

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06219

研究課題名（和文）接着力の差を並び替えに変換して自律的に組織をつくるメカニズム

研究課題名（英文）Identification of critical molecular links that regulate cell sorting and morphogenesis

研究代表者

富樫 英 (Togashi, Hideru)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：90415240

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：接着分子であるネクチンは、同じネクチン間よりも異なるネクチン間の結合力が強い。異なるネクチンを発現している2種類の細胞が出会うと、相互に割込みを繰り返し、モザイクパターンに並ぶ。このとき、割り込みに働く2つの接着面では、従来のモデルに反して、一方の接着面だけに接着分子や細胞骨格が偏って存在するだけでなく、接着面の構造が異なることを明らかにした。また、細胞選別を表現するための新しい数理モデルを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、細胞間の接着力の違いにもとづく形態形成の素過程のメカニズムの一端が明らかになり、新しい細胞選別モデルを提示することができた。これによって、形態形成メカニズムの理解が進み、細胞が自律的に様々な組織をつくるという生物学の根本原理の解明に貢献できる。また、組織や器官で細胞の配置の異常に伴う様々な疾患の理解にもつながる。本研究で得られた知見をもとに、生体内の組織を構成する多様な細胞間の相互作用に対する理解を深めれば、より複雑な細胞パターンとともに組織構造を自律的に作らせることも容易になるだろう。

研究成果の概要（英文）：Nectins, a family of cell adhesion molecule, can engage in homophilic and heterophilic trans-interactions; however, their heterophilic trans-interactions are much stronger than their homophilic trans-interactions. When cells expressing different types of nectins were cocultured, they arranged themselves into a mosaic pattern, which was the result of repetitive intercalations between these cells. In this research, we found that heterophilic trans-interactions of nectins lead the asymmetric distribution of cadherin-catenin complex to only one junction of the two heterotypic junctions, which drive cell intercalation in the mosaic pattern formation.

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞間接着 細胞骨格 細胞選別

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

組織を形成する細胞を生きたままバラバラにして再集合させると、元の組織と同じような構造を自ら作り出す(細胞選別現象)。生物の器官や組織では、機能の異なる多様な細胞がそれぞれ正しい位置に配置されることで機能が発揮されるため、組織の中で細胞がどのように配置されるのかといった原理の解明は、生物学の重要な課題である。申請者はこれまでに接着分子ネクチンに着目し、異なるネクチンを発現する細胞を混合すると、同じネクチン間のホモフィリックな結合よりも異なるネクチン間のヘテロフィリックな結合が強いという性質によって、細胞が自らモザイクパターンに並ぶという新しい細胞選別の基本原理を見出した(Togashi et al., Science, 2011; Togashi, Front. Cell Dev. Biol., 2016; Togashi and Katsunuma, Exp. Cell Res., 2017)。聴覚や嗅覚に働く感覚上皮では感覚細胞と支持細胞の2種類の細胞が規則的なモザイク様の細胞パターンに並ぶが、この過程にネクチンの細胞選別が重要であることを申請者は示してきた。細胞がモザイクパターンに並ぶ細胞運動の過程を詳細に見ると、同じネクチンを発現している細胞どうしの接着面に、異なるネクチンを発現している細胞が割り込む。組織、細胞のいずれの場合でも、この割り込みが繰り返されることで、モザイクパターンが作られる(図1)(Katsunuma et al., J. Cell Biol., 2016)。さらに、この割り込みを伴う並び替え運動は、聴覚や嗅覚に働く感覚器の細胞の並び方を制御していただけでなく、適切な位置に細胞が並べない場合には感覚器が正しく機能しないことを明らかにしている。しかし、隣接する細胞ごとに異なる接着力と親和性の違いが、どのようにして細胞に認識され、細胞骨格を介した並び替え運動に変換され、秩序だった細胞パターンと組織構造を作り出すのかは、明らかにされていない。

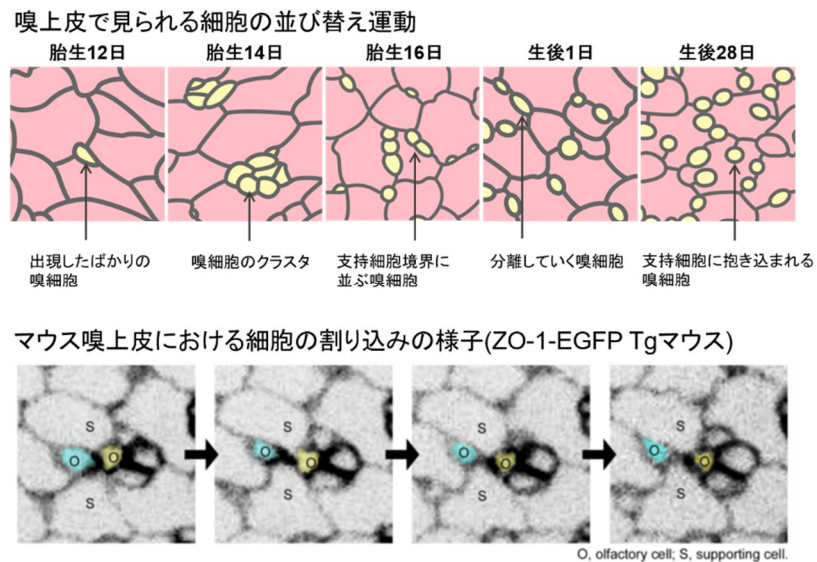


図1. 2種類の細胞が割り込みを繰り返すことでモザイクパターンがつけられる

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、様々な組織の中で多種類の細胞を自律的、かつ正確に配置する原理を解明することである。そのために培養細胞を用いた細胞選別実験を行い、接着力の差によって駆動される並び替え運動の分子機構を解明する。従来、細胞選別は *Differential adhesion hypothesis* (差次接着仮説) によって、細胞間の接着力の差と細胞のランダムな運動を仮定することで、細胞の並び方が説明されてきた。しかし、このモデルでは接着力の差がどのようにして細胞の動きを制御し、細胞の並び方を決めるのかは、知ることが出来ない。本研究では、細胞接着と細胞骨格の連携に働く分子に着目し、細胞間の接着力の違いを細胞辺ごとの伸長と収縮による運動に変換させる機構を明らかにすることで、細胞選別と形態形成の新たなモデル創出を目指す。細胞選別において、接している細胞ごとの接着力の強弱の違いが接着面の収縮性の違いに変換されると考えれば、ネクチンによるモザイク様の細胞選別の例だけでなく、異なるカドヘリンを発現させた細胞が分離、選別する例も説明することができ、新しい細胞選別モデルの創出につながる。

### 3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、ネクチンとカドヘリンを発現する培養細胞系による細胞選別実験をモデルに、細胞骨格や接着分子のライブイメージングをメインにした上で、細胞生物学や生化学の手法を用いて以下の研究を進めた。

#### (a) 細胞間の接着力の差異を並び替え運動に変換する分子機構の解明

#### (b) 新しい細胞選別モデルの創出

(a)では、モザイク様の細胞選別で見られる並び替え運動において、接している細胞ごとの接着力の変化をライブで可視化するために、カテニン-EGFPを発現するMDCK細胞を用いて細胞選別実験を行う。カテニンにはネクチン、カドヘリンとアクチン骨格がそれぞれ連携するために必要なドメインがそれぞれ存在することが知られている。また、張力に応じてピンキュリン、ミオシンとも相互作用するドメインがある。そこで、カテニンの活性調節ドメインに様々な変異を導入した分子をMDCK細胞に導入し、安定発現株を作成する。同時にこれらの細胞にはネクチン-1あるいは-3を導入した上で、細胞選別実験の際に識別するためのEGFPまたはmCherry、あるいはカドヘリンやアクチン、ミオシンにEGFPまたはmCherryを融合した分子を導入しておく。これらの細胞株を使って、並び替え運動を人為的に起こす実験(モザイク形成実験)を行い、

細胞間の割り込みを比較、検討した。(b)では研究協力者とともに、マウス嗅上皮や聴覚上皮の発生過程における細胞間の接着力の变化とパターンの変化をもとにして、新しい数理モデルの構築を検討した。

#### 4. 研究成果

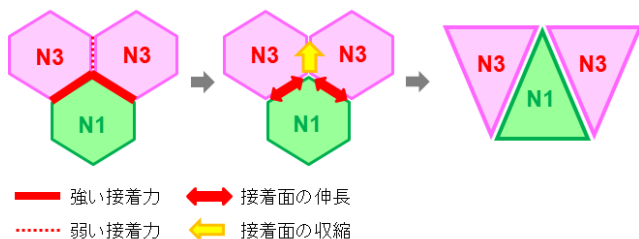
##### (a) 細胞間の接着力の差異を並び替え運動に変換する分子機構の解明

培養細胞を用いた人為的なモザイク形成モデルを使い、割り込み過程におけるカテニンと F-アクチンの局在の変化をライブイメージングにより解析した。その結果、割り込みの際にはカドヘリン・カテニン複合体が従来のモデルで考えられていた局在とは全く異なることが明らかになった(図 2)。すなわち、割り込みの際にカテニンはヘテロフィリックに接する 2 辺の接着面のうち 1 辺だけに一過的に強い局在を示すが、もう 1 辺には弱い局在しか示さないという偏った局在を示した(図 2 下)。また、ネクチンやカドヘリンなどの接着分子自身も同様に非対称な分布を示し、これに対応して非対称な接着構造が見られた。このような接着力の偏った分布は、従来の接着親和性の違いに基づいたモデルだけでは説明が出来ないことから、ネクチンやカドヘリン等の接着分子の働きについて未知のメカニズムが働いていることを示唆しており、ネクチンが接着分子や細胞骨格偏りを介して割り込みに関与することがわかった。

##### (b) 新しい細胞選別モデルの創出

研究協力者らとともに、従来のモデルでは表現することが出来ない曲線などの多様な形態を含む上皮構造を再現するための新たな数理モデル「界面ネットワーク運動モデル」を構築した。マウス嗅上皮や聴覚上皮の発生過程における細胞間の接着力の变化とパターンの実測値から、このモデルによって、嗅上皮や聴覚上皮の細胞の特徴的な形態や挙動をよく近似できることがわかった(投稿中)。

「従来」の細胞の割り込みを説明するモデル



「新しく」申請者が見出した観察結果

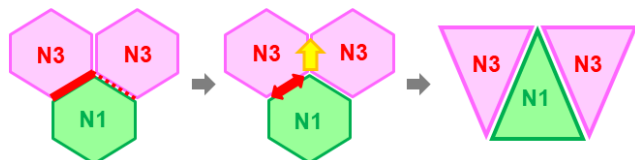


図 2 (上)異なるネクチンによる細胞の割り込みを説明する「従来」のモデル  
(下)新しく申請者が見出した割り込みの観察結果。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Rhudaina ZMohammad, Hideki Murakawa, Karel Svadlenka, and Hideru Togashi.  | 4. 巻<br>-               |
| 2. 論文標題<br>A level set-based approach for modeling cellular rearrangements in tissue morphogenesis   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Research Square  | 6. 最初と最後の頁<br>-         |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし  | 査読の有無<br>無              |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する            |
| 1. 著者名<br>Jose A Carrillo, Hideki Murakawa, Makoto Sato, Hideru Togashi, Olena Trush   | 4. 巻<br>474             |
| 2. 論文標題<br>A population dynamics model of cell-cell adhesion incorporating population pressure and density saturation  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of theoretical biology   | 6. 最初と最後の頁<br>14-24     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.jtbi.2019.04.023  | 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>該当する            |
| 1. 著者名<br>Wakako Kato, Miki Nishio, Yoko To, Hideru Togashi, Tak Wah Mak, Hidetoshi Takada, Shouichi Ohga, Tomohiko Maehama, Akira Suzuki  | 4. 巻<br>24              |
| 2. 論文標題<br>MOB1 regulates thymocyte egress and T cell survival in mice in a YAP1 independent manner  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Genes to Cells   | 6. 最初と最後の頁<br>485-495   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1111/gtc.12704   | 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>Miki Nishio, Yousuke Miyachi, Junji Otani, Shoji Tane, Hirofumi Omori, Fumihito Ueda, Hideru Togashi, Takehiko Sasaki, Tak Wah Mak, Kazuwa Nakao, Yasuyuki Fujita, Hiroshi Nishina, Tomohiko Maehama, Akira Suzuki | 4. 巻<br>33              |
| 2. 論文標題<br>Hippo pathway controls cell adhesion and context-dependent cell competition to influence skin engraftment efficiency  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>The FASEB Journal  | 6. 最初と最後の頁<br>5548-5560 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1096/fj.201802005R   | 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>該当する            |

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>S. Kuno, S. Katsunuma, A. Suzuki, and H. Togashi.  |
| 2. 発表標題<br>Asymmetric distribution of cadherin-catenin complex drives cell intercalations in nectin-dependent mosaic cellular pattern formation |
| 3. 学会等名<br>53rd Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists  |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>富樫 英  |
| 2. 発表標題<br>異なるネクチンの細胞間相互作用は、カドヘリン・カテニン複合体の偏在を作り出すことで2種類の細胞のモザイクパターンを形成する |
| 3. 学会等名<br>第72回 日本細胞生物学会大会（招待講演）   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|                                    |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                    |
| 2. 発表標題<br>自己組織的な極性形成によるモザイクパターン形成 |
| 3. 学会等名<br>細胞極性研究会                 |
| 4. 発表年<br>2020年                    |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Hideru Togashi  |
| 2. 発表標題<br>Cellular interactions and molecular dynamics in mosaic cellular pattern formation |
| 3. 学会等名<br>第43回 日本分子生物学会年会（招待講演）   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                          |
| 2. 発表標題<br>細胞間接着の親和性とモザイクパターン            |
| 3. 学会等名<br>AIMaP研究集会 反応拡散系と実験の融合3 (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2020年                          |

|                                      |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                      |
| 2. 発表標題<br>細胞間接着の親和性と感覚組織のパターン形成     |
| 3. 学会等名<br>京都大学 第10回医学数物連携勉強会 (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2019年                      |

|                                 |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                 |
| 2. 発表標題<br>接着の偏在によるモザイク形成メカニズム  |
| 3. 学会等名<br>ソフトバイオ研究会2019 (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2019年                 |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>久野舟平、勝沼紗矢香、鈴木聰、富樫英                                       |
| 2. 発表標題<br>ネクチンのヘテロフィリックな相互作用によるモザイク様の細胞パターン形成では接着力と収縮力の偏りが割込みを駆動する |
| 3. 学会等名<br>第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会                     |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                        |
| 2. 発表標題<br>細胞間接着の親和性と感覚組織のパターン形成：生物的背景 |
| 3. 学会等名<br>京都駅前セミナー（招待講演）              |
| 4. 発表年<br>2019年                        |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                                  |
| 2. 発表標題<br>接着力の差を割り込み運動に変換してモザイク様の細胞パターンを作るメカニズム |
| 3. 学会等名<br>第91回日本生化学会大会（招待講演）                    |
| 4. 発表年<br>2018年                                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>富樫 英                          |
| 2. 発表標題<br>細胞間接着の親和性と細胞パターン形成            |
| 3. 学会等名<br>AIMaP研究集会「反応拡散系と実験の融合2」（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2019年                          |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>勝沼 沙矢香、富樫 英                                |
| 2. 発表標題<br>きこえを担う聴覚上皮の細胞配列の機能                         |
| 3. 学会等名<br>兵庫県立こども病院・理化学研究所生命機能科学研究センター第3回ジョイントシンポジウム |
| 4. 発表年<br>2019年                                       |

|                               |
|-------------------------------|
| 1. 発表者名<br>富樫 英               |
| 2. 発表標題<br>細胞間接着の親和性と細胞パターン形成 |
| 3. 学会等名<br>自己組織化研究会           |
| 4. 発表年<br>2018年               |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 |
|---------|---------|
|         |         |