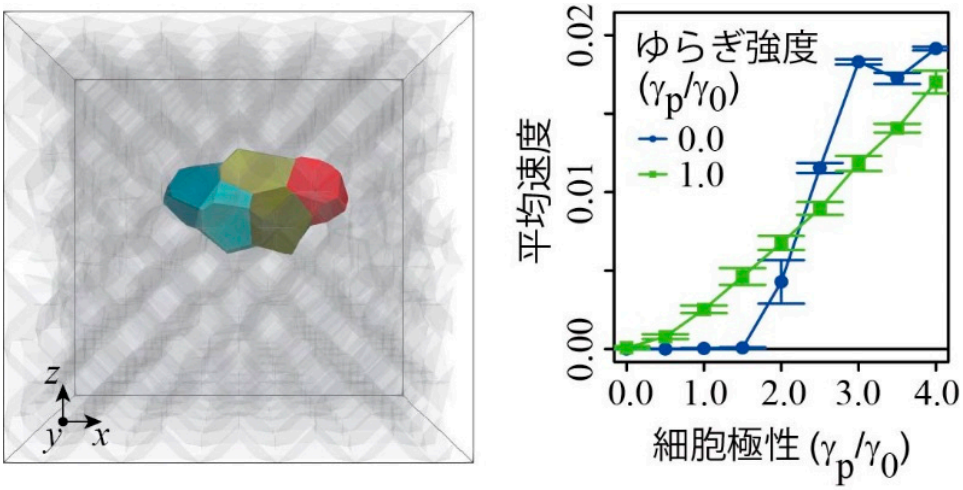
194　器官形成における細胞骨格の動的ゆらぎ特性とその役割	奥田　覚

【目的】多細胞生物の器官形成は、多細胞の自己組織的な変形過程であり、マクロな組織レベルにおいて頑強に制御されている。一方で、この器官形成は、細胞の力発生に駆動される非平衡過程でもあり、ミクロな分子・細胞レベルの大きな“ゆらぎ”を含んでいる。特に、細胞骨格等の力発生におけるゆらぎは、組織レベルの機械物性の制御に関わり、正常な器官形成に必要である。そこで本研究では、多細胞の集団運動を例とし、細胞の力発生におけるゆらぎがその集団運動に及ぼす影響を解明した。

【方法】3 次元バーテックスモデルを用いた数値シミュレーションにより、3 次元組織中における細胞の集団運動の過程を再現した。ここで、アクチン細胞骨格等の振る舞いから生じる細胞のゆらぎは、細胞間の界面張力のノイズとして表現した。

【結果】数値シミュレーションにより、細胞間の接着力や細胞表面の収縮力を表現する界面張力が、3 次元空間における細胞の集団運動を誘導することを示した。この過程では、界面張力がクラスター全体を通して前方から後方への細胞ー細胞境界の流れを誘導し、駆動力を生み出していた。特に、界面張力のゆらぎには細胞極性が弱い状況でも細胞の集団運動を引き起こす役割があることが明らかになった。

3 次元組織中における細胞の集団運動



194. 器官形成における細胞骨格の動的ゆらぎ特性とその役割

奥田　覚

金沢大学 ナノ生命科学研究所

Key words：集団運動，力学シミュレーション，ゆらぎ

緒　言

細胞は、高密度の細胞外マトリックス（ECM）や強固に接着した細胞によって四方から閉じ込められた 3 次元組織の中で、方向転換しながら移動する。このような運動特性は、発生、免疫防御、創傷治癒などの生理的プロセスや、がんの浸潤で観察される。重要なことは、ほとんどの細胞が 3 次元空間でクラスターを形成しながら集団で移動することである（以下、クラスター運動と呼ぶ）。ここ数十年の間に、細胞が平面基板上を個々に、あるいは集団で移動する様子が盛んに研究されてきた。特に、最近の研究では、3 次元空間における単一細胞の移動メカニズムが明らかにされている。しかし、細胞がどのようにしてクラスター運動を引き起こすのかについては、ほとんど分かっていない。そのため、どのような条件下で単細胞あるいはクラスターの運動が誘導されるのかは不明である。

クラスター運動の過程では、細胞は互いに力を及ぼし合う。細胞がクラスターとして移動するためには、細胞間でいくつかの種類の力が相互に作用する必要がある。これらの力の中で鍵となるのは、様々な細胞の振る舞いに共通して関与する能動的な力であると考えられる。すなわち、(i) 細胞と細胞の境界における収縮力は、細胞が境界面積を減少させることができ、(ii) 接着力は、境界面積を増加させ、細胞と細胞の接触を強化することができる。(i) と (ii) の力は、移動に何らかの形で関与していると予想されているが、これらの力がどのように統合されて 3 次元空間でのクラスター運動を駆動するのかは不明である。

力 (i) と力 (ii) の役割は、形態形成の文脈でよく研究されてきた。これらの研究では、力 (i) ― (ii) が引き起こすさまざまな現象を説明するために、Potts モデルや頂点モデルなどの数学的モデルが用いられてきた。重要なのは、これらのモデルでは、力 (i) および (ii) が粗視化された界面張力で表現されていることである。例えば、アクトミオシンの収縮力やカドヘリンによる接着力は、界面張力の強さという一つのパラメータだけで表現される。

力 (i) と力 (ii) に加えて、細胞の動きに方向性を持たせるためには、細胞極性が必要である。例えば、先駆的な研究により、移動する各細胞は、アクトミオシンが細胞表面の後部に局所的に蓄積し、細胞表面の張力が偏るような極性を持っていることが示された [1]。この偏った張力により、細胞表面が前方から後方に向かって流れ、細胞を 3 次元空間で前進させる推進力が発生する [2]。したがって、極性張力は、クラスター運動にも重要な役割を果たしていると考えられる。

本研究では、簡単な数理モデルを構築することで、界面張力がクラスター運動を誘導するかどうかを明らかにした [3]。我々は、多細胞のダイナミクスを単一細胞の分解能で記述する 3 次元バーテックスモデルを用いて、数値シミュレーションを行った。まず、界面張力によって、細胞が 3 次元組織内を個別に移動できるかどうかを検証した。次に、界面張力によって、細胞がクラスターとして集団運動できることを明らかにした。重要なことは、クラスター運動のメカニズムが、クラスター内の細胞-細胞界面の方向性のある流れによって説明されることである。さらに、接着力やノイズの強さに応じて、いくつかの異なる移動モードが生じた。

方　法

箱の中に細胞が詰められた単純なシステムを考えた（図 1a）。箱は$-L/2 \le \alpha \le L/2$ $(\alpha = x, y, z)$ 内の立方体とし、

$\alpha = \pm L/2$ に周期境界条件を課した。箱は N_t $(= 432)$ 個の細胞で埋められ、そのうち $y = \pm L/2$ と $z = \pm L/2$ の周りの細胞は座標に固定されている。各細胞の体積は V_0 に拘束されており、そこから箱の大きさは $L = (N_\mathrm{t} V_0)^{1/3}$ と書かれる。この系の細胞には、極性を持つ細胞と持たない細胞の 2 種類がある（以下、それぞれ極性細胞、非極性細胞と呼ぶ）。極性細胞のみが極性を持ち、アクトミオシンを細胞内に局在させるためのノイズを持つことができ、非極性細胞は極性もノイズも持たない。非極性細胞は、極性細胞とは異なる種類の周囲の細胞を単純に表すだけでなく、極性細胞を取り囲む ECM などの受動的な粘弾性物質を表すこともできる。

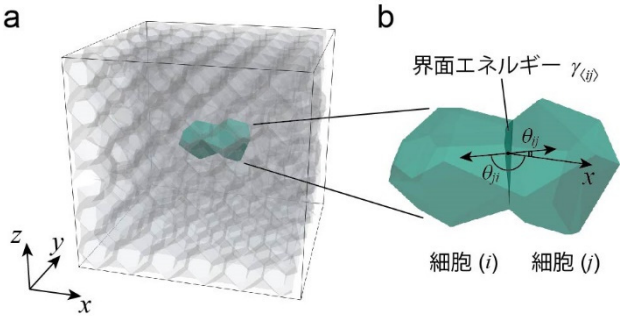


図 1. 数理モデル

a） 元空間の細胞で満たされた箱。個々の細胞の形状は多面体で表されている。

b） 細胞－細胞間の界面エネルギー$\gamma_{\langle ij \rangle}$は、$i$ 番目と j 番目に隣接する細胞が共有する$\langle ij \rangle$番目の多角形の境界面に導入される。i 番目の細胞と$\langle ij \rangle$番目の面との角度θ_{ij}は、x軸と$\langle ij \rangle$番目の面の法線ベクトルとの関係で定義され、その方向は i番目の細胞の外側に向かっている。

3 次元バーテックスモデルでは、3 次元組織に埋め込まれた各細胞の形状を、隣接する細胞が共有する頂点を持つ多面体で表現する（図 1b）。細胞の形状や配置は、多面体を構成する頂点の位置と、頂点間のネットワークによって記述される。$\boldsymbol{r}_i$で表される i番目の頂点の位置の時間発展は次のように与えられる。

$$\eta_\mathrm{v} \left(\frac{\partial \boldsymbol{r}_i}{\partial t} - \bar{\boldsymbol{v}}_i \right) = -\boldsymbol{\nabla} U \tag{1}$$

式（1）の左辺は、i番目の頂点にかかる摩擦力である(1)。ここで、η_vは頂点の摩擦係数である。ベクトル$\bar{\boldsymbol{v}}_i$は速度場であり、周囲の細胞の平均速度として定義され、j 番目の細胞の速度は j 番目の細胞を構成する頂点の平均速度として定義される。式（1）の右辺は、Uで表される実効的な自由エネルギーから得られる i番目の頂点にかかる機械的な力である。式（1）で表される細胞の動きの間に、ネットワーク内の個々のエッジや多角形が時折収縮して、隣の細胞に出会ったり、引っ込んだりする［4］。

ここでは、細胞が以下のような単純な自由エネルギーを持っていると仮定する。

$$U \equiv \sum_i^{\mathrm{cell}} \frac{1}{2} k \left(\frac{V_i}{V_0} - 1 \right)^2 + \sum_{\langle ij \rangle}^{\mathrm{boundary}} \gamma_{\langle ij \rangle} A_{\langle ij \rangle} \tag{2}$$

ここで、第 1 項と第 2 項はそれぞれ体積拘束エネルギーと界面エネルギーを示す。第 1 項では、各細胞の体積の非圧縮性をと仮定し（$V_i \sim V_0$）、定数kを界面エネルギーよりもはるかに大きく設定する。第 2 項では、$\gamma_{\langle ij \rangle}$と$A_{\langle ij \rangle}$が、$i$番目と j番目の細胞の間の界面の張力と面積を表す（図 1b）。細胞表面の力（アクトミオシンの収縮力やカドヘリンを介した接着力など）の合力は、張力$\gamma_{\langle ij \rangle}$で表され、例えば、$\langle ij \rangle$番目の界面の収縮力が高く、局在性の高いアクトミオシンによって駆動される場合は、大きな$\gamma_{\langle ij \rangle}$で表される。同様に、局在化した接着分子によって駆動される i 番目と j 番目の細胞間の接着は、小さな$\gamma_{\langle ij \rangle}$で表現される。

各極性細胞の極性の方向は、単純にx軸とした。アクトミオシン依存の駆動力として極性の方向に依存する界面エネルギーを導入した。このエネルギーの量は、x 軸と各細胞表面の法線ベクトルとのなす角、すなわち法線ベクトルの方向が i番目の細胞の外側に向かう$\langle ij\rangle$番目の境界線、θ_{ij}に依存する（図 1b）。

また、界面エネルギーの変化は、移動する細胞で実験的に観察されるアクトミオシンの動的な流れを反映して、極性のある細胞表面にのみ導入した。さらに、カドヘリンを介した接着など、細胞間の相互作用を表現するために、細胞間の接着を導入した。細胞間の接着の強度は、相互作用する細胞の種類、すなわち極性細胞と非極性細胞によって異なる可能性がある。そこで、式（2）の$\langle ij\rangle$番目の境界面における界面張力を下記のように定義した。

$$\gamma_{\langle ij\rangle} \equiv \frac{\gamma_i^{(\mathrm{p})}}{2}\left(1+\cos\left(\theta_{ij}-\pi\right)\right)+\frac{\gamma_j^{(\mathrm{p})}}{2}\left(1+\cos\left(\theta_{ji}-\pi\right)\right)+\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{n})}w_{\langle ij\rangle}+\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})} \qquad (3)$$

第 1 項と第 2 項は、それぞれ第 i番目と第 j番目の細胞の界面張力を示し、細胞の極性を表す。ここで、定数$\gamma_i^{(\mathrm{p})}$と$\gamma_j^{(\mathrm{p})}$は、それぞれ i番目と j番目の細胞の極性の強さを表す係数である。θ_{ij}は後方に向かって大きくなるため、各細胞の後方では極性のある張力が高くなる。最初の二つの項は$\theta_{ij}=\pi$のときにそれぞれ最大となる（$=\gamma_i^{(\mathrm{p})}$）。第 3 項は強度$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{n})}$のノイズを表し、$w_\alpha$は$\langle w_\alpha(t)\rangle=0$、$\langle w_\alpha(t_1)w_\beta(t_2)\rangle=\delta_\alpha\delta_\beta\exp(-|t_1-t_2|/\tau)$を満たす。$\delta_\alpha$はクロネッカーデルタ、$\tau$はノイズの緩和時間で、細胞の集団運動を説明する 2D および 3D モデルで用いられている。第 4 項の$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}$は、$i$番目の細胞と j番目の細胞の間の接着の強さを示しており、すなわち、$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}$が小さいほど接着の強さが高いことを示している。

式（3）の界面張力では、極性項とノイズ項は極性を持つ細胞表面にのみ考慮した。また、極性細胞と非極性細胞の間の接着力は、同じ種類の細胞間の接着力よりも低い場合がある。接着力は、同種の細胞間では$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}=\gamma_0$、極性細胞と非極性細胞の間では$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}=\gamma_1$（$\geq\gamma_0$）とした。パラメータは、単位長さ$(V_0)^{1/3}$、単位時間$\eta_\mathrm{c}/20\gamma_0(V_0)^{2/3}$、単位エネルギー$\gamma_0(V)^{2/3}$で無次元化している。緩和時間は $\tau=3\eta_\mathrm{c}/20\gamma_0(V_0)^{2/3}$とした。残りのパラメータは、$\gamma_1$、$\gamma_\mathrm{p}$、$\gamma_\mathrm{n}$である。

結果および考察

箱の中に複数の極性細胞がある状況を考え、細胞がクラスターとして動くかどうかを評価した（図 2）。$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}$がすべての細胞の間で同じ強度を持っていたとき、極性細胞はバラバラになって前進した。一方、極性細胞と非極性細胞の間で$\gamma_{\langle ij\rangle}^{(\mathrm{a})}$が大きい場合、つまり、同じ種類の細胞が集合する傾向がある場合、極性細胞はクラスターを形成し、運動中も維持された（図 2a）。

クラスター運動は、クラスター全体の界面の流れによって引き起こされた。つまり、極性細胞と非極性細胞の間の界面が、クラスター表面に沿って、クラスターの前部に近い細胞から後部に近い細胞へとリレーされるのである（図 2b）。このプロセスをより明確に説明するために、極性細胞と非極性細胞の境界に位置する面 S に注目する（図 2b）。面 S は始め、クラスターの細胞（i）に位置していた。シミュレーションでは、面 S は、細胞（i）の後ろにある隣接した細胞（ii）に広がり、細胞（i）から細胞（ii）へと徐々に移動し、最終的には細胞（ii）に完全に移動した。

細胞から細胞への界面の移動は、隣り合う細胞間の界面張力の違いを考えることで理解できる。図 2b の t =440 の時点で、面 S が（i）と（ii）の両方の細胞にまたがっている状況に注目してみよう。細胞（i）の面 S は、細胞（i）の後方に位置し、負の x軸に向かっているため、界面張力が大きい。一方、細胞（ii）の S 面は、細胞（ii）の前面に位置し、正の x軸方向に向いているため、界面張力は小さい。界面張力はエネルギー密度と等価であるため、面 S はエネルギー的には細胞（i）よりも細胞（ii）に位置することを好む。極性細胞間の境界でも同じような動きが起こるが、隣接する極性細胞間の動きが競合して、クラスター内の極性細胞の配置を維持している。細胞間の界面のリレーは、クラスターの前端から後端まで続き、この方向性のある流れが周期的に繰り返されることで、クラスターは前進する。これらの結果は、単一細胞とクラスターの移動に共通するメカニズムである。すなわち、単一細胞またはクラスターを物体と見なし、物体表面の方向性のある流れが前方から後方に向かって流れることで、物体が前方に移動すると理解できる。

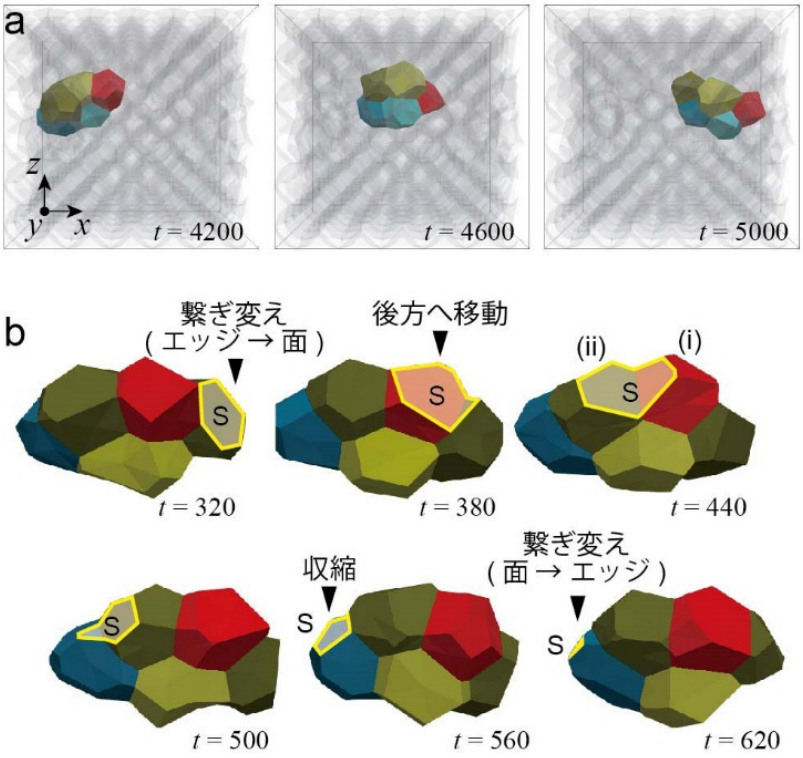


図 2. 3D 空間における細胞クラスターの運動

a) クラスター化した細胞の移動の時間経過を示す。個々の極性細胞は異なる色で示され、非極性細胞は半透明の灰色で示されている。

b) クラスター内の境界面を前方から後方へと中継する過程。極性細胞と非極性細胞の境界にある面 S が、クラスターの前端から後端へと中継された。t =440 の時点で、面 S は (i) と (ii) の細胞にまたがっている。

考　察

以上のことから、3 次元バーテックスモデルを用いたシミュレーションにより、界面張力が、3 次元空間での細胞のクラスターとしての集団運動を引き起こすことが明らかになった。このクラスター運動のメカニズムを、マランゴニ効果になぞらえて説明した。すなわち、界面張力によって、細胞クラスター内の細胞-細胞界面の方向性のある流れが誘導されることを示した。また、単一細胞およびクラスター運動を決定する条件として、細胞を前進させる方向性を持つ細胞極性の存在と、クラスターを形成するための細胞間の不均一な接着の存在を明らかにした。細胞間の界面張力は、アクトミオシンや接着分子の蓄積によって調節されるため、単一細胞やクラスター運動は、各細胞内の局所的な蓄積によって駆動されることになる。移動する細胞がクラスターを形成するかどうかは、細胞間の接着分子の種類と発現レベルによって決まると考えられる。これらの結果は、生体システムにおける細胞の集団運動が界面張力によって駆動されているかどうかという問題を投げかける。

共同研究者

本研究の共同研究者は、北海道大学電子科学研究所の佐藤勝彦博士である。

文　献

1) Bergert, M., Erzberger, A., Desai, R. A., Aspalter, I. M., Oates, A. C., Charras, G., & Paluch, E. K. 2015. Force transmission during adhesion-independent migration. Nature cell biology, 17(4):524-529. PMID: 25774834 PMCID: PMC6485532 DOI: 10.1038/ncb3134

2) Farutin, A., Étienne, J., Misbah, C., & Recho, P. 2019. Crawling in a fluid. Physical review letters, 123(11):118101. PMID: 31573254 DOI: 10.1103/PhysRevLett.123.118101

3) Okuda S, Sato K. Polarized interfacial tension induces collective migration of cells, as a cluster, in a three-dimensional tissue. 2021 Apr 27; arXiv:2104.13059

4) Okuda, S., Inoue, Y., Eiraku, M., Sasai, Y., & Adachi, T. 2013. Reversible network reconnection model for simulating large deformation in dynamic tissue morphogenesis. Biomechanics and modeling in mechanobiology, 12(4):627-644. PMID: 22941051 DOI: 10.1007/s10237-012-0430-7