

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25730177

研究課題名(和文)細胞骨格モデルから神経細胞の形態形成メカニズムに迫る

研究課題名(英文) Toward cytoskeleton-based understanding of neuronal morphogenesis

研究代表者

本田 直樹 (Honda, Naoki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30515581

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：細胞骨格系の弾性力学的数理モデルを構築し、アクチンフィラメントが束状構造・メッシュ構造・ネットワーク構造へと自己組織化する条件を明らかにした。神経軸索および樹状突起における微小管配向の数理モデルを構築し、報告されている三種の配向パターンを実現する条件を明らかにした。また、FRETイメージングデータを基に、分子シグナルから骨格系を介した膜伸長の伝達過程を数理的に明らかにした。さらには、成長円錐の誘引的・忌避的走化性の理論を構築した。

研究成果の概要(英文)：We developed a mathematical model of elastic cytoskeleton. Based on this model, we identified the conditions that F-actins self-organize to bundle structure, mesh structure and network structure. We also developed a mathematical model of microtubule orientation in axon and dendrite, and then reproduced three distinct orientation patterns depending parameters. In addition, based on FRET imaging on migratory cells, we clarified how molecular signals are transmitted to morphological changes via cytoskeletal regulation. Moreover, we constructed a theory describing bi-directional attractive and repulsive turning response of the nerve growth cone.

研究分野：数理生物学

キーワード：細胞骨格系 アクチンフィラメント 微小管 神経極性 成長円錐 糸状仮足

1. 研究開始当初の背景

発生過程において神経細胞は、神経突起を伸ばし、軸索や樹状突起へと発達していく。神経ネットワークは、このような形態形成を基礎として構築される。形態形成の異常は神経疾患を引き起こすと考えられており、例えば、神経細胞の極性形成を制御する遺伝子 *DISC1* の変異は、統合失調症の発症に関連する (Taya *et al.*, 2007)。また、脊髄損傷により損傷した細胞の回復は、形態形成における重要な課題であり、最近、細胞骨格系である微小管に作用する薬剤 *paclitaxel* に軸索再生の効果があることが分かった (Hellal *et al.*, 2011)。これらの事実から、神経細胞の形態形成メカニズムの解明は、神経科学のみならず、医学的にも大きな意味を持つ。

細胞の形態は、アクチンフィラメントや微小管などの細胞骨格が、細胞の内側から細胞膜を力学的に支えることで決定される。また、細胞骨格の重合や分岐、クロスリンクなどによるダイナミックかつ柔軟な構造的再編を通して細胞の形態が変化する。このような構造的再編を伴う骨格系の力学的特性を含めた理解は、細胞生物学などの既存手法を用いた研究では困難であった。そこで本研究では、細胞骨格の再編・細胞膜の形状変化・シグナル分子の反応拡散を同時にシミュレーションすることで、神経細胞の形態形成メカニズムを究明する。

2. 研究の目的

本研究では、細胞骨格の構造的再編による形態変化の数理モデルを構築し、発生過程における神経細胞の形態形成をシミュレーションすることで、そのシステム的理解に迫る。具体的な研究目的は以下である。

- ・ 細胞骨格・細胞膜・細胞内シグナルを統合した形態形成シミュレータの開発
- ・ 神経細胞の形態形成メカニズムを細胞骨格レベルから明らかにする。

3. 研究の方法

A. 細胞骨格の数理モデル

神経突起などの複雑な形態を表現するため、柔軟に曲がることのできる骨格フィラメントの数理モデル化を行う。具体的には、各フィラメントをノードに分割し、ノード間に働く力をバネ力で定式化することで、弾性力学的性質を導入する。また、骨格フィラメント同士を繋ぎ止めるクロスリンクたんぱく質を導入する。

B. 神経細胞の形態形成メカニズムの解明

開発するシミュレータを用いて、神経細胞を特徴づける最も基本的な形態形成のシミュレーションを行う。具体的には、下記の発生ステージをターゲットとして、細胞骨格の大規模かつ動的な構造的再編による形態形成

メカニズムを明らかにする。また、これらの形態形成過程は、神経変性疾患で見られる形態異常や神経損傷の回復においても重要である。

■B-1 神経突起の形成

神経細胞は丸い形状から、アクチンから構成された“糸状仮足”と呼ばれる細い突起を伸ばし、その後太く安定した“神経突起”へと構造変化する。その際、シャフトには微小管が、先端にはアクチンが局在する。この細胞骨格の再編による局在メカニズムを明らかにする。

■B-2 成長円錐の運動

神経突起の先端には成長円錐と呼ばれる構造が形成され、伸長・収縮を繰り返し、そのうち一本が突如大きく伸長する。成長円錐の伸長と収縮は、アクチンと微小管の相互作用パターンに依存している。この細胞骨格の動的な相互作用メカニズムを明らかにする。

■B-3 軸索/樹状突起の特徴化

大きく伸長した神経突起は軸索になり、その他の突起は樹状突起となる。この際、伸びた突起内では微小管の方向が一方向に揃い、その他の突起ではランダムになることで、それぞれ軸索/樹状突起へと特徴化される。この微小管の再編メカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

アクチンフィラメントは細胞内において様々な構造を示す。例えば、アクチンフィラメントが束状になった糸状仮足やメッシュ状になった葉状仮足、またネットワーク状になったストレスファイバーなどがある。それらの構造の発生メカニズムを調べるため、アクチンフィラメントの弾性力学的性質や Arp2/3 による分岐、fascin (リンカータンパク質) による相互作用を導入した数理モデルを構築した。そして、Arp2/3 と fascin のアクチンフィラメントへの結合が排他し合うことで、フィロポディアで見られる束状構造を発生することが分かった。また、Arp2/3 と fascin の濃度パラメータに依存して、葉状仮足に似たメッシュ構造およびストレスファイバーに似たネットワーク構造が自己組織化することも分かった (投稿準備中)。

神経細胞の軸索および樹状突起は微小管の配向構造によって規定される。軸索は全ての微小管がプラス端は神経突起先端に向かっている配向 (Plus-End-Out パターン) を持つ。脊椎動物の樹状突起はプラス端とマイナス端の向きが入り混じっているランダムな配向 (Mixed パターン) を持つ一方、無脊椎動物の樹状突起は全てのマイナス端が神経突起先端に向かっている配向 (Minus-End-Out パターン) を持つ。このような軸索および樹

状突起の特徴化のメカニズムを調べるため、神経極性形成における微小管成長の数理モデルを構築した。ここでは微小管の重合・脱重合・加水分解、チューブリンの能動輸送を導入した。シミュレーションの結果、微小管の成長速度、神経突起の成長速度、加水分解の速度のバランスに応じて、三種類の配向パターンが実現する条件を明らかにした（投稿準備中）。

細胞形態変化を制御する細胞内シグナル分子は良く同定されているが、それらの分子シグナルが細胞骨格系の制御を介してどのように形態変化へと伝達されているのかは良く分かっていない。そこで、遊走性を示す細胞の FRET イメージングから、分子シグナルおよび膜伸長を定量化する画像処理システムを構築した。これらの定量データから分子シグナルから膜伸長を予測することのできる伝達関数を同定することに成功した (Yamao et al., Scientific reports, 2015)。

成長円錐の走化性は同じ細胞外分子の濃度勾配に対して誘引と忌避の両方を状況に応じて示すが、誘引と忌避の切り替えメカニズムは良く分かっていない。そこで、活性因子-抑制因子からなる数理モデルを構築し、誘引的・忌避的な走化性の切り替えを説明する理論を構築した（投稿・改訂中）。

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4件）

1. Reconstruction of spatial thermal gradient encoded in thermosensory neuron AFD in *Caenorhabditis elegans*.
Tsukada Y., Yamao M., Naoki H., Shimowada T., Ohnishi N., Kuhara A., Ishii S., Mori I.
Journal of Neuroscience 36(9), 2571-2581 (2016).
査読あり
2. Distinct predictive performance of Rac1 and Cdc42 in cell migration.
Yamao M., Naoki H., Kunida K., Aoki K., Matsuda M., Ishii S.
Scientific Reports, srep17527 (2015).
(1st and 2nd authors equally contributed.)
査読あり
3. Mathematical Modeling of Neuronal Polarization During Development
Naoki H.* and Ishii S.
Progress in Molecular Biology and Translational Science 123: 127-41 (2014).
査読あり

4. 細胞移動のシステム同定
本田直樹, 山尾将隆, 石井信
生体の科学 65 (5):468-469 (2014)
査読なし

〔学会発表〕（計件）

1. A Model of Orientational Organization of Microtubule in Axon and Dendrite during Polarization,
Katsuhiko Uegaki, Honda Naoki and Shin Ishii
Winter q-bio Meeting (2014 Big island in Hawaii)
2. 細胞内シグナルが制御する細胞移動のシステム同定
本田直樹
数学協働プログラムワークショップ「生命ダイナミックスの数理とその応用」
(2014年1月東京)
3. 神経軸索誘導における誘引的および忌避的走化性の数理モデル
本田直樹
数学協働プログラムワークショップ「生命ダイナミックスの数理とその応用」
(2014年12月東京)
4. Mathematical model for development of neural circuit based on chemotaxis of growth cone.
Honda Naoki
第25回日本数理生物学会年会 シンポジウム：Cellular and tissue dynamics in developmental biology (2015年8月京都)
5. 神経軸索の走化性と神経回路形成の数理的アプローチ
本田直樹
第121回日本解剖学会総会 シンポジウム：神経・血管の発生と新生：多角的アプローチで目指す未踏峰 (2016年3月福島)

〔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

<https://sites.google.com/site/biosystemdynamix/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田直樹

京都大学大学院 医学研究科 特定准教授

研究者番号：30515581

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし