

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26840077

研究課題名(和文) 集団運動する細胞組織の力学特性の推定

研究課題名(英文) Estimating mechanical properties of moving cell sheets

研究代表者

近藤 洋平 (Kondo, Yohei)

京都大学・情報学研究科・特定助教

研究者番号：00724444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,300,000円

研究成果の概要(和文)：動物の体が形づくられるとき、多数の細胞が協同して力を発し自らを変形させる。その際、生体組織自身の硬さ・粘さといった力学的性質が適切に制御されていることが必要である。そういった物理パラメータを見積もるため、組織を圧縮したり切断したりといった外的操作によって変形させて力学的応答を観測するという手法がしばしば用いられる。しかし、そのような外力は自発的な形づくりの過程を阻害してしまう。この問題を回避するため我々は、細胞組織のマルチフィジックスモデルを構築し、そのパラメータを顕微鏡動画データにもとづき統計学的に推定するという手法を提案し、培養細胞シートを用いてその有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：Measurement of biophysical parameters of living tissues such as rigidity often requires exogenous manipulation on the tissues, but such a manipulation perturbs spontaneous morphological processes undesirably. Here, we developed a non-invasive statistical method to estimate biophysical parameters. Our strategy is to model the tissue as a continuum mechanical system, and to use time-lapse imaging data of tissue dynamics in order to compute the maximum likelihood estimates of model parameters. We validated our method on epithelial spreading of Madin-Darby canine kidney cells, a well-known model system for collective migration.

研究分野：生物物理学

キーワード：組織力学 逆問題 時系列解析

1. 研究開始当初の背景

我々人間を含む動物の体の形がつくられる際、多くの細胞が協同して組織の変形を起こす。ここで、物体の変形とは一般に「物体に作用する力」と「物体の力学特性(硬さ・粘さなど)」によって決まることを考えれば、生体の中で起こる形態の形成を予測し制御するためには、この2つの要素を定量化し、その上でそれがどのように細胞シグナルによって制御されているかを知る必要がある。

研究開始当初、前者の変形を引き起こす「力」については、測定・推定する手法が豊富に整備されつつあった。しかし一方で、後者の「力学特性」を定量する手段は乏しかった。組織を圧縮・切断し、それに対する応答を見るところは成果を既に成果を挙げていたが、それらは細胞組織に対して外部から力学的操作を加えるため、生体の自発的な力生成・形態形成を阻害してしまうものであった。

2. 研究目的

そこで本研究では、外部から圧縮・切断といった力学操作を加えるかわりに、生体組織の自発的な力発生と変形の情報を用いて、非破壊的に力学特性を推定する手法の開発を目指した。

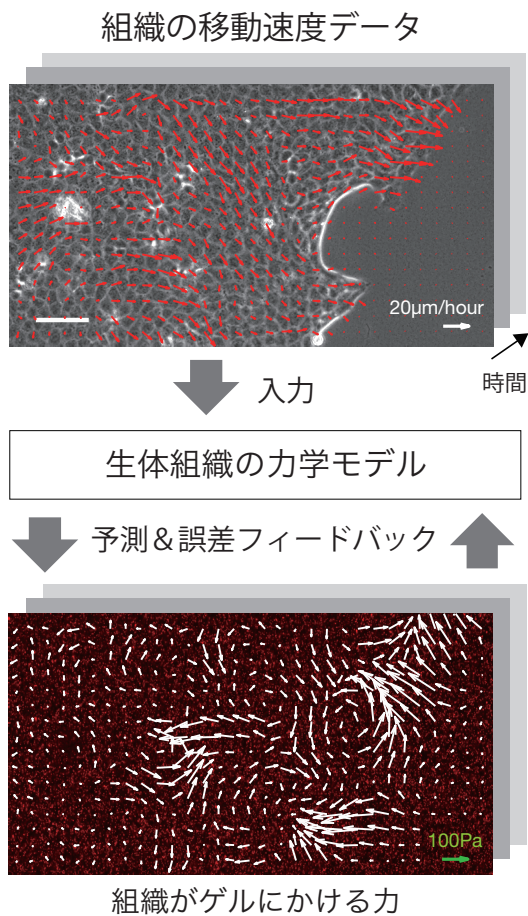


図1

3. 研究の方法

「生体力学特性の非破壊的推定」のための戦略は、生体組織を連続的な物質としてモデル化し、そのパラメータを組織変形および力の時空間データにもとづき最尤推定するというものである。推定アルゴリズムは、地球科学や天気予報の分野で広く利用されている「データ同化」の方法論にもとづき設計した。

また、本手法の検証のために、多細胞形態形成の生物物理学的研究におけるモデル系として広く使用されているイヌ腎臓上皮由来する培養細胞(以下ではMDCK細胞と呼ぶ)を用いた。この細胞は柔らかなゲルの上で培養可能であるため、透明なゲルの中に蛍光ビーズを埋めることによって細胞がゲルにかかる力を可視化することができる。一方組織変形は一般的な位相差顕微鏡によって観測することができる。これらのデータは推定アルゴリズムへの入力として利用される(図1を参照)。

4. 研究成果

(1)

MDCK細胞シートを膨張し続ける2次元の弾性体としてモデル化した。同時に、前節で述べた、蛍光ビーズを用いて生体組織が発する力を測定する過程そのものも力学的にモデル化し、細胞シートのモデルと組み合わせた。この複合モデルのパラメータをデータから推定することで、生体組織の力学特性の推定が達成される。しかしその推定値の信頼性はもちろん、モデル化がうまくいっているかどうかにも依存する。そこで、力学モデルの現象に対する適合性を定量化する方法として、「力予報精度」を提案した。これは組織変形データを推定したモデルに入力として与え、未来時点での組織が発する力の空間パターンを予測させるという設定から計算される。図2は、提案モデルと、対立する帰無仮説モデルの力予報精度を示している。天気予報などで馴染みがあるように、より遠い未来を予測するほど、その精度は急激に落ちていくが、それでも提案モデルの方が高い精度を保ち続けていることが見て取れる。

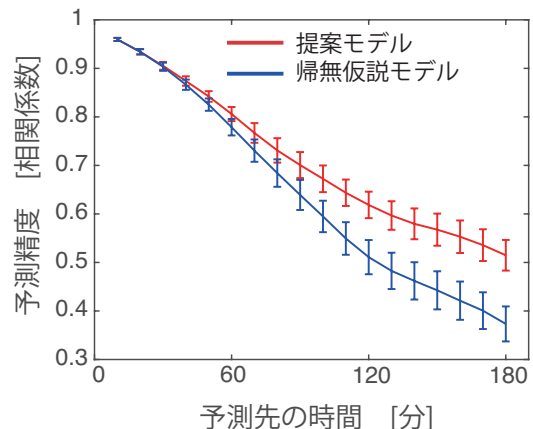


図2

(2) 項目(1)の結果によって有効性が示された力学モデルのパラメータのうち、特に重要なのは、「面内体積弾性率」と「面内せん断弾性率」である(図3を参照)。この2つの力学特性値について、本研究の手法における推定値と先行研究で得られた値を比較したところ、よく一致していることがわかった。また、さらに本手法の信頼性を高めるため、細胞運動に関与する分子モーターであるミオシンの活性を阻害するという条件下でも同様に実験・推定を行い、先行研究との整合性を確認した。本研究計画遂行中、他にも非侵襲な力学特性の推定値を得ることを目的とした研究が国内外で発表されたが、本手法は3次元組織を含む広い範囲の幾何学的形態に適用可能であることに特色がある。

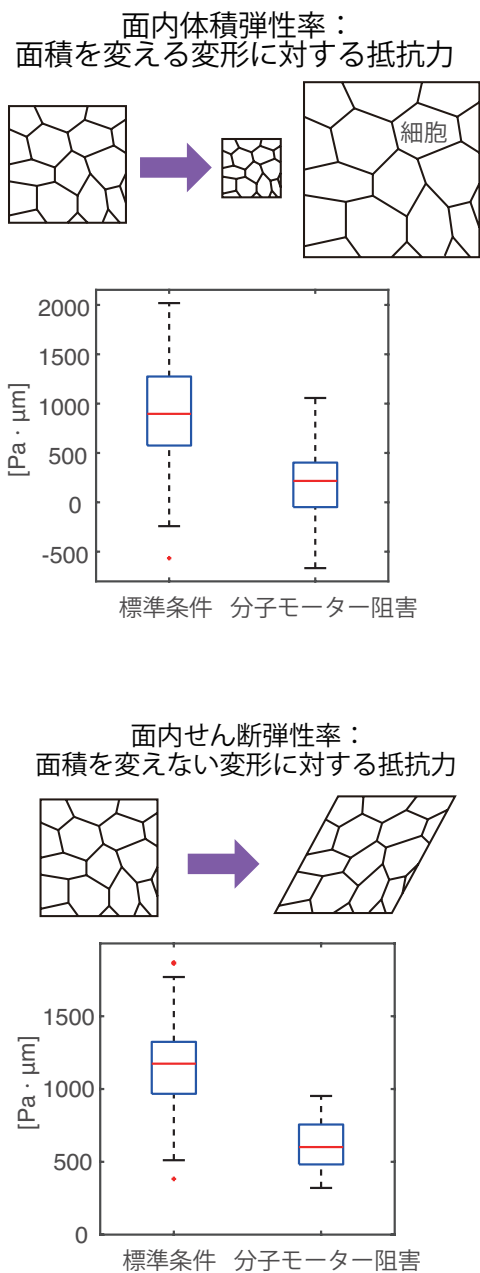


図3

もうひとつ本手法の特徴として、組織の力学と力観測過程の両方が分離してモデル化されている点があげられる。異なる力観測過程を同じ枠組みの中で扱うことができる。これは新たな力観測手法が次々に開発・改良されている現状を考えれば、望ましい性質である。今後はオルガノイド研究など、より複雑な組織・臓器への応用が期待される。

(3) 提案手法の強みとして項目(2)の後半で述べた、任意の領域形状に適用できるという点を生かし、創傷治癒モデル組織における力学特性の空間変化の定量を行った。具体的には、組織を小さい領域に分け、各領域で独立に本手法を適用し推定を行った(図4上部参照)。このモデル系においては細胞の発する力は創傷位置からの距離に強く依存することが知られているが、その力に応答する力学特性は比較的一様であることが見て取れる。これを確認するために創傷位置からの距離毎に結果をまとめた(図4下部参照)。上記の空間一様性は、Andrew Harrisらの実験結果によって間接的に示唆されていたが、本手法によって初めて明示的に確認された。

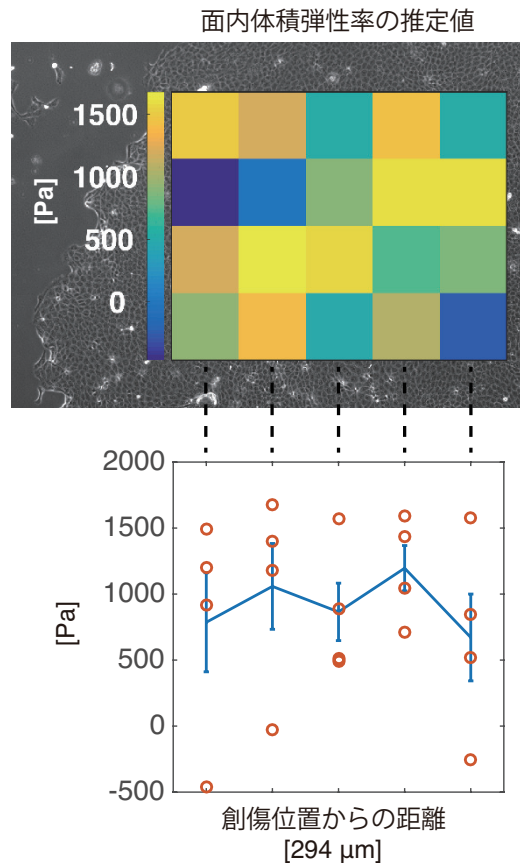


図4

(4) 本研究のモデル系である MDCK 細胞シートにおいて、細胞内シグナル分子である ERK キナーゼの活性が波として伝播し、組織運動を促

進していることが最近発見された。この現象は後に生体内の上皮組織でも確認され、創傷治癒やガンの浸潤のメカニズムとの関連から興味を持たれていた。そこで本研究では、発展的な目標として組織力学と ERK キナーゼの活性との間の力学-化学相互作用の解明を目指していた。このために、力学-化学相互作用を取り込んだモデルについてもパラメータ推定手法を設計・適用したが、推定されたパラメータ値の精度が低く、有用な結果は得られなかった。これは各細胞へのシグナル入力、どのように処理され運動を引き起こすかについての定量的理解が不足しており、モデルそのものの信頼性が低いことが一因と考えられた。そこでより単純なモデル系である細胞性粘菌を題材とした理論研究を行った。細胞性粘菌は、「走化性」と呼ばれる、免疫細胞が化学物質の検知によって病原体を追跡する性質のモデル系として興味を持たれ、詳しく研究されている。結果として、最近のいくつかの実験結果を時空間リスケーリングという概念のもとで統一的に説明するという一定の成果を挙げることができた。さらに、しかしこの観点からの動物細胞運動のより深い理解は、今後の課題として残っている。

#### 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1件)

① 神野 圭太、近藤 洋平、Rescaling of Spatio-Temporal Sensing in Eukaryotic Chemotaxis、2016年、PLoS ONE、査読有11(10): e0164674、<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164674>

[学会発表] (計3件)

① 近藤 洋平、青木 一洋、石井 信、Characterizing tissue rheology of moving cell sheets by a data assimilation approach、第37回分子生物学会、2014年11月25日～2014年11月27日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

② 近藤 洋平、Inference for the mechanics of moving cell sheets、第53回日本生物物理学会年会、2015年9月15日、金沢大学角間キャンパス (石川県・金沢市)

③ 近藤 洋平、青木 一洋、石井 信、Passive measurement of epithelial rigidity during collective cell migration、International Conference on Systems Biology、2016年9月27日、バルセロナ (スペイン)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 洋平 (KONDO, Yohei)

京都大学・大学院情報学研究科・特定助教

研究者番号：00724444

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

( )