

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2016

課題番号：24687027

研究課題名(和文)細胞社会における集団細胞移動の動的理解と制御メカニズム

研究課題名(英文)in vivo analysis of collective cell movement

研究代表者

倉永 英里奈(Kuranaga, Erina)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90376591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、個体における細胞移動の作動機序を解明する目的で、ショウジョウバエ雄性生殖器を取り囲む上皮組織の細胞集団移動をモデルに、個体における細胞移動の作動機序を解析した。外生殖器を取り囲むリング状の構造をした単層の上皮組織には、600個以上の上皮細胞が含まれており、互いに接着性を保ったまま集団で移動する。研究代表者らは、移動する上皮細胞集団の頂端面に左右非対称な平面極性があることを見出し、それに準ずる細胞接着面のつなぎ替えと細胞間張力の揺らぎによって、細胞同士が斜めにずれ続けることで、接着性を保った細胞移動が成し遂げられることを、実験・計測・理論を組み合わせた研究により明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Morphogenetic epithelial movement occurs during embryogenesis and drives complex tissue formation. However, how epithelial cells coordinate their unidirectional movement while maintaining epithelial integrity is unclear. Here we propose a novel mechanism for collective epithelial cell movement based on *Drosophila* genitalia rotation, in which epithelial tissue rotates clockwise around the genitalia. We found that the moving cells exhibited repeated left-right-biased junction remodeling, while maintaining adhesion with their neighbors, in association with a polarized myosin II distribution. Numerical simulations revealed that a left-right asymmetry in cell intercalation was sufficient to induce unidirectional cellular movement. These findings support a model in which left-right asymmetric cell intercalation within an epithelial sheet drives collective cellular movement in the same direction.

研究分野：発生生物学

キーワード：細胞移動 器官形成 細胞極性 左右軸

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物の発生過程にはたくさんの細胞が、増殖・分化・接着・移動・死などの個性的なイベントを積み重ねて個体形成を成立させている。なかでも細胞移動は、単細胞における捕食や生殖活動、多細胞における器官形成や免疫応答、創傷治癒、個体発生から生体の恒常性維持、癌の浸潤や転移などのように病態発症のプロセスに関わるものまで、生命活動の様々な局面に関与している。二次元細胞培養モデルを用いたこれまでの研究により、細胞移動に関わる多くの知見が得られてきたが、個体という細胞社会の中で整然と制御される実際の生体内細胞移動との隔たりを埋めることは困難であった。そこで研究代表者は、発生過程において細胞移動の関与する器官形成に注目した。細胞社会の中で観られる細胞移動を詳細に観察し、その動的制御メカニズムを理解することによって、個体レベルでの細胞移動を調節する普遍的分子メカニズムの解明につながると期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、雄性外生殖器の回転形成を、器官形成を支える集団細胞移動の新たな解析モデルとして確立し、生きた個体を用いた単一細胞レベルの可視化技術によって、上皮細胞が移動能を獲得して、集団として正確に移動する過程をリアルタイムで解析する。この可視化解析にショウジョウバエの遺伝学的操作を加えることで、細胞死や細胞増殖などの細胞のふるまいがどのように相互作用して、集団細胞移動を成し遂げることに寄与しているのか、その分子メカニズムの解明を目指す。器官形成を成し遂げる細胞の動的制御機構を解明することで、個体という細胞社会の中で細胞移動を制御する普遍的分子メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は、発生過程において細胞移動の関与する器官形成に注目し、個体レベルにおける細胞移動の動的制御メカニズムの解明を目指すものである。上皮系の細胞が移動能を獲得するモデルとして本研究で注目する器官形成は、ライブイメージング技術により新たに解析が開始された発生現象であり、まずは詳細な記載を行うことが重要なポイント

であると考えられる。一般的に変異体表現型の観察は発生完了後・または発生中の個体を固定して経時的に観察するというものだったが、本研究では発生個体における細胞移動を定量的に再現性よく観察するために、同一個体で一連の細胞移動の過程を観察可能な、ライブイメージング等を用いた解析方法を選択する。加えてショウジョウバエの多彩な遺伝学的ツールを利用し、多角的な解析を行う。

4. 研究成果

細胞移動は、個体発生においてだけでなく癌の浸潤や転移などの病態発症のプロセスに至るまで、生命活動の様々な局面に関与している。本研究では、個体における細胞移動の作動機序を解明する目的で、ショウジョウバエ雄性生殖器を取り囲む上皮組織の細胞集団移動をモデルに、個体における細胞移動の作動機序を解析した。

ショウジョウバエの雄性外生殖器は、蛹期、その発生過程に360度時計回りに回転することが知られており、左右非対称な器官形成を行うため、その回転異常は左右軸異常のモデルとして解析されてきた。これまでの報告や研究代表者の解析から、外生殖器の正常回転には増殖・移動・細胞死の関与が示唆されているが、それら細胞のふるまいが、どこで、どのようにして器官形成に関与しているのかは明らかでなかった。研究代表者は、ショウジョウバエを生かしたままで、この生殖器が360度回転する過程を単一細胞レベルで可視化することに成功し、この回転は、生殖器をとりまく上皮組織が円周状に移動することにより引き起こされることを明らかにした。

外生殖器を取り囲むリング状の構造をした単層の上皮組織には、600個以上の上皮細胞が含まれており、互いに接着性を保ったまま集団で移動する様子が観察された。興味深いことに、この上皮細胞の集団移動は *ex vivo* 条件下(個体から組織を切り取ってきて培養した条件下)においても観察されることから、周辺上皮組織に含まれる細胞の自発的な駆動力によって成し遂げられることが予測された。集団細胞移動のメカニズムとしては、移動方向からの誘引物質受容が報告されているが、リング状の組織であり典型的なリー

ダー細胞が観察されない本ケースでは、新たな集団細胞移動のモデルを提示する必要があった。

研究代表者らは、移動する上皮細胞集団のアピカル（頂端）面に左右非対称な平面極性があることを見出し、それに準ずる細胞接着面のつなぎ替えが観察され、それらは一方向性の細胞移動に必要であることを明らかにした。この左右非対称な平面極性と細胞接着のつなぎ替えが、細胞集団を移動するのに十分かどうか検証するため、理研 QBiC の佐藤 研究員と平岩 研究員と柴田 チームリーダーとの共同研究により数理モデルを作成し、左右非対称なつなぎ替えと、細胞間張力の揺らぎによって、細胞同士が斜めにずれることで、接着性を保った細胞移動が成し遂げられることが明らかになった。実験からは見いだすことが出来なかったが、数理モデルから明らかになったこととしては、集団細胞を上下から挟んでいる周辺組織との摩擦力について、上下の異方性が無い場合には、一方向性の動きが作れない、ということであった。実験系においても、集団移動する細胞の前部に接着している細胞は動かない為、互いの摩擦力が強く、後部に接着している細胞はすでに動いているため摩擦力が弱い（つまり上下の摩擦力に異方性がある）可能性が示唆された。以上の様に、遺伝学、ライブイメージング、数理モデルなどを駆使することで、リーダー細胞を必要としない、生体組織における集団細胞移動の新たなメカニズムを提示することに成功した。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 17 件)

Umetsu D, Kuranaga E. Planar polarized contractile actomyosin networks in dynamic tissue morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev.* 45, 90-96, 2017 (査読あり)

Uechi H, Kuranaga E. Mechanisms of collective cell movement lacking a leading or free front edge in vivo. *Cell Mol Life Sci.*, 2017 (査読あり)

Kawamoto Y, Nakajima YI, Kuranaga E. Apoptosis in Cellular

Society: Communication between Apoptotic Cells and Their Neighbors. *Int J Mol Sci.* 17: E2144, 2016 (査読あり)

上地浩之、倉永英里奈 : 「上皮細胞の集団移動を可能にする細胞平面の運動と力学モデル」生体の科学第 67 巻 2 号「細胞の社会学—細胞間で繰り広げられる協調と競争」2016 年 (査読なし)

Sato K, Hiraiwa T, Maekawa E, Isomura A, Shibata T, Kuranaga E. Left-right asymmetric cell intercalation drives directional collective cell movement in epithelial morphogenesis. *Nat Commun.* 6:10074. 2015 (査読あり)

倉永英里奈 : 実験医学「多細胞社会が形をつくる、器官を生み出す—折れ曲がり、ねじれ、移動する—」<概論—からだの形づくりのはじめの一步—> 実験医学 33(3), 2 月号 2015 年 (査読なし)

前川絵美、倉永英里奈 : <移動する—シヨウジョウバ工外生殖器の回転形成を例に—> 実験医学 33(3), 2 月号 2015 年 (査読なし)

Obata F, Kuranaga E., Tomioka K, Ming M, Takeishi A, Chen CH, Soga T, Miura M. Necrosis-Driven Systemic Immune Response Alters SAM Metabolism through the FOXO-GNMT Axis. *Cell Rep.* 7:821-833. 2014 (査読あり)

Yamaguchi Y, Kuranaga E., Nakajima Y, Koto A, Takemoto K, Miura M. In vivo monitoring of caspase activation using a fluorescence resonance energy transfer-based fluorescent probe. *Methods Enzymol.* 544: 299-325. 2014 (査読あり)

Liu T, Yamaguchi Y, Shirasaki Y, Shikada K, Yamagishi M, Hoshino K, Kaisho T, Takemoto K, Suzuki T, Kuranaga E., Ohara O, Miura M. Single-cell imaging of caspase-1 dynamics reveals an all-or-none inflammasome signaling response. *Cell Rep.* 8(4): 974-982. 2014 (査読あり)

り)

Ming M, Obata F, **Kuranaga E.**,
Miura M. Persephone/Spätzle
pathogen sensors mediate the
activation of Toll receptor signaling
in response to endogenous danger
signals in apoptosis-deficient
Drosophila. **J Biol Chem.** 289(11):
7558-7568. 2014 (査読あり)

Takeishi A, **Kuranaga E.**, Tonoki A,
Misaki K, Yonemura S, Kanuka
Hirotaka, Miura M. Homeostatic
epithelial renewal in the gut is
required to dampen a fatal systemic
wound response in *Drosophila*. **Cell
Reports** 3:919-30. 2013 (査読あり)

Ihara R, Matsukawa K, Nagata Y,
Kunugi H, Tsuji S, Chihara T,
Kuranaga E., Miura M,
Wakabayashi T, Hashimoto T,
Iwatsubo T. RNA binding mediates
neurotoxicity in the transgenic
Drosophila model of TDP-43
proteinopathy. **Hum Mol Genet.**
22:4474-84. 2013 (査読あり)

倉永英里奈 : 「細胞死が推進する上皮組
織の維持・形成と移動—死してその先
にあるもの」医学のあゆみ Vol 246 (5)
385-391, 2013.8 (査読なし)

Sekine Y, Hatanaka R, Watanabe T,
Sono N, Iemura S, Natsume T,
Kuranaga E., Miura M, Takeda K,
Ichijo H. The Kelch repeat protein
KLHDC10 regulates oxidative
stress-induced ASK1 activation by
suppressing PP5. **Molecular Cell**
48:692-704. 2012 (査読あり)

Kuranaga E.: Beyond apoptosis:
caspase regulatory mechanisms and
functions in vivo. **Genes Cells.** 17,
83-97, 2012 (査読あり)

倉永英里奈 : 「上皮細胞シートを折りた
たむメカニズム～細胞極性を変化させ
て折り目をいれる～」実験医学 Vol 30
(14) News and Hot Paper Digest
(NHPD) 2252-2253, 2012.9 (査読な
し)

(学会発表) (計 33 件)

Kuranaga E.: collective cell
movement in looping morphogenesis
Joint meeting of GfE & JSDB
2017.3.17 Kiel (Germany)

Kuranaga E.: Chiral cell intercalation
drives directional collective cell
movement in looping morphogenesis
MBSJ 2016 2016.12.2 パシフィコ横
浜 (神奈川県・横浜市)

Kuranaga E.: Collective movement of
epithelial cells regulated by left-right
asymmetric cell polarity in clockwise
morphogenesis
22nd international congress of
zoology 2016.11.15 OIST (沖縄県・
国頭郡)

Kuranaga E.: in vivo analysis of
spontaneous competitive apoptosis in
Drosophila epidermis
2nd international symposium of cell
competition, apoptosis and cancer,
2016.10.25-26 Madrid (Spain)

Kuranaga E.: Collective movement of
epithelial cells regulated by left-right
asymmetric cell polarity in clockwise
morphogenesis
第 89 回生化学会、2016.9.27 仙台国
際センター (宮城県・仙台市)

Kuranaga E.: Collective cell
movement in looping morphogenesis
75th SDB & 19th ISD joint meeting,
2016.8.3-8 Boston (USA)

倉永英里奈 : 「時計回りの組織形成を支
える集団細胞移動とその作動原理」
第 6 回 HiHA ワークショップ、2016.7.8
広島大学先端科学総合研究棟 (広島県・
東広島市)

Kuranaga E.: Collective cell
movement in looping morphogenesis
Crete EMBO conference, 2016.6.19-25
Crete

Kuranaga E.: Sexual dimorphic
collective cellular movement in
organogenesis
The Fondation des Treilles “Cell and
tissue communications in
organogenesis” 2015.9.21-26 Les
Treilles (France)

Kuranaga E.: In vivo analysis of
spontaneous competitive apoptosis in

Drosophila epidermis
The 1st International Symposium of Cell Competition, 2015.9.10、京都大学芝蘭会館（京都府・京都市）

Kuranaga E.: Collective Movement of Epithelial Cells Regulated by Left-Right Asymmetric Cell Polarity in Clockwise Morphogenesis

CiRA-CDB exchange seminar, 2015.9.3、京都大学 CiRA（京都府・京都市）

倉永英里奈:「上皮細胞の集団移動を可能にする細胞平面の運動と力学モデル」
日本細胞生物学会シンポジウム“細胞から器官へ”、2015.6.30 タワーホール船堀（東京都・江戸川区）

倉永英里奈:「時計回りの器官形成を支える細胞の左右非対称性」
第 79 回 形の科学シンポジウム、2015.6.13 千葉大学（千葉県・千葉市）

Kuranaga E.: Left-right asymmetric planar cell polarity controls directional epithelial cell migration in *Drosophila*
JSDB symposium “New horizon in developmental biology”、2015.6.5 つくば国際会議場（茨城県・つくば市）

Kuranaga E.: In Vivo Analysis of the Systemic Damage Response via Caspase Pathway to Maintain Homeostasis
The 3rd Homeostatic Inflammation Symposium, 2015.1.29 東京大学医科研（東京都・港区）

Kuranaga E.: Left-right asymmetric planar cell polarity controls directional cell migration during epithelial morphogenesis in *Drosophila*
MBI-Japan joint conference, 2014.12.1-4 Singapore (Singapore)

Kuranaga E.: Left-right Asymmetric Planar Cell Polarity Controls Directional Collective Cell Migration

in Epithelial Morphogenesis
NIBB symposium “Force in Development” 2014.11.17-19 NIBB(愛知県・岡崎市)

Kuranaga E.: Left-right asymmetric planar cell polarity controls directional cell migration in epithelial morphogenesis
SPBD-EPBD meeting, 2014.10.13-16 Madrid (Spain)

倉永英里奈:「Left-Right asymmetric polarity in apical cell plane is associated with the collective migration of epithelial cells」
細胞生物学会シンポジウム、2014.6.11-13 東大寺総合文化センター（奈良県・奈良市）

倉永英里奈:「上皮細胞の集団移動を可能にする細胞平面の運動と力学的考察」
東工大生命科学シンポジウム、2014.1.18 東工大（神奈川県・横浜氏）

21 **倉永英里奈:**「上皮細胞の集団移動を可能にする細胞平面の運動と力学モデル」
細胞システムコロキウム 2014.1.10、理研（埼玉県・和光市）

22 **倉永英里奈:**「回転する器官形成を支える上皮細胞集団移動のしくみ」
日本発生生物学会 第 4 回秋季シンポジウム、2013.11.18-20、しあわせの村（兵庫県・神戸市）

23 **Kuranaga E.:** Collective unidirectional motion of epithelial cells induced by planar cell dynamics
23th European *Drosophila* Research Conference
2013.10.18 Barcelona (Spain)

24 **倉永英里奈:**「上皮組織における集団的細胞移動を可能にする細胞平面の運動と作動原理」
第 86 回日本生化学会シンポジウム「発生・再生を支える多細胞動態と力学特性」、2013.9.12、パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）

25 **Kuranaga E.:** Collective

- unidirectional motion of epithelial cells induced by planar cell dynamics during looping morphogenesis of *Drosophila* male terminalia.
2nd Asia Pacific *Drosophila* Research Conference
2013.5.14 Seoul (Korea)
- 26 **Kuranaga E.:** Collective unidirectional motion of epithelial cells supported by planar cell dynamics during *Drosophila* looping morphogenesis.
Barcelona-CDB joint meeting, 2013.4.12 Barcelona (Spain)
- 27 **Kuranaga E.:** Cellular dynamics of collective cell movement during the looping morphogenesis of *Drosophila* male terminalia
The 23rd CDB meeting, 2013.1.22-23
理研 C D B (兵庫県・神戸市)
- 28 **Kuranaga E.:** Imaging analysis of planer cell dynamics in *Drosophila* looping morphogenesis.
Swiss-Japanese Developmental Biology Meeting, 2012. 11. 5-8 京都ガーデンパレス (京都府・京都市)
- 29 **Kuranaga E.:** Genetic analysis of the systemic damage response via caspase pathway to maintain homeostasis
IEIIS2012 Joint with Homeostatic Inflammation Symposium, 2012. 10. 23-26 学術総合センター (東京都・千代田区)
- 30 **Kuranaga E.:** Collective unidirectional motion of epithelial cells induced by planar cell dynamics
15th The Kyoto University Graduate School of Biostudies Faculty Seminar, 2013.7.4-5 京都大学芝蘭会館 (京都府・京都市)
- 31 **倉永英里奈:**「組織形成を支える細胞死の動的解析」 京都大学大学院生命科学研究科セミナー、2012.6.19、京都大学芝蘭会館 (京都府・京都市)
- 32 **Kuranaga E.:** Collective unidirectional motion of epithelial cells supported by planar cell dynamics during *Drosophila* organogenesis (part I): Experimental approach
46th Japanese Society of
- Developmental Biology, 2013.5.31 <にびきメッセ (島根県・松江市)
- 33 **倉永英里奈:**「からだの形づくりを視る技術の最先端」 分子生物学会市民公開講座「からだと健康を知る最先端技術」2012.4.21、コラニー文化ホール (山梨県・甲府市)
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)
- 〔その他〕
ホームページ等
http://www.riken.jp/pr/press/2015/20151215_1/
http://www.cdb.riken.jp/news/2015/researches/1211_9142.html
http://www.cdb.riken.jp/jp/04_news/articles/11/110509_apoptosis.html
- 6 . 研究組織
(1) 研究代表者
倉永 英里奈 (KURANAGA, Erina)
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
研究者番号 : 90376591