

研究報告書

「力のベイズ推定から解き明かす組織の変形と力」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成25年10月～平成29年3月

研究者: 杉村 薫

1. 研究のねらい

力のベイズ推定法による力の動態の定量化、力学的・遺伝学的摂動実験、組織の力学モデリングを統合した独自のアプローチを展開し、ミクロスコピックな分子の活性からマクロスコピックな組織の機械物性と変形を階層横断的に解き明かすことを目指す。本研究で得られた知見は、上皮組織の変形と力を操作し、構成的に理解するための基盤になりうる。

2. 研究成果

(1) 概要

個体発生とは、体の前後軸などの空間情報をもとに、細胞が増殖・分化し、組織が変形することで、生き物が形づくられる過程である。このとき、体を引きのばす、曲げるなどのダイナミックな変形を駆動するのが機械的な力である。個体発生の主要なシグナル伝達経路が同定された今、「機械的な力がいかにして生き物の形づくりを制御するのか？」という問いに注目が集まっている。このような問いは、一般に力学という学問で扱われる。物質に力をかけたときにどれくらい変形するのかは、それぞれの物質の機械物性により決まり、この力と変形、機械物性の関係を理解するのを目指すのが力学である。生体組織でこの三者の関係を調べることは難しく、研究が進んでいなかった。

生体内力計測が難しいという技術的困難を克服するために、私たちは以前、細胞のかたちから細胞の圧力と細胞接着面の張力をベイズ推定する手法の開発に成功していた。圧力と張力を足し合わせることで、応力テンソルを計算できる。本研究では、この力のベイズ推定法を活用することで、機械的な力による上皮形態形成制御機構を構成的に理解することを目指す。

私たちは、まず、成長する上皮組織の応力と変形を一元的に定量する手法を開発し、世界で初めて組織全体で応力の時空間マップを測定することに成功した。続いて、石原秀至明治大学准教授と共同で、これらの定量データと対応可能な新しい連続体理論を構築した。さらに、力のベイズ推定法をもとに、力と変形をつなぐ機械物性を簡便に評価する方法を開発し、ショウジョウバエの上皮組織における細胞配置換え速度を決定する力学メカニズムを示唆する結果を得た。最後に、力が形態形成の「方向情報」をコードしているという私たちの過去の研究成果を発展させて、細胞が応力場を読み取り、分子の動態を制御して、細胞配置換えを駆動する仕組みを明らかにした。

(2) 詳細

研究テーマ A 「上皮組織の力と変形の一元的定量化手法の開発」

細胞分裂などの細胞の動態が時空間的に精緻に制御されることで、組織が正しい形に成長

する。このとき、細胞の動態や分子の活性・局在が応力場を変化させる一方で、これらは組織応力の制御を受ける。私たちは、このような細胞と組織の階層間の関係を明瞭に記述するために、以下の定量手法を開発した。ショウジョウバエ翅全体の発生過程を長時間に渡り観察した動画から、1 動画あたりのべ 2×10^6 個の細胞形態を抽出する画像処理プロトコルを開発した。このデータに力のベイズ推定法を適用することで、世界で初めて、応力の時空間マップを組織全体で定量化することに成功した。さらに、フランスのグループが開発した組織の変形、①細胞の変形、②細胞の再配置、③細胞分裂/細胞死を同一の「単位」で定量し、①-③の細胞動態の組織変形への寄与を定量的に解析できるテクスチャーテンソル手法と力のベイズ推定法を統合することで、上皮組織の力と変形の一元的に定量化する強力なパイプラインを構築した (Guirao et al. *eLife*, 2015)。

研究テーマ B 「生体上皮組織の新しい連続体モデルの構築」

生体組織、特に上皮組織の変形を扱う理論モデルとして、Cell Vertex Model などの個々の細胞が陽に表されるモデルがよく用いられる。離散モデルは、細胞変形やタンパク質の細胞内局在を扱いやすいという利点を持つが、組織スケールと細胞スケールの力・変形を解析的に結びつけるのには適さない。一方で、骨などの成体構造の力学特性を解析するのに使われてきた弾性体理論などの連続体モデルは、細胞という内部構造を無視しており、細胞動態が中心的な役割を果たす組織成長過程を扱うには粗すぎる。そこで、私たちは、離散モデルと連続体モデルの両者の強みを合わせ持つ理論モデルとして、細胞の形態や配置関係を内部自由度に持つ新しいクラスの連続体モデルを構築した (Ishihara, Marcq, Sugimura. Submitted; A.の実験手法により計測される応力テンソルや変形テンソル(テスチャーテンソル)と対応する形式でデザインされている)。新しい連続体モデルは、既存モデルでは困難だった細胞スケールの諸過程(例: 細胞増殖、分子活性)と組織スケールの変形・応力という異なる階層の関係を明瞭に記述することができ、当該分野における汎用的かつ強力なツールになることが期待される。

研究テーマ C 「細胞配置換え速度を決定する力学メカニズムの解析」

「力」と「変形」と「機械物性」のうち、我々は、力と変形の定量手法を開発してきた。例えば、上述のように、力のベイズ推定法を用いれば、上皮細胞のかたちから、細胞の圧力と細胞接着面の張力の時空間マップを計測することができる。しかしながら、磁気ピンセットなどの既存の細胞機械物性の測定手法は歩留まりが悪いので、対応する時空間情報を得ることが非常に困難である。したがって、細胞の機械物性を新しい視点、アプローチで定量することができれば、組織力学の研究を大きく発展させる可能性がある。

私たちは、上皮組織で細胞の機械物性を簡易に調べるために、力のベイズ推定法を活用した新しいアプローチを採用した。機械物性は力と変形の関係から求められるので、力のベイズ推定法で定量した力を変形(もしくは形)に対してプロットすることで、細胞の機械物性を評価する。この手法により得られたデータは、2*。非公開の研究成果に記載した。

研究テーマ D 「外力駆動型の細胞配置換えを支えるアクチン細胞骨格制御の解明」

最近の研究により、細胞が化学的シグナル伝達を感知し、組織形態形成を引き起こす力を生成するメカニズムが明らかになってきた。例えば、細胞は、組織のグローバルな極性を読み取って、分子モーターの細胞内局在を偏らせる。その結果、細胞接着面の張力の強さに偏りが生じ、細胞配置換えが引き起こされる。対照的に、私たちは以前、グローバルな機械シグナル（すなわち、組織の外から働く引っ張り力によって生成された組織応力の異方性）が、ショウジョウバエの翅において遠近軸に沿った細胞配置換えを駆動することを明らかにしていた。しかしながら、細胞が外力を感知し、読み取った機械情報を、細胞配置換えを制御する分子機構に伝達するメカニズムは、未知のままである。

これらの問いに答えるために、私たちは、細胞内局在を指標としたアクチン結合タンパク質のスクリーニングを実施した。その結果、Actin interacting protein 1 が組織応力の方向を感知して前後軸方向の細胞接着面に濃縮し、アクチン細胞骨格や細胞接着の再編成を制御することで、遠近軸に沿った細胞配置換えを駆動することを明らかにした（Ikawa, Sugimura. In prep.）。

研究テーマ E. その他

機械的な力による上皮の構築と維持に関する共同研究を実施した（Kajita et al. *Nat. Commun.*, 2014; Arata, Sugimura, Uemura. Submitted; Ishimoto, Sugimura. Submitted）。

3. 今後の展開

研究テーマ A, B からの発展.

遺伝学的に応力場や化学極性シグナリングを攪乱し、翅の形態が変化した個体を対象に、構築した定量手法と理論モデルの統合解析を実施することで、分子や細胞などの個々の構成要素の振る舞いから、機械的な力を介して、細胞集団の秩序だった形が生みだされるメカニズムの解明に取り組んでいきたい。

研究テーマ C からの発展.

本研究で開発した簡易評価法を利用して、細胞の機械物性という新しい指標に基づく遺伝学スクリーニングを実施する。まずは、細胞配置換えの速度と方向を決定する分子メカニズムを解明することを目指す。

研究テーマ D からの発展.

本研究で明らかになったメカノセンシング機構が、プログラム細胞死など、個体発生の他のコンテキストにおいて働いている可能性について検証する。

将来的には、特定のモデル系の各論を超えて、複数のモデル系の発生現象を統一的に説明できるようなコンセプトの導出を目指す。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

研究成果で記載したほぼ全てのデータが、スピニングディスク型共焦点顕微鏡システムが構築され、研究補助者が研究室に加わった2014年4月以降に取得された。さきがけの支援を受けたことで、組織の変形と力、機械物性を理解するための定量手法と理論モデルの開発など、研究を発展させることができた。概ね、申請書の提案に沿うかたちで研究を進めてきたが、研究プロジェクトDにおいて、アクチン構造多型の多細胞生命現象における意義を示唆する結果を得られたことは、予想以上の成果であった。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

ショウジョウバエの翅全体の発生過程を長時間に渡り、タイムラプス観察したデータから、細胞形態を抽出する画像処理プロトコルを開発し、世界で初めて組織全体で応力の時空間マップを定量することに成功した。さらに、組織応力と組織変形、細胞レベルの形態形成プロセスを統合的に解析する強力なパイプラインを開発した。こうしたハード・ソフト両面の手法開発によって、当初の目的に沿った研究成果を出したことを評価したい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. Kajita M, Sugimura K, *Fujita Y et al. (20人中2番目). Filamin acts as a key regulator in epithelial defence against transformed cells. Nat. Commun. 2014, 5, 4428. |
| 2. Guirao B, Rigaud SU, Bosveld F, Bailles A, López-Gay J, Ishihara S, Sugimura K, Graner F, Bellaïche Y. Unified quantitative characterization of epithelial tissue development. eLife 2015, 4, e08519. |
| 3. Sugimura K, Lenne PF, Graner F. Measuring forces and stresses in situ in living tissues. Development 2016, 143, 186–196. |

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

受賞

1. 日本生物物理学会若手奨励賞受賞(H26.9)

著作物

1. 杉村 薫, 石原秀至. 「組織の力場の定量生物学」. 小林徹也(編)「定量生物学」第八章.

学会発表

1. Sugimura K, Ikawa K. 第 54 回日本生物物理学会 2016 年 11 月 25 日

2. Sugimura K, Ikawa K. 第 39 回日本分子生物学会 2016 年 12 月 1 日

3. Sugimura K, Ikawa K. リーディングプログラム主催国際シンポジウム IGER International Symposium on "Now in actin study: Motor protein research reaching a new stage" -アクチン研究の今:新たなステージを迎えるモータータンパク質研究- 2016 年 12 月 13 日