

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 4 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23700350

研究課題名(和文)細胞密度に依存した細胞の集団的応答の分子ネットワーク設計

研究課題名(英文)Molecular network design toward group-level decision making of cell populations

## 研究代表者

藤本 仰一 (Fujimoto, Koichi)

大阪大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60334306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：細胞間相互作用に応じて、個性が抑制された均一な細胞ばかりで構成される細胞集団もあれば、個性が増幅されて明確な分業体制を持つ細胞集団にもなる。これら2種の集団的応答は、どちらも各細胞内の生化学反応はスイッチ的に変化し、その反応ネットワークの構造も同一であるにも拘らず現れ、相互作用の違いの特徴はよくわかっていない。微生物でのこれらの実験に基づいて定量的な数理モデルを構築し、その解析を通じてこの2種類の集団的応答を切り替える実測可能なパラメータを発見した。この結果は分子機構の詳細に依存しない頑健性を持ち、動植物へも応用できる。このパラメータを実験的に制御することで、細胞集団の振る舞いを予測できる。

研究成果の概要(英文)：Although the genetic circuits underlying state switching at the single-cell level are well understood, how such circuits work in concert among many cells to support the population-level switching of cellular behaviors is not fully explored. Experiments using microbial signaling systems show that group-level changes in cellular state occur in either a graded or an all-or-none fashion. We show that the type of group-level decision making used by populations is uniquely determined by a single dimensionless parameter that compares the quorum-signaling molecules accumulated within the cells with those secreted by the population. The role of the parameter is universal such that it not only applies to the autoinducing circuits but also to the more complex gene circuits involved in transmembrane receptor signaling and negative feedback. The design principle that we describe thus serves as the basis for the analysis and control of collective cellular decision making in general.

研究分野：理論生物学

キーワード：モデル化 自己組織化 細胞 集団現象 システム生物学 微生物

1. 研究開始当初の背景

(1) 組織中の細胞は、環境中の栄養濃度、細胞の空間的な分布などの情報を集団内で処理している。例えば細胞密度の情報は、各細胞が分泌するシグナル分子の環境中の濃度を通じて間接的に感知できる。細胞密度に依存した細胞集団の応答は、細胞分化、ガン化、ウイルス感染、微生物の生存戦略まで広く現れ、それらの密度依存性も多様である。多様な密度依存性を実現する細胞内の分子ネットワークにはどんな共通性と違いがあるか、さらに、各依存性にはどんな機能的な違いがあるかは、よくわかっていない。近年、バクテリアにおいて、集団全体が揃って応答する場合(図1A)及び、各細胞がばらばらに応答しながらも応答した細胞の比率が細胞密度に依存する場合(図1B)とが見出された。どちらも各細胞の遺伝子発現はスイッチ的に変化するにも拘らず、何が集団レベルの応答に違いを生み出すのだろうか？

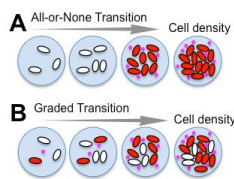


図1: 細胞の集団的応答

(2) また、これら細胞間の「協調」機構に加えて、近年、細胞間の「競合」機構が存在してはじめて、生命個体が適切に形成・維持されることが明らかになりつつある。この「細胞競合」現象は、同種の細胞間で相対的に良質で「適応度」の高い細胞を選択する、即ち、病的な細胞のみに細胞死を引き起こして積極的に排除する細胞集団の恒常性維持機構である。細胞競合を推進する細胞間相互作用は、シグナル分子を介した長距離の化学的相互作用だけでなく、細胞間接着などを介した短距離の力学的相互作用が重要な役割を果たすことが示唆されているが、「適応度」の差をどんな性質が感知するかはほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、細胞同士の情報交換を通じて集団内に秩序だった分化などを実現する仕組みを、モデリングと計算機実験を通じて明らかにする。中でも細胞密度へ依存した集団的な応答は、単細胞微生物から動物体内のガン化や細胞分化に至るまで幅広く現れる。多様な密度依存性の中で、まず代表的な2種類(図1)に着目し、各依存性を実現する細胞内の分子ネットワークの特性と機能の違いを解明する。多様な密度依存性を実現する生化学反応の特徴の比較を通じて各特徴を抜き出し、ネットワーク設計の統一的な方法論を提示する。その実用性を高めるために、実験的な検証方法を示す。

(2) さらに、細胞接着などの物理的接触を介した細胞間相互作用による集団的応答を解析するために、上皮細胞の形態と力を定量

的に再現できる数理モデル(Cell Vertex model; Honda, *Int. Rev. Cytol.*, 1983)を拡張する。細胞増殖や細胞死を制御するシグナル経路、及び、それらと力を生成、受容するアクチン細胞骨格との間のクロストークを導入した数理モデルを構築する。このモデルの数値計算を通じて、細胞内分子ネットワークと細胞間相互作用の働きで細胞が適応度を感知し、細胞競合を実行する過程を明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

(1) バクテリアの細胞間コミュニケーションの定量的な数理モデルを構築した。

$$\begin{cases} \frac{dx_i}{dt} = (1 - I^{-1}) \frac{s_i^2}{s_i^2 + k_i^2} + I^{-1} - x_i + h_i \\ s_i = r_V \bar{x} + \frac{g_{ex}}{C_{sec}} x_i \end{cases}$$

各細胞が、細胞密度に依存してシグナル分子を合成し、細胞外に分泌する以下のモデルを、我々は解析的、かつ、数値的に調べた。 $i$  は各細胞のインデックス、 $x_i$  はシグナル分子の合成酵素濃度、 $\bar{x}$  は集団平均、 $I$  はノイズ、 $s_i$  はシグナル濃度、 $\rho_V$  が細胞密度である。反応の詳細に依存しない性質であるかどうかを検証するために、シグナル分子が受容体を介して認識される場合のモデルや、細胞内の生化学反応に負のフィードバックが持ち時間的な振動を生み出しうるモデルも調べた。

(2) 組織中の上皮細胞の形態を多角形で近似し、細胞間の力学的な相互作用を通じた細胞変形を記述するCell Vertex Modelを用いた。このモデルは、上皮細胞集団を二次元平面状に広がる多角形の集まりで表し、力に基づいた細胞や組織の変形を再現するため、細胞競合での力の役割を考える上で適してい

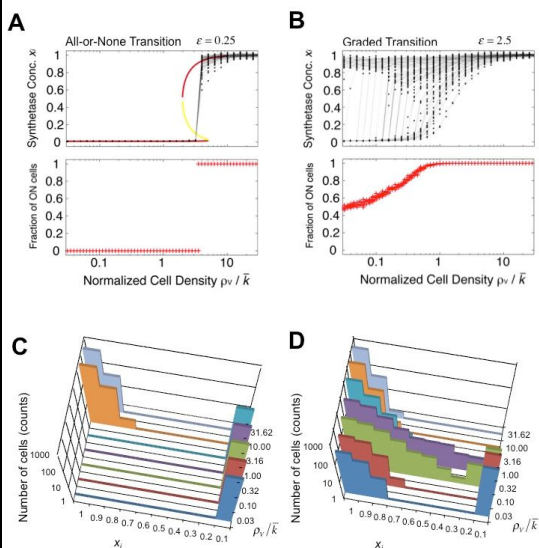


図2: 数理モデルで現れた細胞の集団的応答。我々は、細胞分裂速度が異なる2種類の

細胞群（クローン）をこのモデルに導入し、増殖させ、この2つのクローンの分裂速度の違いが細胞の形に与える影響を調べた。

#### 4. 研究成果

(1) このモデルの数値計算および解析的計算を通じて、集団が揃って応答する場合（図2A, 2C）とばらばらに応答する場合（図2B, 2D）を切り替える1つの無次元パラメータを、私は発見した。このパラメータは、細胞自身が合成するシグナル分子の量と細胞集団全体が分泌する量の比で表される。他にフリーパラメータは無いので、集団の意思決定を定量的に予測できる。実際に、複数の種のバクテリアでこのパラメータの値を調べると、興味深いことに、両方の集団応答が切り替わる境界に近かった。即ち、生存環境に応じて、両方の集団応答を選択的に利用するのに、バクテリアは最適化されていることが示唆された。さらに、負のフィードバックがあることでシグナル濃度が時間的に振動する場合や、細胞膜上の受容体を介してシグナルを認識する場合でも、このパラメータは同じ働きをした。このパラメータを実験的に制御することにより、私たちは細胞集団の意思決定をデザインし、構成的に理解できる。これらの結果をまとめ本研究課題とほぼ同等の論文「細胞の集団的な意思決定の設計原理」を PLOS Computational Biology 誌より出版した。この論文は、当該号の Featured Article に、加えて、PLOS Synthetic Biology Collection にも選定された。反響も大きく学会等での招待講演9件（海外1件、国内8件）を行った。

(2) 分裂速度の異なる二種類の細胞を混ぜた状態をモデルで作成したところ、増殖の速い細胞を囲む境界がギザギザした形から滑らかな形に切り替わった。この結果は、ショウジョウバエ上皮の実験系において、過増殖を引き起こす Hippo 経路変異細胞と野生型細胞の境界で観察される特徴的な円形の境界を再現した。また、数理モデル上で“敗者”と考えられる分裂の遅い細胞に注目すると、二種類の細胞の境界でのみ細胞が押しつぶされたように変形しており、張力が異常に高いことも分かった。

#### 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 2 件)

- (1) \*Fujimoto K, Sawai S. (\* Corresponding author) A design principle of group-level decision making in cell populations. *PLoS Computational Biology* 9(6): e1003110, 2013. DOI:

10.1371/journal.pcbi.1003110

<http://journals.plos.org/ploscompbiol/article?id=10.1371/journal.pcbi.1003110>

当該号の Featured Article に選定。PLOS Synthetic Biology Collection (Synthetic Life & Multicellular Systems; Software & Modeling) に選定。

<http://www.ploscollections.org/static/syntheticbiology.action>

- (2) #Masaki N, #Fujimoto K (#equally contributed), Honda-Kitahara M, Hada R, \*Sawai S. Robustness of self-organizing chemoattractant field arising from precise pulse-induction of its breakdown enzyme: a single cell level analysis of PDE expression in *Dictyostelium*. *Biophysical J.* 104: 1192-1202, 2013. doi: 10.1016/j.bpj.2013.01.023. [http://www.cell.com/biophysj/abstract/S006-3495\(13\)00093-3](http://www.cell.com/biophysj/abstract/S006-3495(13)00093-3)

〔学会発表〕(計 10 件)

- (1) 坪井有寿、藤本仰一、“Differential cell proliferation rate regulates epithelial tissue homeostasis during cell competition” 第37回日本分子生物学会年会 ワークショップ「細胞競合」(2014年11月 横浜市、パシフィコ横浜、講演)
- (2) 藤本仰一、“Dynamics of Multicellular Living Matter.” *Frontiers of Theoretical Science - MATTER, LIFE and COSMOS* - (2014年11月 千葉県柏市、東京大、招待講演)
- (3) 藤本仰一、“Mechanical Communications in Cell Societies” 第4回モデル生物丸ごと一匹学会年会シンポジウム(2014年9月 豊中市、大阪大、招待講演)
- (4) 藤本仰一、“細胞競合の数理モデル” 第36回日本分子生物学会年会 ワークショップ(2013年12月 神戸市、神戸国際会議場、招待講演)
- (5) 藤本仰一、“細胞の集団的な意思決定の設計原理” 定量生物学の会 第6回年会(2013年11月 吹田市、大阪大、招待講演)
- (6) Fujimoto K, Sawai S. A design principle of group-level decision making in cell populations. *2013 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications (NOLTA2013)* (2013, Spt., Santa Fe, USA、招待講演)
- (7) 藤本仰一、“細胞社会の集団的な意思決定のデザイン” 生物リズム若手研究者の集い 2013 (2013年8月 山梨県河口湖町、招

待講演)

(8) 藤本仰一, “時空間パターンと遺伝子ネットワークの対応づけ: 節足動物の発生進化を例に” 第22回日本数理生物学会年会(2012年9月 岡山市、岡山大、招待講演)

(9) 藤本仰一, “ダイナミカルシステムによる数理モデル”、第1回数理生物学サマールクチャーコース(2012年7月 神戸市、理研 CDB、招待講演)

(10) 藤本仰一, “細胞の集団的振動の始まり方とその情報処理能力” 第8回「生物数学の理論とその応用」研究会、ミニシンポジウム「リズムと生物学」(2011年11月 京都市、京都大、招待講演)

〔図書〕(計 1 件)

(1) Fujimoto K, Sawai S. Collective Decision making and oscillatory behaviors in cell populations. In *Engineering Chemical Complexity*. (World Scientific Pub. Singapore. Edited by Mikhailov & Ertl) pp.279-298, 2012.

〔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

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~fujimoto/>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤本 仰一 (FUJIMOTO, Koichi)

大阪大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号: 60334306