
プレッショ脳神経科学の創生：閉鎖空間における 圧縮刺激を介した脳機能の発現原理

領域番号：21B302

令和3年度～令和5年度

科学研究費助成事業

(学術変革領域研究 (B))

研究成果報告書

令和6年6月

領域代表者 野々村 恵子

東京工業大学・生命理工学院・准教授

はしがき

地球上のすべての生物は重力や接触する物体の硬さなど環境に由来する様々な力学刺激に常に曝されている。一方で、近年のメカノバイオロジー研究の発展により、広範な組織由来の細胞が数十種類にもおよぶメカノセンサーと呼ばれる分子を発現し、多様な力学刺激に応答することが明らかとなってきた。しかしながら、脳内に宿命的に存在する圧刺激による脳機能の基盤形成原理」については生物学的・医学的に極めて高い潜在的重要性を持つものの見過ごされてきた課題であった。本学術変革領域研究（B）「プレッショ脳神経科学の創生：閉鎖空間における圧縮刺激を介した脳機能の発現原理」ではメカノバイオロジー研究を牽引する気鋭の若手研究者であり、異なる素養と技術を持つ 4 名が、それぞれ得意とするメカノセンシング・レスポンスに関する分子機構の解析、組織・細胞を対象とした力学刺激の測定／操作技術、脳組織のライブイメージング解析などを組み合わせることで、「脳内に宿命的に存在する圧刺激による脳機能の基盤形成原理」の解明に向けた研究を行なった。ここにその研究成果を報告する。

研究組織

計画研究

領域代表者 野々村 恵子（東京工業大学・生命理工学院・准教授）

（総括班）

研究代表者 野々村 恵子（東京工業大学・生命理工学院・准教授）

研究分担者 森松 賢順（岡山大学・医歯薬学域・助教）

研究分担者 平田 宏聡（金沢工業大学・バイオ・化学部・教授）

研究分担者 中澤 直高（近畿大学・理工学部・講師）

（野々村班）

研究代表者 野々村 恵子（東京工業大学・生命理工学院・准教授）

研究分担者 岡本 麻友美（奈良女子大・研究院自然科学系・准教授）

（中澤班）

研究代表者 中澤 直高（近畿大学・理工学部・講師）

（森松班）

研究代表者 森松 賢順（岡山大学・医歯薬学域・助教）

研究協力者 西山 雅祥（近畿大学・理工学部・准教授）

研究協力者 竹田 哲也（岡山大学・医歯薬学域・研究准教授）

(平田班)

研究代表者 平田 宏聡 (金沢工業大学・バイオ・化学部・教授)

交付決定額 (配分額)

	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	44,460,000円	34,200,000円	10,260,000円
令和4年度	45,500,000円	35,000,000円	10,500,000円
令和5年度	45,370,000円	34,900,000円	10,470,000円
総計	135,330,000円	104,100,000円	31,230,000円

研究発表

雑誌論文

1. Oleg Dobrokhotoov, Masaki Sunagawa, Takeru Torii, Shinji Mii, Keiko Kawauchi, Atsushi Enomoto, Masahiro Sokabe, **Hiroaki Hirata**, Anti-malignant effect of tensile loading to adherens junctions in cutaneous squamous cell carcinoma cells, *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (査読有), 9, 2021 年, 728383
2. Yamaguchi Yohei, Nishiyama Masayoshi, Kai Hiroaki, Kaneko Toshiyuki, Kaihara Keiko, Iribe Gentaro, Takai Akira, Naruse Keiji, **Morimatsu Masatoshi**, High hydrostatic pressure induces slow contraction in mouse cardiomyocytes, *Biophysical Journal* (査読有), 121 号: 17, 2022 年, P3286-3294
3. **Hiroaki Hirata**, **Naotaka Nakazawa**, Tsuyoshi Hirashima, Andrea Ravasio, Editorial: multicellularity: views from cellular signaling and mechanics, *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (査読有), 11, 2023 年, 1172921
4. Takeru Torii, Wataru Sugimoto, Katsuhiko Itoh, Natsuki Kinoshita, Masaya Gessho, Toshiyuki Goto, Ikuno Uehara, Wataru Nakajima, Yemima Budirahardja, Daisuke Miyoshi, Takahito Nishikata, Nobuyuki Tanaka, **Hiroaki Hirata**, Keiko Kawauchi, Loss of p53 function promotes DNA damage-induced formation of nuclear actin filaments, *Cell Death & Disease* (査読有), 14, 2023 年, 766
4. Hiroki Katsuta, Satoru Okuda, Kazuaki Nagayama, Hiroaki Machiyama, Satoru Kidoaki, Masashi Kato, Masahiro Sokabe, Takaki Miyata, **Hiroaki Hirata**, Actin crosslinking by a-actinin averts viscous dissipation of myosin force transmission in stress fibers, *iScience* (査読有), 26, 2023 年, 106090
5. Yi-Ting Lai, Sasamura Takeshi, Junpei Kuroda, Reo Maeda, Mitsutoshi Nakamura, Ryo

Hatori, Tomoki Ishibashi, Kiichiro Taniguchi, Masashi Ooike, Tomohiro Taguchi, Naotaka Nakazawa, Shunya Hozumi, Takashi Okumura, Toshiro Aigaki, Mikiko Inaki, Kenji Matsuno, The Drosophila AWP1 ortholog Doctor No regulates JAK/STAT signaling for left-right asymmetry in the gut by promoting receptor endocytosis., *Development* (Cambridge, England, 査読有), 150(6) 2023

Tanita Frey, Tomonari Murakami, Koichiro Maki, Takumi Kawaue, Naoki Tani, Ayaka Sugai, Naotaka Nakazawa, Kei-ichiro Ishiguro, Taiji Adachi, Mineko Kengaku, Kenichi Ohki, Yukiko Gotoh, Yusuke Kishi, “Age - associated reduction of nuclear shape dynamics in excitatory neurons of the visual cortex”, *Aging Cell* (査読あり), 2023 Sep;22(9):e13925. doi: 10.1111/accel.13925. Epub 2023 Jul 21.

学会発表 _

1. 野々村恵子、機会受容感覚(皮膚触覚・固有感覚・肺の伸展受容)を司るPIEZOメカノセンサーチャネル、第55回日本味と匂学会大会(招待講演)、2021年
2. 平田宏聡、Oleg Dobrokhotoy、曾我部正博、表皮細胞単層中での細胞周期進行と細胞運動の協調制御：細胞間接着と Rac1 の役割、第 44 回日本分子生物学会年会, 2021 年
3. 勝田紘基、長山和亮、清島大資、町山裕亮、曾我部正博、宮田卓樹、平田宏聡、細胞内の力の伝達経路としてストレスファイバーに必要な機械的性質、第44回日本分子生物学会年会, 2021年
4. Okamoto, M. Nonomura, K., Shimamura, T., Miyata, T. Mechanosensor channel PIEZO1 regulates cerebral development. **Neuro2022** (招待講演), 2022年
5. Naotaka Nakazawa, Gianluca Grenzi, Mineko Kengaku, “Molecular mechanisms of mechano-sensing / -response for neuronal migration in 3D brain tissue”, Neuro2022 (シンポジウム・招待講演), 2022
6. Naotaka Nakazawa, “Molecular mechanisms of mechano-sensing / -response for neuronal migration in 3D brain tissue”, 大阪大学基礎工学研究科 セミナー (招待講演), 2022 (招待講演)
7. Okamoto, M. PIEZO1を介したメカノセンシングが脳神経前駆細胞の運命を制御する. 第11回分子モーター討論会 (招待講演), 2022年
8. Gao Zidan, Yamada Ayaka, Masatoshi Morimatsu, Osmolarity Induces Accute Calcium Waves in HEK293 Cells, メカノバイオ討論会 2022, 2022 年
9. 森松 賢順、西山 雅祥、成瀬 恵治、高圧刺激下での細胞動態の可視化、第 61 回日本生体医工学会, 2022 年
10. 野々村恵子、生体の多彩なメカノセンシングを担うPIEZOチャネル (2021年ノーベル

生理学・医学賞に寄せて、第23回計測自動制御学会 システムインテグレーション部門
講演会 SI2022（招待講演）、2022年

11. 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、木戸秋悟、加藤昌志、曾我部正博、宮田卓樹、平田宏聡、張力繊維に沿った力の伝達効率 は α -アクチニンの架橋によって変化する機械的特性に依存している、第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年
12. 月生雅也、取井猛流、杉本渉、伊藤功彦、Budirahardja Yemima Suryani、上原郁野、中嶋亘、三好大輔、田中信之、西方敬人、島本勇太、平田宏聡、川内敬子、抗がん剤による核内アクチン線維の形成における p53 の役割, 第 45 回日本分子生物学会年会, 2022 年
13. Hiroaki Hirata, Intercellular force dictating proliferative abilities of epidermal cells, 9th World Congress of Biomechanics, 2022 年
14. Okamoto, M., Shimamura, T., Miyata, T., Nonomura, K. PIEZO1-mediated mechanosensing regulates the fate of neural progenitor cells. **MBSJ2022**, 2022年
15. 野々村恵子、プレッショ脳神経科学の創生：閉鎖空間における圧縮刺激を介した脳機能の発現原理、第33回日本神経回路学会（招待講演）、2023年
16. 野々村恵子、PIEZO機械受容チャネルの発見がもたらしたメカノセンシング生理学研究の世界（2021年ノーベル生理学医学賞に寄せて）、第46回日本神経科学学会大会（招待講演）、2023年、
17. Keiko Nonomura, Mayumi Okamoto, Naotaka Nakazawa, Hiroaki Hirata、PIEZO1-mediated mechanosensation controls multiple events during brain development, 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）（国際学会）、2023年
18. Okamoto, M., Shimamura, T., Miyata, T., Nonomura, K. PIEZO1-mediated mechanosensing regulates the fate of neural progenitor cells in cerebral development. 第 75 回日本細胞生物学会大会（招待講演）, 2023 年
19. Okamoto, M. PIEZO1-mediated mechanosensation is involved in cerebral development. The 16th Annual Meeting and Korea-Japan Joint Meeting for Developmental Neuroscientists, 2023年（招待講演）
20. 中澤直高、“狭小な空間内を遊走する新生ニューロンがもつ力学刺激に対する検知・応答機構”、第46回日本分子生物学会年会（シンポジウム・招待講演）、2023年
21. Masatoshi Morimatsu, Hydrostatic pressure stimuli regulate the pattern of the intracellular calcium concentration, 第 61 回 日本生物物理学会年会, 2023 年
22. 森松 賢順, 圧刺激環境下における細胞機能の定量 第 62 回日本生体医工学会, 2023 年
23. Masatoshi Morimatsu, 浸透圧刺激による細胞内カルシウム応答の制御, 第 46 回日本分子生物学会, 2023 年

24. Gao Zidan, Keiji Naruse, Masatoshi Morimatsu, Osmolarity Induces Acute 2 types Calcium Waves in HEK293 Cells, メカノバイオ討論会 2023, 2023 年
25. Xinxuan Li, Keiji Naruse, Masatoshi Morimatsu, TGF- β Signaling Pathway in Chondrocytes under High Hydrostatic Pressure 第 55 回日本結合組織学会学術大会, 2023 年
26. 平田宏聡, 細胞接着境界の力学状態による表皮がん細胞の増殖制御, 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年
27. 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、木戸秋悟、宮田卓樹、曾我部正博、平田宏聡, α -アクチニンはストレスファイバーのメカニクスを変化させることで収縮力の伝達を調節している, 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年
28. 取井猛流、杉本亘、伊藤功彦、木下菜月、月生雅也、後藤俊志、上原郁野、中嶋亘、Yemima Budirahardja、三好大輔、西方敬人、田中信之、平田宏聡、川内敬子, 抗がん剤刺激による核アクチンフィラメントの形成機構解明とその制御, 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年
29. 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、加藤昌志、曾我部正博、宮田卓樹、木戸秋悟、平田宏聡, α -アクチニンによって調節されるストレスファイバーの物性はミオシン由来の力の伝達効率を調節する, 日本生物物理学会第 61 回年会, 2023 年
30. 平田宏聡、Oleg Dobrokhotov、曾我部正博, Distinct roles of cell-cell and cell-ECM adhesions in mechanical regulation of epidermal cancer cell proliferation, 日本生物物理学会第 61 回年会, 2023 年

図書

1. Kandel, Eric R., Koester, John D., Mack, Sarah H., Siegelbaum, Steven, 宮下, 保司, 岡野, 栄之, 神谷, 之康, 合田, 裕紀子, 加藤, 総夫(医学), 藤田, 一郎, 伊佐, 正, 定藤, 規弘, 大隅, 典子, 井ノ口, 馨, 笠井, 清登、メディカル・サイエンス・インターナショナル、カンデル神経科学、2022、担当:共訳, 範囲:第 7 章 (中澤直高、見学美根子) 31 ページ
2. Hiroaki Hirata, Masahiro Sokabe, The Royal Society of Chemistry, Measurement and manipulation of cellular forces using silicone elastomers. In: Biomaterials Science Series No. 12, “Material-based Mechanobiology”, 2022 年, 21 ページ
3. Hiroaki Hirata, Naotaka Nakazawa, Tsuyoshi Hirashima and Andrea Ravasio, Frontiers Media SA, “Multicellularity: Views from cellular signaling and mechanics”, 2023, 全体 139 ページ中の 3 ページを担当
4. 野々村恵子、中澤直高、エヌ・ティー・エス、「生物の科学 遺伝」、2024、特集 4 : PIEZO チャンネルによる機械刺激受容の生理学的意義、6 ページを担当

産業財産権（該当なし）

研究成果

本研究領域では「脳内の圧刺激がもつ脳機能発現への役割と分子機構の解明(下図)」を実現するために、研究の開始に際して、主たる構成員である野々村、中澤、平田、森松、

岡本の5名の若手研究者が、1) 研究の焦点の見極め(新規性、生理的重要性)、2) 機械

的な要素をモニターあるいは操作

するための実験方法についての綿

密な議論を行うことで、研究戦略を

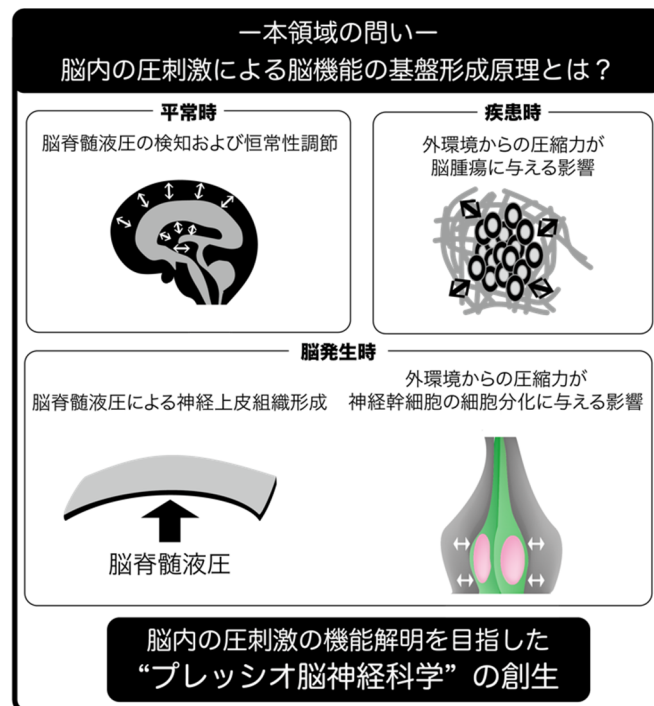
明確に定めるとともに、新規実験方

法の立案と改良を行なった。また共

同研究に関しても迅速に開始し、特

に、「発生過程における脳脊髄液量

増加に伴う神経上皮組織の伸展に



対する神経幹細胞の応答の解明」に関しては、平田、岡本、野々村が名古屋大学と基礎

生物学研究所という近い距離の研究機関に所属していたことが幸いし、「PIEZO メカノ

センサーチャネル遺伝子改変マウス脳組織への力学的負荷による影響のイメージング解

析」という、生体マウス組織という輸送が容易でない実験材料に対して(野々村が保有)、

力学的負荷という特殊な装置と高度な技能を必要となる操作(平田が担当)が可能となり、その効果を検出能の高い顕微鏡(岡本が所属する研究室に設置)により解析することが可能となった。これにより顕著な効果を見出しており(詳細は後述する)、前述のリストにあるように多くの国際学会にて発表し、極めて高い評価を受けている。論文の執筆も進んでおり、トップジャーナルへの投稿に向け準備を進めている。この他にも後述するように多数の共同実験を含む実験と解析を行い、興味深い結果を多数得ており、論文あるいは学会での報告を行なった。また、特筆すべきこととして、本研究の実施期間である 2021 年度から 2023 年度までの間に、領域メンバーのうち 4 人が PI として独立し、研究室の主催を開始した(野々村：基礎生物学研究所・助教→東京工業大学・生命理工学院・准教授(2022 年 1 月)→京都大学・医生物学研究所・教授(2024 年 4 月)、中澤：京都大学 iCeMs・助教→近畿大学・理工学部・講師(2022 年 4 月)。平田：名古屋大学・医学部・講師→金沢工業大学・バイオ・化学部・教授(2022 年 4 月)。岡本：名古屋大学・医学部・助教→奈良女子大・研究院自然科学系・准教授(2023 年 4 月))。このような独立ポジションへの応募に際しても、本研究領域における活発な議論を通じ、各領域メンバーの「研究の焦点、特に新規性と生理的重要性に関する精度」の高まりが寄与したものと考えられる。

以下に、各計画研究班の研究成果を記載する。本領域の共同研究の関係性をわかりやすく記載するために、以下に研究成果について、中澤班、野々村班、森松班、平田班の順に記載する。

「中澤班の研究成果」

中澤班は、脳発生に関わる 1) 新生ニューロンの遊走、2) 神経芽細胞や神経幹細胞の増殖・分化、に着目した。各々の細胞が脳内の圧刺激をどのように検知し、それに対して応答するのか、を明らかにすることを目的とし、1) 脳組織およびマイクロデバイス流路内で圧刺激

を受けながら遊走するニューロンの動態観察、2) マイクロデバイス流路内で圧刺激を受けた神経芽細胞における増殖・分化に関わる遺伝子発現の解析、3) 脳脊髄圧を模倣するマイクロデバイスの開発、という3つの実験を行った。

小脳発生過程で大規模に遊走する小脳顆粒細胞をマイクロデバイス流路に播種し、その遊走過程を観察した結果、広大な空間を通過する際には観察されない特殊なアクトミオシン動態によって狭小な空間を通過することが分かった。狭小な孔をもつ薄膜材料を用いて、この動態に関わる分子を探索したところ、メカノセンサー分子である PIEZO1 の関与が示唆された。またこの検討中に、細胞膜とアクチン細胞骨格を物理的にアンカーする Ezrin とその動態に関わるプロテインキナーゼ $C\beta$ (PKC β) が小脳顆粒細胞の遊走に関わるということが判明し、新たに PIEZO1 との関連を調べた。その結果、PIEZO1 による細胞内カルシウムの上昇によって、PKC β が活性化することで Ezrin が細胞膜に局在し、アクトミオシン動態を調節することが判明した。2022 年度には近畿大学にて独立した研究室を主宰し、本研究を引き続き行った。野々村班と共同で、小脳顆粒細胞特異的に PIEZO1 を欠損させたトランスジェニックマウスを作製し、その小脳を調べたところ、小脳組織内で密に細胞が詰まっているプルキンエ細胞層を通過できない小脳顆粒細胞が多数含まれていることが分かった。また、中澤らと同時期に独立した亀尾佳貴博士（芝浦工業大学・准教授）らと共同で、狭小な空間を通過する際の遊走ニューロンの動態を模倣するコンピューターシミュレーションを作成し、観察されるアクトミオシン動態による細胞膜の収縮が狭小な空間を通過するのに十分であることを確かめた。これらの成果はプレプリント論文として発表し (Nakazawa et al., bioRxiv, 2023)、現在この内容を元にした論文を投稿中である。今後は、森松班と共同で開発した細胞核への機械的なストレスを可視化するプローブ等を用いて、細胞膜のみならず細胞核への圧刺激の影響を明らかにする予定である。

神経芽細胞や神経幹細胞が脳発生過程で受ける圧刺激に応じて細胞増殖・分化が調節されるかを検証するため、マイクロデバイス流路内を通過させた神経芽細胞の遺伝子発現の変化を解析した。その結果、圧刺激によって神経細胞増殖および分化に関わる遺伝子群の発現が攪乱されることが明らかとなった。他方、取り出した細胞核で実施した実験でも同様の結果が得られたことから細胞核への圧刺激によって駆動される遺伝子発現調節機構の存在が示唆された。現在、大脳における神経幹細胞を対象に同様の実験を実施し、全遺伝子の発現解析を実施している。今後は、引き続き細胞核への圧刺激によって調節される遺伝子群の解明、および細胞核が圧刺激を検知する機構の解明に取り組む。また、森松班と共同で開発した細胞核への機械的なストレスを可視化するプローブ等を用いて、細胞核に加わる圧刺激の動態変化を明らかにする。これらの実験は、2022 年度の独立後に実施した。

大脳発生過程において脳組織が脳脊髄液から受ける圧刺激を模倣するマイクロデバイスを作製し、**岡本麻友美** 博士（野々村班・分担者）、平田班と共同で、発生過程の大脳切片に圧刺激を与える実験を実施した。今後は、圧刺激が付与された脳組織切片内の細胞動態の観察結果をまとめ、**岡本**博士、**平田**博士と共同で論文を投稿する。これらの実験は、2022 年

度の独立後に実施した。

「野々村班の研究成果」

野々村班は 1) 発生過程における脳脊髄液量増加に伴う神経上皮組織の伸展に対する神経幹細胞の応答の解明(岡本、野々村、平田、中澤)と 2) 脈絡叢上皮での脳脊髄液産生における力学フィードバック的調節機構の解明(野々村、中澤、森松、岡本、平田)に向けた研究を行った。

「発生過程における脳脊髄液量増加に伴う神経上皮組織の伸展に対する神経幹細胞の応答の解明」に関する野々村班の成果：野々村班では、「発生過程における脳脊髄液量増加に伴う神経上皮組織伸展に対する神経幹細胞の応答」の仮説としてメカノセンサー分子が参与する可能性の検証を、**野々村**が保有するメカノセンサー分子の Cre 依存的欠損マウス系統について、大脳皮質発生の特権家である**岡本**が解析することにより実施した。神経前駆細胞が生み出す娘細胞の運命の追跡実験、および、カルシウムイメージングを行った結果、メカノセンサー分子が大脳皮質発生において重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに、このメカノセンサー分子が大脳組織に存在する力を実際に感知して神経前駆細胞の運命の調節を行っているかどうかを調べるために、細胞伸展装置であるストレッチチャンバーを用いて大脳組織へ力学刺激を与える実験を実施した。**平田**と共同研究により、チャンバーのコーティング法を検討し、大脳組織の伸展に成功した。本実験からは、このメカノセンサー分子が大脳発生過程における神経前駆細胞の動態の制御にどのように関わるのか、非常に興味深いデータを得ることができた。これらを論文としてトップジャーナルに投稿準備中である(**岡本、野々村、平田**ら)。2023 年度には奈良女子大学にて独立した研究室を主催し、本研究を引き続き行った。このメカノセンサー分子による力の感知の下流でどのようなシグナルカスケードが働き、神経前駆細胞の運命の制御につながるのか、その分子メカニズムについて現在引き続き解析を進める。また、上述のように**中澤**班が作成した「大脳発生過程において脳組織が脳脊髄液から受ける圧刺激を模倣するマイクロデバイス」を用いてライブイメージングを行うことにより、より in vivo に近い力学刺激条件下におけるメカノセンシングおよびメカノレスポンスの関係についての、詳細な解析が可能となると見込んでいる。このよう、「脳内に宿命的に存在する圧刺激による脳機能の基盤形成原理」に関して顕著な研究成果を得た。

「発生過程における脳脊髄液量増加に伴う神経上皮組織の伸展に対する神経幹細胞の応答の解明」に関する野々村班の研究成果：本研究は脳の発生と機能におけるメカノセンシング機構の生理的な役割の解明を目指すものである。そのために、メカノセンサーとしての機能をもつタンパク質に着目し、その発現が認められる脳内の細胞種について、機械的な要素の変動が細胞挙動に及ぼす影響を解析する。2021 年度および繰越期間中には、機械的な刺激の負荷がどのような細胞内シグナル系の変動を伴い細胞挙動の変化をもたらすのかについて、ダイナミクスを含めて検証を行うためのイメージングシステムの検討とセットアップ

を、脳のライブイメージングを専門とする中澤から助言を得つつ行なった。これにより、蛍光タンパク質レポーターを遺伝的に発現させたマウスの脳組織の ex vivo 系において、ライブイメージングにより細胞挙動および細胞内シグナル系の変動を解析できるようになった。このライブイメージング系を用いて、対象脳組織の ex vivo 培養に対し、薬剤を添加した場合の細胞内シグナルの変動について解析した。並行して、ライブイメージング系に機械的な刺激を負荷するための系について、組織や細胞に対する力学負荷の影響に詳しい平田の助言を得つつ検討を進めた。導入予定の一部の機器について、新型コロナウイルス流行に伴う製造および物流の遅延の影響を受けたものの、翌年である令和 4 年度に繰り越すことで支障なく検証することができた。森松班により作成された圧刺激負荷チャンバーを含め、複数の種類の機械的な刺激について方法を検討した。また、令和 5 年度には、脳組織の ex vivo 系を用いたライブイメージング系において、メカノセンサー分子を活性化する薬剤を添加することにより、顕著な細胞内シグナル変化を検出することに成功した。さらにこの変化がメカノセンサー分子を遺伝的に欠損させたマウスの脳組織を用いた場合には認められないことについて確認した。加えて、機械的な刺激を負荷した場合にも、細胞内シグナルがメカノセンサー分子依存的に変動することを示唆する予備的結果を得た。今後、解析個体数を増やし統計的な解析を進めた後に、これらの結果を国際的な科学雑誌に報告する予定である。

脈絡叢 ex vivo 系では数時間程度の短時間の解析は可能であるが、多くの細胞応答には数時間から数日程度の時間を要する。そこで脈絡叢オルガノイド系を用いることで、数時間から数日程度の時間でメカノセンサー分子下流の細胞応答について明らかにすることを計画した。本研究期間中には、領域アドバイザーのひとりである京都大学・医生物学研究所永樂元次教授のご協力のもと、野々村研究室においても脈絡叢オルガノイド系についてセットアップを進めた。各種試薬やプラスチック器具などの検討も含めた条件検討の結果、ヒト iPS 細胞由来の神経組織オルガノイド作成についても、組織の分化に関して良好な結果を得た。今後、オルガノイド系においても、薬剤や機械的な刺激の添加にも応じた細胞・組織応答に関して、RNA シークエンスや免疫染色などによる細胞応答解析を進める。これに加えて、ライブイメージング系と組み合わせた解析を行うことで、脳脊髄液産生組織のメカノセンシングダイナミクスについて、より詳細な解析を進める。このように「発生過程における脳脊髄液量増加に伴う神経上皮組織の伸展に対する神経幹細胞の応答の解明」に関して、本研究期間中に研究上最も難しい各種系のセットアップおよび良好な予備実験の取得を達成することができた。今後は、研究室に参入した大学院生らと共に、よりスピードアップして研究を進め、研究成果をトップジャーナルに投稿することを目指している。

「森松班の研究成果」

森松班では、脳内の圧刺激がもつ脳機能発現への役割と分子機構の解明を目的とし、「圧刺激を可視化定量するためのバイオプローブ」および「圧刺激の定量的操作法」を用

いた圧刺激の可視化定量ツールを構築してきた。「圧刺激を可視化定量するためのバイオプローブ」に関しては、細胞接着や細胞核をターゲットに圧刺激センサープローブを開発した。平田班とは細胞間圧刺激の定量のため、新たなセンサープローブの開発を実施した。その結果、従来までの細胞間圧刺激センサープローブと比較し、高シグナルなセンサープローブの構築を実現した。今後、腫瘍細胞塊成長時の細胞間圧刺激の定量を実施していく予定である。また、癌細胞の遊走メカニズムの解明に向けた研究に、開発したバイオプローブ技術の応用を見込むことができた。さらに、中澤班とは、細胞核における圧刺激の定量のため、新たなセンサープローブの開発と細胞応答の計測を実施した。その結果、初期段階であるが、薬剤処理による細胞核への圧刺激変化を、開発したセンサープローブを用いて可視化定量した。今後、本技術とマイクロデバイスの技術を融合させ、細胞核が圧刺激の感受応答機構の解明に取り組む。

「圧刺激の定量的操作法」に関しては、培地の循環と細胞への安定した圧刺激負荷（5-200 mmHg）を可能とする装置に成功し、圧刺激環境下での細胞機能のリアルタイム計測が可能となった。これを野々村班に提供した。さらに、他の研究機関との新たな連携の結果、開発した装置を用いた循環器や泌尿器に関連する細胞や組織の機能解析への展開を見込んでいる。さらに、領域内での共同実験の遂行中に想定外の生命現象も観察され、新たな細胞の圧刺激応答現象の創出に成功した(現在学術論文へ投稿中)。今後は、本研究推進中に表面化した技術的課題のさらなる改善や、各細胞や組織に最適な圧刺激の可視化定量ツールの構築を継続し、圧刺激に応じた機能発現への役割とその分子機構の解明を進めていく。

「平田班の研究成果」

平田班では、成長時の腫瘍細胞塊と周囲組織との間の力学相互作用とそれが腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を進めた。この目的のため、蛍光ビーズを分散させたコラーゲンゲル中にヒト皮膚扁平上皮癌細胞をまばらに包埋培養し、腫瘍細胞塊の成長過程におけるゲル中ビーズ分布の時系列画像に粒子画像流速計測法（PIV）を適用することで、一定時間間隔ごとのコラーゲンゲルの変形場を導出した。研究開始当初は、細胞塊の成長が周囲の組織を圧迫するものと予想したが、予想に反し、腫瘍細胞塊の成長とともに周囲のコラーゲンゲルは細胞塊に向けて継続的に引き寄せられ続けていることが明らかとなった。2022年度からは金沢工業大学にて独立した研究室を主催し、腫瘍細胞塊—コラーゲンゲル間の新規力学相互作用のメカニズムと役割の解析をさらに進め、コラーゲンゲルの腫瘍細胞塊に向けた継続的な移動にはミオシン収縮力の発生とコラーゲンゲルの分解が関与していること、このコラーゲンゲルの牽引が腫瘍細胞塊の成長に関与していることを示唆する結果を得てきている。今後は、コラーゲンゲルの人為的引張操作を組み合わせ、腫瘍細胞塊と3次元細胞外基質との間に働く引張相互作用が腫瘍細胞塊の成長に

及ぼす効果を更に検証する予定である。このようにメカノバイオロジーとイメージングを組み合わせるといふ本研究領域の主たる研究戦略により、腫瘍細胞塊成長の分子メカニズムを含むこれまで知られていなかった要素を発見した。本研究で得られた知見は、今後さらに詳細な検討の後、がんの新規治療薬/治療法の臨床開発につながりうるものである。

これに加えて、他の計画研究班の研究成果に記載したように、**森松**班との共同研究、**野々村**、**岡本**、**中澤**との共同研究を行ない、上述のように研究成果を挙げた。

「総括班の研究成果」

総括班(野々村、森松、平田、中澤)はプレッショ脳神経科学の促進・発展を目的に以下のように各種の活動を行なった。

令和3年度は、プレッショ脳神経科学の促進・発展のために、研究領域の活動報告および関連研究情報集約のためのWebサイトを作成した(中澤)。領域の構成員の研究の進捗報告会をオンラインで開催するとともに、オンラインコミュニケーションツールを用いて、研究計画および結果についての議論を活発に行なった。また、関連する最新研究についても議論を行い、今後の研究計画の参考とした。加えて、領域が注目する脳における圧縮刺激についての研究を行なっている研究者を招いてセミナーを実施した。メカノバイオ討論会2021に協賛し、討論会のオーガナイズを行い、情報収集とともに関連研究領域の活性化に貢献した。また、研究代表者野々村が本研究領域に関連して以前に研究員として参画していた研究室を主宰していたアメリカ・スクリプス研究所のアーデム・パタプティアン博士による「皮膚触覚を担う受容体の発見」が2021年のノーベル生理医学賞を受賞し、またこの研究は本領域研究に大きく関わることから、その研究概要の解説を領域のWebサイトに寄稿した。これに加えて、日本のメディアに向けて解説するために大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 機構長プレス懇談会にて講演した。これ以外にも、日経サイエンスの2021年のノーベル生理医学賞解説記事に協力した。これらにより、研究領域の活性化および推進を大に行なった。

令和4年度には、総括班はプレッショ脳神経科学の創生を目指し、アドバイザーを招いての領域会議を実施し、研究の進捗を確認するとともに、今後の研究内容について活発な議論を行なった。特に、学術変革領域研究Aへの展開に向けて、アドバイザーから有益な助言をいただき、これに関して領域メンバーで議論を行なった。そして、学術変革領域研究Aへの展開に向け、気鋭の研究者らを招いて研究会を実施し議論を行った。第45回日本分子生物学会年会では領域の冠ワークショップを開催し、領域の研究成果を発表するとともに、海外の一流若手研究者を招聘し今後の研究展開について議論を行なった。聴衆も多く、質疑応答も活発に行われた。NEURO2022、第23回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会SI2022、CVMW2022 心血管代謝学会などでも研究領域の成果を発表した。また領域Webサイトの拡充も行なった。

令和5年度には、総括班はプレッショ脳神経科学の促進と発展を目指し、計画班代表者および分担者らを招集しての領域会議を複数回実施し、研究の進捗報告と今後の研究計画の議論を行なった。また、領域メンバーが主催する研究室の学生らを含めたメンバーで、最新の関連論文についての輪読会等を行なった。これらを通じて次世代の研究者の育成を行なった。また、第46回日本分子生物学会年会では領域の冠シンポジウムを開催し、本領域の研究成果を発表するとともに、海外の一流若手研究者を含む領域が関連する分野の気鋭の研究者を招聘し、今後の研究展開についての議論を行なった。聴衆も多く、質疑応答も活発に行われた。第46回日本神経科学学会では、領域の研究成果も含めた発表を教育講演として行った。第33回日本神経回路学会では、脳神経科学が関係する学術変革B領域の代表者らと「若手が切り開く脳科学の未来」と題したシンポジウムにおいて発表を行い、研究成果を報告するとともに、領域の今後の発展性について議論を行なった。これらに加え、領域内での共同研究により実験を行った。

プレッショ脳神経科学は、生物学、物理、工学の融合を必要とするメカノバイオロジー分野を基盤とし、脳神経機能に果たす役割の解明を目指ものである。総括班は、上述のような活発な議論、新たな実験技術に関する情報収集、および今後の展開を模索するための情報交換とブレインストーミングを大いに促進した。