

令和2年度 未来研究ラボシステム 研究成果報告書

研究種目：共同研究

研究期間：令和元年 10月～令和3年 10月

研究課題名：計算力学・実験の融合による細胞集団運動の力学解析

ラボ長

所属：機能創成専攻 生体工学領域

氏名：松永大樹

研究成果

【研究目的】

細胞は細胞骨格と呼ばれる構造によりその形状を支え、それと同時に硬さなど周囲の力学環境のセンシングし自身の振る舞いを決定している。例えば培養されている基盤の硬さによって幹細胞の分化が変化する現象 [Engler *et al.*, 2006, *Cell*] や、異常張力を感知した場合に細胞がアポトーシスを起こす現象 [Chen *et al.*, 1997, *Science*] などが知られている。細胞が如何に収縮力を発揮し周囲環境をセンシングしているかを理解することは重要な課題であり、力学から細胞の振る舞いを説明するこの研究分野をメカノバイオロジーと呼ぶ。研究代表者が所属する研究室(機能創成専攻・出口研究室)では、これまでにシワ基盤による細胞収縮力計測法の確立に成功した [Fukuda *et al.*, 2017, *Dev. Growth Differ.* 等]。テーブルクロスにシワが寄るように細胞の収縮力により基盤表面にシワが発生し、シワの大きさと収縮力の相関から力の強さを定性的に計測できる。この手法を用いると広く普及している牽引力顕微鏡 (traction force microscopy) に比して、蛍光顕微鏡を使う必要がなく、また作業手順が簡便であるため高いスループット性を備えた計測を実施できる一方、収縮力を定性的にしか測定できないという欠点を有している。そこで本研究プログラムでは第一にシワの力学解析を通してシワと細胞の収縮力の機械的因果を明らかにすることを目的とする。また第二に細胞とシワの相互作用によって生じる多細胞の集団運動のダイナミクスを明らかにする。

なお本プロジェクトの共同研究者の Amin Doostmohammadi 博士は本学の「2019年度・国際共同研究促進プログラム」にも採択され、博士は本学・特任助教(クロスアポイントメント)として2019年7-12月に本学に在籍し共同研究を実施した。

【研究成果1：機械学習による細胞収縮力の推定】

発表論文成果 1, 3, 8: 上記の研究目的に示したように基盤上のシワでは力の定量的な計測はできない。そこで以下の2ステップによりシワから応力場を算出するシステムを構築した。一つ目のステップでは顕微鏡画像からシワのみを特異的に抽出する機械学習システムを構築した [発表論文3: Li, Matsunaga *et al.*, 2020, BBRC]。シワの特徴をシステムに覚えさせるためトレーニングデータとして顕微鏡画像とそれに対応するシワ画像(手書き or 2D-FFT+バンドパスによる抽出)を用意した。

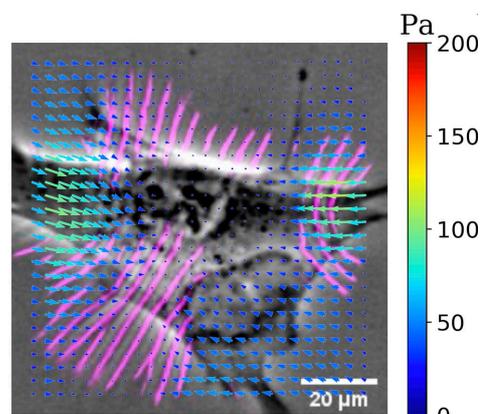


図 1. 機械学習によるシワ・収縮力変換

トレーニングにより学習が終わると、顕微鏡画像から自動的にシワのみを抽出するシステムとなる(図2参照).

2つ目のステップでは抽出したシワ画像を応力場へと変換する. 応力場の算出には牽引力顕微法を用い, 対応する応力場とシワのセットをトレーニングデータとして用意した. GAN (generative adversarial network) を用いた機械学習システムのトレーニングによりシワと応力場の物理的相関をシステムに捉えることが可能となった [発表論文 8: Li, Matsunaga, ..., Doostmohammadi, Deguchi; Communications Biology, accepted]. この技術開発によりシワを含む顕微鏡画像をシステムに渡すだけで定量的な収縮力の場を推定することが可能となった. 以上の技術開発・システム構築により, 手順が煩雑でスループットが悪い牽引力顕微法に比べ効率良く細胞収縮力を計測できると期待されており, 既に薬効評価の効率的なスクリーニングに有効 [発表論文 1: Nehwa *et al.*, 2019] であることも報告している.

【 研究成果 2: シワを介した細胞間の力学的相互作用 】

細胞は基盤上で収縮力を発揮したとき, 基盤上の変形を介して力学的に他の細胞の存在を知覚し, その相互作用から細胞の振る舞いが変化する可能性が近年の先行研究により報告 [Mann *et al.*, 2019; Palmieri *et al.*, 2019] されて注目を集めている.

本研究室が開発した基盤では細胞の収縮力によりシワが発生するが, 多数の細胞が基盤上に存在したとき細胞下部に発生したシワが連結する様子が観察された. また連結したシワを頼りに細胞間の距離が徐々に変化する現象が見られた. 細胞間の距離が変化する理由については現在いくつかの仮説を立てており, そのメカニズムの詳細を実験・理論・数値計算により明らかにすることを試みている.

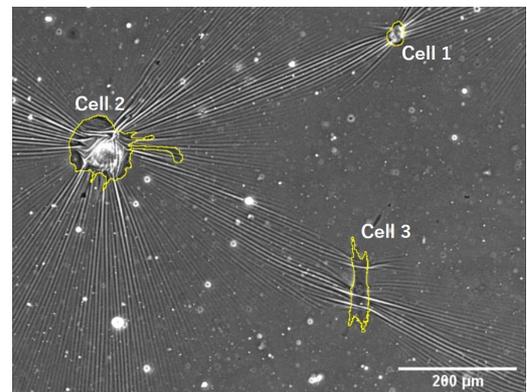


図 2. シワによる細胞間力学相互作用

【 その他の研究成果: 磁気回転子の集団運動制御 (Yeomans 教授との共同研究) 】

その他, 計 6 件の論文を発表した. そのうちの一つの成果 [発表論文 5: Kawai *et al.*, Soft Matter 2020] について紹介する. 格子状に配置された $N \times N$ の磁気回転子に回転磁場を負荷したときに生じる様々な集団運動現象を報告した. システムに外部磁場を負荷したとき, 全ての回転子に同一のシグナルを渡すことになるため各回転子に別々の動作を指示することは容易ではない. この研究では「磁気双極子の相互作用の強さ」に対する「外部磁場の強さ」をコントロールすることにより $N \times N$ に配置された磁気回転子の集団運動を制御できることを示した.

その他, スピンオフの研究として回転子の集団運動 [発表論文 2,5], 懸濁液のレオロジー制御 [発表論文 4,6], 磁気遊泳体の集団運動の理論解析 [発表論文 7] など, 国際共同研究も含めた多面的に研究を展開することができた.

ここに未来研究ラボシステムの多大なるご支援に対し, 謝意を表する.

【 セミナーの開催（その他の活動） 】

前述の通り、共同研究者の Amin Doostmohammadi 博士は国際共同研究促進プログラムにも採択され、本学の特任助教として在籍（2019年7月-12月）し研究活動を行った他、以下のレクチャーシリーズを開催した（開催場所：基礎工学研究棟 B 棟 204 棟）。

■ 第1回 “Active Fluid Mechanics” – 2019年12月2日（月）13:00-14:30

■ 第2回 “Topology in Biology” – 2019年12月9日（月）13:00-14:30

■ 第3回 “Collective Cell Mechanics” – 2019年12月16日（月）13:00-14:30

参加人数はどの回も 30-40 名に達し、学部生から研究科の教授、また他大学からも聴講者が参加するなど盛況であった。

【 備考：出張のキャンセルについて 】

本プロジェクトの共同研究者である Julia M. Yeomans 教授（オックスフォード大学、イギリス）、および Amin Doostmohammadi 助教（ニールス・ボーア研究所、デンマーク）の大阪訪問、および研究代表者のデンマーク訪問による共同研究実施を予算申請時に計画していたが、新型コロナウイルス（COVID-19）の流行状況を鑑み出張を取りやめた。国際共同研究予算であるにも関わらず予算の全期間（2019年10月-2021年10月）を通して出張による共同研究が実施できなかったのが残念であった。なお出張の代わりにメールのやり取りや Skype での打ち合わせを定期的に行っていると共に、以下の研究成果に示すように順調に成果を発表できおりプロジェクトの進捗に問題は生じなかった。

キーワード：細胞集団運動，計算力学，機械学習

研究経費（R3年度）の内訳

備品費	消耗品費	旅費	謝金	その他	合計
289,900 円	598,100 円	0 円	0 円	0 円	888,000 円

共同研究者等

(1) 共同研究者（氏名・所属）

- 研究分担者：Julia M. Yeomans 教授（オックスフォード大学 Rudolf Peierls 理論物理学研究所）
- 研究分担者：Amin Doostmohammadi 助教（ニールス・ボーア研究所）
- 研究分担者：李泓翰 機能創成専攻・生体工学領域・博士前期課程2年

(2) 研究協力者（氏名・所属・学年（学生の場合））

- 出口真次 機能創成専攻・生体工学領域・教授
- 松井翼 機能創成専攻・生体工学領域・講師

発表論文等 (令和 4 年 3 月 31 日現在)

[雑誌論文]

1. “Multi-well plate cell contraction assay detects negatively correlated cellular responses to pharmacological inhibitors in contractility and migration” Foncham J. Nehwa, Tsubasa S. Matsui, **Li Honghan**, **Daiki Matsunaga**, Yoshiyuki Sakaguchi, Shinji Deguchi, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, volume 521, issue 2, pp. 527-532, 2020
2. “Diffusion and collective motion of rotlets in 2D space”, **Daiki Matsunaga**, Takumi Chodo, Takuma Kawai, *Chinese Physics B* (Special issue "Active Matter Physics"), volume 29, No. 6, 064705, 2020
3. “Image based cellular contractile force evaluation with small-world network inspired CNN: SW-UNet”, **Honghan Li**, **Daiki Matsunaga**, Tsubasa S. Matsui, Hiroki Aosaki, Shinji Deguchi, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, volume 530, issue 3, pp. 527-532, 2020
4. “Complex viscosity of dilute capsule suspensions: a numerical study”, **Daiki Matsunaga**, Yohsuke Imai, *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, 20-00102, 2020
5. “Degenerate states, emergent dynamics and fluid mixing by magnetic rotors”, Takuma Kawai, **Daiki Matsunaga**, Fanlong Meng, **Julia M. Yeomans**, Ramin Golestanian, *Soft Matter*, volume 16, pp. 6484-6492, 2020
6. “Rheology of a dilute ferrofluid droplet suspension in shear flow: viscosity and normal stress differences”, Shunichi Ishida, **Daiki Matsunaga**, *Physical Review Fluids*, volume 5, 123603, 2020
7. “Magnetic microswimmers exhibit Bose-Einstein-like condensation”, Fanlong Meng, **Daiki Matsunaga**, Benoit Mahault, Ramin Golestanian, *Physical Review Letters*, volume 126, 078001, 2021
8. “Wrinkle force microscopy: a new machine learning based approach to predict cell mechanics from images”, **Honghan Li**, **Daiki Matsunaga**, Tsubasa S. Matsui, Hiroki Aosaki, Genki, Kinoshita, Koki Inoue, Amin Doostmohammadi, Shinji Deguchi, *Communications Biology*, accepted

[著書] 該当なし

[学会発表]

1. “Controlling Migration of Ellipsoidal Magnets in Microfluidic Channel for Biomedical Applications”, Daiki Matsunaga, AP Biomech 2019, Taiwan
2. “CNN-Based Intracellular Contractile Force Evaluation Algorithm”, Honghan Li, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, Shinji Deguchi, AP Biomech 2019, Taiwan
3. “回転外部磁場下における磁気回転しの集団運動に関する研究”, 河合拓真, 松永大樹, Fanlong Meng, Ramin Golestanian, 第 9 回ソフトマター研究会, 名古屋
4. “細胞内タンパク質の分子交換メカニズムに関する研究”, 齋藤匠, 松井翼, 松永大樹, 福島修一郎, 出口真次, 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, 金沢
5. “非平衡開放系における細胞内骨格構造に関する研究”, 河合拓真, 松永大樹, 出口真次, 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, 金沢
6. “ストレスファイバーにおける張力ホメオスタシスのメカニズムに関する熱力学的考察”, 上田

唯花, 松永大樹, 松井翼, 出口真次, 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, 金沢

7. “CNN に基づく細胞内収縮力評価アルゴリズム”, 李泓翰, 松永大樹, 松井翼, 出口真次, 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, 金沢

8. “微小管路中の微生物遊泳の数値解析”, 長藤拓己, 松永大樹, 出口真次, 第 32 回バイオエンジニアリング講演会, 金沢

9. “CNN-Based Cellular Contractile Force Evaluation Algorithm”, Honghan Li, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, Shinji Deguchi, Summer Biomechanics, Bioengineering, and Biotransport Conference (SB3C 2020), Virtual Conference

10. “FRAP combined with genetic manipulation reveals the kinetics of actin-binding proteins in cells”, Takumi Saito, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, Shinji Deguchi, Summer Biomechanics, Bioengineering, and Biotransport Conference (SB3C 2020), Virtual Conference

11. “FRAP combined with genetic manipulation reveals the kinetics of actin-binding proteins in cells”, Takumi Saito, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, Kentaro Noi, Shinji Deguchi, 第 58 回日本生物物理学会年会

12. “Theoretical consideration of homeostasis in stress fibers”, Yuika Ueda, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, Shinji Deguchi, 第 58 回日本生物物理学会年会

13. “Cellular geometry sensing at the subcellular level is a crucial component of its rigidity sensing”, Shinji Deguchi, Honghan Li, Daiki Matsunaga, Tsubasa S. Matsui, 第 43 回日本分子生物学会年会

14. “細胞収縮力アッセイ:工学と生物学の接点”, 出口真次, 李泓翰, 松井翼, 松永大樹, Foncham Jermia Nehwa, 青崎 宏樹, 第 59 回日本生体医工学会大会

15. “細胞動態と収縮力の時系列相関解析”, 松井翼, 山中亮輝, 李泓翰, 松永大樹, 倉賀野正弘, 高橋正行, 出口真次, 第 72 回日本細胞生物学会大会

16. “FRAP と遺伝子組換えを用いた細胞内分子交換計測”, 齋藤匠, 松永大樹, 松井翼, 野井健太郎, 出口真次, 第 72 回日本細胞生物学会大会

17. “機械学習による細胞発生応力分布の推定”, 李泓翰, 松永大樹, 青崎宏樹, 松井翼, 出口真次, 第 72 回日本細胞生物学会大会

18. “機械学習による細胞発生力評価システムの構築”, 松永大樹, 李泓翰, 青崎宏樹, 松井翼, 出口真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会

19. “主成分分析による細胞動態と収縮力の関係性に関する研究”, 松井翼, 山中亮輝, 李泓翰, 松永大樹, 出口真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会

20. “細胞内タンパク質の複雑な分子交換メカニズムの解析”, 齋藤匠, 松永大樹, 松井翼, 出口真次, 第 31 回バイオフィロンティア講演会

21. “細胞内アクチンフィラメントの長さ分布に関する理論的考察”, 上田唯花, 松永大樹, 松井翼, 出口真次, 第 31 回バイオフィロンティア講演会

22. “細胞接着斑分子の揺らぎに関する研究”, 金尾太雅, 齋藤匠, 松永大樹, 松井翼, 第 60 回日本生体医工学会大会

23. “細胞外基質の変形の定量評価”, 東晴斗, 福島修一郎, 松井翼, 松永大樹, 出口真次, 第 60 回日本生体医工学会大会

24. “Using FCS in the analysis of macromolecular crowding effects of stress fibers on GFP diffusion”, Aria Buenaventura, Takumi Saito, Taiga Kanao, Daiki Matsunaga, Shinji Deguchi, 第 60 回日本生体医工学会大会
25. “生細胞内構造構成分子の分子交換と力学情報の同時計測”, 齋藤 匠, 松永 大樹, 松井 翼, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
26. “細胞内における張力ホメオスタシスのメカニズムに関する理論的考察”, 上田 唯花, 松永 大樹, 松井 翼, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
27. “周囲力学環境に依存した細胞移動に関する力学モデル”, 齋藤 夏樹, 松永 大樹, 松井 翼, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
28. “細胞内張力に依存した焦点接着斑分子の揺らぎに関する研究”, 金尾 太雅, 齋藤 匠, 松永 大樹, 松井 翼, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
29. “細胞外基質変形の定量評価”, 東 晴斗, 福島 修一郎, 松井 翼, 松永 大樹, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
30. “FCS の時系列データ解析による細胞内分子の拡散動態に関する研究”, 藤田 凌嘉, 松永 大樹, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
31. “ストレスファイバーの熱力学”, 出口 真次, 上田 唯花, 松井 翼, 松永 大樹, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
32. “深層学習を用いた細胞力学計測基盤の構築”, 松永 大樹, 李 泓翰, 松井 翼, 出口 真次, 第 33 回バイオエンジニアリング講演会
33. Fluid mechanics in small scales and biology/biomimetics, Daiki Matsunaga, MEI-Center Summer School 2021
34. “細胞による細胞外基質の変形の定量評価”, 東 晴斗, 福島 修一郎, 松井 翼, 松永 大樹, 出口 真次, 日本機械学会 2021 年度年次大会
35. “細胞接着斑分子の構造的な揺らぎに関する研究”, 金尾 太雅, 齋藤 匠, 松永 大樹, 松井 翼, 出口 真次, 日本機械学会 2021 年度年次大会

〔その他〕 該当なし

外部資金獲得状況・申請状況

1. “細胞増殖と周囲の力学環境の因果関係:実験・理論の比較”, 大阪大学国際共同研究促進プログラム (短期人件費支援), 研究代表者: 松永大樹, 2019 年 1 月-2020 年 3 月 (採択)
2. “機械学習による細胞力学環境の計測プラットフォーム構築”, 国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (ACT-X 「数理・情報のフロンティア」) 研究代表者: 松永大樹, 2019 年 10 月-2022 年 3 月 (採択)
3. “実験と数理の融合による細胞内流体構造連成の解明”, 国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST) さきがけ「複雑な流動・輸送現象の解明・予測・制御に向けた新しい流体科学」, 研究代表者: 松永大樹, 2021 年 10 月 - 2025 年 3 月 (採択)
4. “アクチュエータ群の戦略的集団運動による分子ロボットの遊泳メカニズムの構築”, 日本学術

振興会 学術変革領域研究 A 「分子サイバネティクス」公募班, 研究代表者: 松永大樹, 2021 年
10 月 - 2023 年 9 月 (採択)

参考となるHP等

研究室 HP: <http://mbm.me.es.osaka-u.ac.jp/>

研究代表者 HP: <https://daiki-matsunaga.github.io/>