

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0081

研究課題名(和文) 定量データに立脚した四肢形態形成過程の力学モデルの構築

研究課題名(英文) Mechanical modeling of limb morphogenesis based on quantitative data

研究代表者

森下 喜弘 (Morishita, Yoshihiro)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：00404062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：応力依存的な上皮組織の成長を含む力学シミュレーションにより、実際に観察される肢芽形状の経時的変化を良く再現することに成功した。この結果は、四肢形態形成の決定に上皮組織の力学応答の重要性を示唆し、[Kida and Morishita, Finite Elem Anal Des, 2018]に掲載された。また、レーザーアブレーション実験、組織引張試験により、(i)肢芽上皮・間葉の残留応力、(ii)上皮組織による間葉組織形態への力学的拘束の有無、(iii)上皮組織内応力異方性、(iv)ヤング率を解析し、四肢形成における上皮組織の力学的役割を解明した[Kawamura et al., 投稿準備中]。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「我々人間を含む動物の形がどのように作られるか」という問題は長年未解決な、生物学における究極的な課題の1つである。この問いに答えるためには、形態学が行ってきた表現型の定性的な記述や分子生物学による関連遺伝子の同定のみでは不十分であり、真にプロセスを理解するためには、組織変形動態の定量や力学的解析が不可欠であることを本研究結果は示している。また形態形成の問題は、幹細胞を培養し複雑な3D形状を作り出す再生医学においても、形や大きさを自在に制御するという観点から深く関係する。同様のアプローチを多臓器に対して展開することで、各器官の形成機構解明にとどまらず器官間に共通した形態形成則の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in reproducing well the observed temporal change of the limb bud shape by mechanical simulations that include stress-dependent epithelial tissue growth. These results suggest the importance of the mechanical response of epithelial tissues in determining limb morphogenesis and were published in [Kida and Morishita, Finite Elem Anal Des, 2018]. In addition, laser ablation experiments and tissue tension tests revealed (i) residual stress within limb bud epithelium and mesenchyme, (ii) mechanical constraint on mesenchymal tissue morphology by epithelial tissue, (iii) stress anisotropy and (iv) Young's modulus of epithelial tissue. These results elucidated the mechanical role of epithelial tissue in limb morphogenesis [Kawamura et al., in preparation].

研究分野：発生生物学

キーワード：形態形成 力学モデリング

## 1. 研究開始当初の背景

「我々人間を含む動物の形がどのように作られるか」という問題は長年未解決な、生物学における究極的な課題の1つである。同時にこの問題は、ES細胞やiPS細胞を培養し複雑な3次元形状を作りだす再生医学においても、形や大きさを自在に制御するという観点から深く関係する。この問いに答えるためには、形態学が行ってきた表現型(外形)の定性的な記述や分子生物学による関連遺伝子の同定のみでは不十分であった。こうした情報のみでは、種固有の形態、あるいは種間や個体間の形態の違いに対する説明能力を持たないからである。形態ができる過程そのものに具体的に踏み込むためには、

(1) 組織変形動態の解明: 器官固有の形態が作られる過程で、いつ・どこで・どの程度、組織が成長・変形したか、そのすべてを数値的に明らかにすること。

(2) 組織力学の定量解析: 物体の変形を引き起こす直接的な原因は力であり、(1)で明らかとなった組織変形動態を引き起こす組織内応力分布・細胞物性の異方性を明らかにすること。

が必須であり、(1)と(2)で得られた変形と力に関する全情報を反映した力学モデルを構築し、想定される形態決定機構の検証と予測を行うことによって初めて形態形成メカニズムを定量的に論じることが可能となる。(1)の組織変形動態に関しては、研究代表者と連携研究者(名古屋大学鈴木孝幸助教)らによって、すでに詳細な解析が行われており、脊椎動物四肢発生過程におけるボリューム動態(体積成長の時空間パターン)と変形異方性(方向依存的伸長)の時空間パターンが明らかとなっている[Morishita and Suzuki, J. Theor. Biol., 2014; Morishita et al., Development, 2015]。本研究では形態形成メカニズムを理解するために必須となるもう片方の情報である、組織力学情報にフォーカスし、計測とモデリングの両アプローチで取り組む。

## 2. 研究の目的

上記の背景を受け、肢芽全体に渡る変形異方性に影響を与える候補因子として、本研究では肢芽上皮組織の力学に着目し、実験研究と理論研究から以下の課題に取り組んだ。

課題1: 肢芽上皮組織内の応力異方性と細胞形状分布

課題2: 肢芽上皮細胞の物性の定量

課題3: 連続体シミュレーションによる組織内応力分布の計算と予測

課題4: 体積成長と大変形を伴う超弾性体力学モデルの構築と応用

## 3. 研究の方法

課題1、2は実験的に取り組んだ。レーザーアブレーション実験により応力異方性を検出し、切り出してきた上皮組織に対する引張試験からヤング率の計算を定量する。また、発生中の肢芽から組織を切り出すことで、残留応力の有無や上皮組織による間葉組織形態の力学的拘束の有無を調べる。

課題3、4については、まず線形弾性体を用いたシミュレーションにより、上皮組織にかかる応力分布の異方性を計算・予測する。実験研究課題取得したデータと相関解析を行い、応力・物性の大域的な方向依存性の機構を解明する。シミュレーションのための肢芽形状はOptical Projection Tomographyによって計測された3D形状を用いる。その後、体積成長・大変形を伴う形態形成シミュレーションを行うために、超弾性体の理論を基盤とした力学モデルを構築する。最終的に、実験・理論研究課題で得られた情報を統合し、定量データに立脚した四肢形態形成過程の力学モデルを完成させる。

## 4. 研究成果

応力依存的な上皮組織の成長を力学モデルに適切に組み込み、シミュレーションすることで、実際に観察される肢芽形状の経時的変化を良く再現することに成功した。この結果は、四肢形態形成の決定に上皮組織の力学応答の重要性を示唆するもので、[Kida and Morishita, Finite Elements in Analysis and Design, 2018]として、国際誌に掲載された。

また、連携研究者である名古屋大学鈴木孝幸准教授との共同研究の下、肢芽組織切り出し実験、レーザーアブレーション実験、組織引張試験により、(i)肢芽上皮・間葉の残留応力、(ii)上皮組織による間葉組織形態への力学的拘束の有無、(iii)上皮組織内応力異方性、(iv)ヤング率(およびこれらのミオシン活性依存性)を解析し、四肢形態形成過程における上皮組織の力学的役割を解明した。結果は現在論文としてまとめており、近く投稿予定である[Kawamura et al., in preparation]。全期間での研究成果を総括すると、当初の目的をおおむね達成できたと判断する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 Naoki Kida and Yoshihiro Morishita	4. 巻 144
2. 論文標題 Continuum mechanical modeling of developing epithelial tissues with anisotropic surface growth	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Finite Elements in Analysis and Design	6. 最初と最後の頁 49-60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.finel.2018.03.001	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 Aiko Kawasumi-Kita, Daisuke Ohtsuka, Yoshihiro Morishita	4. 巻 440
2. 論文標題 Morphometric staging of organ development based on cross sectional images	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology	6. 最初と最後の頁 80-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtbi.2017.12.020	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5件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yoshihiro Morishita
2. 発表標題 Quantitative analysis and mechanical modeling for epithelial tissue morphogenesis
3. 学会等名 11th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology (Lisbon) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森下喜弘, 川住愛子
2. 発表標題 異種相同器官間の変形動態の比較解析
3. 学会等名 日本数理生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshihiro Morishita, Takayuki Suzuki, Hitoshi Yokoyama, Yasuhiro Kamei, Koji Tamura, Aiko Kawasumi
2. 発表標題 Quantitative and comparative analysis of tissue deformation dynamics for chick and Xenopus limb morphogenesis
3. 学会等名 18th International Congress of Developmental Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshihiro Morishita
2. 発表標題 Reconstructing 3D deformation dynamics for curved epithelial sheet morphogenesis from positional data of sparsely-labelled cells
3. 学会等名 JSMB2016
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshihiro Morishita
2. 発表標題 Reconstructing 3D deformation dynamics for curved epithelial sheet morphogenesis and attempts of tissue mechanical modeling
3. 学会等名 GFE-JSDB joint meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	鈴木 孝幸  (Suzuki Takayuki)  (40451629)	名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授    (13901)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	木田 直樹 (Kida Naoki) (00732554)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員  (82401)	