

# 研究報告書

## 「1細胞動態の統合モデリングによる三次元組織形成の予測制御」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 2016年10月～2020年3月

研究者: 奥田 覚

### 1. 研究のねらい

三次元組織・臓器の形態形成は、構成する個々の細胞の生化学的・力学的な作用によって制御されている。このような多細胞の集団挙動を支配する1細胞の振る舞いは、遺伝子発現・シグナル伝達・細胞骨格モデリングなど、多面的に理解が進んでいる。しかし、この1細胞レベルの多様な動態が、細胞間の多体的な相互作用を介して、三次元組織・臓器レベルの動態を制御する機構については未知なことばかりである。本研究では、この1細胞レベルから組織・臓器レベルまでの動態を包括的に理解するため、細胞の変形・運動・分裂・アポトーシス・遺伝子発現・シグナル伝達など、1細胞レベルの各動態を要素モデル化し、その集合である三次元組織・臓器の現象を予測する三次元バーテックスモデルの開発を目的とした。

本研究計画の実施項目は以下の通りである。

- ① これまで開発した1細胞の変形・運動・分裂・アポトーシス・遺伝子発現・シグナル伝達の各要素モデルを統合し、1細胞の複合的な動態に基づいた三次元組織・臓器の形態形成過程を予測する汎用型三次元バーテックスモデルを構築する。
- ② 実験的に取得した三次元画像データから三次元組織・臓器内部の生化学・力学場を1細胞レベルで抽出し、開発した汎用型三次元バーテックスモデルに導入することにより、実験データに基づいた定量的な数値シミュレーション技術を構築する。
- ③ 開発した定量シミュレーション技術を三次元培養組織のライブイメージングに適用することにより、目標とする形態形成を誘導するために適切な生化学・力学シグナルを予測し、三次元組織・臓器形成の原理解明と人為的な制御を行う。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

組織・臓器のダイナミクスに関わる研究では、細胞の分化・増殖・力発生など、個々の現象に関わる分子実態の同定が主流であった。一方で、分子レベルの自由度は非常に高く、組織・臓器レベルのダイナミクスを直接的に理解することは容易ではない。これに対し本研究では、細胞の変形、運動、分裂、アポトーシス、遺伝子発現、シグナル伝達、遺伝子発現など、熱力学的・細胞生物学的に既定される1細胞レベルの自由度に基づいて三次元的な多細胞ダイナミクスを統合的に記述する汎用三次元バーテックスモデルを開発した。これにより、1細胞の複合的な挙動に基づいて三次元組織・臓器ダイナミクスをボトムアップに解析する基盤技術を構築した。

開発した汎用型三次元バーテックスモデルは、その高い多用途性により、本研究の対象である神経系組織のみならず、様々な三次元組織・臓器内における多様な1細胞動態に適用できた。そこで、開発した数理モデルを軸として、胚発生や臓器再生、がん浸潤等の機構解明を

目的とする具体度の高い解析, および, 多細胞現象の普遍的な原理解明を目的とする抽象度の高い解析を行った.

## (2) 詳細

### 研究テーマ①「汎用三次元バーテックスモデルの開発」

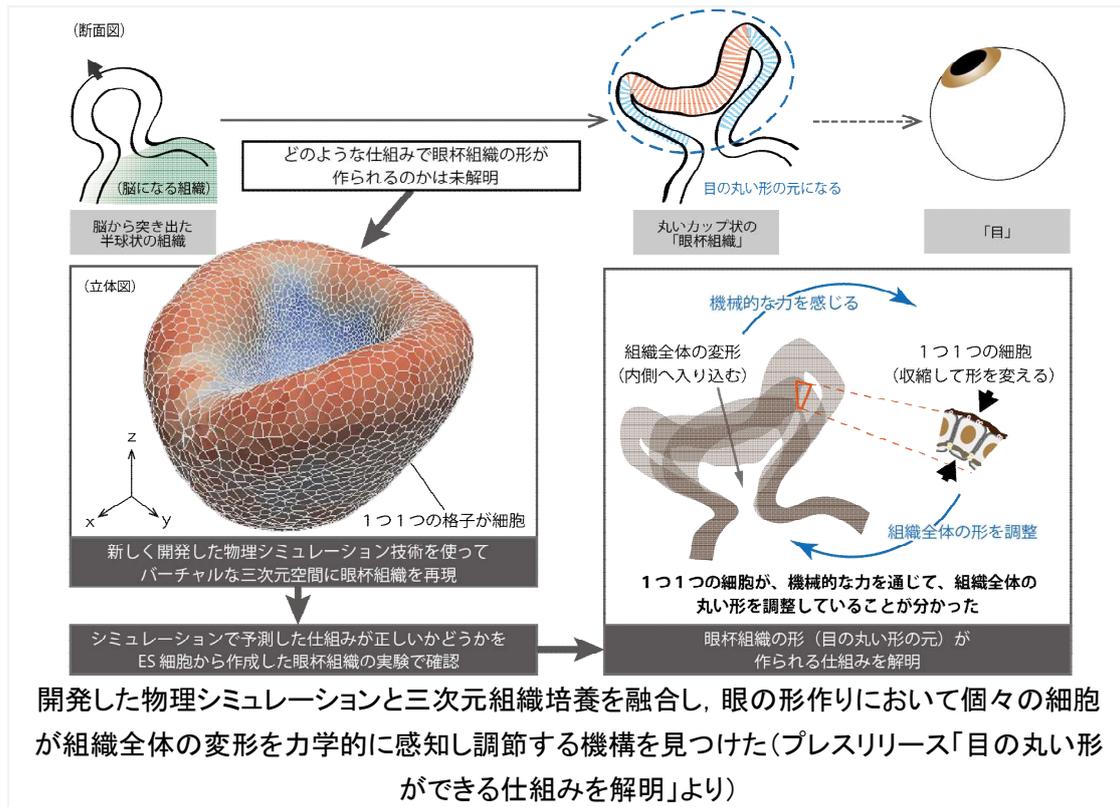
これまでの研究で, 三次元バーテックスモデルを拡張し, 細胞の三次元的な大変形, 粘弾性, 増殖, アポトーシス, シグナル輸送を扱う要素モデルを開発してきた. これらの要素モデルの内, 細胞の大変形時の細胞の配置換え, 分裂, アポトーシスの要素モデルでは, 多面体の頂点と辺を結ぶネットワークの幾何学的なパターン変換を行うためのルールを導入している. 本研究では, このパターン変換におけるネットワークの可逆性と物理量の保存性を考慮して, 各要素モデルを一貫する新しいネットワークの変換ルールを構築し, 多様な細胞挙動を同時に扱える汎用型三次元バーテックスモデルを開発した(J Theor Biol 2018, Sci Rep 2018, Dev Growth Diff 2018, J Biomech Sci Eng 2018, Biophys J 2019).

### 研究テーマ②「眼杯オルガノイド形成における多細胞動態の定量化」

眼杯組織は, まず, シート状の脳組織の一部が外側へ突き出す. 次に, 突き出たシート状の脳組織の先端が眼杯組織へと分化しながら内側へ入り込み, カップ状の二重構造を作る. さらに, カップの淵の組織が尖ることで, 眼杯組織の丸い形が作られる. 本研究では, ライブイメージングと画像処理を用いて組織の変形量を定量化し, 細胞の平均的な形態と増殖頻度を抽出した. また, 原子間力顕微鏡(AFM)を用いて組織表面の弾性率を計測し, 力学モデルに基づいて細胞表面の弾性率を抽出した. さらに, 過去の文献にあるアポトーシスの領域と頻度のデータとを統合し, 眼杯形成における細胞の力学動態を網羅的に定量化した.

### 研究テーマ③「眼杯オルガノイド形成における多細胞動態の制御機構の解明」

複雑な眼杯組織の形が作られる仕組みを理解するため, 実験で得た眼杯組織の定量情報を基にしてシミュレーションを行い, 眼杯組織の形態形成に必要な細胞の力発生を予測した. また, 眼杯オルガノイドを用いた力学的・薬理的な摂動実験により, この予測を確かめた. さらにその結果から, 眼杯組織の三次元形態が作られる際には, 一つ一つの細胞が, 眼杯組織全体の変形度合いを感じながら, その形態を微調整していることを見出した(Sci Adv 2018, プレスリリース「目の丸い形ができる仕組みを解明 – 「器官の形作り」の理解から再生医療への貢献に期待 – »).



### 3. 今後の展開

本研究で開発した汎用三次元バーテックスモデルにより、胚発生や疾患などに見られる幅広い多細胞の三次元動態を1細胞レベルから統合的に予測することが可能になった。さらに、開発した数理モデルを眼杯オルガノイドに適用して発見した組織形態の調節機構は、様々な器官の形作りにも共通する可能性がある。したがって、この発見は、基礎生物学における多様な器官の形作りの理解につながり、また、この機構をうまく利用することができれば、試験管内での組織・臓器再生を、より正確に制御できる可能性もある。そこで今後は、発見した組織形態の調節機構の理解をより深めると共に、シミュレーション技術の予測精度を高めることにより、さらに複雑な組織・器官を作成したいと考えている。

### 4. 自己評価

研究期間において、主の研究目的である「汎用三次元バーテックスモデルの開発」と「眼杯オルガノイド形成における多細胞動態の定量化」を達成し、「眼杯オルガノイド形成における多細胞動態の制御機構の解明」についても顕著な進展があり、最終目的である「三次元多細胞動態のリアルタイム制御」に近づいた。計画に沿った研究実施体制の構築及び研究費の執行を行えた。得られた研究成果は10稿の論文として国際学術誌で発表され、特に、開発したシミュレーション技術により発見した「形態形成の力学的な調節機構」はメディアにも取り上げられ、その波及効果は大きい。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1)論文(原著論文)発表

1. Satoru Okuda, Nozomu Takata, Yuiko Hasegawa, Masako Kawada, Yasuhiro Inoue, Taiji Adachi, Yoshiki Sasai, Mototsugu Eiraku "Strain-triggered mechanical feedback in self-organizing optic cup morphogenesis," *Science Advances* 4(11): eaau1354 (2018)
2. Satoru Okuda, Erina Kuranaga, Katsuhiko Sato, "Apical junctional fluctuations lead to cell flow while maintaining epithelial integrity," *Biophysical Journal* 116 (6): 1159-1170 (2019)
3. Satoru Okuda, Takashi Miura, Yasuhiro Inoue, Taiji, Adachi, Mototsugu Eiraku, "Combining Turing and 3D vertex models reproduces autonomous multicellular morphogenesis with undulation, tubulation, and branching," *Scientific Reports* 8: 2386 (2018)
4. Atsushi Hashimoto, Atsuki Nagao, Satoru Okuda, "Topological graph description of multicellular dynamics based on vertex model," *Journal of Theoretical Biology* 437: 187-201 (2018)
5. Satoru Okuda, Katsuyuki Unoki, Mototsugu Eiraku, Ken-ichi Tsubota, "Contractile actin belt and mesh structures provide the opposite dependence of epithelial stiffness on the spontaneous curvature of constituent cells," *Development, Growth & Differentiation* 59(5): 455-464 (2017)

### (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)

1. プレスリリース「目の丸い形ができる仕組みを解明 -「器官の形作り」の理解から再生医療への貢献に期待-」, 京都大学, 2018年11月22日(日刊工業新聞2018年11月22日28面, 毎日新聞2018年11月23日22面, 産経新聞2019年1月27日に掲載)
2. 奥田覚, 永楽元次 (2019). "IV-7 三次元バーテックスモデルによる物理シミュレーションとオルガノイドへの応用," Ed. 佐藤俊朗, 武部貴則, 永楽元次, 実験医学 別冊 決定版 オルガノイド実験スタンダード, 羊土社
3. 奥田覚, 永楽元次 (2017). "眼杯オルガノイド×Computational Biology—in vitro と in silico の相補的アプローチ," 実験医学 35(16): 2683-2688, 羊土社
4. 日本機械学会奨励賞(研究), 奥田覚, Apr. 20 (2017)
5. Young Scientist Award for Presentation at Joint annual meeting of JSDB 51st and JSCB 70th, Satoru Okuda, Jun. 6 (2018)