

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16096

研究課題名（和文）上皮組織のミニマルな多細胞ユニットの力学制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Revealing the mechanism of mechanical regulation in minimal multi-cellular units of epithelial tissues

研究代表者

山本 尚貴（Yamamoto, Takaki）

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

研究者番号：30805338

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、多細胞生物の生命活動に不可欠である上皮組織の機能や構造がどのように維持されているかについての知見を深めることを目指した。具体的には、上皮細胞の力学的な性質が、どのように組織全体のダイナミクスに影響を与えるかを数理的手法を用いて、明らかにすることができた。さらに、細胞組織のライブイメージデータから、細胞同士の相互作用のルールを抽出する手法を機械学習を用いて提案し、マウスの皮膚組織における細胞間の相互作用のルールを同定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、上皮細胞の力学的性質の時間的なゆらぎが、上皮組織のダイナミクスに与える影響を理論的に調べ、これまで報告されていなかった上皮組織の性質を見つけることができ、多細胞組織に関する新たな生物物理学的な知見を得ることができた。また、本研究で開発した多細胞組織における細胞間の相互作用の推定手法は、様々な組織に対して適用可能であり、生物学の大きなテーマである細胞間相互作用の理解を推し進めるための一歩になった。

研究成果の概要（英文）：In this research, we aimed to understand how the functions and structures of epithelial tissues, which are essential for multi-cellular organisms, are maintained. We revealed how the mechanical properties of epithelial cells affect the tissue-level dynamics using a mathematical model of epithelial tissues. Furthermore, we proposed a machine-learning framework which probes the cell-to-cell interaction rules from the live-image data of tissues. Using the framework, we identified cell-to-cell interaction rules in the mouse epidermis.

研究分野：生物物理

キーワード：生物物理 上皮組織 メカノバイオロジー 機械学習 グラフニューラルネットワーク

1. 研究開始当初の背景

上皮細胞が隙間なく接着した細胞層である上皮組織は、多細胞生物の生命活動に不可欠であり、上皮組織の機能解明は生物学の重要な課題である。上皮細胞は、細胞の接触面の頂端側に局在するアクチン細胞骨格の活性を制御して、細胞同士が互いに力を及ぼし合うことで、単層構造を維持しながら、動的に互いの位置関係を変化させる。例えば、発生過程の上皮組織の変形は、細胞間の接触面の張力が大きくなることで接触面が収縮し、細胞同士の位置関係が組み換わることで可能となる。そのため、上皮組織の機能の理解のためには、上皮組織の動態を支配する細胞間の力学機構・相互作用を解明することが不可欠である。

本研究では、以下の(1)実験、(2)理論、(3)データ解析技術開発の3つの観点から、上皮組織の動態を支配する細胞間の力学機構・相互作用への理解を深めることを目指した。

(1) 実験

上皮組織における細胞間の力学機構・相互作用に関する先行研究では、細胞間の力の推定や、力生成・相互作用の関連分子(ミオシン、アクチンなど)の特定はされてきた。しかし、そのような関連分子が、どのように協同的に働くことで細胞が力を制御し相互作用しているかについての定量的な理解は十分に進んでいなかった。

特に、これまでは、*in vivo*、*in vitro*ともに百細胞を超えるような多細胞系で実験が行われてきたため、特定の隣接細胞間の相互作用の議論が困難であったと考えられる。そこで、(2)(3)の大量の細胞を同時に扱うようなトップダウン的なアプローチと相補的に、ボトムアップ的なアプローチとして、数細胞レベルの観察系において細胞間の相互作用を同定できるような実験系の構築が重要であると着想した。

(2) 理論

物理的観点からも、上皮組織が力学的に興味深い性質を示すことが、上皮組織の理論モデルにより示されてきている。具体的には、上皮組織の力学的な性質に関するパラメータに依存して、固体相から液体相へと転移することが理論的に予言されている [D. Bi, et al., Nat. Phys., 11, 1074 (2015)]。この転移は、統計量の分布が、ジャミング・ガラス転移で見られる分布に似ていることから、その関連が議論され、統計物理学の分野で注目を浴びている。

一方で、実際の上皮細胞の実験系では、モデルでは考慮されていない細胞分裂や、細胞に内在するゆらぎなどの摂動が存在しているため、既存の理論予測が成り立たない、もしくは、生体由来のゆらぎによる新規な動力学的な性質が現れる可能性が期待されていた。

(3) データ解析技術開発

上皮組織において、細胞同士がどのように生化学的・力学的に相互作用しているかを明らかにするためには、実験データから細胞間相互作用のルールを抽出する必要がある。しかし、ハイスループットな細胞プロファイリング技術や高解像度の顕微鏡技術を使用しても、問題の複雑性が高いことや、摂動実験の手法が限られていることから、細胞間相互作用のルールを同定することは未だに難しい。

2. 研究の目的

本研究では、(1)実験、(2)理論、(3)データ解析技術開発の3つの観点から、上皮組織の動態を支配する細胞間の力学機構・相互作用への理解を深めることを研究目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験

微細加工技術を用いて、数細胞をマイクロウェルに閉じ込め、上皮組織のミニマルな多細胞ユニットで、上皮組織を観察できる実験系を構築し、細胞間の力学的な相互作用の定量的な理解を目指した。

(2) 理論

上皮組織の動力学を記述する理論モデルであるバーテックスモデルを用いて、実験で観測されると予測される生体由来のゆらぎが、どのように上皮組織の動力学に影響を与えるかを調べた。

(3) データ解析技術開発

機械学習の枠組みであるグラフニューラルネットワーク(GNN)を用いて、多細胞系のライブイメージングにより得られるトラッキングデータから、多細胞ダイナミクスを支配する細胞間相互作用ルールを系統的に同定する計算手法を提案した。

4. 研究成果

(1) 実験

まず、細胞間の相互作用の推定を行うために、ボトムアップ的なアプローチとして、数細胞レベルで上皮構造が観察できる実験系の開発を試みた。具体的には、3細胞および4細胞が、上皮組織の力学的性質を決めるミニマルな多細胞ユニットであると考え、3細胞及び4細胞で、上皮組織としての性質を保つことができるマイクロウェルを構築することを目指した。

実際には、SU-8のモールド(理研 田中陽氏・田中信行氏に作製していただいた)を用いて、PDMSでできたマイクロウェル(直径50 μm 程度)を作製し、ウェルの内側をfibronectinで修飾することで細胞がウェル内に接着できるようにした。続いて、上皮細胞(MDCK)を、作成したPDMSマイクロウェル内で培養し、ライブイメージングを行った(Fig. 1)。すると、上皮細胞は、ウェルの側面に接着し、通常の上皮組織で見られる adherence junctionのような上皮構造を観察することができなかった(Fig. 1)。今後は、引き続き、マイクロウェルの作成方法の改善し、上皮組織様の構造がマイクロウェルでも観察できるように実験系を確立していく。

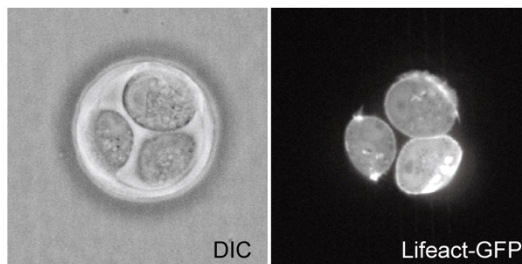


Fig.1 マイクロウェル (直径 ~ 55 μm , 高さ ~ 20 μm) 中での MDCK 上皮細胞の培養。

(2) 理論

上皮組織の数値モデルを用いて、本研究の実験で観察されると予測される細胞間の張力や接着力などの力学的な性質の時間的な変化が、上皮組織のダイナミクスにどのような変化を及ぼしうるかを明らかにし、上皮組織の力学的な性質と動的な性質の関係についての知見を得た。具体的には、二次元バーテックスモデルに張力の時間的なゆらぎの効果を導入し、張力ゆらぎの持続時間をパラメータとし、細胞の拡散ダイナミクスを調べた(Fig. 2, 3)。その結果、張力ゆらぎの持続時間が小さいときには、拡散係数が単調に増加し、持続時間が大きいときには単調に減少し、拡散係数が張力ゆらぎの持続時間に対して非単調に変化することを明らかにした(Fig. 3)。そして、張力ゆらぎの持続時間の小さい領域、大きい領域、それぞれで異なる拡散係数の振る舞いが発生するメカニズムを明らかにすることができた。これらの結果をとりまとめた論文は、論文誌に受理され、出版されている[T. Yamamoto, et al., *Soft Matter*, 18, 2168 (2020)]。

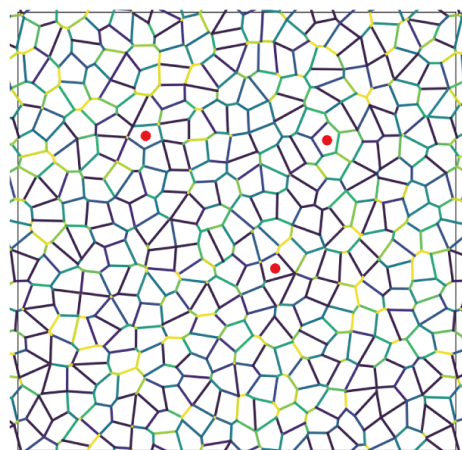


Fig.2 張力の時間ゆらぎを導入した2次元バーテックスモデルの数値計算のスナップショット。

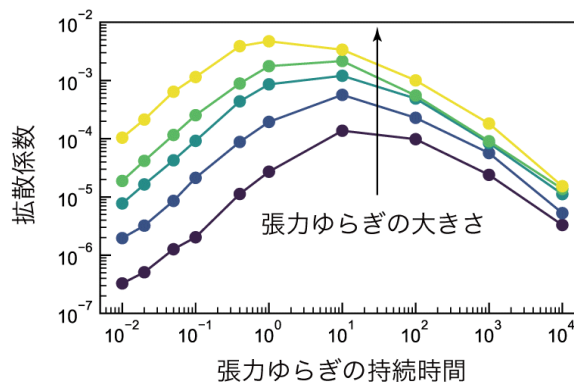


Fig.3 細胞の拡散係数 vs. 張力ゆらぎの大きさと持続時間 [T. Yamamoto, et al., *Soft Matter*, 18, 2168 (2020)]。

(3) データ解析技術開発

グラフニューラルネットワーク(GNN)を用いて、上皮組織を含む多細胞系のライブイメージングにより得られるトラッキングデータから、多細胞ダイナミクスを支配する細胞間相互作用ルールを系統的に同定する計算手法を提案した(Fig. 4)。

実際には、マウスの皮膚組織のライブイメージングデータ(Yale大学 Cockburn氏、Greco氏による実験)を用いて、細胞の系譜と隣接関係を表現する多細胞の時空間グラフを作成し、それらを GNN モデルの入力とすることで、細胞の未来の運命を予測することが可能な GNN モデルを構築した。さらに、得られた GNN モデルから、細胞間の時空間相互作用のルールを抽出することで、どのように細胞同士が相互作用することで細胞運命が決定されるかを明らかにした。また、

確立した手法をマウスの異なる部位の皮膚に対して適用することで、体の部位により、細胞運命の決定メカニズムが異なっていることを明らかにした [T. Yamamoto, et al., bioRxiv, 2021.06.23.449559 (2021)]。

本研究では、マウスの皮膚組織における細胞運命決定の問題を例題に手法を開発したが、本手法は、細胞間のシグナル伝達に関する情報を使用せずに、ライブイメージデータのみから相互作用ルールを抽出することができる汎用性の高い手法になっており、上皮組織においても細胞同士がどのように力学的な相互作用をしているかを調べるために強力な手法になると考えている。

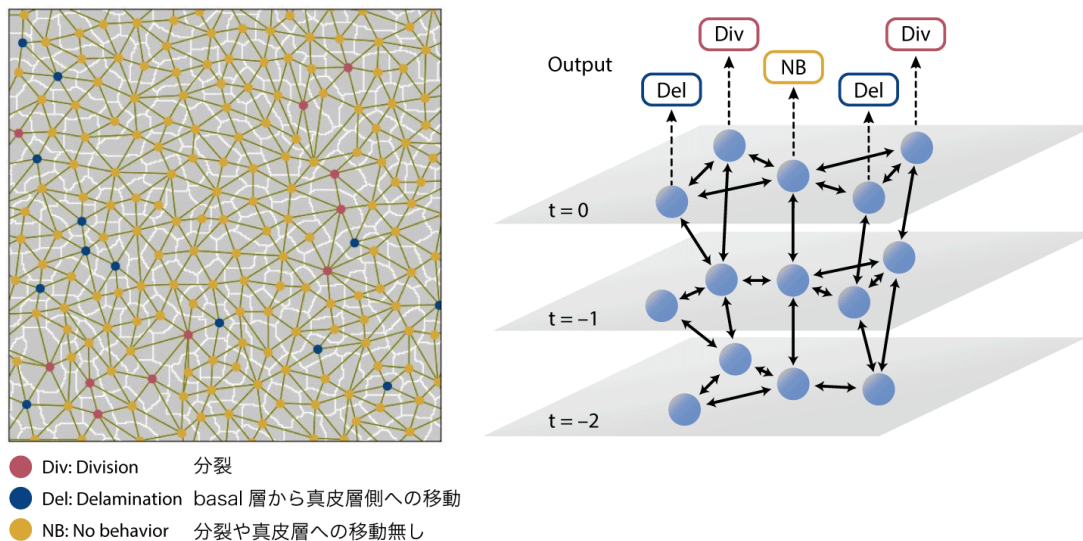


Fig.4 グラフニューラルネットワークを用いた多細胞組織における細胞間の相互作用ルールの推定。左: マウスの皮膚組織のライブイメージデータから作成したグラフ構造の例。右: ライブイメージデータから作成した時空間グラフの概念図 [T. Yamamoto, et al., bioRxiv, 2021.06.23.449559 (2021)]。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yamamoto Takaki, Cockburn Katie, Greco Valentina, Kawaguchi Kyogo	4. 巻 2021.06.23.449559
2. 論文標題 Probing the rules of cell coordination in live tissues by interpretable machine learning based on graph neural networks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.06.23.449559	査読の有無 無
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 該当する
1. 著者名 Yamamoto Takaki, Sussman Daniel M., Shibata Tatsuo, Manning M. Lisa	4. 巻 18
2. 論文標題 Non-monotonic fluidization generated by fluctuating edge tensions in confluent tissues	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 2168 ~ 2175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D0SM01559H	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 Saito Hiroko, Matsukawa-Usami Fumiko, Fujimori Toshihiko, Kimura Toshiya, Ide Takahiro, Yamamoto Takaki, Shibata Tatsuo, Onoue Kenta, Okayama Satoko, Yonemura Shigenobu, Misaki Kazuyo, Soba Yurina, Kakui Yasutaka, Sato Masamitsu, Toya Mika, Takeichi Masatoshi	4. 巻 32
2. 論文標題 Tracheal motile cilia in mice require CAMSAP3 for the formation of central microtubule pair and coordinated beating	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 ar12 ~ ar12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1091/mbc.E21-06-0303	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 Morita Ritsuko, Sanzen Noriko, Sasaki Hiroko, Hayashi Tetsutaro, Umeda Mana, Yoshimura Mika, Yamamoto Takaki, Shibata Tatsuo, Abe Takaya, Kiyonari Hiroshi, Furuta Yasuhide, Nikaido Itoshi, Fujiwara Hironobu	4. 巻 594
2. 論文標題 Tracing the origin of hair follicle stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 547 ~ 552
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41586-021-03638-5	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 Takaki Yamamoto, Tetsuya Hiraiwa, Tatsuo Shibata	4. 巻 2,043326
2. 論文標題 Collective cell migration of epithelial cells driven by chiral torque generation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Review Research	6. 最初と最後の頁 1,6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevResearch.2.043326	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 John Devany, Daniel M. Sussman, Takaki Yamamoto, M. Lisa Manning, Margaret L. Gardel	4. 巻 118, 10
2. 論文標題 Cell cycle-dependent active stress drives epithelia remodeling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 1,9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1917853118	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 Federico Iancic, Takaki Yamamoto, Alexander Ryabchun, Tadatsugu Yamaguchi, Masaki Sano, Nathalie Katsonis	4. 巻 10(5238)
2. 論文標題 Reorientation behavior in the helical motility of light-responsive spiral droplets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13201-6	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 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Takaki Yamamoto
2. 発表標題 Collective cell migration of epithelial cells driven by chiral torque generation
3. 学会等名 EMBO Workshop Physics of living systems: From molecules to tissues (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本尚貴
2. 発表標題 グラフニューラルネットワークによる細胞間の時空間相互作用の推定
3. 学会等名 日本物理学会 第77回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takaki Yamamoto
2. 発表標題 Graph-based machine learning reveals rules of spatiotemporal cell interactions in tissues
3. 学会等名 RIKEN BDR Retreat 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaki Yamamoto
2. 発表標題 Graph-based machine learning reveals rules of spatiotemporal cell interactions in tissues
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2022 "Emergence in Biological Systems: Emergence in Biological Systems: Challenges to Bridging Hierarchies" (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tatsuo Shibata
2. 発表標題 Emergence of cell chirality from the spatial organization of actin and myosin cytoskeleton
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2022 "Emergence in Biological Systems: Emergence in Biological Systems: Challenges to Bridging Hierarchies" (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takaki Yamamoto, Daniel M. Sussman, Tatsuo Shibata, M. Lisa Manning
2. 発表標題 Non-monotonic fluidization generated by fluctuating edge tensions in confluent tissues
3. 学会等名 RIKEN BDR symposium 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takaki Yamamoto
2. 発表標題 Chirality-induced helical self-propulsion of chiral liquid crystal droplets
3. 学会等名 Gordon Research Seminar "Designing Mechanics and Dynamics in Soft Matter" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaki Yamamoto
2. 発表標題 Theoretical model of dynamics of epithelial cells with cellular chiral torque generation
3. 学会等名 Gordon Research Conference "Living and Non-Living Soft Matter on the Edge: Out of Equilibrium, Marginal, in Extreme Conditions and at Interfaces" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本尚貴
2. 発表標題 キラルな液晶液滴のマランゴニ効果駆動の回転運動とその流体場
3. 学会等名 日本物理学会 2019年秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本尚貴
2. 発表標題 細胞のキラリティを考慮した上皮細胞組織の運動モデル
3. 学会等名 日本物理学会 2019年秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本尚貴
2. 発表標題 Theoretical model of dynamics of epithelial tissue with cellular chirality
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会
4. 発表年 2019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

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			
米国	Syracuse university	University of Chicago	Emory university	他1機関