

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：63904

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K15131

研究課題名(和文) マウスの卵管管腔上皮におけるヒダの形態的パターン形成の力学的機構

研究課題名(英文) Mechanics of fold pattern formation of luminal epithelium in mouse oviduct

研究代表者

小山 宏史 (Koyama, Hiroshi)

基礎生物学研究所・初期発生研究部門・助教

研究者番号：10530462

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：卵管は卵を卵巣から子宮へ輸送する器官である。卵管の内側には多数のヒダが形成されており、この構造が卵の輸送に重要であると考えられている。本研究では、ヒダの形態が、哺乳類、両生類、鳥類に至るまで基本的な構造は保存されている一方、生物種によって特異的な局所構造が見られるなど一定の多様性があることを発見した。さらに、これらの構造が機械的な力によって決定されることを数理シミュレーションによって明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵管などの器官が正常に機能を発揮するためには、その形態が重要な役割を果たす場合がある。小さな組織や胚発生の形態形成については、実験および数理シミュレーションを用いた研究によって理解が進んでいる一方、器官などの大きな組織については数理シミュレーションの技術的な困難を伴うなどの理由により理解が遅れている。本研究では器官の形態を研究するための数理的な枠組みを開発したことで、卵管の機能発揮という稔性への理解だけでなく、他の器官の形態形成の研究にも応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：The oviduct functions to convey fertilized eggs from the ovary to the uterus. Multiple folds are observed in the luminal sides of the oviducts, which are believed to be important for conveying the eggs. In this study, we found that the basic morphological features of the folds are conserved among mammals, amphibians, and birds, whereas some local features were only observed in specific species. Mathematical simulations revealed that these features can be determined by mechanical forces in the luminal tissues.

研究分野：生物物理学

キーワード：形態形成 卵管 ヒダ シミュレーション 機械的な力

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵管管腔上皮は、多数のヒダを形成している。マウスの場合、ヒダは卵管の走る方向(長軸方向)に沿って整然と並んでいる。ヒダの形態は、卵を卵巣から子宮に運ぶ際の構造的な基盤になっていると考えられている。平面内細胞極性の関連因子である *Celsr1* 遺伝子の変異マウスでは、ヒダの方向がランダムとなり、長軸方向に多数の枝分かれを生じるなどの表現型を示すことを、我々は既に報告している。この遺伝子変異体は不妊であることも、ヒダの形態の重要性を支持している。組織の変形は、機械的な力によって引き起こされるが、卵管のヒダの形態を決める物理的なメカニズムは十分には分かっていなかった。

2. 研究の目的

(1) 卵管管腔上皮ではヒダにどのような形態的なパターンが存在するかを明らかにするとともに、数理シミュレーションと実験によってその物理的なメカニズムを解明することを目的とする。

(2) 卵管のみならず様々な器官の形態形成をシミュレーション可能にするための汎用的な枠組みを開発する。

3. 研究の方法

(1) 組織学的手法によって、マウス卵管のヒダの形態情報を取得した。その時、画像情報学的方法によって、ヒダの3次元的な形態を再構築した。また、マウス以外の生物種についても、ウズラとアフリカツメガエルについて、卵管のヒダの形態を組織学的に観察した。

(2) ヒダの形態的なパターンが、機械的な力によって決定されるかを検証するために、数理モデルを構築した。数理モデルでは、ヒダを形成する上皮シート、および、卵管の外周を構成する平滑筋の層をそれぞれ弾性的な構造物としてモデル化した。上皮シートの機械的な硬さ、および、その成長速度を考慮したシミュレーションを実施した。上皮シートの成長速度などのパラメータは、組織学的な知見で得られた情報に基づいて設定した。

(3) 卵管以外の様々な器官に適用しうる数理的基盤を構築するために、細胞を粒子として近似するモデルを検討して、上皮シートおよびそれ以外の構造のシミュレーションを実施した。

4. 研究成果

(1) マウスの卵管のヒダのパターンについて

マウスの卵管の組織標本を作製し、ヒダの3次元的な形態を詳細に調べた。その結果、ヒダの枝分かれは卵管の長軸方向のみならず、卵管断面内の放射方向にも観察されることがわかった。このような枝分かれは、他の管腔器官(気管、腸など)においても報告例はない。

上記のヒダの形態的なパターンが形成される仕組みを数理シミュレーションによって検討した。我々は既に、野生型と *Celsr1* 変異マウスの両者のヒダの相違を説明する数理モデルを構築していた。すなわち、長軸方向の枝分かれを再現できることはわかっていた。しかし、このモデルでシミュレーションを実施したところ、放射方向の枝分かれは再現できなかった。

そこで新たに、発生過程における卵管および上皮シートの成長速度を考慮したシミュレーションを実施した。その結果、放射方向の枝分かれが生じた。一方で、ヒダの本数が生体内と大きく乖離するなど、現実をうまく再現できなかった。次に、卵管の蠕動運動に伴う管の膨張・収縮過程を考慮したシミュレーションを実施した。その結果、放射状の枝分かれが生じると同時に、ヒダの本数も生体内とほぼ一致した。

以上の結果から、放射状の枝分かれは、発生過程ではなく成熟した卵管の生理的運動(蠕動運動)によって後発的に形成されることが示唆された。

(2) マウス以外の卵管のヒダのパターンについて

卵管は哺乳類だけでなく、鳥類、両生類、爬虫類など様々な生物種に存在しており、卵の輸送の役割を担っている。一方で、卵の大きさは哺乳類では数十から 100 μm なのに対して、鳥類では cm のオーダーとなるなど、サイズが全く異なる。したがって、これらの生物種の卵管において、卵を輸送する機能にどの程度の共通性と多様性があるかは自明ではない。そこで、ヒダに注目して、その形態を生物種間で比較した。

マウスに加えてウズラとアフリカツメガエルを用いて実験を行った。その結果、卵管およびヒ

ダのサイズは生物種間で大きく異なるにもかかわらず、卵管の長軸方向に沿ったヒダは共通して観察された。また、ヒダの本数はいずれも数十本のオーダーであり、卵管のサイズとの比例関係は認められなかった。以上から、卵管のサイズによらず、長軸方向のヒダとその本数は生物種間で保存された形質であり、卵管の機能発揮に重要なものかもしれない。

一方で、ヒダの形態には生物種間で一定の多様性があることがわかった。放射状の枝分かれはマウスでのみ観察された。また、アフリカツメガエルでのみ、ヒダの配向が局所的に三又状になる位相欠陥が観察された。近年、上皮細胞において位相欠陥が細胞分化や形態形成に役割を果たす例が複数報告されている。今後、上記の形態的な特徴が、何らかの生理的な役割を果たしているかを検証する価値があると考えられる。

また、位相欠陥が生じる仕組みを数理シミュレーションによって検討したが、現状では再現できていない。位相欠陥が生じる場所や時期など、組織学的に基本的な情報が不十分であり、数理モデルで検証するに値する仮説を導いていないという課題が残っている。

(3) 器官の形態形成をシミュレーションするための新たな枠組みの開発

上記の数理モデルでは、上皮シートに自然な状態(外力を排除したときにとる形態; リラックスした状態)をあらかじめ設定し、その変形をシミュレーションしている。つまり、自然な状態がシミュレーションの途中で変化していくことを想定していない。しかし現実には、局所的に細胞増殖が亢進するなどした場合には自然な状態は刻々と変化していく。平滑筋層についても同様である。卵管は発生にしたがって管が極度に湾曲するため、自然な状態も変化している可能性が高い。ヒダの位相欠陥は自然な状態の変化を伴っているかもしれない。また、現実の組織では上皮シートと平滑筋層の間には間葉系細胞が存在するが、シートのモデルでは扱いが困難であった。これらの問題を解決するためには、個別の細胞をモデル化するという方向性が考えられるが、既存の細胞モデルでは器官のような多数の細胞をシミュレーションすることは技術的・計算コスト的に容易でなかった。そこで新たな数理的な枠組みの開発を目指した。

細胞を粒子として近似するモデルが存在するが、3次元なシートや器官に適用可能かは明らかではなかった。このモデルの改良を試みたところ、管腔を安定的に維持できる数理的な枠組みを発見した。すなわち、シートの3次元な変形をシミュレーション可能であると同時に、細胞増殖などの局所的な制御も導入することができた。さらに、上皮シートと間質系細胞が共存する場合もシミュレーションできるというこれまでにない特徴を有している。10万細胞のオーダーでも現実的な計算コストでシミュレーション可能である。開発した枠組みはソフトウェア化しており、今後卵管だけでなく様々な器官の形態形成の理解に応用できると期待している。

(4) 器官の成長と細胞伸長の関係

マウスの卵管上皮細胞は、力学的な異方性を持っており、細胞形態も伸長していることを我々は発見している。これまで我々は、細胞伸長を引き起こす物理的な要因を解明するためにレーザー焼灼法などの実験手法を使って解析してきたが、細胞伸長のメカニズムはわかっていなかった。細胞伸長は卵管の発生期を通じて数日間にもわたって観察されるので、長時間にわたる制御機構が存在する可能性を考えた。卵管の成長と細胞伸長との間に関係があるかを数理シミュレーションによって検証した。その結果、細胞伸長は器官の成長によって促進されることがわかった。この際、上皮組織と間質系組織の間の摩擦力が寄与する。成長する器官においては、器官を構成する組織間の相互作用が細胞の挙動に大きな影響を及ぼし得ることが理論的に予測されたことから、今後、これらを考慮した実験的な検証が重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hiroshi Koyama, Toshihiko Fujimori	4. 巻 496
2. 論文標題 Isotropic expansion of external environment induces tissue elongation and collective cell alignment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology	6. 最初と最後の頁 110248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtbi.2020.110248	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 Hiroshi Koyama and Toshihiko Fujimori	4. 巻 51
2. 論文標題 Biomechanics of epithelial fold pattern formation in the mouse female reproductive tract	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics & Development	6. 最初と最後の頁 59-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gde.2018.06.010	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 Hiroshi Koyama, Dongbo Shi and Toshihiko Fujimori	4. 巻 16
2. 論文標題 Biophysics in oviduct: Planar cell polarity, cilia, epithelial fold and tube morphogenesis, egg dynamics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 89-107
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophysico.16.0_89	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 小山宏史, 石 東博, 藤森俊彦	4. 巻 57
2. 論文標題 卵管のヒダのパターン形成における機械的な力の役割	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 259-261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophys.57.259	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 Koyama Hiroshi, Suzuki Makoto, Yasue Naoko, Sasaki Hiroshi, Ueno Naoto, Fujimori Toshihiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Differential Cellular Stiffness Contributes to Tissue Elongation on an Expanding Surface	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.864135	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8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 小山 宏史, 藤森 俊彦
2. 発表標題 卵管における管腔上皮のヒダの形成機構
3. 学会等名 第32回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山 宏史, 藤森 俊彦
2. 発表標題 卵管における管腔上皮のヒダのパターン形成
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山 宏史
2. 発表標題 細胞の硬さの相違が引き起こす細胞集団のパターン形成
3. 学会等名 第29回日本数理生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山 宏史, 藤森 俊彦
2. 発表標題 等方的に膨張する場における非対称的な細胞集団運動
3. 学会等名 日本物理学会2019年秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Koyama and Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Tissue elongation and pattern formation of cells induced by isotropic expansion of a field
3. 学会等名 Joint Meeting of JSCB 70th & JSDB 51st (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Koyama, Toshihiko Fujimori
2. 発表標題 Inference of cell mechanical state/environment by using microscopic live imaging during morphogenesis
3. 学会等名 2017年度 生命科学系学会合同年次大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小山宏史
2. 発表標題 生物の形態の多様性の力学的な基盤 ~ 理論、実験、力の推定を用いた研究 ~
3. 学会等名 第4回IoLコロキウムー特別講演会ー (4th Internetwork of Lifemolecules Research Center Colloquium) (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小山宏史、藤森俊彦
2. 発表標題 場の膨張に伴う多細胞集団の移動の数理的解析
3. 学会等名 第30回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 小山 宏史, 加藤 輝	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 2772-2777
3. 書名 実験医学 イメージングデータ解析 よろず相談所 シリーズ04「顕微観察画像の定量的情報解析とその落とし穴」	

1. 著者名 加藤 輝、小山 宏史	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 220
3. 書名 達人に訊くバイオ画像取得と定量解析Q&A	

〔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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------