

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05861

研究課題名（和文）多細胞組織に立体形状が作られる力学原理の数理

研究課題名（英文）Mathematical and Mechanical principles of the formation of three-dimensional shapes in multicellular tissues

研究代表者

井上 康博（Inoue, Yasuhiro）

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：80442929

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 54,700,000円

研究成果の概要（和文）：生物の器官が作られる形態形成において、細胞個々には能動的・受動的な力作用が生じ、組織変形が現れる。本研究では、上皮の形態形成の力学を理解することを目的に、細胞の力学的ダイナミクスを捉える数理モデルとして、3Dバーテックスモデルを開発し、発生現象の解析に応用した。これにより、力学的な擾乱に対して形態形成がロバストに進む仕組み、遺伝子発現レベルの場の区分けから上皮組織の立体化が生じる仕組み、上皮組織の折り畳みを生み出す力学的な仕組みを明らかにした。これらの研究を通じ、形態形成の仕組みの解明には、細胞レベルの力学を捉えることが重要であることを提示し、発生生物学領域における力学分野を大きく発展させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物の形ができる原理の解明は基礎生物学の最重要課題の一つである。この課題では、3Dの形態形成を扱うため、形の変化を記述する力学の観点から発生現象を捉える必要があったが、その理論的手法は確立していなかった。本研究では、細胞個々の力学を3Dで捉える手法として、3Dバーテックスモデルを確立し、実際の発生現象の解析に応用することで、これまで、遺伝子発現レベルの場の区分け（2D情報）からは読み取れなかった形態形成の力学的な因果関係を明らかにした。これまで、物理学や機械工学の範疇と考えられていた力学を、基礎生物学の領域に展開したことにより、形態形成の仕組みに関して、新たな理解が得られるようになった。

研究成果の概要（英文）：In tissue morphogenesis, individual cells generate forces that exert on other cells. Tissue deformations are driven by those forces. In this study, to understand the dynamics of epithelial morphogenesis, we developed a mathematical model (3D vertex model) that captures cell mechanical behaviors and applied it to the analysis of the morphogenesis. We reveal that there is a mechanical role to proceed morphogenesis robustly in response to mechanical perturbations, a mechanism by which 3D formation of epithelial tissue arises from spatial pattern of gene expression at multicellular level, and a mechanism by which epithelial tissue folds spontaneously. Through these studies, we proposed the importance of understanding mechanics at the cellular level, and greatly developed mechanics on morphogenesis as an academic discipline.

研究分野：計算生体力学

キーワード：形態形成 上皮組織 多細胞力学 数理モデル シミュレーション 計算力学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物の器官・組織の立体形状が作られる形態形成の過程では、細胞集団に遺伝子発現レベルの異なる場の区分け(空間的パターン)が生じ、各パターンにおいて細胞の機能的な変化が誘起される。細胞個々には、能動的・受動的な力の作用が生じ、それらが集積した結果、組織には、圧縮のひずみエネルギーが蓄積される。ひずみエネルギーの蓄積は、力学的に不安定な状態を作り出し、わずかな細胞形状の変化によっても、座屈に代表される組織の大変形が生じる。器官発生においては、ひずみエネルギーの蓄積する領域や大変形のトリガーとなる細胞形状が適切に制御されることで、組織の3D化に必要な変形様式のみが顕在化すると期待される。

細胞シートの立体的な形は、個々の細胞が生み出す力が、細胞シートに曲げ・ねじり・座屈などの面外変形を引き起こすことにより形成される。2Dパターンから、どのようにして、面外変形が生じるのか、2Dパターンと3D形状はどのように関連しているのか、これらは、未だ解決されていない基礎生物学の問題である。

この問題を解く鍵は力学にあり、細胞の形状と力の集積を3次元的に捉えることが必要不可欠である。そこで、我々は、前新学術領域(秩序形成ロジック・公募班)において、細胞個々の発生するローカルな力の集積から細胞シートの組織変形をシミュレーションできる3Dバーテックスモデルを開発してきた。

2. 研究の目的

本研究では、器官・組織の立体形状が作られる力学原理のひとつを明らかにすることを目的とする。研究目的を効率的に達成するため、下記の3段階の到達目標を設け、研究計画を策定・遂行する。

(1) 3Dバーテックスモデルの計算対象を、実際の発生現象に対応させ、モデルの検証と改良を行う。これにより、次の2段階、3段階の到達目標へつなげる準備を完成する。

(2) 2Dパターンからの面外変形による組織の立体化シミュレーションを3Dバーテックスモデルにより行い、2Dパターンから3D形状への基本変形モードを明らかにする。

(3) 3Dバーテックスモデルの計算対象を、より複雑なマクロな3D形態形成に対応させ、上皮折り畳み形成のシミュレーションに適用し、上皮組織の折り畳み形成における細胞活動の力学的役割を明らかにする。

3. 研究の方法

以下の(丸括弧)番号は、「2. 研究の目的」の各項目に対応する。

(1) 当新学術領域・計画班の上野グループと共同研究を行い、実際の形態形成の観察・実験結果との比較により、3Dバーテックスモデルの検証および改良を行う。数理側でのモデル検証には、シミュレーション上で、細胞活動の人為的な変更(モデルパラメータ値の変更)を試行し、結果がどのように変化するかといった擾乱への応答を、実験結果との比較により評価する。

検証の確度を上げるためには、同様の人為的な変更が実際の実験系においても可能である必要がある。上野グループでは、アフリカツメガエル胚を用いて、多様な擾乱実験と定量的な観察に豊富な経験を有しており、モデル検証に優れた系が提供可能である。さらに、上野グループが研究対象としていた神経管形成過程をシミュレーションで扱うことにより、単にモデルの検証に留まらず、神経管形成において重要となる力学的な発見を行い、基礎生物学の観点からも新たな理解が得られることが期待される。

(2) 上皮組織の陥入は、前項(1)の神経管形成にも見られるように、器官の立体化には欠かせない基本的な面外変形である。上皮組織には、頂底極性と呼ばれる細胞極性が存在し、あたかも、紙の表裏のように、上皮組織の表裏(頂端面・基底面)を構成する。この細胞極性の存在により、上皮組織の陥入には、2つの可能性が生じる。(表面側に凸となる陥入、あるいは、裏面側に凸となるよう陥入)

上皮器官においては、表裏に対応した陥入が選択されることが、眼や消化管などの上皮系器官としての機能発現において、重要となる。この陥入方向の決定を検討するため、細胞の能動的な力発生である頂端面収縮の空間的パターン(2Dパターン)と面外への陥入方向(3D形状)との関係を、3Dバーテックスモデルを用いて、シミュレーションで解析を行う。

(3) 上皮組織の形態形成のシミュレーションを、より実際の力学的条件に即して行うため、3Dバーテックスモデルのさらなる改良を行う。本研究では、器官の立体形状が形成される過程を扱うため、面外変形に対する力学的な条件を新たに考慮する。形態形成において上皮組織は、周りの組織との接触や細胞外基質との接着が存在する。これにより、上皮組織は自由に面外方向へ変形できない。つまり、周囲の物理的な存在により、変形拘束されている。この変形拘束を、周囲組織等からの上皮組織に作用する復元力(面外変形に対する)としてモデル化し、面外変形の変形による立体形状の形成への影響を検討する。

4. 研究成果

以下の(丸括弧)番号は、「2. 研究の目的」の各項目に対応する。

(1)

これまでに開発してきた3Dバーテックスモデルを実際の発生現象の解析に適用し、数理モデルの検証を行った。さらに、検証したモデルを用いて、仮想的な数値実験による予測とこれを受けた新しい実験による検証を繰り返すサイクルにより、形態形成における細胞活動の力学的役割について、重要な知見を得ることができた。以下に、その成果を概説する。

まず、3Dバーテックスモデルの検証として、実験結果から想定される作業仮説を数理モデル化し、シミュレーションと実験の比較を行った。対象に選んだアフリカツメガエルの神経管形成に関して、作業仮説として、3つの細胞活動(細胞伸長、頂端収縮、細胞移動)の協調が重要であると想定された。そこで、これらの細胞活動を3Dバーテックスモデルで表し、シミュレーションを行った結果、3つの細胞活動の協調により、神経管形成が説明されることが確認された。

次に、数理モデルの確度をさらに検証するため、新しい実験デザインをシミュレーションから提案した。実験では実施されていなかった細胞伸長と頂端収縮の阻害条件のシミュレーションを行い、細胞形状や組織形状の変化を予測した。対応する阻害実験を計画班・上野グループにおいて新規に実施し、検討した結果、シミュレーションとの定量的な一致が確認された。これにより、数理モデルの信頼性がさらに強化されるとともに、基盤とした作業仮説の信頼性も向上した。

最後に、神経管形成の過程に隠された細胞活動の力学的役割の抽出を試みた。実験では実施が困難な条件のもとに、シミュレーションを行うことで、現象のエッセンスをクリアに抽出できる可能性がある。一例として、基底側の弾性率が異なるシミュレーションを様々に試したところ、細胞伸長が伴う場合のみ、神経管は、周囲の物理特性には依らずに、ほぼ同一の形状となることが明らかとなった。つまり、細胞伸長の力学的役割の1つとして、周囲からの力学的な摂動に対する神経管形状の堅牢性の実現が期待された(図1)。

このように、3Dバーテックスモデルを用いることで、作業仮説の妥当性は、数理的に検証可能となり、さらに、当初の研究構想では想像もしなかったような物理的な特徴や役割、意義への気づきが得られた。

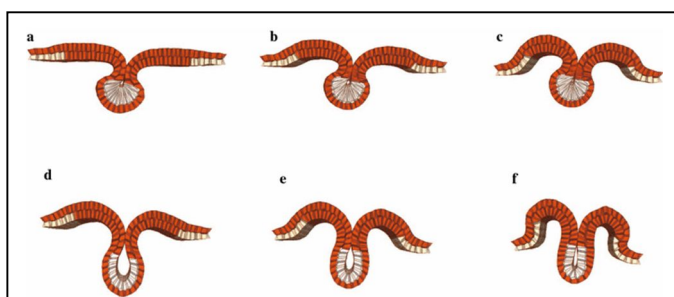


図1 神経管形成における細胞伸長によって、基底側の弾性を高くしても、同一形状の神経管が安定に作られる(a~c)。これは発生が堅牢に進むための重要な力学的役割である。一方、細胞伸長がない場合、神経管はゆがんだ形状となる上、その形は基底側の弾性の違いに応じて変化してしまう(d~f)。文献より転載(CC-BY4.0)

(2)

上皮陥入は、形態形成における組織変形の基本モードのひとつであり、平坦な上皮シートから3次元の形状が作られる際に必須となる。陥入は、収縮細胞の空間的なパターンに従い生じるが、その空間的なパターンにより、どのように組織変形が生じるのかは、十分に理解されていない。本研究では、成長組織に見られる陥入において、頂端収縮の細胞配置に関する空間的なパターンの力学的役割を3Dバーテックスシミュレ

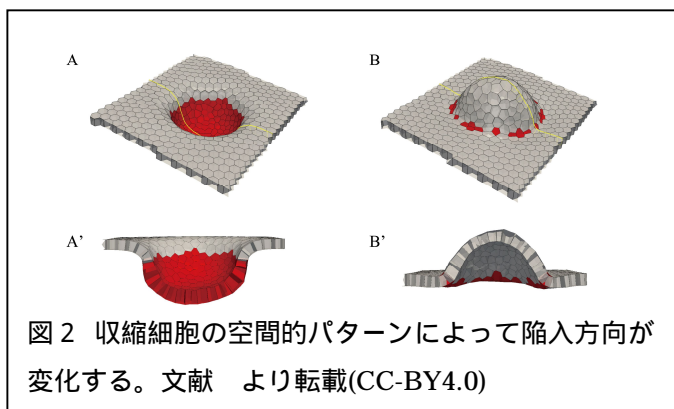
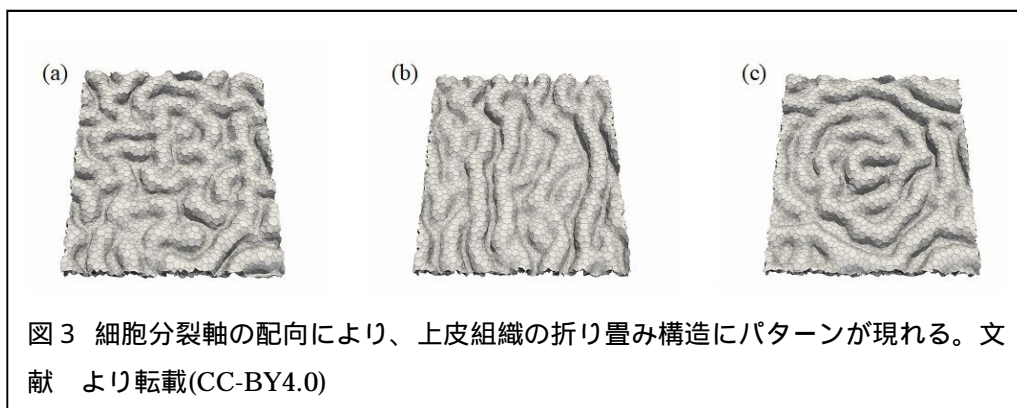


図2 収縮細胞の空間的なパターンによって陥入方向が変化する。文献より転載(CC-BY4.0)

ーションにより検討した。その結果、細胞増殖と頂端収縮は、それぞれ、変形の大きさと位置を規定することが明らかとなり、陥入方向は、収縮細胞の空間的パターンに依存することがわかった(図2)。さらに、頂端収縮作用をもたらす二つの異なる分子機構(頂端面における表面張力による収縮、および、線張力による収縮)を考慮すると、たとえ同一の空間的パターンにおける頂端収縮であったとしても、陥入方向は、これら分子機構の違いに応じて、異なる可能性があることがわかった。これらの結果を考察することにより、陥入時の大変形には、細胞増殖によるひずみエネルギーの蓄積が原因であること、陥入方向と陥入位置の決定には、くさび形状の細胞配置が重要であること、どの細胞がくさび形状となるかは、頂端収縮の分子機構を踏まえて空間的パターンから予測可能であること、が示唆された。

(3)

昆虫の外骨格の原基は、特徴的な折り畳みのパターンを持つ上皮組織である。昆虫が幼虫からサナギへと成長する過程で、この折り畳まれた原基が展開されることにより、昆虫の外骨格の三次元形状が形成される。計画班・近藤グループにより、この三次元的な外骨格の形状は、すでに原基の特徴的な折り畳みパターンにコードされていることが明らかとされている。本研究では、このような特徴的な折り畳みパターンの形成機構の可能性の1つを3Dバーテックスモデルによるシミュレーションにより、示唆した。原基形成では、上皮組織が他の組織に囲まれているため、細胞増殖は限られた空間の中で進行する。そこで、細胞の力学的挙動に基づいた組織変形を表現した3Dバーテックスモデルを用いて、この限られた空間内での細胞分裂が上皮組織の折り畳みに与える影響を検討した。シミュレーションの結果、細胞分裂軸の向きは、異なる折り畳みパターンを引き起こすのに十分であること(図3)また、限られた空間によって面外変形の抑制の度合いが、折り畳みの間隔の決定に重要であることが示唆された。



<引用文献>

Inoue Y, Suzuki M, Watanabe T, Yasue N, Tateo I, Adachi T, Ueno N. Mechanical roles of apical constriction, cell elongation, and cell migration during neural tube formation in *Xenopus*. *Biomech Model Mechanobiol*. 2016;15(6):1733-1746. doi:10.1007/s10237-016-0794-1

Inoue Y, Watanabe T, Okuda S, Adachi T. Mechanical Role of the Spatial Patterns of Contractile Cells in Invagination of Growing Epithelial Tissue, *Dev Growth Differ*. 2017;59(5):444-454. doi: 10.1111/dgd.12374

Inoue Y, Tateo I, Adachi T. Epithelial Tissue Folding Pattern in Confined Geometry, *Biomech Model Mechanobiol*. 2020;19(3):815-822. doi: 10.1007/s10237-019-01249-8

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Jung Wonyeong, Fillenwarth Luke A., Matsuda Atsushi, Li Jing, Inoue Yasuhiro, Kim Taeyoon	4. 巻 16
2. 論文標題 Collective and contractile filament motions in the myosin motility assay	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 1548 ~ 1559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9sm02082a	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 Inoue Yasuhiro, Tateo Itsuki, Adachi Taiji	4. 巻 19
2. 論文標題 Epithelial tissue folding pattern in confined geometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomechanics and Modeling in Mechanobiology	6. 最初と最後の頁 815 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10237-019-01249-8	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 Matsuda Atsushi, Li Jing, Brumm Peter, Adachi Taiji, Inoue Yasuhiro, Kim Taeyoon	4. 巻 116
2. 論文標題 Mobility of Molecular Motors Regulates Contractile Behaviors of Actin Networks	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2161 ~ 2171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.04.018	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 Shindo Asako, Inoue Yasuhiro, Kinoshita Makoto, Wallingford John B.	4. 巻 446
2. 論文標題 PCP-dependent transcellular regulation of actomyosin oscillation facilitates convergent extension of vertebrate tissue	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 159 ~ 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2018.12.017	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 Adachi Haruhiko, Matsuda Keisuke, Niimi Teruyuki, Inoue Yasuhiro, Kondo Shigeru, Gotoh Hiroki	4. 巻 152
2. 論文標題 Anisotropy of cell division and epithelial sheet bending via apical constriction shape the complex folding pattern of beetle horn primordia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mechanisms of Development	6. 最初と最後の頁 32 ~ 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mod.2018.06.003	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 Inoue Yasuhiro, Watanabe Tadashi, Okuda Satoru, Adachi Taiji	4. 巻 59
2. 論文標題 Mechanical role of the spatial patterns of contractile cells in invagination of growing epithelial tissue	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 444 ~ 454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12374	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 Matsuda Keisuke, Gotoh Hiroki, Tajika Yuki, Sushida Takamichi, Aonuma Hitoshi, Niimi Teruyuki, Akiyama Masakazu, Inoue Yasuhiro, Kondo Shigeru	4. 巻 7
2. 論文標題 Complex furrows in a 2D epithelial sheet code the 3D structure of a beetle horn	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13939-1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-14170-w	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 Yasuhiro Inoue, Makoto Suzuki, Tadashi Watanabe, Naoko Yasue, Itsuki Tateo, Taiji Adachi, Naoto Ueno	4. 巻 15
2. 論文標題 Mechanical roles of apical constriction, cell elongation, and cell migration during neural tube formation in Xenopus	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biomechanics and Modeling in Mechanobiology	6. 最初と最後の頁 1733-1746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10237-016-0794-1	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11件(うち招待講演 4件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Kentaro Morikawa, Yasuhiro Inoue
2. 発表標題 Mathematical modeling of epithelial folding with cell proliferation depending on the curvature of the tissue
3. 学会等名 5th Computational Chemistry Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺章太郎, 井上康博
2. 発表標題 組織スケールのミオシン収縮ケーブルによる上皮陥入シミュレーション
3. 学会等名 日本機械学会第32回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋梧 等, 井上 康博, 安達 泰治
2. 発表標題 発生過程の組織変形における細胞集団運動の数理モデル
3. 学会等名 日本機械学会第31回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuhiro Inoue
2. 発表標題 Folding pattern formation in a confined epithelial cell sheet
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuhiro Inoue
2. 発表標題 Mechanochemical interplays in multicellular dynamics during tissue morphogenesis
3. 学会等名 The Second Workshop on Microscopic Simulation and Cell Experiments for Biological Systems (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuhiro Inoue
2. 発表標題 Three-dimensional vertex simulation of multicellular dynamics for understanding mechanics of epithelial tissue morphogenesis
3. 学会等名 Bioimage Informatics Conference 2016 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasuhiro Inoue
2. 発表標題 Multiscale interplay between intracellular and multicellular dynamics in tissue morphogenesis
3. 学会等名 2017 Cellular and Molecular Bioengineering Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井上康博, 立尾樹, 安達泰治
2. 発表標題 上皮折りたたみの多細胞力学シミュレーション
3. 学会等名 日本機械学会・第29回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井上康博, 安達泰治
2. 発表標題 3Dパーテックスモデルによる上皮折り畳みシミュレーション
3. 学会等名 RIMS研究集会 第12回生物数学の理論とその応用-遷移過程に現れるパターンの解明に向けて(招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Yasuhiro Inoue, Tadashi Watanabe, Taiji Adachi
2. 発表標題 Spatially Patterns of Constricting Cells Determine the Direction of Out-of-plane Deformation of Epithelial Sheet
3. 学会等名 iCeMS International Symposium: Hierarchical Dynamics in Soft Materials and Biological Matter (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 渡辺 惟史, 井上 康博, 安達 泰治
2. 発表標題 力学的な活動を行う細胞群の空間パターンが組織陥入に及ぼす影響
3. 学会等名 日本機械学会第27回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 井上康博 第6章担当(監修:理化学研究所 中村特別研究室、中村振一郎、牧野内昭武、安達泰治、杉本学)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 近代科学社	5. 総ページ数 336
3. 書名 23の先端事例がつなぐ計算科学のフロンティア	

1. 著者名 井上 康博	4. 発行年 2017年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 239
3. 書名 実験医学増刊 生命科学で使える はじめての数理モデルとシミュレーション (担当: 第4章・11)	

1. 著者名 井上康博, 安達泰治 (分担執筆)	4. 発行年 2015年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 332
3. 書名 メカノバイオロジー: 細胞が力を感じ応答する仕組み(曾我部正博編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都大学教育研究活動データベース https://kyouindb.iimc.kyoto-u.ac.jp/j/1S2qY</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