

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H00996

研究課題名（和文）シグナルと力のゆらぎが上皮組織の可塑性を支配するしくみ

研究課題名（英文）The role of mechano-signaling fluctuation in epithelial tissue plasticity

研究代表者

林 茂生（Shigeo, Hayashi）

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

研究者番号：60183092

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,700,000円

研究成果の概要（和文）：管状の上皮組織が細胞や外部環境のノイズを受ける状態で形態形成を安定して進行させる仕組みを研究した。ショウジョウバエ胚の気管組織における管腔の拡張においては、拡張物質の不均一な分布により内腔の拡張は不均一である。我々は管腔に面した細胞膜直下に集積するアクチンの集合体（アクチンナノクラスター）が自律的に急速な集合離散を行なっていることを見出した。アクチンナノクラスターは細胞膜の張力を感知し、管の拡張方向に整列することで拡張力に拮抗するアクチンケーブルを構築する。この動態を数理シミュレーションで再現させることにより、アクチンのシンプルな動作原理が高次の形態形成を実現させることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々ヒト体内の血管系、肺、腎臓などの生存に必須な器官は管状組織として血液、外気、尿などを流動させる。これらの臓器の疾患（動脈瘤、腎嚢胞など）は管の内径が極端に不均一になり、血液、尿などが滞留することによって起きる。ショウジョウバエ気管の拡張異常はこれらの疾患像に酷似しており、一部に嚢胞様の構造が生じる。本研究で明らかにしたアクチンナノクラスターからのケーブル形成機構は嚢胞形成を抑制することで機能的な管構造を維持する生理的な仕組みであると考えられる。今後はヒトの管腔構造疾患モデルにおけるアクチンナノクラスターの機能とその操作の研究を通じて疾患予防、治療の研究につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：We have investigated the mechanisms by which tubular epithelial tissues achieve stable morphogenesis under the influence of cellular and external environmental noise. In the tracheal tissue of *Drosophila* embryos, the expansion of the lumen is characterized by an uneven distribution of expansion materials, leading to non-uniform lumen expansion. We discovered that actin nanoclusters, which accumulate just beneath the cell membrane facing the lumen, autonomously undergo rapid aggregation and disaggregation. These actin nanoclusters sense the tension of the cell membrane and align in the direction of tube expansion, constructing actin cables that counteract the expansion force. By replicating this dynamic through mathematical simulation, we demonstrated that the simple operational principles of actin can facilitate higher-order morphogenesis.

研究分野：発生生物学

キーワード：アクチン ミオシン DAAM Zasp 管形成 ショウジョウバエ 気管

1. 研究開始当初の背景

細胞は単離された状態において頻りに自発的な細胞極性の転換を示し、細胞極性は細胞の収縮、伸展などの細胞運動を制御するため、細胞の集団ではランダムな運動が頻発する。上皮組織においては上皮極性を獲得した細胞が整列して集合する事でシート構造を構築するが、細胞は平面極性を保持する事で上皮内においてさまざまな方向へ伸長、移動をおこない、上皮に動的な状態をもたらす。これらの突発的な変化を細胞のゆらぎ、ノイズと呼ぶ。形態形成運動においてゆらぎは組織を流動化させることで組織の可塑性に寄与すると理解されている(Mongera et al Nature 2018, Krajnc et al. Phys Rev E 2018)。しかし過剰なゆらぎは組織を不安定化させ、細胞の脱離、組織の崩壊など腫瘍組織に見られる病理的な異常を引き起こす。本研究では、細胞のゆらぎがどのように生じ、制限され、組織形成に利用されるのか?との問いに対して、発生中のショウジョウバエ胚を対象として上皮細胞の動的なゆらぎの性質を定量的に検討し、細胞間分子シグナルと力学的シグナルが細胞内の応答を通じて細胞極性のゆらぎを司る機構を明らかにし、形態形成における上皮の可塑性の制御の仕組みを理解することを目的とした。

2. 研究の目的

細胞の挙動を高精細度で観察可能な実験モデルとしてショウジョウバエ胚を選択した。また上皮組織の動態を観察し、比較的シンプルにモデル化できる対象として管状の上皮器官、気管を選択した。平面上皮は組織を三次元として扱う必要があるが、管状組織ではしばしば二次元、一次元の構造体として近似が可能である。気管に関わるさまざまな問題を検討したのち、最終的に管の拡張期における内腔の均一な拡張を担保する仕組みに絞った。この仕組みが崩壊するショウジョウバエ変異体では管内径が不均一になったシスト状の気管が生じるが、これらは腎嚢胞などの病理的な管構造の病変に酷似している。

気管は内腔が閉じた形で発生し、管の伸長、連結が行われる。その後内腔に多糖の繊維であるキチン(N-acetyl glucosamine のポリマー)が集積し、さらにキチンのアセチル基が除去されてキトサンに変化する。キトサンは水和性が高いため水を吸収し、膨潤することで管を拡張させる。研究の対象とした dorsal trunk(DT)は気管系の中心となる太い管を形成している。管の周囲には気管細胞が1個から5個までの間で配置されているが、成熟した正常肺のDTは全長にわたって1細胞の部分から5細胞の部分に至るまでほぼ均一な内径を示す。したがって気管の内径を細胞数によらず一定にする組織レベルの調節機構が予想された。

管の内径を調節する仕組みとして内腔面の細胞膜を周長方向に配列して裏打ちするアクチンケーブルがある。この構造は管の拡張期に発達し、ケーブルが欠損する変異体は管の内径が不均一になる(Kondo, Hayashi, Kageyaka et. al., Nature Cell Biology, 2007)。またケーブル形成はキチンの蓄積に依存し、ミオシンと共同して収縮力を発生させることが明らかにされている(Hanezzo, Dong, Hayashi et. al., PNAS 2015)。しかしアクチンケーブルがどのように生じ、周長方向へ等間隔に配列する仕組みについては我々の理論的考察(Hanezzo, Dong, Hayashi et. al., PNAS 2015)を除いては不明であった。本研究ではアクチンケーブル形成の分子機構の解明を目指した。



3. 研究の方法

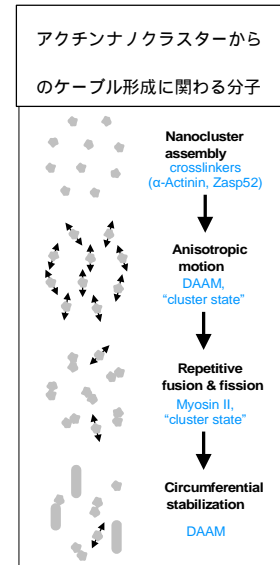
アクチン繊維(F-actin)はモノマー分子(G-actin)が重合-脱重合を繰り返すダイナミックな構造である。またアクチン繊維はモーター分子ミオシンの作用で滑り運動を起こし、クロスリンカー分子は繊維を束化する。このようなダイナミックな構造体の集合状態を把握するためには高速かつ、高解像度のイメージングを必要とする。研究開始時に利用可能となったAiryscan検出器を備えたレーザースキャン顕微鏡(LSM880)を用いて蛍光タンパク質で標識したアクチン分子に対して-50nm/pixel, 0.32 sec/frameの高空間、高時間分解能の画像取得を達成した。これらのデータに対して各種画像分析を行い、アクチンケーブル形成の過程を記述した。

次にアクチン繊維形成に関わる候補分子に対して機能阻害を行い、アクチンケーブル形成に関わる分子を同定する遺伝スクリーニングを行った。

これらの方法で同定された分子群(アクチン、ミオシン、アクチン繊維クロスリンカー、アクチン重合因子などを模した分子シミュレーションを構築し、各コンポーネントの寄与度を検討した。

4. 研究成果

高解像度イメージングでアクチンケーブル形成過程を追ったところケーブルは 140nm x 210nm 程度の小クラスタの移動と融合によって作られることがわかり、この構造体をアクチンナノクラスタと命名した。この構造体は秒以下の速度で集合離散を繰り返すが、融合の方向は周長方向へのわずかな偏りが見出された。この構造体はアクチン、ミオシン、クロスリンカー (Zasp52)、重合因子 (DAAM)、ミオシン制御因子 (Rho Kinase) などを含んでいた。阻害実験により同定された分子はケーブル形成に必須であることが判明した。これらの中で DAAM は周長方向へのケーブル配向に強く寄与することが分かった。これらの因子の働きを組み込んだ分子シミュレーションを構築し、ナノクラスタの形成からケーブル形成までを再現することに成功した。これらの結果より細胞の力学環境 (膜への一方向の張力) をアクチンナノクラスタが感知して細胞レベルのケーブル形成に至るプロセスが明らかになった。これはナノメートルレベルのアクチンナノクラスタを単位としてミリメートルの細胞レベルのケーブル構造が構築されるボトムアップの仕組みがあることを実証した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yoshida Kentaro, Hayashi Shigeo	4. 巻 150
2. 論文標題 Epidermal growth factor receptor signaling protects epithelia from morphogenetic instability and tissue damage in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.201231	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 Chu Wei-Chen, Hayashi Shigeo	4. 巻 31
2. 論文標題 Mechano-chemical enforcement of tendon apical ECM into nano-filaments during <i>Drosophila</i> flight muscle development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1366 ~ 1378.e7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2021.01.010	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 Taira Yuki, Wada Housei, Hayashi Shigeo, Kageyama Yuji	4. 巻 26
2. 論文標題 polished rice mediates ecdysone dependent control of <i>Drosophila</i> embryonic organogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 269 ~ 281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12841	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 Hayashi Shigeo, Ogura Yosuke	4. 巻 63
2. 論文標題 ERK signaling dynamics in the morphogenesis and homeostasis of <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics & Development	6. 最初と最後の頁 9 ~ 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gde.2020.01.004	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 Kondo Takefumi, Hayashi Shigeo	4. 巻 8
2. 論文標題 Two-step regulation of trachealess ensures tight coupling of cell fate with morphogenesis in the <i>Drosophila</i> trachea	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 45145-x
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.45145	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 Ando Toshiya, Sekine Sayaka, Inagaki Sachi, Misaki Kazuyo, Badel Laurent, Moriya Hiroyuki, Sami Mustafa M., Itakura Yuki, Chihara Takahiro, Kazama Hokto, Yonemura Shigenobu, Hayashi Shigeo	4. 巻 29
2. 論文標題 Nanopore Formation in the Cuticle of an Insect Olfactory Sensillum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1512 ~ 1520.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.03.043	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 Ogura Yosuke, Sami Mustafa M., Wada Housei, Hayashi Shigeo	4. 巻 24
2. 論文標題 Automated FRET quantification shows distinct subcellular ERK activation kinetics in response to graded EGFR signaling in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 297 ~ 306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12679	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 Sun Zhengkuan, Inagaki Sachi, Miyoshi Keita, Saito Kuniaki, Hayashi Shigeo	4. 巻 227
2. 論文標題 <i>Osiris</i> gene family defines the cuticle nanopatterns of <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 GENETICS	6. 最初と最後の頁 iyae065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/genetics/iyae065	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 Sekine Sayaka, Tarama Mitsusuke, Wada Housei, Sami Mustafa M., Shibata Tatsuo, Hayashi Shigeo	4. 巻 15
2. 論文標題 Emergence of periodic circumferential actin cables from the anisotropic fusion of actin nanoclusters during tubulogenesis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-44684-z	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 Yoshida Kentaro, Hayashi Shigeo	4. 巻 150
2. 論文標題 Epidermal growth factor receptor signaling protects epithelia from morphogenetic instability and tissue damage in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev201231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.201231	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24件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 Shaping ECM nanostructures of the olfactory organ by dynamic plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Nano-scale ECM Morphogenesis in Insect Exoskeletons
3. 学会等名 Dynamics of Cell Polarity, Cell Polarity Signaling, Gordon Research Conference
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 板倉由希
2. 発表標題 細胞外での分子の自己組織化による感覚器官の形づくり
3. 学会等名 日本発生物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Nano-level morphogenesis of insect cuticle
3. 学会等名 Molecular and Developmental Biology of Drosophila, EMBO Workshop, Greece
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Itakura
2. 発表標題 Cuticle nano-patterning of insect olfactory hairs by self-organizing extracellular matrix proteins
3. 学会等名 The 3rd Franco-Japanese Developmental Biology meeting
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲垣幸
2. 発表標題 Trafficking through the ER network controls plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in Drosophila
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田健太郎
2. 発表標題 Epidermal growth factor receptor signaling protects epithelia from developmental instability during Drosophila embryogenesis
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 板倉由希
2. 発表標題 細胞外での分子の自己組織化による感覚器官の形づくり
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Inagaki Sachi, Itabashi Takeshi, Onoue Kenta, Okayama Satoko, Yonemura Shigenobu, Iwane Atsuko, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Ultrastructural studies of nano-level ECM assembly during olfactory organ development in Drosophila
3. 学会等名 第54回 日本発生学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Itakura Yuki, Sun Zhengkuan, Inagaki Sachi, Wada Housei, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Nano-patterning of insect cuticle by self-organization of apical ECM molecules
3. 学会等名 第54回 日本発生生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Itakura Yuki, Sun Zhengkuan, Inagaki Sachi, Wada Housei, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Self-organization of apical ECM molecules underlies insect cuticle nano-patterning
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 孫正寛
2. 発表標題 多様な微小構造を持つショウジョウバエの感覚受容器におけるOsirisファミリー遺伝子の発現
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 板倉由季
2. 発表標題 マトリックス分子の自己集合と細胞内輸送による外骨格ナノ構造の構築
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wei-Chen Chu
2. 発表標題 Mechano-chemical enforcement of tendon apical ECM into nano-filaments during Drosophila flight muscle development
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根 清薫
2. 発表標題 管状組織内腔面での迅速なアクチンクラスター不等分離による周径アクチンリングの形成
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平 雄樹
2. 発表標題 polished rice遺伝子が介するエクジソンによる時間的制御は、ショウジョウバエ胚発生期の気管細胞の分化に関与している
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fu-Lai Wen, Housei Wada, Katsuhiko Sato, Hisao Honda, Tatsuo Shibata, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Modeling and experimental analysis of epithelial tube elongation in Drosophila revealed distinct biomechanical properties of tubes
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Itakura, Sachi Inagaki, Housei Wada, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Trynity controls epidermal barrier function and respiratory tube maturation in Drosophila by modulating apical extracellular nanopatterning
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi, Toshiya Ando, Sayaka Sekine, Sachi Inagaki, Kazuyo Misaki, Laurent Badel, Hiroyuki Moriya, Mustafa Sami, Takahiro Chihara, Hokuto Kazama, Shigenobu Yonemura
2. 発表標題 Nanopore formation in the cuticle of the insect olfactory sensillum
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mustafa Sami, Yosuke Ogura, Housei Wada, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Automated FRET quantification reveals distinct subcellular ERK activation kinetics in response to graded EGFR signaling in Drosophila
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wei-Chen Chu, Xiaorei Sai, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Force-dependent tendinous ECM remodeling during flight muscle Development
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 シヨウジョバエ外骨格のナノ構造形成に関わるOsiris 遺伝子群の発現と機能
3. 学会等名 構造色研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 ECM morphogenesis: nano-scopic universe of biological functions
3. 学会等名 上海工科大学（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 ECM morphogenesis: nano-scopic universe of biological functions
3. 学会等名 青島海洋大学（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>細胞外マトリックスの構築の仕組み - 筋肉と骨格をつなぐ細胞外基質の強靱な繊維化 - https://www.riken.jp/press/2021/20210312_3/index.html Proteins enable tendons and muscles of ... https://www.riken.jp/en/news_pubs/research_news/rr/20210507_2/index.html 昆虫の外骨格にナノサイズの穴が開く仕組み - 生物はどうやって体表面を微細加工しているのか - https://www.riken.jp/press/2019/20190419_1/index.html 動物の発生において形と機能を調和させる仕組みを発見 https://www.riken.jp/press/2019/20190829_1/index.html A place for every cell and every cell in its place elifesciences.org/digests/45145/a-place-for-every-cell-and-every-cell-in-its-place 管を支える細胞骨格の作り方 - 管構造に应答し自己組織化するナノクラスターの発見 - https://www.riken.jp/press/2024/20240124_3/index.html 運命が先か、かたちが先か、それが問題だ https://www.bdr.riken.jp/jp/news/2019/research019.html Laboratory for Morphogenetic Signaling home page. http://signaling.riken.jp/ 林 茂生チームリーダーが兵庫県科学賞を受賞 https://www.bdr.riken.jp/ja/news/bdr-news/2023/topic20231108_1.html</p>
--

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	柴田 達夫 (Tatsuo Shibata) (10359888)	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 (82401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	関根 清薫 (Sekine Sayaka)		
研究協力者	多羅間 充輔 (Tarama Mistusuke)		

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