



Title	Mechanical basis of the competition for space in heterogeneous cell populations
Author(s)	坪井, 有寿
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70675
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (坪井 有寿)

論文題名

Mechanical basis of the competition for space in heterogeneous cell populations
(ヘテロな細胞集団間でおこる競合的な組織占有の力学的基盤の解明)

論文内容の要旨

地球上の多種多様な生き物は、互に関わりあうことで共同社会(生態系)を構成する。同じ社会に異なる種が存在することによって、単一種のみで存在していたときには見られないような協調・競合的な振る舞いが生まれる。たとえば、同じ場所に異なる種が息すると、限られた領地をめぐって、生息域の棲み分け、競争排除、共存などが起こる。このような領地争いが、多細胞生物における細胞社会にも存在することがわかりつつある。たとえば、化学的・力学的に異なる細胞集団を同一組織内に共存させると、細胞同士が互いにモザイク状に混ざり合う、クラスター状に分離するなど、組織という限られた領地内で様々な空間分布を示す(Tsuboi et al. 2017)。また、近接する異なる細胞同士で、互いにその適応度を競合し領地を奪い合う適者生存競争も報告されている。本研究では、生体内に生じた腫瘍などの適応度の高い細胞と正常な周辺組織の間で見られる領地争いに注目した。

腫瘍形成の初期段階において、生体内に生じた変異細胞は周囲の正常細胞による空間的制約を受けながら拡大していく。この領地拡大は、単に腫瘍細胞の増殖が速いことのみ起因するのではなく、“細胞競合”によって、相対的な適応度の高い変異細胞(勝者)が正常な周辺組織(敗者)を排除することで駆動される(Eichenlaub, Cohen, and Herranz 2016; Suijkerbuijk et al. 2016)。複数の細胞競合関連因子の同定により、適応度の低い細胞を細胞死に導く機構が解明された。一方で、細胞死に引き続いて、勝者が選択的に失われた空間を埋めていく機構はよくわかっていない。そこで、上皮組織の力学的変形を再現する数理モデルCell Vertex Model (CVM)とショウジョウバエ実験を組み合わせ、細胞死で失われた領地をめぐって周囲の細胞がどのように競合するかを調べた。

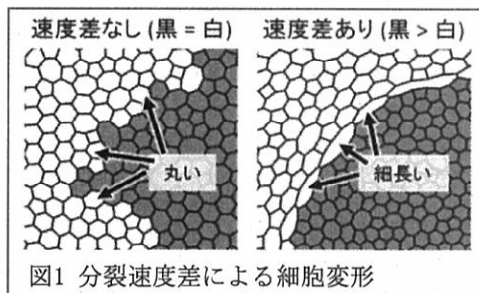


図1 分裂速度差による細胞変形

これまでに、多くの細胞競合系において勝者が高い増殖活性をもつことが報告されている(例: Hippo経路変異細胞 (Tyler et al. 2007))。そこでまず、勝者の出現により生じた分裂速度差が細胞集団へ与える影響を調べた。その結果、CVMとショウジョウバエ実験の両方において、分裂の遅い細胞が細胞集団(クローン)の境界に沿って細長く変形することを見出した(図1右)。次に、ショウジョウバエ上皮の細胞競合ライブ観察系を構築し、Yki過剰発現細胞(勝者)に隣接する野生型細胞(敗者)が細胞死によって排除される過程を定量画像解析した(図2)。野生型細胞は細胞死の前後でほとんど面積に変化がないのに対して、Yki過剰発現細胞は細胞死直後から急激に成長して死んだ細胞の面積をほぼ占有した。興味深いことに、この非対称な面積獲得は、死んだ細胞の異方性が高い(細長い; 図1右)ほど顕著になった。死ぬ細胞の形が死んだ細胞の領地をめぐる競合の勝敗を規定することから、非対称な面積獲得は、勝者細胞の自律的な成長に起因するのではなく、死細胞と勝者細胞の相互作用によって細胞非自律的に制御されることが予測された。加えて、細胞の力学的性質に基づいて構築されたCVMによる解析でも、ライブ観察と同様に勝者が選択的に拡大したことから、細胞死後の非対称な面積獲得は生化学反応よりもむしろ力学的・幾何学的な細胞性質により制御されることが示唆された。

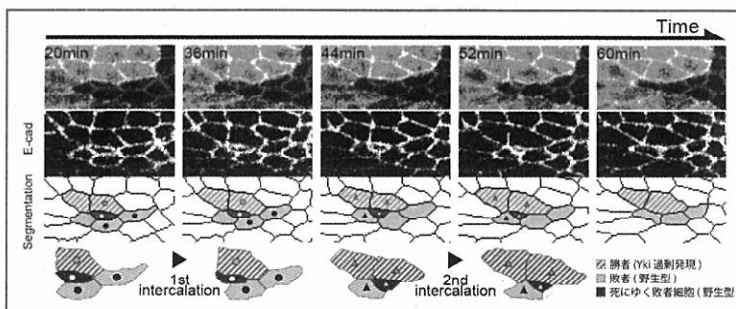


図2細胞死で失われた領地をめぐる競合 (ショウジョウバエ実験)

Yki (Hippo経路の下流で働く転写共役因子)を過剰発現した細胞に隣接する野生型細胞が

以上の結果より、死ぬ細胞が細長くなることで、勝者が選択的に領地を占有していくことが示唆された。ではなぜ、死ぬ細胞の幾何形状が勝者細胞の拡大に重大な影響をもたらすのだろうか？死細胞が異方的である(細長い)場合、異方的でない(丸い)場合の死ぬプロセスの違いを検討したところ、死細胞が排除される過程で繰り返し起こる細胞の配置換え(cell intercalation; 図2下)の方向に違いがあった。死ぬ細胞の形が細長い場合には、クローン境界から垂直な細胞辺にバイアスしてintercalationが起こるのに対して、丸い場合には全ての細胞辺で等確率にintercalationが起こった。intercalationは面積変化を伴うため(図3; Heller et al., 2016)、intercalation方向のバイアスにより、勝者選択的な拡大が達成されると予想した。そこで、実際にCVMにおいてintercalationの方向に人為的なバイアスを導入し、細胞死後の面積変化を測定した結果、intercalationの方向制御のみで十分に勝者細胞の拡大が再現できた。さらに、intercalationを介した勝者細胞の拡大が長期間維持されることで、組織スケールで勝者の領地が拡大することも確認できた。

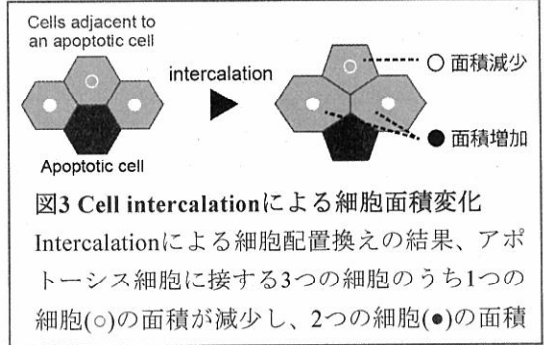


図3 Cell intercalationによる細胞面積変化
Intercalationによる細胞配置換えの結果、アポトーシス細胞に接する3つの細胞のうち1つの細胞(○)の面積が減少し、2つの細胞(●)の面積

細胞競合は、上皮組織構造の“破壊(敗者の細胞死)”と“再構築(勝者細胞による占有)”の繰り返しと捉えることができる。一般的に、上皮組織は隣接する細胞間が接着し強く結合したシート状の構造をもつため、上皮の接着結合を維持したまま敗者を勝者に置き換えるには、細胞死によって失われた空間を効率的に埋める機構が必要である。本研究により、上皮組織に共通するcell intercalationという仕組みを介して、勝者細胞の面積拡大に有利な形で細胞間の隣接関係が変化し、細胞死で失われた領地を適切に埋めることが示された。細胞の面積成長は、力学的なフィードバックを介して細胞増殖を促進することが報告されており(Aragona et al. 2013; Gudipaty et al. 2017)、勝者細胞の面積成長はさらに増殖活性を高めうると予想される。本研究で明らかにした細胞死後の勝者優先的な組織占有メカニズムは、腫瘍が空間的な制約を受けつつも急速にその障壁を広げる原理の理解につながると考えられる。

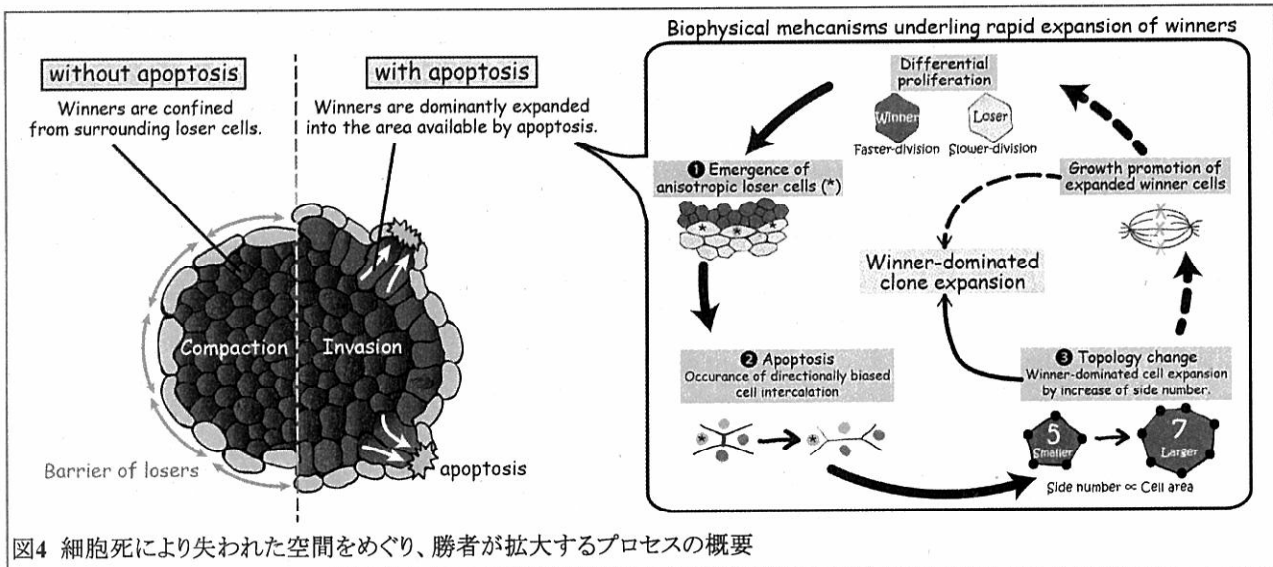


図4 細胞死により失われた空間をめくり、勝者が拡大するプロセスの概要

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (坪 井 有 寿)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	岡田 雅人
	副 査	招へい准教授	小田 広樹
	副 査	准教授	藤本 仰一

論文審査の結果の要旨

瘍形成の初期段階において、生体内に生じた変異細胞は周囲の正常細胞による空間的制約を受けながら拡大していく。この領地拡大は、単に腫瘍細胞の増殖が速いことのみ起因するのではなく、“細胞競合”によって、相対的な適応度の高い変異細胞(勝者)が正常な周辺組織(敗者)を排除することで駆動される。これまでの研究で、複数の細胞競合関連因子の同定により、適応度の低い細胞を細胞死に導く機構が解明された。一方で、細胞死に引き続いて、勝者が選択的に失われた空間を埋めていく機構はよくわかっていなかった。そこで、本論文において、上皮組織の力学的変形を再現する数理モデル Cell Vertex Model (CVM)とショウジョウバエ実験を組み合わせ、細胞死で失われた領地をめぐって周囲の細胞がどのように競合するかが調べられた。

これまでに、多くの細胞競合系において勝者が高い増殖活性をもつことが報告されている(例: Hippo 経路変異細胞(Tyler et al., 2007))。そこでまず、勝者の出現により生じた分裂速度差が細胞集団へ与える影響が調べられた。その結果、CVM とショウジョウバエ実験の両方において、分裂の遅い細胞が勝者の細胞集団の境界に沿って細長く変形することが見いだされた。次に、ショウジョウバエ上皮の細胞競合ライブ観察系を構築し、Yki 過剰発現細胞(勝者)に隣接する野生型細胞(敗者)が細胞死によって排除される過程が定量画像解析された。野生型細胞は細胞死の前でほとんど面積に変化がないのに対して、Yki 過剰発現細胞は細胞死直後から急激に成長して、死んだ細胞の面積をほぼ占有することが示された。興味深いことに、この非対称な面積獲得は、死んだ細胞の異方性が高いほど顕著になった。そこで、死細胞が異方的である(細長い)場合、異方的でない(丸い)場合の死ぬプロセスの違いを検討したところ、死細胞が排除される過程で繰り返し起こる細胞の配置換え(cell intercalation)の方向に違いがあることが示された。死ぬ細胞の形が細長い場合には、勝者細胞集団の境界から垂直な細胞辺にバイアスして intercalation が起こるのに対して、丸い場合には全ての細胞辺で等確率に intercalation が起こった。そこで、CVMにおいて intercalation の方向に人為的なバイアスを導入し、細胞死後の面積変化への影響が検討されたところ、intercalation の方向制御のみで十分に勝者選択的な拡大が達成されることが示された。さらに、intercalation を介した勝者細胞の拡大が長期間維持されることで、組織スケールで勝者の領地が拡大することが確認された。

本研究により、上皮組織に共通する cell intercalation という仕組みを介して、勝者細胞の面積拡大に有利な形で細胞間の隣接関係が変化し、細胞死で失われた領地を適切に埋めることが示された。細胞の面積成長は、力学的なフィードバックを介して細胞増殖を促進することが報告されており(Aragona et al. 2013; Gudipaty et al. 2017)、勝者細胞の面積成長はさらに増殖活性を高めうると予想される。本研究で明らかにした細胞死後の勝者優先的な組織占有メカニズムは、腫瘍が空間的な制約を受けつつも急速にその陣地を広げる原理の理解につながると考えられる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。