

栗原 裕基

東京大学大学院医学系研究科  
教授

細胞動態の多様性・不均一性に基づく組織構築原理の解明

## §1. 研究実施体制

### (1) 栗原グループ

- ① 研究代表者: 栗原 裕基 (東京大学大学院医学系研究科、教授)
- ② 研究項目: 発生過程の細胞動態解析による組織構築原理の解明
  - ・ 心臓を形成する細胞の多様な起源の解明と動態解析
  - ・ in vitro 新生血管のライブイメージングによる細胞動態の解析

### (2) 和田グループ

- ① 主たる共同研究者: 和田 洋一郎 (東京大学先端科学技術研究センター、教授)
- ② 研究項目: クロマチン構造変化に基づく組織構築原理の解明
  - ・ 血管内皮細胞における単一細胞レベルでの遺伝子発現動態解析

### (2) 時弘グループ

- ① 主たる共同研究者: 時弘 哲治 (東京大学数理科学研究科、教授)
- ② 研究項目: 細胞動態の数理モデル化による組織構築原理の解明
  - ・ 血管新生の数理モデル構築とシミュレーション

### (2) 安田グループ

- ① 主たる共同研究者: 安田 賢二 (東京医科歯科大学学生体材料工学研究所、教授)
- ② 研究項目: 細胞集団のダイナミクス解析による組織構築原理の解明
  - ・ 心筋細胞の集団化による同期現象のオンチップ解析
  - ・ 内皮細胞特異的に結合する DNA アプタマーのスクリーニング

## §2. 研究実施の概要

### 栗原グループ

#### (1) 心臓を形成する細胞の多様な起源の解明と動態解析

神経堤細胞をラベルする Wnt1-Cre;R26R レポーターマウスとウズラ胚由来神経堤組織のニワトリ胚への同所移植から、心臓内に遊走する神経堤細胞の時空間的分布パターンと分化運命(冠動脈平滑筋、心流出路間質細胞など)の一部を同定した。さらにマウス神経堤をニワトリ胚に移植することで同様の細胞分布パターンをとることを確認し、RNA-seq による解析から分化多様性を解明する準備とした(東京女子医科大学 富田幸子博士の協力による)。さらに、鰓弓を経由した心臓形成に関与する新たな細胞の動態が明らかになり、その起源とメカニズムの検討を進めている。

#### (2) in vitro 新生血管のライブイメージングによる細胞動態の解析

SYTO 蛍光色素による内皮細胞選択的ラベリングにより、in vitro 新生血管のライブイメージングによる単一細胞レベルの動態のデジタルデータに基づいて、エージェントベースモデルと偏微分方程式による細胞運動の一次元モデル構築を試みた。そのシミュレーション結果から、血管伸長時の細胞運動の多くは一次元上の確率論的な運動で説明可能なこと、しかし先端細胞の入れ替わり現象については決定論的な規則を組み込む必要があることが示唆された。この結果をもとに先端細胞の運動が後続細胞との距離に依存することを反映した項を数式に組み込むことにより、in vitro 血管新生動態が in silico でより良く再現された。この規則に対応する生物現象は in vitro 血管新生モデルにおける動態観察とゼブラフィッシュにおける血管新生の可視化と介入実験によって検証された(国立循環器病センター 望月直樹、福原茂朋両博士の協力による)。さらに時弘グループによる分岐現象を含めた二次元数理モデル構築のため、実験データの提供と議論を進めている。

### 和田グループ

#### (1) 血管新生で変動する遺伝子発現のクロマチンダイナミクス解析

単一のクロマチン相互作用解析の定量的解析を可能とする qPCR-3C(Chromatin Conformation Capture)、網羅的相互作用解析(Chromatin interaction analysis with paired end tag sequencing, ChIA-PET)を内皮細胞において実施した。また、従来の制限酵素を使用する方法に加えて、新しい制限酵素やランダム DNA 断片化を応用する方法の開発に取り組んだ。

#### (2) 細胞集団のシグナル受容と遺伝子発現の同期性・不均一性の解析

単一細胞解析装置を導入し、100 個の HUVEC を 11 遺伝子の発現によって分類し、細胞の不均一性をクラスタリングによって確認することに成功した。さらに、分離した個別細胞における 96 遺伝子の同時発現解析を定量 PCR 法で実施するためのプライマーの設計と、遺伝子発現解析装置にいたる実験条件の最適化を進めている。また、単一細胞におけるクロマチン相互作用の技術導入

や RNA-seq を実施する高速シーケンサーにいたるワークフローの整備を行っている。

#### 時弘グループ

西山・栗原らによる血管新生に関する数理モデル(in vitro 血管新生動態の一次元投影モデル)を再現する確率離散数理モデルを構成し、その拡張を行い、数値シミュレーションで良い一致を得た。また、内皮細胞の微視的な運動方程式に基づき、1次元的な成長および、その分岐構造を再現する新しいセルオートマトンモデルを構成した。

#### 安田グループ

顕微鏡上に設置可能で自在に4チャンネル単位でチャンネル数を追加できる安価な細胞外電位計測モジュールおよび解析ソフトの開発に成功した。また、テフロンを表面にパターニングすることにより、1細胞単位で細胞チップ上に細胞配置する技術の開発に成功した。内皮細胞の表現型の変化のダイナミクスを可視化するためのツールとして和田グループ、栗原グループが用いている内皮細胞の表面に結合するアプタマープローブの開発を推進した。