

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：13302

研究種目：基盤研究(B)（特設分野研究）

研究期間：2017～2020

課題番号：17KT0016

研究課題名（和文）動物集団による自己組織化の構成的理解

研究課題名（英文）Constitutive investigation of self-organized structure in animal group

研究代表者

永井 健（Nagai, Ken）

北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・講師

研究者番号：40518932

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は線虫の集団運動についての研究である。前半は主に線虫がつくる動的なネットワーク構造を研究した。その結果、構造形成をモデル化することに成功し、そのモデルを使って一様な光照射や湿度変化によって与えられる影響を再現することができた。また、乾燥耐性に関連があると考えられる間欠的に活性化される線虫のクラスター構造の解析を進めた。最終的にクラスター形成に必要な条件を明らかにすることができ、モデル化への足掛かりを得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で用いた数理モデルは既に論文になっている微小管とバクテリアの集団運動実験系で用いられたモデルを改変したものである。本研究成果により、*C. elegans*の集団運動の研究を通して、動物から無生物体に共通する普遍的モデルを提唱することが期待できる。

本研究で用いた線虫の集団運動は、数理モデルのパラメータを人為的に制御可能な動物の再構成実験系である。そのため、特に人間を含めた動物集団の普遍的記述につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the dynamical network formation of *C. elegans*. We developed a model describing the collective motion and reproduced the response to optical stimulations and humidity changes. We also studied intermittently activated aggregates of worms and found conditions necessary to form the aggregates, which leads to the model description of the aggregate formation.

研究分野：非線形・非平衡物理、生物物理

キーワード：アクティブマター *C. elegans* 集団運動 自己組織化

1. 研究開始当初の背景

ランダムに振る舞うミクロな要素は、相互作用して自己組織的にマクロな秩序を生み出すことにより個々の機能を超えた機能を発現する。これまで、この自己組織化に関する研究では、拡散する情報伝達因子に焦点が当てられてきた。例えば「卵割によって生じた無個性の細胞集団が胚へと発生する際どのように自身の位置を知るのか」「動物体表において色素細胞集団がどのように自身の位置を見定めて縞模様・水玉模様を形作るのか」などは近年盛んに議論されており、拡散性の因子を通して細胞間のコミュニケーションを達成しマクロな構造が生み出されていると考えられている(Kondo & Miura *Science*, 2010)。

拡散因子によらない別種の自己組織化現象として、ヒトや動物による群れ行動がある。例えば、イワシのクラスター形成や、混雑した駅構内のヒトの秩序だった流れなどがあげられる。これらはリーダーが個々のメンバーを統制しているわけではなく、自己駆動する個体(アクティブマター)が隣接する他個体との距離や速度などによって決まる局所的なルールに従い、自律分散的にマクロレベルでの秩序が創発する現象であり、統計物理学者の関心を集めてきた(Vicsek & Zafeiris, *Phys Rep*, 2012)。例えば Vicsek らは一定の速度で動き、近くの粒子と運動方向を揃える点粒子を用いた現象論的な数理モデルを提案し、秩序だった集団運動が生じるために必要な条件を示した。研究代表者らはこれまで Vicsek モデルを適用できる集団運動の例として、分子モーターに駆動されてガラス面を走る微小管集団(Sumino, Nagai(Co-first) et al. *Nature*, 2012)や抗生物質により伸張した大腸菌集団(Nishiguchi, et al. *Phys Rev E*, 2017)を見出して来た。しかし、研究代表者を含めアクティブマターの分野で動物集団の解析はあまり進んでいない。これは野外の生物の行動観察が広範囲の個体の位置情報を記録する装置を必要とし、容易でないためである。また野外の観察では生物学でよく行われる遺伝学的手法や環境変化を利用したシステムのパラメータ変化が不可能である。この事実はパラメータをふった時にどのような定性的変化が見られるか(相図)を通してモデルと現実の整合性や齟齬を検証する上で最大の障壁となって来た(Popkin, *Nature*, 2016)。以下に述べるように、我々は線虫を用いてこの現状を打破することを目指した。

線虫 *C. elegans* は半世紀以上、遺伝学における代表的なモデル動物として利用されてきた(Brenner, *Genetics*, 1974)。 *C. elegans* は、通常、大腸菌を餌として寒天培地上で飼育するが、ドッグフード培地で大量飼育した結果、驚くべきことに、大量増殖した *C. elegans* がガラス瓶の壁面に集団でネットワーク状の秩序構造を作ることを発見した。このネットワーク構造の各格子は、ダイナミックに生成消滅を繰り返した。またドッグフード培地で大量飼育後、回収・洗浄した 10 万個体以上の *C. elegans* と水のみで、プラスチック表面もしくは寒天培地上にネットワーク構造を再構成できた。これらの発見は研究代表者らが世界で初めてモデル動物の集団運動による自己組織化現象の実験室内再構成に成功したことを意味する。

C. elegans では 302 個の神経細胞の機能がほぼ明らかにされており、運動・生理機能に関わる豊富な変異体が単離されている。したがって非侵襲かつ時期特異的に光遺伝学的操作(オプトジェネティクス)で、特定の運動機能と感覚機能を操作可能である。つまり、既存の数理モデルの力学的パラメータと生理学的パラメータを生きたまま自由に換えられる。さらに、孤立した *C. elegans* の運動を観察した結果、興味深いことに、研究代表者らが滑走する微小管の集団運動をもとに提案した数理モデルで必要とされる条件が、 *C. elegans* の集団運動でも保存されている可能性が示唆された。以上のことから極めてシンプルな再構成実験系と数理モデルを用いた構成的なアプローチにより、線虫の集団運動に必要な十分な物理的条件を明らかにできると着想した。

2. 研究の目的

以下の計画により、動物の集団運動による自己組織的ネットワーク形成を構成的に理解することを目指した。

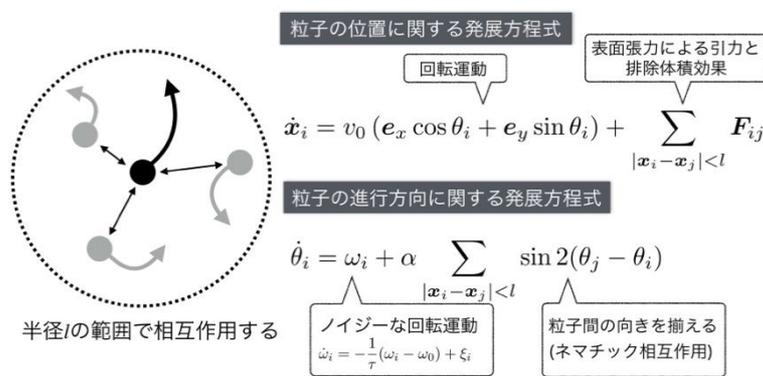
(1) ネットワーク形成過程を解析する：ランダムな線虫の振る舞いからネットワークが形成される過程を再現する数理モデルを構築する。このため、孤立した 1 個体の運動の観察、個体間相互作用の観察が必要である。またモデルの妥当性は密度ゆらぎや運動速度ゆらぎの観察から検証できる。そこで、ネットワーク形成過程で、マクロなネットワーク構造とミクロな 1 個体の運動を同時定量可能な顕微鏡システムを開発する。約 2 時間の撮影データをもとに、ネットワークの構造と *C. elegans* の軌跡を定量化する。この解析をもとに、個体間の相互作用を数理モデルへ追加してシミュレーションし、モデルと *C. elegans* 運動の比較からモデルの妥当性を検証する。

(2) ネットワークに摂動を与える：モデルの妥当性を検証するために環境摂動、遺伝学的摂動、オプトジェネティクスを用いた摂動を加え、ネットワークの応答を解析する。環境摂動については、湿度がネットワーク構造に影響を与えることから、この秩序構造の変化がシミュレーションで再現されるかどうかを確認し、数理モデルの妥当性の検証と修正を行う。現状最も現象を再現する数理モデルでは密度を増加させるとネットワーク構造を形成し、その転移密度は湿度に依存している。仮にモデルが妥当であれば、集団密度の増加に対し、ネットワーク構造形成の閾値

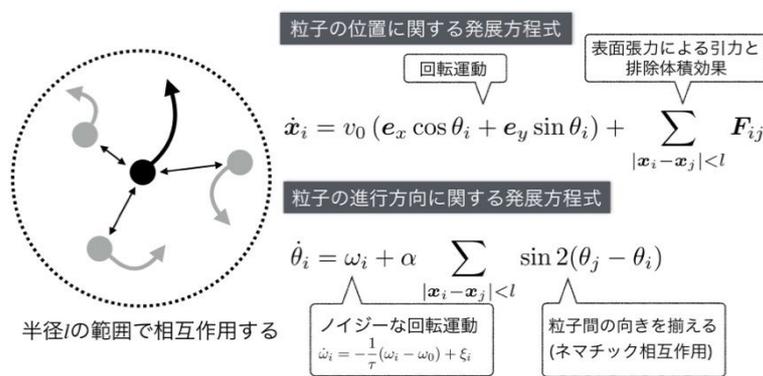
が存在すると予想される。遺伝学的摂動のために、数理モデルにおけるパラメータの1つである運動曲率が異常に大きい変異体 *mec-4* 等を用い、モデルの各パラメータのネットワーク構造形成における重要性を検証する。オプトジェネティクスを用いた摂動には、周囲の個体との衝突時に後ずさり運動を指令する介在ニューロン AVA や運動曲率を制御する運動ニューロン DD に光駆動性ロドプシンを強制発現させた *C. elegans* 株を利用する。ネットワーク形成過程で、計画(1)の顕微鏡により、各 *C. elegans* 株を光活性化・不活性化し、一斉に目的のパラメータに摂動を与える。その時、ネットワーク構造がどのように変化するのかを確認し、シミュレーションによる予測との整合性の確認から数理モデルの修正を行う。

(3) ネットワークの機能を理解する：ネットワーク構造が湿度に依存して変化することから、ネットワーク形成の生理的意義に関する最も有力な仮説は、可動性を確保しながら乾燥から身を守るために凝集することである。この仮説を検証するため、自己組織的ネットワークを形成する野生株とネットワークを形成できない変異体の間における生存率の違いを定量化し、ネットワーク形成が最も重要な生理機能である生存に影響を及ぼす可能性を検証する。検証結果をもとに、計画(1)と(2)を通して構築したモデルに乾燥耐性による生存率を組み込み、集団運動から生理的な機能が発現することを示す数理モデルを提唱する。

3. 研究の方法

研究目的で述べた(1)ネットワーク形成過程の解析、(2)ネットワークへの摂動実験、(3)ネットワークの機能解析の3点に焦点をあて、解析を進める。計画(1)と(2)からは、主に、ネットワーク形成のメカニズムについて知見が得られ、計画(3)からは主に、ネットワーク形成の生理的意義について知見を得る。全ての計画において、実験と数値シミュレーションの両方を連動させ、迅速かつ効率的にモデルの妥当性を検証するための研究チームを構成した。モデルは、研究代表者らが Vicsek らのモデル(Vicsek et al. *Phys Rev Lett*, 1995)をもとに2012年の *Nature* 誌で発表したモデルを用いる(Sumino, Nagai(Co-first) et al. *Nature*, 2012、)。

用いる数理モデル(Sumino, Nagai et al. *Nature*, 2012)



このモデルでは、線虫 *C. elegans* を回転しながら移動する点粒子と考える。 x_i は各粒子の位置、 θ_i は運動方向を表す。粒子は速さ v_0 で θ_i 方向に運動し、半径 l (粒子の長さ) 内にある粒子と強さ α のネマチック相互作用をする。各粒子の回転速度 ω_i は平均 ω_0 の周りでゆっくりとランダムに変化する。 F_{ij} は *C. elegans* 周りの水の表面張力による引力と *C. elegans* の排除体積効果による近距離で働く斥力を表す。このモデルから以下の3つの条件を

図 1 : 2012年に発表した数理モデルの概略。

満たせば秩序構造が形成されることが明らかになった。

- ① 衝突した粒子同士が運動の方向を揃える短距離相互作用
- ② 個々の粒子が曲率を持った運動を行う
- ③ 方向を揃えた粒子同士がネマチック(双方向)に動く

準備段階で、3つの条件全てが、孤立した *C. elegans* でも観察されていた。そこで、このモデルを作業仮説として線虫の集団運動によるネットワーク形成のモデルの提唱を目指した。

4. 研究成果

平成29年度はネットワーク構造の外部刺激応答性を調べるために、光刺激応答性を持つ *C. elegans* についての研究を進めた。用いたのは青色の光を浴びると運動ニューロンが刺激される変異株である。光を浴びると後退したり、停止していた個体が動き始めたりする。光応答性を持つ線虫も、集団で幾つか枝分かれしたバンドル状の構造を作ることを確認した。出来た構造体に青色の光を短時間浴びせると構造は少し形状が変化するが、すぐに元に戻る。照射時間を長くしていくと、元に戻るまでにかかる時間が長くなっていき、ある照射時間より長いときは元の構造には戻らないことがわかった。

次に線虫のネットワーク構造形成を再現できるモデルにおいて、光照射に対応する刺激応答性を調べた。上述のように光を浴びせると止まっている線虫が動き出すことを考慮し、動く個体数の増加に対する集団運動の応答に注目した。まず、30%の個体の運動を止めシミュレーションすると、ネットワーク構造ができることがわかった。個体同士の引力が強くなるとこのネットワーク構造が崩壊するのだが、全個体が動いているときと比べると崩壊に必要な引力の強さが大きくなる。つまり、止まっている個体がいると引力による崩壊が起こりにくいことがわかった。また個体数増加の摂動を与えるために、30%の個体を止めてネットワークを形成させた後、一定時間全個体を動かす、再び30%の個体を止めた。全個体を動かす時間を変化させ、時間が短いと

きは元とほぼ同じ構造に戻るが、時間が長くなると一度ネットワークが壊れた後に別のネットワーク構造になるという、線虫と同様の応答を示すことを見出した。そのため、動いている個体数増加が線虫の集団運動の光応答の主な要因であると結論づけた。

平成30年度の前半に数理モデルを改良や最適なパラメータの検討をし、より実験を再現できるようになった。30年度中にこの結果を含むこれまでの研究結果を論文としてまとめ、*Nature Communications*に出版することができた。30年度の後半は湿度が高い時の線虫集団の運動解析を進めた。湿度を高めていくとネットワーク構造が崩れ、動かないアグリゲーションができることはわかっていた。高湿度下での観察を長時間続けることで、動かなくなってからしばらくすると止まっている線虫が急に動き出し、隣のアグリゲーションに向かって筋状の構造を作ることが明らかになった。これまでの解析から、一部の線虫が動き出すとそれが波上に伝播することでアグリゲーション全体が不安定化し、筋状構造を作ったことがわかっている。

令和元年度は線虫集団の秩序構造が乾燥耐性に与える影響について調べるために、高湿度下での線虫の挙動を中心的に研究した。本研究で用いる観察環境は湿度が高く線虫同士の接触面に水の膜ができるため、表面張力に起因する実効的な引力が線虫間に働く。湿度を高くしていくとその引力が強くなっていくため、多数の個体が寄り集まったクラスターができる。このクラスターにいる個体は縁にいる一部を除くとほとんどの時間動きを見せない。間欠的に体をくねらすことはあるが、基本的には真っ直ぐな棒状の形状のまま静止している。間欠的な体の動きによって隣接する個体が刺激され、動き始めることもある。この興奮状態の伝播は数個体でおさまって元の動かない状態に戻ることが多いのだが、時折雪崩式に動き出す個体が増えていきクラスター中の全線虫が動き出す。クラスター全体に興奮状態が広がるとクラスターは花火の爆発のような挙動を見せた後に崩壊し、中の線虫はしばらく実験セルの中を動き回る。我々はクラスター爆発が起こるメカニズムを明らかにするため、特定の細胞が蛍光を発する変異株を用いてクラスター内にいる個体の挙動を解析した。その結果、爆発が起こる直前はクラスター内部で線虫の体の向きが揃っていることがわかった。また、縁で動いていた個体がクラスター内部に入り込み、内部の個体を興奮させると爆発が起こることがわかった。この集団中の個体の解析により高湿度下での挙動をモデル化できるようになり、線虫の集団挙動が持つ湿度環境維持への効果を評価するための足がかりを得られた。

令和2年度も高湿度化での線虫の挙動を中心的に研究した。間欠的なクラスターの活性化が生じるために必要な条件を探るため、様々な条件下で線虫の集団運動を観察した。その結果、高湿度であること、線虫がダウナー状態であること、プラスチック基盤の上の線虫であることの3つの条件を満たすときのみ観察された。また、クラスター内の個々の線虫の動きを解析し、活性化が起こる詳細な過程を明らかにした。まず、少数の個体が間欠的な体の動きを見せ、隣接する個体が刺激されて動き始める。この興奮状態が雪崩式に伝わって動き出す個体が増えていきクラスター中の全線虫が動き出す。活性化した線虫と動いていない線虫の境界はほぼ等速で伝播していくため、興奮性の化学反応波の伝播と同様の現象であることがわかった。この境界がクラスターの端に到達すると、クラスター全体に興奮が伝わったことになり活性化される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 永井 健, 伊藤 浩史, 杉 拓磨	4. 巻 75
2. 論文標題 最近の研究から アクティブマター集団の動的ネットワーク形成 : 線虫の集団運動	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本物理学会誌	6. 最初と最後の頁 34-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 SUGI Takuma, ITO Hiroshi, NAGAI Ken H.	4. 巻 60
2. 論文標題 Pattern Formations in Active Matter Physics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 006~012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.60.006	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 Sugi Takuma, Ito Hiroshi, Nishimura Masaki, Nagai Ken H.	4. 巻 10
2. 論文標題 C. elegans collectively forms dynamical networks	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 683-683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-08537-y	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 6件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 永井健
2. 発表標題 C. elegansの集団運動
3. 学会等名 第9回分子モーター討論会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nagai, Ken H., Ito, Hiroshi, Sugi, Takuma
2. 発表標題 Dynamical network optically susceptible of C. elegans
3. 学会等名 The 57th Annual Meeting of The Biophysical Society of Japan
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健, 伊藤 浩史, 杉 拓磨
2. 発表標題 基盤上のC. elegansの集団運動
3. 学会等名 第40回エアロ・アクアバイオメカニズム学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永井 健
2. 発表標題 光応答性を持つC. elegansの集団運動
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会 12.0 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken H. Nagai, Hiroshi Ito, Takuma Sugi
2. 発表標題 Dynamical network formation of C. elegans
3. 学会等名 43rd Indian Biophysical Society Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken H. Nagai
2. 発表標題 Experimental investigations of collective motion of self-propelled particles
3. 学会等名 FUNDAMENTAL PROBLEMS IN ACTIVE MATTER (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永井健
2. 発表標題 生物の集団運動に成り立つ法則とそれを利用した自立分散システム
3. 学会等名 ロボティクス・メカトロニクス 講演会 2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永井健
2. 発表標題 線虫集団が見せるアクティブ液晶的挙動
3. 学会等名 アクティブマターにおける液晶秩序 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

動物はどのように秩序だった群れをつくるのか？アクティブマターの物理で迫る、線虫の群れ形成メカニズム
<https://academist-cf.com/journal/?p=10328>
<https://sites.google.com/site/inonakanokaeru/>

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	伊藤 浩史 (Ito Hiroshi) (20512627)	九州大学・芸術工学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	杉 拓磨 (Sugi Takuma) (70571305)	広島大学・統合生命科学研究科(理)・准教授 (15401)	

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