

令和 2 年 4 月 29 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02939

研究課題名(和文)上皮細胞の集団運動：形態形成の基礎メカニズムの解明

研究課題名(英文)Collective migration of epithelial cells: a fundamental mechanics of morphogenesis

研究代表者

佐藤 勝彦 (Sato, Katsuhiko)

北海道大学・電子科学研究所・准教授

研究者番号：90513622

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：多細胞生物は一つの受精卵からスタートして、何回も細胞分裂をしてその形を作っていく(形態形成)。形態形成では、胚は上皮細胞のシートで覆われており、その細胞シートが自発的に折れ曲がったり伸びたりすることによってその形が形成されていく。上皮細胞シートの自発的な運動のメカニズムを知ることが、形態形成の仕組みを知ることにつながる。本研究では、これまで未解決であった上皮細胞の集団運動に対し、3次元vertex modelを用いて細胞の登頂面の細胞境界に方向依存的な収縮力がかかっているとき細胞は細胞シートを壊すことなく配置換えを繰り返して一方向に移動できることを示した。細胞移動の仕組みに新しい視点を与えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上皮細胞の集団運動は多細胞生物の形態形成の仕組みにもつながる重要な現象であるが、これまでなぜ上皮細胞は隣の細胞と強く接着した状態で細胞シートの構造を保ったまま一方向に運動できるのかが明らかにされていなかった。本研究では、細胞が持つ細胞境界での収縮力、特に登頂面付近の収縮力が、細胞間の接着を壊すことなく細胞の配置換えを誘導して細胞の一方向運動を起こすことができるということを力学的数理モデルを用いて具体的に示した。この収縮力による細胞の集団運動は、現実の系で使われている可能性は十分にあり、またこの見解によって今まで理解できなかった細胞の集団運動の振る舞いが理解される可能性がある。

研究成果の概要(英文)：During the morphogenesis of multicellular organisms, the embryo is covered by an epithelial cell sheet and this cell sheet spontaneously bends, elongates and moves. These behaviors of the epithelial sheet are a driving force of morphogenesis. It is thus very important to know how the epithelial sheet achieves these spontaneous movements. While the mechanisms of bending and elongation of epithelial sheet have been relatively well understood, that of unidirectional movement of epithelial sheet has not been clarified yet. In this study, by using a mathematical model called the 3D vertex model that can describe the dynamics of epithelial sheet at the cellular level, we demonstrated that directional dependent contraction forces acting on the cell boundaries near the apical side induce unidirectional movement of epithelial cells. Theoretical expectations and data that can be used to experimentally check whether this scenario is true or not were also provided.

研究分野：アクティブ・ソフトマター物理学、生物物理学

キーワード：上皮細胞 形態形成 登頂面の収縮力 細胞極性 細胞の配置換え 集団運動 数理モデル レオロジ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 多細胞生物は一つの受精卵からスタートして、何回も細胞分裂をしてその形を作っていく(形態形成)。形態形成の過程では、胚は上皮細胞のシートで覆われており、その細胞シートが自発的に折れ曲がったり伸びたりすることによってその形が形成されていく。上皮細胞シートの自発的な変形や運動のメカニズムを知ることは、多細胞生物の形づくりの仕組みを知ることにつながるきわめて重要なテーマである。近年の精力的な研究により、上皮細胞シートの自発的な曲げや伸長のメカニズムは明らかになってきた(e.g., Bertet, et al 2004)。上皮細胞シートがシート構造を壊すことなく一方向に移動する現象(上皮細胞の集団運動)のメカニズムは明らかになっていなかった。近年、我々のグループは上皮細胞の集団運動に関するもっともらしい仮説を提案した: 隣り合う細胞の境界に方向依存的な張力がかかっているとき、その張力を基盤とした方向性のある配置換えを細胞シート内で繰り返すことにより、細胞シート構造を壊すことなく細胞を集団で一方向に移動させることができる。この仮説は、上皮細胞シートのダイナミクスを細胞レベルでよく記述することのできる vertex model と呼ばれる数理モデルで検証され、隣り合う細胞の境界にかかる収縮力だけを使って上皮細胞は一方向に移動できることが示された(K. Sato, et al. PRL (2015)、K. Sato, et al. Nat Commun. (2015))。しかしながら、このデモンストレーションは上皮細胞を2次元の物体として近似されたモデル(2D vertex model)でなされたものであり、実際の上皮細胞は3次元の物体であり、且つ細胞間にかかる収縮力は登頂面近傍の接合部であることがわかっているため、この2次元 vertex model でのデモンストレーションは仮説の立証として十分であるとは言えない。また、2次元に近似されたモデルでは登頂面-基底面方向のダイナミクスを知ることができないため、実際の実験のデータと比較して、上皮細胞の一方向運動が、登頂面付近にかかる収縮力によるものなのかどうかを検証することが難しい。上皮細胞を3次元的に表す数理モデルを使うことによって登頂面付近にかかる細胞間収縮力が上皮細胞の集団運動を引き起こせるかの検証が強く望まれていた。

(2) 2次元の vertex model は状況を限定すれば上皮細胞の状態をよく記述でき、そのダイナミクスまで記述できる力学数理モデルであるが、細胞間の接着力の強さや細胞が動くときの摩擦力の生物学的意味や記述が十分に確立されていなかった。形態形成では細胞間の収縮力のみならず接着力の動的な変化が重要な役割を果たしていることが実験事実から示唆されており、細胞間の接着を細胞レベルで適切に表現できる数理モデルの構築が望まれていた。またそのモデルを実際の接着力が変化している系に適用することによって、接着力の強さの変化が上皮細胞の配置にどのような効果を与えるかを調べるのが強く望まれていた。

### 2. 研究の目的

(1) 上皮細胞シートを3次元的に表すことのできる 3D vertex model を用いて、登頂面付近の細胞の側面にかかる方向依存性のある収縮力によって細胞が配置換えを繰り返しながら細胞シート構造を保ったまま一方向に集団で移動できるかを確かめる。細胞の登頂面-基底面方向の構造に注目し、収縮力によって移動するときの細胞の形を調べ、実際の実験での上皮細胞の集団運動の際の結果と比較し、収縮力による細胞移動が現実に使われているかを確認するために使うことのできる数値データを提出する。

(2) 既存の2次元 vertex model を改良拡張し、細胞間の接着力の強さを表現できるようにする。またその改良された2次元 vertex model を八工の蛹の compartment boundary が直線化する現象に適用し、細胞間の接着力の変化によって異なる種の細胞のクラスタの境界が直線化することがあり得るかを実験と数理モデルの両方から調べる。

### 3. 研究の方法

(1) 3次元 vertex model で3次元空間内で細胞の側面だけでほかの組織とつながっている上皮細胞シートを再現する。上皮細胞シートを構成している細胞の登頂面の細胞境界に方向依存性のある収縮力を掛ける。この設定だけで細胞がシート構造を壊すことなく一方向に移動するかを数値計算によって調べる。どのようなパラメーターの時に細胞移動が起き、どのようなパラメーターの時に動かないかまたシートの一層構造が破壊されるかを調べる。パラメーターの広領域探索を行う。数理モデルの構築は佐藤(研究代表者)と奥田(分担者; 金沢大学)で行った。数値計算は奥田と佐藤で行った。数値計算には高速ワークステーションを用い、解析のソフトとしては Mathematica を用いた。

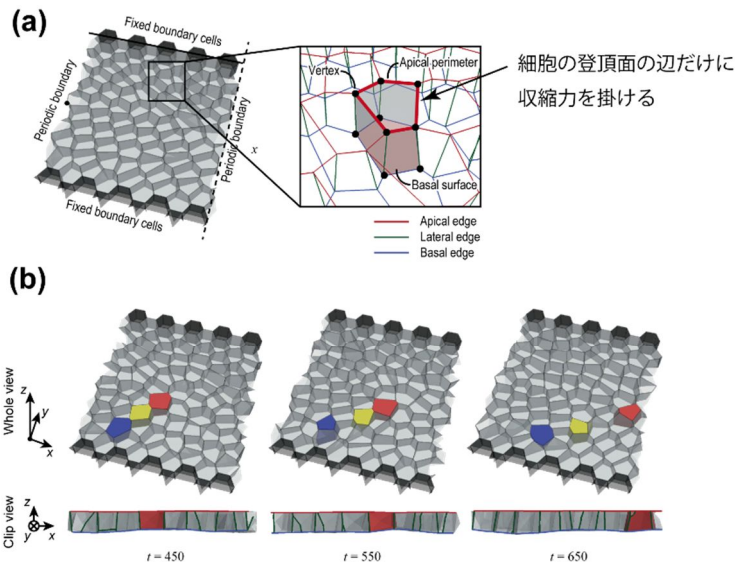
(2) 上皮細胞が細胞間の収縮力だけでなぜ一方向に移動できるのかを粗視化されたレベルで理解するために、個々の細胞が記述されているレベルの数理モデルを粗視化して連続体とみなして、上皮細胞の集団運動のメカニズムを連続体力学の視点から理解する。モデルの粗視化(自由度の縮約)には複雑液体の分野で確立している分子間の相互作用から場の応力を求めることができる Kirkwood の方法を用いる。これにより細胞がなぜ細胞間の収縮力のみで一方向運動が可能になるかが明らかにされる。この研究は佐藤が行う。

(3) 研究目的の(2)を実現するために、既存の2次元 vertex model を見直して、そもそも細胞の辺が長さを変えるとすることは現実ではどのようなことが起こっているということなのかということを生物的な視点から再検討することによって、細胞間の接着の強さが自然に

vertex model に取り込まれるように再定式化する。その取り込みによって既存の 2 次元 vertex model での問題点の一つであった頂点にかかる摩擦力の生物学的な起源にも有益な視点が与えられる。改良された vertex model を八工の蛹の compartment boundary の直線化の現象に適用する。2 次元 vertex model の改良は佐藤が行う。八工の蛹の実験は梅津（分担者；東北大学）が行う。

#### 4. 研究成果

(1) 3次元 vertex model で細胞の登頂面付近の隣との細胞境界に方向依存的な収縮力実装した(図1(a))。パラメーターの値を適切に選ぶと、その収縮力だけを使って細胞の配置が方向性をもって入れ替わり、細胞シートの構造を壊すことなく細胞が集団で一方向に移動し続けられることが示された(図1(b)) (Okuda, et al., Biophys J. (2019))。頂点面の辺に強く収縮力がかかりすぎるとシート内の細胞のいくつかはシート内から外に押し出され(exclusion)一層の細胞シートが壊れることが分かった。またシートを壊さずに移動しているときの細胞の登頂面の位置と基底面の位置を比較したところ、登頂面の位置が細胞の進行方向に対して基底面より先行しているか、もしくは同じ位置にあることが示された(図2; 模式図)。この結果は細胞が基底膜上を仮足を伸ばしながら移動する場合と逆の傾向であり、この事実をもとに実際の実験で上皮細胞の集団運動で各細胞の基底面と登頂面の位置を比較することによって、その集団運動が基底膜上を仮足を伸ばして運動しているものであるか、登頂面の辺にかかる収縮力によって移動しているものかを判定することができる。



細胞の登頂面の辺に掛かった収縮力によって細胞の配置換えが起こり細胞はシートの構造を壊すことなく一方向に移動できる (Okuda, et al., Biophys J. (2019))

図 1

その集団運動が基底膜上を仮足を伸ばして運動しているものであるか、登頂面の辺にかかる収縮力によって移動しているものかを判定することができる。

(2) 細胞の境界に方向依存的な収縮力がかかっているとなぜ細胞が一方向にどうできるのかを調べるために細胞間の相互作用を一段上の階層に粗視化して、連続体記述を行った。その結果、応力に細胞間にかかっている収縮力によるアクティブな項が発生することがわかり、その応力の空間的变化がある場合、ある領域の細胞を一方向に押す力が生じ、その力によって細胞の一方向運動が実現されていることが分かった。また細胞間の収縮力による細胞の一方向運動と、基底面での仮足を出しての一方向運動とでは細胞シート内での細胞の移動の速度場に違いが出ることを示唆された。これらの違いを使うことで実際に観測される上皮細胞の

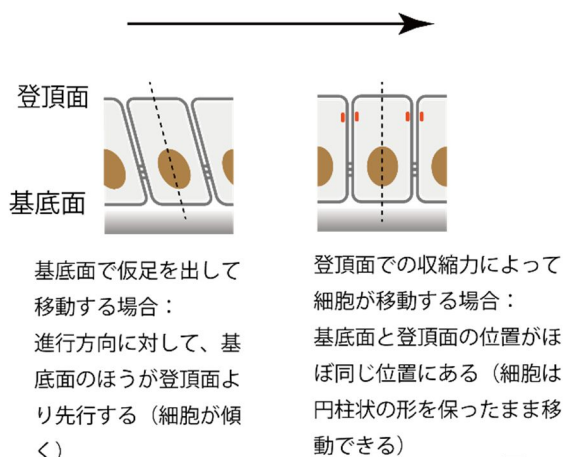


図 2

集団運動が細胞間の収縮力を駆動力とした運動であるのか、基底面での仮足の伸長をベースとした運動であるかを判定することができる可能性がある。(Okuda, et al., Biophys J. (2019)) (3) 既存の 2 次元 vertex model の生物学的、物理学的の意味を見直して、細胞間の接着力の強さを表現できる形式に定式化した(現在論文を準備中)。またそのモデルをショウジョウバエの蛹の腹部の compartment boundary の現象に適用し、細胞間の接着力の変化が compartment boundary の直線化に貢献することを理論と実験の両方から示した(現在論文を準備中)。細胞間の接着力の変化が細胞間の収縮力の変化と同等の役割を果たすということをあからさまに初めて示した仕事となっている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okuda Satoru, Kuranaga Erina, Sato Katsuhiko	4. 巻 116
2. 論文標題 Apical Junctional Fluctuations Lead to Cell Flow while Maintaining Epithelial Integrity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 1159-1170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.01.039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato Katsuhiko	4. 巻 59
2. 論文標題 Direction-dependent contraction forces on cell boundaries induce collective migration of epithelial cells within their sheet	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 317 ~ 328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12361	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishiwata Shin'ichi, Miyazaki Makito, Sato Katsuhiko, Nakagome Koutaro, Shintani Seine A., Kobirumaki-Shimozawa Fuyu, Fukuda Norio, Suzuki Kazuya, Takagi Jun, Shimamoto Yuta, Itabashi Takeshi	4. 巻 647
2. 論文標題 Dynamic properties of bio-motile systems with a liquid-crystalline structure	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol. Cryst. Liq. Cryst.	6. 最初と最後の頁 127 ~ 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15421406.2017.1289445	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akita Dai, Schenz Daniel, Kuroda Shigeru, Sato Katsuhiko, Ueda Kei-ichi, Nakagaki Toshiyuki	4. 巻 59
2. 論文標題 Current reinforcement model reproduces center-in-center vein trajectory of Physarum polycephalum	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dev Growth Differ.	6. 最初と最後の頁 465 ~ 470
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12384	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Katsuhiko Sato
2. 発表標題 Left-right Asymmetric Cell Intercalation Drives Directional Collective Cell Movement in Epithelial Morphogenesis
3. 学会等名 BIT's 9th Anniversary World DNA Day-2018 (WDD-2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Sato
2. 発表標題 Left-right asymmetric cell intercalation drives directional collective cell movement in epithelial morphogenesis
3. 学会等名 Asia Pacific Society for Biology and Medical Sciences 2018 Annual Meeting (APSBMS 2018 Annual Meeting) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Sato
2. 発表標題 Direct observation of orientation distributions of actin filaments in a solution undergoing shear banding
3. 学会等名 新学術領域研究「ゆらぎと構造の協奏:非平衡系における普遍法則の確立」第4回領域研究
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Katsuhiko Sato
2. 発表標題 Direction-dependent contraction forces on cell boundaries induce collective migration of epithelial cells within their sheet
3. 学会等名 17th International Conference CoMFoS17: Mathematical Analysis of Continuum Mechanics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	奥田 覚  (Okuda Satoru)  (80707836)	金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授   (13301)	
研究 分担者	梅津 大輝  (Umetsu Daiki)  (60620474)	東北大学・生命科学研究科・助教   (11301)	