

細胞活動から生じる組織形態形成の
連続体力学研究

竹田 宏典

目次

第1章 緒論	1
1.1 はじめに	1
1.2 細胞活動から生じる生体組織の形態形成	2
1.2.1 細胞の増殖と移動にともなう組織形態形成	2
1.2.2 細胞の収縮にともなう組織形態形成	4
1.3 組織形態形成の生体力学研究	5
1.3.1 組織形態形成の数理的研究	6
1.3.2 組織形態形成の連続体力学	7
1.4 研究の目的	9
参考文献	11
第2章 脳形態形成における細胞活動と組織成長の連続体力学モデリング	17
2.1 緒言	17
2.2 手法	19
2.2.1 組織成長の連続体力学	19
2.2.2 連続体力学の支配方程式	20
2.2.3 細胞移動の数理モデル	21
2.2.4 大脳形態形成における細胞移動の数理モデル	21
2.3 結果	24
2.3.1 細胞移動にともなう大脳層形成シミュレーション	24
2.3.2 組織成長が大脳層形成に及ぼす影響	27
2.4 考察	27
2.5 結言	30
参考文献	31
第3章 細胞活動と組織成長を考慮した脳形態形成シミュレーション	33
3.1 緒言	33
3.2 手法	35
3.2.1 小脳形態形成における細胞活動の数理モデル	35
3.2.2 小脳しわ形態形成のシミュレーションモデル	37

3. 3 結 果.....	38
3. 3. 1 細胞移動から生じる小脳しわ伸長	38
3. 3. 2 細胞移動異常により生じる小脳しわ形成不全	40
3. 4 考 察.....	42
3. 5 結 言.....	43
参考文献.....	44
第4章 エネルギー地形を用いた組織形態形成の力学的理解	47
4. 1 緒 言.....	47
4. 2 手 法.....	48
4. 2. 1 組織成長の連続体力学モデル	48
4. 2. 2 生体組織の収縮の連続体力学モデル	49
4. 3 結 果.....	50
4. 3. 1 シート状組織の形態形成シミュレーション	50
4. 3. 2 シート状組織の形態形成におけるエネルギー地形	52
4. 3. 3 エネルギー地形の柔毛初期形成過程への適用	56
4. 4 考 察.....	59
4. 5 結 言.....	60
参考文献.....	62
第5章 結 論.....	65
付録.....	68
A.1 連続体力学の支配方程式の有限要素法離散化.....	68
A.2 細胞活動の支配方程式の有限要素離散化.....	71
A.3 細胞収縮における構成関係.....	72
A.4 組織の成長と収縮により生じる形態形成に対する組織曲率の影響.....	74
参考文献.....	78
関連学術論文・学術講演	79
謝辞	83

第 1 章

緒 論

1. 1 はじめに

古くから人々は、生物のかたちに興味を引かれ、その「かたち作り」の仕組みを探求してきた。D'Arcy Thompson による古典「On Growth and Form」(Thompson 1917)により、生物の体のかたち作りが物理法則に従うことが指摘されて以来、力学的手法を用いて生命現象の理解を目指す生体力学分野では、骨や脳、心臓など、様々な生体組織の形態を決定するメカニズムが研究されている。

生体組織は、その機能に応じた性質を有する細胞と、細胞から分泌される細胞外基質により構成されており、発生過程を通じて構築されていく。特に、その形や構造が形成される過程を形態形成(Morphogenesis)という。生体組織の形態形成では、組織を構成する細胞の活動が駆動力となって組織が変形し、立体的な組織が自律的に形成される。形態形成のメカニズムを明らかにすることは、生体力学や発生生物学の発展のみならず、近年では、再生医療分野や組織工学分野において、その知見を工学的に応用し、機能的な生体組織を構築する技術の開発への貢献が期待されている。

本論文では、連続体力学に基づく数理モデリングと計算機シミュレーションを用いて、細胞活動から生じる生体組織の形態形成のメカニズムを力学的な観点から理解する。本章では、まず、生体組織の形態形成における細胞の活動と、その細胞活動から生じる組織変形の力学的なメカニズムを概説する。次に、生体組織の形態形成を理解するための生体力学研究について説明し、最後に、本研究の目的を述べる。

1. 2 細胞活動から生じる生体組織の形態形成

生体組織の形態形成において、細胞の増殖、移動、収縮など、様々な細胞の活動が観察されている。それらの活動は、細胞間の生化学的な情報の伝達などによって時空間的に制御されており、多数の細胞が協調的に振る舞うことで、形態形成が実現される。形態形成において、組織の変形を駆動するのは、協調的な細胞の活動から生じる力学的な作用であり、時空間的な制御に応じて多様な形態の組織が形成される(Ingber 2006; Heisenberg and Bellaïche 2013; Pearl et al. 2017)。本節では、形態形成における細胞の増殖と移動、収縮の力学的作用と、それらの細胞活動から生じる形態形成について概説する。

1. 2. 1 細胞の増殖と移動にともなう組織形態形成

形態形成において、生体組織は体積的に成長していく。組織成長を引き起こす主要な因子として、組織を構成する細胞の数が増加する細胞増殖が挙げられる。生体組織は、組織に隣接する他の器官や組織、あるいは、細胞外基質から力学的な拘束を受けており。このような拘束下で組織が成長すると、組織内部に応力が生じて組織が変形する。組織の成長をともなう形態形成の代表例は、大脳や小脳などの脳組織や、腸の柔毛などの上皮組織が有するしわ形状である(Fig. 1.1A)。これらの組織は、多層構造を有しており、層ごとに成長の度合いが異なると、成長が小さい層が拘束となり、成長が大きい層には圧縮の力が生じる。しわの形成は、この圧縮力から生じる力学的不安定性にともなう座屈現象であると考えられている(Hannezo et al. 2011; Tallinen et al. 2014; Budday et al. 2015a; Goriely et al. 2015; Nelson 2016) (Fig. 1.1B)。

脳組織の形態形成において、成長の不均一性が生じる一因となるのは、細胞の移動現象である(Rakic 2009; Raybaud et al. 2013; Florio and Huttner 2014; Leto et al. 2016)。例えば、大脳組織のしわ形成では、神経細胞を生み出す幹細胞が組織の深部に存在し、産生された神経細胞は、組織の表面に向かって移動し、表層の皮質層に定着する(Rakic 2009) (Fig. 1.1C)。その結果として、脳組織の表層にて成長が大きくなり、座屈変形を通じて、滑らかな脳表面にしわが形成される(Lawton et al. 2019)。近年では、しわ形成の力学的なメカニズムとして、形成されたしわ

の形態的特徴(Tallinen et al. 2014; Wang and Zhao 2015)や、しわ形成後の新たなしわの形成(Budday et al. 2015b)など、座屈変形後の形態形成について研究が進められている。

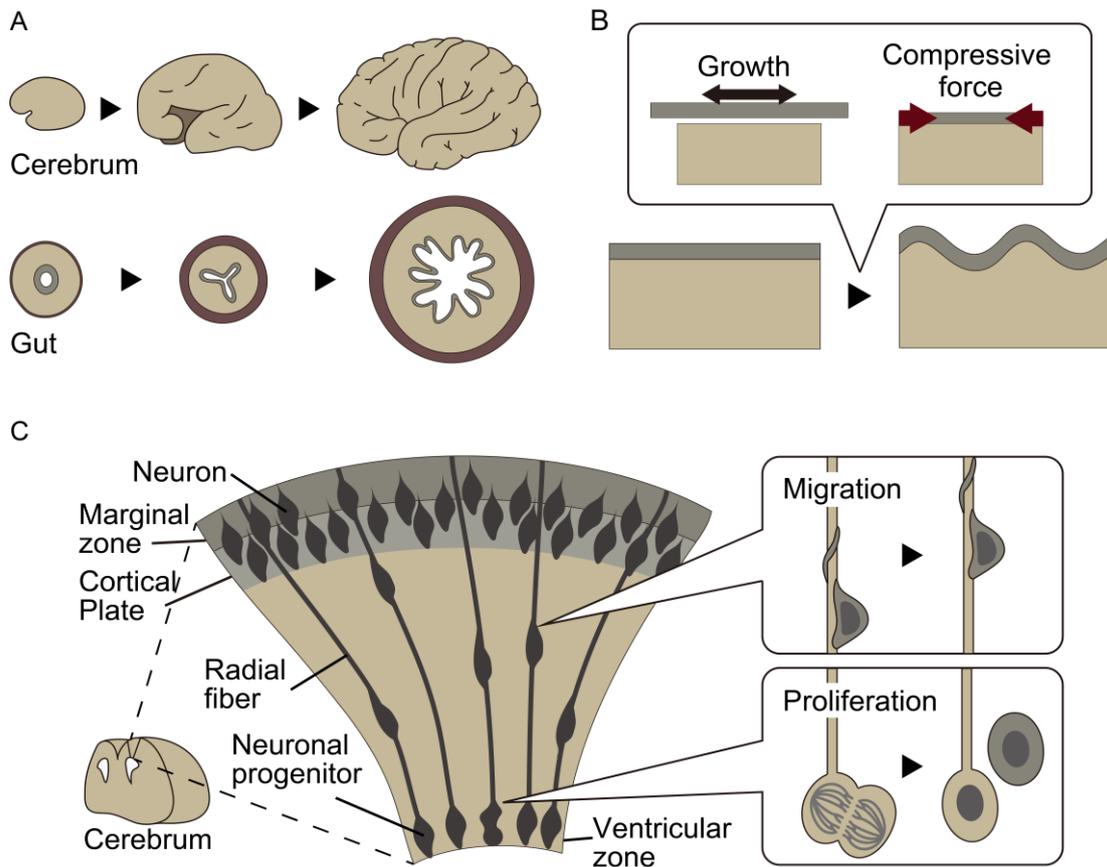


Figure 1.1 Biological tissue morphogenesis caused by tissue growth. (A) Wrinkling formation during developments of cerebrum and gut. (B) Mechanism of wrinkling formation. (C) Cell proliferation and migration driving cerebral morphogenesis.

1. 2. 2 細胞の収縮にともなう組織形態形成

組織成長から生じる圧縮力に対して、細胞の収縮は、組織に引張力を発生させ、組織変形を駆動する一因となる。細胞収縮は、細胞骨格を構成するアクチンとアクチン上を運動するモータータンパク質ミオシンの相互作用により、細胞膜が収縮して細胞形状が変化する現象である(Sawyer et al. 2010; Lecuit et al. 2011; Heisenberg and Bellaiche 2013) (Fig. 1.2A). 多細胞がシート状に並んで互いに接着した上皮組織では、細胞はシートの厚み方向に極性を有しており、アクチンとミオシンが集積した面(頂端面)において、組織表面が収縮する(Odell et al. 1981; Sawyer et al. 2010; Martin and Goldstein 2014; Pearl et al. 2017). 細胞収縮により、面外方向への陥入と突出などを通じて三次元的に組織が変形し、細胞収縮の時空間的な制御に応じて様々な形態の組織が形成されていく(Kondo and Hayashi 2015; Inoue et al. 2017) (Fig. 1.2B). 神経管や原腸などの管状組織の形成過程では、

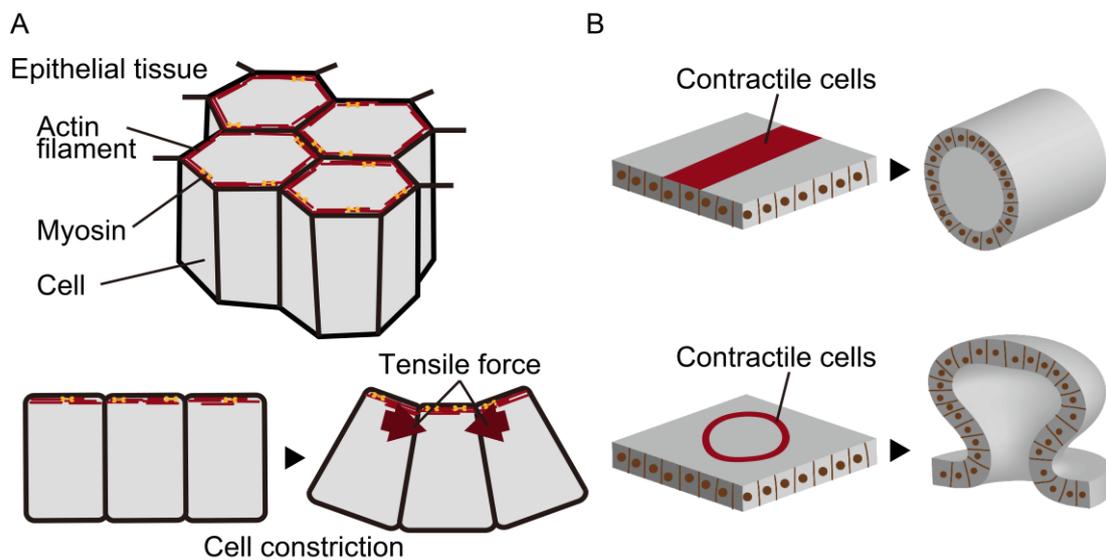


Figure 1.2 Tissue morphogenesis caused by cell constriction. (A) Constriction of epithelial cells generating tensile force. (B) Tissue deformation depending on spatial pattern of contractile cells.

シート状組織の面に、帯状に収縮領域の空間パターンが現れ、収縮にともなって組織が陥入する(Sawyer et al. 2010; Conte et al. 2012). また、眼の発生においては、球殻形状の網膜上皮組織の内面側に、円環状の収縮パターンが現れ、球殻状の組織の一部が陥入し、カップ状の眼杯組織が形成される(Eiraku et al. 2011; Eiraku et al. 2012).

1. 3 組織形態形成の生体力学研究

前述のように、生体組織の形態形成において、細胞の増殖、移動、収縮などの様々な細胞活動の力学的な作用により、組織が変形する。これまでの研究により、それぞれの細胞活動から生じる力学的な作用が明らかになりつつあるが、多様な形態の組織が形成されるメカニズムを明らかにするためには、脳組織における細胞の増殖と移動、あるいは、上皮組織における細胞の増殖と収縮など、複数の細胞活動が同時に進行するような複合的な現象の力学的なメカニズムを明らかにする必要がある。また、生体組織の形態形成の力学的なメカニズムでは、組織を構成する細胞が均一な性質を持つと仮定する 경우가多いが、実際の生体組織では、細胞の性質にばらつきが存在し、組織の挙動にはゆらぎが生じる。したがって、組織挙動のゆらぎに対して、形態形成が安定的に進行するメカニズムを明らかにする生体力学研究が必要である。

生体組織の形態形成について、実験と数理を相補的に用いた生体力学分野の研究が進められている。組織変形の力学的なメカニズムを明らかにするためには、組織の力学的な性質や状態を測定する必要がある。生体組織の材料的な性質は、細胞や組織レベルの引張・押込試験などの力学的な手法を用いて測定される(Wyatt et al. 2015; Nagasaka et al. 2016)。また、生体組織に働く力学場を調べるため、レーザーなどを用いた応力解放実験により、組織の残留応力を測定することができる(Xu et al. 2009; Eiraku et al. 2011)。こうして得られた組織の力学的な性質を数理モデルに実装して、実現象の再現と数値的な実験を行うことにより、組織変形のメカニズムに関する仮説を検証することが可能となる。

数理的研究では、複雑な現象から本質的に重要な因子を抽出して数理モデルを構築し、解析することで現象の理解を試みる。形態形成の力学的なメカニズムを理解するために、分子・細胞・組織・器官の各階層の様々な時空間スケールの

現象を扱う数理モデルが考案されており、さらには、近年の計算科学の飛躍的な発展により、マルチスケールな現象を扱う大規模な計算を行い、計算機シミュレーションによる現象の再現と数値的な実験を行うことが可能になってきた。本節では、生体組織の形態形成における数理的研究について概説し、さらに、組織形態形成を扱う連続体力学について述べる。

1. 3. 1 組織形態形成の数理的研究

発生過程における多細胞・組織の形態形成の力学的なメカニズムの解明を目指す数理モデルは、離散モデルと連続体モデルに分類することができる (Wyczalkowski et al. 2012; Alt et al. 2017; Goriely 2017; Giniunaite et al. 2019; Almet et al. 2020)。離散モデルの代表的な例は、一つの細胞を多数の節点により構成された多面体として表し、複数の細胞を連結させることにより、多細胞組織を構築するバーテックスモデルである (Honda et al. 2004; Okuda et al. 2015; Inoue et al. 2016; Inoue et al. 2017; Okuda et al. 2018)。このモデルにおいて、細胞の増殖は、節点の増加として、また、収縮などの細胞が発揮する力や細胞の変形は、節点における力のつり合いの変化として数理的に表現される。本モデルを用いることにより、細胞同士の相互作用の結果として現れる多細胞・組織変形のシミュレーションを行うことが可能である。このようなモデルでは、細胞が陽に表現されていることから、細胞レベルの生物学的な仮説を容易に導入でき、生物学的実験と直接的に関連付けて多細胞組織の挙動を理解することができる。

一方、生体組織の連続体モデルは、多数の細胞から成る器官・組織を連続体とみなすモデルであり、その力学的な挙動は、連続体力学理論により記述される。組織の力学的な性質は、実験による測定により得られた応力-ひずみ関係を基に数理モデル化された構成則を用いて記述される。組織の脳組織や上皮組織などの軟組織は大変形をとともなうため、一般に超弾性体としてモデル化され、非線形連続体力学が適用される。連続体モデルでは、細胞の挙動を組織スケールの挙動へと粗視化し、マクロな現象を記述するため、細胞より小さなスケールでの現象を実験観察と直接的に対応づけることができない。その一方で、力学法則に則った定式化が可能であり、また、脳形態形成などの数百マイクロメートルから数ミリ、数センチに至るマクロな形態形成現象を扱うことが可能である。細胞の増

殖や移動，収縮などの細胞活動やそのダイナミクスを組み込んだ数理モデリングが行われ，形態形成を扱う連続体力学の枠組みが拡張されてきた。

1. 3. 2 組織形態形成の連続体力学

生物の形態形成を扱う連続体力学において，生体組織の成長にともなう質量や密度，体積の増加を扱う連続体の数理が，1970-80年代に，植物の成長(Silk and Erickson 1979)や表面成長(Skalak et al. 1982)，線維組織の成長(Tözeren and Skalak 1988)に関する研究により導入された．その後，Rodriguez ら(Rodriguez et al. 1994)により，成長が変形勾配テンソルの乗算分解(Lee 1969)を用いて一般的に記述され，生体組織の成長を扱う理論的な基礎が構築された．連続体を構成する物質点の運動を χ としたときに， $\mathbf{F} = \nabla\chi$ と定義される変形勾配テンソルは， $\mathbf{F} = \mathbf{F}^e \mathbf{F}^g$ と乗算分解され， \mathbf{F}^e と \mathbf{F}^g がそれぞれ弾性変形と成長による塑性変形を表す．連続体の参照配置から，成長して質量が増加した仮想的な中間配置を考えると，これらの変形勾配テンソルにより，各配置は，Fig. 1.3 に示すように関連付けられる．

生体組織の成長は， \mathbf{F}^g の時間的な発展により記述され，個々の生体組織の特性に依存した構成則により表される．例えば，生体組織に生じる応力に依存した成長は，骨や腱，靭帯，心臓など様々な生体組織の成長と再構築における重要な性質であり， \mathbf{F}^g をCauchy 応力(Rodriguez et al. 1994; Erlich et al. 2019)や中間配置における Mandel 応力(Himpel et al. 2005)の関数とみなすことにより，これをモデル化している．この成長の構成則を基礎として，近年では，細胞の増殖(Gudipaty et al. 2017; Godard and Heisenberg 2019)や成長(Dennerll et al. 1989; Bernal et al. 2007)に関する細胞生物学的な知見に基づいた数理モデリングが行われ，計算機シミュレーションを通じて，心臓の肥大(Göktepe et al. 2010; Goktepe et al. 2010)や脳形成(Budday et al. 2014; Garcia et al. 2017)，四肢の発生(Kida and Morishita 2018)などの形態形態を含む様々な実現象へ適用されている．

さらに，上述の連続体力学モデルを拡張し，移動や収縮といった細胞活動を扱うモデルも提案されている．脳組織の形態形成に見られるような細胞移動にともなう組織の塑性的な変形は，細胞活動と変形勾配テンソル \mathbf{F}^g を関連付けることにより表現される．変形する組織内での移動などの細胞活動を細胞密度の発

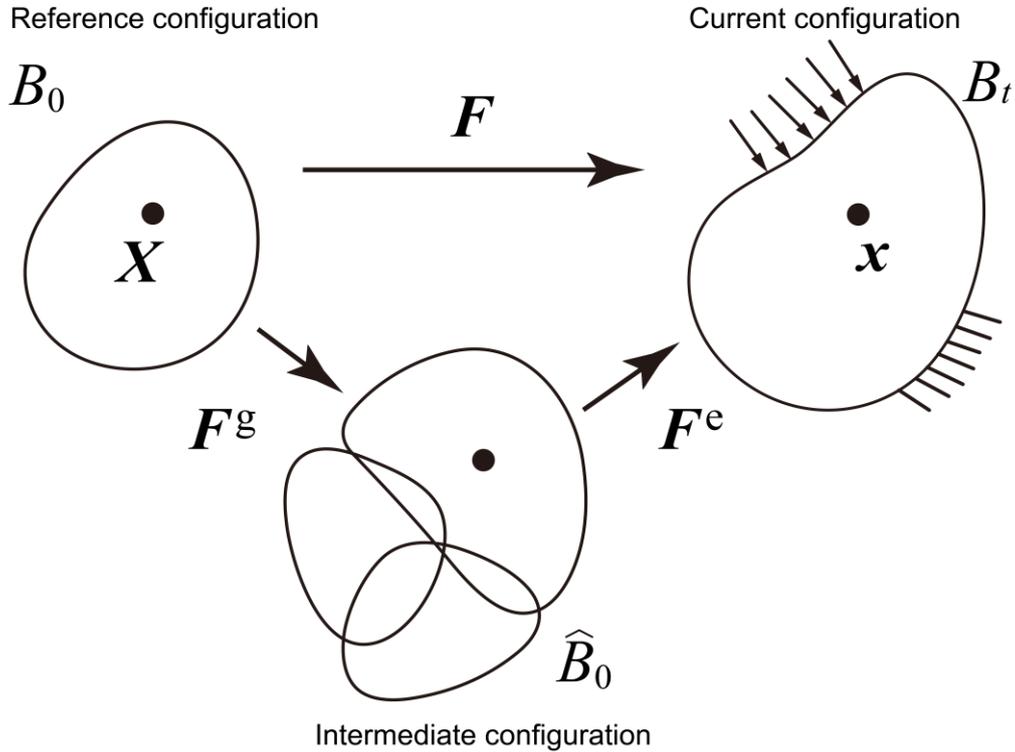


Figure 1.3 Multiplicative decomposition of deformation gradient tensor F into growth part F^g and elastic deformation part F^e .

展則として記述し(Buganza Tepole and Kuhl 2016; Mercker et al. 2016), 細胞密度と F^g を関連付けた数理モデルが提案され, 大脳組織の形態形成へと適用されている(Rooij and Kuhl 2018). これらの研究は, 生体組織を細胞や線維, 基質などから構成される物体とみなすことにより, 多成分・多相の物体を扱う連続体理論である混合理論(Mixture theory)を生体組織へ適用した発展的な研究に位置づけられる(Humphrey and Rajagopal 2002; Garikipati 2004).

連続体力学における細胞収縮の数理モデリングは, F^g を用いて変形として表現するもの(Conte et al. 2008; Filas et al. 2012; Garcia et al. 2017)と, エネルギー関数を用いて能動的に発生する力として表現するもの(Rachev and Hayashi 1999; Stalhand et al. 2008)が存在する. いずれも, 数理モデリングと計算機シミュレーションを用いて, 血管の収縮(Kida and Adachi 2015)や発生過程における原腸陥入(Conte et al. 2008), 神経管の内腔の収縮(Filas et al. 2012; Garcia et al. 2017)など,

細胞収縮をともなう現象へと適用されており，細胞活動から生じる組織形態形成を扱う数理的な基盤の構築が行われている。

以上のように，組織形態形成における様々な細胞活動を表現する連続体力学モデルが考案されている．これらのモデルを組み合わせることにより，複数の細胞活動が同時に進行する複合的な現象へと適用することが可能である．また，生体組織の形態形成における組織変形の安定性を理解する際には，連続体力学モデルを用いて明らかにされた脳組織のしわ形成の力学的なメカニズムのように，連続体力学における安定／不安定性の考え方が有用となると考えられる．

1. 4 研究の目的

本研究は，細胞活動の力学的な作用により生じる生体組織の形態形成が安定的に進行するメカニズムを，力学的な観点から理解することを目的とした．そのために，連続体力学に基づいて，細胞の増殖，移動，収縮を含む細胞活動と組織変形を関連付けた数理モデルを構築した．さらに，構築した連続体力学モデルに基づく計算機シミュレーションにより細胞活動から生じる組織変形を解析し，力学的な安定／不安定性の観点から形態形成の理解を試みた．以下に，本論文の構成を述べる．

第2章では，細胞活動から生じる組織形態形成の連続体力学モデリングを行った．脳組織の形態形成を対象とし，細胞移動を組織成長と数理的に関連付けることにより，細胞移動をともなう脳組織の形態形成を数理モデル化した．さらに，構築した数理モデルに基づく解析例として，大脳の機能と形態の獲得に重要となる層形成の数値シミュレーションを行い，細胞移動と組織成長が層形成に及ぼす影響を調べた．

次に，第3章では，第2章で構築した数理モデルを拡張し，小脳組織のしわの変形へ適用した．小脳組織の形態形成を引き起こす細胞増殖と，組織内の線維に沿った細胞移動を組み込んだ数理モデルを構築した．さらに，有限要素法を用いて，二次元の組織変形シミュレーションを行い，細胞の増殖と移動から生じる組織成長が，小脳のしわの形態形成に及ぼす影響を調べた．

第4章では，より一般化した組織の成長と収縮の数理モデルを用いて，形態形成が安定的に進行するメカニズムの理解を試みた．組織の成長と収縮から生じ

る形態形成として，上皮組織を想定したシート状組織と腸の組織を想定した円管状組織の形態形成を対象とした．変形する組織のひずみエネルギーを解析して，エネルギー地形を可視化することにより，組織成長と収縮から生じる形態形成の力学的な安定／不安定性の観点に基づく理解が可能であることを示した．

最後に，第5章では，本論文の総括を述べる．

参考文献

- Almet AA, Maini PK, Moulton DE, Byrne HM (2020) Modelling perspectives on the intestinal crypt, a canonical system for growth, mechanics, and remodelling *Current Opinion in Biomedical Engineering*
- Alt S, Ganguly P, Salbreux G (2017) Vertex models: from cell mechanics to tissue morphogenesis *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372
- Bernal R, Pullarkat PA, Melo F (2007) Mechanical Properties of Axons *Physical Review Letters* 99:018301
- Budday S, Steinmann P, Kuhl E (2014) The role of mechanics during brain development *J Mech Phys Solids* 72:75-92
- Budday S, Steinmann P, Kuhl E (2015a) Physical biology of human brain development *Front Cell Neurosci* 9:257
- Budday S, Steinmann P, Kuhl E (2015b) Secondary instabilities modulate cortical complexity in the mammalian brain *Philos Mag (Abingdon)* 95:3244-3256
- Buganza Tepole A, Kuhl E (2016) Computational modeling of chemo-bio-mechanical coupling: a systems-biology approach toward wound healing *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 19:13-30
- Conte V, Munoz JJ, Miodownik M (2008) A 3D finite element model of ventral furrow invagination in the *Drosophila melanogaster* embryo *J Mech Behav Biomed Mater* 1:188-198
- Conte V, Ulrich F, Baum B, Munoz J, Veldhuis J, Brodland W, Miodownik M (2012) A biomechanical analysis of ventral furrow formation in the *Drosophila melanogaster* embryo *PLoS One* 7:e34473
- Dennerll TJ, Lamoureux P, Buxbaum RE, Heidemann SR (1989) The cytomechanics of axonal elongation and retraction *Journal of Cell Biology* 109:3073-3083
- Eiraku M, Adachi T, Sasai Y (2012) Relaxation-expansion model for self-driven retinal morphogenesis: a hypothesis from the perspective of biosystems dynamics at the multi-cellular level *Bioessays* 34:17-25

- Eiraku M et al. (2011) Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture *Nature* 472:51-56
- Erlich A, Moulton DE, Goriely A (2019) Are Homeostatic States Stable? Dynamical Stability in Morphoelasticity *Bull Math Biol* 81:3219-3244
- Filas BA, Oltean A, Majidi S, Bayly PV, Beebe DC, Taber LA (2012) Regional differences in actomyosin contraction shape the primary vesicles in the embryonic chicken brain *Physical Biology* 9:066007
- Florio M, Huttner WB (2014) Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex *Development* 141:2182-2194
- Garcia KE, Okamoto RJ, Bayly PV, Taber LA (2017) Contraction and stress-dependent growth shape the forebrain of the early chicken embryo *J Mech Behav Biomed Mater* 65:383-397
- Garikipati K (2004) A continuum treatment of growth in biological tissue: the coupling of mass transport and mechanics *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 52:1595-1625
- Giniunaite R, Baker RE, Kulesa PM, Maini PK (2019) Modelling collective cell migration: neural crest as a model paradigm *J Math Biol*
- Godard BG, Heisenberg CP (2019) Cell division and tissue mechanics *Curr Opin Cell Biol* 60:114-120
- Göktepe S, Abilez OJ, Kuhl E (2010) A generic approach towards finite growth with examples of athlete's heart, cardiac dilation, and cardiac wall thickening *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 58:1661-1680
- Goktepe S, Abilez OJ, Parker KK, Kuhl E (2010) A multiscale model for eccentric and concentric cardiac growth through sarcomerogenesis *J Theor Biol* 265:433-442
- Goriely A (2017) *The Mathematics and Mechanics of Biological Growth* vol 45. *Interdisciplinary Applied Mathematics*.
- Goriely A, Budday S, Kuhl E (2015) *Neuromechanics: From Neurons to Brain*. In: Bordas SPA, Balint DS (eds) *Advances in Applied Mechanics*, vol 48. *Advances in Applied Mechanics*. Elsevier, pp 79-139

- Gudipaty SA et al. (2017) Mechanical stretch triggers rapid epithelial cell division through Piezo1 *Nature* 543:118-121
- Hannezo E, Prost J, Joanny JF (2011) Instabilities of monolayered epithelia: shape and structure of villi and crypts *Phys Rev Lett* 107:078104
- Heisenberg CP, Bellaiche Y (2013) Forces in tissue morphogenesis and patterning *Cell* 153:948-962
- Himpel G, Kuhl E, Menzel A, Steinmann P (2005) Computational modelling of isotropic multiplicative growth *Cmes-Computer Modeling in Engineering & Sciences* 8:119-134
- Honda H, Tanemura M, Nagai T (2004) A three-dimensional vertex dynamics cell model of space-filling polyhedra simulating cell behavior in a cell aggregate *J Theor Biol* 226:439-453
- Humphrey J, Rajagopal K (2002) A constrained mixture model for growth and remodeling of soft tissues *Mathematical models and methods in applied sciences* 12:407-430
- Ingber DE (2006) Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development *Int J Dev Biol* 50:255-266
- Inoue Y, Suzuki M, Watanabe T, Yasue N, Tateo I, Adachi T, Ueno N (2016) Mechanical roles of apical constriction, cell elongation, and cell migration during neural tube formation in *Xenopus* *Biomech Model Mechanobiol* 15:1733-1746
- Inoue Y, Watanabe T, Okuda S, Adachi T (2017) Mechanical role of the spatial patterns of contractile cells in invagination of growing epithelial tissue *Dev Growth Differ* 59:444-454
- Kida N, Adachi T (2015) Finite element formulation and analysis for an arterial wall with residual and active stresses *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 18:1143-1159
- Kida N, Morishita Y (2018) Continuum mechanical modeling of developing epithelial tissues with anisotropic surface growth *Finite Elements in Analysis and Design* 144:49-60

- Kondo T, Hayashi S (2015) Mechanisms of cell height changes that mediate epithelial invagination *Dev Growth Differ* 57:313-323
- Lawton AK et al. (2019) Cerebellar folding is initiated by mechanical constraints on a fluid-like layer without a cellular pre-pattern *Elife* 8
- Lecuit T, Lenne PF, Munro E (2011) Force generation, transmission, and integration during cell and tissue morphogenesis *Annu Rev Cell Dev Biol* 27:157-184
- Lee EH (1969) Elastic-Plastic Deformation at Finite Strains *Journal of Applied Mechanics* 36:1-6
- Leto K et al. (2016) Consensus Paper: Cerebellar Development *Cerebellum* 15:789-828
- Martin AC, Goldstein B (2014) Apical constriction: themes and variations on a cellular mechanism driving morphogenesis *Development* 141:1987
- Mercker M, Brinkmann F, Marciniak-Czochra A, Richter T (2016) Beyond Turing: mechanochemical pattern formation in biological tissues *Biol Direct* 11:22
- Nagasaka A et al. (2016) Differences in the Mechanical Properties of the Developing Cerebral Cortical Proliferative Zone between Mice and Ferrets at both the Tissue and Single-Cell Levels *Front Cell Dev Biol* 4:139
- Nelson CM (2016) On Buckling Morphogenesis *J Biomech Eng* 138:021005
- Odell GM, Oster G, Alberch P, Burnside B (1981) The mechanical basis of morphogenesis: I. Epithelial folding and invagination *Developmental Biology* 85:446-462
- Okuda S, Inoue Y, Watanabe T, Adachi T (2015) Coupling intercellular molecular signalling with multicellular deformation for simulating three-dimensional tissue morphogenesis *Interface Focus* 5:20140095
- Okuda S, Miura T, Inoue Y, Adachi T, Eiraku M (2018) Combining Turing and 3D vertex models reproduces autonomous multicellular morphogenesis with undulation, tubulation, and branching *Sci Rep* 8:2386
- Pearl EJ, Li J, Green JB (2017) Cellular systems for epithelial invagination *Philos*

Trans R Soc Lond B Biol Sci 372

- Rachev A, Hayashi K (1999) Theoretical study of the effects of vascular smooth muscle contraction on strain and stress distributions in arteries *Ann Biomed Eng* 27:459-468
- Rakic P (2009) Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology *Nat Rev Neurosci* 10:724-735
- Raybaud C, Ahmad T, Rastegar N, Shroff M, Al Nassar M (2013) The premature brain: developmental and lesional anatomy *Neuroradiology* 55:23-40
- Rodriguez EK, Hoger A, McCulloch AD (1994) Stress-dependent finite growth in soft elastic tissues *J Biomech*
- Rooij Rd, Kuhl E (2018) A physical multifield model predicts the development of volume and structure in the human brain *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 112:563-576
- Sawyer JM, Harrell JR, Shemer G, Sullivan-Brown J, Roh-Johnson M, Goldstein B (2010) Apical constriction: a cell shape change that can drive morphogenesis *Dev Biol* 341:5-19
- Silk WK, Erickson RO (1979) Kinematics of plant growth *Journal of Theoretical Biology* 76:481-501
- Skalak R, Dasgupta G, Moss M, Otten E, Dullemeijer P, Vilmann H (1982) Analytical description of growth *Journal of Theoretical Biology* 94:555-577
- Stalhand J, Klarbring A, Holzapfel GA (2008) Smooth muscle contraction: mechanochemical formulation for homogeneous finite strains *Prog Biophys Mol Biol* 96:465-481
- Tallinen T, Chung JY, Biggins JS, Mahadevan L (2014) Gyrification from constrained cortical expansion *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:12667
- Thompson DAW (1917) *On Growth and Form*. Canto. Cambridge University Press, Cambridge
- Tözeren A, Skalak R (1988) Interaction of stress and growth in a fibrous tissue *Journal of Theoretical Biology* 130:337-350

- Wang Q, Zhao X (2015) A three-dimensional phase diagram of growth-induced surface instabilities *Scientific Reports* 5:8887
- Wyatt TP et al. (2015) Emergence of homeostatic epithelial packing and stress dissipation through divisions oriented along the long cell axis *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:5726-5731
- Wyczalkowski MA, Chen Z, Filas BA, Varner VD, Taber LA (2012) Computational models for mechanics of morphogenesis *Birth Defects Res C Embryo Today* 96:132-152
- Xu G, Bayly PV, Taber LA (2009) Residual stress in the adult mouse brain *Biomech Model Mechanobiol* 8:253-262

第2章

脳形態形成における細胞活動と 組織成長の連続体力学モデリング

2. 1 緒言

本章では、脳組織の形態形成を対象とし、細胞移動にともなう組織成長の連続体力学モデリングを行う。さらに、構築したモデルを用いて、大脳の機能と形態の獲得に重要となる層形成の数値シミュレーションを行い、細胞移動と組織成長が層形成に及ぼす影響を示す。

大脳組織は、神経細胞により構成される多層の組織であり、発生過程における神経細胞層の形成は、大脳の生理学的な機能の獲得に重要である(Rakic 2009)。神経細胞層の形成は、神経細胞が産生された場所から移動し、集積することにより進行する。神経細胞は、大脳深部の脳室帯(Ventricular zone, VZ)にて、放射状グリア細胞(Radial glial cells)から分裂し、産生される(Borrell and Reillo 2012; Borrell and Gotz 2014)。産生された神経細胞は、放射状グリア細胞が VZ から脳表層の辺縁帯(Marginal zone, MZ)に伸ばす軸索に沿い、脳表面に向かって移動する(Rakic 1972; Borrell and Reillo 2012; Borrell and Gotz 2014)。神経細胞が MZ に到達すると、神経細胞は移動を停止して集積し、神経細胞層を形成する。このとき、神経細胞は、先に移動を停止した神経細胞を通過し、より表層で移動を停止する。その結果、神経細胞層の表層に、より遅く生まれた神経細胞が配置されるという Inside-out 様式と呼ばれる層形成が進行する(Marin et al. 2010)。

大脳の状態形成における神経細胞の移動は、細胞外に存在する生化学シグナル分子により制御されている(Marin et al. 2010; Valiente and Marin 2010; Chai et al. 2016) . その代表的な分子は Reelin であり, Reelin は, MZ に存在する細胞から分泌され(D'Arcangelo et al. 1995), 神経細胞を誘引する因子であると考えられている(D'Arcangelo and Curran 1998; Caffrey et al. 2014). Reelin 遺伝子が欠損した変異体のマウス(*reeler* マウス)では, 神経細胞層の深層から表層の順序が逆転する(Sheppard and Pearlman 1997) . したがって, Inside-out 様式の層形成のメカニズムを明らかにする上で, シグナル分子による神経細胞の移動の制御が層形成に与える影響を明らかにする必要がある.

神経細胞層の形成と組織の変形は, 相互に影響を及ぼすことから, 細胞活動と組織変形の相互作用を考慮することが重要である. 例えば, 神経細胞が移動の足場とする RG 線維は, 組織の変形により配向が変化することから, 神経細胞移動は組織変形により影響を受けると考えられる(Misson et al. 1988; Del Toro et al. 2017). また, 神経細胞の集積は, 組織の体積的な成長を引き起こし, しわ形成などの組織変形の駆動力となる(Reillo et al. 2011; Borrell and Gotz 2014) .

細胞活動と組織形成が相互に関連するような複雑な現象を本質的に理解するためには, 数理的なアプローチが有効である. これまで, 大脳の状態形成の理解に向けて, 生化学的な観点からは, 神経細胞同士の接着を考慮した数理モデルを用いて, 神経細胞層形成メカニズムが調べられてきた(Zubler and Douglas 2009; Caffrey et al. 2014; Matsunaga et al. 2017) . また, 力学的な観点から, 組織・器官の空間スケールにおける組織変形の力学的なメカニズムが調べられてきた(Budday et al. 2014; Tallinen et al. 2014; Goriely et al. 2015; Tallinen et al. 2016; Rooij and Kuhl 2018). これらの知見に基づいて, 細胞と組織の相互作用を考慮するためには, 細胞活動と組織変形を関連付けた数理モデルが必要となる.

本章では, 連続体力学に基づいて, 細胞の増殖や移動などの細胞活動と, 組織の体積的な成長を関連付けた数理モデルを構築する. 先行研究に基づいて(Rooij and Kuhl 2018), 細胞活動は, 細胞数密度の移流拡散方程式により定式化し, 組織の体積的な成長と細胞数密度を関連付ける構成則を導入する. さらに, 組織状態形成に対する本モデルの適用例として, 大脳状態形成における神経細胞移動にともなう層形成の有限要素法解析を行う. そして, 神経細胞移動の制御と組織の成長が Inside-out 様式の層形成に及ぼす影響を明らかにする.

2. 2 手 法

2. 2. 1 組織成長の連続体力学

多数の細胞から成る生体組織を連続体とみなし，その組織の変形を記述する連続体力学理論について概説する．時刻 $t = 0$ における連続体を基準配置 $B_0 \subset \mathbb{R}^3$ ，任意の時刻 t における変形した連続体を現在配置 $B_t \subset \mathbb{R}^3$ とする．連続体の変形にともない，基準配置 B_0 におけるある物質点 $\mathbf{X} \in B_0$ が現在配置 B_t における位置 $\mathbf{x} \in B_t$ に移動する．この物質点の運動を表すベクトル値関数 $\chi: B_0 \rightarrow B_t$ は，

$$\mathbf{x} = \chi(\mathbf{X}, t) \quad (\mathbf{X} \in B_0, 0 \leq t < \infty) \quad (2.1)$$

と表される．この運動 χ を用いて，変形勾配テンソル \mathbf{F} は，

$$\mathbf{F} = \frac{\partial \chi(\mathbf{X}, t)}{\partial \mathbf{X}} \quad (2.2)$$

と定義される．

組織の体積的な成長を記述するため，変形勾配テンソル \mathbf{F} を成長による変形を表す \mathbf{F}^g と，弾性的な変形を表す \mathbf{F}^e に乗算分解し，

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}^e \mathbf{F}^g \quad (2.3)$$

と表す．このとき，基準配置 B_0 から，連続体が成長した仮想的な中間配置を \hat{B}_0 とすると，それぞれ連続体の配置は，変形勾配テンソルによって，Fig. 1.3 に示すように関連づけられている．組織の等方的な成長を仮定すると，成長に関する変形勾配テンソル \mathbf{F}^g は，成長ストレッチ θ を用いて，

$$\mathbf{F}^g = \theta \mathbf{I} \quad (2.4)$$

と表される．ここで， \mathbf{I} は2階の恒等テンソルである．

細胞活動による組織成長を表現するため，先行研究(Rooij and Kuhl 2018)に基づいて，組織の成長ストレッチ θ と細胞数密度 c を

$$\theta = (1 + kc)^\alpha \quad (2.5)$$

と関連付け，細胞活動と組織挙動を関連付ける構成方程式を記述した．ここで， k と α は構成的関係を決定する定数である．

2. 2. 2 連続体力学の支配方程式

現在配置 B_t における連続体の平衡方程式は，生体組織の密度が非常に小さいと仮定して体積力を無視することにより，Cauchy 応力 $\boldsymbol{\sigma}$ を用いて

$$\operatorname{div} \boldsymbol{\sigma} = \mathbf{0} \quad (2.6)$$

と表される．ここで， div は \mathbf{x} による偏微分を表す．あるいは，現在配置 B_t において，Cauchy 応力 $\boldsymbol{\sigma}$ と変形勾配テンソル \mathbf{F} ， $J = \det \mathbf{F}$ により，

$$\mathbf{S} = J \mathbf{F}^{-1} \boldsymbol{\sigma} \mathbf{F}^{-T} \quad (2.7)$$

と定義される Second Piola-Kirchhoff 応力 \mathbf{S} を用いて，

$$\operatorname{DIV}(\mathbf{S} \mathbf{F}^T) = \mathbf{0} \quad (2.8)$$

と表される．ここで DIV は \mathbf{X} による偏微分を表す．Second Piola-Kirchhoff 応力 \mathbf{S} と共役な Green-Lagrange ひずみ \mathbf{E} は，Right-Cauchy-Green テンソル $\mathbf{C} = \mathbf{F}^e T \mathbf{F}^e$ を用いて，

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\mathbf{C} - \mathbf{I}) \quad (2.9)$$

と定義される．

脳組織などの生体軟組織の材料的な性質は，ひずみエネルギー密度関数 ψ を持つ超弾性体として数理モデル化される．超弾性体の応力-ひずみ関係を表す構成則は，Second Piola-Kirchhoff 応力 \mathbf{S} と Green-Lagrange ひずみ \mathbf{E} を用いて

$$\mathbf{S} = \frac{\partial \psi}{\partial \mathbf{E}} \quad (2.10)$$

と表され，ひずみエネルギー関数 ψ は弾性変形に関する変形勾配テンソル \mathbf{F}^e の関数として，Neo-Hookean model を用いて，

$$\psi = \frac{\lambda}{8} \ln^2 I_3 + \frac{\mu}{2} (I_1 - 3 - \ln I_3) \quad (2.11)$$

とモデル化した．ここで， λ と μ はラメ定数であり， I_1 と I_3 は中間配置を参照する Right-Cauchy-Green テンソル $\hat{\mathbf{C}} = \mathbf{F}^e T \mathbf{F}^e$ の不変量であり，それぞれ $I_1 = \operatorname{tr} \mathbf{C}$ ， $I_3 = \det \mathbf{C}$ である．連続体力学の支配方程式から，仮想仕事の原理により積分方程式を導出し，有限要素法を適用して離散化を行う手順は，付録 A.1 に述べた．

2. 2. 3 細胞移動の数理モデル

変形する組織内で生じる細胞活動を数理的に記述する連続体モデルを構築した。基準配置 B_0 における細胞数密度を c_0 とし、その時間発展を、

$$\dot{c}_0 = -\nabla_x \mathbf{Q} + F \quad (2.12)$$

とモデル化する。ここで、 \mathbf{Q} は細胞数密度の流束、 F は湧き出し速度を表す。現在配置 B_t における細胞数密度 c は、

$$c_0 = cJ \quad (2.13)$$

の関係を満たすため、現在配置 B_t における細胞数密度 c の時間発展は、

$$\dot{c} + \frac{\dot{J}}{J}c = -\nabla_x \mathbf{q} + f \quad (2.14)$$

と表される。ここで、 \mathbf{q} と f は、それぞれ現在配置における細胞数密度の流束と湧き出し速度である。細胞移動は、流束 \mathbf{q} を

$$\mathbf{q} = \mathbf{v}c - D\nabla_x c \quad (2.15)$$

と記述することにより表現し、これを式(2.14)に代入すると、

$$\dot{c} + \frac{\dot{J}}{J}c = -\nabla_x (c\mathbf{v}) + D\nabla_x^2 c + f \quad (2.16)$$

と記述される。左辺の第二項は、組織変形による細胞数密度の変化を表している。右辺の第一項は、能動的な細胞移動を表す移流項であり、 \mathbf{v} は細胞移動速度である。右辺の第二項は、細胞数密度の勾配により駆動される細胞移動を表す拡散項であり、拡散係数は D である。最後に、右辺の第三項は細胞分裂による細胞数の増加を表す産生項であり、 f は細胞数密度の湧き出し速度である。

2. 2. 4 大脳形態形成における細胞移動の数理モデル

脳組織の形態形成では、細胞は産生された位置から、適切な場所へと移動することが多層からなる脳組織の形成に重要な役割を果たす。大脳形態形成では、神経細胞が脳組織深部の脳室帯から、表層の神経細胞層へ移動し定着する。その

際、早生まれの神経細胞が定着した層を、遅生まれの神経細胞が追い越して表層へ移動する。その結果、大脳組織では、新たな層が表層側に形成されるという Inside-out 様式で層が形成される(Fig. 2.1)。Reelin 遺伝子が欠損した *reeler* マウスでは、遅生まれの神経細胞が早生まれの神経細胞を追い越すことができず、神経細胞層の順序が逆転する。Inside-out 様式の層形成のメカニズムを明らかにするため、構築した数理モデルに基づいて、座標軸を x とする一次元空間における数値シミュレーションを行った。

早生まれの神経細胞と遅生まれの神経細胞の細胞数密度をそれぞれ c_E , c_L とし、式(2.16)を基礎として、細胞活動を表現する。早生まれの神経細胞は、既に移動を終え、脳の表層に定着しているとして、細胞移動を表す流束 q_E を 0 とした。遅生まれの神経細胞の移動を表現するため、その流束 q_L を

$$\begin{aligned} q_L &= c_L v \left(1 - \frac{c_E + c_L}{c_{\max}} \right) + c_L v_p - D \frac{\partial c_L}{\partial x} \\ &= c_L (v + v_p) \left\{ 1 - \frac{c_E + c_L}{(1 + v_p/v) c_{\max}} \right\} - D \frac{\partial c_L}{\partial x} \end{aligned} \quad (2.17)$$

とモデル化した。ここで、細胞は、細胞が密に存在する領域では移動速度が遅くなると仮定し、細胞が移動する際の細胞密度の上限 c_{\max} を設定した。また、神経細胞は生化学因子により、移動が誘導されるため、その効果を上乘せした細胞移動速度 v_p を設定した。さらに、組織の体積変化に対して、遅生まれの神経細胞の移動が及ぼす寄与を表現するため、式(2.5)における成長ストレッチ θ を

$$\theta = (1 + k c_L)^\alpha \quad (2.18)$$

とした。

以上の数理モデルを有限要素法へ適用し、大脳形態形成における層形成の数値シミュレーションを行った。式(2.16)に重み付き残差法を適用して積分方程式を導出し、差分法と有限要素法を適用して離散化する手順は、付録 A.2 に述べた。数値シミュレーションにおいて、大脳組織は、現在配置における組織の長さを l とし、 $0 \leq x \leq l$ の領域に存在するとした。境界条件として、 $x = 0$ における変位を固定し、組織の両端 ($x = 0$, $x = l$) において細胞数密度の流束 q_E と q_L を 0 とした。

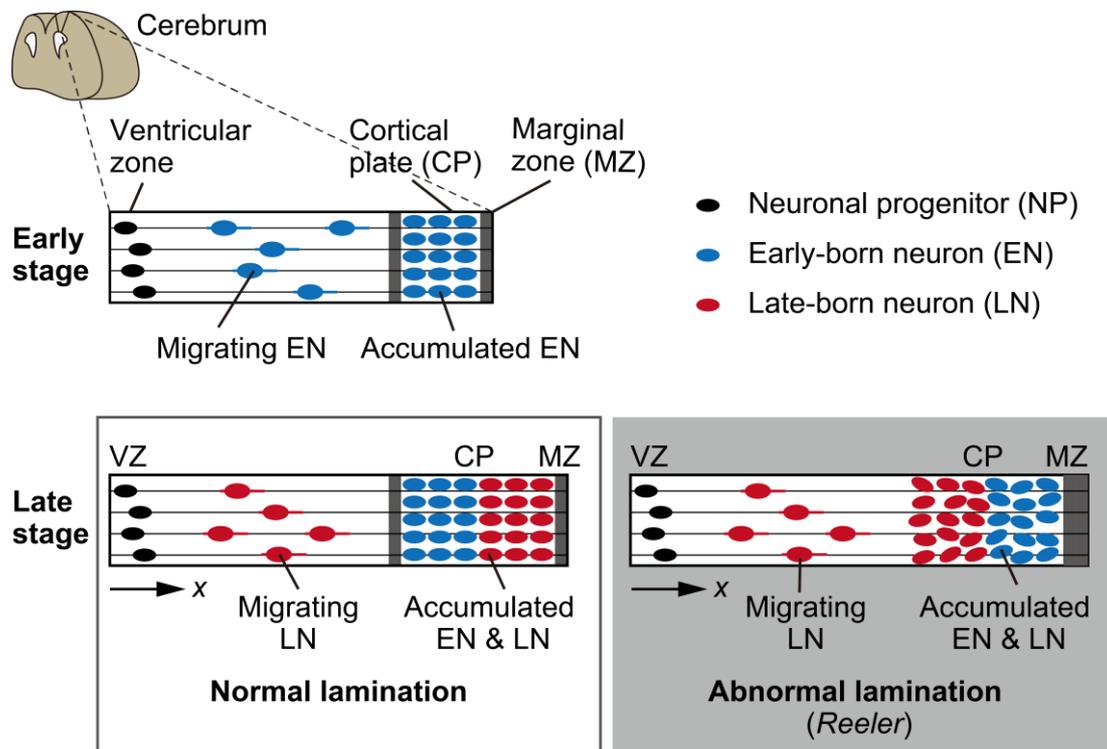


Figure 2.1 One-dimensional model of the neuronal lamination. Neurons born from neuronal progenitors (NPs, black) in the ventricular zone (VZ) migrate toward the marginal zone (MZ). After reaching the MZ, the neurons stop their migration and accumulate in a cortical plate (CP) (top panel). The neuronal lamination proceeds in an inside-out manner, in which the late-born neurons (LNs, red) migrate past the accumulated early-born neurons (ENs, blue) (bottom left panel). The lack of expression of reelin in the *reeler* cerebrum disrupts the neuronal migration, thus resulting in inverted lamination (bottom right panel).

2. 3 結果

2. 3. 1 細胞移動にともなう大脳層形成シミュレーション

大脳の形態形成における Inside-out 様式の層形成は，遅生まれの神経細胞が，既に移動を終えた早生まれの神経細胞を通過して移動することが重要である．神経細胞の誘引因子として働くことが示唆されている細胞外シグナル分子 Reelin の役割を，式(2.17)で用いた移動の促進作用として数理モデル化した．このモデルに基づいて，座標軸を x とした一次元空間における数値解析を行った．

まず，細胞移動の促進作用が Inside-out 様式の層形成に与える影響を検証するため，既に移動を停止した早生まれの細胞が存在する一次元空間を，遅生まれの細胞が移動するシミュレーションを行った．初期状態における大脳組織の長さを $L = 100 \mu\text{m}$ とした．ここでは，細胞の集積による組織の成長は考慮せず($k = 0$ in Eq. (2.18))，組織の長さを L に固定した($l = L$)．初期状態における細胞数密度の分布は，連続近似された矩形関数を用いて，遅生まれの神経細胞の数密度 c_L が $0.1 \leq x/L \leq 0.4$ ，早生まれの神経細胞の数密度 c_E が $0.5 \leq x/L \leq 0.7$ の領域に，いずれも c_{\max} の大きさで存在するとした．遅生まれの細胞の移動速度を $v = 500 \mu\text{m/day}$ とし，誘引分子によって細胞移動が促進されない場合を $v_p = 0$ ，移動が促進された場合を $v_p = 0.2v$ として，それぞれ細胞数密度の変化を調べた．解析に用いたパラメータを Table 1 に示す．

Table 1. Model parameters

Symbol	Value	Descriptions
L	100 μm	Initial length of the tissue
T	1 day	Representative time of the neuronal lamination
v	500 $\mu\text{m/day}$	Velocity of the neuronal migration in Eq. (2.17)
D	500 $\mu\text{m}^2/\text{day}$	Diffusion coefficient in Eq. (2.17)
c_{\max}	1 / μm	Upper limit of the cell number density in Eq. (2.17)
α	1	Constitutive parameter in Eq. (2.18)

細胞移動が促進されない場合、遅生まれの細胞の分布は、大脳組織の深部から表層に対応する x 軸正方向に移動し、早生まれの細胞の手前で停止した(Fig. 2.2A). 一方、細胞移動が促進された場合、遅生まれの細胞の分布は、早生まれの細胞分布を通過して移動し、早生まれの細胞と組織の終端($x = L$)の間の空間に集積した(Fig. 2.2B). したがって、誘引分子による Inside-out 様式の細胞移動が再現された.

実際の大脳組織では、組織の表層(辺縁帯)と神経細胞層との間には、細胞密度の低い領域が存在し(Sekine et al. 2012; Matsunaga et al. 2017), その厚さは組織の厚さと比較して小さい. そこで、初期状態における早生まれの細胞を $0.7 \leq x/L \leq 0.9$, または、 $0.8 \leq x/L \leq 1.0$ に配置することにより、その低密度領域が小さい場合と、存在しない場合の細胞移動を調べた. 低密度領域が小さい場合、遅生まれの細胞の一部のみ早生まれの細胞を通過し、残りは早生まれの細胞の手前で停止した(Fig. 2.2C). 低密度領域が存在しない場合、細胞の一部は、早生まれの細胞と同じ領域まで移動したものの、大部分は早生まれの細胞の手前で停止した(Fig. 2.2D). したがって、これらの結果を Fig. 2.2B と比較することにより、全ての遅生まれの細胞が早生まれの細胞を通過するためには、十分な低密度領域が必要であることが示唆された.

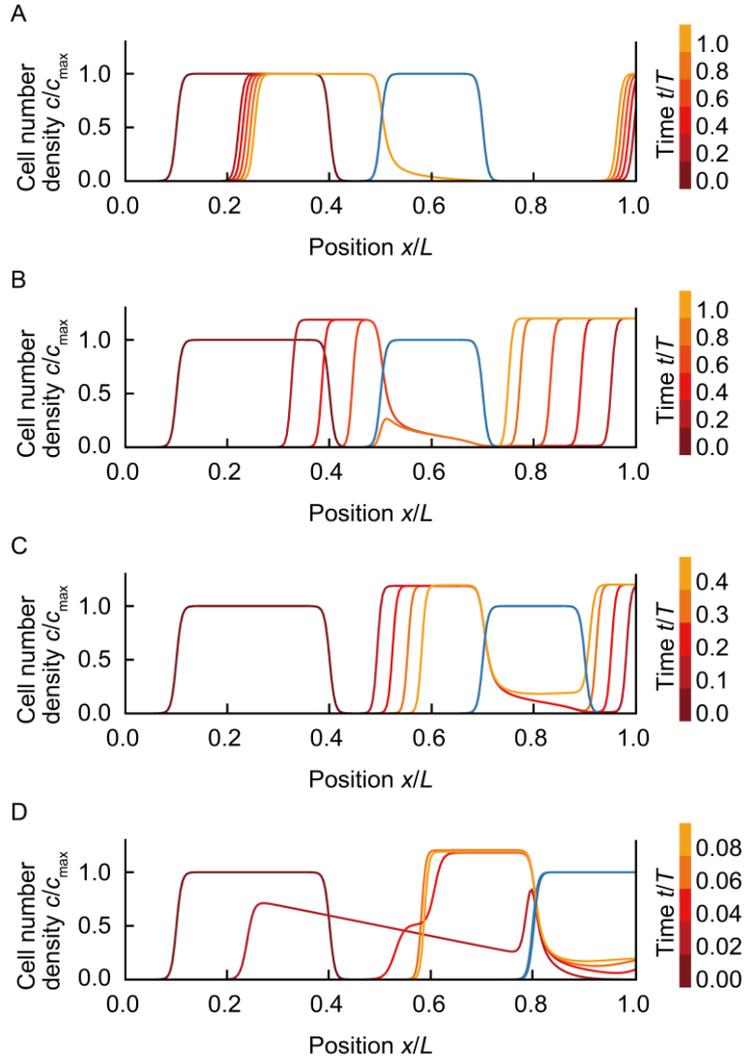


Figure 2.2 Numerical analysis of neuronal lamination in one-dimensional space. The curves show the spatial distributions of the early born neurons (blue) and the late-born neurons (warm colors) at time t . The late-born neurons migrate toward the accumulated early-born neurons along the positive x -direction. (A) Neuronal migration when the migration was not promoted by signaling molecules ($v_p = 0$). (B) Neuronal migration past the accumulated neurons when the migration was promoted by signaling molecules ($v_p = 0.2v$). (C, D) Effects of the space between the early-born neurons and the end of the tissue on neuronal lamination. (C) Neuronal migration with a smaller space behind the accumulated neurons than that in (B). (D) Neuronal migration with no space behind the early-born neurons.

2. 3. 2 組織成長が脳層形成に及ぼす影響

脳の層形成過程では、細胞の集積により組織が成長する。そこで、Inside-out 様式の層形成における組織成長の寄与を明らかにするため、細胞密度と組織体積を関連付けたシミュレーションを行った。細胞の集積による組織成長への寄与の度合いを表す式(2.18)のパラメータ k を $k = 0.5$, $k = 1.0$ と変化させた。組織中に細胞が配置され、組織が長さ $l(l > L)$ に成長した状態を初期状態($t = 0$)とした。このとき、早生まれの細胞は、 $\frac{l}{L} - 0.3 \leq \frac{x}{L} \leq \frac{l}{L} - 0.1$ に、遅生まれの細胞は、 $\frac{l}{L} - 0.6 \leq \frac{x}{L} \leq \frac{l}{L} - 0.3$ に配置した。遅生まれの細胞が移動し、集積した結果を Fig. 2.3 に示す。細胞の組織成長への寄与が小さい場合($k = 0.5$, Fig. 2.3A)と大きい場合($k = 1.0$, Fig. 2.3B)を比較すると、細胞の集積による組織成長が大きいほど、低密度領域に集積する細胞が増加した。さらに、低密度領域が存在しない場合の細胞移動のシミュレーションを行った結果(Fig. 2.3C)、細胞の組織成長に対する寄与が大きい場合($k = 1.0$)にも関わらず、遅生まれの細胞は早生まれの細胞と重なって分布し、遅生まれの細胞からなる層は形成されなかった。以上の結果より、Inside-out 様式で神経細胞層が形成されるためには、早生まれの細胞と組織表層の間に、新たに細胞が集積するための低密度の領域が必要であり、その領域に遅生まれの細胞が集積して組織が拡大することにより、層形成が進行することが示唆された。

2. 4 考 察

脳の形態形成において、神経細胞が移動し、適切な場所で集積することが層の形成に重要である。脳形態形成における Inside-out 様式の層形成の一次元空間における数値シミュレーションを行った。その結果、Reelin などの誘引因子を想定した神経細胞移動の促進作用により、遅生まれの細胞が、既に移動を停止した早生まれの細胞を通過して移動し、より表層に集積する Inside-out 様式の層形成を再現した(Fig. 2.2)。また、集積した細胞と表層の間に存在する低密度の領域の大きさの変化を変化させて、その領域の大きさが細胞の集積に与える影響を調べたところ、遅生まれの細胞が早生まれの細胞を通過するためには、十分な低密

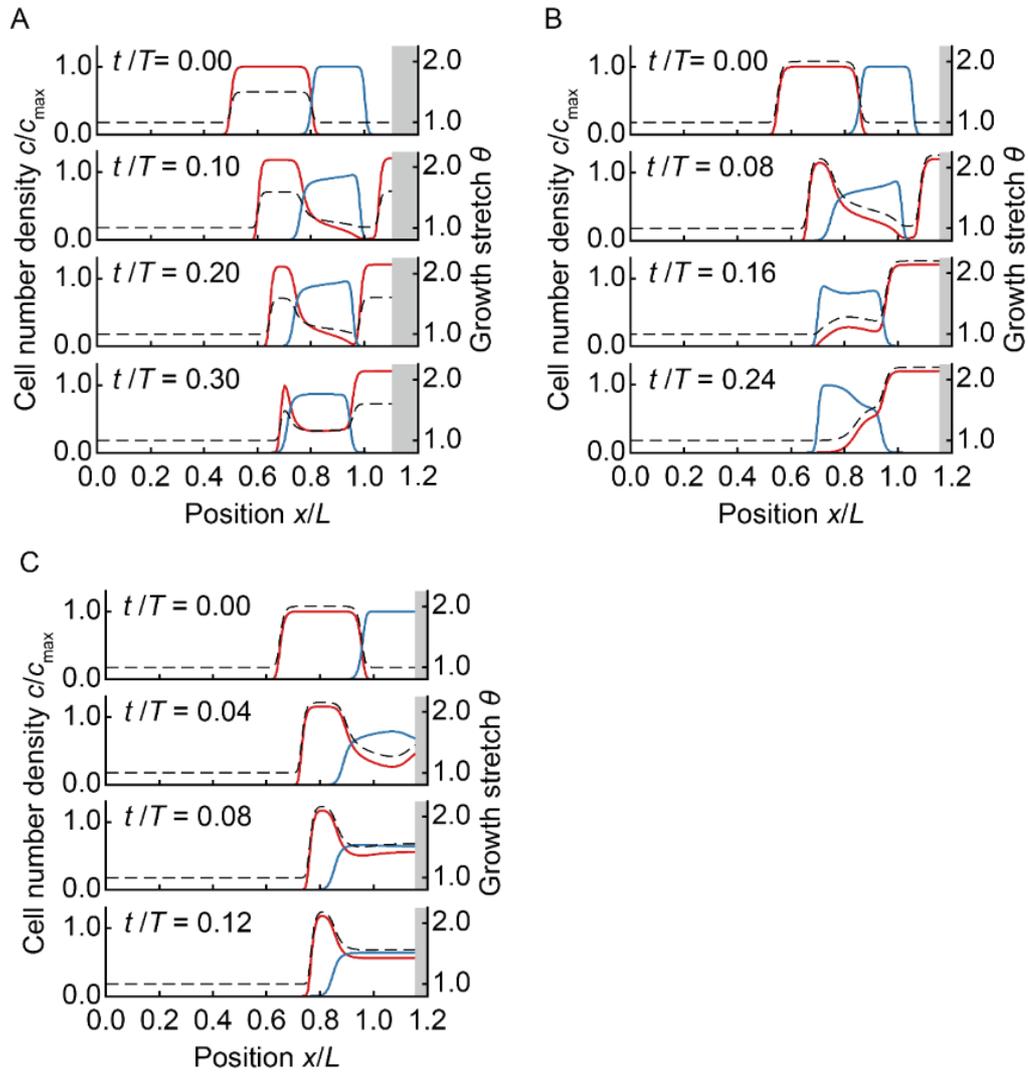


Figure 2.3 Effects of tissue growth on neuronal lamination. The snapshots show the spatial distribution of the cell number density for the late-born neurons (red) and early-born neurons (blue) at the varying times, t . (A, B) Migration of the late-born neurons through the accumulated early-born neurons with varying constitutive parameter of tissue growth, k , in Eq. (2.18): (A) $k = 0.5$ and (B) $k = 1.0$. The dotted lines represent growth stretch, θ . The gray regions indicate the outside of the tissue. (C) Neuronal migration with the tissue growth ($k = 1.0$) when there is no space behind the accumulated early-born neurons.

度領域が必要であることが示唆された(Fig. 2.2). そこで, この低密度領域は, 細胞の集積にともなう組織成長によって確保されると考え, 細胞の数密度と組織成長を関連付けた数理モデルを用いてシミュレーションを行った. その結果, 組織成長が大きいほど, 多くの細胞が早生まれの細胞を通過することが明らかになった(Fig. 2.3). 以上の結果より, Inside-out 様式の層形成は, 神経細胞移動の促進と, 細胞が集積することによる組織成長により達成されることが示唆された.

大脳の形態形成における層形成メカニズムを明らかにするためには, 細胞と組織の両方の空間スケールで生じる現象を考慮する必要がある. これまで, 生化学的な見地から層形成のメカニズムを明らかにする研究は, 細胞同士の接着などの相互作用に着目してきた(Zubler and Douglas 2009; Caffrey et al. 2014; Matsunaga et al. 2017). また, 力学的な見地から大脳形態形成を明らかにする試みは, 組織成長による組織変形過程が解析されてきた(Budday et al. 2014; Tallinen et al. 2014; Goriely et al. 2015; Tallinen et al. 2016; Rooij and Kuhl 2018). 本研究では, 細胞移動が組織変形に影響を受けること(Misson et al. 1988; Del Toro et al. 2017)と組織成長が細胞の集積により生じること(Reillo et al. 2011; Borrell and Gotz 2014)を考慮し, 細胞移動と組織成長を関連付けた大脳の神経細胞層形成のシミュレーションモデルを構築した.

大脳の神経細胞層形成において, 脳表層の MZ から分泌される Reelin が誘引因子として働き, 神経細胞の移動を制御していると考えられているため(D'Arcangelo and Curran 1998; Caffrey et al. 2014), 本研究では, 誘引因子の作用を細胞移動の促進としてモデル化した. 本モデルにおいて, 式(2.17)に示すように, 数理的には, 細胞移動の促進は細胞数密度の上限を上昇させる. 先行研究により, Reelin の作用として, 細胞同士の接着性が MZ へ移動する細胞で上昇し, 移動を停止した細胞で低下することが示唆されている(Sekine et al. 2012; Matsunaga et al. 2017). 細胞の接着性は, 細胞同士の距離を変化させ, 細胞の密度に影響することを考えると, 本研究でモデル化した細胞移動の促進作用による細胞密度上限の変化は, 細胞接着性の変化により Inside-out 様式の層形成が達成されることを示唆した. 加えて, Reelin の作用により, MZ で見られるような細胞体が疎な領域の形成がされることが示唆されている(Sekine et al. 2012; Matsunaga et al. 2017). したがって, 本研究より, Reelin は, 集積した神経細胞と MZ の間の低密度領域の形成を通じて, 層形成の達成に寄与していることが示唆された.

2. 5 結 言

本章では、連続体力学に基づいて、成長する組織内での神経細胞層の形成過程を表現する数理モデルを構築した。細胞活動は、細胞数密度の移流拡散方程式を用いて記述され、その密度を組織の成長を表す変形勾配テンソルへと関連付けた。さらに、脳発生における神経細胞層の形成における生化学な誘因因子を細胞移動速度の促進としてモデル化した。構築したモデルを有限要素法へ適用し、大脳形態形成における層形成の一次元シミュレーションを行った。遅生まれの細胞が、既に移動を終えた早生まれの細胞を通過して移動する **Inside-out** 様式の層形成を解析し、細胞移動の誘引因子と細胞の集積にともなう組織成長が層形成に与える影響を調べた。

本章で構築した数理モデルは、では、細胞活動と組織変形が相互に影響しながら進行する形態形成を、力学的な観点から理解するための基盤である。大脳や小脳などの脳組織の形態形成では、細胞が組織中の線維に沿って移動することから、細胞移動の方向は、組織変形にともなう線維配向の変化から影響を受ける。また、細胞が移動して集積すると、しわ形成の駆動力となる組織成長が生じることから、細胞移動が組織変形に影響する。したがって、本モデルを二次元・三次元の解析へと拡張することにより、脳のしわ形成などの組織変形のメカニズムを細胞活動に基づいて力学的に解析し、細胞活動と組織変形が相互に影響する複雑な現象を扱うことが可能となる。

参考文献

- Borrell V, Gotz M (2014) Role of radial glial cells in cerebral cortex folding *Curr Opin Neurobiol* 27:39-46
- Borrell V, Reillo I (2012) Emerging roles of neural stem cells in cerebral cortex development and evolution *Dev Neurobiol* 72:955-971
- Budday S, Raybaud C, Kuhl E (2014) A mechanical model predicts morphological abnormalities in the developing human brain *Sci Rep* 4:5644
- Caffrey JR, Hughes BD, Britto JM, Landman KA (2014) An in silico agent-based model demonstrates Reelin function in directing lamination of neurons during cortical development *PLoS One* 9:e110415
- Chai X et al. (2016) Reelin and cofilin cooperate during the migration of cortical neurons: a quantitative morphological analysis *Development* 143:1029-1040
- D'Arcangelo G, Curran T (1998) Reeler: new tales on an old mutant mouse *Bioessays* 20:235-244
- D'Arcangelo G, G. Miao G, Chen S-C, Scars HD, Morgan JI, Curran T (1995) A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler *Nature* 374:719-723
- Del Toro D, Ruff T, Cederfjall E, Villalba A, Seyit-Bremer G, Borrell V, Klein R (2017) Regulation of Cerebral Cortex Folding by Controlling Neuronal Migration via FLRT Adhesion Molecules *Cell* 169:621-635 e616
- Goriely A, Budday S, Kuhl E (2015) Neuromechanics: From Neurons to Brain. In: Bordas SPA, Balint DS (eds) *Advances in Applied Mechanics*, vol 48. *Advances in Applied Mechanics*. Elsevier, pp 79-139
- Marin O, Valiente M, Ge X, Tsai LH (2010) Guiding neuronal cell migrations *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2:a001834
- Matsunaga Y et al. (2017) Reelin transiently promotes N-cadherin-dependent neuronal adhesion during mouse cortical development *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:2048-2053

- Misson J-P, Edwards MA, Yamamoto M, Caviness VS (1988) Identification of radial glial cells within the developing murine central nervous system: studies based upon a new immunohistochemical marker *Developmental Brain Research* 44:95-108
- Rakic P (1972) Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex *J Comp Neurol* 145:61-83
- Rakic P (2009) Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology *Nat Rev Neurosci* 10:724-735
- Reillo I, de Juan Romero C, Garcia-Cabezas MA, Borrell V (2011) A role for intermediate radial glia in the tangential expansion of the mammalian cerebral cortex *Cereb Cortex* 21:1674-1694
- Rooij Rd, Kuhl E (2018) A physical multifield model predicts the development of volume and structure in the human brain *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 112:563-576
- Sekine K et al. (2012) Reelin controls neuronal positioning by promoting cell-matrix adhesion via inside-out activation of integrin alpha5beta1 *Neuron* 76:353-369
- Sheppard AM, Pearlman AL (1997) Abnormal reorganization of preplate neurons and their associated extracellular matrix: an early manifestation of altered neocortical development in the reeler mutant mouse *J Comp Neurol* 378:173-179
- Tallinen T, Chung JY, Biggins JS, Mahadevan L (2014) Gyrification from constrained cortical expansion *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:12667-12672
- Tallinen T, Chung JY, Rousseau F, Girard N, Lefèvre J, Mahadevan L (2016) On the growth and form of cortical convolutions *Nature Physics* 12:588-593
- Valiente M, Marin O (2010) Neuronal migration mechanisms in development and disease *Curr Opin Neurobiol* 20:68-78
- Zubler F, Douglas R (2009) A framework for modeling the growth and development of neurons and networks *Front Comput Neurosci* 3:25

第3章

細胞活動と組織成長を考慮した 脳形態形成シミュレーション

3.1 緒言

第2章で構築した数理モデルを拡張し、小脳組織の形態形成へ適用する。ここで、小脳組織の形態形成を引き起こす細胞増殖と、組織内の線維に沿った細胞移動を組み込んだ数理モデルを新たに構築する。さらに、有限要素法を用いて、二次元の組織変形シミュレーションを行い、細胞の増殖と移動から生じる組織成長が、小脳のしわの形態形成に及ぼす影響を示す。

脳組織は、多数のしわを持つ特徴的な形態を成している。例えば、小脳組織は、しわが伸長・分岐した樹状の形態を有している。小脳の形態の形成不全は、小脳が担っている認識や運動といった機能不全とともに観察されることから(Sillitoe and Joyner 2007; Leto et al. 2016)、小脳の形態と機能の関連が示唆されてきた。したがって、機能的な小脳の形成において、小脳の形態がどのように形成されるのかを明らかにすることが重要となる。しわ形成は、空間的に不均一な組織の成長（偏差成長）から生じる座屈現象であると考えられており、力学理論や数理モデルを用いて検証されている。しかしながら、しわが形成された後のしわの伸長や分岐などの変形のメカニズムは、未だ明らかになっていない。小脳の形態形成において、しわが伸長する過程では、第2章で扱った大脳の形態形成にも見られるように、細胞が産生された場所から移動して集積することにより、層構造が形成

される。この層形成にともなう組織成長により、組織は変形する。したがって、小脳のしわ伸長のメカニズムを明らかにするためには、組織変形に対する細胞移動の寄与を明らかにする必要がある。

小脳の発生過程において、その形態は、しわの伸長、分岐の繰り返しにより形成されていく。しわ形成を引き起こすのは、組織を構成する細胞の増殖と移動などの細胞活動である(Corrales et al. 2006; Legue et al. 2016; Leto et al. 2016; Govek et al. 2018; Lejeune et al. 2019)。しわ形成の初期段階では、小脳組織の表層の外顆粒層(External granular layer, EGL)において、顆粒細胞(Granular cells, GCs)の前駆細胞が活発に分裂し、顆粒細胞が産生される (Sudarov and Joyner 2007; Legue et al. 2015; Lawton et al. 2019)。産生された顆粒細胞は、バークマングリア細胞の軸索からなるバークマングリア線維(Bergmann glia fibers, BG fibers)に沿って、深部へと細胞体を移動させる (Edmondson and Hatten 1987; Yacubova and Komuro 2002)。EGL から組織の深部へ、顆粒層(Molecular layer, ML)とプルキンエ細胞層(Purkinje cell layer, PCL)を通過すると、顆粒細胞は移動を停止して集積し、内顆粒層(internal granular layer, IGL)を形成する。顆粒細胞の移動と集積を通じて形成された内顆粒層は、しわの谷部分で薄く、しわの山部分で厚いという、不均一な層の厚みを有する。また、細胞の移動と集積にともなう、小脳組織は変形するが、しわの谷の位置はほとんど変化せず、しわの山が伸長していき、小脳の特徴的な伸長したしわが形成される(Sudarov and Joyner 2007)。

顆粒細胞の移動の阻害や BG 線維の形成不全は、しわ伸長の不全などのしわ形成不全を引き起こすことから(Men et al. 2015; Ryan et al. 2017; Hughes et al. 2020)、線維に沿った細胞移動が、しわ形成に重要な役割を果たすと考えられている。先行研究より、線維に沿った細胞移動により不均一な厚みを持つ内顆粒層が形成され、しわ伸長を引き起こすというメカニズムが提案された(Sudarov and Joyner 2007)。しわが形成された組織内では、しわの谷付近で BG 線維が、表層から深部に向かって放射状に広がる向きに配向することが観察されている。顆粒細胞は、BG 線維に沿って移動するため、しわの谷付近では、より広範囲に広がるように移動する。逆に、しわの山では BG 線維は深部から表層に向かって放射状に配向し、顆粒細胞は狭い範囲に移動する。したがって、しわ形成などの組織変形によって BG 線維の方向が変化することにより、顆粒細胞の移動方向が変化し、不均一な厚みを持つ IGL の形成と、しわの伸長が引き起こされると考えられる。

本章では、このしわ形成のメカニズムに基づいて、本章では、計算機シミュレーションにより、しわの伸長に対する BG 線維に沿った細胞移動の寄与を調べる。まず、前章で構築した数理モデルを拡張し、線維に沿った細胞移動にともなう組織変形の連続体力学モデルを構築する。そして、細胞活動と組織変形が相互作用しながら進行する形態形成の代表例として、小脳のしわ形成過程を対象とした二次元組織の数値シミュレーションを行う。

3. 2 手 法

3. 2. 1 小脳形態形成における細胞活動の数理モデル

小脳組織の変形を記述する連続体力学理論は、第2章2.2節を参照する。小脳形態形成における組織成長と細胞の数密度を関連付ける構成則を表現するため、顆粒細胞の細胞数密度を c として、成長ストレッチ θ を

$$\theta(c) = (1 + kc)^\alpha \quad (3.1)$$

と表した。ここで、 k と α は、組織成長と細胞数密度を関連付ける定数である。

顆粒細胞の移動を表現するため、細胞数密度の時間発展式は、流束 \mathbf{q} を

$$\mathbf{q} = c\mathbf{v} - D \frac{\partial c}{\partial \mathbf{x}} \quad (3.2)$$

と表すことにより、

$$\frac{\partial c}{\partial t} + c \frac{1}{J} \frac{\partial J}{\partial t} = - \frac{\partial(c\mathbf{v})}{\partial \mathbf{x}} + D \frac{\partial^2 c}{\partial \mathbf{x}^2} + f \quad (3.3)$$

とした。ここで、 \mathbf{v} は細胞移動速度、 D は拡散係数、 f は細胞数密度の湧き出し速度を表す。右辺の第一項は移流項であり、細胞の移動を表現する。第二項は拡散項であり、細胞密度の勾配に依存した細胞移動を表現する。第三項は細胞密度の産生項であり、顆粒細胞の産生を表現する。

小脳組織の形態形成では、顆粒細胞が BG 線維に沿って移動する(Fig. 3.1A)。細胞が線維に沿って移動するとき、組織の変形によって線維が変形することから、細胞移動も組織変形の影響を受ける。したがって、線維に沿った細胞移動を

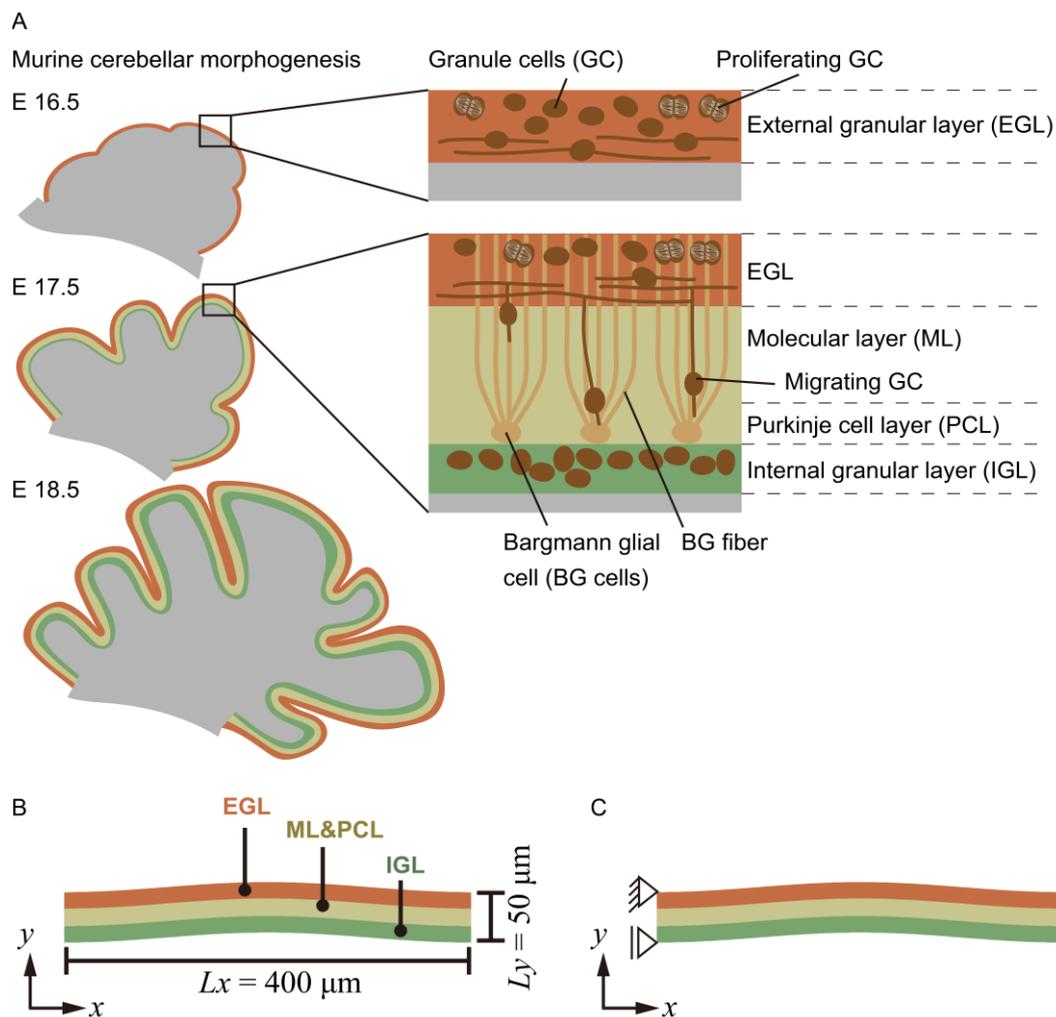


Figure 3.1 Modeling cerebellar morphogenesis. (A) Folia formation is accompanied by granule cell (GC) proliferation in the external granular layer (EGL), and subsequent migration into the internal granular layer (IGL) along Bergmann glial (BG) fibers. This folia formation example shows murine cerebellar morphology from embryonic day E16.5–18.5. (B) Initial morphology of cerebellar tissue consisting of EGL, molecular layer (ML), Purkinje cell layer (PCL) and IGL. The tissue had a length $L_x = 400 \mu\text{m}$ and a thickness $L_y = 50 \mu\text{m}$. (C) Boundary condition. The out-of-plane displacement on the lateral surfaces are constrained with fixed top points.

数理モデル化するためには，変形に依存して変化する線維方向と，その方向に沿った移動を考慮する必要がある．組織内の線維の配向を単位方向ベクトル $\mathbf{a}(x, t)$ と定義する．線維方向は，組織変形により，基準配置における線維方向 $\mathbf{a}_0 = \mathbf{a}(x, 0)$ から

$$\mathbf{a} = \frac{\mathbf{F}\mathbf{a}_0}{|\mathbf{F}\mathbf{a}_0|} \quad (3.4)$$

と方向を変化させる．第 3.3.1 項にて対象とする，線維に沿った正常な細胞移動は，細胞移動速度 \mathbf{v} を

$$\mathbf{v} = |\mathbf{v}|\mathbf{a} \quad (3.5)$$

とすることにより表現した．また，第 3.3.2 項にて対象とする，細胞移動方向が線維方向に沿わない細胞移動異常の場合では，組織の線維方向 \mathbf{a} と細胞移動方向 \mathbf{v} のなす角を φ_r ($-\frac{\varphi_{\max}}{2} \leq \varphi_r \leq \frac{\varphi_{\max}}{2}$)として， φ_r をランダムに変化させた．

3. 2. 2 小脳しわ形態形成のシミュレーションモデル

小脳しわ伸長のメカニズムを明らかにするため，構築した数理モデルを有限要素法に適用し，計算機シミュレーションを行った．対象とする小脳組織は，EGL, ML, PCL, IGL から構成される二次元の組織である(Fig. 3.1B)．時刻 $t = 0$ における初期状態では，小脳組織は，長さ $L_x = 400 \mu\text{m}$ と厚み $L_y = 50 \mu\text{m}$ を有している．小脳しわの伸長に着目するため，既にしわが存在した状態を仮定し，振幅が $5 \mu\text{m}$ の正弦波状に組織は湾曲している．境界条件として，組織の左右側面の面外方向の変位を固定し，両面の上端の点の変位を拘束した．また，平面ひずみを仮定した．

EGL における顆粒細胞の産生は，式(3.3)での産生速度 f を EGL にて $f = f_0$ ($f_0 > 0$)，その他の層にて $f = 0$ とすることにより表現した．EGL から IGL への顆粒細胞の移動は，移動速度 $|\mathbf{v}|$ を EGL, ML, PCL にて $|\mathbf{v}| = v_0$ ($v_0 \geq 0$)とし，IGL で $|\mathbf{v}| = 0$ とすることにより表現した．細胞移動の方向は，式(3.5)に基づいて，組織内の線維方向により決定される．初期状態での線維方向 \mathbf{a}_0 は， \mathbf{a}_0 の x 方向成分 a_{0x} と y 方向成分 a_{0y} をそれぞれ $a_{0x} = 0$ ， $a_{0y} = -1$ とし， y 軸負方向とした．用いたパラメータは，Table 3.1 に示す．

Table 3.1 Model parameters

Symbol	Value	Description
L_x	400 μm	Length of cerebellar tissue
L_y	50 μm	Thickness of cerebellar tissue
k	1.0	Constitutive parameter in Eq. (3.1)
α	0.5	Constitutive parameter in Eq. (3.1)
D	5 $\mu\text{m}^2/\text{h}$	Diffusion coefficient in Eq. (3.3)
f_0	0.1 /h	Production rate of cell number density in the external granule layer (EGL)
v_0	0, 5, 10 $\mu\text{m}/\text{h}$	Cell migration speed in the external granule layer (EGL), molecular layer (ML) and Purkinje cell layer (PCL)
φ_{max}	0, π , $3/2\pi$	Range of random angle φ_r

3. 3 結 果

3. 3. 1 細胞移動から生じる小脳しわ伸長

小脳のしわ形成に対する BG 線維に沿った顆粒細胞の移動の寄与を理解するため、細胞移動速度を変化させてシミュレーションを行った。その結果、EGL における顆粒細胞の産生と IGL への移動により、しわが伸長した(Fig. 3.2)。Fig. 3.2 A-C は、時間の経過にともなう小脳組織の形状変化を表しており、組織は層構成(左半分)と顆粒細胞の数密度分布(右半分)によって色付けされている。細胞移動速度 v_0 が 10 $\mu\text{m}/\text{h}$ のとき、時間 $t = 20 \text{ h}$ において、細胞数密度が、IGL で増加した(Fig. 3.2A)。IGL に集積した細胞は不均一に分布しており、細胞数密度はしわの谷付近で低く、しわの山で高くなった。これと比較して、細胞移動速度が小さくなると ($v_0 = 5 \mu\text{m}/\text{h}$)、IGL に分布する細胞は減少した(Fig. 3.2B)。さらに、細胞が移動しない場合 ($v_0 = 0 \mu\text{m}/\text{h}$)、細胞は EGL に均一に分布した(Fig. 3.2C)。これらの結果より、細胞が移動することにより、不均一な IGL が形成されることが示された。

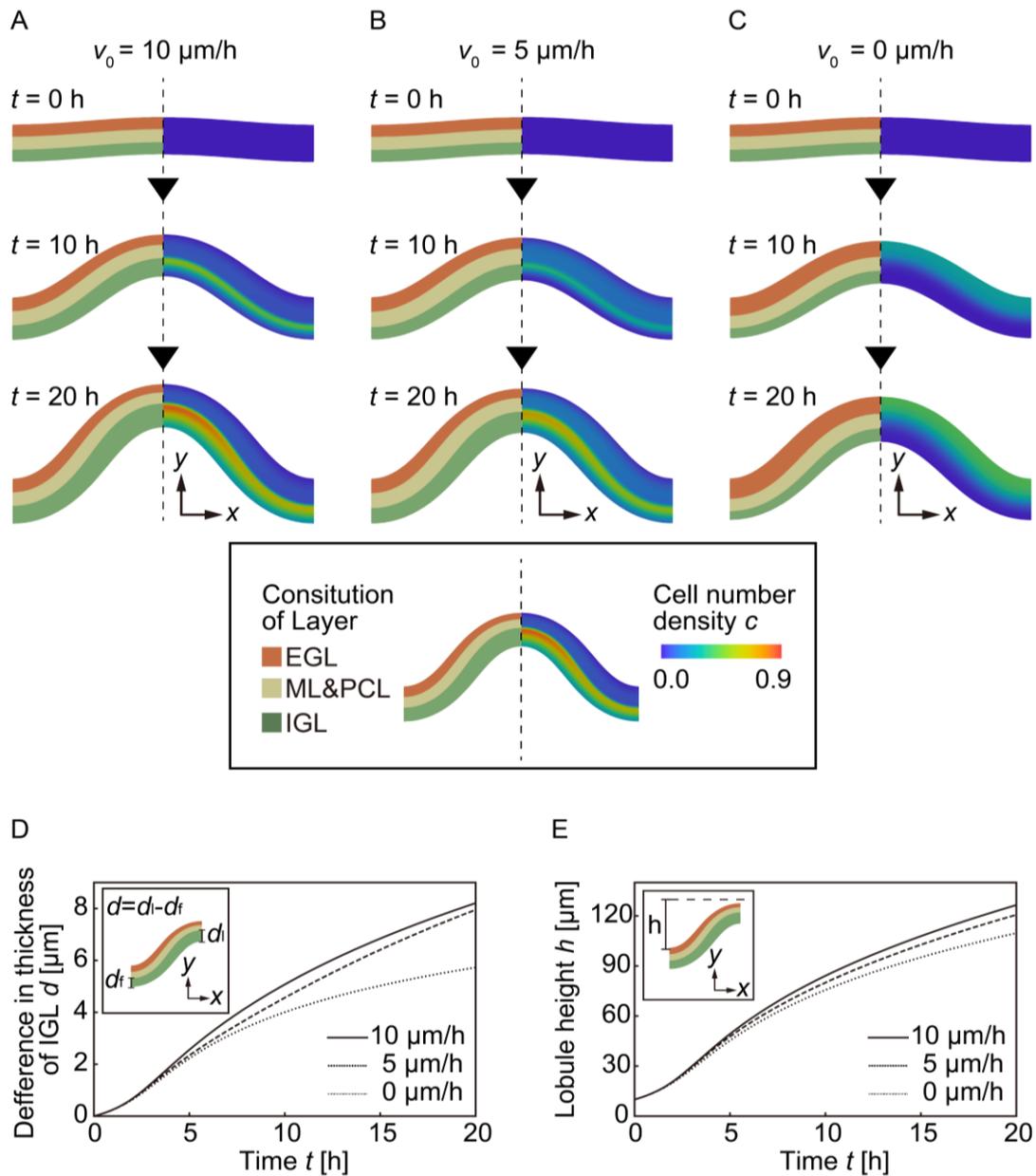


Figure 3.2 The effects of fiber-guided migration on granule cell accumulation and folia length. GCs proliferate in external granular layers (EGLs) and migrate to internal granular layers (IGLs). (A–C) Morphological changes in the cerebellar tissue resulting from GC migration; (A) $|\mathbf{v}| = 10 \mu\text{m/h}$, (B) $|\mathbf{v}| = 5 \mu\text{m/h}$ and (C) $|\mathbf{v}| = 0 \mu\text{m/h}$ (no migration). The left section of each image shows the cerebellar layer constitution, and the right section shows the distribution of cell number density caused by cell accumulation. Temporal changes in IGL thickness (D) and lobule height (E).

IGL の不均一さを定量的に解析するため、しわの山における IGL の厚さ d_1 としわの谷における IGL の厚さ d_f の差 $d(= d_1 - d_f)$ の時間変化を Fig. 3.2D に示した。IGL の厚さの差は、細胞移動速度が大きいほど増加したことから、線維に沿った細胞移動が、不均一な厚さを持つ IGL の形成を引き起こすことが明らかになった。また、しわの形状に及ぼす細胞移動の影響を明らかにするため、しわの山の高さ h の時間変化を調べた(Fig. 3.2E)。その結果、細胞移動速度が大きいほどしわの山が高くなり、しわが伸長した。以上の結果より、線維に沿った細胞移動より、不均一な厚さを持つ IGL が形成され、しわの伸長を引き起こすことが示唆された。

3. 3. 2 細胞移動異常により生じる小脳しわ形成不全

小脳形態形成において、顆粒細胞が BG 線維に沿った移動がしわの伸長に重要であることが示唆されている(Sudarov and Joyner 2007)。細胞移動が線維に沿うことが、しわ形成に及ぼす影響を明らかにするため、細胞移動方向が線維方向から乱れた細胞移動異常により生じる組織変形の解析を行った。細胞移動異常は、線維方向からランダムな角度 $\varphi(-\frac{\varphi_{\max}}{2} \leq \varphi \leq \frac{\varphi_{\max}}{2})$ だけ細胞移動方向を回転させることにより表現した。移動速さ v_0 は、 $10 \mu\text{m}/\text{h}$ と固定し、ランダムな角度 φ が取り得る値の幅 φ_{\max} を $0, \pi, \frac{3\pi}{2}$ と変化させた。

時刻 $t = 20 \text{ h}$ における細胞移動方向の空間分布を Fig. 3.3A-C に示す。細胞移動の方向が正常に線維方向に沿っているとき($\varphi_{\max} = 0$, 前節の Fig. 3.2A と同様)、細胞移動の方向は、しわの谷付近では表層から深部に向かって放射状に広がり、しわの山付近では表層から深部に向かって集中するように配向した(Fig. 3.3A)。細胞移動異常が生じたとき($\varphi_{\max} = \pi, \frac{3\pi}{2}$)、細胞移動方向が乱れた(Fig. 3.3B, C)。さらに、細胞密度分布から、細胞移動方向が乱れるほど、IGL の細胞密度分布が減少し、他の層での密度が増加した。さらに、しわの山と谷付近の IGL の厚さの差 $d(= d_1 - d_f)$ としわの山の高さ h の時間変化を調べた(Fig. 3.3D, E)。その結果、細胞移動方向が乱れるほど、IGL の厚さの差は小さくなり、また、しわの山は低くなった。したがって、不均一な厚さを持つ IGL の形成としわの伸長には、細胞移動が線維に沿うことが必要であることが示された。

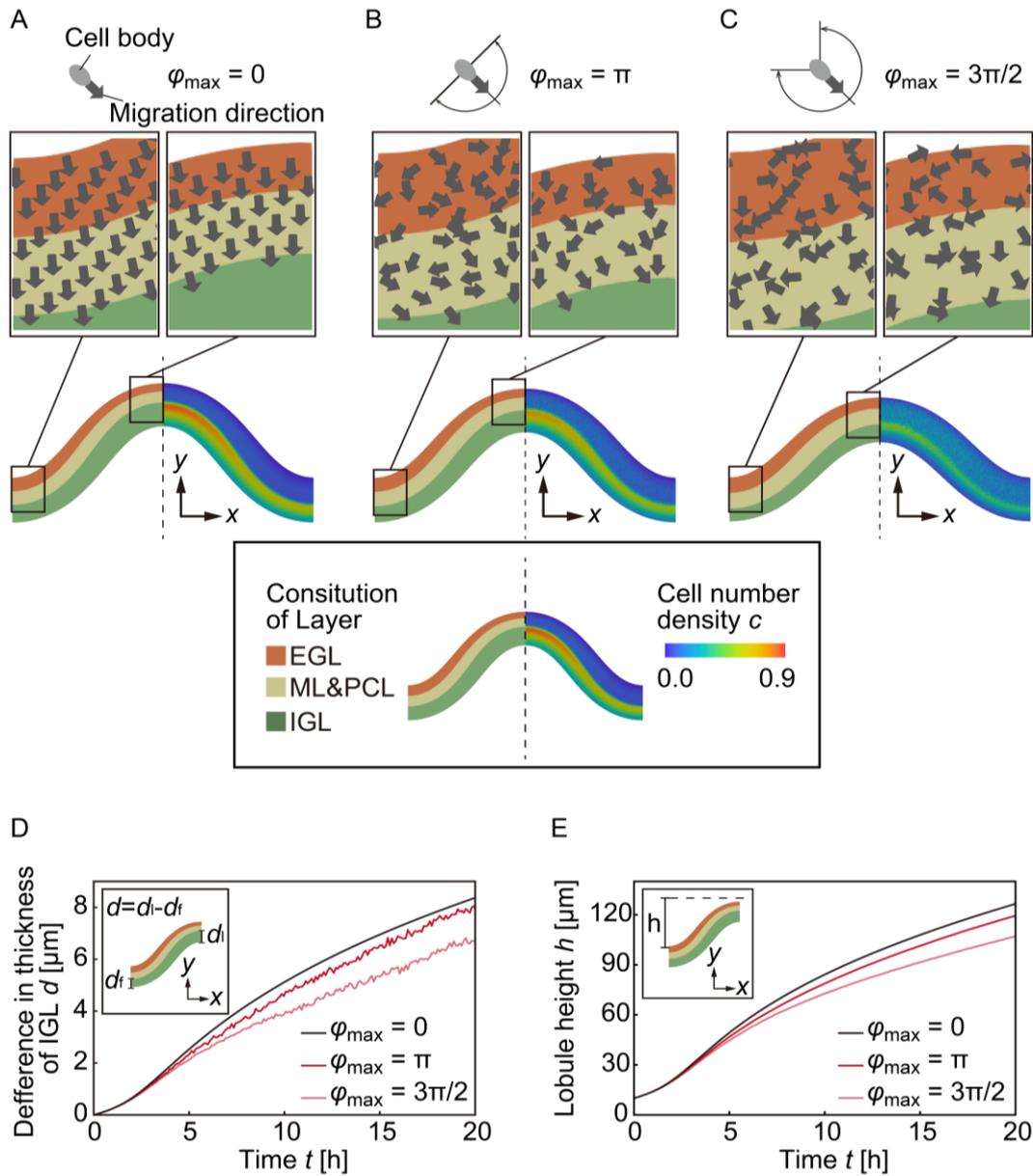


Figure 3.3 The effects of impaired granule cell migration under pathological conditions, where GC migration is not guided on Bergmann glial (BG) fibers, on folia formation. (A-C) The direction field of GC migration over time $t = 20$ h, as indicated by arrows in the external granule layer (EGL), molecular layer (ML) and Purkinje cell layer (PCL), depending on the random angle φ_{\max} . Left sections show a whole view of the cortical layer, and right sections show the distribution of cell number density. Temporal changes in IGL thickness (D) and lobule height (E).

3. 4 考 察

小脳の形態形成において、小脳組織の特徴的な形態は、BG 線維に沿った顆粒細胞の産生と移動にともなって形成される(Corrales et al. 2006; Legue et al. 2016; Leto et al. 2016; Govek et al. 2018; Lejeune et al. 2019). 小脳のしわ形成に対する細胞移動の寄与を明らかにするため、本研究では、EGL での細胞産生と IGL への線維に沿った移動から生じる組織変形シミュレーションを行った。細胞移動速度を変化させた結果から、細胞移動が不均一な厚みを持つ IGL の形成としわの伸長を引き起こすことを示した(Fig. 2.2). さらに、細胞移動異常を想定し、細胞移動を線維方向から乱した結果、細胞移動方向が線維に沿うことが不均一な IGL 厚みの形成としわの伸長に必要であることを示した(Fig. 2.3). 線維方向は、組織変形に追従して変化することから、組織変形によって細胞移動方向が変化することにより、伸長したしわの形態が形成されることが示唆された。

本研究では、数理モデルを用いて、先行研究(Sudarov and Joyner 2007)により提案されたしわ伸長のメカニズムを検証した。しわ形成にともなう組織の変形により、BG 線維の配向と、その配向に依存した細胞移動方向が変化し、しわの山付近の IGL に細胞が集積して、しわが伸長した。シミュレーションの結果における BG 線維の方向(Fig. 2.3A)は、過去の生体実験における観察(Govek et al. 2018)と一致している。また、細胞移動異常が生じると、しわの伸長と IGL の不均一さが抑えられたが、これらの結果は、過去の生体実験(Govek et al. 2018)において、細胞が BG 線維に沿わず移動した際の EGL から IGL まで広範囲に細胞が分布することと一致している。したがって、本研究で行ったシミュレーションは、実験観察における正常、あるいは、異常な小脳形態形成を再現した。

本研究は、しわ形成過程で生じる層形成の物理的なメカニズムを提案した。これまで、脳形態形成における層形成では、神経細胞移動の生化学的な制御により説明されてきた(D'Arcangelo and Curran 1998; Sekine et al. 2012; Caffrey et al. 2014; Matsunaga et al. 2017). その一方で、力学的なメカニズムも層形成に重要であることが示唆されている(Lejeune et al. 2016; Engstrom et al. 2018; Lawton et al. 2019). 一般に、しわ形成における弾性的な変形にともない、しわの山で層が厚く、しわの谷で層が薄くなることが示されている(Tallinen et al. 2014; Holland et al. 2018). このメカニズムに加えて、小脳の形態形成においては、IGL に分布する細胞の数

が異なることから(Sudarov and Joyner 2007), 本研究では, 組織変形に依存した細胞移動に起因して組織成長が不均一に分布する塑性的な変形により, 層の厚さの差が生じることを示した. 線維に沿った細胞移動は, 大脳における放射状グリア細胞の軸索に沿った神経細胞の移動のように(Borrell and Gotz 2014; Del Toro et al. 2017; Rahimi-Balaei et al. 2018), 脳組織の形態形成において随所に見られるため, 本研究で示した力学的なメカニズムは, 脳組織の層形成のメカニズムを理解する上で重要になると考えられる.

本研究で検証したしわ伸長のメカニズムは, 最初のしわの存在を仮定していた. 小脳の最初のしわの形成は, 形成される小脳のしわの数などを決定するため重要である. 本研究のさらなる発展により, 小脳の形態形成の包括的に理解するためには, 最初のしわの形成や分岐のメカニズムを明らかにすることが必要となる. そこでは, 本研究で考慮したメカニズムに加えて, EGL における流動的な挙動や線維が発生させる力(Engstrom et al. 2018; Lawton et al. 2019), しわ同士との接触などの力学的なメカニズムを考慮する必要となる. これらの発展を通じて, 特徴的な脳形態の形成過程が明らかになり, さらに, 機能的な組織が形成されるメカニズムが明らかになることが期待される. 本研究で示した数理的なアプローチは, 細胞活動と組織挙動が相互に影響しながら進行する小脳形態形成のメカニズムを明らかにする上で, 有用であると考えられる.

3. 5 結 言

本章では, 細胞活動と組織成長を関連付けた連続体力学モデルを用いて, 小脳の形態形成におけるしわ変形のメカニズムに関する仮説を検証した. その結果, 細胞が線維に沿って移動することにより, 小脳の特徴的なしわの伸長が引き起こされることが示唆された. 本結果は, しわの形成後の変形に着目し, そのメカニズムを細胞活動に基づいて検証した点で意義がある. 本章では, 細胞が線維に沿って移動することにより, しわが一度形成されると, そのしわがさらに伸長するというメカニズムを示した. 一度形成された形状が維持され, その形成がさらに進行するため, このメカニズムは, 組織の安定的な形態形成に重要な役割を果たすと考えられる.

参考文献

- Borrell V, Gotz M (2014) Role of radial glial cells in cerebral cortex folding *Curr Opin Neurobiol* 27:39-46
- Caffrey JR, Hughes BD, Britto JM, Landman KA (2014) An in silico agent-based model demonstrates Reelin function in directing lamination of neurons during cortical development *PLoS One* 9:e110415
- Corrales JD, Blaess S, Mahoney EM, Joyner AL (2006) The level of sonic hedgehog signaling regulates the complexity of cerebellar foliation *Development* 133:1811-1821
- D'Arcangelo G, Curran T (1998) Reeler: new tales on an old mutant mouse *BioEssays* 20:235-244
- Del Toro D, Ruff T, Cederfjall E, Villalba A, Seyit-Bremer G, Borrell V, Klein R (2017) Regulation of Cerebral Cortex Folding by Controlling Neuronal Migration via FLRT Adhesion Molecules *Cell* 169:621-635 e616
- Edmondson JC, Hatten ME (1987) Glial-guided granule neuron migration in vitro: a high-resolution time-lapse video microscopic study *The Journal of Neuroscience* 7:1928
- Engstrom TA, Zhang T, Lawton AK, Joyner AL, Schwarz JM (2018) Buckling without Bending: A New Paradigm in Morphogenesis *Phys Rev X* 8
- Govek EE et al. (2018) Cdc42 Regulates Neuronal Polarity during Cerebellar Axon Formation and Glial-Guided Migration *iScience* 1:35-48
- Holland M, Budday S, Goriely A, Kuhl E (2018) Symmetry Breaking in Wrinkling Patterns: Gyri Are Universally Thicker than Sulci *Phys Rev Lett* 121:228002
- Hughes LJ et al. (2020) Yap/Taz are required for establishing the cerebellar radial glia scaffold and proper foliation *Dev Biol* 457:150-162
- Lawton AK et al. (2019) Cerebellar folding is initiated by mechanical constraints on a fluid-like layer without a cellular pre-pattern *Elife* 8
- Legue E et al. (2016) Differential timing of granule cell production during

- cerebellum development underlies generation of the foliation pattern
Neural Dev 11:17
- Legue E, Riedel E, Joyner AL (2015) Clonal analysis reveals granule cell behaviors and compartmentalization that determine the folded morphology of the cerebellum Development 142:1661-1671
- Lejeune E, Dortdivanlioglu B, Kuhl E, Linder C (2019) Understanding the mechanical link between oriented cell division and cerebellar morphogenesis Soft Matter 15:2204-2215
- Lejeune E, Javili A, Weickenmeier J, Kuhl E, Linder C (2016) Tri-layer wrinkling as a mechanism for anchoring center initiation in the developing cerebellum Soft Matter 12:5613-5620
- Leto K et al. (2016) Consensus Paper: Cerebellar Development Cerebellum 15:789-828
- Matsunaga Y et al. (2017) Reelin transiently promotes N-cadherin-dependent neuronal adhesion during mouse cortical development Proc Natl Acad Sci U S A 114:2048-2053
- Men Y, Zhang A, Li H, Jin Y, Sun X, Li H, Gao J (2015) LKB1 Regulates Cerebellar Development by Controlling Sonic Hedgehog-mediated Granule Cell Precursor Proliferation and Granule Cell Migration Sci Rep 5:16232
- Rahimi-Balaei M, Bergen H, Kong J, Marzban H (2018) Neuronal Migration During Development of the Cerebellum Frontiers in Cellular Neuroscience 12
- Ryan KE, Kim PS, Fleming JT, Brignola E, Cheng FY, Litingtung Y, Chiang C (2017) Lkb1 regulates granule cell migration and cortical folding of the cerebellar cortex Dev Biol 432:165-177
- Sekine K et al. (2012) Reelin controls neuronal positioning by promoting cell-matrix adhesion via inside-out activation of integrin alpha5beta1 Neuron 76:353-369
- Sillitoe RV, Joyner AL (2007) Morphology, molecular codes, and circuitry

produce the three-dimensional complexity of the cerebellum *Annu Rev Cell Dev Biol* 23:549-577

Sudarov A, Joyner AL (2007) Cerebellum morphogenesis: the foliation pattern is orchestrated by multi-cellular anchoring centers *Neural Dev* 2:26

Tallinen T, Chung JY, Biggins JS, Mahadevan L (2014) Gyrification from constrained cortical expansion *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:12667

Yacubova E, Komuro H (2002) Cellular and molecular mechanisms of cerebellar granule cell migration *Cell Biochemistry and Biophysics* 37:213-234

第4章

エネルギー地形を用いた 組織形態形成の力学的理解

4.1 緒言

生体組織の形態形成において、組織変形は、細胞活動から生じる力学的な作用により引き起こされる(Pearl et al. 2017). 前章で扱った脳形態形成において見られたように、細胞の増殖と移動は、組織の体積的な成長を引き起こし、圧縮の力を発生させ、組織を変形させる(Ingber 2006; Eiraku et al. 2012). これに加えて、細胞の収縮は、発生過程の随所で重要な役割を果たす重要な細胞活動である. 細胞収縮は、細胞膜附近でのアクトミオシンの活性により、引張の力を発生させる(Sawyer et al. 2010; Lecuit et al. 2011; Heisenberg and Bellaiche 2013).

形態形成を経て、シートや球殻、円管などの多様な形態が、細胞活動の時空間的な制御に応じて形成される(Sawyer et al. 2010; Filas et al. 2012a). 過去の実験観察(Filas et al. 2012b; Kondo and Hayashi 2015)や数理的な研究(Filas et al. 2012b; Misra et al. 2016; Inoue et al. 2017)により、細胞が単層に並んだシート状の組織は、収縮する細胞の空間分布に依存して、質的に異なる形態へ組織が変形することが知られている. 生体組織は多様な形態へ変形する可能性を有している一方で、形態形成の過程は、細胞活動の時空間的なゆらぎの存在下においても、質的に同じ形態が安定的に形成されるという、非常に安定的な過程である(Goodwin et al. 1993; Conte et al. 2009; Davidson 2017). 例えば、多細胞組織の変形を駆動する細

胞収縮にゆらぎが生じてても、特定の期間であれば、形態形成は正常に進行する (Royou et al. 2004; Eiraku et al. 2011; Krajcovic and Minden 2012). 形成される形態の多様性と形成過程の安定性が成り立つ仕組みを理解するためには、両特徴を同時に捉えるアプローチが必要となる. 形態形成における組織変形は、細胞活動から生じる力に起因するため、力学的な見地からのエネルギーベースのアプローチが有用であると考えられる.

本章では、組織形態形成のエネルギー地形を可視化することにより、俯瞰的な視点から質的に異なる形態の形成と、その形成過程の安定性を理解するための新たなアプローチを提案する. 細胞の増殖と収縮から生じる組織の成長と収縮を連続体力学に基づいて数理モデル化し、構築したモデルに基づいて有限要素解析を行う. 解析対象は、神経管形成(Nishimura et al. 2012; Butler and Wallingford 2018)や原腸陥入(Royou et al. 2004; Krajcovic and Minden 2012), 眼杯形成など(Nicolas-Perez et al. 2016; Martinez-Morales et al. 2017)などの発生過程で随所に見られるシート状組織と円管状組織とする. これらの組織の変形過程におけるひずみエネルギー変化を解析し、エネルギー地形を可視化し、質的に異なる形態の形成とその形成過程の安定性を力学的な観点から調べる.

4. 2 手 法

4. 2. 1 組織成長の連続体力学モデル

生体組織の変形を数理的に記述する連続体力学理論は、第2章2.2節を参照する. 細胞増殖から生じる組織の体積的な成長を表現する変形勾配テンソル \mathbf{F}^g は、式(2.3)にて導入された. 細胞が単層に並んだシート状組織の形態形成では、細胞が単層構造を保ったまま平面内で分裂することから、第4.3.2項にて扱うシート状組織の成長を面内等方的な成長と仮定した. 変形勾配テンソル \mathbf{F}^g は、成長ストレッチ θ を用いて、

$$\mathbf{F}^g = \theta \mathbf{I} + (1 - \theta) \mathbf{n} \otimes \mathbf{n} \quad (4.1)$$

と表される. ここで、 \mathbf{I} は2階恒等テンソル、 \mathbf{n} は面外方向の単位ベクトルである. また、第4.3.3項で扱う円管状組織の形態形成において、円周方向の成

長を表現するため、単位方向ベクトル $\boldsymbol{\zeta}$ の方向への成長を、

$$\mathbf{F}^g = \mathbf{I} + (\theta - 1)\boldsymbol{\zeta}\otimes\boldsymbol{\zeta}, \quad (4.2)$$

と表現した。

4. 2. 2 生体組織の収縮の連続体力学モデル

生体組織の収縮を表現するために、能動的応力モデルを適用した。組織はひずみエネルギーは、弾性的な変形によるひずみエネルギー ψ_{pas} と能動的な応力の発生によるエネルギー ψ_{act} の和として

$$\psi = \psi_{\text{pas}} + \psi_{\text{act}} \quad (4.3)$$

と表現される(Rachev and Hayashi 1999; Kida and Adachi 2015)。細胞が発揮する能動的な力として、シート状組織での面内等方的な細胞収縮を対象とする。基準配置における収縮方向を表す互いに直交する二つの単位方向ベクトルを $\mathbf{m}_{0,i}$ ($i = 1,2$)とする。収縮方向が変形に追従して変化するとき、現在配置における収縮方向 \mathbf{m}_i ($i = 1,2$)は、

$$\mathbf{m}_i = \frac{\mathbf{F}^e \mathbf{m}_{0,i}}{|\mathbf{F}^e \mathbf{m}_{0,i}|} \quad (4.4)$$

と表される。変形による \mathbf{m}_i 方向のストレッチ λ は、

$$\lambda_i = |\mathbf{F}^e \mathbf{m}_{0,i}| \quad (4.5)$$

である。能動的な応力に関するエネルギー関数 ψ_{act} は、ストレッチ λ_i ($i = 1,2$)と収縮力の大きさ A ($A \geq 0$)を用いて、

$$\psi_{\text{act}} = \sum_{i=1}^2 A \left\{ \lambda_i + \frac{1}{3} \frac{(\lambda_{\max} - \lambda_i)^3}{(\lambda_{\max} - \lambda_{\min})^2} \right\} \quad (4.6)$$

と表される。ここで、 λ_{\max} と λ_{\min} はそれぞれ収縮力が働く最大のストレッチと最小のストレッチを表す。能動的な応力に関する構成関係は、付録 A.3 に述べた。

生体組織の材料的な性質は超弾性体としてモデル化した。弾性変形によるひずみエネルギー ψ_{pas} は、式(2.11)で表現される Neo-Hookean model を用いて

$$\psi_{\text{pas}} = \frac{\lambda}{8} \ln^2 I_3 + \frac{\mu}{2} (I_1 - 3 - \ln I_3) \quad (4.7)$$

とした. ここで, λ と μ は材料定数であり, I_1 と I_3 は Right-Cauchy-Green テンソル $\mathbf{C} = \mathbf{F}^e \mathbf{T} \mathbf{F}^e$ の不変量であり, それぞれ $I_1 = \text{tr} \mathbf{C}$, $I_3 = \det \mathbf{C}$ である. 受動的な変形により生じる組織の全ひずみエネルギー Ψ_{pas} は,

$$\Psi_{\text{pas}} = \int \psi_{\text{pas}} dv \quad (4.8)$$

と求められる.

4. 3 結果

4. 3. 1 シート状組織の形態形成シミュレーション

構築した連続体力学モデルに基づいて, 生体の発生過程で随所に見られる組織の成長と収縮から生じるシート状組織の形態形成の有限要素解析を行った. シート状組織の有限要素モデルは, Fig. 4.1a に示す円板とした. 組織の中心軸から側面までの距離は $r = 100 \mu\text{m}$, 厚さは $20 \mu\text{m}$ とした. シート状組織は, 初期形状で曲率を有しており, その曲率半径は $R = r / \sin(\pi/6)$ とした. 曲率が組織変形に与える影響は, 付録 A.4 で述べた. 式(4.7)における材料定数は, ヤング率 $E = 200 \text{ Pa}$ とポアソン比 $\nu = 0.45$ とし, $\lambda = 621 \text{ Pa}$, $\mu = 69 \text{ Pa}$ とした.

組織成長は, 式(4.1)中の単位ベクトル \mathbf{n} を円板の面外方向に設定し, 面内等方的な成長として表現した. 成長ストレッチ $\theta (\geq 1)$ を増加させることにより, 組織を成長させた. また, 組織の収縮は, 収縮方向を表す方向ベクトル $\mathbf{m}_{0,i}$ を組織の面内に互いに直交するよう設定した. 収縮の大きさ $A (\geq 0 \text{ kPa})$ を増加させることにより組織収縮を表現し, 組織の収縮は, Fig. 4.1A に示す赤色の組織中央の円形領域で生じるとした.

まず, 組織の成長と収縮が生じる典型的な場合として, 組織収縮が成長前に生じる場合と成長後に生じる2通りのシミュレーションを行った. 組織収縮と成長が生じた後, 収縮力が働かない場合の形状を調べるため, 収縮力を取り除いた. 組織が収縮した後に成長した場合の組織変形過程を Fig. 4.1b に示す. 組織が

収縮すると組織の中央領域が陥入した(Fig. 4.1b-II). その後, 組織が成長すると, 組織のさらに陥入した(Fig. 4.1b-III). 組織に働く収縮力を取り除いた後も, その陥入した形状は維持した(Fig. 4.1b-IV). それに対して, 組織が成長した後に収縮した場合の組織変形過程を Fig. 4.1c に示す. 組織が成長すると組織は突出した(Fig. 4.1c-II). その後, 収縮すると組織の中央が陥入したが(Fig. 4.1c-III), 収縮力を取り除くと突出した形状へ変形した(Fig. 4.1c-IV). これらの結果は, 組織の成長と収縮の時間履歴に依存して, 質的に異なる形態が形成されることを示した.

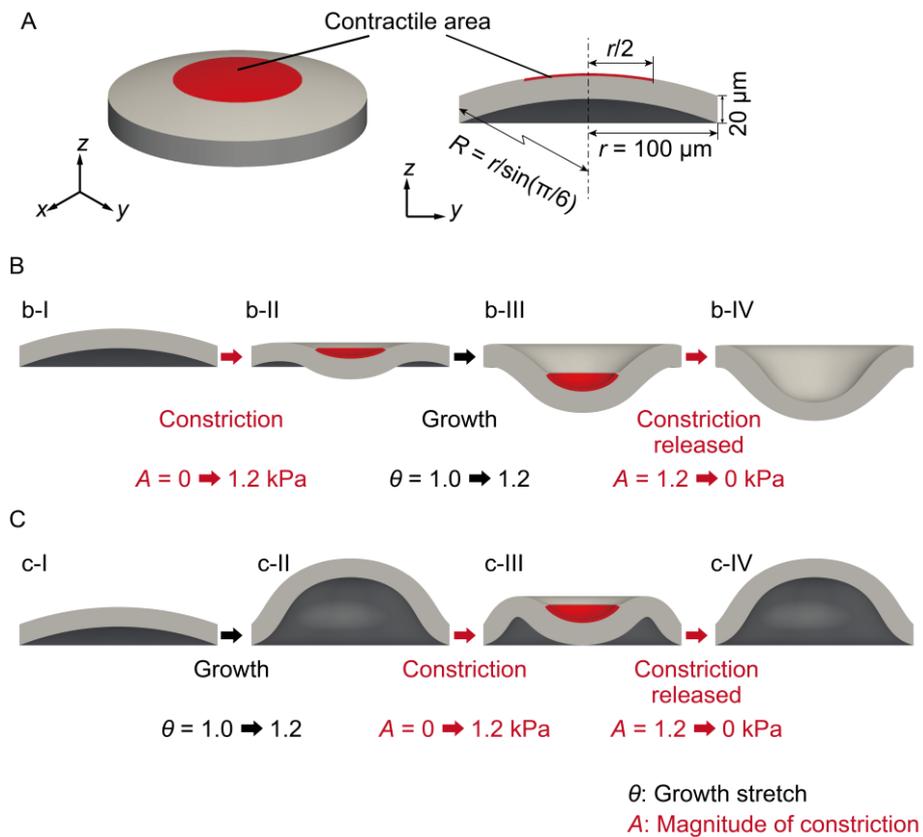


Figure 4.1 Simulations of tissue morphogenesis caused by growth and constriction, showing its dependency on history of multicellular activities. (A) Top view and sectional view of the initial geometry of the sheet-like tissue. Volumetric growth occurs planar-isotropically in the whole tissue. Constriction occurs planar-isotropically in the red region. (B, C) Cross-sectional view of morphological changes when constriction occurred in the red region before growth (B) and after growth (C).

4. 3. 2 シート状組織の形態形成におけるエネルギー地形

シート状組織に働く成長と収縮の時間履歴に応じて、どのように質的に異なる形態が形成されるのか理解するために、エネルギー地形を可視化した(Fig. 4.2). 成長ストレッチ θ と収縮力の大きさ A を同時に変化させて網羅的な組織変形過程

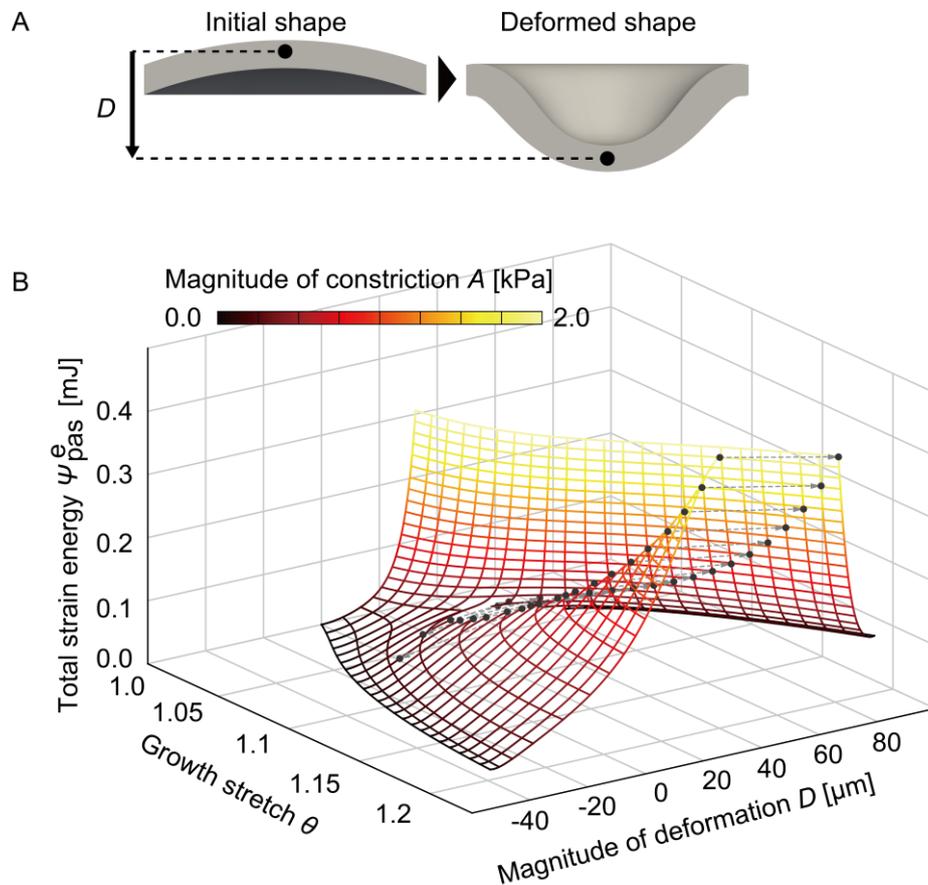


Figure 4.2 Energy landscape of morphogenesis of the sheet-like tissue. (A) Definition of deformation D . (B) The overview of the energy landscape, which shows the relationship between the strain energy Ψ_{pas}^e , deformation D , and growth stretch θ . Curves drawn on the surface of the landscape indicate paths of constant growth stretch θ and magnitude of constriction A . Dotted lines connect two points before and after a snap through buckling. The color map represents the magnitude of constriction A .

の解析を行った．組織の変形量 D をシート状組織の上面の中心点の変位と定義し (Fig. 4.2A)，組織変形にともなう組織内の全ひずみエネルギー Ψ_{pas}^e を変形量 D と成長ストレッチ θ についてプロットした (Fig. 4.2B)．エネルギー地形の表面を構成する曲線は，成長ストレッチ θ と収縮の大きさ A の一方の値を固定したときの軌跡である．その色は，収縮力の大きさ A を表している．成長ストレッチ θ の増加にともなうエネルギー地形は分岐し，表面は不連続となった．これより，曲率を有するシート状組織が成長すると，2つの局所的安定状態を取り得ることが示された．

エネルギー地形上の軌跡を調べることにより，組織の成長と収縮の時間履歴に応じて質的に異なる形態が形成されるメカニズムを理解することができる．成長と収縮の順序を替えて変形過程を調べた前述の結果における，組織の全ひずみエネルギーの変化をエネルギー地形上に軌跡として描いた (Fig. 4.3)．それぞれの結果に対する軌跡は，異なる軌跡としてエネルギー地形上に描かれた．図中のローマ数字は，Fig. 4.1B, C に示されたものと同じ状態を示している．組織の成長と収縮が働き，収縮力が取り除かれると，組織のエネルギー的状态は，異なる安定状態へ達した．このエネルギー地形上の軌跡の違いが，質的に異なる形態が形成されるメカニズムである．

エネルギー地形の D - θ 平面への射影を Fig. 4.4A に示す．成長ストレッチ θ (≥ 1) の値に応じて，組織は異なる挙動を示しており，その挙動を分ける θ の値を θ_1 ， θ_2 とする ($1 < \theta_1 < \theta_2$)． $1 \leq \theta < \theta_1$ の範囲では，エネルギー的安定状態は1つであり，成長と収縮にともなう組織のエネルギー状態は滑らかに遷移する． $\theta_2 < \theta$ の範囲では，安定状態が2つ出現し，それらの安定状態間の遷移は不連続となる．収縮力が増加すると，わずかな収縮力の変化で変形量が急激に増加する飛び移り座屈が生じた．上述の中間の範囲である $\theta_1 \leq \theta \leq \theta_2$ では，安定状態は1つであり，収縮力の増加により飛び移り座屈が生じるが，収縮力が減少させると元の状態に戻る．それぞれの範囲における典型的なエネルギー状態の遷移を調べるため，成長のストレッチを $\theta = 1.0, 1.08, 1.1, 1.2$ と固定したときの収縮力の変化にともなう組織のエネルギー状態の変化を Fig. 4.4B に示す．成長ストレッチが $\theta = 1.1$ と $\theta = 1.2$ のとき，飛び移り座屈が生じる収縮力の大きさは， $\theta = 1.2$ の方が大きく，また，エネルギー的な障壁も大きい．したがって，組織が成長するに

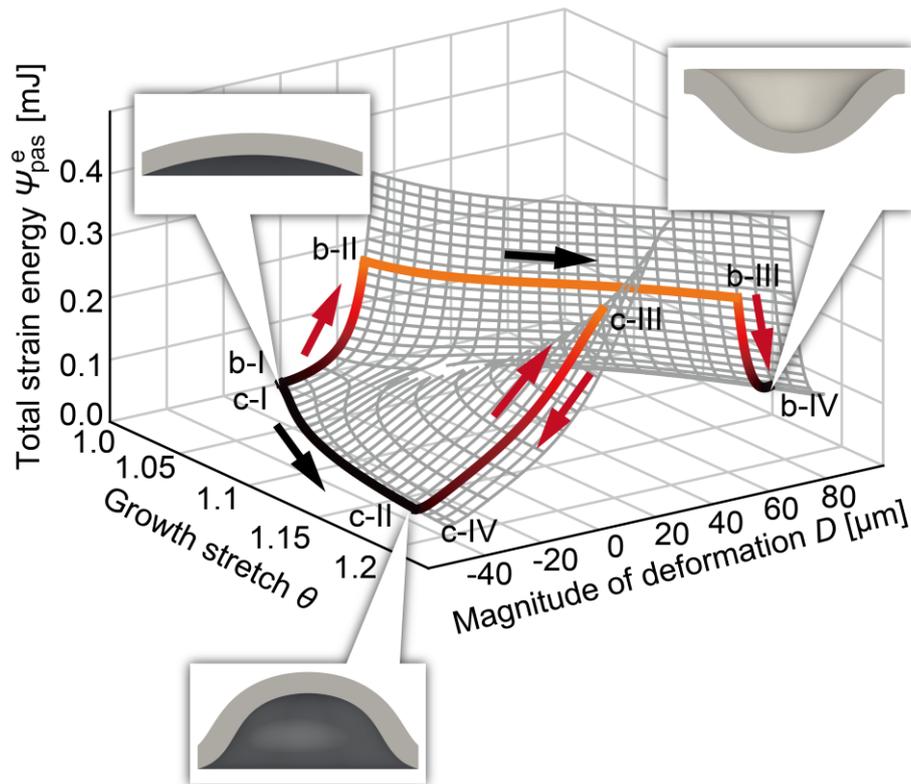


Figure 4.3 Transition of the tissue state on the energy landscape. The paths show the two cases where constriction occurred before and after growth. The transitions of the tissue state in these simulations are represented as the colored paths on the energy landscape. The snapshots of the tissue shown in the energy landscape represent the tissue morphologies at each point.

つれて、異なる安定状態間を遷移するために必要な収縮のエネルギーが大きくなることが示された。また、その遷移は、飛び移り座屈が生じた後に収縮力を減少させても元の安定状態は戻らず、不可逆的であった。

以上の結果より、成長と収縮の時間履歴に応じて質的に異なる形態が出現するメカニズムが明らかになった。曲率を有するシート状の組織の形態形成において、成長とともにエネルギー的安定状態が分岐し、陥入した形状と突出した形状の2つの状態を取り得ることが示された。成長と収縮の時間履歴の応じてどの安定状態に至るかは、エネルギー地形上に軌跡として表される組織のエネルギー状態の遷移によって理解することができた。

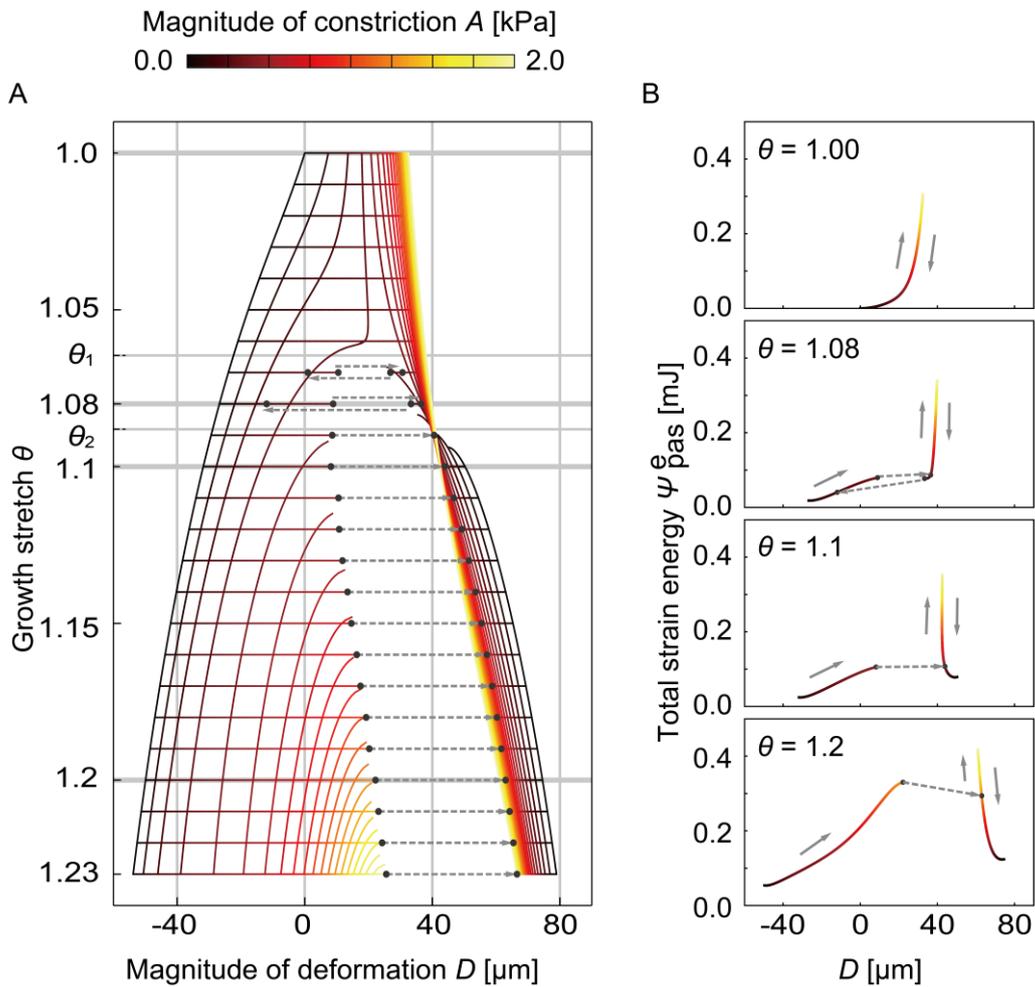


Figure 4.4 Projections of the energy landscape to the D - θ plane and D - Ψ_{pas}^e plane. (A) The relationship between the deformation D and growth stretch θ . θ_1 and θ_2 are the values at which tissue deformations qualitatively changed. The color map represents the magnitude of constriction A . (B) Typical changes in the strain energy Ψ_{pas}^e and deformation D while the growth stretch takes a constant value $\theta = 1.0, 1.08, 1.1,$ and 1.2 . The arrows indicate the transition of the tissue state when the magnitude of constriction A increases and then releases.

4. 3. 3 エネルギー地形の柔毛初期形成過程への適用

エネルギー地形を用いたアプローチを柔毛の初期形成過程へ適用した。その過程では、円管の内層で細胞が増殖し、表層で細胞が収縮することにより、内腔にしわが形成される(Shyer et al. 2013; Huycke and Tabin 2018)。

先行研究(Shyer et al. 2013; Goriely 2017)に基づいて、円管内腔のしわ形成の有限要素解析を行った。円管の有限要素モデルは、内層(上皮組織)、中間層(間葉組織)、外層(筋組織)により構成される(Fig. 4.5A 左図)。ニワトリの腸管における実験観察や数理解析の報告(Shyer et al. 2013)に基づいて、内層は他の層と比較して12倍のヤング率を有するとした。式(4.7)における材料定数は、内層が $\lambda_{inn} = 1.36$ kPa, $\mu_{inn} = 0.583$ kPa とし、中間層と外層は、 $\lambda_{mid} = \lambda_{out} = \lambda_{inn}/12$ and $\mu_{mid} = \mu_{out} = \mu_{inn}/12$ とした。初期状態における組織形状は、Fig. 4.5A 左図に示す各層の境界を、 $R_0 = 0.25 \mu\text{m}$, $R_1 = 0.30 \mu\text{m}$, $R_2 = 0.48 \mu\text{m}$, $R_3 = 0.50 \mu\text{m}$ とした。単純化のため、平面ひずみを適用した円管断面の二次元シミュレーションを行った。組織の成長は内層にて円周方向に生じるとし、式(4.2)に基づいて成長方向 ζ を円周方向に定めた。また、組織の収縮は外層にて円周方向に生じるとして、式(4.4)における収縮方向 $m_{0,i}$ ($i = 1, 2$)を円周方向に定めた。

成長ストレッチ θ (≥ 1)と収縮力の大きさ A (≥ 0)を変化させることにより、円管の変形過程を解析した。ここでは、内層を成長させた後、外層を収縮させた。結果として得られた典型的な変形過程を Fig. 4.5A に示す。内層が成長した状態から外層が収縮することにより、円管の内側にしわが形成された。しわが形成されたときの収縮力の大きさ A_{cr} を成長ストレッチ θ に対してプロットすると(Fig. 4.5B), 成長にともなって A_{cr} は減少し、円管にはより多くの数のしわが形成されることが示された。この成長にともなうしわの数の増加は、実現象と一致している(Shyer et al. 2013; Huycke and Tabin 2018)。

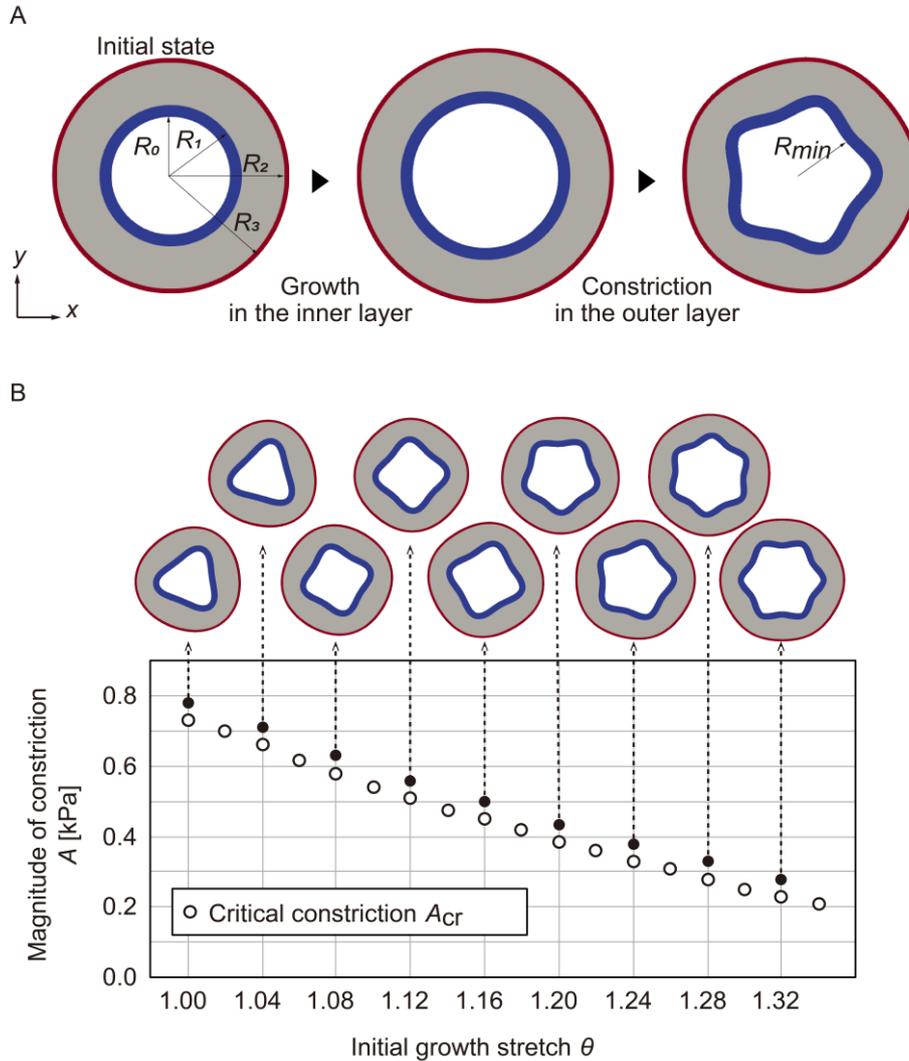


Figure 4.5 Application to luminal folding in the initial stage of intestinal villus formation. (A) Typical luminal folding process induced by circumferential growth in the inner layer followed by circumferential constriction in the outer layer. The inner layer in blue is the epithelium. The middle layer in gray is the mesenchyme. The outer layer in red is the muscle. (B) Critical magnitude of constriction A_{cr} , at which the tube folded, as shown in open circles. Snapshots pointed by arrows are the morphologies at each solid circle.

円管内腔のしわ形成の全体像を明らかにするため、成長と収縮にともなう円管組織のエネルギー状態の変化を解析し、エネルギー地形を可視化した(Fig. 4.6). 変形量として、円管断面の中心から内層までの距離 R_{\min} を用いた. 収縮力の大きさ A の増加にともない R_{\min} は減少し、収縮力が A_{cr} に達するとひずみエネルギーの変化を表す曲線の傾きが変化した. 成長にともなってしわ形成に必要な収縮力とひずみエネルギーが減少することから、エネルギー地形を可視化することにより、組織の成長にともない小さな収縮力でしわが形成されることが明らかになり、組織成長により安定的に形態形成が進行することが示唆された.

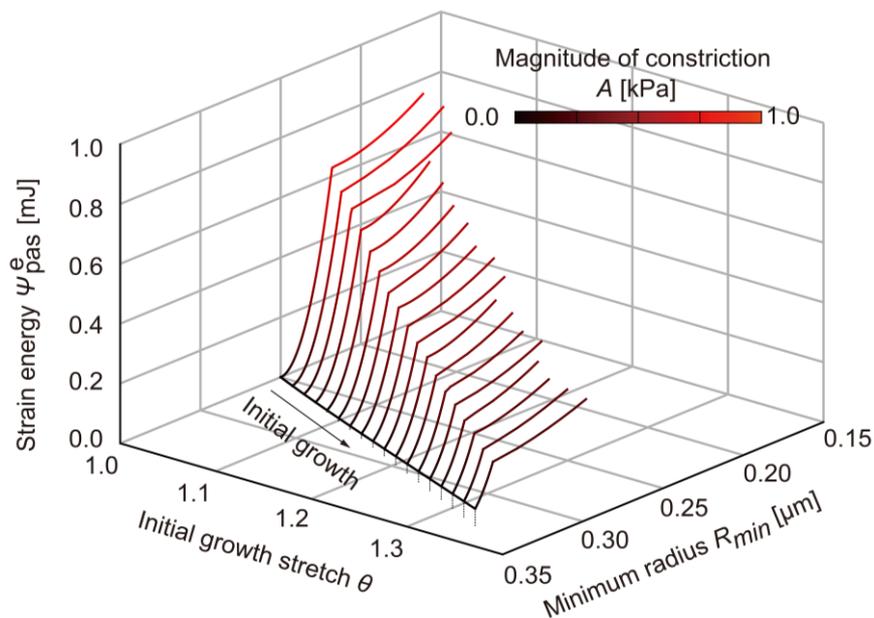


Figure 4.6 Energy landscape of luminal folding, which shows the relationship between the total strain energy in the inner layer ψ_{pas}^e [mJ], minimum radius of the inner layer R_{\min} [μm], and growth stretch θ . The color map represents the magnitude of constriction A [kPa].

4. 4 考 察

組織形態形成では、細胞活動の時間履歴に応じて質的に異なる形態がロバストに形成される。本研究では、この組織形態形成の根本的に重要な特徴を力学的な観点から理解するため、連続体力学による数理モデル化と組織変形過程におけるひずみエネルギー変化を解析することで、形態形成の全体像を表すエネルギー地形を可視化した。組織の成長と収縮から生じるシート状組織と円管状組織の形態形成を対象とし、エネルギー地形を用いて、質的な形態が形成されるメカニズムの理解を試みた。

エネルギー地形では、質的に異なる形態の出現は、局所的な安定状態の分岐によって表された。形態形成にともなう組織状態の遷移は、エネルギー地形上の軌跡として表され、その軌跡から形態形成を駆動する成長と収縮のゆらぎに対するロバスト性を理解することができる。シート状組織の形態形成において、組織は、成長と収縮の時間履歴に応じて突出した形態と陥入した形成の二つの形態へ変形した。それぞれの組織状態は、エネルギー地形の局所的な安定状態として表され、成長にともなって新たな安定状態が出現した。安定状態間を遷移する際のエネルギー障壁は、成長が進行するほど大きくなることから、成長にともなって質的に異なる形態への遷移が困難になり、ある形態へとロバストに変化することを示した。

発生生物学において、エネルギー地形を用いたアプローチとして、細胞分化における細胞状態の遷移について俯瞰的な視点を提示した Waddington の *Epigenetic landscape* が知られている(Waddington 1957)。複数の谷を有する地形上を転がる球が、細胞状態の遷移に例えられており、細胞分化を理解するための基本的な概念となっている。本研究で示した組織形態形成のエネルギー地形は、このアナロジーとして、俯瞰的な観点から、力学理論に基づいて形態形成を理解するためのアプローチを提案した。

エネルギー地形に基づくアプローチは、過去の実験で観察されている組織形態形成の背後にある力学的なメカニズムを明らかにする可能性がある。例えば、細胞の増殖と収縮から生じるショウジョウバエの原腸形成では、細胞が単層に並んだシート状組織が陥入する。この陥入現象において、細胞収縮を阻害する実験を行うと、阻害薬を加えるタイミングが陥入の成否に影響する(Royou et al.

2004; Krajcovic and Minden 2012). 陥入初期に細胞収縮が阻害されると組織は陥入しないが、ある時期以降に細胞収縮を阻害しても陥入は正常に進行する. この収縮阻害のタイミングに依存した現象は、本研究で可視化したシート状組織の形態形成のエネルギー地形に基づいて、より後期には組織が十分成長することで陥入した状態が安定状態として現れ、その安定状態に至ると収縮力が小さくなくても形状が元に戻らず不可逆的に形状が決定された可能性がある. また、本研究では、柔毛の初期形成過程を想定した円管の内腔でのしわ形成の解析を行い、エネルギー地形を描いた. このアプローチは、脳のしわ形成(Budday et al. 2015; Goriely et al. 2015)や病理的な状態における気管のしわ形成(Moulton and Goriely 2011; Goriely 2017)などの様々な現象に適用できるかもしれない.

形態形成での成長や収縮の空間的な分布により、様々な形態の組織が形成される(Filas et al. 2012a; Filas et al. 2012b; Kondo and Hayashi 2015; Misra et al. 2016; Inoue et al. 2017). そのような空間的な分布の違いごとにエネルギー地形を可視化することにより、空間的な制御によって異なる形態が形成されるメカニズムが明らかになるかもしれない. また、組織や細胞レベルのゆらぎを数理モデルに導入し、エネルギー地形を統計的に解析することにより、ゆらぎに対する安定性が理解され得る. また、本アプローチを実現象へ適用するためには、エネルギー地形自体の形状に影響を与える塑性的な変形(Scarpa and Mayor 2016)やエネルギーの散逸(David et al. 2014; Etournay et al. 2015)を考慮する必要がある. 加えて、組織を力学的に拘束する細胞外マトリックスなどの基質も、組織の変形を決定する重要な因子であり(Huang et al. 2011; Oltean et al. 2016), 境界条件が形態形成に与える影響も考慮する必要がある. 本研究で提案したアプローチは、こうした発展を通じて、質的に異なる形態が安定的に形成される形態形成の理解につながると期待される.

4. 5 結 言

本研究では、発生過程の随所で観察される組織の成長と収縮により生じる組織形態形成を対象とし、形態形成において重要な質的に異なる形態が安定的に形成されるメカニズムを理解するためのアプローチを提案した. そのアプロー

チは、成長と収縮により生じるひずみエネルギーの変化を解析し、エネルギー地形を可視化するものである。本アプローチを用いて形態形成における組織変形過程をエネルギー地形上に描かれる軌跡として理解することにより、形態形成の安定／不安定性を明らかにすることができる。

このアプローチにより、異なる種や個体の形態形成に共通して働いている力学的なメカニズムの発見に繋がる可能性がある。さらには、生物の形態の多様性や形態形成の安定性などの生物らしい特徴を、物理法則に基づいて理解することが可能になると期待される。

参考文献

- Budday S, Steinmann P, Kuhl E (2015) Physical biology of human brain development *Front Cell Neurosci* 9:257
- Butler MT, Wallingford JB (2018) Spatial and temporal analysis of PCP protein dynamics during neural tube closure *Elife* 7
- Conte V, Munoz JJ, Baum B, Miodownik M (2009) Robust mechanisms of ventral furrow invagination require the combination of cellular shape changes *Phys Biol* 6:016010
- David R, Luu O, Damm EW, Wen JW, Nagel M, Winklbauer R (2014) Tissue cohesion and the mechanics of cell rearrangement *Development* 141:3672-3682
- Davidson LA (2017) Mechanical design in embryos: mechanical signalling, robustness and developmental defects *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372
- Eiraku M, Adachi T, Sasai Y (2012) Relaxation-expansion model for self-driven retinal morphogenesis: a hypothesis from the perspective of biosystems dynamics at the multi-cellular level *Bioessays* 34:17-25
- Eiraku M et al. (2011) Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture *Nature* 472:51-56
- Etournay R et al. (2015) Interplay of cell dynamics and epithelial tension during morphogenesis of the *Drosophila* pupal wing *Elife* 4:e07090
- Filas BA, Oltean A, Beebe DC, Okamoto RJ, Bayly PV, Taber LA (2012a) A potential role for differential contractility in early brain development and evolution *Biomech Model Mechanobiol* 11:1251-1262
- Filas BA, Oltean A, Majidi S, Bayly PV, Beebe DC, Taber LA (2012b) Regional differences in actomyosin contraction shape the primary vesicles in the embryonic chicken brain *Physical Biology* 9:066007
- Goodwin BC, Kauffman S, Murray JD (1993) Is morphogenesis an intrinsically robust process? *J Theor Biol* 163:135-144

- Goriely A (2017) *The Mathematics and Mechanics of Biological Growth* vol 45. Interdisciplinary Applied Mathematics.
- Goriely A, Budday S, Kuhl E (2015) *Neuromechanics: From Neurons to Brain*. In: Bordas SPA, Balint DS (eds) *Advances in Applied Mechanics*, vol 48. *Advances in Applied Mechanics*. Elsevier, pp 79-139
- Heisenberg CP, Bellaiche Y (2013) Forces in tissue morphogenesis and patterning *Cell* 153:948-962
- Huang J, Rajagopal R, Liu Y, Dattilo LK, Shaham O, Ashery-Padan R, Beebe DC (2011) The mechanism of lens placode formation: a case of matrix-mediated morphogenesis *Dev Biol* 355:32-42
- Huycke TR, Tabin CJ (2018) Chick midgut morphogenesis *Int J Dev Biol* 62:109-119
- Ingber DE (2006) Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development *Int J Dev Biol* 50:255-266
- Inoue Y, Watanabe T, Okuda S, Adachi T (2017) Mechanical role of the spatial patterns of contractile cells in invagination of growing epithelial tissue *Dev Growth Differ* 59:444-454
- Kida N, Adachi T (2015) Finite element formulation and analysis for an arterial wall with residual and active stresses *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 18:1143-1159
- Kondo T, Hayashi S (2015) Mechanisms of cell height changes that mediate epithelial invagination *Dev Growth Differ* 57:313-323
- Krajcovic MM, Minden JS (2012) Assessing the critical period for Rho kinase activity during *Drosophila* ventral furrow formation *Dev Dyn* 241:1729-1743
- Lecuit T, Lenne PF, Munro E (2011) Force generation, transmission, and integration during cell and tissue morphogenesis *Annu Rev Cell Dev Biol* 27:157-184
- Martinez-Morales JR, Cavodeassi F, Bovolenta P (2017) Coordinated Morphogenetic Mechanisms Shape the Vertebrate Eye *Front Neurosci*

11:721

- Misra M, Audoly B, Kevrekidis IG, Shvartsman SY (2016) Shape Transformations of Epithelial Shells *Biophys J* 110:1670-1678
- Moulton DE, Goriely A (2011) Possible role of differential growth in airway wall remodeling in asthma *J Appl Physiol* (1985) 110:1003-1012
- Nicolas-Perez M, Kuchling F, Letelier J, Polvillo R, Wittbrodt J, Martinez-Morales JR (2016) Analysis of cellular behavior and cytoskeletal dynamics reveal a constriction mechanism driving optic cup morphogenesis *Elife* 5
- Nishimura T, Honda H, Takeichi M (2012) Planar cell polarity links axes of spatial dynamics in neural-tube closure *Cell* 149:1084-1097
- Oltean A, Huang J, Beebe DC, Taber LA (2016) Tissue growth constrained by extracellular matrix drives invagination during optic cup morphogenesis *Biomech Model Mechanobiol* 15:1405-1421
- Pearl EJ, Li J, Green JB (2017) Cellular systems for epithelial invagination *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372
- Rachev A, Hayashi K (1999) Theoretical study of the effects of vascular smooth muscle contraction on strain and stress distributions in arteries *Ann Biomed Eng* 27:459-468
- Royou A, Field C, Sisson JC, Sullivan W, Karess R (2004) Reassessing the role and dynamics of nonmuscle myosin II during furrow formation in early *Drosophila* embryos *Mol Biol Cell* 15:838-850
- Sawyer JM, Harrell JR, Shemer G, Sullivan-Brown J, Roh-Johnson M, Goldstein B (2010) Apical constriction: a cell shape change that can drive morphogenesis *Dev Biol* 341:5-19
- Scarpa E, Mayor R (2016) Collective cell migration in development *J Cell Biol* 212:143-155
- Shyer AE et al. (2013) Villification: How the Gut Gets Its Villi *Science* 342:212-218
- Waddington CH (1957) *The strategy of the genes*. Allen &Unwin, London

第5章

結 論

生体組織の形態形成では、細胞活動を通じて、組織が自律的に変形する。組織変形を駆動するのは、細胞の活動から生じる力学的な作用である。本論文では、形態形成の駆動力として重要な役割を果たす細胞の増殖と移動、収縮を組織の変形と関連付けた連続体力学モデルを構築した。さらに、構築したモデルに基づくシミュレーションにより、細胞活動から生じる組織変形過程を解析し、力学的な観点から形態形成の理解を試みた。以下に各章の要約を述べる。

第2章では、組織形態形成における細胞活動と組織変形の連続体力学モデルを構築した。脳組織の形態形成で見られる細胞の移動と増殖を細胞数密度の発展則として記述し、組織の塑性的な変形と関連付けることにより、脳組織の形態形成の数理モデル化を行った。さらに、構築したモデルを大脳形成過程における層形成に適用した。大脳組織の層形成では、深層にて産生された細胞が表層まで移動することが重要であるため、これを一次元的な現象として数値解析を行った。その結果、生化学的な因子による細胞移動の促進と、細胞が集積することによる組織の成長が、大脳の層形成へ与える影響を明らかにした。本章で構築した細胞活動と組織変形の連続体力学モデルは、脳形態形成を解析するための基礎となるモデルである。

第3章では、前章で構築した細胞活動と組織変形の連続体力学モデルを小脳組織の形態形成に適用した。脳組織の形態形成では、細胞が移動して集積することにより、組織の成長と変形が生じる。また、細胞は組織内の線維に沿って移動するため、組織変形により線維の配向が変化すると、細胞の移動方向も組織変形の影響を受ける。そこで、このような細胞活動と組織変形が相互に関連する現象が、形態形成に及ぼす影響を力学的に解析するため、脳組織の二次元モデルを用

いた有限要素法解析を行った。解析の対象は、小脳の形態形成とし、細胞が表層から深層へと移動するときの組織変形を調べた。その結果、線維に沿った細胞移動によって、集積した細胞の分布が不均一になり、小脳の形態的な特徴である伸長したしわが形成されることを示した。このメカニズムは、しわが一度形成されるとしわの形状が維持され、さらに伸長することを示しており、小脳の安定的な形態形成に重要な役割を果たすと考えられる。

第4章では、細胞活動から生じる組織形態形成の一般化したモデルを用いて力学解析を行い、組織形態形成を俯瞰的な観点から理解するための力学的なアプローチを提案した。第2, 3章で脳組織の形態形成においても示されたように、細胞増殖による組織の体積の増加は、形態形成の駆動力となる。加えて、上皮組織における細胞収縮など、細胞が能動的に発揮する力も形態形成において重要な役割を果たすことが知られている。そこで、上皮組織の形態形成を想定し、シート状組織と円管状組織を対象として、成長と収縮の連続体力学モデルを構築し、それらの作用から生じる組織変形のシミュレーションを行った。変形過程における組織のひずみエネルギーの変化を解析することにより、成長と収縮から生じる組織形態形成のエネルギー地形を可視化した。組織の力学的な安定状態は、エネルギー地形での局所的な安定状態として表され、成長にともなって新たな安定状態が出現した。また、成長と収縮による組織の力学状態の遷移が、エネルギー地形上の軌跡として表された。エネルギー地形を可視化したことにより、成長と収縮にともない、組織の力学的な状態がどのように遷移して特定の安定形状へ至るのかを、俯瞰的な観点から理解することが可能になった。

本論文では、生体組織を構成する細胞が、自律的に活動することによって組織変形を引き起こす形態形成現象に着目し、連続体力学に基づいて数理モデリングとシミュレーションを行った。近年、組織形態形成における細胞活動を数理的に記述するための数理的な基盤が構築されつつある。今後、複数の細胞活動が同時に生じるような複合的な形態形成を取り扱う数理モデルが、生体組織の複雑な力学挙動を解析するために必要となると考えられる。本論文は、こうした連続体力学における数理モデリングとシミュレーション分野の発展の一端を担うものである。

生命現象の数理モデリングとシミュレーションは、今後さらに、その重要性を増していくと予想される。現在は、コンピュータの計算能力が飛躍的に向上し、

大規模解析や大量のデータを扱う解析が可能になっている。これにともない、人工知能や機械学習がコンピュータに実装され、医療分野や医学、物理学、生物学など様々な分野に適用され始めた。こうした技術は、あるシステムの入力に対する出力の予測に有用であるが、その一方で、その入力から出力に至るまでのメカニズムを我々が理解できる形で提示できない。したがって、生命現象を本質的に理解するためには、本論文で行ったような物理法則や生物学的知見に基づく数理モデリングとシミュレーションが不可欠であると考えられる。特に、連続体力学は、様々な時空間スケールに通底する力学分野であり、その発展は、生命現象を理解するための一般的な数理的枠組みの構築に、大いに寄与すると期待される。

付録

A.1 連続体力学の支配方程式の有限要素法離散化

連続体の基準配置 B_0 における支配方程式は，変形勾配テンソル \mathbf{F} と 2nd Piola-Kirchhoff 応力テンソル \mathbf{S} ，体積力 \mathbf{B} ，境界面 ∂B_0 に立てた外向き単位法線ベクトル \mathbf{N} ，表面力ベクトル $\bar{\mathbf{T}}$ を用いて，微分方程式の境界値問題の形で

$$\begin{cases} \text{Div}\mathbf{FS} + \mathbf{B} = \mathbf{0} & \text{in } B_0 \\ (\mathbf{FS})\mathbf{N} = \bar{\mathbf{T}} & \text{on } \partial B_0 \end{cases} \quad (\text{A.1})$$

と表される(Holzapfel 2000). ここで， $\text{Div}(\cdot)$ は $\partial(\cdot)/\partial\mathbf{X}$ を表す．基準配置 B_0 における仮想仕事の原理式は，仮想変位 $\delta\mathbf{u}$ を用いて

$$\begin{aligned} R_u(\mathbf{u}, \delta\mathbf{u}) &= \int_{B_0} \mathbf{S} : \delta\mathbf{E} dV - \int_{\partial B_0} \bar{\mathbf{T}} \cdot \delta\mathbf{u} dS - \int_{B_0} \mathbf{B} \cdot \delta\mathbf{u} dV \\ &= 0 \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

と表される．ここで， $\delta\mathbf{E}$ は Green-Lagrange ひずみテンソル \mathbf{E} の変分であり，

$$\begin{aligned} \delta\mathbf{E} &= \frac{1}{2} \delta(\mathbf{F}^T \mathbf{F}) \\ &= \frac{1}{2} [(\delta\mathbf{F}^T)\mathbf{F} + \mathbf{F}^T(\delta\mathbf{F})] \\ &= \mathbf{F}^T \frac{1}{2} \left[\frac{\partial(\delta\mathbf{u})}{\partial\mathbf{x}} + \left(\frac{\partial(\delta\mathbf{u})}{\partial\mathbf{x}} \right)^T \right] \mathbf{F} \\ &= \mathbf{F}^T \delta\boldsymbol{\varepsilon} \mathbf{F} \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

と定義される． $\delta\boldsymbol{\varepsilon}$ は仮想ひずみである．式 (A.2) の積分方程式を有限要素離散化すると

$$R_u(\mathbf{u}, \delta\mathbf{u}) = \int_{B_0} \mathbf{S} : \delta\mathbf{E} dV - \int_{\partial B_0} \bar{\mathbf{T}} \cdot \delta\mathbf{u} dS - \int_{B_0} \mathbf{B} \cdot \delta\mathbf{u} dV \quad (\text{A.4})$$

$$= \sum_e \int_{B_0^e} \mathbf{S} : \delta \mathbf{E} dV - \sum_e \int_{\partial B_0^e} \bar{\mathbf{T}} \cdot \delta \mathbf{u} dS - \sum_e \int_{B_0^e} \mathbf{B} \cdot \delta \mathbf{u} dV$$

となる.

本論文では生体組織を超弾性体と見なし, その材料的性質を Neo-Hookean model を用いてモデル化した. その際, 変形勾配テンソル \mathbf{F} は, 塑性変形を表す \mathbf{F}^g と弾性変形を表す \mathbf{F}^e に乗算分解されると仮定し (Fig. 1.3), Neo-Hookean model におけるエネルギー密度関数 ψ を \mathbf{F}^e の関数とした. 中間配置を参照する Right Cauchy-Green テンソル $\hat{\mathbf{C}}$ を

$$\hat{\mathbf{C}} = \mathbf{F}^{eT} \mathbf{F}^e \quad (\text{A.5})$$

と定義する. この $\hat{\mathbf{C}}$ は, 基準配置 B_0 を参照する Right Cauchy-Green テンソル $\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}$ と

$$\hat{\mathbf{C}} = \mathbf{F}^{gT} \mathbf{C} \mathbf{F}^{g-1} \quad (\text{A.6})$$

のように関連付けられる. 中間配置 \hat{B}_0 における Right Cauchy-Green テンソル $\hat{\mathbf{C}}$ の不変量 $I_1 = \text{tr} \hat{\mathbf{C}}$ と $I_3 = \det \hat{\mathbf{C}}$ を用いて, エネルギー密度関数 ψ は,

$$\psi = \frac{\lambda}{8} (\ln I_3)^2 + \frac{\mu}{2} (I_1 - 3 - \ln I_3) \quad (\text{A.7})$$

と表される. ここで, λ と μ はラメ定数である.

中間配置を参照する 2nd Piola-Kirihhof 応力テンソル $\hat{\mathbf{S}}$ をひずみエネルギー密度関数 ψ を用いて

$$\hat{\mathbf{S}} = 2 \frac{\partial \psi}{\partial \hat{\mathbf{C}}} \quad (\text{A.8})$$

と定義すると, $\hat{\mathbf{S}}$ と基準配置を参照する \mathbf{S} の関係は,

$$\hat{\mathbf{S}} = \mathbf{F}^g \mathbf{S} \mathbf{F}^{gT} \quad (\text{A.9})$$

となる. この関係式は, 次の手順で導かれる. 以下では, 正規直交基底 $[\mathbf{E}_1, \mathbf{E}_2, \mathbf{E}_3]$ を参照した指標表示を適宜用いる.

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \mathbf{C}} & S_{ij} &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial C_{ij}} \\ &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \hat{\mathbf{C}}} : \frac{\partial \hat{\mathbf{C}}}{\partial \mathbf{C}} & \text{or} & \\ & & &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \hat{C}_{pq}} \frac{\partial \hat{C}_{pq}}{\partial C_{ij}} \end{aligned} \quad (\text{A.10})$$

$$\begin{aligned}
&= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}} : \frac{\partial (\mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \mathbf{C} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1})}{\partial \mathbf{C}} &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}_{pq}} \frac{\partial (F_{pm}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} C_{mn} F_{nq}^{\mathbf{g}-1})}{\partial C_{ij}} \\
&= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}} : \left(\mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \frac{\partial \mathbf{C}}{\partial \mathbf{C}} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \right) &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}_{pq}} F_{pm}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \frac{\partial C_{mn}}{\partial C_{ij}} F_{nq}^{\mathbf{g}-1} \\
&= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}} : (\mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \mathbb{I} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1}) &= 2 \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}_{pq}} F_{pm}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \mathbb{I}_{mni j} F_{nq}^{\mathbf{g}-1} \\
&= 2 \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} &= 2 F_{ip}^{\mathbf{g}-1} \frac{\partial \psi}{\partial \widehat{\mathbf{C}}_{pq}} F_{qj}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \\
&= \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \widehat{\mathbf{S}} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} &= F_{ip}^{\mathbf{g}-1} \widehat{\mathbf{S}}_{pq} F_{qj}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}}
\end{aligned}$$

ここで、 \mathbb{I} は、

$$\mathbb{I}_{mni j} = \frac{1}{2} (\delta_{mi} \delta_{nj} + \delta_{mj} \delta_{ni}) \tag{A.11}$$

と定義される 4 階の恒等テンソルである。以上より、基準配置 B_0 における 2nd Piola-Kirchhoff 応力テンソル \mathbf{S} は、

$$\begin{aligned}
\mathbf{S} &= \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \widehat{\mathbf{S}} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \\
&= \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \{ \mu \mathbf{I} + (\lambda \ln I_3 - \mu) \widehat{\mathbf{C}}^{-\mathbf{T}} \} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \\
&= \mu \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} + (\lambda \ln I_3 - \mu) \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} (\mathbf{F}^{\mathbf{g}} \mathbf{C}^{-\mathbf{T}} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}}) \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} \\
&= \mu \mathbf{F}^{\mathbf{g}-1} \mathbf{F}^{\mathbf{g}-\mathbf{T}} + (\lambda \ln I_3 - \mu) \mathbf{C}^{-\mathbf{T}}
\end{aligned} \tag{A.12}$$

と表される。

A.2 細胞活動の支配方程式の有限要素離散化

細胞活動の支配方程式は、現在配置 B_t を参照する細胞密度 c の微分方程式の境界値問題として

$$\begin{cases} \frac{\partial c}{\partial t} + \frac{1}{J} \frac{\partial J}{\partial t} c + \frac{\partial}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - f = 0 & \text{in } B_t \\ c = \bar{c} & \text{on } \partial B_t \\ \frac{\partial c}{\partial \mathbf{x}} = \bar{c}' & \text{on } \partial B_t \end{cases} \quad (\text{A.13})$$

と表される．試行関数を δc として、重み付き残差法により上の支配方程式は、

$$\begin{aligned} R_c(c, \delta c) &= \int_{B_t} \delta c \left(\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{1}{J} \frac{\partial J}{\partial t} c + \frac{\partial}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - f \right) dv \\ &= \int_{B_t} \left\{ \delta c \left(\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{1}{J} \frac{\partial J}{\partial t} c \right) + \frac{\partial \delta c}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - \delta c f \right\} dv + \int_{\partial B_t} (\delta c \mathbf{q}) \cdot \mathbf{n} ds \\ &= \int_{B_t} \left\{ \delta c \left(\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{1}{J} \frac{\partial J}{\partial t} c \right) + \frac{\partial \delta c}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - \delta c f \right\} dv \\ &= 0 \end{aligned} \quad (\text{A.14})$$

と積分方程式として表される．ここで、連続体 B_t への細胞密度の流出入はないと仮定し、連続体の表面 ∂B_t にて $\mathbf{q} = \mathbf{0}$ とした．

時刻 $t = t_n$ における細胞密度を c_n とすると、時刻 $t = t_n + \Delta t$ において、式(A.14)は差分法を用いて

$$R_c(c, \delta c) = \int_{B_t} \left\{ \delta c \left(\frac{c - c_n}{\Delta t} + \frac{J - J_n}{J \Delta t} c \right) + \frac{\partial \delta c}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - \delta c f \right\} dv \quad (\text{A.15})$$

と離散化される．また、連続体を有限個の要素に分割すると、

$$R_c(c, \delta c) = \sum_e \int_{B_t^e} \left\{ \delta c \left(\frac{c - c_n}{\Delta t} + \frac{J - J_n}{J \Delta t} c \right) + \frac{\partial \delta c}{\partial \mathbf{x}} \cdot \mathbf{q} - \delta c f \right\} dv \quad (\text{A.16})$$

のように離散化される(Rooij and Kuhl 2018)．

A.3 細胞収縮における構成関係

細胞収縮を表現する能動的応力モデル(Kida and Adachi 2015)では、式(4.3)に表すように、組織のひずみエネルギー密度 ψ を、弾性的な変形によるひずみエネルギー ψ_{pas} と能動的な応力の発生によるエネルギー ψ_{act} の和としてモデル化した。弾性変形に関する 2nd Piola-Kirchhof 応力テンソル \mathbf{S}_{pas} と能動的な応力に関する 2nd Piola-Kirchhof 応力テンソル \mathbf{S}_{act} をそれぞれ

$$\mathbf{S}_{\text{pas}} = \frac{\partial \psi_{\text{pas}}}{\partial \mathbf{E}} \quad (\text{A.17})$$

$$\mathbf{S}_{\text{act}} = \frac{\partial \psi_{\text{act}}}{\partial \mathbf{E}} \quad (\text{A.18})$$

と定義すると、2nd Piola-Kirchhof 応力テンソル \mathbf{S} は、

$$\begin{aligned} \mathbf{S} &= \frac{\partial \psi}{\partial \mathbf{E}} \quad (\text{A.19}) \\ &= \frac{\partial \psi_{\text{pas}}}{\partial \mathbf{E}} + \frac{\partial \psi_{\text{act}}}{\partial \mathbf{E}} \\ &= \mathbf{S}_{\text{pas}} + \mathbf{S}_{\text{act}} \end{aligned}$$

となる。 ψ_{pas} は、Neo-Hookean model を用いて式(4.7)のように表された。したがって、 \mathbf{S}_{pas} は、式(A.12)と同様に、

$$\mathbf{S}_{\text{pas}} = \mu \mathbf{F} \mathbf{g}^{-1} \mathbf{F} \mathbf{g}^{-\text{T}} + (\lambda \ln I_3 - \mu) \mathbf{C}^{-\text{T}} \quad (\text{A.20})$$

と表される。また、式(4.6)より、 \mathbf{S}_{act} は、

$$\begin{aligned} \mathbf{S}_{\text{act}} &= 2 \frac{\partial \psi_{\text{act}}}{\partial \mathbf{C}} \\ &= \mathbf{F} \mathbf{g}^{-1} \left[\sum_{i=1}^2 \frac{A}{\lambda_{m,i}} \left\{ 1 - \left(\frac{\lambda_{\text{max}} - \lambda_{m,i}}{\lambda_{\text{max}} - \lambda_0} \right)^2 \right\} \mathbf{m}_0 \otimes \mathbf{m}_0 \right] \mathbf{F} \mathbf{g}^{-\text{T}} \quad (\text{A.21}) \end{aligned}$$

と表される。ここで、 $\mathbf{m}_{0,i}$ ($i = 1, 2$)は基準配置における収縮方向を表す単位方向ベクトル、 \mathbf{m}_i ($i = 1, 2$)は現在配置における収縮方向を表す単位方向ベクトル、 λ_i は \mathbf{m}_i 方向のストレッチである。また、 A ($A \geq 0$)は収縮力の大きさ、 λ_{max} と λ_{min} はそれぞれ収縮力が働く最大のストレッチと最小のストレッチを表す。収縮方

向 \mathbf{m}_i における能動的な応力 \mathbf{S}_{act} とストレッチ λ_i との構成関係を Fig. A.1 に表す. ここで, 収縮力の大きさ A を $A = 0.5, 1.0, 1.5, 2.0$ kPaと変化させた. また, 最大ストレッチ λ_{max} と最長ストレッチ λ_{min} はそれぞれ $\lambda_{\text{max}} = 1.5$, $\lambda_{\text{min}} = 0.2$ とした.

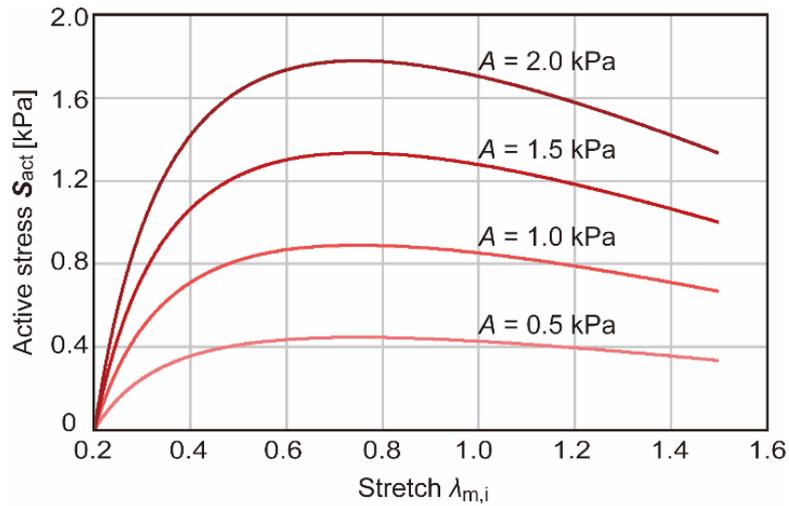


Figure A.1 Constitutive relationship between active second Piola–Kirchhoff stress \mathbf{S}_{act} and stretch $\lambda_{m,i}$. The upper and lower limits of stretch in Eq. (9) are $\lambda_{\text{max}} = 1.5$ and $\lambda_0 = 0.2$, respectively.

A.4 組織の成長と収縮により生じる形態形成に対する組織曲率の影響

シート状組織の曲率を変化させて、成長と収縮から生じる組織変形を解析することにより、組織の曲率が形態形成に与える影響を調べた。解析対象とする組織の概観を Fig. A.2 に示す。組織の中心における厚み方向を z 軸とし、組織は、 z 軸からの距離 r が $r \leq 0.1 \text{ mm}$ の円板形状を有している。 z 軸正側の面を細胞のアピカル面、負側の面をベーサル面とみなし、収縮は、アピカル面で生じるものとした。さらに、 x 軸に垂直な組織断面と、 y 軸に垂直な組織断面において、組織は、それぞれ主曲率 K_x , K_y を有するものとした。ここで、 z 軸正方向に対して、組織断面のアピカル面が凹形状の場合を曲率が正、凸形状の場合を曲率が負とした。主曲率 K_x , K_y を変化させることにより、様々な形態を表現できる。曲率 $K_0 = \sin(\pi/6)/r$ を用いて規格化した曲率 $\kappa_x (= K_x/K_0)$ と $\kappa_y (= K_y/K_0)$ を軸とする座標平面上の各点における組織の概観を Fig. A.3 に示す。組織の形状は、 $\kappa_x \kappa_y$ 平面上の直線 $\kappa_x = \kappa_y$ に対称であるから、 $\kappa_x \kappa_y$ 平面上の $\kappa_x \leq \kappa_y$ の範囲に存在する組織形態を解析対象とした。上皮組織の一部の領域に成長と収縮が生じる形態形成現象を想定し、周囲の境界は完全固定とした。収縮は、アピカル面の中央の円形領

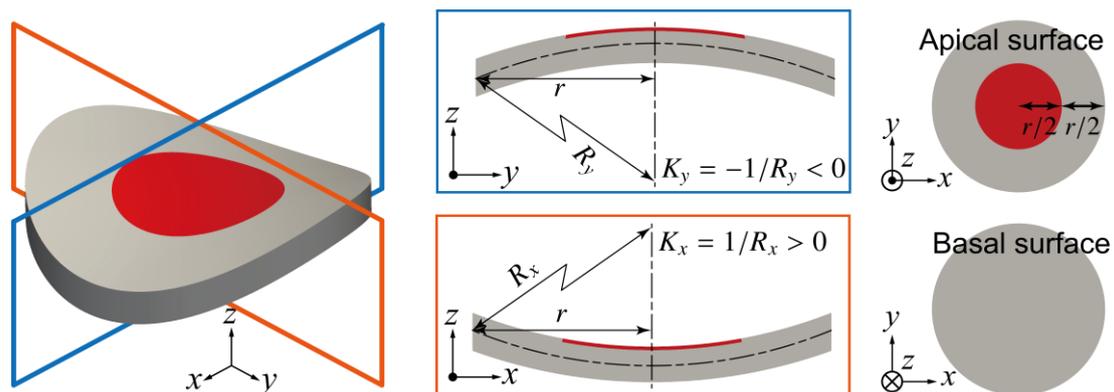


Figure A.2 Initial morphology of a sheet tissue. Apical constriction occurs at the red region on the apical surface. The whole of the tissue grows. A principal curvature of convex tissue is a negative and that of concave tissue is positive.

域に、面内等方的に生じるとした．能動的応力のモデル(Kida and Adachi 2015)において式(4.6)にて定義された収縮力の大きさ $A(\geq 0)$ を変化させることにより、細胞収縮度合いを設定した．上皮組織を構成する上皮細胞は、形態形成において単層構造を保ったまま増殖する．そこで、組織成長をシート状組織の面内等方的な体積膨張により表現した．すなわち、式(4.1)における方向ベクトル \mathbf{n} を組織の面外方向に設定し、面内等方的な成長ストレッチ $\theta(\geq 1)$ を変化させることにより、上皮組織の成長を表現した．

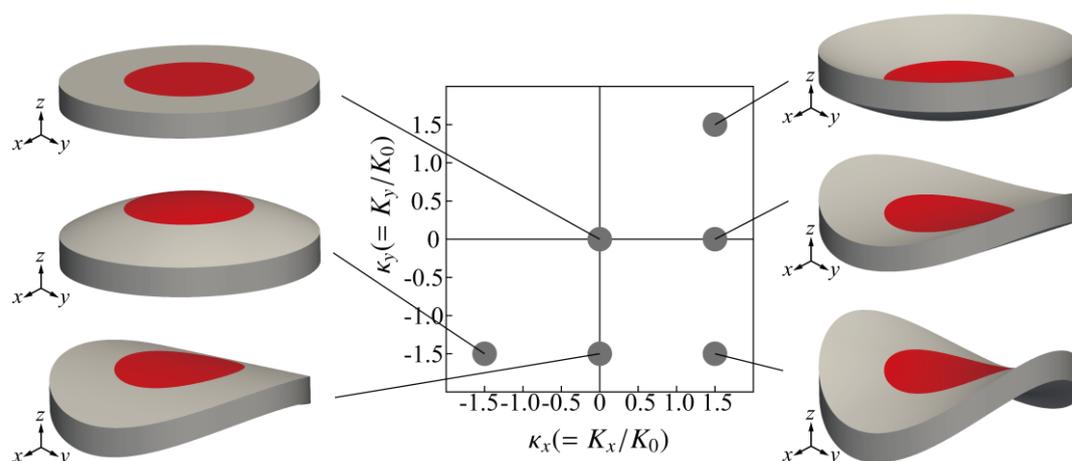


Figure A.3 Initial state of sheet tissues with various principal curvature.

以上の条件において、曲率の異なるシート状組織に成長と収縮を働かせて組織変形シミュレーションを行い、組織の曲率と収縮力の大きさが組織変形に与える影響を調べた．組織の中心における x 軸に垂直な断面の曲率 κ_x と y 軸に垂直な断面の曲率 κ_y を持つ組織のアピカル面に収縮を働かせた後、組織全体を成長させた．Fig. A.4 に、初期状態において平ら、あるいは、凸形状であった組織のうち、代表的なものの形状変化を示す．大きさ $A = 1$ kPaの収縮が働いた組織を成長ストレッチ $\theta = 1.0$ から $\theta = 1.2$ まで成長させると、各組織は、凹形状へ変形した．収縮力の大きさが $A = 0.01, 0.1, 1$ kPaのそれぞれの場合について、組織を成長させた結果、組織の曲率と収縮力の大きさに応じた組織変形の様子が観

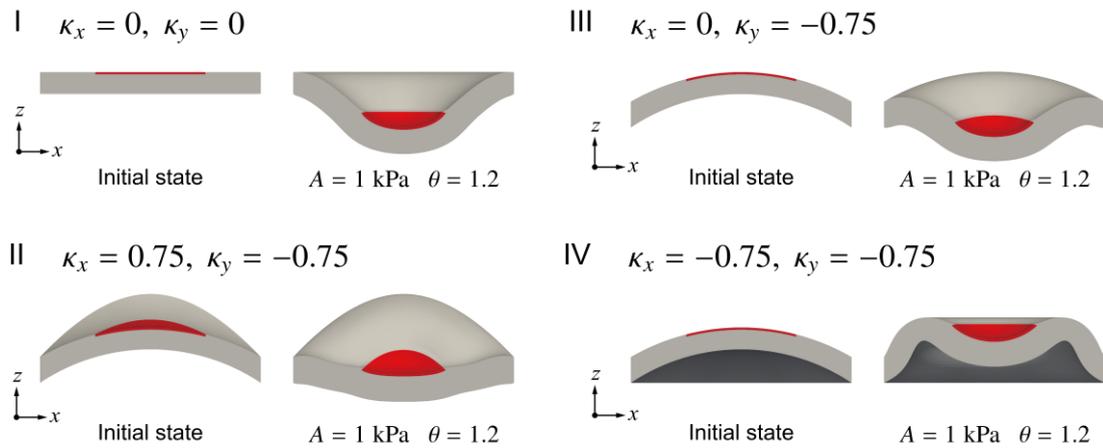


Figure A.4 Snapshots of cross-sectional view of the initial shape and the deformed shape after constriction and growth.

察された(Fig. A.5). 各収縮力における $\kappa_x\kappa_y$ 平面上に存在する円の色は、変形後の組織形状を示しており、凸形状の場合を橙色、凹形状の場合が青色である。図中のI, II, III, IVは、Fig. A.4の各組織に対応している。平均曲率 $H = (\kappa_x + \kappa_y)/2$ が正の領域では、初期形状が凹形状であるため、収縮と成長が生じて凹形状を保ったまま組織が変形した。平均曲率 H が0以下の組織は、初期形状が平ら、あるいは凸形状である。それらの組織は、組織の曲率と収縮力の大きさに依存して、収縮と成長が生じると凹形状へ変形する場合と、凸形状を保ったまま変形する場合が観察された。 $\kappa_x\kappa_y$ 平面において、収縮力が大きいほど、凹形状へ変形する領域が大きくなった。そして、変形後の組織の凹凸を決定する境界は、組織の平均曲率に依存した。

次に、収縮と成長が生じた状態から収縮力を取り除いた際の組織形状と、初期状態から成長のみ生じた組織形状を比較することにより、収縮による組織変形方向付けが可逆的かどうか調べた。Fig.A.5の各収縮力における $\kappa_x\kappa_y$ 平面上の枠線で囲まれた領域は、座屈変形し、収縮力を取り除いても凹形状を維持したものを示している。初期形状が凸形状であり、収縮により凹形状へ変形した組織では、 $\kappa_x = \kappa_y = -1.5$ の場合を除いて座屈変形した。以上により、成長前に収縮が生じた際の座屈変形と収縮力の大きさの関係が明らかになった。

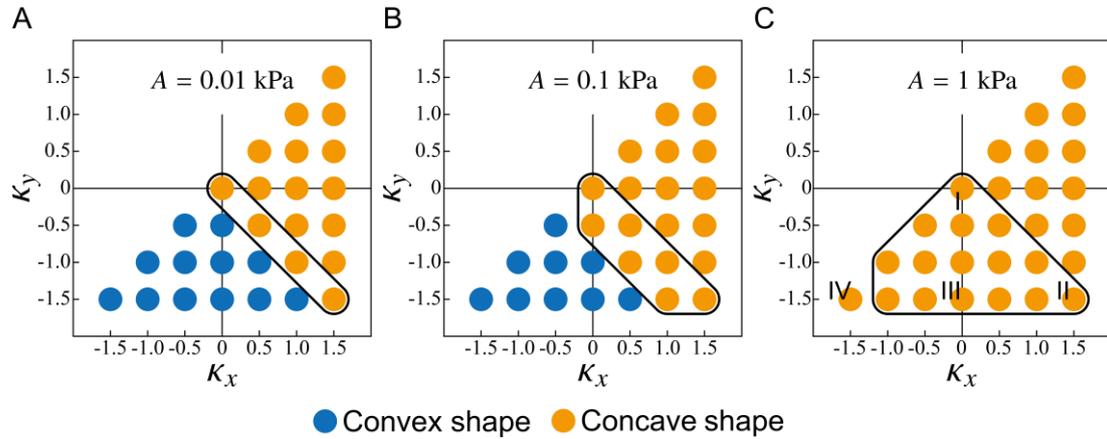


Figure A.5 Tissue shape after deformation induced by constriction and growth. Magnitude of constriction A is (A) 0.01 kPa, (B) 0.1 kPa and (C) 1.0 kPa. Blue circles indicate convex tissues and orange ones indicate concave tissues. The regions surrounded by solid line show the case where buckling occurs.

さらに、座屈変形と組織成長の関係を明らかにするため、組織を成長させた後に収縮を働かせて座屈変形が生じるかどうか調べた。成長ストレッチ θ を1.0から1.2まで増加させた組織に対し、収縮力を増加させると、ある収縮力でひずみが大きく変化する飛び移り座屈が見られた。その際の収縮力の大きさを組織が座屈変形するために要した収縮力とした。Fig. A.5の結果から、初期形状が凹形状である組織において、座屈現象が生じ得ることが示されたため、解析対象は、平均曲率 H が負の領域とした。 $\kappa_x\kappa_y$ 平面上の各点における組織に対して、座屈変形に必要な収縮力をFig. A.6に示す。収縮力の大きさは図中の円の色で示されており、組織の平均曲率 H が大きいほど座屈に大きな収縮力を必要としたことが分かる。また、等しい平均曲率を持つ組織間においては、直線 $\kappa_x = \kappa_y$ に近いほど大きな収縮力を必要とした。これより、組織の曲率 κ_x , κ_y の差が小さいほど、つまり、球殻形状よりも円管形状に近いほど、小さな収縮力で組織が安定形状まで変形することが示された。

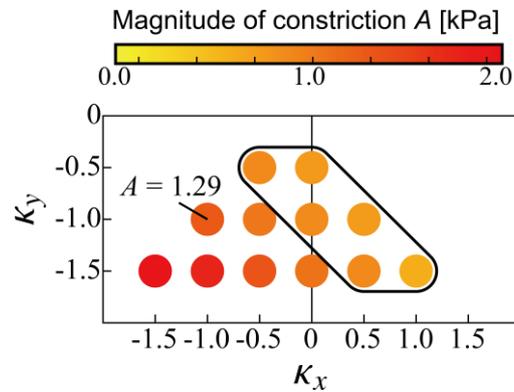


Figure A.6 Magnitude of constriction which causes buckling of sheet-like tissues.

参考文献

- Holzapfel GA (2000) *Nonlinear Solid Mechanics: A Continuum Approach for Engineering*. Wiley,
- Kida N, Adachi T (2015) Finite element formulation and analysis for an arterial wall with residual and active stresses *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 18:1143-1159
- Rooij Rd, Kuhl E (2018) A physical multifield model predicts the development of volume and structure in the human brain *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 112:563-576

関連学術論文・学術講演

A. 学術論文

- A-1. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo and Taiji Adachi, “Continuum modeling for neuronal lamination during cerebral morphogenesis considering cell migration and tissue growth”, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2020, DOI: 10.1080/10255842.2020.1852554. (第2章)
- A-2. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo, Takahiro Yamaguchi, Kazunori Nakajima and Taiji Adachi, “Cerebellar foliation via non-uniform cell accumulation caused by fiber-guided migration of granular cells”, *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, (In press). (第3章)
- A-3. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo, Yasuhiro Inoue and Taiji Adachi, “An energy landscape approach to understanding variety and robustness in tissue morphogenesis”, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, Vol. 19, No. 2, pp. 471-479, 2019, DOI: 10.1007/s10237-019-01222-5. (第4章)

B. 学術講演（国際学会）

- B-1. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo and Taiji Adachi, “Finite element analysis of coupled behavior of tissue deformation and cell movement in morphogenesis”, 8th World Congress of Biomechanics, Dublin, Ireland, July 2018. (Poster presentation)
- B-2. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo and Taiji Adachi, “Continuum mechanics modeling of retinal morphogenesis caused by non-uniform growth”, 5th Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics 2017, Zermatt, Switzerland, September 2017. (Poster presentation)
- B-3. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo and Taiji Adachi, “Finite element investigation of mechanical roles of tissue growth and constriction during optic-

- cup morphogenesis”, 26th Congress of the International Society of Biomechanics, 783, Brisbane, Australia, July 2017. (Oral presentation)
- B-4. Yoshitaka Kameo, Hironori Takeda and Taiji Adachi, “A model for retinal invagination in optic-cup morphogenesis driven by growth and constriction”, 23rd Congress of the European Society of Biomechanics, Total 1 page, Seville, Spain, July 2017. (Oral presentation)
- B-5. Hironori Takeda, Yoshitaka Kameo and Taiji Adachi, “Mechanical modelings of optic-cup morphogenesis caused by tissue growth and constriction”, CDB Symposium 2017, pp. 178-179, Kobe, Japan, March 2017. (Poster presentation)

C. 学術講演（国内学会，セミナー等）

口頭発表

- C-1. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「細胞移動と組織成長から生じる脳形態形成の有限要素解析」, 日本機械学会 第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 1C16, オンライン開催, 2020 年 12 月
- C-2. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「神経細胞移動にともなう脳形態形成の連続体力学モデル(A continuum mechanics model for brain morphogenesis induced by neuronal migration)」, 日本機械学会 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, Vol. 32, No. 1A33, 金沢, 2019 年 12 月
- C-3. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「組織形態形成におけるロバスト性の力学解析に基づく解釈」, 金沢大学 NanoLSI Open Seminar "Cell Biomechanics", 金沢, 2019 年 12 月
- C-4. 亀尾佳貴, 竹田宏典, 安達泰治, 「組織形態形成における多様性と安定性の理解に向けた非線形連続体力学に基づくエネルギー地形アプローチの提案」, 日本機械学会 第 32 回計算力学講演会, Vol. 32, No. 031, 埼玉, 2019 年 9 月 (招待講演)
- C-5. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「形態形成における組織形態多様化の理解に向けた力学的アプローチ (A mechanical approach to understand diversity of tissue forms in morphogenesis)」, 日本機械学会 第 31 回バイオエンジニアリング講演会, Vol. 31, No. 1A21, 郡山, 2018 年 12 月

- C-6. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「生体組織の成長と収縮のタイミングが形態形成に及ぼす影響」, 日本機械学会 第 29 回バイオフィロントニア講演会, Vol. 29, No. 2B12, 千葉, 2018 年 10 月
- C-7. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「眼杯の形態形成を引き起こす細胞活動の力学的作用」, 日本機械学会 2017 年度年次大会, No. J0230104, 埼玉, 2017 年 9 月
- C-8. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「眼杯形成過程における組織の成長と収縮の力学モデリング」, 文部科学省研究費補助金 新学術領域研究 脳構築における発生時計と場の連携 第 1 回班会議, 静岡県, 2017 年 1 月
- C-9. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「Finite element analysis of optic-cup morphogenesis mechanically regulated by tissue growth and constriction (生体組織の成長と収縮により制御される眼杯形成の有限要素解析)」, 日本機械学会 第 27 回バイオフィロントニア講演会, Vol. 27, No. A20, 北海道, 2016 年 10 月 (Young Researchers English Session)

ポスター講演

- C-10. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「脳形態形成におけるニューロン移動と大脳成長の連成数理モデリング(A coupled mathematical modeling for neuronal migration and cerebral growth in brain morphogenesis)」, 生物物理学会年次大会 2019, 3Pos076, 宮崎, 2019 年 9 月
- C-11. 亀尾佳貴, 竹田宏典, 安達泰治, 「エネルギー地形アプローチに基づく組織形態形成の多様性と安定性の探求(Exploring variety and robustness in tissue morphogenesis based on energy landscape approach)」, 生物物理学会年次大会 2019, 2Pos108, 宮崎, 2019 年 9 月
- C-12. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「ニューロン移動にともなう大脳皮質の層構造構築と形態形成の力学モデル」, 文部科学省研究費補助金 新学術領域研究 脳構築における発生時計と場の連携 第 4 回班会議, 金沢, 2019 年 7 月
- C-13. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「細胞活動の力学的作用により生じる脳形態形成の力学モデリング」, 文部科学省研究費補助金 新学術領域研究 脳構築における発生時計と場の連携 第 3 回班会議, 山梨, 2018 年 7 月

- C-14. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「組織形態形成における細胞移動と組織変形の連成モデリング」, 日本機械学会 第 30 回バイオエンジニアリング講演会, Vol. 30, No. 2E06, 京都, 2017 年 12 月
- C-15. 竹田宏典, 亀尾佳貴, 安達泰治, 「神経組織の形態形成を引き起こす細胞活動の数理モデル構築」, 文部科学省研究費補助金 新学術領域研究 脳構築における発生時計と場の連携 第 2 回班会議, 神戸, 2017 年 7 月

謝辞

京都大学ウイルス・再生医科学研究所教授 安達泰治先生には、研究活動の開始から今日に至るまで、多大なる教育的なご指導を賜りました。ここに、謹んで深甚なる感謝の意を表します。同研究所助教 亀尾佳貴先生には、直接の指導教員として、浅学で非才な著者に対して終始熱心なご指導を賜りました。心より感謝申し上げます。

京都大学大学院工学研究科教授 西脇眞二先生には、本論文をご高覧いただき、有益なご助言を賜りました。心より感謝申し上げます。同研究科教授 井上康博先生には、本論文の執筆においてご助言を賜るとともに、京都大学ウイルス・再生医科学研究所にご在籍の折には、研究議論に貴重なお時間を割いて頂きました。深く感謝いたします。

慶応義塾大学医学部解剖学教室教授 仲嶋一範先生には、生物学の観点から脳発生に関する貴重なご助言を頂きました。深く感謝申し上げます。名古屋大学大学院医学系研究科細胞生物学分野教授 宮田卓樹先生には、マウス大脳の解剖実験をご指導いただくとともに、脳発生に関する議論をさせていただく大変貴重な機会を与えて頂きました。ここに謝意を表します。

京都大学ウイルス・再生医科学研究所生命システム研究部門バイオメカニクス分野の皆様には、大変お世話になりました。林紘三郎先生には、先生のこれまでのご研究や研究生活などの貴重なお話をご教示いただき、心より感謝申し上げます。講師の OKEYO Kennedy Omondi 先生、助教の牧功一郎先生、また、研究員の須長純子氏、金英寛博士、ならびに、Jeonghyun Kim 博士には、研究に対する数多くのご助言を賜り、深く感謝いたします。同輩の安藤悠太氏と仲尾信彦氏は、研究生活において苦楽を共にしてまいりました。両氏をはじめとして、研究室の先輩や後輩諸氏には、公私ともにお世話になり、感謝申し上げます。

最後に、これまで長い間、暖かく見守り続けてくれた家族に感謝いたします。

2021年1月
竹田宏典