

25. 生体組織における力学過程の関与と応答メカニズムの解明

京都大学大学院薬学研究科 教授 倉永 英里奈

概要

本研究は、ショウジョウバエ上皮組織をモデル系として、光遺伝学を用いた非侵襲的な力学操作により、生体組織における物理的刺激への応答機構の解明を目的とした。光刺激により細胞内収縮を誘導し、組織変形を人為的に再現することに成功した。変形機構の解析から、従来知られる頂端収縮（apical constriction）に加え、細胞側方の接着構造に依存した収縮（lateral constriction）が重要であることが示唆された。さらに、誘導された組織変形は成虫までに回復すること明らかとなり、組織が力学的摂動に対して可逆的に応答する機構の存在が示された。発生過程における変形維持および回復の時間窓を同定し、単一細胞解析によりその分子基盤の解明を進めている。加えて、遺伝学的解析および網羅的スクリーニングにより、回復機構に関与する候補遺伝子群を同定した。本研究は、組織形成および恒常性維持における「力」の役割に新たな視点を提供するものである。

背景および目的

生命現象においては、細胞内外で発生する力学作用が重要な役割を果たしている。細胞分裂や移動、組織の折りたたみや伸長といった形態形成は、アクトミオシン収縮などの力学的過程に依存している。一方で、これらの力学的変化は、単に結果として生じるのではなく、細胞が物理的刺激を感知し、化学シグナルへ変換する「力覚応答」を介して制御されていると考えられる。しかしながら、従来のメカノバイオロジー研究では、針や圧力などを用いた接触型の機械刺激法が主流であり、生体組織において非侵襲的かつ長期的に力学応答を解析することは困難であった。

本研究では、光遺伝学を用いた非侵襲的な力学操作技術を確立し、生体組織における物理的刺激の伝搬および応答機構を解析することを目的とした。特に、ショウジョウバエ上皮組織をモデルとして、細胞レベルの力学操作が多細胞集団へどのように伝播し、組織形成や恒常性維持に寄与するかを明らかにすることを目指した。

方法

本研究では、光遺伝学を利用した非侵襲的な力学操作系を用い（Izquierdo et al., Nat Commun 2018）、生体組織における物理的刺激とその応答を解析した。ショウジョウバエ上皮組織において、光刺激により細胞内収縮力を誘導し、組織レベルでの変形を人為的に再現する実験系を確立した。誘導された組織変形およびその伝搬過程は、生体ライブイメージングにより経時的に観察し、光刺激条件（照射時間、頻度、領域など）を調整することで、組織応答の時空間的ダイナミクスを評価した。

組織変形の分子メカニズムの解析においては、細胞骨格系および細胞接着構造に着目した。特に、アクトミオシン収縮を中心とした細胞内張力の制御機構と、細胞間接着を担う接着結合の制御系との関係性に注目し、これらの機構がどのように組織変形へ寄与するかを検討した。そのため、候補分子に対する遺伝学的操作を行い、力学刺激後の形態変化および応答の変化を指標として機能解析を行った。

さらに、組織変形の維持および回復過程を解析するため、発生段階に応じたサンプリングを行い、時間依存的な変化を比較した。これらの結果に基づき、変形状態と回復状態を区別できる条件を設定し、単一細胞レベルでの遺伝子発現解析、及び網羅的な遺伝学的スクリーニングを実施し、組織変形の維持および回復に関与する因子の探索を行った。

結果および考察

本研究では、光遺伝学を用いた非侵襲的な力学操作により、生体組織において局所的な収縮と組織変形を高精度に誘導できることを示した。ショウジョウバエ翅成虫原基において光刺激を行うことで、特定領域に折りたたみ様の変形が再現され、細胞レベルの力学摂動が組織スケールの形態変化へと伝搬することが確認された。

組織変形の分子機構について解析した結果、従来の上皮折りたたみモデルとして広く知られている頂端収縮 (apical constriction) とは異なる特徴が見出された。具体的には、頂端接着構造に関与するカドヘリンの機能阻害による影響は限定的である一方、細胞側面における収縮および接着構造に関連した変化が顕著に観察された。これらの結果は、細胞側方における接着構造に依存した収縮 (lateral junctional contraction) が、組織変形に重要な役割を果たすことを示唆している。本成果は、上皮形態形成における新たな力学制御様式を提示するものであり、現在、論文として取りまとめを進めている。

一方で、力学刺激に対する組織応答の解析においては、当初想定していたシグナル指標の検出に技術的課題があり、解析戦略の再構築を行った。その過程で、組織変形の「維持」と「回復」という現象に着目することで、新たな知見が得られた。光刺激により誘導された組織変形は成虫において固定されるのではなく、多くの場合において正常な翅形態へと回復することが明らかとなった。この結果は、組織が力学的摂動に対して可逆的に応答し、形態を元に戻す回復機構を有することを示唆している。

この回復過程の時間的ダイナミクスを明らかにするため、光刺激後の個体を経時的にサンプリングし解析を行った。その結果、蛹化後 10 時間まではほぼすべての個体で変形が維持される一方で、その後の発生過程において回復が進行し、蛹化後約 3 日では約半数の個体で形態が回復することが明らかとなった。これにより、変形維持状態と回復状態を区別可能な時間窓が同定された。この時間窓に基づき、現在、変形維持状態 (蛹化後 10 時間以内) および回復状態 (蛹化後 3 日) のサンプルを用いた単一細胞 RNA-seq 解析を進めており、力学刺激に応答する細胞状態および分子基盤の解明を試みている。

さらに、遺伝学的解析により、JNK シグナルが形態回復に関与する可能性が示唆された。JNK 機能を抑制した条件では、力学刺激後の変形が増強され、回復が阻害されることが観察された。この結果は、JNK が単なるストレス応答にとどまらず、組織形態の回復を制御するシグナルとして機能する可能性を示している。加えて、回復機構および変形維持機構の同定を目的として、ゲノムの大部分をカバーする Deficiency 系統を用いた網羅的スクリーニングを実施した。その結果、変形がほぼ完全に回復する系統が複数同定され、回復を制御する新規遺伝子領域の存在が示唆された。現在、これらの候補領域の絞り込みおよび原因遺伝子の同定を進めている。

以上より、本研究は、生体組織における力学刺激が単に形態変化を誘導するだけでなく、その後の回復を含む動的な適応応答を引き起こすことを明らかにした。特に、力学摂動による「組織変形誘導機構」と「組織形態回復機構」という二つの制御系の存在が示唆され、メカノバイオロジーにおける新たな概念を提示する成果となった。今後、単一細胞解析および遺伝学的解析の統合により、これらの分子基盤の全体像の解明が期待される。

(完)

引用文献

- 1) Izquierdo E., Quinkler T., De Renzis S., Guided morphogenesis through optogenetic activation of Rho signalling during early Drosophila embryogenesis. Nat Commun 9(1): 2366, 2018