

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05105

研究課題名（和文）筋細胞群知能：昆虫変態時の筋肉リモデリングにおける相転移的動態の理解

研究課題名（英文）Muscle cell swarm intelligence: Understanding phase transition-like dynamics of muscle remodeling during insect metamorphosis

研究代表者

梅津 大輝 (Umetsu, Daiki)

大阪大学・大学院理学研究科・講師

研究者番号：60620474

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 32,200,000円

研究成果の概要（和文）：鳥や魚などの生物群集で見られる「群知能」現象と同様に、細胞社会においても、動き回る細胞集団が決まった構造を構築する過程が存在する。本研究では、ショウジョウバエの変態時に見られる筋細胞の「群れ」の動態をモデルとして、ヘテロな細胞集団が秩序構造を構築する原理を明らかにすることを目指した。生体内の細胞動態の定量的解析と数理モデルを用いたシミュレーション解析から、大小2種類の遊走細胞が入り混じったヘテロな集団が異種細胞間の相互作用によって網目状のパターンを出現させることを示した。限られた数のエージェントが広い領域を覆うパターンを作る仕組みの一端を明らかにし、工学的な応用へ向けた洞察を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの細胞遊走研究では、外界からの誘引/忌避因子や基質の硬さに対する応答など、細胞が刺激に対して決定論的に動きを制御する仕組みが研究対象であった。一方で、群としての挙動には確率論的な側面が大きく、従来の細胞遊走研究とは性質が異なることから、本研究を通じて得られた成果は細胞生物学などの関連分野に新規の視点をもたらす。さらに、自律分散制御原理の理解から工学分野への波及効果も期待される。また、筋組織は癌の致死性の要因、免疫系との関連など、生命維持に非常に重要な生理的役割を持つことが近年の研究で明らかになってきている。将来的に筋組織機能の改善を介した新たな医療技術の開発に役立つことも期待される。

研究成果の概要（英文）：Similar to the phenomenon of "swarm intelligence" observed in animal swarms such as birds and fish, there is a process in cellular societies where migratory cell populations build ordered structures. This study aimed to elucidate the principles by which heterogeneous cell populations form ordered structures, using the dynamics of muscle cell "swarms" observed during the metamorphosis of *Drosophila* as a model. Through quantitative analysis of cell dynamics in vivo and simulation analysis using mathematical models, it was demonstrated that heterogeneous groups of two sizes of migrating cells intermingle and create a reticular pattern through interspecies interactions. This revealed part of the mechanism by which a limited number of self-propelling agents maximize the area that they cover, providing insights for engineering applications.

研究分野：細胞生物学

キーワード：群知能 ヘテロ性 細胞遊走 組織リモデリング 骨格筋 形態形成 自己組織化 ライブイメージング

## 1. 研究開始当初の背景

細胞集団による生物組織の形態形成原理の解明には、上皮組織のように細胞同士が物理的に接着して一つの連続体としてふるまう過程が注目され、数多くの優れた研究成果が得られている。一方、バラバラに遊走する細胞集団による形態形成過程を支配する原理については理解が遅れている。鳥や魚などの生物群集においては、集団全体がまるで知能を持った一つの個体であるかのように振る舞う「群知能」現象が見られる。同様に、細胞社会においても、動き回る細胞集団が決まった構造を構築する過程が存在する。しかし、細胞の集団内にどの程度「群知能」的動態が見られるのかはほとんど明らかになっていない。

昆虫の変態時には大規模な組織リモデリングが起こる。特に、完全変態する昆虫では幼虫期と成虫期の運動様式が全く異なるため、運動を司る筋肉は大規模にリモデリングされる。筋繊維は遊走する筋芽細胞の融合によって形成される。従って、ショウジョウバエの筋肉リモデリングは、細胞集団の群知能的動態を検証するための有用なモデルとなる。

独自の長時間ライブイメージング技術によって筋組織のリモデリング過程を詳細に解析した結果、私たちの研究グループは以下に説明する新規の現象を発見した。幼虫腹部の筋繊維は一旦バラバラにはなるものの、生じた断片はほとんど消失することなく動き回り続け、最終的には全く異なる網目状のパターンを再構築し、成虫の筋繊維形成に寄与する(未発表)。興味深いことに、始めは様々な速度で動く筋断片(以降、便宜的に筋細胞と呼ぶ)が混在したヘテロな集団であるが、やがて全体的に動きが遅く均一になるとともに、秩序的な整列パターンを形成する。この過程は、分子の液体から固体への相転移を想起させる。本研究では、この筋細胞集団の相転移的な動態に注目する。

## 2. 研究の目的

筋細胞一つ一つは高い知能を持たないことは明らかである。従って、筋細胞間の相互作用がいつの間にか統制された動態を生み出すようなカラクリが存在するものと考えられる。細胞の集団としての知能的な振る舞いがゲノムにどのように書き込まれ、どのように創発されるのだろうか。そこで、本研究では、ショウジョウバエの変態時に見られる筋細胞の「群れ」が創発する相転移的な動態をモデルとして、ヘテロな細胞集団が自己組織化的に秩序構造を構築する原理を明らかにすることを目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) 相転移的動態の記載的解析

- ① 筋細胞の細胞群の相転移的な動態の性質を明らかにするために、秩序の高さを定量化する Persistent homology 解析を導入し、経時的な変化を定量的に捉える。
- ② 個々の細胞の動態の定量的解析によって、細胞の性質のばらつきがどの程度あるのかを定量的に解析し、集団内のヘテロジェネイティと動態の関係性を明らかにする。

### (2) ヘテロジェネイティの役割と群知能アルゴリズムの解明

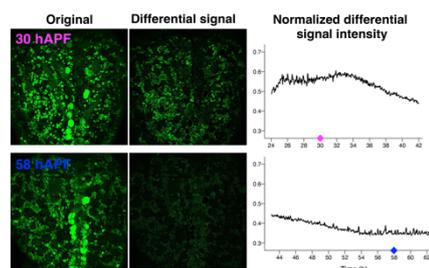
計画班 A01 が構築した自己駆動粒子系の数理モデルを起点に群知能アルゴリズムを考察する。(1)の結果をもとにヘテロジェネイティを数理モデルに組み込むことで、パターン安定化への影響を検証する。これらは研究期間を通じて A01 班との双方向的な連携により進める。

## 4. 研究成果

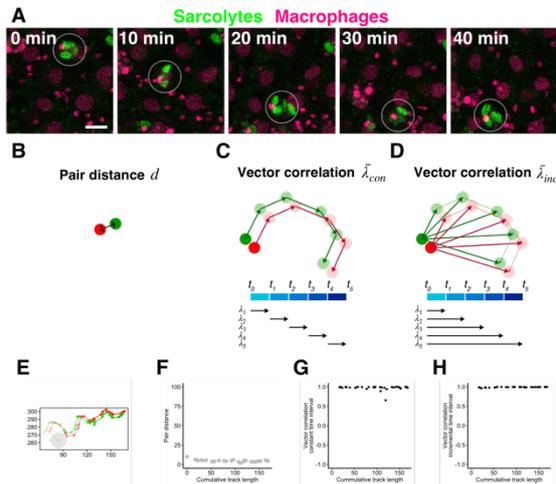
### (1) 2種の細胞の協調的遊走の定量的解析手法の確立

まず、相転移的な筋細胞の動きの変化を捉える簡便な方法を確立した(図1)。動き回る筋細胞の駆動力を明らかにするために、アクチン細胞骨格系の分子を筋細胞で阻害したが、筋細胞の動きにほとんど影響がなかった。そこで、細胞自律的に遊走を駆動

図1 筋細胞の速度の定量  
フレームごと重なりが大きければ大きいほど差分は小さくなることを利用して、蛍光シグナルの差分から速度を近似的に定量する手法を開発した。



していない可能性を検討することにした。遊走細胞であるマクロファージが関与しているかどうかを検証するために、マクロファージの核と筋細胞をそれぞれ異なる蛍光を発する蛍光タンパク質で標識し、動きを解析した。マクロファージの核と筋細胞がお互い近接したまま長い距離を移動する様子が観察されたことから、マクロファージが筋断片を動かしていることが示唆された。このことを定量的に示すために、2種の異なる細胞が協調的に遊走することを評価する手法を開発し、その方法の妥当性を示した(図2)。また、遺伝学的にマクロファージを除去した個体を作成し、筋細胞を可視化したところ、小さな筋断片がほとんど生じず、野生型で見られる



ような無数の筋細胞の動きが見られなかった。このことから、筋繊維由来のバラバラな筋細胞はマクロファージによって生成されることが示唆された。詳細なイメージング解析から、マクロファージが筋繊維を少しずつかじり取って筋断片を生成したのちにそのまま細胞内に保持している様子が観察された。したがって、マクロファージは筋細胞を生成し、さらにそれらを運搬する役割を果たしていることが示唆された。

図2 筋細胞とマクロファージの協調的な動きの解析手法  
A) 筋細胞(緑)とマクロファージ(マゼンタ)の同時標識画像をもとにしたトラッキング。B-D) 2種の細胞の動きの評価手法。E) 協調的な動きの一例。F-H) 評価指標を用いた解析結果。

## (2) 細胞動態の定量的解析

短時間の細胞トラッキングの解析結果から、マクロファージが動く速さにはばらつきがあり、集団全体としてのヘテロ性が認められていた。しかし、短時間の解析では、そのばらつきが個々の細胞の時間変化を反映しているのか、細胞ごとの速度のばらつきを反映しているのかが明らかでなかった。そこで、長時間の細胞トラッキングを行い、細胞ごとの速度の時間変化を解析したところ、細胞の動く距離に対する速度の時間変化は小さく、長い時間軸ではほぼ一定の速度で動いていることが明らかとなった。興味深いことに、それぞれの細胞は固有の速度を維持していた(図3)。このことから、集団全体としての細胞遊走速度のヘテロ性は細胞ごとの個性を反映していることが示唆された。

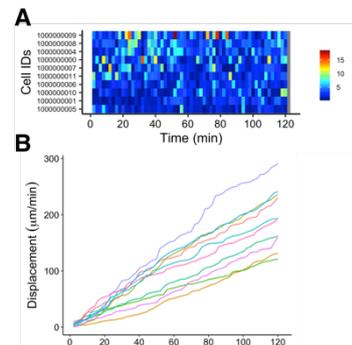
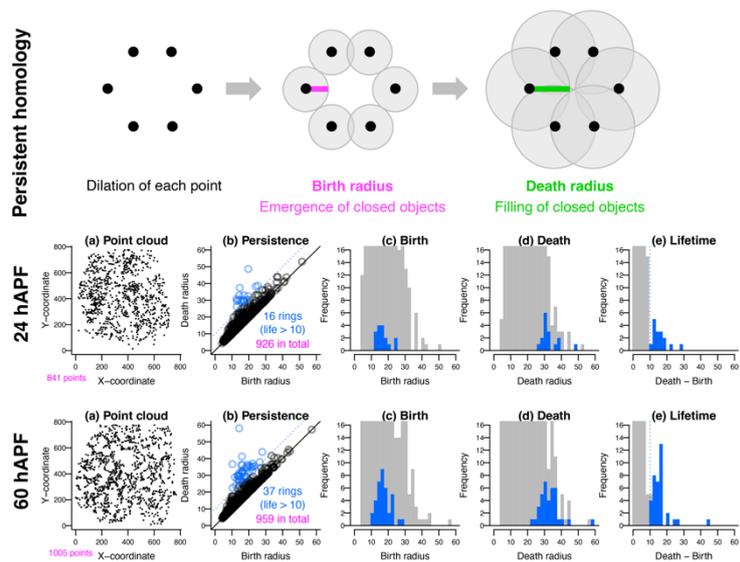


図3 マクロファージの速度のヘテロ性  
A) マクロファージの瞬時速度のヒートマップ  
B) 個々のマクロファージの移動した積算距離

## (3) 秩序パターンの定量的解析手法の評価と確立

細胞の動きの解析と並行して、自己駆動粒子の群れが形成する秩序パターンの定量的解析手法の確立を目指し、いくつかの方法を検討した。筋細胞の空間的配置情報をもとに、各種クラスター解析、Persistent homology (PH) 解析、フーリエ変換解析のそれぞれを用いて網目状の空間配置パターンの数値化を試みた。その結果、PH解析を用いることで、特徴的な大きさの空隙部を検出し、その出現頻度を評価することができることが示された(図4)。この解析から、典型的な空隙部は30 μm ほどの半径を持った円形



に近い形をしていることが示された。

図4 Persistent homology 解析による網目パターンの特徴の評価  
 上段) Persistent homology 解析の原理、及び birth radius と death radius の説明図。下段) 蛹化後 24 時間と 60 時間における筋細胞の空間パターンのパーシステント図と各指標のヒストグラム。

#### (4) 数理モデルによる様々なシナリオの検証

(3)の解析で示されたような空隙部を持った空間配置パターンがどのようにしてできるかについて、数理モデルを用いて二つの仮説を検証した。一つ目の仮説では、マクロファージ間の接着に注目し、空隙部が安定的に存在する条件を模索した。このモデルでは、(A)筋細胞を取り込んだマクロファージは他のマクロファージとの接着力が増す、(B)マクロファージ同士の接着はすでに接着している部分の近傍では他のマクロファージとの接着力が低下する、という条件を考慮した上で、生体組織で見られるのに近いパターンが現れるかどうかを解析した。その結果、 $30\mu\text{m}$ ほどの半径を持った空隙が生じるものの、それらは初期状態から存在し、かつ、時間経過とともに出現と消失を繰り返しており安定して存在はしないことが示された。この空隙の大きさは筋細胞密度に依存적であり、時間経過に依存しない。網羅的なパラメーター検索から、マクロファージ間の接着のみを考慮したモデルでは生体で見られるパターンの再現が難しいことが示された。次に、半径  $30\mu\text{m}$ ほどの大きさを持つ、別な種類の細胞の存在を仮定してシミュレーションを行った。この時、マクロファージ同士、マクロファージと大きな細胞間の相対的な接着力を変えてシミュレーションを行った。その結果、生体で見られるパターンの出現にはマクロファージと大きな細胞間の比較的強い接着が重要であることが示唆された。

#### (5) 脂肪体細胞の存在

半径  $30\mu\text{m}$ ほどの大きさを持つ細胞の存在を仮定することによって生体内のパターンを容易に再現できる。そこで、過去の文献を調査したところ、実験に用いている蛹の組織内では脂肪体細胞と呼ばれる半径  $30\mu\text{m}$ ほどの細胞が動き回っているという知見を得た。そこで、筋細胞と脂肪体細胞をそれぞれ別の蛍光タンパク質で可視化したショウジョウバエ系統を作製し、生体内で観察した。その結果、筋細胞の網目状の配置パターンに対して相補的に脂肪体細胞が分布していることが明らかとなった。以上から、網目状のパターンは大小の異なる細胞種の混ざり合いによって出現することが示された。さらに、脂肪体細胞が出現して動き始める時期は、マクロファージが動き始めた直後であることが明らかになった。

#### (6) 数理モデルによるヘテロ性の意義についての検証

ここまでの結果から、生体内の筋細胞がつくる秩序パターンは筋細胞そのものではなく、筋細胞を取り込んだマクロファージが原動力となり、脂肪体細胞と呼ばれる大きな細胞との物理的相互作用によって形成されることが示された。さらに、マクロファージはそれぞれ固有の速度で遊走しているというヘテロ性が認められた。そこで、このヘテロ性や異種細胞間の相互作用について、一連のリモデリング過程における意義について検証した。このために、筋細胞、マクロファージ、脂肪体細胞の3種の細胞の生体内における配置を模した状態を初期条件に用いてリモデリング過程のシミュレーションを構築した。このプラットフォームを用いたシミュレーション解析から、マクロファージの速度にヘテロ性があることによって筋細胞をより効率よく均一に配置し、安定化することができることが示された。

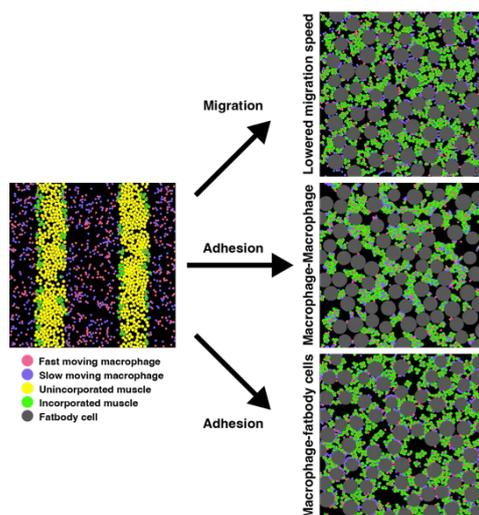


図5 数理モデルを用いたシミュレーション解析  
 初期条件(左)では幼虫筋繊維に見立てた2本の帯状に筋細胞が分布。マクロファージの移動速度の低下(右上)、マクロファージ同士の接着上昇(右中)、マクロファージと脂肪体細胞の接着上昇(右下)を考慮した場合の筋細胞の配置パターン。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Umetsu Daiki, Yamaji Satoshi, Wakita Daiki, Kano Takeshi                                       | 4. 巻<br>35              |
| 2. 論文標題<br>Quantitative Analysis of the Coordinated Movement of Cells in a Freely Moving Cell Population | 5. 発行年<br>2023年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Robotics and Mechatronics   | 6. 最初と最後の頁<br>931 ~ 937 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.20965/jrm.2023.p0931  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Nagai Hiroki, Nagai Luis Augusto Eijy, Tasaki Sohei, Nakato Ryuichiro, Umetsu Daiki, Kuranaga Erina, Miura Masayuki, Nakajima Yuichiro | 4. 巻<br>58                    |
| 2. 論文標題<br>Nutrient-driven dedifferentiation of enteroendocrine cells promotes adaptive intestinal growth in Drosophila                          | 5. 発行年<br>2023年               |
| 3. 雑誌名<br>Developmental Cell   | 6. 最初と最後の頁<br>1764 ~ 1781.e10 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.devcel.2023.08.022   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Daiki Umetsu   | 4. 巻<br>2540          |
| 2. 論文標題<br>Sample preparation and imaging of the pupal Drosophila abdominal epidermis. | 5. 発行年<br>2022年       |
| 3. 雑誌名<br>Methods in Molecular Biology   | 6. 最初と最後の頁<br>335-347 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/978-1-0716-2541-5_17                               | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件／うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝                                |
| 2. 発表標題<br>昆虫の筋組織リモデリングにおけるヘテロ細胞集団のライブイメージング解析 |
| 3. 学会等名<br>第46回 日本分子生物学会年会 シンポジウム (招待講演)       |
| 4. 発表年<br>2023年                                |

|                               |
|-------------------------------|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝               |
| 2. 発表標題<br>動き回る筋断片による筋組織リサイクル |
| 3. 学会等名<br>第10回定量生物学の会（招待講演）  |
| 4. 発表年<br>2022年               |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝                            |
| 2. 発表標題<br>昆虫の変態期における骨組織リモデリングのライブイメージング解析 |
| 3. 学会等名<br>第45回日本分子生物学会年会 ワークショップ（招待講演）    |
| 4. 発表年<br>2022年                            |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝                              |
| 2. 発表標題<br>昆虫変態時の筋組織リモデリングにおける細胞動態           |
| 3. 学会等名<br>第55回発生生物学会年会 フリースタイルワークショップ（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2022年                              |

|                                       |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝                       |
| 2. 発表標題<br>ショウジョウバエ骨格筋の再構築における筋断片の再集合 |
| 3. 学会等名<br>第44回日本分子生物学会年会             |
| 4. 発表年<br>2021年                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>梅津大輝                                  |
| 2. 発表標題<br>骨格筋リモデリングで見られる筋断片のシャッフルと再集合           |
| 3. 学会等名<br>日本数理生物学会, 企画シンポジウム 生物学・数理科学・ロボット工学の融合 |
| 4. 発表年<br>2021年                                  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

|   |
|---|
| ヘテロ群知能<br><a href="https://heteroswarm.org/">https://heteroswarm.org/</a> |
|---|

| 6. 研究組織                   |                       |    |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|