

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18749

研究課題名（和文）器官形成における組織弾塑性の適応的な制御機構と内部構造ゆらぎの役割

研究課題名（英文）Role of fluctuation in regulating the elastic-plastic property of tissues during organogenesis

研究代表者

奥田 覚（Okuda, Satoru）

金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授

研究者番号：80707836

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：器官形成における組織弾塑性の適応的な制御機構と内部構造ゆらぎの役割を明らかにするため、細胞骨格から多細胞の三次元動態を解析するマルチスケールな数理モデリングに取り組んできた。特に、長時間の多細胞動態を扱うため、脂質や細胞骨格とその関連分子で構成される細胞膜の非平衡な動態を扱うため、非保存流体膜の数理モデルを構築した。この数理モデルを用いた数値シミュレーションにより、多細胞のアクティブな三次元力学動態を予測することが可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長時間スケールにおける多細胞の三次元力学動態に関する理解は、胚発生、がん進展、創傷治癒など、幅広い生命現象に関わる根本的な課題の一つである。特に、器官形成における組織弾塑性の適応性は、多細胞の適応的な振る舞いを決定する重要な因子である。本研究では提案した新規の数理モデルは、このような多細胞の三次元力学動態を予測することを可能にし、幅広い生命現象に共通する原理的な理解に繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the adaptive regulatory mechanism of tissue elastoplasticity and the role of internal structural fluctuations in organogenesis, we have worked on multi-scale mathematical modeling to analyze the three-dimensional dynamics of cells from the cytoskeleton. In particular, in order to analyze long-term multicellular dynamics, we have developed a mathematical model of non-conservative fluid membranes to describe the non-equilibrium dynamics of cell membranes composed of lipids, cytoskeleton, and related molecules. Numerical simulations using this mathematical model enables us to predict the active three-dimensional mechanical dynamics of multicellular systems.

研究分野：生体力学

キーワード：生体力学

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 多細胞から成る器官は、分子・細胞から器官までの幅広いスケールの現象が統合された1つのシステムである(図1)。この器官の形成過程は、マイクロな分子・細胞レベルの力発生により駆動される動的な変形過程であり、マクロな器官レベルにおいて頑強に制御されている。この力学過程の頑強性は正常な発生・代謝を保障し、またその破綻は先天性奇形・腫瘍などの形態異常を引き起こす(Gilbert, Dev Biol 2016)。

(2) 近年、器官発生の進行に応じて、器官を構成する組織の弾塑性が適応的に変化することが分かってきた。特に、この組織の弾塑性を介して、内部構造である細胞骨格や接着構造等のアクティブなゆらぎが、組織の形態形成を制御している可能性がある(Okuda, Sci Adv 2018等)。一方で、分子・細胞レベルのゆらぎは稀に、器官レベルの個体差や発生異常を引き起こす。そのため、頑強な器官形成では、発生過程の進行に応じて、マクロな組織の変形がマイクロな内部構造のゆらぎへフィードバックされ、組織の弾塑性が適応的に調節されていると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、官形成にみられる分子・細胞レベルの内部構造ゆらぎが、マルチスケールな相互作用を介して、組織の弾塑性をどのように制御するのかを解明する。

3. 研究の方法

(1) 組織内部のアクティブなゆらぎを定量的に計測するためには、細胞の力発生・伝播に重要な細胞骨格動態の観察・摂動が必要である。近年、ショウジョウバエの胚表層の組織において、アクティブなゆらぎの観察例が報告されている(He, Nat Cel Biol 2001)。しかし、胚組織内部における器官形成の過程を細胞骨格レベルから観察・摂動することは容易ではない。そこで本研究では、試験管内で器官形成を再現する多能性幹細胞の三次元培養系を用いて、器官形成における細胞骨格動態の観察・摂動を可能にし、分子・細胞レベルにおける内部構造のゆらぎ、および、組織の弾塑性を定量的に計測する。

(2) 組織の弾塑性が内部構造のゆらぎによって制御される機構を解明するためには、分子・細胞レベルの力発生と組織レベルの変形とのマルチスケールな相互作用を理解する必要がある。近年、多細胞動態の制御機構を理解するため、平面近似・連続体近似を用いた数理モデルが用いられている(Fletcher et al, Biophys J 2014)。しかし、これらの数理モデルは、組織の厚みや細胞の自由度、ゆらぎ等を無視するため、器官形成におけるマクロな組織変形をマイクロな分子動態から記述することが難しい。そこで本研究では、分子・細胞・組織レベルのマルチスケールな力学シミュレーション手法を開発し、内部構造である細胞骨格や接着構造等のゆらぎが組織の弾塑性を調節する機構を予測する。

4. 研究成果

(1) 生きた細胞は、3次元(3D)空間においてその力生成によって積極的に変形し、移動する。これらの3D細胞動態は、数十分から数日という長期的な時間スケールで発生する。このような時間スケールにおいては、エンドサイトーシスとエキソサイトーシスによる細胞膜構成成分のターンオーバーを無視することはできない。すなわち、表面膜は質量保存なしに動的に変形する。膜のターンオーバーは細胞の大変形に不可欠であるが、質量保存のない流体膜で長期的な細胞動態をシミュレートする計算フレームワークはこれまで存在しなかった。本論文では、3D空間における細胞膜の長期動態をシミュレートするための計算フレームワークを提案した。この目的のために、提案され

たフレームワークでは、細胞表面膜を質量保存なしの粘性流体膜として扱う。細胞形状は三角形メッシュで離散化され、その動態は有効エネルギーと散逸関数によって表現される(図1)。膜の運動によって歪んだメッシュ構造は、修正された動的リメッシュ法を導入することで動的に最適化される。提案されたフレームワークを検証するために数値シミュレーションを行い、膜の流れが物理的に一貫した方法で再現され、リメッシュ法の人工的な影響が無視できることを示

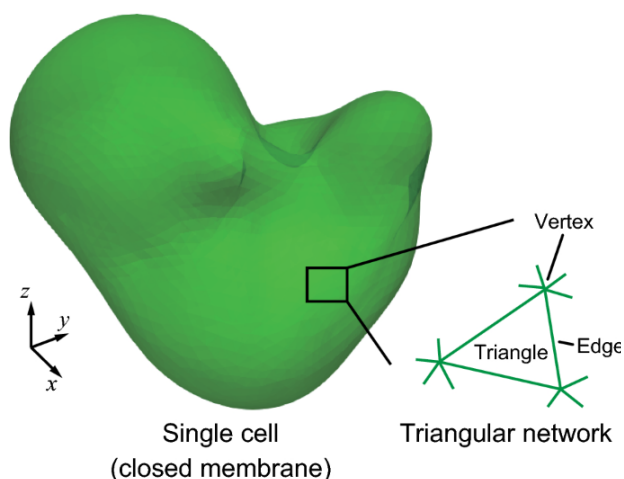


図1 モデルの概要

した。さらに、提案されたフレームワークの適用性を実証するために、マランゴニ効果に類似した機構、すなわち細胞によって積極的に生成される極性表面張力によって誘導される細胞移動の数値シミュレーションを行った。観察された細胞挙動は既存の解析解と一致し、提案された計算フレームワークが膜のターンオーバーを伴う長期的な能動的細胞動態を定量的に再現できることを示した。細胞膜動態の簡単な記述に基づいて、本フレームワークは様々な細胞の形作りや運動を解析するための有用な基盤を提供する。

(2) 細胞接着は、胚発生、癌侵襲、創傷治癒などの広範な生物学的状況において重要な役割を果たす。接着動態を記述するいくつかの計算モデルが提案されているが、長期的かつ大規模な細胞動態に適用可能なモデルは欠如している。本研究では、接着面間の界面相互作用の連続体モデルを構築することにより、3次元空間における長期的な接着細胞動態の可能な状態を調査した。このモデルでは、細胞表面を離散化する各三角形要素の間に疑似界面が存在すると仮定した。各要素対間の距離を導入することにより、界面の物理特性は界面エネルギーと摩擦によって与えられる。提案されたモデルは、細胞膜がターンオーバーとともに動的に流れる非保存的流体細胞膜のモデルに実装された。実装されたモデルを使用して、基板上の流れ下での接着細胞動態の数値シミュレーションを実施した。シミュレーションは、基板からの細胞の脱離、転がり、固定など、既報の接着細胞動態を再現しただけでなく、接着分子の解離よりもはるかに長い時間スケールで発生する細胞の滑りや膜の流れパターンなどの他の動的状態も発見した。これらの結果は、短期的なものよりも多様な長期的接着細胞動態の多様性を示している。提案されたモデルは任意の形状の膜に拡張可能であり、接着が本質的な幅広い長期的細胞動態の力学的解析に有用である。

(3) 細胞増殖は、胚発生、恒常性維持、創傷治癒、癌などの基礎的な過程である。この過程は、細胞成長、収縮環の形成、娘細胞への分裂など、それぞれの細胞周期中の複数のイベントを含み、周囲の細胞集団に対して幾何学および機械的に影響を与える。しかし、既存の方法では、細胞増殖を伴う多細胞構造の動態を細胞内分解能で包括的に記述することはできない。本研究では、先行研究で開発した非保存的流体膜 (NCF) モデルに基づいて、細胞内レベルでの増殖多細胞動態の新しいモデルを提案する。NCF モデルは、動的に再配置される閉じた三角形メッシュを利用して各細胞の形状を描写し、細胞表面成分が動的にターンオーバーする細胞周期を超えた長期間にわたる細胞動態を解析することを可能にする。提案されたモデルは、細胞増殖の過程を細胞容積の成長と収縮環の形成をエネルギー関数によって表現し、環によって形成された分裂溝で各細胞を位相的に分割することにより再現する。数値シミュレーションでは、細胞容積の成長、分裂溝の形成、娘細胞への分裂など、細胞内分解能での細胞増殖過程が再現された。さらなる解析により、収縮環におけるアクチン応力の方向が分裂溝の形成に重要な役割を果たすことが示唆された。すなわち、円周方向の応力は分裂溝を形成できるが、等方的な応力では形成できない。さらに、モデルは、接着細胞の連続的な増殖が基板上に細胞シートと層構造を形成する組織スケールの多細胞動態を再現した。全体として、提案されたモデルは細胞内分解能で増殖多細胞動態を解析するための基盤を提供する。

<引用文献>

1. Gilbert, S.F. (2016). *Developmental Biology*. Sinauer Associates.
2. He, X.C., Zhang, J., Tong, W.G., Tawfik, O., Ross, J., Scoville, D.H., Tian, Q., Zeng, X., He, X., Wiedemann, L.M., Mishina, Y., Li, L. (2001). BMP signaling inhibits intestinal stem cell self-renewal through suppression of Wnt- β -catenin signaling. *Nature Cell Biology*, 3(9), 844-851.
3. Okuda, S., Inoue, K., Ebisudani, T., Iwanaga, J., Takahashi, K., Sato, K., Namba, T. (2018). A three-dimensional organoid system to study liver biology, *Hepatology*. *Science Advances*, 4(5), eaao5037.
4. Fletcher, D.A., Mullins, R.D. (2014). Cell mechanics and the cytoskeleton. *Biophysical Journal*, 106(11), 2291-2302.
5. Okuda, S., Hiraiwa, T. (2023). Modelling contractile ring formation and division to daughter cells for simulating proliferative multicellular dynamics. *The European Physical Journal E*, 46: 56.
6. Okuda, S., Hiraiwa, T. (2023). Long-term adherent cell dynamics emerging from energetic and frictional interactions at the interface. *Physical Review E*, 107(3), 034406.
7. Okuda, S., Sato, K., Hiraiwa, T. (2022). Continuum modeling of non-conservative fluid membrane for simulating long-term cell dynamics. *The European Physical Journal E*, 45: 69.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujimura Yuki, Sakai Itsuki, Shioka Itsuki, Takata Nozomu, Hashimoto Atsushi, Funatomi Takuya, Okuda Satoru	4. 巻 13
2. 論文標題 Machine learning-based estimation of spatial gene expression pattern during ESC-derived retinal organoid development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-023-49758-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 該当する
1. 著者名 Okuda Satoru, Hiraiwa Tetsuya	4. 巻 46
2. 論文標題 Modelling contractile ring formation and division to daughter cells for simulating proliferative multicellular dynamics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The European Physical Journal E	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） 10.1140/epje/s10189-023-00315-5	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 該当する
1. 著者名 Matsuzawa Ryosuke, Matsuo Akira, Fukamachi Shuya, Shimada Sho, Takeuchi Midori, Nishina Takuya, Kollmannsberger Philip, Sudo Ryo, Okuda Satoru, Yamashita Tadahiro	4. 巻 166
2. 論文標題 Multicellular dynamics on structured surfaces: Stress concentration is a key to controlling complex microtissue morphology on engineered scaffolds	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 301 ~ 316
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.actbio.2023.05.012	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 該当する
1. 著者名 Okuda Satoru, Hiraiwa Tetsuya	4. 巻 107
2. 論文標題 Long-term adherent cell dynamics emerging from energetic and frictional interactions at the interface	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Review E	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） 10.1103/PhysRevE.107.034406	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 該当する

1. 著者名 Okuda Satoru, Sato Katsuhiko, Hiraiwa Tetsuya	4. 巻 45
2. 論文標題 Continuum modeling of non-conservative fluid membrane for simulating long-term cell dynamics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The European Physical Journal E	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1140/epje/s10189-022-00223-0	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 該当する

1. 著者名 Okuda Satoru, Sato Katsuhiko	4. 巻 121
2. 論文標題 Polarized interfacial tension induces collective migration of cells, as a cluster, in a 3D tissue	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 1856 ~ 1867
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2022.04.018	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 Okuda Satoru, Hiraiwa Tetsuya	4. 巻 107
2. 論文標題 Long-term adherent cell dynamics emerging from energetic and frictional interactions at the interface	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.107.034406	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 該当する

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Satoru Okuda
2. 発表標題 Elasto-plasticity as a key regulator of the progress of morphogenesis," Exploring Organoid Design with Microengineering
3. 学会等名 Exploring Organoid Design with Microengineering (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 奥田 覚
2. 発表標題 器官形成の一方向性を決める上皮組織の力学
3. 学会等名 第11回ソフトマター研究会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥田 覚
2. 発表標題 形態形成を不可逆に進行させる上皮折りたたみの力学的可塑性
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoru Okuda
2. 発表標題 Versatile computational modeling of 3D multicellular dynamics and application to collective cell migration
3. 学会等名 7th NanoLSI Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Aki Teranishi, Satoru Okuda
2. 発表標題 Elastic-Plastic Transition in the Mechanical Response of Epithelium
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2023 Transitions in Biological Systems (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 詩丘伊月, 奥田覚
2. 発表標題 組織切片のAFM計測による生きた胚内部の弾性率マッピング
3. 学会等名 第33回 バイオフロンティア講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田覚
2. 発表標題 多細胞ダイナミクスの汎用的計算手法: 3Dパーテックスモデルと非保存流体膜モデル
3. 学会等名 ソフトバイオ研究会2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoru Okuda
2. 発表標題 Mechanical plasticity of epithelium for progressing morphogenesis
3. 学会等名 New Frontiers in Developmental Biology; Celebrating the Diversity of Life (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoru Okuda
2. 発表標題 Computational simulations of cell and tissue dynamics
3. 学会等名 Computational Biophysics of Atomic Force Microscopy A Lecture-based Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 寺西亜生, 奥田覚
2. 発表標題 上皮組織の適応的な曲げ特性とその分子制御機構の解明
3. 学会等名 日本機械学会 2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深町崇耶, 奥田覚
2. 発表標題 3Dパーテックスモデルによる上皮層形成の力学機構の解明
3. 学会等名 日本機械学会 2022年度年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田覚
2. 発表標題 界面張力の不均一性・ゆらぎ・非対称性が引き起こす多細胞の集団運動
3. 学会等名 ゆらぎ界面研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoru Okuda
2. 発表標題 Collective migration of cells as a sheet and cluster in 3D space
3. 学会等名 The 9th World Congress of Biomechanics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田 覚
2. 発表標題 極性化した界面張力が引き起こす多細胞のクラスター運動の力学機構
3. 学会等名 日本機械学会 第34回バイオエンジニアリング講演会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shuya Fukamachi, Satoru Okuda
2. 発表標題 Mechanics of Epithelial Stratification: Numerical Simulations Using a 3D Vertex Model
3. 学会等名 The 55th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (招待講演)
4. 発表年 2022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

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