

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25440117

研究課題名(和文)3次元細胞モデルを使って生体のキラリティーの由来を明らかにする

研究課題名(英文)Investigation of biological chirality by using a cell-based mathematical model

研究代表者

本多 久夫 (HONDA, Hisao)

神戸大学・医学研究科・学術研究員

研究者番号：10289118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：細胞が集まって器官の形がきまる。研究目的はいくつかの器官のキラル構造を、数理的細胞モデルを使って解明することである。トリやマウス初期胚の心臓形成時にはヘリックスループ形成が見られる。これを研究対象とした。はじめは直線状のチューブであった心臓が(1)チューブの腹側で細胞増殖が頻繁に起こり、チューブが「く」の字型に屈曲することと(2)構成要素である細胞がキラルな行動、すなわち分裂時に2娘細胞が互いに逆時計回りに回転移動することでヘリックスが形成されることがわかった。心臓のキラリティー発生の問題は、キラルな細胞行動が細胞自体のキラルな性質によるのか、それとも体内の非対称構造によるのかに絞られた。

研究成果の概要(英文)：Organs consist of cells. I would like to elucidate formation process of chiral structures of organs using cell-based mathematical models of tissues. Hearts in the early development of birds and mammals are known to form chiral structure, a helical loop. I showed that a simple straight tube of the initial heart makes a helical loop by (1) bending accompanying ventral protrusion of the tube and (2) dividing cells perform a chiral behavior, that is, counter-clockwise rotation of two daughter cells. The problem of cardiac looping made progress to a problem that cell chiral behavior is an intrinsic cell properties or caused by asymmetric circumference of the animal body.

研究分野：理論生物学

キーワード：心臓ループ チューブのねじれ 細胞頂点モデル 自己構築 細胞のキラリティー Vertex dynamics

1. 研究開始当初の背景

生物の形はおもに遺伝子がきめていると考えられているが 2012 年にその具体的な道筋の一つが明らかになった[1]。この道筋によれば細胞の自己構築を記述する「細胞モデル」が必須の役割を果たすことになり、ここに細胞モデルを使った形態形成研究の基盤ができた。そこで、形態形成のなかでいまだに不思議なものである「生体のキラリティーの由来」を明らかしようとした。

(1) 遺伝子から形への道筋

遺伝子が発現して物質が合成され、そのタイミングと合成量が決まる機構は既知である。さらに、いくつかの物質が細胞内に片寄って(anisotropic)局在する平面内細胞極性(PCP)遺伝子も明らかになった。しかし遺伝子から形への理解のルートはここで止まっていた。

多細胞体の形態形成は細胞が行うものである。細胞が変形し動くことが形態形成に重要である。ここでは anisotropic な力が働いている。この力を生じるアクチンやミオシンなどの分子の偏在が PCP 遺伝子によって指示されている例が明らかになり[1]、遺伝子から形態形成への道筋が見えてきた。

(2) 細胞モデル

Anisotropic な力が働けば細胞や細胞集合がどのような変形を行うかは物理的力学問題である。これを反映した細胞に基づいた幾何学的数理モデル、vertex dynamics を申請者は長期間かけて構築してきた[5. 主な発表論文・雑誌発表]。このモデルを使うことで遺伝子の発現から形態形成までを物理生物学的に研究することができるようになった。

(3) 形態形成のなかでいまだに不思議と感じられる研究対象

申請者は上記の方法を使って細胞からできた袋、胞の形成、その伸長などの機構を研究してきたが、ここではさらに不思議な現象、心臓のキラル構造の形成機構の解明に挑んだ。

2. 研究の目的

鳥類や哺乳類初期胚の心臓は単純でまっすぐなチューブである。これが左ねじに巻いたヘリックスループ、キラル構造を形成する。近年身体の左右非対称に関わる遺伝子が見出されており、これと心臓ループとの関わりは興味深いテーマである。細胞の非対称運動や非対称変形が心臓のキラル構造とつながるかどうかを、細胞モデルをつかって調査する。

3. 研究の方法

研究方法は、cell-based vertex dynamics for

a sheet in the three-dimensional (3D) space とよばれる数理的細胞モデルをつかって、コンピュータ・シミュレーションである。多角形が敷詰まってできたチューブの 3D 空間での変形を、多角形の頂点を記述する微分方程式(vertex dynamics)を使って追跡する。頂点は多角形の分裂・移動とともに、チューブは安定な形であるという要請に応じながら動く。

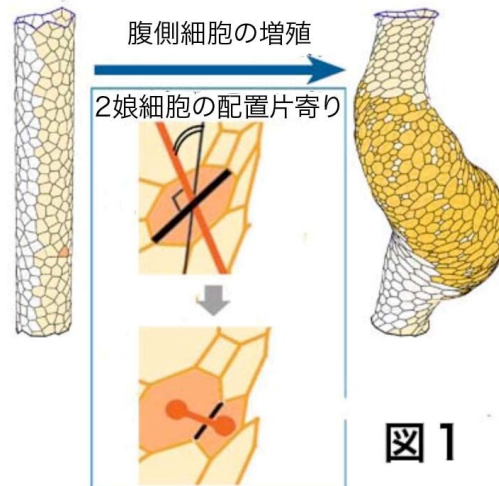
シミュレーションに必要な心臓についての実験データは細胞発生生物学の共同研究者および既発表の文献より取得した。

4. 研究成果

はじめまっすぐであったチューブが(図1左)これを構成している多角形細胞にどのような性質があればヘリックスループ(図1右)になるかを検討する。

(1) チューブの屈曲

実際の観察によると、まずチューブが屈曲するのであるが、屈曲の方向は腹側に出っ張る。我々はウラシルの誘導体 EdU の取り込みを測定し、DNA 合成がチューブの腹側半分で盛んであることを確かめた。この事実に従いチューブの腹側で細胞分裂が多く起こると仮定すると、チューブは「く」の字に屈曲した。しかしここではねじれは起こっていない。



(2) 細胞のキラルな振る舞い

ヘリックスループはキラル構造である。そこで、それを実現するために構成要素である細胞にキラルな性質を仮定することを考えた。多くの細胞はチューブの軸の方向に分裂する。分裂後2つの娘細胞はチューブの縦方向に並ぶことになるが、ここでこの並びが少しだけ逆時計方向に回転すると仮定した(図1の挿入図)。このような仮定でチューブ全体は左ねじ巻きヘリックスになることがわかった(図1右)。ちなみに回転方向を時計回りにすると右ねじヘリックスになった。

実際に初期心臓の分裂心筋細胞で分裂前後に方向を測定すると、わずかに逆時計方向

に回転していることがわかった。

また、細胞が分裂することでできる一細胞由来の細胞群（クローン）のコロニーパターンを調べると、線状に配列しているものが幾つかあり、その方向は左ねじ巻きヘリックスに沿うものであった。これは実験で得られるいくつかのクローン細胞のパターンのデータと一致した。

(3) 考察

細胞はチューブ軸に沿って分裂し、移動した細胞は移動方向に対して左寄りに偏位 (deflection) する。このようなキラルな振る舞いがあれば、心臓の左ねじ巻きヘリックスループ形成は理解できるという結論になった。

この偏位を起こす機構は何か。2つの場合が考えられる。細胞集団の中で一つひとつの細胞は本来キラルな性質を内蔵していると考えられる場合である。このようなキラルな細胞の性質は培養皿上での白血球や繊維芽細胞などで知られているが、心筋細胞ではまだ知られていない。もう一つの場合は細胞が存在する場が体内の左右非対称な場であると、細胞はその場所に依存して振る舞いが異なり、結果として全体がキラル構造を形成する場合である。たとえば、細胞は体内の左右非対称の影響を受けるが、この影響の程度はチューブの上部と下部で異なる場合である。こうだとすると、心臓ループ形成は体内の左右非対称を支配する遺伝子の影響を受けている可能性がある。心臓のキラル問題とは、2つの場合のどちらであるかに絞られた。

< 引用文献 > _

[1] T. Nishimura, H. Honda & M. Takeichi, "Planar cell polarity links axes of spatial dynamics in neural-tube closure". *Cell* **149**, 1084-1097 (2012)

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4件)

Tatsuzo Nagai, Hisao Honda and Masahiko Takemura. Simulation of cell patterning triggered by cell death and differential adhesion in *Drosophila* wing. *Biophysical Journal*, 114 (No. 4) 958-967 (2018) 査読有, DOI: 10.1016/j.bpj.2017.12.028

Hisao Honda. The world of epithelial

sheets (Review article) *Dev. Growth Differ.* 59 (5) 306-316 (2017)
査読有, DOI: 10.1111/dgd.12350

Sayaka Katsunuma, Hisao Honda, Tomoyasu Shinoda, Yukitaka Ishimoto, Takaki Miyata, Hiroshi Kiyonari, Takaya Abe, Ken-ichi Nibu, Yoshimi Takai, and Hideru Togashi. Synergistic action of nectins and cadherins generates the mosaic cellular pattern of the olfactory epithelium. *J. Cell Biology*, 212(5): 561-75. (2016) 査読有, DOI: 10.1083/jcb.201509020

Hisao Honda and Tatsuzo Nagai. Cell models lead to understanding of multi-cellular morphogenesis consisting of successive self-construction of cells. *J. Biochem.* 157(3):129-136 (2015) 査読有, doi:10.1093/jb/mvu088

[学会発表](計20件)

Hisao Honda. "Simulations of morphogenesis of multicellular organisms by vertex dynamics" in BIRS Workshop "Mathematics for Developmental Biology" 2017 12/12, Banff International Research Station, Banff, Calgary, Canada.

本多久夫、阿部高也、藤森俊彦「マウス初期胚心臓の螺旋ループ形成は細胞増殖の部域差に加えて分裂細胞のキラルな振る舞いを考えると説明できる」第27回日本数理生物学会 2017 10/7, 北海道大学工学部・北海道

本多久夫、阿部高也、藤森俊彦「チューブが螺旋に変形する」第83回形の科学シンポジウム 2017 6/1, 金沢工業学・石川県

Hisao Honda, Takaya Abe, Toshihiko

Fujimori “ Cardiac looping is caused by asymmetric cell proliferation and chiral cell behavior ” The 50th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biology 2017 5/10-13, Tower Hall Funabori, 船堀・東京都

本多久夫 「形態形成を遺伝子で説明するには数理モデルが必須である」東京大学 UT-UBI セミナー 2017 3/24, 東京大学 本郷キャンパス・東京都

本多久夫 「形態形成を遺伝子で説明するには数理モデルが必須である」特別講演 RIMS 研究集会第 13 回「生物数学の理論とその応用」2016, 11/6. 京都大学数理解析研究所・京都府

Hisao Honda “ Epithelium - An intelligent tissue ” The 27th CDB Meeting “ Body surface tactics ” 2016 11/14. RIKEN Center for Developmental Biology・兵庫県

本多久夫 「自立的にできる多細胞体の形」第 15 回日本心臓血管発生研究会 特別講演 2016 10/15. 国立循環器病研究センター・研究所・大阪府

Hisao Honda, Takaya Abe, Toshihiko Fujimori “ Mechanism of cardiac looping of the embryonic heart ” The 26th annual meeting of the Japanese Society for Mathematical biology 2016 9/7, Shiiki Hall, Ito campus, Kyushu University, 伊都・福岡県

Hisao Honda “Anisotropic cell growth causes looping of the developing heart” Asia Pacific Developmental Biology Conference 2015 9/13, 西安・China

Hisao Honda “Anisotropic cell growth causes looping of the developmental heart” Joint Meeting of the 5th China-Japan-Korea Colloquium on Mathematical Biology and the Japanese

Society for Mathematical Biology 2015 8/26, Doshisha Univ. 京都府

Hisao Honda “ Anisotropic cell growth causes looping of the developing heart ” 「心臓ループの形成は細胞の異方的増殖による」48th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists 2015 6/2-5, International Congress Center, 茨城県

本多久夫 「心臓のループ形成を考える」第 79 回形の科学シンポジウム 2015 6/12, 千葉工業大学・千葉県

Hisao Honda “A mathematical model of polygonal cells for a three-dimensionally undulated cell sheet” 「3次元空間で変形自由自在の細胞シートをつくる細胞形態形成モデル」47th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists 2014 5/28, 愛知県

本多久夫 「面積が収縮して短冊がねじれる」第 77 回形の科学シンポジウム 2014 6/13-15, 埼玉県立大学・埼玉県

Hisao Honda “ A Polygon Vertex Model for Twisted Tissues ” The joint annual meeting of the Japanese Society for Mathematical Biology and The Society for Mathematical Biology 2014 7/30, Convention Center, 中之島・大阪府

Hisao Honda “ Morphogenesis by Successive Self-Construction of Cells ” BIT ’ s 4th Annual World Congress of Molecular and Cell Biology 2014 4/26, Dalian, China

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

Greece

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

Hisao Honda “Three-dimensional cell model for tissue morphogenesis” in Workshop "Computational modeling of regenerative medicine and cellular pattern formation", 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society 2013 7/3, Osaka International Convention Center, 中之島・大阪府

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

本多 久夫 (HONDA, Hisao)

神戸大学・大学院医学研究科・客員教授

研究者番号：10289118