

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「多細胞間での時空間的相互作用の理
解を目指した定量的解析基盤の創出」
研究課題「細胞動態スペクトラムから紐解く多細胞
秩序の創発規則」

研究終了報告書

研究期間 2019年10月～2025年03月

研究代表者：澤井 哲
(東京大学 大学院総合文化研究科
教授)

§1 研究実施の概要

(1)実施概要

ダイナミクス計測と理論統計解析の2グループ編成をとり、相互のアプローチを連携させた。多細胞組織の構築と再生におけるそれらの動的特徴を含んだデータ取得のために、マイクロデバイス開発、画像解析手法を開発し、単独細胞の運動形状の特徴量、細胞の集団運動における細胞形状、速度分布、極性などの特徴を *in vitro* で特徴づけた。得られたデータを機械学習による特徴量抽出につなげ、細胞変形と運動の状態空間を探索するとともに、数理モデルと理論からの予測との比較を、細胞性粘菌の単独細胞の変形ダイナミクス、ショウジョウバエ翅上皮の細胞配置換えを対象におこない、生体組織中での細胞動態の特徴づけに適用可能な特徴量や物理量を得た。さらに、変形・運動状態が異なる二種類の細胞集団を共存させた細胞選別過程について、同様の計測を実施した。また、こうした変形の自由度の異なる細胞の集団を、高い計算効率で統一的に表現する数理モデルを構築した。こうして得られた定量的指標、細胞変形と運動の状態空間を、*in vivo* 個体発生データの特徴づけへとつなげるため、双方向倒立型ライトシート顕微鏡を用いた測定系を構築し、粘菌の組織形成の3次元解析から動く細胞による多細胞構築の一般規則を浮かび上がらせた。

(2)顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. M. Tateno and S. Ishihara (2021) Interfacial-curvature-driven coarsening in mass-conserved reaction-diffusion systems. *Phys. Rev. Rep.*3, 023198.

概要: 細胞内の分子の制御は、しばしば活性・非活性状態間の遷移に基づいており、両者の分子数の総和は一定に保たれる。このような系でチューリング不安定性が起こると相分離が生じる。2次元、3次元の数値計算を行い、この相分離現象の成長則が $t^{1/3}$ 則にしたがい、自由エネルギーが存在しないにも関わらず界面張力に対応する量を持つことを見出した。この結果は基礎理論の発展や液液相分離現象に寄与すると期待される。

2. N. Saito and S. Sawai (2021) Three-dimensional morphodynamic simulations of macropinocytic cups. *iScience* 24 (10), 103087.

概要: 細胞の細胞外液体のとりこみはピノサイトーシス(飲作用)と呼ばれ、そのうち、マイクロメートルスケールのもの「マクロピノサイトーシス」における3次元細胞膜変形の力学と、細胞膜上のシグナル分子の反応や拡散を数理的に記述し、これまで全くの謎に包まれていたカップ変形と閉包の数値シミュレーションに成功した。その結果、この過程は飲作用だけでなく、粒子を無作為に取り込むという、従来の理解とは異なったファゴサイトーシス様式があることも示された。

3. Y. Shirokawa, M. Shimada, N. Shimada and S. Sawai (2024) Prestalk-like positioning of de-differentiated cells in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Sci. Rep.* 14, 7677.

概要: 細胞性粘菌ではランダムな配置で出現する分化細胞が再配置されて組織パターンが形成されるが、その仕組みはよくわかっていない。移動体期の細胞を半脱分化させると細胞間接着性が低下することに着目して研究を進め、細胞間接着性強度の強弱によって組織内配置が再決定されることが示された。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. D. Imoto, N. Saito, A. Nakajima, G. Honda, M. Ishida, T. Sugita, S. Ishihara, K. Katagiri, C. Okimura, Y. Iwadate, S. Sawai (2021) Comparative mapping of crawling-cell morphodynamics in deep learning-based feature space. *PLoS Comp. Biol.* 17 (8), e1009237.

概要: 畳み込みニューラルネットワークによって、細胞の伸びている方向と形状の複雑さを表現する特徴量空間を得ることに成功した。極性形成と仮足の背後にある生化学反応の制御関係を表現した「理想細胞モデル」を提案し、予想されるダイナミクスが極めて実際の細胞に近いことを示した。このモデルは、多細胞組織中の形態形成運動や幹細胞や免疫細胞等の遊走時に観察される細胞変形の動態の切り替え、使い分けの検出、解析、制御への応用が期待される。

2. G. Ogita, T. Kondo, K. Ikawa, T. Uemura, S. Ishihara#, and K. Sugimura# (# Corresponding authors) (2022) Image-based parameter inference for epithelial mechanics. *PLoS Comp. Biol.* 18(6), e1010209.

概要: 上皮細胞の力学モデルは多く提案されているが、パラメータをどう決定すべきかには困難がある。我々は、細胞輪郭データから力の釣り合いに基づいて、パラメータを素早く精確に決定する手法を構築した。この手法は、候補モデル群から、赤池情報量基準に基づいて最も良いモデルを選択する手法も供する。胚帯、翅、背板を比較し、組織特異的なパラメータの傾向を調べ、それぞれの組織の示すダイナミクスのスケールなどと整合的であることを確認した。

3. N. Saito and S. Ishihara (2024) Active Deformable Cells Undergo Cell Shape Transition Associated with Percolation of Topological Defects. *Science Advances*, 10 eadi8433.

概要: 細胞の硬さは細胞集団や組織の、硬さや流動性等の機械的性質を決定する重要な因子であるが、数値的な解析には大きな計算量コストが必要となる。細胞形態をフーリエ基底で展開することで計算量を抑え、多数の細胞を扱える新規アルゴリズムを開発した。これにより、細胞の柔らかさに応じて形態が大きく変わる二つの流動相の存在が明らかになり、それが細胞配置欠陥のパークレーションから理解できることが示された。

<代表的な論文>

1. G. Honda, N. Saito, T. Fujimori, H. Hashimura, M.J. Nakamura, A. Nakajima, S. Sawai (2021) Microtopographical guidance of macropinocytic signaling patches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 118 (50), e2110281118.

概要: アメーバ細胞や免疫細胞のように、大きな接着斑を発達させず速く動く細胞が、いかに地形に沿った変形や運動を行うか、その仕組みはわかっていない。微細加工技術を駆使した様々な形状の基質を用い、細胞性粘菌のアクチン重合波がリッジ上で生成し、凸曲面に沿って伝播し、凹曲面を横ぎらないこと、また上流のシグナル分子 (Ras、PI3K) においても同様の活性波が観察されることを明らかにした。さらに、マクロピノサイトーシスに関する反応拡散と膜変形過程の解析から、細胞外地形に沿った運動が説明できるメカニズムを数理モデル解析を用いて示した。

2. R. Nishide and S. Ishihara (2022) Pattern Propagation Driven by Surface Curvature. *Phys. Rev. Lett.* 128 224101.

概要: Turing パターンは平面上で静的なパターンを形成するが、曲面上においても静的のままであると考えられてきた。曲面上では実際にはパターンが動き得ることを、数値計算と理論解析によって初めて示した。通常のパターン伝播機構とは異なり、この伝播は内的な曲率のない1次元では起こらない、曲面でこそ起こる現象であり、曲面形状の変化がシグナル伝達を制御し得ることを意味する。論文は PRL 誌の Editor's suggestion ならびに表紙に選ばれた。

3. M. Uwamichi, et al (2023) Random walk and cell morphology dynamics in *Naegleria gruberi*. *Front. Cell Dev. Biol.* 11, 1274127.

概要: ネグレリアは動物とアメーボゾアからも離れたエクスカバータに属するアメーバであり、

動く細胞の分子機構の系統解析において重要な対象である。単独で探索運動するネグレリア細胞の定量的な運動解析をおこなった。細胞形状データからの特徴量抽出手法として、これまで好中球と粘菌細胞で開発したものを、定量的な知見が全くないネグレリアに適用した結果、他の細胞との共通点が明らかになるとともに、より複雑な固有の形態の特徴も浮かび上がらせることに成功した。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「ダイナミクス計測」グループ

研究代表者: 澤井 哲 (東京大学 大学院総合文化研究科 教授)

研究項目

- ・動態計測システム開発
- ・細胞・細胞集団動態計測
- ・生体組織動態計測

② 「理論・数理統計」グループ

主たる共同研究者: 石原 秀至 (東京大学 大学院総合文化研究科 准教授)

研究項目

- ・細胞変形・運動の状態遷移の統計学習手法の開発
- ・数理モデルの開発とデータ同化

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

- ・ Lyon University の Jean-Paul Rieu らとは、細胞遊走の解析に関する実験を中心に連携している。
- ・ University College London の Christopher Thompson らとは、粘菌の転写因子動態の解析で連携している。
- ・ NIH, National Institute of Allergy and Infectious Disease (NIAID) の Tian Jin, Xuehua Xu, Joseph Brzostowski らとは、好中球と粘菌の動態解析で連携している。
- ・ Sorbonne University 大学の Philippe Marcq 博士、パリ大学の Francois Graner 博士、Curie Institute の Yohanns Bellaiche 博士、Boris Guirao 博士らとは上皮細胞系のデータ解析手法やモデリングについて議論を行っている。
- ・ Zurich 大学の Christof Aegerter 博士らは生体組織の力学測定の独自の系を構築しており、我々が開発した手法との比較などについて議論を行っている。