

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2013

課題番号：21570234

研究課題名(和文)三次元細胞モデルを使って上皮陥入機構を明らかにする

研究課題名(英文) Investigation of mechanism of epithelial invagination using the 3D cell model

研究代表者

本多 久夫 (HONDA, Hisao)

神戸大学・医学研究科・学術推進研究員

研究者番号：10289118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：多細胞生物の形態形成は、[遺伝子 細胞 形]のスキームであらわせる。この道筋を具体化するためにスキームの後半を細胞モデルという数理的手法を使って研究した。まず、ハエ幼虫の気管形成の始まりである上皮陥入について、実験家の観察データと対応させながらシミュレーションを行った。細胞のふるまいにいくつかの仮定を置くと見事に陥入した。ただこの時使った仮定のうち細胞が胚体内に移動する機構が問題である。いっぽう、トリ神経管形成に見られる陥入時の細胞パターンの研究に、平面内細胞極性遺伝子celsrの局在がミオシン分子の局在の原因であることが明らかにできた。こうして遺伝子から形への道筋の一つを明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The process of morphogenesis of multi-cellular organisms can be expressed as "Gene s-Cells-Shape". To elucidate the detailed process based on actual substances, I studied a latter half of the process from Cells to Shape using a mathematical cell model. A computer simulation was performed of an epithelial invagination of the trachea formation of Drosophila, referring to actual observations. The simulation of the invagination was succeeded based several assumptions of cell behaviors. However, one of the assumptions, cell migration toward the embryo inside is arguable. On the other hand, I studied a polygonal cellular pattern of invagination in the neural tube formation. Here, anisotropic localization of the planar cell polarity gene, celsr was elucidated to cause anisotropic localization of myosin molecules that generates morphogenetic force. Then, one of the routes from genes to shape was established.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：invagination cell model vertex dynamics morphogenesis

1. 研究開始当初の背景

生物の形はおもに遺伝子によりきめられていると考えられているが、その具体的な道筋は明らかになっていない。

2. 研究の目的

遺伝子から形へのスキームは多細胞生物の場合、[遺伝子 細胞 形]である(雑誌論文、図書)。この前半は分子生物学、細胞生物学により徐々に明らかにされている。しかし後半、細胞が集まって形を形成するところの研究は手薄である。細胞が動き、また変形するには力が介在している。細胞における力の発生とそれによる変形はこれまでの生物学における分子生物学的手法ばかりでなく、力学・幾何学などの数理的手法が必須である(学会発表、図書)。細胞モデルなどの数理的手法を使いながらスキームの後半を具体化するがこの研究計画の目的である。

3. 研究の方法

物理学の世界では結晶や液晶などの興味ある構造が、条件を整えればひとりでに形成(自己組織化)される。この理解には構成単位の動きを記述する運動方程式が使われている。ここでは多細胞生物の場合も細胞が集まって形を自己構築すると考える。この記述には細胞運動の運動方程式があればよい。提案者たちは長年にわたり細胞の運動方程式を検討し、vertex cell dynamics とよぶシステムをつくりあげた(雑誌論文)。これをつかって細胞が平面に並んでできたシートが陥入するところをしらべた。具体的にはハエの気管形成の初期に起こる上皮陥入とトリの神経管形成中に見られる上皮表面の多角形パターンの変化をしらべた。

4. 研究成果

(1) ハエ胚の気管形成のはじまり

ハエ胚のいくつかのセグメントのほぼ中央に気管形成の中心がきまり、ここで上皮陥入が起こる。胚の上皮には背の高い柱状の上皮細胞が一層に並んでおり、陥入の中心付近の細胞ははじめは均一な幅の柱であったのが、(a)アピカル側の多角形が収縮して細胞断面は台形になり、巾着絞りが起こる。(b)上皮のアピカル面では多角形の辺が陥入中心を囲むアーク状の配置になり、この辺にはミオシンが集積する。(c)陥入中央付近の細胞は胚の内部方向に移動する。これら三つの要因を仮定してシミュレーションを行うと上皮陥入は確かに起こる。要因(a)と(b)だけでは陥入は起こらないがアピカル面の多角形パターンは変化する。このアピカル面の多角形の変形や同心円状の配列は観察結果と一致する。しかし、多角形パターン変化だけでなくシミュレーションで陥入が起こるには要因(c)が必要である。要因(c)は胚内のFGFが働いて上皮細胞がこれに引き寄せられ

ると考えたいところだが、陥入が始まる時期にはまだFGFは胚内には観察されない。何が陥入のはじめに働いて細胞が胚内に動くのかが不明である(学会発表、^①)。

(2) 気管先端部の細胞

陥入後の気管は分岐し、その後体表に平行に伸長する。この先端部で、はじめ管一周が2個の細胞であったのが、管一周が1個の細胞のさらに細い管になる。これは気管の先端が胚体の伸長により引っ張られて起こる。多角形が筒表面に並んだ初期条件からシミュレーションを行い、筒の軸方向に引っ張ることによって一周2個の細胞の筒が一周1個の細胞の筒になるようにはできなかった。ただしこの時細胞に自発的でランダムな大きな変形が必要であった。このランダム変形が実際に観察される細胞の変形と対応させることが今後必要である(学会発表)。

(3) 神経管形成

トリ神経管形成中の上皮のアピカル面の多角形パターンが観察された。将来神経管になる管の軸方向にそっての陥入が起こっており、この軸に直角方向にミオシン分子が集積した太いケーブルが見られる。これは梯子がいくつも平行に並んだようなパターンで、梯子の踏み台にあたる多角形の辺はミオシンの発現が弱い。

特別な方向性のないisotropicな多角形パターンを初期条件としてシミュレーションをはじめたあと、ここに特別な軸を考え、この軸に直角な方向の辺に強い張力を持たせると、この方向が梯子の取っ手となる梯子パターンが得られる。このことから神経管形成中の軸に直角な方向の辺のミオシンは強い収縮した張力を持っていると考えてよい。この張力で上皮シートが曲率をもち曲がりついに管になるのだ。

上皮細胞のアピカル多角形の特別な方向の辺にミオシンによる収縮力が増すことがここでの形態形成の要因である。

特別な辺でのミオシンの蓄積は平面内細胞極性をつかさどる遺伝子*ce1sr1*によることが明らかになった。すなわち、多角形パターンの特定の方向の辺にだけ*Ce1sr1*が発現し、これによりDishevelledが発現する。DishevelledはDAAM1を活性化する。

一方アクチン線維へのミオシンの集積は、PDZ-RhoGEFがmonomeric GTPaseであるRhoAを活性化し、これによりROCKが活性化され、ミオシンがリン酸化され、このミオシンがアクチン線維に働き収縮が起きることが知られている。Isotropicな条件では多角形のどの辺でもこれが起こるのだが、ここでは活性化されたDAAM1がPDZ-RhoGEFに働く。すなわち活性化されたDAAM1のある辺だけでミオシンによる収縮が強く起こるのである。

こうして、細胞内にanisotropyを起こす遺伝子のシステムがアクトミオシンによる収縮のanisotropyを起こさせ、神経管形成

という形態形成を起こす道筋が明らかになった(雑誌論文)

形態形成は分子生物学や従来の細胞生物学の手法だけでは理解できない。細胞が力によって変形すればどんな形態変化が起こるか知るには、数理的な細胞モデルが必須である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

H. Honda, Essence of Shape Formation of Animals. *Forma* 27, S1-S8. (2012) 「査読有」

T. Nishimura, H. Honda and M. Takeichi, "Planar cell polarity links axes of spatial dynamics in neural-tube closure", *Cell* 149, 1084-1097, (2012). DOI 10.1016/j.cell.2012.04.021. 「査読有」

T. Nagai and H. Honda "Computer simulation of wound closure in epithelial tissues: Cell basal-lamina adhesion". *Phys. Rev. E* 80 (6)061903 (2009) [12 pages] DOI: 10.1103/ 「査読有」

[学会発表](計 21件)

H. Honda, "Morphogenesis by Successive Self-Construction of Cells" *BIT's 4th Annual World - Congress of Molecular and Cell Biology 4/25-28*, DICC (Dailian International Congress Center, Dalian, China. 4/26,2014)

H. Honda, "Biological cell models based on Voronoi tessellation are antecedents of modern vertex cell models", *Fifth International Conference on Analytic Number Theory and Spatial Tessellations (Voronoi Conference)*, (Institute of Physics and Mathematics of the National Pedagogical Dragomanov University, Kyiv, Ukraine, 9/17, 2013)

H. Honda, "Morphogenesis by successive self-constructions of cells", *ISIS Congress-Festival Symmetry: Art and Science "Labyrinth and Symmetry"* (Imperial Belvedere Hotel, Hersonissos, Crete 9/14, 2013)

H. Honda, "Three-dimensional cell model for tissue morphogenesis", *Workshop "Computational modeling of regenerative medicine and cellular pattern formation"*, 35th Annual

International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMSC) July 3, (2013, 7/3, International Convention Center in Osaka)

H. Honda, "Three-dimensional cell model for tissue morphogenesis", *Banff Workshop "Tissue Growth and Morphogenesis: from Genetics to Mechanics and Back"*(2012,7/25 Banff, Canada)

本多久夫 「袋構造からみた哺乳類の形態形成」第52回日本先天異常学会学術集会イフニクセミナー(2012, 7/7 東京女子医科大学)

本多久夫, 「メビウスの輪をもつ上皮シート」第72回形の科学シンポジウム(2011.12/10 鹿児島大学)

H. Honda and T. Nagai, "Three dimensional cell model for tissue morphogenesis", *17th International Biophysics Congress* (2011. 11/1-2 China National Convention Center, 北京)

H. Honda, "Three-dimensional cell model for tissue morphogenesis", *The 49th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan* (2011. 9/16 県立兵庫大学、姫路)

H. Honda, "Three-dimensional cell model for tissue morphogenesis", *The 2011 Meeting on "Computational Cell Biology"* (2011, 3/30 Cold Spring Harbor Lab., New York,USA)

本多久夫, 「細い毛細血管の周長はとびとびの値をもつ?」第70回形の科学シンポジウム(2010, 11/21 加古川市)

H. Honda, M. Nishimura, T. Kondo, S. Hayashi, "Mechanical cell properties causing epithelial invagination", *日本生物物理学会第48回年会* (2010. 9/21 東北大学川内キャンパス)

本多久夫, 西村真由子, 近藤武史, 林茂生 「上皮シートの陥入をおこす細胞のふるまい」第20回日本数理生物学会大会(2010, 9/14 北海道大学)

H. Honda "An equation of motion for cell-based morphogenesis", *Symposium 10. 43rd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists* (Kyoto, 2010.6/23)

T. Kondo, M. Nishimura, H. Honda, S. Hayahi, "Balance of planar and apicaco-basal forces orchestrate the invagination fo the Drosophila tracheal placode". *43rd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists* (Kyoto, 2010, 6/21-22)

本多久夫、西村真由子、近藤武史、林茂生「上皮シートの陥入をおこす細胞のふるまい」第68回形の科学シンポジウム(獨協医大、2009.11/22)

本多久夫「形態形成研究のための3次元細胞モデル」第31回日本バイオマテリアル学会シンポジウム5(京都テルサ、2009.11/17)

本多久夫、長井達三、和田宝成、加藤輝、林茂生「一周一細胞の上皮性チューブの形成」日本生物物理学会第47回年会(アステイとくしま 2009.11/1)

H. Honda, "Symmetry breakage in the early mammalian embryo", *International Interdisciplinary Conference of ISIS-Symmetry* (Wroclaw and Cracow, Poland; 2009,9/14)

H. Honda, T.Nagai, H.Wada, K.Kato, S.Hayahi, "Formation of an epithelial tube of single cell-size circumference". *42nd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists* (Niigata 2009 5/30)

②1 M.Nishimura, H. Honda, S.Hayahi "Coordination of cell movement by microtubule and myosin systems during epithelial invagination", *42nd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists* (Niigata 2009, 5/30)

〔図書〕(計 4件)

本多久夫「多細胞体形態形成のための細胞モデル」望月敦史編『生命科学の新しい潮流-理論生物学』第4章第2節 pp. 220-247 (共立出版、2011.2/1)

本多久夫『形の生物学』NHK ブックス (NHK 出版 2010. 5/25)

本多久夫「形態形成-細胞が行う自己組織化」国武豊喜監修『自己組織化ハンドブック』第1章第9節 pp.313-319(株/NTS、2009.11/13)

本多久夫「ミクロとマクロをつなぐ多面

体細胞モデル」pp.151 - 166(第9章)「シリーズ数理生物学要論(日本数理生物学会編集)第2巻『『空間』の数理生物学』(瀨野裕美編)(共立出版 2009.5/25)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本多久夫 (HONDA, Hisao)

神戸大学・医学研究科・学術推進研究員

研究者番号: 10289118