

## 155. 細胞集団運動の示すマクロ応答の定量計測

西口 大貴

東京大学 大学院理学系研究科 物理学専攻

Key words : 細胞集団運動, トポロジカル欠陥, アクティブマター, 剪断流, 内皮細胞

### 緒言

多細胞生物の発生や生体組織の恒常性、血管新生などの生理現象の理解は生命科学・医学の重要課題である。これらの現象には、細胞の集団移動という共通点がある。一方で非平衡統計物理学において近年、細胞のような自己駆動する要素の集団を記述するアクティブマターという枠組みが整いつつあり、生命科学上重要な多細胞生命現象の理解への応用が期待されている。細胞集団などのアクティブマターにおける集団運動は、動き回る粒子集団の数理モデルや、系の対称性に基づく流体記述理論により、非平衡系特有の興味深い数理的性質を持つことが明らかにされてきた。しかしアクティブマターの物理学は、単純化した理論モデルの性質調査で数多くの理論的成功を収めた一方で、これらの単純な設定でさえも理論と精密に対応づけて議論できる実験系が非常に限られている。生命科学上重要な集団現象をありのままの姿で理解するためには、実験に基づいて理論をより深化させる必要がある。

これまで理論が記述に成功し、実験的検証も伴ってきた系は、極限状況での細菌集団 [1] や培養皿上を這い回る *in vitro* の細胞集団、自己駆動コロイド粒子 [2~4] など、個々の要素の運動と、よりマイクロあるいはマクロな変数との結合を無視できる比較的単純な系に限られてきた。しかし生物の発生過程の形態形成における細胞集団移動などでは、個々の細胞の運動が、細胞の極性や細胞骨格などの内部のマイクロ変数や、細胞分泌物の濃度場や組織形状という境界条件などのマクロ変数など、他の自由度から絶え間ないフィードバックを受ける状況が重要となり、そのような状況下での実験が求められていた [5, 6]。

そこで本研究では、より一般的な状況での集団運動と他の自由度の結合の理解を得るために、集団運動の外場への応答を調査した。平衡系の統計力学の理解が、たとえば磁性体に外場として磁場を印加したときの振る舞いを調査することで深化し、線形非平衡領域まで拡張されたように、アクティブマター理論の適用可能範囲を広げることができると考えた。具体的には、細胞集団の外場へのマクロな応答の定量計測を、血管の細胞の剪断流への応答を利用して行うことで、外場への応答を自然かつ現実に応用可能な形でアクティブマター理論に組み込む手がかりとなる実験結果を得ることを目指した。

### 方法

#### 1. 外場に応答するアクティブマター実験系としての細胞集団

題材としてヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いた [7]。培養皿上を這い回る HUVEC は、その細長い細胞体のために、隣接する細胞同士が向きを揃えようとする相互作用を示す (図 1)。しかし系全体としては完全に向きが一方に揃うことはなく、結果として、細胞の向きを粗視化した場である配向場を定義できない特異点 (トポロジカル欠陥) が存在するパターンを示す (図 2)。これはネマチック液晶でみられる準長距離秩序パターンに類似の運動状態であり、実際に、アクティブ・ネマチックと呼ばれる集団運動理論で記述できる。トポロジカル欠陥は、巻き数というトポロジカル量で特徴付けられるが、異符号のトポロジカル欠陥同士の対消滅という理論予測も実際に観察できた。血管の細胞である HUVEC の特徴として、血流のような剪断流の向きに大域的に向きを揃えることが挙げられる。実際に内皮細胞は血管内では概ね向きを揃えていることが観察されている。この性質をアクティブマター研究に活用し、微小流体デ

バイス内で HUVEC を培養し、そこに剪断流を外場として加えることで、細胞集団が応答し向きを揃える過程での細胞配向と位相欠陥のダイナミクスを解析した。

## 2. 微小流体デバイスにおける剪断流実験系の構築

本研究の遂行には、顕微鏡ステージに置いた微小流体デバイスに数日間安定した流量・剪断強度の流れをかけ続けられる実験系の構築が必須である。そこでまず、微小流体デバイスに無脈動な流れを、培地を再利用・再循環させながら数日間流れをかけながら観察し続けられるポンプシステムを構築した。さらに、ポンプや流路も含め顕微鏡全体を 37°C に保ち続けられる保温箱を自作し、安定した観察を可能とした。

## 3. 細胞配向場とトポロジカル欠陥の時間発展の解析

細胞の向きを粗視化した場である配向場の解析には、structure tensor 法を使用した。画像の輝度変化の最も小さい方向を検出することで、その向きに細長い細胞体が向きを揃えて存在していると推定できる。得られた配向場をもとに、トポロジカル欠陥の位置を同定し、その位置をトラッキングし、その対消滅過程や運動と外場との関係等を調べた。

# 結果および考察

## 1. 外場のない静置条件下での集団運動

HUVEC の示す集団運動の基本的なパラメーターを得るために、剪断流をかけない条件下で長時間培養した。得られたネマチックな集団運動パターンの配向場を解析し (図 1)、配向場の典型的な相関長やトポロジカル欠陥のダイナミクスを特徴付けた。全体として向きが揃うことはないものの、異符号の巻き数を持つトポロジカル欠陥同士が時間とともに近づいていき、対消滅していく緩和過程を観察することができた (図 2)。

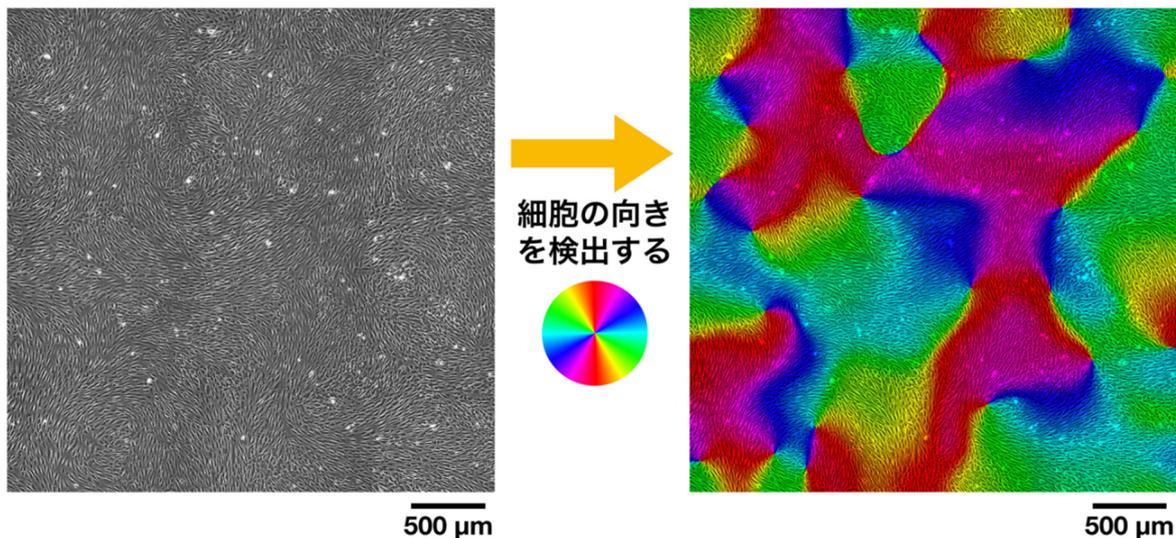


図 1. HUVEC のネマチックな集団運動パターンとその配向場の可視化結果

ディッシュの中に静置して剪断流をかけずに育てた場合、HUVEC はトポロジカル欠陥を多数含む集団運動パターンを示す。その配向場を可視化し、向きに応じて色付けすると、トポロジカル欠陥はその周りで色が一周するように変化する特異点として可視化される。中心のトポロジカル欠陥では向きが定義できない。

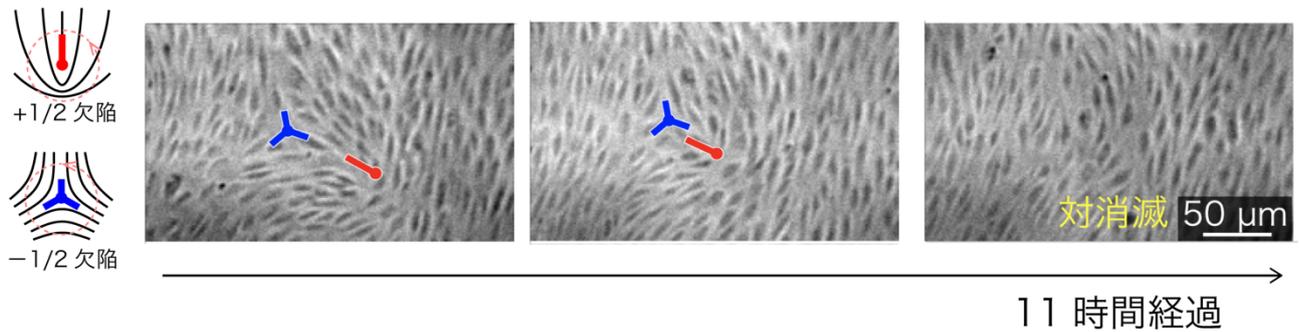


図2. トポジカル欠陥の巻き数の定義の模式図と対消滅過程

トポジカル欠陥を特徴付けるトポジカル量としての巻き数は、配向場の特異点であるトポジカル欠陥の周りを一周する経路に沿って配向場の角度変化を追ったときに、配向場が何回転するかを表したものである。エネルギーの一番低い $+1/2$ と $-1/2$ のトポジカル欠陥が細胞集団運動においては観察される。巻き数はトポジカルな保存量となっており、 $+1/2$ と $-1/2$ のトポジカル欠陥は衝突することによって巻き数0の向き揃った状態へと対消滅を示す。

## 2. 剪断流下での秩序化過程

微小流体デバイス内でまず静置して育てた細胞集団に、一方向の剪断流を加えた。すると、初めはトポジカル欠陥の多数存在し全体としては向きの揃っていない状態であった細胞集団が、時間とともに剪断流の向きに大域的に向きを揃えていく過程を観察できた (図 3)。向きを揃える過程でトポジカル欠陥同士の対消滅が頻繁に観察されたとともに、一部のトポジカル欠陥は他のトポジカル欠陥から遠く離れていたために対消滅できずに長時間のこり、単体のトポジカル欠陥が外場に応答し運動し動いていく様子も観察された。現在は、集団運動のトポジカル欠陥の外場応答という新たな着眼点に基づいた新たなアクティブマター理論の構築を進めている。

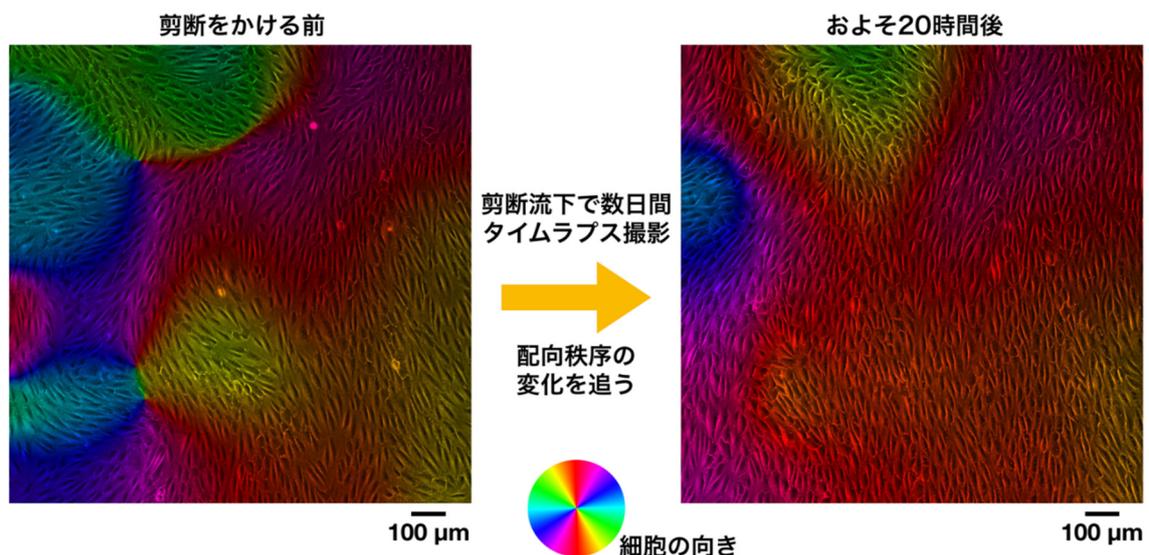


図3. 微小流体デバイス内で剪断流をかけたときの細胞配向場の時間発展

剪断流をかける前の細胞の集団運動パターンにはトポジカル欠陥が大量に存在するが、剪断流をかけることで次第に向きが揃っていくとともに、トポジカル欠陥の数も減少していく秩序化過程を示す。この図では、上から下に向かう向きに剪断流を加えている。

## 共同研究者・謝辞

本研究に使用した細胞株は、研究代表者が博士研究員として所属していたフランス・パスツール研究所の Duménil 研究室から譲り受けたものである。コロナ禍の中、日本の大学とフランスの研究所が交互に閉鎖し、物流や行政手続きも滞る中、細胞株の発送に粘り強く協力してくれた Duménil 研究室の皆様のおかげで、研究計画に遅れが出たものなんとか研究を遂行できた。心より感謝する。

## 文献

- 1) Nishiguchi D, Nagai KH, Chaté H, Sano M. Long-range nematic order and anomalous fluctuations in suspensions of swimming filamentous bacteria. *Physical Review E*. 2017 Feb 7;95:020601(R). PMID: 28297912 DOI: 10.1103/PhysRevE.95.020601
- 2) Nishiguchi D, Sano M. Mesoscopic turbulence and local order in Janus particles self-propelling under an ac electric field. *Phys Rev E*. 2015 Nov;92(5):052309. Epub 2015 Nov 13. PMID: 26651697 DOI: 10.1103/PhysRevE.92.052309
- 3) Poncet A, Bénichou O, Démery V, Nishiguchi D. Pair correlation of dilute active Brownian particles: From low-activity dipolar correction to high-activity algebraic depletion wings. *Phys Rev E*. 2021 Jan;103(1-1):012605. PMID: 33601595 DOI 10.1103/PhysRevE.103.012605.
- 4) Iwasawa J, Nishiguchi D, Sano M. Algebraic correlations and anomalous fluctuations in ordered flocks of Janus particles fueled by an AC electric field. *arXiv*. 2020 Nov 30; arXiv:2011.14548. PMID: N/A DOI: N/A
- 5) Nishiguchi D, Aranson IS, Snezhko A, Sokolov A. Engineering bacterial vortex lattice via direct laser lithography. *Nature Communications*. 2018 Nov 19;9(1):4932. PMID: 30367049 DOI: 10.1038/s41467-018-06842-6
- 6) Reinken H, Nishiguchi D, Heidenreich S, Sokolov A, Bär M, Klapp SHL, Aranson IS. Organizing bacterial vortex lattices by periodic obstacle arrays. *Communications Physics*. 2020 May 7;3:76. PMID: N/A DOI: 10.1038/s42005-020-0337-z
- 7) Kennouche P, Charles-Orszag A, Nishiguchi D, Goussard S, Imhaus AF, Dupré M, Chamot-Rooke J, Duménil G. Deep mutational scanning of the *Neisseria meningitidis* major pilin reveals the importance of pilus tip-mediated adhesion. *EMBO J*. 2019 Nov 15;38(22):e102145. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31609039 DOI 10.15252/embj.2019102145.