

生体組織の成長リズムを探る新技術の開発

— がんの新規診断法開発へ期待 —

研究成果のポイント

1. 蛍光ライブイメージングと数理モデルという手法を組み合わせ、脊椎動物の発生・成長過程にリズムがあることを発見しました。
2. この手法を発展させることで、がん細胞の特性や抗ガン剤の効果判定のための新たな解析法の開発に結びつくものと期待されます。

研究の背景

個体の発生や組織の修復、がんのような病的組織の形成には、細胞増殖が伴います。個々の細胞が分裂・増殖するメカニズムは明らかになっていますが、細胞が集団となって増殖する組織の成長過程を解析するのは困難でした。また、昔から組織の成長には、なんらかの時間的リズムがあるらしいことは報告されていましたが、組織成長のリズムを定量的に評価する報告はありませんでした。そこで、本研究では、蛍光ライブイメージングと数理モデリングを組み合わせ手法を用いて、組織成長のリズムを定量的に評価する方法を構築しました。

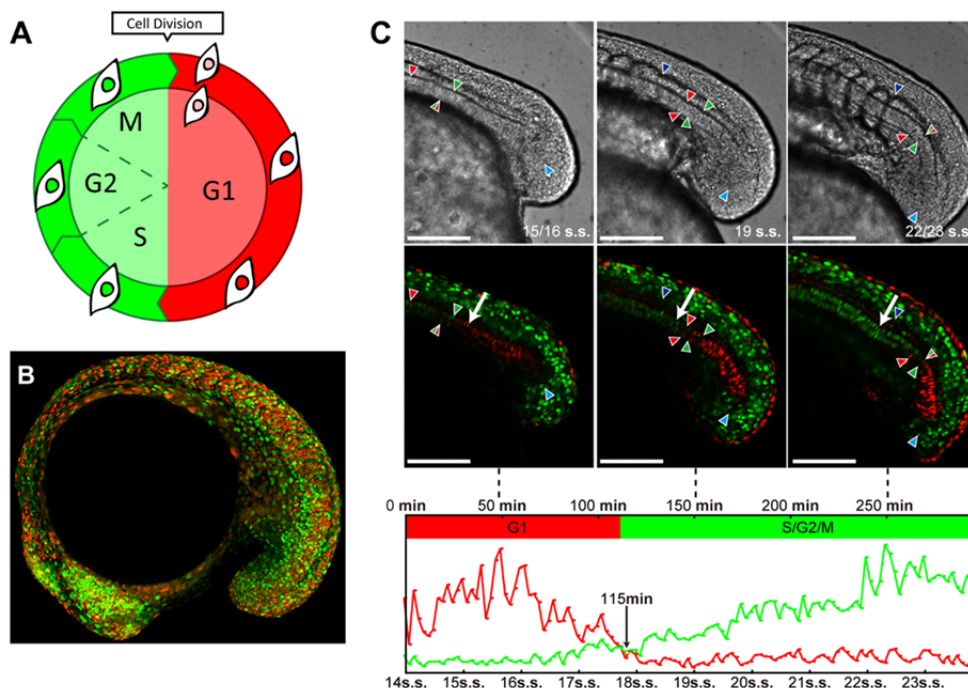
研究内容と成果

まず、個々の細胞の分裂・増殖と組織成長を定量的に評価する系として、細胞周期インディケーター:Fucci を遺伝的に組み込んだゼブラフィッシュの発生過程に注目しました (図1)。細胞周期インディケーター:Fucci は、細胞増殖の休止期・停止期を赤色、増殖分裂期を緑色の蛍光で、細胞や組織を生かしたまま観察できる蛍光マーカーです (図1A)。Fucci を持ったゼブラフィッシュを、顕微鏡下で発生させ、生きたままライブ観察することで、個々の細胞周期進行と組織の成長過程を、いっぺんに観察することができます (図1C)。また、ゼブラフィッシュの組織発生は哺乳類に比べて進行が速いので、ライブイメージング解析に適しています。こうして撮影した、蛍光ライブイメージングの画像から、細胞周期進行のタイミングや確立、細胞集団としての組織の成長を、定量的に評価しました。しかしながら、こうして得られた実測値を眺めただけでは、組織成長のリズムを正確に把握できませんでした。おそらく、個々の細胞のランダムな振る舞いが、組織の持つ本来のリズムを隠しているのだろうと考えました。

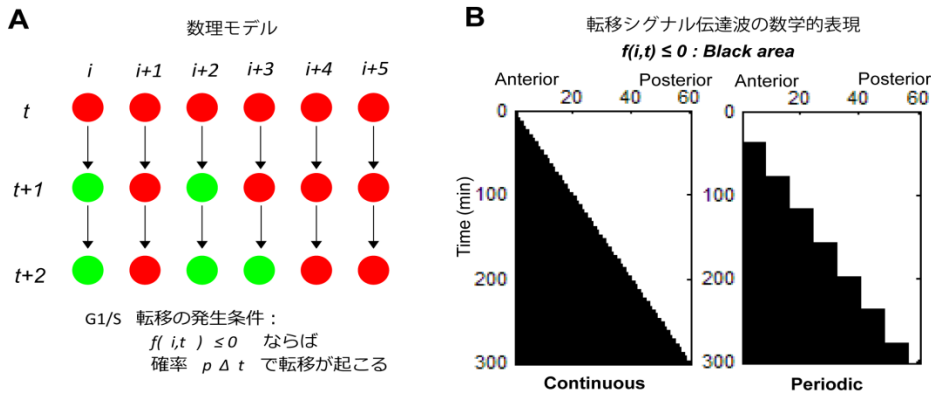
つぎに、数理モデルを構築して、ランダム細胞周期進行過程と組織成長リズムとの関連をシミュレーションしました (図2)。いくつかのシミュレーション実験を繰り返し、蛍光ライブイメージングによって得られた実測値と、統計学的に比較・検討しました (図3A)。その結果、組織の伸長リズムはおおよそ60分の周期で進行することが、明らかになりました。

社会的意義と今後の展開

がん細胞では、細胞周期進行メカニズムが破たんしていることが知られています。したがって、がん細胞の集まったがん組織の成長は、正常のとは異なる 異常なリズムが生じていると考えられます。また、現在、がん細胞の遺伝子レベルでの知識は急速に増えていますが、そういった遺伝型とがん組織の“成長型”にはどのような相関があるかは不明な点が多いのが現状です。その理由は、がん組織の“成長型”を定量する解析法がなかったからです。本研究は、ゼブラフィッシュを使った、いわゆる基盤研究ですが、この方法を、ヒトのがん細胞での解析に応用発展させることで、がん組織の”成長型”を評価できる可能性があります。がん組織の“成長型”を定量できれば、がんの診断や抗がん剤の効果を判定するための有効な解析法になることが期待されます。



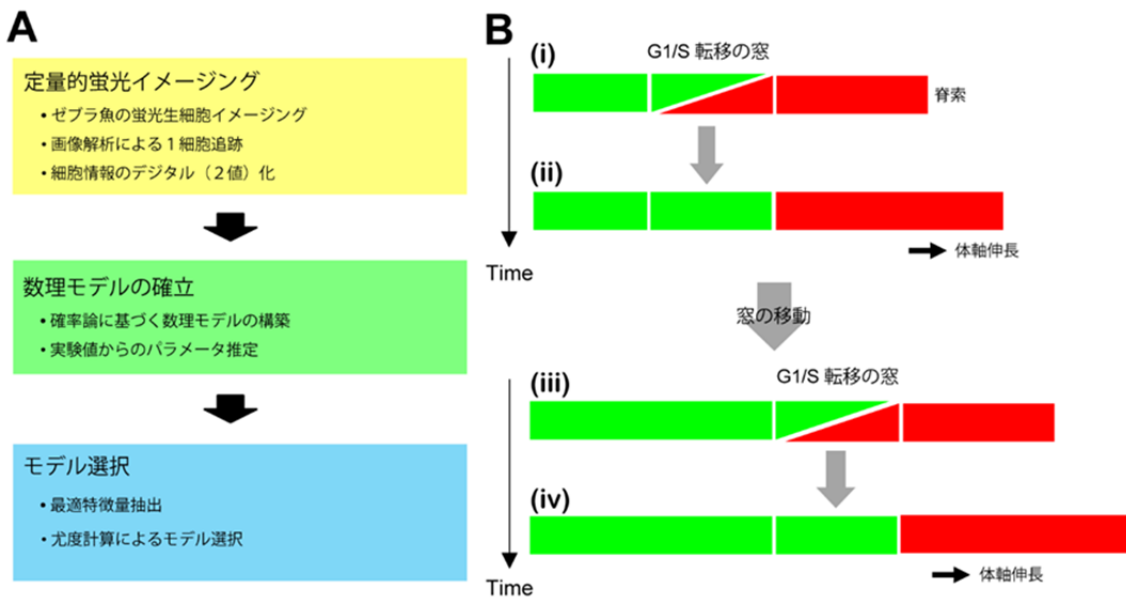
【図1】 細胞周期可視化蛍光プローブ Fucci によるゼブラ魚体軸形成過程のライブイメージング。
(A) Fucci システムの概要。Fucci を発現する細胞の核が、細胞増殖休止期 (G1 期) で赤色の、細胞増殖分裂期 (S/G2/M 期) で緑色の蛍光を発する。
(B) ゼブラ魚胚の全身蛍光画像。
(C) ゼブラ魚胚体軸形成過程のライブイメージング画像。白のスケールバーは $100\ \mu\text{m}$ 。



【図2】 数理モデルの概要。

(A)確率論に基づき数理モデルを構築。細胞増殖休止期（G1期：赤）と細胞増殖分裂期（S/G2/M期：緑）の細胞をデジタル化（2値化）して表し、ある一定の確率で休止期から増殖分裂期への移行（G1/S転移：赤→緑）が起こるとするモデル。

(B)ゼブラフィッシュ胚の組織成長が、頭側から尾側（図1Cの左から右）へ成長するのにもなって、ある細胞集団の休止期から増殖分裂期への移行（G1/S転移）が、波のように図1Cの左から右へ時間とともに移動する。この波のリズムを数学的に表現するため関数 $f(i,t)$ を導入し、コンピュータ上でシミュレーション実験を行った。



【図3】 開発した新手法と生物学的発見の概要。

(A)新手法のフローチャート。(1) 定量的蛍光イメージング。(2) 数理モデルの確立とシミュレーション実験。3) モデル選択による、実測（イメージングからのデータ）とシミュレーション実験結果の比較。これらの連続した3つのプロセスを実行することにより、組織成長リズムを探索する。

(B)今回の生物学的発見。胚発生期の体の軸を構成する脊索と呼ばれる組織は、中胚葉性の組織で将来の脊椎発生に関わる。本研究成果から、この成長期の脊索には、休止期の細胞を分裂増殖期へと移行させる領域（G1/S転移の窓）が存在し、いわば、この「細胞分裂増殖の窓」は、ほぼ60分周期で組織成長の方向へ移動することが明らかとなった。