解析(佐々木班)に加えて、**着床後胚**(公募班:諸石)および**休眠胚**(公募班:高岡)、さらには**ヒト胚着床オルガノイドモデル**(公募班:柴田)において細胞競合を解析する研究を公募班として取り込み、発生過程における細胞競合の機構と役割の普遍性・多様性の解析を加速させた(※高岡は学術変革領域研究(B)の立ち上げに伴い本領域公募班員の資格を喪失したが、現在も「班友」として共同研究を進めている)。また、**マウス肝臓の発生・再生過程**で肝幹細胞間の競合的コミュニケーションを解析する研究(公募班:鈴木)、**マウス始原生殖細胞間**の競合的な相互作用を解析する研究(公募班:池田)、および**線虫生殖細胞間**の細胞質の競合的な獲得機構の研究(公募班:木村)を公募班に取り込み、多様な組織や細胞種における生理的細胞競合の研究を強化した。さらに、ゼブラフィッシュ胚において自然発生するモルフォゲンシグナル異常細胞が細胞競合によって排除されることで**Wnt モルフォゲン勾配が最適化される現象**の解析(石谷班)を補完・促進するため、**マウス胚**において細胞間のWntリガンドの相互交換が細胞競合のきっかけとなる異常細胞の出現を防ぐ仕組みを解析する研究(公募班:高田)を取り込んで領域研究を加速した。以上のように、計画班で解析する発生や恒常性維持における細胞競合の研究を相互補完的・相乗的に促進する研究を公募班として取り込み、領域内共同研究を強く促すことで本指摘に対応している。

最後に「数理解析については、この分野の専門家を公募研究で募集するなど、公募研究においては計画研究のみでカバーできない人材を広く募集することが望まれる」との指摘をいただいた。この点については、計画研究(平島班;当初は計画班員であったがシンガポールへの異動により科研費受領資格を喪失し計画班からは外れたが現在も「班友」として領域研究を継続)のみでカバーできない数理の専門家を公募研究で取り込むことに成功した。具体的には、**力学的細胞間相互作用**をショウジョウバエ遺伝学と数理モデリングを用いて解析する研究(公募班:佐藤)、**3次元細胞シミュレーション**による細胞排除における力学的作用の理論解析(公募班:小山)、**3D力学動態モデリング**による細胞競合現象の理論解析(公募班:奥田)、および実験データから数理モデルを用いて**細胞競合の性質を推定・定量化**する研究(公募班:西川)を取り込んだ。西川は以前に細胞競合の数理モデリングの実績があり、領域内で研究する様々な細胞競合現象をモデル化できる感触をすでに得ている(2022年12月および2023年9月開催の領域班会議、および2024年3月開催の細胞競合コロキウムにて確認)。これら新進気鋭の若手数理・力学研究者を公募班員として取り込むことで、本領域の数理解析グループを大きく強化することに成功した。数理解析以外に関しても、細胞競合の力学的なメカニズムを解析する研究(公募班:大橋、青木)、ショウジョウバエやマウスにおける細胞脱落のメカニズムを解析する研究(公募班:川根)、ショウジョウバエを用いてメカニカルコンペティションの分子機構を解析する研究(公募班:井川)、ショウジョウバエを用いて異常細胞の認識・排除システムを解析する研究(公募班:梅津)、および菌類の競合的コミュニケーションを解析する研究(公募班:小田)を取り込むことに成功した。これら数理解析および多様な細胞競合関連研究を行う専門家を集められたことで、細胞競合を多角的に理解するための研究を強力に推進し、本指摘に対応している。

## 6 研究の進展状況及び主な成果

- (1) 及び(2)について、計画研究及びそれと連携している公募研究ごとに、具体的かつ簡潔に記述すること。  
(一つの計画研究及び連携する公募研究で2頁以内)
- (1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか
- (2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果について、(計画研究・連携する公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。)

### 計画研究①

研究代表者 井垣 達吏

「多様な細胞競合現象の同定とその普遍的法則および生理的意義の解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

本研究では、ショウジョウバエ遺伝学を駆使し、発生中の器官原基細胞集団内で細胞競合を引き起こしうる遺伝子変異を網羅的に同定してその分子機構を解明することで、細胞競合の多様性とその普遍的法則を見いだすことを目指す。また、細胞競合のマスター制御因子や特異的マーカー分子を同定し、その生理的役割を解明することを目指す。中間評価時現在までに、細胞競合トリガーの大規模な網羅解析によりショウジョウバエにおける細胞競合がその分子機構により3種類に分けられることを見いだすとともに、その機構解析を通じて細胞競合の普遍法則に関わる分子機構、生理的役割、および細胞競合のマスター制御因子と特異的マーカー分子の有力候補を同定することに成功した(以下に記載)。

(2) 本計画研究で得られた成果、及び本計画研究と連携している公募研究で得られた成果

細胞競合を引き起こすトリガー(遺伝子変異)を網羅的に同定するため、大規模なショウジョウバエ遺伝学的スクリーニングを実施し、87の新規細胞競合トリガー変異を単離した。これらの細胞競合の分子機構解析により、ショウジョウバエにおける細胞競合は①Xrp1(bZip型転写因子)依存型、②TNF依存型、③スーパーコンペティションの3種類に分類されることを見いだした。また、生体内で起こる生理的な細胞競合の多くは「Xrp1依存型細胞競合」であると考えられた(投稿準備中)。このような網羅的・体系的な細胞競合誘発因子の解析は世界的にも例がなく、細胞競合現象を捉え直してその本質を理解するための重要な足掛かりとなる成果となった。以下にこれらの細胞競合の分子機構解析の進捗を記す。

①「Xrp1依存型細胞競合」の分子機構として、敗者細胞においてXrp1が発現誘導され、これにより統合的ストレス応答シグナル(PERK-eIF2 $\alpha$ 経路)が活性化して細胞排除が起こることを見いだした(Ochi *et al*, *PLoS Genet* 2021)。また、PERK-eIF2 $\alpha$ 経路により起こる「勝者-敗者細胞間のタンパク質合成量の差」が敗者細胞にオートファジー依存型細胞死を誘導することを見いだした(投稿準備中)。これらのことから、Xrp1発現誘導およびeIF2 $\alpha$ リン酸化を細胞競合のマーカー分子として利用できることがわかった。Xrp1の発現誘導は細胞競合の誘導に十分であったことから、Xrp1の発現レベルが細胞の「フィットネス(適応度)」を決定づけることがわかった。さらに、敗者細胞におけるXrp1の発現誘導機構(すなわちフィットネス決定機構)として、リボソーム小サブユニットの構成分子RpS27Aが必須の役割を果たすという驚くべき事実を見いだした。RpS27Aはリボソーム内で隣接するRpS12と協調してXrp1を発現誘導し、敗者細胞の排除を引き起こすことがわかった。一方、「Xrp1を発現誘導した細胞が野生型細胞に近接するとオートファジー依存型細胞死を引き起こす」という、細胞競合の根幹を成す細胞非自律的な分子機構の解明に大きく迫る一連のデータを得ることに成功した(※これらの詳細は非公開部分に記載)。

②「TNF依存型細胞競合」の分子機構については、これまでに細胞死・細胞排除・食食に関わる制御因子を見いだしてきた一方で、細胞排除のコアとなるTNFシグナルの活性化メカニズムが未解明の重要課題であった。そのような中、米国のグループが「敗者細胞では極性崩壊によりTNF受容体が上皮の頂端側から基底側へ移動し、基底側に局在するTNFと結合する」という仮説を提唱した(de Vreede *et al*, *Science*, 2022)。しかし、この仮説は上記遺伝学的スクリーニングにより見いだした多数の「TNF依存型細胞競合」に一般化できる仕組みではないことがわかり、別の共通メカニズムの存在が示唆された。そこで、TNFシグナル活性化機構の解析を進めた結果、エンドサイトーシス経路を介した新たなTNFシグナル活性化の共通機構を見いだして本課題の解明に大きく近づいた(※詳細は非公開部分に記載)。一方、TNF依存型細胞競合の生理的役割の1つとして、生殖幹細胞のニッチの形態形成およびそれを介した卵

産生能の向上に貢献することを見いだした (Taniguchi and Igaki, *PLoS Genet* 2023)。

③「スーパーコンペティション」の分子機構の遺伝学的解析を進め、Hippo 経路変異細胞 (勝者) では TOR シグナルの活性化によりタンパク質合成量が上昇し、これにより近接する野生型細胞 (敗者) がオートファジー依存的な細胞死を起こすことを見いだした (Nagata *et al.*, *Curr Biol* 2022)。上記①の「Xrp1 依存型細胞競合」においても勝者-敗者細胞間のタンパク質合成量の差が敗者細胞のオートファジー依存的細胞死誘導に必須であったことから、本機構は細胞競合の普遍法則の 1 つである可能性が高い。

## 井垣班と連携している公募研究の成果

### 公募班代表 西川 星也

競合的コミュニケーションによる自律性の生成メカニズムを理解するため、細胞集団の境界で複雑な形状を取ることが可能な連続体モデルを構築して数理解析を行い、勝者-敗者境界では局所的な力が細胞集団に働いている可能性を見いだした。また、井垣班との共同研究により、細胞競合により極性崩壊細胞が組織から排除される現象の数理解析を進め、腫瘍形成原理の理論的な理解に近づいた。

## 計画研究②

### 研究代表者 藤田 恭之

#### 「細胞競合の普遍的制御分子の同定とその動作機序の解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までに何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにどこまで研究が進んでいるのか

細胞競合は、細胞集団内に生まれた異常細胞や変異細胞を積極的に集団から排除する。これまでに、哺乳類培養細胞やマウスモデルにおいて正常上皮細胞層中にごん原性変異が生じると、隣接する正常細胞との間で細胞競合が生じ、変異細胞が管腔側への逸脱や細胞死によって除去されることを見いだしてその機構を解明してきた。本研究では、ごん原性変異に加えて代謝異常、細胞老化など様々な機能低下・異常細胞との細胞競合へと研究対象を拡大し、正常上皮細胞と様々なタイプの異常細胞の境界で普遍的かつ細胞競合特異的に機能する分子群を網羅的に探索・同定する。中間評価時現在までに、異常細胞が排除される分子メカニズムと、その破綻によって引き起こされるごん制御機構の解明を進めた (以下に記載)。

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

#### ① 上皮細胞層からの異常細胞逸脱における細胞外 ATP の役割の解明

上皮層における細胞の管腔側への逸脱 (apical extrusion) を制御する分子メカニズムを調べた。まず、ごん原性変異細胞あるいはアポトーシス死細胞が上皮細胞層から管腔側へ逸脱する際に、上皮層全体の活性酸素 (ROS) レベルが上昇することを見いだした。ROS レベルを低下させると、管腔側への細胞の逸脱が抑制された。さらに、逸脱する細胞から細胞外へと放出される ATP が ROS の上昇を誘起していることがわかった。加えて、細胞外 ATP とそれに伴う ROS 上昇が逸脱する細胞の周囲細胞の運動能を亢進し、これが apical extrusion を正に制御することを見いだした。このように、逸脱する細胞から放出される ATP が「extrude me」シグナルとして普遍的に働き、上皮の恒常性維持に重要な役割を果たすことが明らかになった (Mori *et al.*, *Curr Biol* 2022; 計画班・石谷との共同研究)。

#### ② 細胞競合における新規制御因子 AHNAK2 の発見

正常細胞とごん原性変異細胞の間で生じる細胞競合を制御するメカニズムの解明を目指した。まずリン酸化 SILAC スクリーニングを行い、正常細胞と変異細胞の共培養条件下でリン酸化が亢進するタンパク質として AHNAK2 を同定した。AHNAK2 のリン酸化は、変異細胞に隣接する正常細胞において PKC 依存的に亢進していた。また、変異細胞に隣接する正常細胞では一過性に生じるカルシウム上昇が観察され、この現象をカルシウムスパークと命名した。カルシウムスパークの上流でメカノセンシティブカルシウムチャンネル TRPC1 が機能していることがわかった。カルシウムスパークは上皮の流動性を亢進させ、それによって変異細胞の管腔側への逸脱が亢進することがわかった。このように、AHNAK2 とカルシウムスパークが細胞競合現象の早期で機能する

制御因子であることが明らかになった (Kuromiya *et al.*, *Cell Reports* 2022; 計画班・石谷との共同研究)。

### ③ 単層上皮の多層化における COL17A1 と CD44 の役割の解明

単層上皮層において、がんの初期段階ではポリープなど多層構造をとることが知られているが、どのような分子メカニズムで単層から多層への移行が生じるかについては明らかでなかった。そこでまず、多層化を生じる Ras、Src、ErbB2 などのがん原性の変異によって、膜タンパク質 Collagen XVII (COL17A1) と CD44 が集積することを見いだした。COL17A1 と CD44 の集積は、多層上皮構造でも特に最上層の細胞で亢進していた。集積した COL17A1 と CD44 はミトコンドリア膜電位およびそれに伴う ROS 産生を抑制し、細胞層からの逸脱によって生じるフェロプトーシスへの抵抗を付与することによって、多層化を促進することがわかった。また CD44 が COL17A1 の上流で機能していることも明らかになった。以上のことから、単層上皮細胞がどのように自らの恒常性を維持し、その構造を保っているかを示すとともに、**COL17A1 と CD44 ががんの初期段階で生じる重要なステップを制御する因子**であることを明らかにした (Kozawa *et al.*, *Curr Biol* 2021; Ito *et al.*, *PNAS* 2023) (公募班・小川との共同研究)。

### 藤田班と連携している公募研究の成果

#### 公募研究代表者 小川 基行

哺乳類培養細胞系において、Scrib 欠損が誘導する細胞競合、Ras および Src 変異細胞が排除される細胞競合でいずれも FGF21 が必要であることを見いだした。さらに、上皮細胞層において異常細胞が管腔側へ逸脱しアポトーシスへの抵抗性を獲得する過程において、ASK1 が関与しないことを示した (Ito S *et al.*, *PNAS* 2023; 計画班・藤田との共著)。

#### 公募研究代表者 井川 敬介

野生型および Ras 変異型 MDCK 細胞の混合系において、力学的な測定を実施し、この混合系では野生型または Ras 変異型 MDCK 細胞の単一細胞種集団とは異なる力学的な性質を示すことを明らかにした。さらに、数理モデルを用いた解析を実施し、異種細胞混合系における力学的な性質の変化が誘導される物理条件についても明らかにした (Gauquelin *et al.*, *European Physical Journal E* 2024; 計画班・藤田との共著)。

#### 公募研究代表者 森本 充

上皮細胞層から基底側へ逸脱した Ras 変異細胞が **dome-like structure** という新規のがん微小環境を形成することを見だし、がんの超初期段階で生じるプロセスに細胞間コミュニケーションが関与していることを明らかにした (Shirai *et al.*, *Cancer Science* 2022; 計画班・藤田との共著)。

#### 公募研究代表者 大橋 一正

計画班・藤田との共同研究により、哺乳類培養細胞系での細胞競合の勝者 (正常細胞) の Solo を発現抑制した結果、変異細胞出現時の初期段階で変異細胞との接着面における正常細胞のケラチン繊維とデスモソームを形成するカドヘリン分子である Desmoglein-2 の集積が抑制されることを明らかにした。



### 計画研究③

研究代表者 小田 裕香子 (研究分担者 大谷 哲久)

「細胞間接着を起点とした細胞競合の分子機構とその生理的制御機構の解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

上皮細胞間の接着は、多細胞生命システムの構築と自律性に重要な役割を果たしている。これまでに、哺乳類細胞培養系において、細胞間接着分子 ZO-1/ZO-2 を欠失した細胞が正常細胞に近接すると細胞競合によって排除されることを見いだすとともに (未発表)、ZO-1 を介して細胞間接着を誘導する生体由来因子 (新規ペプチド JIP) を同定することに成功した (Oda *et al.*, *Sci Adv* 2021)。一方、計画班・井垣によりショウジョウバエにおいては細胞間接着構成因子の変異が、計画班・石谷によりゼブラフィッシュにおいては細胞間接着分子の勾配の乱れが細胞競合を起こすことを見いだされており、細胞間接着の活性・状態が細胞競合の制御に重要であることが強く示唆されている。JIP は細胞間接着制御を介して損傷組織の修復に寄与するが、ショウジョウバエ上皮組織の修復に細胞競合制御分子が関与することも報告されている。以上の知見を踏まえ、本研究では細胞間接着制御を起点とした細胞競合の動作機序と制御方法の確立を目指す。培養細胞系およびマウスを用いて、細胞生物学、*in vitro* イメージング、空間オミクスを駆使して細胞競合における細胞間接着の動態と役割を解析するとともに、JIP を介した細胞間接着の誘導・制御による細胞競合のシステム的な制御機構を解明する。中間評価時現在までに、細胞間接着装置を起点とした細胞競合の分子機構を解明し、制御に向けた実験系を確立した (以下に記載)。

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

#### ① 上皮力学ストレスに対する細胞間接着の役割

これまでに、上皮組織が力学ストレスに耐えるためには接着結合およびデスモソームが上皮組織の力抵抗性に重要であることは確立しているが、密着結合の役割は不明だった。我々は密着結合の膜タンパク質を欠損した細胞において細胞間接着構造が力学ストレスによって崩壊することを見だし、密着結合が上皮組織の力抵抗性を制御することを初めて明らかにした (Nguyen, *Otani et al.*, *JCB* 2024)。

一方で、細胞間接着が力学ストレスなど様々な要因で破綻した際に、どのようにしてそれを検出・修復して上皮恒常性を保つかは十分理解されていない。我々は ZO-1/ZO-2 double KO 細胞が MDCK II 細胞と共培養した際に排除されるとの現象を見いだした。この細胞間接着が破綻した細胞が排除されることにより上皮バリアの指標である経上皮電気抵抗が正常レベルにまで回復することから、上皮組織においては細胞間接着が破綻した細胞を排除することにより上皮バリアの恒常性を維持する仕組みがあることが明らかとなった。

### 連携している公募研究の成果

公募研究代表者 佐藤 純

多細胞生物の発生過程において、細胞同士は物理的な力によって力学的に競合する。ショウジョウバエの複眼を構成する個眼同士が押し合って六角形タイルパターンを形成する現象に着目して解析を行った結果、力学的細胞間相互作用によるパターン形成機構を解明した (Togashi *et al.*, *Dev Biol* 2024; Hayashi *et al.*, *Curr Biol* 2022)。さらなる解析により、この過程では細胞膜張力と細胞内圧の2つの力が重要な役割を果たし、そのどちらも個眼細胞内に放射状に配置した放射状アクチン繊維によって伝達されることがわかった。現在、小田班・大谷との共同研究によって放射状アクチンの微細構造の解析を進めており、これを介した力のフィードバックの分子基盤を解明していく。

公募研究代表者 小山 宏史

細胞間相互作用の力推定法の開発を小田班・大谷との共同で行っている (Koyama *et al.*, *PLoS Comput Biol* 2023; 大谷との共著およびリバイス中論文)。これまでに細胞のトラッキングデータより細胞間相互作用の力推定を行う方法を確立し、力学的な相互作用が重要な役割を果たしている細胞間接着を起点とした細胞競合における細胞間相互作用の力推定、および細胞間相互作用に ROCK や Afadin が与える影響の解析を進めている。

## 計画研究④

研究代表者 石谷 太

「モルフォゲン勾配システムの自律性を支える細胞競合の物理化学的基盤の解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

モルフォゲン勾配は、組織を構成する各細胞に連続した位置情報を与え、場に適合した運命を誘導するシステムであり、組織の構築・再生・維持に必須の役割を果たす。これまでに、ゼブラフィッシュイメーシング解析により、正常な胚発生過程においてモルフォゲン勾配を乱すシグナル異常細胞や DNA ダメージ細胞などが頻繁に自然発生すること、および勾配を乱す異常細胞が細胞接着分子カドヘリンを介した細胞競合によって排除され、勾配が自律的に修復されることを見いだした。すなわち、細胞競合がモルフォゲン勾配システムの自律性を支えることを発見した。そこで本研究では、細胞競合がモルフォゲン勾配システムに自律性をもたらす物理化学的基盤を解明する。中間評価時現在までに、モルフォゲン勾配を乱す異常細胞が隣接細胞によって感知され、排除される一連の物理化学メカニズムを解明し、さらに細胞競合マーカー分子の同定に成功した（以下に記載）。

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

計画班・藤田と連携しながら、前がん細胞の細胞競合による排除のメカニズムの解析を行い、細胞外 ATP (Mori et al., *Curr Biol* 2022; 計画班・藤田との共著)、隣接細胞のカルシウムイオン (Kuromiya et al., *Cell Rep* 2022; 計画班・藤田との共著) などが前がん細胞の排除に関わることを見いだした。また、ゼブラフィッシュイメーシングを利用した前がん細胞動態の詳細な解析により、健康な上皮組織に出現した前がん細胞 (Ras 変異細胞) は隣接細胞による積極的な細胞老化誘導を経て上皮組織から物理的に排除されるが、がん抑制遺伝子 p53 の追加変異が入った二重変異細胞は細胞競合を免れて細胞老化したまま上皮に留まり、炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  や活性酸素 (ROS) を放出することで周辺細胞に異常増殖あるいは二次的細胞老化を誘導して初期腫瘍形成を起こすことを見いだした (下図)。一方で、p53 の変異が事前に入っている上皮や老化細胞が蓄積した上皮は、前がん細胞排除活性を失っており、二重変異細胞と同様の機序で初期腫瘍形成が起こることを突き止めた

(右図; Haraoka et al., *Nat Commun* 2022)。このように、隣接細胞による前がん細胞の細胞老化誘導という新たな細胞競合機構と、細胞競合の破綻を起点とする新たな発がん機構を明らかにした。本研究の傍らで、本研究を推進するために小型魚類のゲノム編集を高速かつ正確に行う技術を確立し (Oginuma et al., *Sci Rep* 2022; Suzuki et al., *Hum Mol Genet* 2022 など)、これらの技術を活かして新たなモルフォゲン勾配制御機構 (Zou et al., *Nat Commun* 2023; Ogamino et al., *npj Aging* 2024) や新たな個体老化機構の発見 (Abe et al., *Science Adv* 2024) に成功した。

以上のように、ゼブラフィッシュ胚において Wnt や Shh モルフォゲン勾配の差が細胞競合を引き起こす分子メカニズムを明らかにした。公募班・高田によってもマウス胚における Wnt シグナルレベルの差が細胞競合を引き起こすことが示され、「細胞競合を誘発する細胞間の質の差」としてモルフォゲン勾配の重要性が明らかになった。さらに、Foxo3 を脊椎動物の細胞競合の共通マーカーとして突き止め、計画班・佐々木と連携して Foxo3 が哺乳類個体の細胞競合においてもマーカーとして使える可能性を見いだしたことから、「細胞競合マーカー分子」として Foxo3 の重要性が示された。



連携している公募研究の成果

## 公募研究代表者 高田 慎治

細胞集団内の不均一性は細胞競合により解消されるが、マウス胚の後端に位置する神経中胚葉前駆細胞集団においては、その前段階として Wnt リガンドの相互交換により Wnt シグナルの格差をできるだけ拡大させない仕組みがあり、細胞競合と協調的に機能していると考えられる。本仮説を検証した結果、Wnt シグナルレベルの不均一性の拡大が細胞競合の出現頻度を高めていることが示唆され、計画班・石谷らの研究成果を支持するものとなった。

## 計画研究⑤

### 研究代表者 佐々木 洋

#### 「マウス胚多細胞システムの自律性を支える細胞競合の分子基盤と動態の解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までに何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにどこまで研究が進展しているのか

マウスの着床前胚は少数の細胞が相互作用しながら自己組織化を行う *in vivo* の多細胞システムである。着床前胚に作られるエピブラストは体のもととなる多能性細胞組織であり、正確に作られることが重要である。これまでに、エピブラストの形成過程では細胞間の遺伝子発現状態に多様性が生じ、多能性因子の発現の低い細胞が細胞競合によって排除されることを明らかにした。しかし、競合の仕組みや個体発生に果たす役割、また細胞競合が胚多細胞システムを自律的にする時空間的な流れはわかっていない。そこで本研究では、1 細胞 RNAseq により競合状態にある細胞の遺伝子発現プロファイルを比較して細胞競合の候補因子を探索し、胚操作により検証する。また、多能性因子の発現を誘導する Hippo シグナルや多能性因子を可視化したマウス胚を作製してライブイメージングを行い、エピブラストの遺伝子発現に多様性を伴う理由、細胞競合が起こる時空間的な条件、細胞競合が周囲の細胞の挙動に与える影響等を解析する。中間評価時現在までに、細胞競合がエピブラスト細胞の分化と配置に自律性をもたらすロジックの一端を解明した（以下に記載）。

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

マウス着床前胚のエピブラスト形成時には、Hippo 経路因子 YAP の核移行のばらつきによる多能性因子の発現レベルのばらつきによって細胞競合が引き起こされる。そこで、細胞競合がエピブラスト細胞の分化と配置に自律性をもたらすロジックを解明するために、まず内在性の YAP を蛍光タンパク質で可視化したノックインマウスを作成してライブイメージングを行ったところ、YAP は細胞分裂時には一過的に細胞内全体に拡散するが、分裂直後には分裂直前と同じ局在を示すことを見いだした。したがって、YAP が細胞分裂を挟んでも細胞分化を連続的に制御することを可能にしていることがわかった (Otsuka *et al.*, *Dev Growth Differ* 2023)。

これまでの研究で、マウス着床前胚における細胞競合では FGF シグナル依存的に細胞死が引き起こされることを見いだした。重要なことに、計画班・藤田および公募班・小川により FGF21 シグナルが *scrib* 欠損細胞、Ras および Src 変異細胞の細胞競合に必要であることが見いだされており、哺乳類における共通の「細胞競合マーカー分子」として FGF シグナルの重要性が示唆された。また、公募研究を含めてマウスを用いた細胞競合解析系の開発および「生理的細胞競合の役割と動作原理の解明」が進んでいる。

## 連携している公募研究の成果

### 公募研究代表者 鈴木 淳史

近年、様々な臓器形成細胞を生み出す幹細胞には多様性が存在することが明らかになってきた。興味深いことに、肝幹細胞集団は一見すると均一な細胞集団に見えるが、増殖能や分化能などの高い細胞と低い細胞が混在することが判明した。そこで、マウス胎仔肝臓で肝幹細胞として働く「肝芽細胞」を分離・回収し、それらの 1 細胞 RNA シークエンス解析を行うことで、肝幹細胞の多様性を解明することに成功した。

## 公募研究代表者 森 雅樹

新生児期に発症するインプリンティング病に細胞競合が関わる可能性について検証した。インプリンティング病遺伝子 H19 の機能欠失マウスの肝細胞では、若齢期から単離された肝細胞でのみ活発なエントローシス活性が認められ、成獣から得られた肝細胞では認められなかった（肝細胞の初代培養系は公募班・鈴木との共同研究により作製）。さらなる解析の結果、H19 機能低下細胞は周辺細胞のエントローシスを介して集団内で優位となり、このエントローシス活性にゴルジ体に関連した小胞輸送が関与することが明らかとなった。今後さらにメカニズム解析を進めることで、細胞競合を介したインプリンティング病の制御が可能になるかもしれない。

## 計画研究⑥

研究代表者 西村 栄美

「上皮幹細胞システムの自律性を支える細胞競合原理の解明」

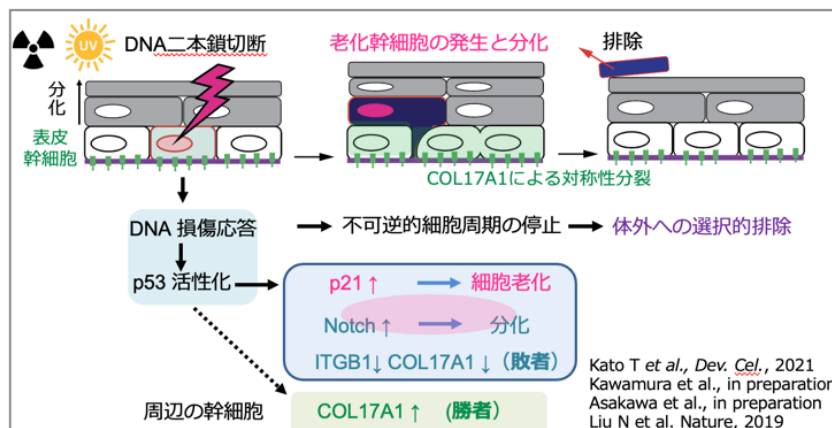
(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

皮膚や消化管などの上皮系幹細胞システムは、外界からのストレスや損傷に晒されながら個体を外界と隔て生命を維持している。表皮基底層に分布する表皮幹細胞は角化細胞を供給しバリアを形成するが、幹細胞集団が自らの品質を最適化する自律性の原理は未解明である。これまでに、発生後のマウス上皮の幹細胞集団において細胞競合が組織の恒常性を維持することを報告した (Liu N *et al.* Nature, 2019)。具体的には、紫外線などにより表皮幹細胞に DNA 損傷が発生すると、個々の幹細胞が発現する 17 型コラーゲンにばらつきが生じ、幹細胞間での細胞競合を引き起こすことを見いだしていた。しかし、DNA 損傷にも様々な種類があり、そのメカニズムは不明であった。そこで、表皮幹細胞の一部の細胞でゲノム非翻訳領域に DNA 二本鎖切断を誘導し、生体内で追跡できる系を構築したところ、損傷を受けた幹細胞が選択的に体外へとから排除される現象を始めて見いだした。そこで本研究では、この解析系において DNA 損傷を受けた幹細胞と隣接細胞の運命と動態のイメージング、系譜解析、クローン解析を行うとともに、空間オミクス解析により損傷細胞と隣接細胞の網羅的遺伝子発現解析を行う。これにより、17 型コラーゲンを介して損傷細胞が隣接細胞と細胞競合を引き起こす仕組みを解明する。また、種や細胞系譜を超えた共通性から想定される細胞競合シグナルに着目し、また 3D 培養表皮を用いた細胞競合実験系も活用しながら、上皮幹細胞システムの品質・秩序を支える自律性の実態を解明する。中間評価時現在までに、損傷を受けた細胞が排除される分子メカニズムを解明した (以下に記載)。

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

上皮幹細胞が DNA 二本鎖切断 (DSB) のような細胞毒性が強い損傷を受けた際に、幹細胞がどのような運命を辿り、上皮がどのように対処しているのか、またこれに細胞競合が関与する可能性について検証した。まずヒトが生理的に浴びる最小紅斑量の紫外線の効果を検証したところ、DSB による DNA 損傷応答に伴うフォーカス形成が表皮幹細胞の存在する基底層に多く誘導された後に、分化細胞の存在する非基底層へと分布が変化する像を見いだしたことから、ゲノムストレスを受けた表皮幹細胞が特異的に組織から排除される可能性が示唆された。

そこで、一部の表皮幹細胞に特異的に DSB を誘導する系を構築し、かつ、その細胞の運命を生体内にて遺伝学的に追跡可能なマウス (Epi-iDSB マウス) を用いて、DSB<sup>+</sup>表皮幹細胞の運命を解析した。その結果、DSB を誘導された表皮幹細胞は分裂停止し、基底層を離れて角層を経て排除されることが判明した。このとき、DSB 誘導により p53 の発現およびリン酸化が誘導され、表皮幹細胞の分化を促進する Notch シグナルが亢進し、



ITGB1 のダウンレギュレーションが起こっていた(Kato *et al.*, *Dev Cell* 2021)。また、表皮幹細胞において p21 の発現亢進と共に、表皮幹細胞が細胞老化に陥っていることが明らかになった(Kato *et al.*, *Dev Cell* 2021, および未発表データ)。これらの老化幹細胞は、表皮幹細胞の細胞競合分子であることを報告してきた XVII 型コラーゲン(COL17A1) (Liu *et al.*, *Nature* 2019) を失い排除されていることも明らかになった(前ページ図)(未発表)。

## 連携している公募研究の成果

### 公募研究代表者 長澤 丘司

近年、造血幹細胞集団の中に、増殖能や産生する血液細胞の細胞数などの性質が少し異なる亜集団が複数存在することが明らかになり、骨髄球系細胞を多く産生する亜集団の増加は造血器腫瘍、固形がん、動脈硬化の発生に関与することが報告されている。これまでに、慢性骨髄性白血病 (CML) において、造血幹細胞に遺伝子変異が生じた際、そのニッチ細胞が変容して変異細胞が優位になる競合的变化 (がん促進型細胞競合) が起こることを見いだした。さらなる解析により、性質が異なる造血幹細胞の亜集団を特異的に制御するサイトカイン CXCL12 (Nakatani *et al.*, *Nat Commun* 2023)、変異造血幹細胞によるニッチ細胞の変容に関与する遺伝子 Runx1 と Runx2 (Omatsu *et al.*, *Nat Commun* 2022) の同定に成功した。今後は、造血幹細胞や変異造血幹細胞がニッチの変容を介した細胞競合によって細胞集団をどのように最適化するのか解析を進めていく。

### 公募研究代表者 田所 優子

造血幹細胞は、微小環境 (ニッチ) 内において互いに競合状態にあり、自律的に造血の恒常性を維持している。これまでに、加齢に伴って現れる MHC クラス II を発現した異質な造血幹細胞がニッチを変化させることによって適応度を増し、造血幹細胞エイジングが進展することを見いだした。さらなる解析により、MHC クラス II 陽性造血幹細胞は機能的な抗原提示細胞であることを見いだした。具体的には、IFN $\gamma$  や IL-17A 産生ヘルパーT 細胞クローンが造血幹細胞に対する自己免疫反応によって造血幹細胞エイジングを促進し、対照的に Treg 細胞は抑制することを見いだした。さらに、Treg 細胞は加齢とともに質的に変化しており、ニッチ変容を介した造血幹細胞競合機構が加齢によって変化していることが明らかとなった (未発表)。

### 公募研究代表者 久保 亮治

ミベリ型汗孔角化症の皮疹が、後天的に *FDFTI* に生じたエピゲノム変異により、*FDFTI* が epigenetic silencing されたケラチノサイトがクローン性に増殖することにより形成されることを明らかにした。具体的には、皮疹を形成している *FDFTI* 変異細胞の周囲の正常細胞特異的に細胞死と異常角化が生じる細胞競合現象が起こり、これにより病変を拡大することがわかった (Saito *et al.*, *Am J Hum Genet* 2024)。今後は、この細胞競合現象の分子メカニズムを明らかにすることにより、汗孔角化症の病態理解につながると期待される。

## 計画研究⑦

### 研究代表者 平島 剛志

「多細胞自律性を支える細胞競合機構の数理・物理学的解明」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

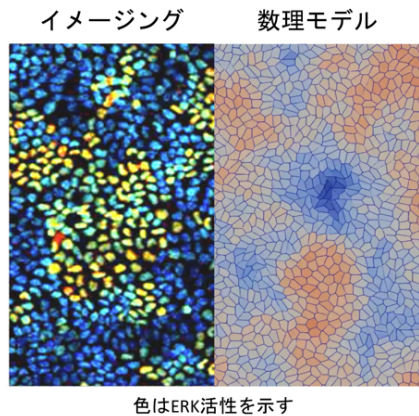
機械的な力は細胞競合を制御する重要な物理的要因であり、細胞の力を起点とした細胞競合はメカニカルコンペティションと呼ばれている。これまでに、上皮細胞が生み出す機械的な力とシグナル分子の活性を同時にライブイメージング測定する技術を開発してきた。これにより、細胞間の引張力とメカニカルコンペティションに関与する ERK 活性とを結ぶフィードバック制御機序を明らかにするとともに、実験に基づく数理モデルの構築・解析を行い、細胞集団の力学-生化学連成機構を明らかにした。そこで本研究では、上皮組織の形状依存的に細胞競合が制御されることに着目し、力-生化学シグナル同時測定

技術の高度化と数理モデリングの融合を通して、細胞競合を支える「形-力-シグナル分子」の多階層フィードバック機構を明らかにすることを目的とする。中間評価時現在までに、マウス上皮組織や培養細胞を用いて、細胞周囲環境の幾何に対する ERK 活性と力のダイナミックな応答測定、及び数理モデリングを行った。細胞競合が及ぼす多細胞自律性への影響を理解するため、構築した数理モデルを基に複数の領域内共同研究を進めている（以下に記載）。

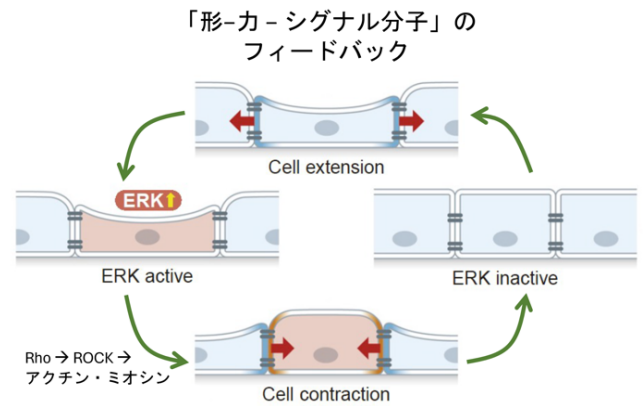
**(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果**

メカニカルコンペティションに関わるシグナル伝達因子である ERK に着目し、上皮組織における細胞形状と力学、ERK 活性といった異なる量の連成を定量的に表現する数理モデルの構築を行った (Boocock *et al*, *PRX Life* 2023)。これにより、細胞群の引っ張り合いによる細胞形状と力学状態の変化に対し ERK

活性を介して細胞の力生成にフィードバックすることで細胞集団の協調的な運動が生み出される仕組みを明らかにした

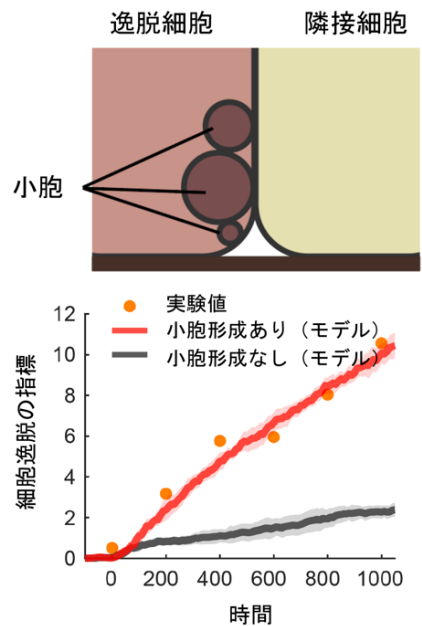


(右図、Hirashima *et al*, *Curr Opin Cell Biol*, 2023)。また、上皮組織の形状変化、特に曲率に着目し、



バイオセンサーと二光子顕微鏡イメージング技術を用いて、マウス肺上皮の曲率変化に対する ERK 活性応答を世界で初めて明らかにした (Hirashima and Matsuda, *Curr Biol*, 2024)。この研究により、上皮組織は自身の曲がった状態を感知し ERK 活性化を経て、細胞の頂端膜直下のアクチン重合が促進され、上皮組織の曲率にフィードバックすることがわかった。この発見は、異常細胞の排除時に用いられる細胞骨格系の活性が組織曲率に制御される可能性を示唆しており (Nayak and Hirashima, *Curr Opin Cell Biol*, 2023)、細胞競合を支える「形-力-シグナル分子」の多階層フィードバック機構の理解を進めるものである。さらに、これらの研究を発展させ、マイクロ加工技術を用いて細胞周囲の曲率を制御し、それに対する細胞の ERK 活性応答と細胞逸脱への影響を調べている。MDCK 細胞を用いた予備実験において、DNA 損傷を有する細胞群を排除する細胞競合時に、細胞足場の曲率依存的な排除に重要な細胞突起の出現率が大きく変化することを見いだした。細胞足場の曲率のスケールに応じてマイクロデバイスの製作法を最適化するため、材料加工の専門家である Sylvain Gabriele 研究室 (University of Mons, Belgium) や Chwee Teck Lim 研究室 (National University of Singapore, Singapore) へと連携し国際共同研究を進めている。また、確立した細胞足場材料を利用し、

計画班・藤田や小田班の大谷と共同研究を進めている。上述した数理モデルを基に、対象に合わせた詳細なモデリングを行うことで、領域内共同研究を複数展開している。計画班・戸田との共同研究では、モルフォゲンに細胞接着を組み合わせた合成生物学的アプローチによる細胞競合研究において、定量的なモデリングにより現象の理解に貢献した (論文リバイス中)。実験で得られたカドヘリン発現量と細胞運動の関係をモデルに組み入れることで、細胞集団を二層に区分するロジックを示した。この結果は、細胞競合時の異常細胞の配置を修正する仕組みの理解につながるものである。また、公募班・川根と共に進めた研究においては、細胞逸脱時に生じる細胞外小胞の重要性を数理モデルの解析により示した (右図、Kira *et al.*, *Dev Cell* 2023; 公募班・川根との共著)。具体的には、基底膜側に生じる細胞外小胞が微小空間を生み出すことで、隣接細胞の細胞膜端が侵入し細胞の排除を促進する力学とダイナミクスの仕組みを示唆した。この研究では、メカニカルコンペティション時の細胞外小胞がショウジョウバエの胚発生過程において重要であることが示され、細胞競合の生理的現象への関与を示した。この他、計画班・佐々木や計画班・小田とともに、データ解析と現象の数理モデル化を進めている。領域内連携により得られたデータを組み入れた数理モデ



ル解析を行い、細胞競合が導く多細胞自律性の生成原理を数理・物理的観点から理解することを目指す。2022年6月に研究場所を海外に移したため研究費交付を辞退したが、引き続き「班友」として研究領域内外の研究者と共同研究を続けていく。

## 連携している公募研究の成果

### 公募研究代表者 川根 公樹

上皮や内皮などの細胞終焉様式である細胞脱落の仕組みを明らかにすることを目的とした。まず、哺乳類培養細胞を用いて、脱落細胞が小胞形成する際の隣接細胞の細胞膜や細胞骨格の動態を解析した。その結果、小胞形成によって小胞形成面の細胞の断面積が大きく減少し、隣接細胞が細胞境界にアクチンを集積させ、断面積の減少によってできたスペースに侵入してくる、といった脱落細胞とその周辺細胞の競合的振る舞いを数理モデル解析 (cellular Potts model) とともに証明した (Kira *et al.*, *Dev Cell* 2023; 計画班・平島、小田との共同研究)。さらに、哺乳類培養細胞およびショウジョウバエ上皮を用いて細胞接着の動態を解析した。その結果、カドヘリンのエンドサイトーシスによるアドヘレンスジャンクションの解体が、細胞脱落の実行における重要なプロセスであることを明らかにした。現在、このプロセスが細胞間の競合的相互作用にかかわる可能性を検証している (未発表; 計画班・小田との共同研究)。加えて、ショウジョウバエの上皮を用いた解析により、幼虫期の古い細胞と成虫期の新しい細胞が入れ替わる組織リモデリングの局面において、成虫細胞が幼虫細胞にオートファジーを誘導して細胞死を導くといった競合的細胞間相互作用が、発生過程に重要であることを見いだした (未発表)。

## 計画研究⑧

### 研究代表者 戸田 聡

#### 「細胞の競合的コミュニケーションの設計による組織自律性の生成原理の解明」

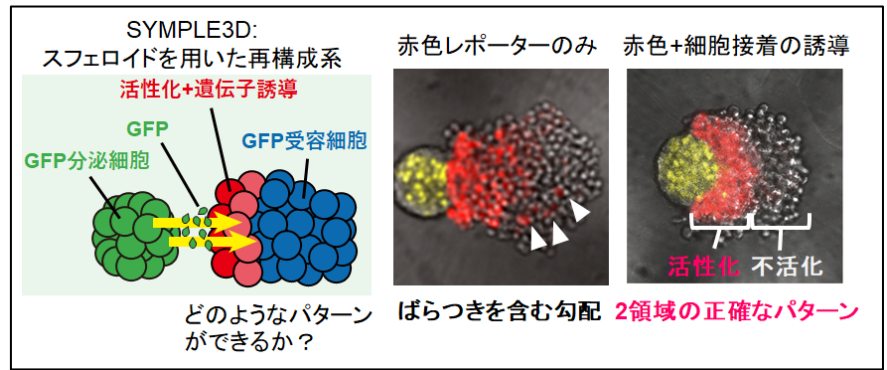
(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

細胞競合は、発生過程における異常細胞の除去やパターン形成の制御を介して組織形態形成の自律性を担保する重要な仕組みであると考えられる。しかし、自律性を生み出すのに十分な、細胞競合を含む細胞間コミュニケーションの全体像は不明である。これまで、任意の分子をモルフォゲンとして作用させる人工モルフォゲン技術を樹立し、培養細胞系において細胞間コミュニケーションを設計して組織パターンを作出する独自技術を開発した。そこで本研究では、細胞間の競合的コミュニケーションを設計して、自律性をもつ多細胞構造を人工的に形成することで、細胞集団が自律性を獲得する基本原理を解明する。まず、人工的なリガンド-受容体システムを介した細胞間相互作用により細胞死を誘導する人工競合システムを設計し、さらにこれに領域全体で明らかにされる様々な細胞競合制御因子の特徴を組み込んでいくことで、細胞競合現象の *in vitro* 再構成を行う。細胞競合の効率を操作することで、細胞の増減や力学的変化、細胞間シグナルの乱れに対して「乱れを復元する自律性」をもった多細胞システムを構築する。中間評価時現在までに、人工モルフォゲン系を用いた解析により細胞接着様式の変化が自律性を生み出すメカニズムを解明した。また、synNotch システムを用いた複数の共同研究を進めている (以下に記載)。

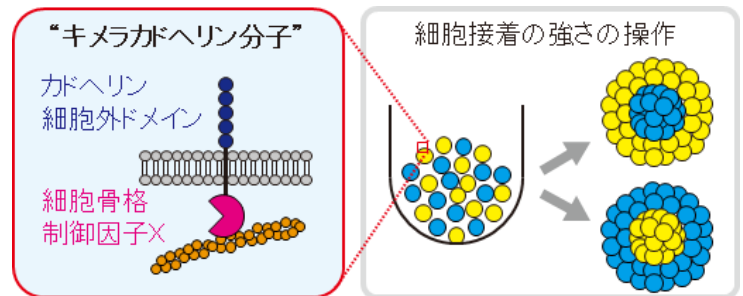
(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果

これまでに、人工受容体 synNotch システムを利用して、細胞が蛍光分子 GFP を分泌し、近くの細胞がその GFP を認識して遺伝子発現を制御する細胞間シグナル伝達モデル「人工モルフォゲン系」を開発した。さらに、この系を3次元スフェロイドに導入し、拡散する GFP に対して細胞がどのような遺伝子発現応答を誘導すれば、3次元組織内に正確な多細胞パターンを形成できるか検証する実験系 SYMPLE3D (SYnthetic Morphogen system for Pattern Logic Exploration using 3D spheroids) を樹立した。この系を用いて、モルフォゲン勾配と細胞接着分子カドヘリンの誘導を連動させることで、勾配状のシグナルから活性がオンとオフの2領域からなる組織パターンを形成できることを見いだした。このとき、誘導されたカドヘリンが活性化した細胞を凝集させることでばらつきを解消すると同時に、一定のレベル以上にカドヘリンを発現した細胞が GFP の濃度勾配の中で混ざり合うことで、一

様に活性化した組織ドメインを形成することを見いだした。さらに、**計画班・平島**と連携し、数理モデルを用いてモルフォゲン勾配と細胞接着の連動による自律的なパターン形成過程を理論的に実証した。以上の結果から、モルフォゲンを受け取った細胞の接着様式の変化がパターン形成の自律性を生み出す要素の1つであると考えられた(右図, Mizuno *et al.*, *EMBO Reports* リバイス中)。



上記解析時に、一定のレベル以上にカドヘリンを発現した細胞は、カドヘリンの発現量に関わらず混ざり合うことを見いだしたが、この結果は、細胞接着の強さが細胞表面のカドヘリン分子の量だけで決まるのではなく、カドヘリンが制御する細胞内シグナルも大きく寄与することを示唆している。そこで、カドヘリン細胞内ドメインを細胞骨格制御因子に置換したキメラカドヘリンを作製し、カドヘリン細胞内シグナルを改変したところ、細胞接着の強さを操作できることを見いだした(右図, Baba *et al.*, *ACS Synthetic Biology* 2024)。さらに、キメラカドヘリンを発現する細胞はがんスフェロイドを変形させ、より深部へ到達できることも見だし、自律的な細胞配置における細胞内シグナル制御の重要性およびがん治療への応用可能性を示した。



**連携している公募研究の成果**  
**公募研究代表者 森本 充**

幹細胞が自身の維持に必要な微小環境(ニッチ)を奪い合う幹細胞競合は、幹細胞の自己複製と分化のバランスを制御することで臓器の自律性を支えると考えられる。呼吸器系をモデルとして、肺胞の幹細胞である AT2 細胞を支えるニッチ細胞の実体を解明するため、標的細胞に隣接する細胞を蛍光標識できる Stem cells' Neighbors Labeling Reporter (SNLR) を開発した。さらに、発展型である synNotch システムを使った幹細胞とその周辺組織を網羅的に標識する遺伝子改変マウスの開発を進めている。今後、本遺伝子改変マウスを用いて AT2 細胞周辺の特別な間充織細胞を同定し、その遺伝子発現の特徴を解析する。

**計画研究⑨**

研究代表者 原田 哲仁

「細胞競合における細胞間相互作用を計測するための空間オミクス技術開発」

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

細胞競合現象は、隣接する細胞同士が細胞間相互作用を介して応答し合う現象であり、それぞれの細胞において特定の遺伝子発現やシグナル活性が協調的に変化することで進行すると考えられる。このような細胞間の時空間的な相互作用を定量的に理解するためには、組織内で隣り合う細胞を単一細胞レベルで、なおかつシグナル伝達経路から遺伝子発現までを包括的に解析するという極めて高い技術的なハードルが存在する。これまでに、単一細胞レベルのエピゲノム解析法(クロマチン挿入標識法: ChILseq)を開発するとともに、組織切片上の任意の微小空間の RNA を網羅的に解析する技術(光単離法: PIC)の開発に成功した。これらを統合して高スループット化することにより、組織内の細胞の空間位置情報を保持した状態(全細胞バーコーディング)のままで、単一細胞レベルで細胞競合時の遺伝子発現・発現



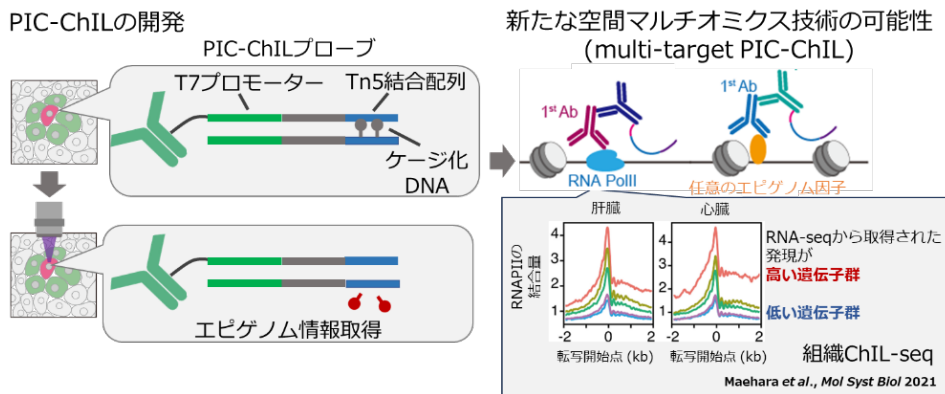
状態の時空間変化の可視化・定量することが可能となる。そこで本研究では、細胞競合における細胞間コミュニケーションの実態を単一細胞レベルで、遺伝子発現制御から転写、細胞動態に至るまでを同時かつ包括的に解析する空間オミクス技術の開発を行う。中間評価時現在までに、各種モデル動物に対する空間オミクス解析プロトコルの最適化および、同一サンプルにおける 2 領域の空間トランスクリプトーム解析技術の開発、および空間エピゲノム解析技術の開発を進めることに成功した（以下に記載）。

**(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果**

本領域で対象となる組織や細胞の形態や状態の違いに適した空間トランスクリプトーム解析のプロトコル改変を進めた。ショウジョウバエにおいては、薄切した切片上に多くの細胞を含ませるために、組織ブロックの作製を最適化した(未発表、計画班・井垣との共同研究)。ゼブラフィッシュ胚では、非対象細胞のバックグラウンドを下げるために、対象組織を限定するなどの工夫を行った(計画班・石谷との共同研究)。また、本領域で対象となる組織や細胞の形態や状態の違いに対応した空間トランスクリプトーム解析の詳細なプロトコルを発表した(Honda *et al.*, *STAR Protoc* 2022)。さらに、同一サンプルの 2 領域の空間トランスクリプトーム解析を達成するため、これまでに開発した空間トランスクリプトーム解析原理を利用した条件検討を試みている。

空間エピゲノム解析の開発では細胞を単離することなく、組織中のエピゲノム状態を解析する技術が必要となる。そこで、これまでに開発したエピゲノム解析技術 ChIL-seq を組織切片で行うプロトコルの開発を進めた。マウス由来の組織切片に対して RNA Polymerase II や H3K27ac に対する抗体を用いた ChIL-seq シグナルと連続切片から獲得した RNA-seq の遺伝子発現情報が関連していることが確認できた。これは、RNA Polymerase II と任意のエピゲノム因子を同時に

取得することで、トランスクリプトーム情報とエピゲノム情報を同時に取得する空間マルチオミクス解析技術 (multi-target PIC-ChIL) として利用できることがわかった(右図)。さらに、リン酸化状態の異なる RNA Polymerase II の遺伝子への結合位置とその割合から組織中の細胞の遺伝子発現動態を



推定することが可能となった。これらの知見は、細胞競合における細胞間の状態変化を評価する手法として応用できると考えている(Maehara *et al.*, *Mol Syst Biol* 2021)。次に、これまでに開発したエピゲノム技術 ChIL-seq に対して空間トランスクリプトーム技術 PIC の転用を進めた。ChIL-seq で使用する ChIL probe に結合する DNA 配列に対する caged DNA の挿入位置の検討を進め、効率的なデータ取得が可能な挿入パターンを見いだした。今後はさらに条件検討を進め空間エピゲノム解析 (PIC-ChIL)の実装を目指す(上図)。

さらに、空間マルチオミクス解析に向けて、空間トランスクリプトーム解析、空間エピゲノム解析に加えて、空間プロテオミクスを加えた空間マルチオミクスの可能性を検討した。その結果、試薬の入れ替えにより切り離しが可能な小分子化合物をリンカーとして、蛍光色素を抗体に結合させた Precise Emission Canceling Antibodies プロープ (PECAbs) を作製した。本プローブを用いて、100 種類以上の空間プロテオミクス解析を達成した(Tomimatsu *et al.*, *Nat Commun* 2024)。

**連携している公募研究の成果**

公募研究代表者 池田 達郎

マウス始原生殖細胞 (PGCs) を多様な DNA バーコードで標識し、個々の子孫細胞 (クローン) と関連する遺伝子発現の測定解析を行った。その結果、PGCs には発生進行の速度を反映した遺伝子発現の不均一性が存在し、この遺伝子発現にはクローン間で有意な差が存在することが明らかとなった。現在、クローンと発現が関連してその運命に影響を与えると予想される遺伝子候補について、発生進行にともなう組織内発現分布の時間変化を解析している。また、3 次元組織内の個々の細胞が含むバーコードを顕微鏡測定する実験系の開発を計画班・原田と共同で行っており、これを用いて生殖細胞のクローン競合機構の解明を目指す。

## 公募研究代表者 高岡 勝吉

胎生の哺乳類の胚発生において、着床前胚は母体の環境や成熟度に応じて細胞周期と細胞分化の停止を伴う発生休止 (Embryonic Diapause) を起こすことで、出産時期の最適化を行っている。この発生休止現象における細胞間コミュニケーションの詳細を明らかにすることを目的とした。解析の結果、従来全ての胚細胞が均一な G0 期にあると考えられてきたマウス発生休止胚では、実は一部の胚細胞は増殖・アポトーシスが起きていることがわかり、この現象が将来の再発生に関わる Epiblast の数を制御していることを明らかにした(Murata *et al.*, under review)(計画班・原田との共同研究)。

## 7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、主催シンポジウム等の状況。令和6年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

### 主な発表論文

合計 113 報、以下に代表例のみを記載する。\* = 責任著者

計画研究代表者 井垣 達吏（計9件）

1. Nagata R, \*Igaki T. Cell competition: emerging signaling and unsolved questions. *FEBS Letters* 598; 379-389 (2024).
2. Kitamura D, Taniguchi K, Nakamura M, \*Igaki T. In vivo evidence for homeostatic regulation of ribosomal protein levels in *Drosophila*. *Cell Structure and Function* 49; 11-20 (2024).
3. \*Taniguchi K, \*Igaki T. Sas-Ptp10D shapes germ-line stem cell niche by facilitating JNK-mediated apoptosis. *PLoS Genetics* 19; e1010684 (2023).
4. Enomoto M, \*Igaki T. Cell-cell interactions that drive tumorigenesis in *Drosophila*. *Fly* 16; 367-381 (2022).
5. Wang Z, Xia X, Li J, \*Igaki T. Tumor elimination by clustered microRNAs miR-306 and miR-79 via non-canonical activation of JNK signaling. *eLife* 11; e77340 (2022).
6. Nagata R, Akai N, Kondo S, Saito K, Ohsawa S, \*Igaki T. Yorkie drives supercompetition by non-autonomous induction of autophagy via bantam microRNA in *Drosophila*. *Current Biology* 32; 1064-1076 (2022).
7. Ochi N, Nakamura M, Nagata R, Wakasa N, Nakano R, \*Igaki T. Cell competition is driven by Xrp1-mediated phosphorylation of eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$ . *PLoS Genetics* 17; e1009958 (2021).
8. Cong B, Nakamura M, Sando Y, Kondo T, Ohsawa S, \*Igaki T. JNK and Yorkie drive tumor malignancy by inducing L-amino acid transporter 1 in *Drosophila*. *PLoS Genetics* 17; e1009893 (2021).

計画研究代表者 藤田 恭之（計15件）

1. Nakai K., Lin H, Yamano S, Tanaka S, Kitamoto S, Saitoh H, Sakuma K, Kurauchi J, Akter E, Konno M, Ishibashi K, Kamata R, Ohashi A, Koseki J, Takahashi H, Yokoyama H, Shiraki Y, Nomoto A, Abe S, Hayakawa Y, Ushiku T, Mutoh M, Fujita Y, \*Kon S. Wnt activation disturbs cell competition and causes diffuse invasion of transformed cells through NF- $\kappa$ B-MMP21 pathway. *Nature Communications* 14; 7048 (2023).
2. Ito S, Kuromiya K, Sekai M, Sako H, Sai K, Morikawa R, Mukai Y, Ida Y, Anzai M, Ishikawa S, Kozawa K, Shirai T, Tanimura N, Sugie K, Ikenouchi J, Ogawa M, Naguro I, Ichijo H, \*Fujita Y. Accumulation of annexin A2 and S100A10 prevents apoptosis of apically delaminated, transformed epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 120; e2307118120 (2023).
3. Shirai T, Sekai M, Kozawa K, Sato N, Tanimura N, Kon S, Matsumoto T, Murakami T, Ito S, Tilston-Lunel A, Varelas X, \*Fujita Y. Basal extrusion of single-oncogenic mutant cells induces dome-like structures with altered microenvironments. *Cancer Science* 113; 3710-3721 (2022).
4. Kamasaki T, Uehara R, \*Fujita Y. Ultrastructural characteristics of finger-like membrane protrusions in cell competition. *Microscopy* 71; 195-205 (2022).
5. Kajiwara K, Chen P-K, Abe Y, Okuda S, Adachi J, Tomonaga T, Kon S, Fujita Y, \*Okada M. Src activation in lipid rafts confers epithelial cells with invasive potential to escape from apical extrusion during cell competition. *Current Biology* 3216; 3460-3476 (2022).
6. Akter E, Tasaki Y, Mori Y, Nakai K, Hachiya K, Lin H, Konno M, Kamasaki T, Tanabe K, Umeda Y, Yamano S, Fujita Y, \*Kon S. Non-degradable autophagic vacuoles are indispensable for cell competition. *Cell Reports* 40; 111292 (2022).
7. Igarashi N, Miyata K, Loo T M, Chiba M, Hanyu A, Nishio M, Kawasaki H, Zheng H, Toyokuni S, Kon S, Moriyama K, Fujita Y, \*Takahashi A. Hepatocyte growth factor derived from senescent cells attenuates cell competition-induced apical elimination of oncogenic cells. *Nature Communications* 13; 4157 (2022).
8. Kuromiya K, Aoki K, Ishibashi K, Yotabun M, Sekai M, Tanimura N, Iijima S, Ishikawa S, Kamasaki T, Akieda Y, Ishitani T, Hayashi T, Toda S, Yokoyama K, Lee C-G, Usami I, Inoue H, Takigawa I, Gauquelin E, Sugimura K, Hino N, \*Fujita Y. Calcium sparks enhance the tissue fluidity within epithelial layers and promote apical extrusion of transformed cells. *Cell Reports* 40; 111078 (2022).
9. Mori Y, Shiratsuchi N, Sato S, Chaya A, Tanimura N, Ishikawa S, Kato M, Kameda I, Kon S, Haraoka Y, Ishitani T, \*Fujita Y. Extracellular ATP facilitates cell extrusion from epithelial layers mediated by cell competition or apoptosis. *Current Biology* 32; 2144-2159 (2022).
10. Ayukawa S, Kamoshita N, Nakayama J, Teramoto R, Pishesha N, Ohba K, Sato N, Kozawa K, Abe H, Semba K, Goda N, Fujita Y, \*Maruyama T. Epithelial cells remove precancerous cells by cell competition via MHC class I-LILRB3 interaction. *Nature Immunology* 22; 1391-1402 (2021).
11. Tsujita K, Satow R, Asada S, Nakamura Y, Arnes L, Sako K, Fujita Y, Fukami K, \*Itoh T. Homeostatic membrane tension acts as a mechanical tumor suppressor and constrains cancer cell dissemination. *Nature Communications*

- 12; 5930 (2021).
12. Kamasaki T, Miyazaki Y, Ishikawa S, Hoshiba K, Kuromiya K, Tanimura N, Mori Y, Tsutsumi M, Nemoto T, Uehara R, Suetsugu S, Itoh T, \*Fujita Y. FBP17-mediated finger-like membrane protrusions in cell competition between normal and RasV12-transformed cells. *iScience* 24;102994 (2021).
  13. Kon S, \*Fujita Y. Cell competition-induced apical elimination of transformed cells, EDAC, orchestrates the cellular homeostasis. *Developmental Biology* 476; 112-116 (2021).
  14. Kozawa, K, Sekai M, Ohba K, Ito S, Sako H, Maruyama T, Kakeno M, Shirai T, Kuromiya K, Kamasaki T, Kohashi K, Tanaka S, Ishikawa S, Sato N, Asano S, Suzuki H, Tanimura N, Mukai Y, Gotoh N, Tanino M, Tanaka S, Natsuga K, Soga T, Nakamura T, Yabuta Y, Saitou M, Ito T, Matsuura K, Tsunoda M, Kikumori T, Iida T, Mizutani Y, Miyai Y, Kaibuchi K, Enomoto A, \*Fujita Y. The CD44/COL17A1 Pathway Promotes the Formation of Multilayered, Transformed Epithelia. *Current Biology* 31; 3086-3097 (2021).

計画研究代表者 小田 裕香子 (研究分担者 大谷 哲久) (計 9 件)

1. Nguyen TP, \*Otani T, Tsutsumi M, Kinoshita N, Fujiwara S, Nemoto T, Fujimori T, \*Furuse M. Tight junction membrane proteins regulate the mechanical resistance of the apical junctional complex. *Journal of Cell Biology* 223; e202307104 (2024).
2. \*Oda Y, Takahashi C, Harada S, Nakamura S, Sun D, Kiso K, Urata Y, Miyachi H, Fujiyoshi Y, Honigsmann A, Uchida S, Ishihama Y, Toyoshima F. Discovery of anti-inflammatory physiological peptides that promote tissue repair by reinforcing epithelial barrier formation *Science Advances* 7; eabj6895 (2021).

計画研究代表者 石谷 太 (計 11 件)

1. Abe K, Ino H, Niwa T, Semmy D, Takauchi A, Nishimura T, Mogi C, Uenaka M, Ishii M, Tanaka K, Ohkawa Y, \*Ishitani T. Sex-dependent regulation of vertebrate somatic growth and aging by germ cells. *Science Advances* 10; eadi1621 (2024).
2. Ogamino S, Yamamichi M, Sato K, \*Ishitani T. Dynamics of Wnt/ $\beta$ -catenin reporter activity throughout whole life in a naturally short-lived vertebrate. *NPJ Aging* 10; 23 (2024).
3. \*Ishitani T. Cadherin-linked morphogen gradient actualizes robust tissue patterning. *Current Opinion in Cell Biology* 85; 102275 (2023).
4. Zou J, Anai S, Ota S, Ishitani S, Oginuma M, \*Ishitani T. Determining zebrafish dorsal organizer size by a negative feedback loop between canonical/non-canonical Wnts and Tlr4/NF $\kappa$ B *Nature Communications* 14; 7194 (2023).
5. Haraoka Y, Miyake M, \*Ishitani T. Zebrafish imaging reveals hidden oncogenic-normal cell communication during primary tumorigenesis. *Cell Structure and Function* 48; 113-121 (2023).
6. Haraoka Y, Akieda Y, Nagai Y, Mogi C, \*Ishitani T. Zebrafish imaging reveals TP53 mutation switching oncogene-induced senescence from suppressor to driver in primary tumorigenesis. *Nature Communications* 13; 1417 (2022).
7. Suzuki H, Aoki K, Kurosawa K, Imagawa K, Ohto T, Yamada M, Takenouchi T, \*Kosaki K, \*Ishitani T. De novo non-synonymous CTR9 variants are associated with motor delay and macrocephaly: Human genetic and zebrafish experimental evidence. *Human Molecular Genetics* 31; 3846-3854 (2022).
8. Oginuma M, Nishida M, Ohmura-Adachi T, Abe K, Ogamino S, Mogi C, Matsui H, \*Ishitani T. Rapid reverse genetics systems for *Nothobranchius furzeri*, a suitable model organism to study vertebrate aging. *Scientific Reports* 12, 11628 (2022).

計画研究代表者 佐々木 洋 (計 1 件)

1. Otsuka T, Shimojo H, \*Sasaki H. Daughter cells inherit YAP localization from mother cell in early preimplantation embryos. *Development, Growth & Differentiation*. 65; 360–369 (2023).

計画研究代表者 西村 栄美 (計 3 件)

1. Kato T, Liu N, Morinaga H, Asakawa, K, Muraguchi T, Muroyama Y, Shimokawa, M, Matsumura H, Nishimori Y, Tan LJ, Hayano M, Sinclair DA, Mohri Y, \*Nishimura EK. Dynamic stem cell selection safeguards the genomic integrity of the epidermis. *Developmental Cell* 56; 3309–3320 (2021).

計画研究代表者 平島 剛志 (計 16 件)

1. \*Hirashima T, Matsuda M. ERK-mediated Curvature Feedback Regulates Branching Morphogenesis in Lung Epithelial Tissue. *Current Biology* 34; 683-696 (2024).
2. Nayak AN, \*Hirashima T. Tug-of-War via ERK Signaling Pathway for Tissue Organization – ERK Activation to Force Generation. *Current Opinion in Cell Biology* 85; 102249 (2023).
3. Lee VXM, Hinton BT, \*Hirashima T. Collective Cell Dynamics and Luminal Fluid Flow in the Epididymis: A Mechanobiological Perspective. *Andrology* (2023).
4. \*Hirashima T, Hino N, \*Aoki K, Matsuda M. Stretching the Limits of ERK Signaling – Cell Mechanosensing to ERK Activation. *Current Opinion in Cell Biology* 84; 102217 (2023).
5. Boocock D, Hirashima T, \*Hannezo E. Interplay between mechanochemical patterning and glassy dynamics in cellular monolayers. *PRX Life* (2023).
6. \*Chan CJ, \*Hirashima T. Tissue hydraulics in reproduction. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 131; 124-133 (2022).

7. \*Hirashima T. Live imaging approach of dynamic multicellular responses in ERK signaling during vertebrate tissue development. *Biochemical Journal* 479; 129-143 (2022).
8. \*Hirashima T. Mechanical feedback control for multicellular tissue size maintenance: a minireview. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9; 820391 (2022).
9. Ishii M, Tateya T, Matsuda M, \*Hirashima T. Stalling interkinetic nuclear migration in curved pseudostratified epithelium of developing cochlear duct. *Royal Society Open Science* 8; 211024 (2021).

計画研究代表者 戸田 聡 (計 5 件)

1. Baba H, Fujita T, Mizuno K, Tambo M, \*Toda S. Programming spatial cell sorting by engineering cadherin intracellular activity. *ACS Synthetic Biology* 13; 1705-1715 (2024).
2. Zama N, \*Toda S. Designer cell therapy for tissue regeneration. *Inflammation and Regeneration* 44; 15 (2024).

計画研究代表者 原田 哲仁 (計 8 件)

1. Saito, Y, Harada, A. Ushijima, M, Tanaka K, Higuchi R, Baba A, Murakami D, Nutt S, Nakagawa T, \*Ohkawa Y, \*Baba Y. Plasma cell differentiation is regulated by the expression of histone variant H3.3. *Nature Communications* 15, 5004 (2024).
2. Tomimatsu K, Fujii T, Bise R, Hosoda K, Taniguchi Y, Ochiai H, Ohishi H, Ando K, Minami R, Tanaka K, Tachibana T, Mori S, Harada A. Maehara K, Nagasaki M, Uchida S, Kimura H, \*Narita M, \*Ohkawa Y. Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging to capture specific cell states. *Nature Communications* 15, 3657 (2024).
3. Egashira S, Tachibana T, Nakamura M, Ohkawa Y, \*Harada A. Production of a Monoclonal Antibody for Histone H2b Isoform H2b3b. *Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy* 43; 75-80 (2024).
4. Honda M, Kimura R, Harada A. Maehara K, Tanaka K, \*Ohkawa Y, \*Oki S. Photo-isolation chemistry for high-resolution and deep spatial transcriptome with mouse tissue sections. *STAR Protocols* 3(2); 101346 (2022).
5. Harada A. Kimura H, \*Ohkawa Y. Recent advances in single-cell epigenomics. *Current Opinion in Structural Biology* 71; 116-122 (2021).
6. Maehara K, Tomimatsu K, Harada A. Tanaka K, Sato S, Fukuoka M, Okada S, Handa T, Kurumizaka H, Saitoh N, Kimura H, \*Ohkawa Y. Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Molecular Systems Biology* 17; e10323 (2021).

公募研究代表者 大橋 一正 (計 2 件)

1. Kunitomi A, Chiba S, Higashitani N, Higashitani A, Sato S, Mizuno K, \*Ohashi K. Solo regulates the localization and activity of PDZ-RhoGEF for actin cytoskeletal remodeling in response to substrate stiffness. *Molecular Biology of the Cell* 35; ar87 (2024).
2. Ninomiya K, Ohta K, Kawasaki U, Chiba S, Inoue T, Kuranaga E, \*Ohashi K. \*Mizuno K. Calcium influx promotes PLEKHG4B localization to cell-cell junctions and regulates the integrity of junctional actin filaments. *Molecular Biology of the Cell* 35; ar24 (2023).

公募研究代表者 佐藤 純 (計 5 件)

1. Togashi H, Davis S R, \*Sato M. From soap bubbles to multicellular organisms: Unraveling the role of cell adhesion and physical constraints in tile pattern formation and tissue morphogenesis. *Developmental Biology* 506; 1-6 (2024).
2. Lee Y, Wang M, Imamura K, \*Sato M. Quantitative analysis of the roles of IRM cell adhesion molecules in column formation in the fly brain. *Development Growth and Differentiation* 65; 37-47 (2023).
3. Osaka J, Yasuda H, Watanuki Y, Kato Y, Nitta Y, Sugie A, \*Sato M. \*Suzuki T. Identification of genes regulating stimulus-dependent synaptic assembly in Drosophila using an automated synapse quantification system. *Genes & Genetic Systems* 97; 297-309 (2022).
4. Hayashi T, Tomomizu T, Sushida T, Akiyama M, Ei S, \*Sato M. Tiling mechanisms of the Drosophila compound eye through geometrical tessellation. *Current Biology* 32; 2101-2109 (2022).
5. \*Sato M. \*Suzuki T. Cutting edge technologies expose the temporal regulation of neurogenesis in the *Drosophila* nervous system. *Fly* 16; 222-232 (2022).

公募研究代表者 長澤 丘司 (計 5 件)

1. Nakatani T, Sugiyama T, Omatsu Y, Watanabe H, Kondoh G, \*Nagasawa T. Ebf3<sup>+</sup> niche-derived CXCL12 is required for the localization and maintenance of hematopoietic stem cells. *Nature Communications* 14; 6402 (2023).
2. Omatsu Y, Aiba S, Maeta T, Higaki K, Aoki K, Watanabe H, Kondoh G, Nishimura R, Takeda S, Chung UI, \*Nagasawa T. Runx1 and Runx2 inhibit fibrotic conversion of cellular niches for hematopoietic stem cells. *Nature Communications* 13; 2654 (2022).

公募研究代表者 鈴木 淳史 (計 3 件)

1. Miura S, Horisawa K, Iwamori T, Tsujino S, Inoue K, Karasawa S, Yamamoto J, Ohkawa Y, Sekiya S, \*Suzuki A. Hepatocytes differentiate into intestinal epithelial cells through a hybrid epithelial/mesenchymal cell state in culture. *Nature Communications* 15; 3940 (2024).

- Horisawa K, Miura S, Araki H, Miura F, Ito T, \*Suzuki A. Transcription factor-mediated direct cellular reprogramming yields cell-type specific DNA methylation signature. *Scientific Reports* 13; 22317 (2023).
- \*Kawamata M, \*Suzuki H I., Kimura R, \*Suzuki A. Optimization of Cas9 activity through the addition of cytosine extensions to single-guide RNAs. *Nature Biomedical Engineering* 7; 672–691 (2023).

公募研究代表者 諸石 寿朗 (計 1 件)

- Nita A, and \*Moroishi T. Hippo pathway in cell–cell communication: emerging roles in development and regeneration. *Inflammation and Regeneration* 44; 18 (2024).

公募研究代表者 川根 公樹 (計 1 件)

- Kira A, Tatsutomi I, Saito K, Murata M, Hattori I, Kajita H, Muraki N, Oda Y, Satoh S, Tsukamoto Y, Kimura S, Onoue K, Yonemura S, Arakawa S, Kato H, Hirashima T, \*Kawane K. Extracellular vesicle formation via local phosphatidylserine exposure promotes efficient cell extrusion. *Developmental Cell* 58; 1282-1298 (2023).

公募研究代表者 佐野 浩子 (計 1 件)

- Hoshino R, Sano H, Yoshinari Y, Nishimura T, \*Niwa R. Circulating fructose regulates a germline stem cell increase via gustatory receptor-mediated gut hormone secretion in mated *Drosophila*. *Science Advances* 9; eadd5551 (2023).

公募研究代表者 森本 充 (計 3 件)

- Fujimura T, Enomoto Y, Katsura H, Ogawa T, Baba S, Ogata A, Yamaoka A, Shiroguchi K, \*Morimoto M. Identifying a Lung Stem Cell Subpopulation by Combining Single-Cell Morphometrics, Organoid Culture, and Transcriptomics. *Stem Cells* 41; 809–820 (2023).
- Enomoto Y, Katsura H, Fujimura T, Ogata A, Baba A, Yamaoka A, Kihara M, Abe T, Nishimura O, Kadota M, Hazama D, Tanaka Y, Maniwa Y, Nagano T, \*Morimoto M. Autocrine TGF- $\beta$ -positive feedback in profibrotic AT2-lineage cells plays a crucial role in non-inflammatory lung fibrogenesis. *Nature Communications* 14; 4956 (2023).

公募研究代表者 高田 慎治 (計 7 件)

- Utsumi H, Yabe T, Koshida S, Yamashita A, \*Takada S. Deficiency of *mastl*, a mitotic regulator, results in cell detachment from developing tissues of zebrafish embryos. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 12; 1375655 (2024).
- Tran THN, Takada R, Krayukhina E, Maruno T, Mii Y, Uchiyama S, \*Takada S. Soluble Frizzled-related proteins promote exosome-mediated Wnt re-secretion. *Communications Biology* 7; 254 (2024).
- Shinozuka T, Aoki M, Hatakeyama Y, Sasai N, Okamoto H, \*Takada S. Rspo1 and Rspo3 are required for sensory lineage neural crest formation in mouse embryos. *Developmental Dynamics* 253; 435-446 (2024).
- \*Yabe T, \*Uriu K, \*Takada S. Ripply suppresses Tbx6 to induce dynamic-to-static conversion in somite segmentation. *Nature Communications* 14; 2115 (2023).
- Hatakeyama Y, Saito N, Mii Y, Takada R, Shinozuka T, Takemoto T, Naoki H, \*Takada S. Intercellular exchange of Wnt ligands reduces cell population heterogeneity during embryogenesis. *Nature Communications* 14; 1924 (2023).

公募研究代表者 久保 亮治 (計 1 件)

- Saito S, Saito Y, Sato S, Aoki S, Fujita H, Ito Y, Ono N, Funakoshi T, Kawai T, Suzuki H, Sasaki T, Tanaka T, Inoue M, Hata K, Kataoka K, Kosaki K, Amagai M, Nakabayashi K, \*Kubo A. Gene-specific somatic epigenetic mosaicism of FDF1 underlies a non-hereditary localized form of prokeratosis. *American Journal of Human Genetics* 111; 896-912 (2024).

公募研究代表者 青木 一洋 (計 1 件)

- Sakai K, \*Aoki K, \*Goto Y. Live-cell fluorescence imaging and optogenetic control of PKA kinase activity in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Yeast* (2024) in press

公募研究代表者 井川 敬介 (計 1 件)

- Gauquelin E, Kuromiya K, Namba T, Ikawa K, Fujita Y, Ishihara S, \*Sugimura K. Mechanical convergence in mixed populations of mammalian epithelial cells. *The European Physical Journal E* 47; 21 (2024).

領域ホームページ : <https://www.multicellular-autonomy.lif.kyoto-u.ac.jp/>

領域主催シンポジウム等

- 石谷 太, 井垣 達吏 第 44 回日本分子生物学会年会シンポジウム 2021 年 12 月 3 日、横浜「多細胞生命システムに自律性を生み出す細胞間コミュニケーション」
- Nika Shakiba (Assistant Professor, The University of British Columbia) 第 1 回 多細胞生命自律性セミナー 2021 年 12 月 10 日 (オンライン) Stem cell competition: the rules that shape multicellular dynamics.
- Rashmi Priya (Group Leader, The Francis Crick Institute) 第 2 回 多細胞生命自律性セミナー 2022 年 5 月 20 日 (オンライン) Building a functional heart – from a simple epithelium to 3D topological meshwork.
- 石谷 太, 高田 慎二 The 68th NIBB Conference “Principles of Cell Communication in the Tissue”

- 2022年11月13日、岡崎(基礎生物学研究所、学術変革領域研究(A)「多細胞生命自律性」共催)
- 井垣 達吏, 小田 裕香子 第95回日本生化学会大会シンポジウム 2022年11月9日、名古屋  
「上皮ダイナミクスと個体応答」
  - 小田裕香子, 戸田聡 第45回日本分子生物学会年会ワークショップ 2022年12月1日、千葉  
「細胞間コミュニケーションの視点から紐解く多細胞生命の自律性」
  - 合田圭介(東京大学大学院理学系研究科教授) 第3回 多細胞生命自律性セミナー 2023年3月13日、京都大学(ハイブリッド)「細胞のウォーリーと日本の科学のお話」
  - 石谷 太, 井垣 達吏 第75回 日本細胞生物学会大会シンポジウム 2023年6月29日、奈良  
「多細胞システムの自律性を支える競合的・協調的コミュニケーション」
  - Allison Bardin(Team Leader, Institut Curie) 第4回 多細胞生命自律性セミナー 2023年7月18日、京都大学(ハイブリッド) Genomic regulation of stem cells: from lineage decisions to genome stability.
  - Olivier Pourquié(Frank Burr Mallory Professor, Harvard University) 第5回 多細胞生命自律性セミナー 2023年7月20日、大阪大学(ハイブリッド) Deconstructing human musculo-skeletal development in vitro.
  - 石松愛(Associate Research Scientist, Brandeis University) 第6回 多細胞生命自律性セミナー 2023年12月11日、大阪大学(ハイブリッド) 分節時計における左右対称性維持メカニズム
  - 大谷哲久, 平島剛志 第46回日本分子生物学会年会シンポジウム 2023年12月6日、神戸  
「多細胞生命システムの自律性の生成機構/Emergence of Multicellular Autonomy」

この他、本年中に第76回日本細胞生物学会大会シンポジウム(共催、7月)、4th International Symposium on Cell competition(9月)、第47回日本分子生物学会大会シンポジウム(11月)を主催する予定である。

## メディア報道

合計62件、以下に代表例を記載する

- イギリス ガーディアン紙 (2024.6) Why do women outlive men? Cells that develop into sperm and eggs could give the answer
- 米国ニューズウィーク紙 (2024.6) Vitamin May Extend Lifespan, New Research Suggests
- 朝日新聞 (2024.6.13) メスはなぜ長生き? 寿命を精子は縮め、卵子は延ばす 阪大など実験
- NHK サイエンスZERO (2024.1.14) 「自然が愛する“六角形”! 偶然? 必然?」
- 朝日新聞 (2023.11.24) 「ノックアウトではわからぬ遺伝子の謎 阪大チームが解明に使った技術」
- 日経産業新聞 (2022.8.12) 「老化の研究、魚で効率よく 大阪大、遺伝子改変を可能に」
- 読売新聞 (2022.7.14) 「死んだ細胞 脱落の仕組み -新陳代謝 京産大が解明-」
- 日経バイオテク (2022.3.28) 「大阪大、前がん細胞が排除されるか腫瘍を形成するかの分かれ道を解明」
- 日経メディカルオンライン (2022.3.24) 「前癌細胞が排除されるか腫瘍を形成するかの分かれ道は?」
- 財経新聞 (2022.2.11) 「前がん細胞が正常細胞を排除し拡大する仕組み解明 治療法開発に期待 京大」

## 主な受賞

- 藤田恭之 文部科学大臣表彰・科学技術賞(2024年4月)
- 小田裕香子 第14回京都大学たちばな賞(2022年3月)
- 西村栄美 日本癌学会女性科学者賞(2023年9月)
- 西村栄美 ASDR-JSID Collegiality Award(2022年8月)
- 西村栄美 持田記念学術賞(2021年11月)
- 平島剛志 文部科学大臣表彰・若手科学者賞(2023年4月)
- 戸田聡 文部科学大臣表彰・若手科学者賞(2022年4月)
- 戸田聡 令和3年度花王科学奨励賞(2021年3月)
- 奥田 寛 文部科学大臣表彰・若手科学者賞(2024年4月)

## 本領域の研究代表者、分担者、研究協力者の主な栄転・昇進

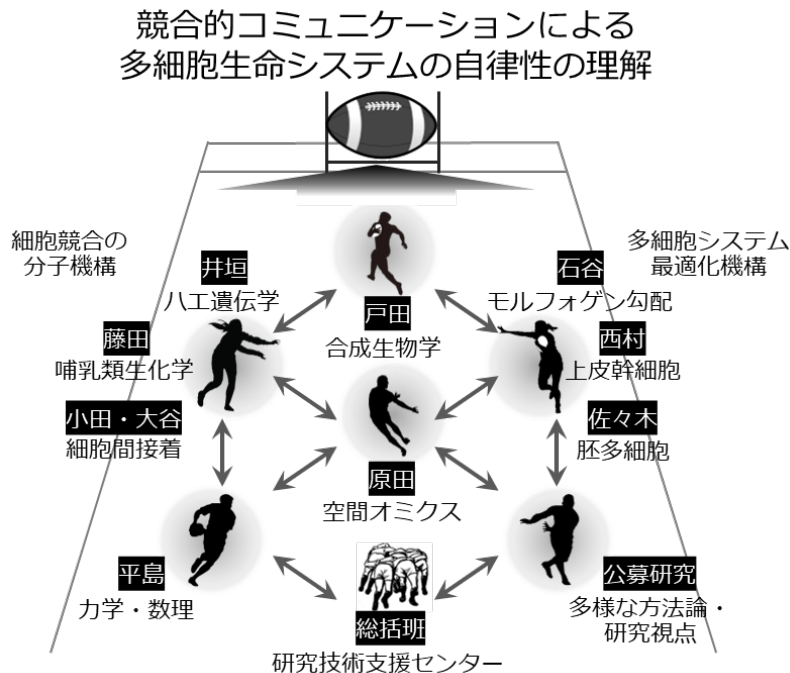
- 小田裕香子 京大・医生物学研究所・助教 ⇒ 京大・iPS細胞研究所・准教授 ⇒ 京大・生命科学研究所・教授(2024年4月1日・46歳)
- 大谷哲久 生理研・助教 ⇒ 都立大・准教授(独立)(2023年10月1日・46歳)
- 平島剛志 京大・白眉センター・特定准教授 ⇒ シンガポール国立大学・メカノバイオロジー研究所・主任研究員、シンガポール国立大学・助教(独立)(2022年6月6日・38歳)
- 戸田聡 金沢大・ナノ生命研・助教 Jr.PI ⇒ 阪大・蛋白研・准教授(独立)(2024年4月1日・37歳)
- 森雅樹 国立循環器病研究センター・室長 ⇒ 国立成育医療研究センター・部長(独立)(2024年4月1日・46歳)
- 佐野浩子 久留米大・講師 ⇒ 久留米大・准教授(2024年4月1日・49歳)
- 萩沼政之(石谷班) 阪大・微研・助教 ⇒ 理研・BDR・チームリーダー(2024年5月1日・44歳)
- 難波大輔(西村班) 東大医科研・准教授 ⇒ 鳥取大・医学部・教授(2024年1月1日・50歳)

## 8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 【連携体制】

本領域内の連携体制を以下の図に示す。



井垣班はショウジョウバエ遺伝学を用いて細胞競合トリガー因子を網羅的に同定し、その分子機構を解析することで明らかになる多様な細胞競合現象とその分子機構を領域全体で共有する。藤田班は哺乳類において細胞競合特異的に機能する分子群を網羅的に同定し、領域全体で共有する。小田・大谷班は哺乳類細胞およびマウスモデルを用いて細胞間接着を起点とした細胞競合の分子機構を解析し、得られたデータを領域内で共有する。つまり、これら3班からは細胞競合の新規誘導因子からその基本メカニズムに関わる様々な制御分子や動作機序の情報が随時提供され、領域内共同研究を強力に促進する。実際に、これまでこれら3班を起点とした多数の領域内共同研究が実施され、多くの成果が挙がりつつある。

石谷班、佐々木班、西村班は、それぞれが独自に見いだした生理的細胞競合のモデル系（ゼブラフィッシュモルフォゲン勾配、マウス胚多細胞、マウス上皮幹細胞）を用いてその分子機構と細胞集団の自律性生成における役割を解析し、得られたデータを領域内で共有する。これら3班からの情報は、3班相互の連携に加えて井垣班のショウジョウバエモデルや藤田班、小田・大谷班のマウス腸における細胞競合の解析とも連携し、生理的な細胞競合の制御機構の理解を加速させる。上記3班で共通する細胞競合機構が既に見いだされつつあり、**生理的細胞競合を駆動する共通原理の存在**が見え始めている。

平島班は、細胞競合を力学と生化学の両視点から解析し、数理モデリングも含めた統合的アプローチで得られたデータを領域内で共有しつつ、領域内共同研究を強く推進する。一方、領域全体に提供される様々な細胞競合制御因子やその動作機序の情報を戸田班が集約し、合成生物学的アプローチによって細胞の競合的コミュニケーションの人工的設計を行う。得られたルール設計を各研究班がそれぞれの実験系で解析し、得られたデータを再び戸田班に戻して合成系で解析するというフィードバックを繰り返すことで、細胞の競合的コミュニケーションから自律性をもつ多細胞構造が生み出される基本原理を解明する。これらの**構成論的アプローチは、複数の重要な領域内融合研究につながっている**。原田班は、空間マルチオミクス技術の開発を通じて、公募班も含めた領域内の全ての研究班が細胞競合における細胞間のエピゲノム、転写、タンパク質発現を単一細胞レベルで時空間的・定量的に解析することを可能にし、領域全体の研究を大きく促進する。実際に、**原田班の技術を利用した領域内共同研究による細胞競合の時空間・定量的解析が順調に進展**しており、今後の成果が大いに期待される。



## 9 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、本研究領域が育成に取り組んだ「若手研究者」の定義を始めに示すこと。

若手研究者の定義を「本領域設立時40歳未満」とし、以下にその育成に係る取り組みを記載する。

### 1. 細胞競合コロキウムおよび班会議の開催

本研究領域では、若手研究者の合宿形式のセミナー・勉強会として「細胞競合コロキウム」（2日間開催）を毎年開催し、若手研究者に口頭発表と議論の場を与えている。毎年非常に活発な質疑応答とともに数多くの口頭発表が行われ、かなりの盛況を呈している。本会では本領域の研究代表者を中心としたシニアな研究者、ポスドク、大学院生、学部学生などキャリアの垣根を越えて盛んにディスカッションが交わされ、若手研究者の育成の機会になるだけでなく、新たな共同研究が始まるきっかけとなり、領域研究の発展にも大きく貢献している。また、細胞競合コロキウムにおける活発な議論の雰囲気は領域班会議にも活かされ、若手研究者が班会議においても躊躇することなく質疑応答に参加するという独自の文化を作り出しており、領域全体の議論の活性化に貢献している。細胞競合コロキウムおよび班会議においては、本領域の計画研究・公募研究代表者らによる審査によりベストプレゼンテーション賞、ベストディスカッサー賞、ベストポスター賞をそれぞれ数名ずつに授与しており、会の活性化につながっている。

### 2. 若手研究者の栄転・昇進

1. 森永浩伸（西村班）東大医科研 老化再生生物学分野・ポスドク ⇒ 名古屋大 環境医学研究所・特任准教授（2021年4月1日・38歳）
2. 谷口 喜一郎（井垣班）京大・生命科学研究科・特定助教 ⇒ 京大・生命科学研究科・特定講師（2023年4月1日・42歳）
3. 小川 基行（小川班）東大・薬学系研究科・特任研究員 ⇒ 順天堂大・薬学部・助教（2024年4月1日・31歳）
4. 阿部耕太（石谷班）大阪大・微研・特任研究員 ⇒ 大阪大・微研・助教（2024年5月1日・33歳）
5. 三井優輔（高田班）基生研・分子発生学研究部門・助教 ⇒ 京大・医生物学研究所・助教（2024年4月1日・40歳）
6. 青木佳南（石谷班）大阪大・微研・学振PD ⇒ 大阪大・微研・特任助教（2024年4月1日・31歳）
7. 永田 理奈（井垣班）京大・生命科学研究科・特定研究員 ⇒ 京大・生命科学研究科・特定助教（2023年4月1日・29歳）
8. 小川慶悟（井垣班→小田班）京大・生命科学研究科・大学院生、京大・iPS細胞研究所・特定研究員 ⇒ 京大・生命科学研究科・特任助教（2024年4月1日・29歳）
9. Thanh Phuong Nguyen（小田班）生理研・細胞構造研究部門・大学院生 ⇒ Mechanobiology Institute・Postdoc（2024年3月1日・29歳）

### 3. 若手研究者の受賞

本領域内の若手研究者について全39件の受賞があり、代表例のみ記載する。

1. 永田 理奈（井垣班・特定研究員）第16回 ロレアル・ユネスコ女性科学者 日本奨励賞
2. 永田 理奈（井垣班・特定研究員）第38回 井上研究奨励賞
3. 永田 理奈（井垣班・特定研究員）Daigoro Moriwaki Award (First Prize) JDRC13
4. 原岡 由喜也（石谷班・大学院生）Young Investigator Award The 6th ICSA Conference
5. 小川基行（小川班・特任研究員）若手優秀発表賞 第75回日本細胞生物学会
6. 小川基行（小川班・特任研究員）若手優秀発表賞 第96回日本生化学会大会
7. Thanh Phuong Nguyen（大谷班・大学院生）Best short talk presentation SCBS 2024
8. 城戸 明日香（井垣班・4回生）ベストプレゼンテーション賞 第31回日本Cell death学会集会
9. 水野 皓介（戸田班・大学院生）EMBO Reports poster prize The 68th NIBB Conference
10. TH Nguyen Tran（高田班・大学院生）Best poster award 2023 Wnt Signaling Conference GRC

## 10 アウトリーチ活動に係る取組状況

研究領域全体を通じ、一般向けのアウトリーチ活動に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 1. 領域ニュースレターの定期的な発行

領域のアウトリーチ活動として、ニュースレターの発行に力を入れてきた。これまでに、2022年より計5回発行しており、毎号領域内の研究成果、プレスリリース、学会・セミナーレポート、重要論文の紹介、細胞競合研究の世界の動向、研究者エッセイなどを多数盛り込んでいる。各号の特筆すべき特集を以下に記載する。

- ・2022年4月号(全37ページ)・・・領域代表からの挨拶、ウェブサイトについて
- ・2022年9月号(全40ページ)・・・研究と人生のコト、教えてください！(各計画研究代表者からのメッセージ)
- ・2023年2月号(全58ページ)・・・各公募班員の紹介文
- ・2023年8月号(全48ページ)・・・写真特集
- ・2024年4月号(全46ページ)・・・緊急地震アンケート、先輩からのメッセージ

本ニュースレターでは、領域内研究者の連携と若手育成を特に意識している。「領域研究成果の紹介」「細胞競合に関する重要論文の紹介」は主に若手研究者や学生に担当してもらい、若手の育成とアピールの場を提供している。また、「研究者エッセイ」は、各研究者の哲学や人物像を照らすような内容となっており、研究者同士の連携や共同研究促進に貢献している。

領域ニュースレター：<https://www.multicellular-autonomy.lif.kyoto-u.ac.jp/newsletter/>



### 2. 主な一般向け講演・小中高生向け授業など

井垣 達吏 細胞競合によるがん制御, がんプロ第8回公開講座 2021年10月10日

井垣 達吏 競合的コミュニケーションから迫る多細胞生命システムの自律性, JAAS キックオフミーティング 2022年6月23日

小田 裕香子 上皮細胞間接着を形成誘導する新規生理活性ペプチドの発見, Cardiovascular Scientific Symposium (日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社、日本イーライリリー株式会社) 2022年6月25日

小田 裕香子 日経STEAMシンポジウム『常識を打ち破れ！女性活躍推進・SDGsへの挑戦』女性研究者育成座談会パネリスト (日本経済新聞) 2022年7月28日

小田 裕香子 からだのバリアはどうやってできるのか?, 京都大学エグゼクティブ・リーダーシップ・プログラム「異分野研究者との交流会」 2022年10月29日

小田 裕香子 バリア形成を促進する新規生理活性ペプチドの発見, LINK-J (一般社団法人ライフサイエンス・イノベーション・ネットワーク・ジャパン) 2023年1月17日

小田 裕香子 iPS細胞・生命科学研究と自分, 京都洛西ロータリークラブ, 2023年10月27日

小田 裕香子 CiRAの研究室リーダーになるまでの道のり, 宮崎西高等学校 x 京都大学 iPS細胞研究所 共催シンポジウム 2023年11月25日

石谷 太 大阪大学 公開講座 魚が切り拓く！がんと老化のメカニズム 2023年11月

石谷 太 山口県医師会生涯研修セミナー がん・老化の未知の原理を魚類モデルで暴く 2024年5月

石谷 太 "魚で切り拓く！がんと老化のメカニズム", SpringX 超学校 高校生のためのミチシルベ 2022年8月

石谷 太 女子中高生のための「関西科学塾」光る魚から迫る！ がん・病気のメカニズム 2023年10月

川根 公樹 細胞の死の物語-生と健康を支える細胞死- 夢ナビライブ 2022年7月10日, 2023年7月16日

川根 公樹 私達の生と健康を支える細胞死 -最新鋭顕微鏡を用いたイメージングにより解き明かす細胞死の世界- 大阪府立寝屋川高校 2022年10月13日, 2023年10月5日

池田 達郎 基礎生物学研究所・一般公開 2022 (パネル展示等) 2022年10月1日

田所 優子 金沢大学がん進展制御研究所 がん研究早期体験プログラム 2023年8月1-3日、

森本 充 神戸医療産業都市 一般向け研究活動紹介動画 2021年

森本 充 理化学研究所生命機能科学研究センター 一般公開 2023年11月3日

## 11 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 1. 研究費の使用状況

以下に本領域の研究費で取得した主な使用機器とその活用例を列挙する。

共焦点レーザー顕微鏡 Stellaris 5（京都大学）：蛍光免疫染色を行ったサンプルの解析、タイムラプス解析などに幅広く活用。

画像解析ソフト IMARIS（京都大学）：サンプル撮影後の画像解析に活用。

リアルタイム PCR システム（京都大学）：細胞内の遺伝子発現量の解析に活用。

倒立型電動リサーチ顕微鏡 IX83（京都大学）：蛍光免疫染色を行ったサンプルの解析、ライブセルイメージング解析などに幅広く活用。

リアルタイム PCR システム QuantStudio3（京都大学）：遺伝子の発現量の比較に幅広く活用。

Thunder Imager 3D（大阪大学）：蛍光免疫染色を行ったサンプルの解析、タイムラプス解析などに幅広く活用。

高感度分光検出器（Ga Asp PMT）（大阪大学）：蛍光免疫染色を行ったサンプルの解析、タイムラプス解析などに幅広く活用。

共焦点スキャナユニット CSU-W1（大阪大学）：マウス着床前胚のライブイメージング解析に活用。

顕微鏡用培養システム STXG-WSKMX（大阪大学）：マウス着床前胚のライブイメージング解析に活用。

共焦点レーザー顕微鏡システム AX-R（金沢大学）：蛍光レポーターを発現する細胞集団動態の可視化から細胞内分子局在の可視化まで、幅広く活用。

フローサイトメーター CytoFLEX S（金沢大学）：各細胞の蛍光レポーター発現レベルや免疫染色後の各細胞の蛍光強度の定量などに幅広く活用。

生細胞解析システム Incucyte SX1（金沢大学）：CO<sub>2</sub> インキュベーター内での蛍光観察が可能で、数日～1週間以上にわたる細胞の蛍光・形態変化の長期間タイムラプス観察に活用。

共焦点イメージングシステム Dragonfly（九州大学）：空間オミクス解析の1つとして、連続的な蛍光免疫染色による細胞状態の可視化に活用。

蛍光倒立顕微鏡 THUNDER Ready DMi8（東北大学）：蛍光染色を行った細胞の観察、膨張顕微鏡法による超解像解析に活用。

倒立型リサーチ顕微鏡 IX83（基礎生物学研究所）：蛍光免疫染色を行った組織サンプルの解析に活用。

共焦点レーザー顕微鏡 LSM700（久留米大学）：蛍光免疫染色を行ったサンプルの解析に活用。

回転胚培養器 ACY-220 II（熊本大学）：マウス胎仔の子宮外培養に活用。

リアルタイム PCR システム QuantStudio 1（国立研究開発法人国立循環器病研究センター）：細胞や臓器における遺伝子発現の変化を調べる目的で高頻度に活用。

その他、シミュレーション用の計算機の購入、細胞培養実験のための血清、マウスおよびショウジョウバエ飼育費用、網羅的スクリーニングを行うための消耗品、RNA-seq 解析にかかる費用などに効果的に使用した。

### 2. 今後の研究費使用計画

2024年9月4日～5日、京都市において細胞競合国際シンポジウムを開催予定であり、本年度の総括班費の大部分を支出予定である。本シンポジウムは、本領域の班員に加えて世界の細胞競合研究を牽引する海外の中心研究者17名および国内研究者2名を招聘し、参加者全員での General Discussion を含め2日間にわたって発表と議論を行う、過去最大の細胞競合国際会議となる予定である。本シンポジウムに加えて、領域班会議や細胞競合コロキウムを開催、ニュースレター発行にも引き続き総括班費を支出する予定である。

## 12 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後実施する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

本領域の目標を達成するため、期間内に上述の6つの課題（p10参照）をクリアすることを目指して研究を進めている。以下に、各課題に関する中間評価時現在の状況と今後の推進方策を記す。

### 1. 細胞競合を誘発する細胞間の質の差の解明

細胞競合をトリガーするのは、隣り合う細胞間の何らかの「質の差」と考えられる。本領域ではこれまでに、ショウジョウバエ上皮において隣接する細胞間の**タンパク質合成量の差**が細胞競合の誘導に必須であること（井垣班：投稿準備中）、また敗者細胞で共通して発現上昇する転写因子 **Xrp1** が細胞競合誘導に必要な十分であることを見いだした（井垣班：投稿準備中）。Xrp1 は PERK-eIF2 $\alpha$ 経路を介してタンパク質合成を低下させることから（井垣班：*PLoS Genet* 2021）、ショウジョウバエにおいて **Xrp1** の発現レベルが細胞のフィットネス（適応度）を規定し、その細胞間の相対的な差が細胞競合を駆動すると考えられる。さらに、敗者細胞における Xrp1 の発現誘導メカニズムの解明にも大きく近づいた（非公開部分；井垣班）。このメカニズムが解明されれば、**細胞の適応度を規定するメカニズムの解明という、細胞競合研究の1つのゴールに到達できると期待される**。一方、ゼブラフィッシュ胚において、モルフォゲン勾配に応じて形成される細胞間のカドヘリン発現量のバランスの乱れが普遍的に細胞競合を起こすことを発見した（石谷班：*Nat Commun* リバイス中；*Sci Adv* リバイス中）。本発見は、**モルフォゲン勾配を介した形態形成という、多細胞生物の普遍的な発生現象を支える基本原理の解明**につながるものである。今後は、ショウジョウバエとゼブラフィッシュで見いだされたこれらの現象の解析をさらに進めるとともに、これらの原理が哺乳類細胞においてどのような形で保存されているのかを検証していく。公募班も含めた本領域全体が有する様々な哺乳類細胞競合解析系を用いて、残り2年間でこれを達成する。

### 2. 細胞競合のコア経路の解明

本領域ではこれまでに、細胞競合のコア経路としてショウジョウバエの2つの経路（Xrp1 依存のおよび TNF 依存経路）を発見した。また、様々な細胞競合解析系でその分子機構の理解を大きく進展させた。例えば、ショウジョウバエの敗者細胞で共通してオートファジー依存細胞死が誘導されること（井垣班：*Curr Biol* 2022）、ゼブラフィッシュ胚や哺乳類細胞での正常細胞と前がん細胞の細胞競合において細胞外 ATP（藤田班+石谷班：*Curr Biol*, 2022）、カルシウムスパーク（藤田班+石谷班：*Cell Rep*, 2022）、細胞老化（石谷班：*Nat Commun*, 2022）、および FGF21（藤田班+小川班：*PNAS*, 2023）が重要な役割を果たすことを見いだした。さらに興味深いことに、哺乳類培養細胞（藤田班：投稿準備中）、マウス初期胚（佐々木班：未発表）、マウス表皮（西村班：*Dev Cell*, 2021）、マウス発生休止胚（公募班・高岡）において共通して p53 活性を介した敗者細胞の排除が見いだされ、またショウジョウバエにおいても p53 に極めて類似した Xrp1 を介した細胞競合制御機構が明らかになり、**種を超えて保存された p53 を介した細胞競合制御機構の存在**が明らかになった。この他、領域内に蓄積されてきた様々な細胞競合制御因子やシグナル経路に共通点が見いだされつつあり、残り2年間で複数の細胞競合コア経路の解明を達成する。

### 3. 細胞競合マーカー分子の同定

細胞競合マーカーの同定は、細胞競合の生理的役割の理解やその人為的制御に必須であるが、いまだ確立されたものは存在しない。これまでの本領域研究により、ショウジョウバエ上皮における細胞競合マーカー分子として Xrp1 およびリン酸化 eIF2 $\alpha$ を同定することに成功した（井垣班：*PLoS Genet* 2021）。また、ゼブラフィッシュ胚およびマウス胚において敗者細胞で共通して発現誘導される転写因子 Foxo3 を同定し、**Foxo3 が脊椎動物における細胞競合の普遍的マーカー分子**であることを見いだした（石谷班+佐々木班：*Nat Commun* リバイス中）。一方、佐々木班および小川班による独立の解析で、マウス胚および哺乳類培養細胞における細胞競合で共通の増殖因子が細胞排除の中心的役割を果たすことを見出し（未発表）、細胞競合マーカーとなる可能性が高い。今後、さらに領域内に蓄積されてくる細胞競合の制御分子群を基に、細胞競合の特異的マーカー分子の同定を目指す。本領域で細胞競合の特異的マーカーを同定できれば、今後の細胞競合研究で世界を大きくリードすることが可能になる。

#### 4. 生理的細胞競合の役割と動作原理の解明

生理的な細胞競合を捉えてその動作原理を解明することは、細胞競合の本質を理解しそれを応用・発展させるための必須の課題である。これまでの本領域研究により、ゼブラフィッシュ胚においてモルフォゲン勾配を最適化するための細胞競合（石谷班：*Nat Commun* リバイス中；*Sci Adv* リバイス中）、マウス胚エピブラスト集団の品質と構造を最適化するための細胞競合（佐々木班：*Dev Growth Differ* 2023）、およびマウス表皮幹細胞集団の品質を最適化するための細胞競合（西村班：*Dev Cell*, 2021）の分子基盤の理解が大きく進展した。今後はこれらの解析をさらに強力に推進するとともに、公募班として取り込んだ生理的・病的細胞競合の解析を強力に進めていく。特に、**インプリンティング病（ベックウィズ・ヴィーデマン症候群）の発症・消退過程に細胞競合が関わる可能性**（公募班：森）、**ミベリ型汗孔角化症の病変の拡大に細胞競合が関わる可能性**（公募班：久保）はいずれも非常に高く、また白血球の進展において**変異造血幹細胞が正常造血幹細胞を競合的に排除する「造血幹細胞競合の新仮説」**も見いだしており（公募班：長澤）、これらの公募研究は本領域の方向性を大きく広げるものと期待している。

#### 5. 空間マルチオミクス解析技術の開発

これまでの細胞競合研究における最大の技術的障壁は、競合する勝者細胞と敗者細胞の細胞変化やシグナル伝達変化を時空間的・定量的に捉えるための優れた方法論が存在しなかったことであった。これを打開するため、本領域では細胞集団内・組織内の空間位置情報を保持したまま単一細胞レベルでマルチオミクス解析する方法論を確立し、領域研究を大きく加速する。これまでの本領域研究において、**空間トランスクリプトーム解析技術（光単離法：PIC）を細胞競合解析用のモデル系（ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウス）に最適化し**（原田班＋井垣班・石谷班・池田班・高岡班）、**本領域で対象となる組織や細胞の形態・状態の違いに対応した空間トランスクリプトーム解析のプロトコルを確立した**（原田班：*STAR Protoc* 2022）。さらに、空間エピゲノム解析技術（PIC-ChIL）を用い、細胞競合に伴うエピゲノム状態を取得することを可能にした（原田班：未発表）。現在、原田班を起点とした数多くの領域内共同研究が進行中である。今後は、空間トランスクリプトーム（PIC）と空間エピゲノム（PIC-ChIL）を同時に行い、同一切片上で各オミクス情報を取得する方法論を確立し、空間マルチオミクス解析技術を完成させる。本技術は、細胞競合の包括的理解にとどまらず、あらゆる細胞間相互作用のオミクス解析に利用可能である。また、細胞競合の人為的操作法や競合細胞の追跡技術の確立につながると期待される。

#### 6. 多細胞集団の自律性生成メカニズムの解明

細胞競合研究を「多細胞生命システムの自律性の理解」へと飛躍・発展させるためには、細胞競合の分子機構を解明し、特異的マーカー分子を用いて生理的細胞競合を捉えてその仕組みを理解するだけでなく、細胞間の競合的コミュニケーションを再構成し、多細胞システムが自律性を獲得するのに必要十分な条件を検証・理解する必要がある。これまでの本領域研究において、人工受容体 *synNotch* システムを用いた合成生物学的アプローチにより、生理的細胞競合を引き起こすモルフォゲン濃度勾配と細胞間接着を連動させ、これによる**パターン形成の自律的生成を実験および理論により証明**することに成功した（戸田班＋平島班 *EMBO Reports* リバイス中）。また、人工的な細胞間コミュニケーションと細胞死を連動させ、培養細胞間において競合的コミュニケーションの操作解析を可能にした（戸田班：未発表）。さらに、領域内で得られる様々な競合的コミュニケーションの数理モデリング解析を進行中である（平島班＋戸田班・佐々木班・小田班；西川班＋井垣班）。今後は、領域内共同研究を一層促進することでこれら構成論的アプローチを加速させ、残り2年間で領域の集大成としての結論を出したいと考えている。

以上のように、本領域研究は予想を上回るペースで順調に進展しており、今後さらに大きな発展が見込まれる多くの未発表データを得ている。今後は領域内に蓄積した様々なデータを領域全体で統合的に検証し、総括班のリーダーシップにより領域内融合研究を強く促進しながら領域目標の達成を目指す。

2024年9月には、本領域の班員に加えて世界の細胞競合研究をリードする海外研究者17名を招聘し、京都市にて細胞競合国際シンポジウムを開催する（<https://www.bio.lif.kyoto-u.ac.jp/internationalsympo/>）。細胞競合の中心研究者全てが参加表明し、過去最大の細胞競合国際会議となる予定である。本シンポジウムでは、通常の発表・質疑応答に加えて参加者全員での全体討論のセッションを設け、現時点での細胞競合の定義の確認や現状整理、今後の課題や挑戦などの議論を主導する予定である。本シンポジウムにおいて本領域のこれまでの成果を発表し、世界の細胞競合研究にインパクトを与えたいと考えている。

## 13 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### **Ginés Morata (Professor, Centro de Biología Molecular, CSIC-UAM, Spain)**

I wish to state beforehand that I have followed the progress of the various Japanese groups working on cell competition for a long time, so I can claim to be well acquainted with their work. I believe it is fair to say that much of the progress in the field in the last twenty years or so is due to the transformative work of the group of Japanese scientists that participate in this grant. My evaluation is primarily based on the report provided by the Head Investigator, Prof. Tatshushi Igaki, and by careful reading of some key publications.

My overall assessment of the 2021-2024 period is extraordinarily positive. There are two principal aspects I wish to emphasize: 1) The excellent scientific output, both in the quality and the quantity of the research, and 2) the increasing number joint collaborations that have been established by the different participating groups

#### Scientific output

During the period under consideration the investigators have focused their efforts in several distinct yet interrelated topics within the general frame of cell competition. They have made important progress in all these aspects. In what follows I highlight some significant observations.

One major issue is the identification of factors and mechanisms determining the fate, winner or loser, of the interacting cells. Much of the progress in this aspect is due to the Igaki group, working with *Drosophila*: they have identified a transcription factor (Xrp1), the regulates protein synthesis and that is upregulated in loser cells. The suggestion is that the expression levels of Xrp1 control metabolic activity and the comparison between those levels determines the fate, winner or loser, of the interacting cells. This is already published and they are now studying the mechanism of Xrp1 induction. The groups led by Fujita and by Ishitani have also identified distinct factors (ATP, calcium sparks, FGF21) that may trigger cell competition in vertebrate cells.

One related issue is the identification of bona fide cell competition markers, critical information to analyze the physiological roles of cell competition. Apart from the Xrp1 gene already mentioned, collaborative work from the Igaki and the Ishitani groups have identified what may be a universal cell competition marker in vertebrates. Whether there is a truly universal cell competition marker for all metazoans is an unresolved and intriguing question.

A new and powerful approach is the use of multi-omics technologies to study the molecular and cellular changes triggered by cell competition interactions. By the nature of the phenomenon, the analytical discrimination between winner and loser cells is very difficult. The investigators are tackling this problem by spatial transcriptome analysis technology, which may discriminate transcription profiles of single cells according to their morphology, metabolic state and position within the tissue.

#### Interactions between participating teams

Reading the report from Igaki it becomes immediately apparent the high degree of interactions among the participating teams. In a way it was expected since even working of different experimental models (flies, mice, zebrafish, culture cells), cell competition is the thematic link among the different groups, what naturally leads to interactions and collaborations. The trend is already reflected by some joint publications by the Fujita, Ishitani and Ogawa groups, but their number will undoubtedly increase in the future. I believe these studies will lead to a more comprehensible view of the phenomenon of cell competition

### **西田 栄介（理化学研究所 生命機能科学研究センター（BDR）・センター長）**

本学術変革領域研究（A）「多細胞生命自律性」は、領域代表である井垣ら日本の研究者が世界をリードしてきた細胞競合研究の強みを結集し、細胞競合の基本原則とその生理的役割を理解するとともに、さらに多細胞生命システムの自律性が生み出される原理を解くことを目指して構築された極めて意欲的で挑戦的な研究領域である。その目的のために、種々の動物種を用いた世界トップレベルの細胞競合研究者に加え、イメージングや先端オミックスの若手研究者を集めチームを構築している。

現在までに本研究領域の研究は当初の予定を超えて大きな成果が得られた。特に、（1）細胞競合のメカニズム解明の根本課題である細胞競合を駆動する「細胞間の質の差」を決定する因子をハエとゼブラフィッシュにおいて分子レベルで同定したこと、また（2）細胞競合マーカーを種々の動物種で同定したことである。これらの成果は、本分野において大きなインパクトを与えた特筆すべき成果である。また、これらの成果は個別研究では達成することが難しく、領域研究として様々なモデル系の研究者や多様な専門性を有する研究者が集まり共同したことで初めて成し得たことであり、高く評価できるものである。

細胞競合の生理的役割については、胚発生や成体表皮の研究において重要な進展があった。また、病態における細胞競合の役割の可能性も見出されてきており、本研究領域が大きく広がる可能性が見えてきた。また、多細胞集団の自律性生成メカニズムの理解については、着実な進展が見られている。

以上を総合すると、本領域研究は、現在まで卓越した研究成果を上げているとともに、これからのさらなる飛躍的進展の足がかりが得られており、今後の展開が大いに期待できる。

最後になるが、本領域は領域代表の強いリーダーシップの下、順調に運営がなされており、また大変活発な活動（国際会議の主催やニュースレターの発行など）が展開されていることを付記しておきたい。

### 菊池 章（大阪大学感染症総合教育研究拠点・企画室長、特任教授）

本学術変革領域（A）は、細胞集団が自律的に自身の構造や機能を自己最適化するメカニズムを「細胞競合」の視点で、明らかにする課題である。2014（H26）～2018年度（H30）の新学術領域「細胞競合：細胞社会を支える適者生存システム」（領域代表藤田恭之）での成果をもとに、領域代表の井垣達吏が「細胞競合を誘発する細胞間の質の差の解明」をはじめとする6つの解決すべき課題を明確に掲げ、適切な研究班を組織した。その目的は、我が国において実績のある細胞競合研究の強みを結集し、細胞間の競合的關係を、細胞競合のマスターレギュレーターや特異的マーカー分子を同定するとともに、空間的マルチオミクス解析技術を開発することにより、多様な細胞競合の生理的役割を解明することである。目的達成のために、計画研究班による連携体制が整備されており、ある計画班グループから細胞競合に関わる制御分子や動作機序が提供されれば、別の計画班グループが独自の生理的細胞競合のモデル系で解析し、理解を加速する。さらに、得られた成果をまた別の計画班グループが数理的モデルや合成生物学的アプローチ、空間マルチオミクス技術により、細胞競合現象を単一細胞レベルで時空間的・定量的に解析できる体制となっている。これらは、採択時の審査結果の所見として指摘された点にも対応しており、柔軟で有機的な運営体制は評価される。

領域内の連携と若手研究者育成を促進するために、班会議と若手研究者による細胞競合コロキウムが毎年開催されている。第3回の福岡での班会議に現地開催に参加したが、領域代表者のリーダーシップの下に、キャリアの垣根を超えて盛んなディスカッションが盛んに交わされていたこと、女性研究者が多く参加されていることが印象的であった。また、2024年9月には細胞競合研究をリードする海外研究者17名を招聘し、過去最大級の細胞競合国際シンポジウムを計画する等、本分野の推進に貢献している。

中間評価時期までの代表的な成果としては、井垣班は、大規模なショウジョウバエ遺伝学的スクリーニングを行い、生体内の生理的細胞競合として「Xrp1 依存的細胞競合」の分子機構を見出し、敗者細胞においてXrp1が発現誘導することの重要性を明らかにした。藤田班は、上皮組織での管腔側へ逸脱する細胞では、ATPの放出とROSの上昇が運動能を亢進していて、この「extrude me」シグナルが上皮の恒常性維持に重要であることを示した。石谷班は、ゼブラフィッシュを用いて自然免疫システムのTLR-NFκB経路がWntシグナル経路の活性を適切に制御することで、背腹軸が形成されることを見出し、脊椎動物の体づくりの基本メカニズムの理解を推進した。公募班の長澤班は、造血幹細胞の亜集団と独自で見出したニッチ細胞であるCAR細胞との関係を細胞競合の視点で捉え、CXCL12が亜集団細胞を制御することや亜集団細胞によるCAR細胞に変容にRunx Iが関与することを明らかにした。

このように、本領域は中間評価時期までに十分な成果を得ていると判断される。今後領域設定終了時までには、細胞競合が種々の生理的、病理的現象において、多細胞生物の普遍的原理あるいは、種特異的基本原理として、どのような役割と意義を有するのかを明らかにしていただきたい。

### 三浦 正幸（東京大学 大学院薬学系研究科・教授）

多細胞生物では、細胞集団が発生や再生、組織修復時に自発的に構造を作り出す仕組みが発動する。この仕組みの中で、本領域は細胞競合現象に注目し、その制御メカニズムがいかんして多細胞自律性に寄与するのかを明らかにするものである。細胞競合に関してこれまでは、細胞がおかれた状況で一番適度に優れた細胞を選択する仕組みとして捉えられ研究が進められてきた。本研究領域では、ショウジョウバエのクローン解析や哺乳類培養細胞を用いた細胞競合モデルでの解析を深化させ、細胞競合に共通の仕組みが明らかになってきた。正常発生や細胞再生系といった生理的に細胞社会を構築、あるいは維持する場面における細胞競合現象が班員の研究から見出されていることは、細胞競合現象が多細胞生物の自律的な構築原理として内包されていることを強く支持するものである。細胞競合を解析するにあたり、細胞が排除される際に発動する共通の分子マーカーがあると有用である。マーカー探索に関してはショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウスで進んでいて、動物種を超えた分子マーカー候補が出てきた。また、細胞競合に共通の現象として細胞間接着分子の乱れが細胞極性の乱れとは別に、細胞競合の引き金になることもわかってきた。これと関連し、細胞排除機構に細胞間張力の変化が関わることも示され、生体イメージング、数理モデルの手法を取り入れた研究が進んでいる。マウス初期胚ではエピブラストになるのに適した細胞を選抜する競合がある。この競合で敗者となる細胞の細胞死を抑制して残存させても発生が進むと排除される。これは細胞競合が多段階で実行され発生を安定的に進めることに寄与していることを示唆している。細胞競合モデルから見出された仕組みが、モデルを超えて正常発生やがん病態でも使われていることが領域研究者の積極的な共同研究により明らかになってきており研究分野の広がりが実感できた。後半の研究期間でも、密度の高い共同研究を推進し、世界的に研究分野を先導する研究者集団として発展することを期待する。