

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H04541

研究課題名（和文）流体構造連成解析によるニューロンの移動モードと大脳皮質形成の力学の解明

研究課題名（英文）A fluid-structure interaction analysis of neuronal migration

研究代表者

今井 陽介（Imai, Yohsuke）

神戸大学・工学研究科・教授

研究者番号：60431524

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,300,000円

研究成果の概要（和文）：ニューロンの先導突起の挙動を再現するため、流体構造連成解析手法を開発した。変形勾配テンソルを自発的な塑性変形と弾性変形の乗算分解に分解し、先導突起近傍における細胞膜の面積拡大を表現する。細胞膜に対するアイソジオメトリック解析と、周囲の流体に対する境界積分法を連成する。ニューロンの移動時にみられる先導突起の伸展（退縮）には、突起先端部における局所的な面積拡大（縮小）が必要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ニューロンの移動と他の細胞（例えば、浸潤時のがん細胞）の移動には類似する点が多い。本研究結果は、自発的な塑性変形が多様な細胞の挙動に共通する重要な役割を持つ可能性を示唆している。細胞挙動は従来の工学的な材料や機械にはない性質を有している。実際の細胞のように柔軟で強靱な材料や機械を創出するため、細胞挙動の力学的メカニズムを新しい材料構造や動作原理に応用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We developed a numerical method for the fluid-structure interaction analysis of the leading process behaviors of neurons. The isogeometric analysis is used for the solid mechanics of cell membrane, whereas the boundary integral method is used for fluid mechanics. To represent membrane expansion at the leading process, the deformation gradient tensor is decomposed into spontaneous plastic deformation due to membrane expansion, and hyperelastic deformation. Our results suggest that local membrane expansion is required for the growth of the leading process during neuronal migration.

研究分野：計算バイオメカニクス

キーワード：計算生体流体力学 計算バイオメカニクス 流体構造連成解析 細胞運動 組織形成

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の神経細胞（ニューロン）は、脳深部で誕生し、脳表面まで移動して大脳皮質を形成する。最初の世代に生まれたニューロンがまず脳表層を形成する。次の世代のニューロンは、第一世代が作った脳表層まで移動して第二世代の層を形成する。ところが、第三世代以降のニューロンは、前の世代の層を越えて移動して第一世代の下に最新の層を形成し、最終的に六層構造の大脳皮質ができあがる。この特殊な構造は「インサイドアウト」と呼ばれている。インサイドアウト構造の乱れは脳機能の障害を引き起こし、神経疾患の原因になる。脳表層のCajal-Retzus細胞が発現するリーリンと呼ばれるタンパク質が重要な役割を担っていると考えられているが（例えば、Kubo et al., *J. Neurosci.*, 2010）、インサイドアウト構造の形成メカニズムは十分明らかでない。

インサイドアウト構造の形成メカニズムを理解するためには、ニューロンの移動モードの変化のメカニズムを理解する必要がある。脳深部で生まれたニューロンは三種類の移動モードを駆使して脳表面に到着する（図1）（例えば、Hirota and Nakajima, *Front. Cell Dev. Biol.*, 2017）。一つ目の移動モードは多極性移動であり、ニューロンが多数の短い突起を周囲に伸ばし、突起の伸縮を繰り返しながら移動する。二つ目はロコモーションであり、放射状グリア繊維と呼ばれるロッド状の構造に沿って、上り棒を上るようにニューロンが移動する。三つ目はトランスロケーションであり、長く伸びたニューロン先端の先端突起が突如短縮し、ニューロン本体を引っ張り上げるように移動する。特に、ロコモーションからトランスロケーションへの変化は前の世代の層を追い越すときに生じるため、インサイドアウト構造の形成に深く関係していると考えられる。しかしながら、ロコモーションで伸展し、トランスロケーションで突如短縮する先端突起の材料特性と動作原理は未だ明らかになっていない。

ニューロンに限らず、一般に細胞は、ほとんど液体の細胞質がほとんど厚さのない細胞膜に包まれている。非常に柔らかく、細胞は自身に作用する力に応じて刻々と形状を変化させる。細胞骨格タンパクが重合あるいは脱重合して力学平衡が局所的に破れ、細胞膜と細胞環境の間で細胞接着タンパクが結合あるいは解離する。細胞環境もまた液体で満たされており、低レイノルズ数の流れの中でゆっくりと新たな力学平衡を満たすように形状を変化させる。細胞の運動とはこれが繰り返された結果である。このように力学的観点では、ニューロンの移動モードの変化を、細胞接着、細胞骨格、細胞膜、細胞環境の力学的相互作用が変化した結果とみなすことができる。

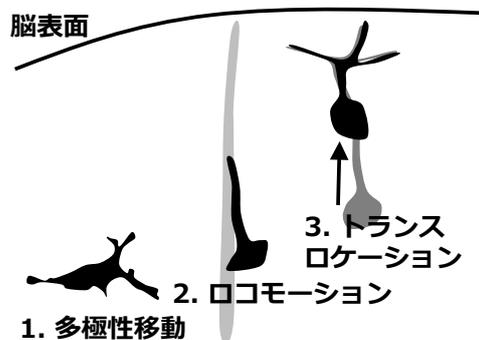


図1. ニューロンは三種類の移動モードを駆使して脳表層に到着する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、流体構造生化学連成解析とイン・ビボ細胞実験の統合的な手法によって、ニューロンの移動モードの変化とインサイドアウト構造の形成メカニズムを力学に基づいて明らかにすることである。そのための基盤計算技術として、細胞膜の固体力学、細胞質と細胞外の液体の流体力学、細胞接着タンパクと細胞骨格タンパクの生化学反応を連成するトランススケール流体構造連成生化学連成解析手法を開発する。これを用いてイン・ビボ実験の結果を再現し、仮説「ニューロンの移動モードの変化は、運動の足場となる細胞環境の変化と、リーリンの作用による細胞接着タンパクおよび細胞骨格タンパクの反応定数の変化によるものである」を力学的に検証する。

3. 研究の方法

本研究課題では、ニューロンの三種類の移動モードに関する数値解析とイン・ビボ細胞実験を実施した。今井（研究代表者、神戸大学）が数理モデル、計算手法の開発、および数値解析を実施し、滝沢（研究分担者、早稲田大学）が計算手法の理論、林（研究分担者、慶応大学）がイン・ビボ細胞実験を担当し、研究を実施した。

4. 研究成果

なぜニューロンは移動モードを変えることができるのか。図2は、イン・ビボ細胞実験の一例であり、ニューロンのトランスロケーションのタイムラプスイメージングの結果である。先端突起が長く伸展し、時間とともに退縮する様子を捉えている。本研究課題では、ニューロンの先端突起に着目し、先端突起の挙動を再現できる数理モデル、および、流体構造連成解析手法の開発した。具体的には、細胞膜の形状と曲げエネルギーを高精度に計算する手法としてアイソジオメトリック境界積分法を開発し、また、自発的な細胞膜の面積拡大を計算する手法として、変形勾

配テンソルの乗算分解を導入する手法を開発した。

4. 1. 細胞膜の形状と曲げエネルギー (アイソジオメトリック境界積分法)

細胞膜 (脂質二重膜) の力学特性を表す構成則として, Skalak のひずみエネルギー関数 (Skalak et al., Biophys. J., 1973) と Helfrich の曲げエネルギー関数 (Helfrich, Z. Naturforsch. C, 1973) がよく用いられる。これらはそれぞれ, ひずみテンソル, 曲率テンソルの不変量の関数であり, 特に後者は, 直接的な離散化が困難である。本研究では, アイソジオメトリック離散化 (Bazilevs et al., Comput. Methods Appl. Mech. Eng., 2010) を適用する手法を開発した。局所曲線座標に対し, 非一様 B スプライン (NURBS) の拡張理論である T スプラインを用いて曲面を記述する。NURBS は自由曲面を数学的に正しく表現するために開発された基底関数であり, 曲率が連続であることを保証する。また, 弱形式で記述することによって, 平均曲率の微分が不要になり, 直接的な離散化を可能にした。さらに, 一般の工学材料の数値解析に応用できるようにするため, Kirchhoff-Love シェル (Takizawa et al., Comput. Mech., 2019) に拡張する手法を合わせて開発した。

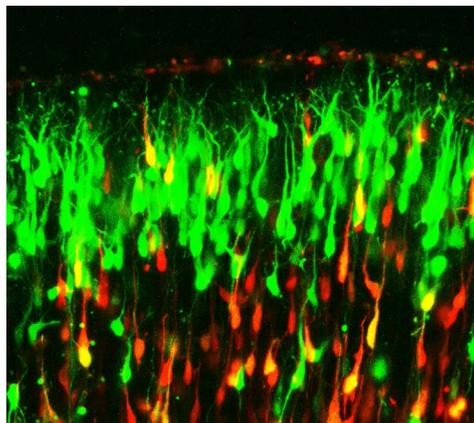


図2. イン・ビボ細胞実験. ニューロンのトランスロケーションのタイムラプスイメージング.

ストークス流れの流体力学を境界積分方程式で記述し (例えば, Pozrikidis, Boundary integral and singularity methods, for linearized viscous flow, 1992), 細胞膜の固体力学と連成するアイソジオメトリック境界積分法 (Takeda et al., J. Fluids Structures, 2024), また, 細胞膜の固体力学と格子ボルツマン法を連成する手法 (Asai et al., J. Fluids Structures, 2024) をそれぞれ開発した。

4. 2. 自発的な細胞膜の面積拡大 (変形勾配テンソルの乗算分解)

この計算手法を用いて, イン・ビボ細胞実験で観察されたニューロンの長く伸展した先端突起の再現を試みた。しかしながら, Skalak の超弾性体モデルでは長く伸展する先端突起を再現することはできなかった。Skalak のひずみエネルギー関数では, 細胞膜 (脂質二重膜) を非圧縮と仮定し, 面積変化に対する強い抵抗を導入している。これらの結果から, 先端突起では細胞膜の面積変化が自発的に生じているのではないかと考えた。

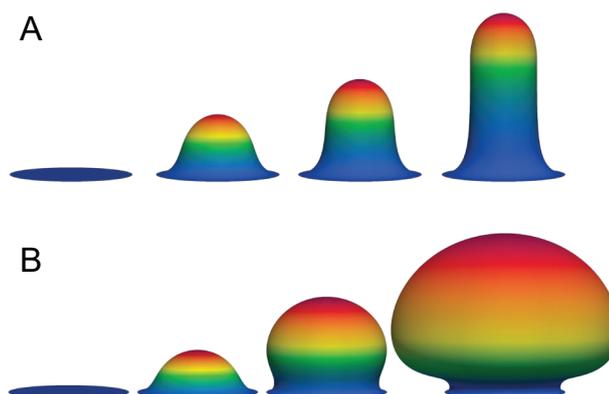


図3. 細胞膜の一部に塑性変形 (面積拡大) を与えると先端突起のような形態が現れた。先端部における集中的な面積拡大では細長く伸展した形状になり (A), 一様に面積拡大するとマッシュルームのような形状になった (B)。

そのため, 生体組織成長の連続体理論 (Rodriguez et al., J. Biomech., 1994) を応用するモデルを開発した。細胞膜の自発的な面積拡大 (あるいは縮小) によって生じる塑性変形と剛性によって生じる弾性変形を変形勾配テンソルの乗算分解を用いて記述する。基準配置に塑性変形勾配テンソルを作用させると, 現在時刻の参照配置になる。このモデルをアイソジオメトリック境界積分法に導入し, 自発的に塑性変形する曲面の流体構造連成解析手法を開発した (Hayashi et al., Phys. Fluids, 2024)。

これを用いて, 細胞膜の一部が面積拡大するような塑性変形を与える計算を実施したところ, 先端突起のような形態が現れた (図3)。現在時刻の先端部における集中的な面積拡大では, 細長く伸展した形状になり, 一様な面積拡大では, 頭部が大きく膨らんだマッシュルームのような形状になった (Takeda et al., in preparation)。

また, これらの形状を記述する理論解を導出した。これらの結果は, ロコモーションやトランスロケーションにみられる先端突起の伸展 (退縮) には, 先端突起先端部における局所的な面積拡大 (縮小) が必要であり, 先端突起の挙動は, 細胞膜の面積変化と細胞骨格タンパクの重合・脱重合のバランスによって変化する可能性を示唆している。ニューロンの先端突起の近傍では, 微小管が発達しているとも言われており, 微小管による脂質 (小胞) の輸送がこの役割を担っているのではないかと考えている (図4)。

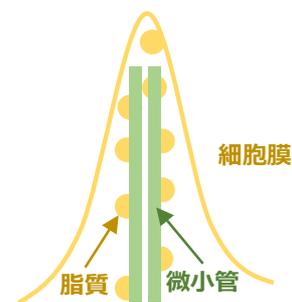


図4. 先端突起の挙動には微小管による脂質の輸送が関係している?

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Yoshida, H., Ishida, S., Yamamoto, T., Ishikawa, T., Nagata Y., Takeuchi K., Ueno, H., Imai, Y.	4. 巻 19
2. 論文標題 Effect of cilia-induced surface velocity on cerebrospinal fluid exchange in the lateral ventricles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of The Royal Society Interface	6. 最初と最後の頁 20220321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsif.2022.0321	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 Takeda, H., Asai, Y., Ishida, S., Taniguchi, Y., Terahara, T., Takizawa, K., Imai, Y.	4. 巻 124
2. 論文標題 Isogeometric boundary element analysis of creasing of capsule in simple shear flow	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Fluids and Structures	6. 最初と最後の頁 104022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jfluidstructs.2023.104022	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 Asai, Y., Ishida, S., Takeda, H., Nakaie, G., Terahara, T., Taniguchi, Y., Takizawa, K., Imai, Y.	4. 巻 125
2. 論文標題 A computational model of red blood cells using an isogeometric formulation with T-splines and a lattice Boltzmann method	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Fluids and Structures	6. 最初と最後の頁 104081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jfluidstructs.2024.104081	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 Hayashi, T., Takeda, H., Ishida, S., Imai, Y.	4. 巻 36
2. 論文標題 Folding of a growing hyperelastic sheet in a viscous fluid	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Physics of Fluids	6. 最初と最後の頁 53315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0204021	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Imai, Y., Ishida, S., Matsunaga, D.
2. 発表標題 Escape of small capsules from large capsules aligned in confined shear flow: a computational study
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Seike, D., Ishida, S., Asai, Y., Takeda, H., Kitamura, N., Gonda, K., Imai, Y.
2. 発表標題 A computational model of leukocyte rolling
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshida, H., Ishida, S., Yamamoto, T., Takeuchi, K., Nagata, Y., Ueno, H., and Imai, Y.
2. 発表標題 Computational fluid dynamics analysis of effect of ciliary motion on cerebrospinal fluid flow
3. 学会等名 11th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamaguchi, Y., Takeda, H., Asai, Y., Ishida, S., and Imai, Y.
2. 発表標題 Isogeometric hyperelastic analysis for cell membrane protrusion
3. 学会等名 11th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishida, S., Yoshida, H., Yamamoto, T., Ishikawa, T., Nagata, Y., Takeuchi, K., Ueno, H., and Imai, Y.
2. 発表標題 Computational modeling of the cerebrospinal fluid flow: effect of cilia-induced velocity
3. 学会等名 18th International Symposium on Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hayashi, T., Takeda, H., Ishida, S., and Imai, Y.
2. 発表標題 A fluid-structure interaction analysis of growth-induced fold formation of a sheet in a viscous fluid
3. 学会等名 ASME-JSME-KSME Fluids Engineering Division 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hayashi, T., Takeda, H., Ishida, S., and Imai, Y.
2. 発表標題 Growth-induced fold formation of a sheet-like tissue in a viscous fluid: an isogeometric boundary element analysis
3. 学会等名 12th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2023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 分担者	林 周宏 (Hayashi Kanehiro) (60373354)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師 (32612)	

6. 研究組織（つづき）

	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 分 担 者	滝沢 研二 (Takizawa Kenji) (60415809)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	

	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	石田 駿一 (Ishida Shunichi)		
研究 協 力 者	竹田 宏典 (Takeda Hironori)		

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