

細胞増殖 2 分画モデルにおける再生医療について

東京都市大学知識工学部*, 東京大学大学院数理科学研究科**

野原 勉 (Ben T. Nohara)

*Faculty of Knowledge Engineering, Tokyo City University

**Graduate School of Mathematical Sciences, University of Tokyo

*東京都世田谷区玉堤 1-28-1

**東京都目黒区駒場 3-8-1 drben@tcu.ac.jp

1 はじめに

2012 年京都大学山中伸弥教授のノーベル賞により一躍世に知られることになった iPS 細胞 [10][11]¹ は人工的に生成された多能性幹細胞であり, いろいろな細胞種へ分化する能力と自己増殖する能力を併せ持った言わば万能細胞である. 受精卵が発生を始めた初期胚にはすべての細胞種を造ることができる多能性幹細胞があり, 胎児の体が造られる時期になると限定された分化能を持つ組織幹細胞 (体性幹細胞) が出現する. 組織幹細胞には表皮系幹細胞, 造血幹細胞, 神経幹細胞, 筋肉幹細胞, 肝臓幹細胞などがある. たとえば, 造血幹細胞は白血球 (好中球, 好酸球など), 赤血球, 血小板などを生み出す. 組織幹細胞は分裂により分化能力を保持した前駆細胞と細胞の最終の役割を備えた成熟細胞 (白血球や赤血球など) とに分裂し健康な身体では常に適正な成熟細胞数を維持している. 最終的な成熟細胞である機能細胞になってしまうとその機能細胞から別の機能細胞には決してならない仕組みになっている. ところが, 山中教授らは体細胞をある種の遺伝子を使うことによりリプログラミングして多能性幹細胞を樹立してしまったのであるから驚きである. 多能性幹細胞ができればどんな機能細胞にも分化できるので, たとえば, 白血病患者には自らの体細胞から造った iPS 細胞を試験管内で造血幹細胞を分化誘導し, この造血幹細胞を患者に投与するのが再生医療 (移植治療) である. 患者自身の組織を使っているので拒絶反応がないと考えられまさに夢の治療と言われる所以である [1][2].

近い将来 iPS 細胞はその臨床段階に入ると想われる² が, これを夢の技術に終わらせることのないように今一度幹細胞の役割について基礎科学の数理解析的な側面より探求して行くことが重要である.

2 幹細胞の増殖モデル: 2 分画モデル

この節では幹細胞がどのようにして成熟細胞になるかのモデルを扱うが, 最も簡単な幹細胞から一種類の成熟細胞ができる 2 分画モデル (two-compartment model) を紹介しよう (変数の記号は文献 [9] を踏襲する). 図 2.1 にその概念図を示す. 幹細胞, 成熟細胞ともにある一定の割合で死滅³ しつつ, 幹細胞は自己複製能により細胞分裂し自分自身を複製するとともに, 成熟細胞にも分化する. ここで, 「幹細胞の自己複製能と分化能は成熟細胞の数により調整される」という仮定 [8] を入れている. この仮定は必要とする成熟細胞の数が満たされれば幹細胞の自己複

¹人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells): 体細胞へ数種類の遺伝子を導入し多種の細胞への分化能と自己複製能を持たせた人工的に造られた万能細胞であり, 2006 年にマウスの iPS 細胞が樹立され, さらに, 2007 年ヒト iPS 細胞の樹立に至った. ともに山中伸弥教授らの業績であり, 論文 [10][11] にその内容が書かれている. これに対して ES 細胞 (embryonic stem cells) は胚性幹細胞であり, 胚盤胞から内細胞塊 (胎児になる部分) を取り出して増殖させる万能細胞のことである. ヒト ES 細胞の研究には倫理的問題が付きまとう.

²神戸市の医療機関が加齢黄斑変性への臨床応用を厚生労働省に 2013 年中に承認申請を行なった. 2014 年の実施を目指している. (2013 年 2 月 14 日報道発表)

³細胞のプログラムされた死滅で「アポトーシス」と言われる.

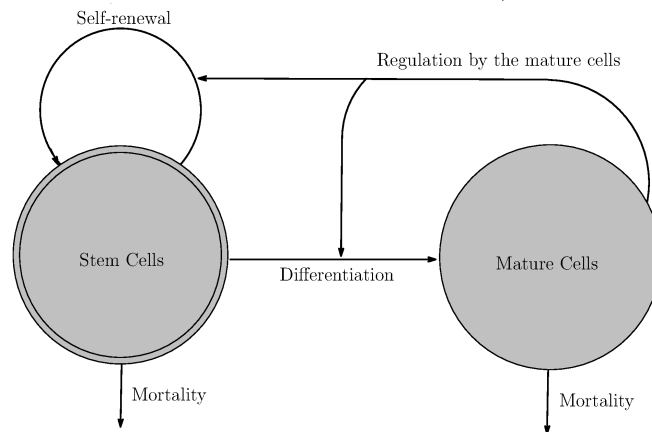


図 2.1: 幹細胞から一種類の成熟細胞ができる 2 分画モデル: 幹細胞は自己複製能により自分自身を複製するとともに, 成熟細胞にも分化する. 「幹細胞の自己複製能と分化能は成熟細胞の数により調整される」という仮定を入れている.

製と分化が抑制されるという妥当な生物学的解釈によるものである. もし, この抑制能力が失われると癌などの疾病に発展することになりうる [5][6][7].

2.1 2 分画モデルの方程式

さて, 2 分画モデルの方程式を構成しよう. 幹細胞と成熟細胞の数を時間の関数として $w(t), v(t)$ とすると 2 分画モデルはつぎのように表すことができる.

$$\begin{cases} \dot{w} = (2a_w - 1)d_w(v)w - \mu_w w, \\ \dot{v} = 2(1 - a_w)d_w(v)w - \mu_v v \end{cases} \quad (2.1)$$

ここで, $a_w > 0, \mu_w > 0$ は幹細胞の自己複製能と細胞死滅率を表す定数であり, $d_w(v)$ は先に述べた仮定「幹細胞の自己複製能と分化能は成熟細胞の数により調整される」を実現するための関数である. 具体的には

$$d_w(v) = \frac{p_w}{1 + kv} \quad (2.2)$$

と定める. ここに, $p_w > 0$ は成熟細胞による抑制を拒む非抑制因子を表す定数であり, $k > 0$ は成熟細胞の数に敏感に反応する増殖因子を表す定数⁴ である. また, $a_w \in [0, 1)$ と仮定する. (2.1) は二つの式を足すと分かりやすい. すなわち,

$$\dot{w} + \dot{v} = d_w(v)w - \mu_w w - \mu_v v$$

となり, この式は幹細胞の自己複製能 a_w に関わらず成り立つ式で, 幹細胞と成熟細胞のそれぞれの変化分の合計は幹細胞の増殖分からそれぞれの細胞死の数を引いたものであることを言っ

⁴たとえば, 血液系の増殖因子はサイトカイン (cytokine) と呼ばれる.

ている。また、(2.1) は成熟細胞自身は増殖しないことを前提にしている。

さて、ここで時間を $\tilde{t} = \mu_w t$ とスケール変換すると

$$\dot{w} = \frac{d}{dt} w(t) = \mu_w \frac{d}{d\tilde{t}} w\left(\frac{\tilde{t}}{\mu_w}\right)$$

となり結局 (2.1) はつぎのように無次元化できる。

$$\Sigma_s : \begin{cases} \dot{w} = (2a_w - 1) \frac{r_w}{1 + kv} w - w, \\ \dot{v} = 2(1 - a_w) \frac{r_w}{1 + kv} w - m_v v \end{cases} \quad (2.3)$$

ただし、本来 $w\left(\frac{\tilde{t}}{\mu_w}\right)$ を $\tilde{w}(\tilde{t})$ と書くべきところを記号の煩雑さを解消するため $\tilde{}$ を省略し改めて $w(t)$ と書いている。その他

$$r_w = \frac{p_w}{\mu_w}, \quad m_v = \frac{\mu_v}{\mu_w} \quad (2.4)$$

である。(2.3) の初期値としては

$$w(0) = w_0 > 0, \quad v(0) = 0 \quad (2.5)$$

が妥当であろう。すなわち、初期時刻には成熟細胞はなく幹細胞のみが存在しているということである。

2.2 平衡点の解析

まず、(2.3) の平衡点を求めよう。そのために幹細胞の再生産数 R_w をつぎのように定義すると後の議論に便利である。

$$R_w = (2a_w - 1)r_w \quad (2.6)$$

すなわち、再生産数 R_w は自己複製される数から成熟細胞へ分化する数を差し引いたものである。平衡点は (2.3) の左辺を 0 とした代数方程式

$$\begin{cases} (2a_w - 1) \frac{r_w}{1 + kv} w - w = 0, \\ 2(1 - a_w) \frac{r_w}{1 + kv} w - m_v v = 0 \end{cases} \quad (2.7)$$

の解として求めることができる。容易な計算により (w, v) 平面上の平衡点は二つ求まる。それらを E_0 と E_1 としよう。

1. $E_0 = (0, 0)$, すなわち原点は平衡点となりいつでも存在する。

2. $R_w > 1$ ならば平衡点 $E_1 = \left(\frac{m_v R_w (R_w - 1)}{2(1 - a_w) k r_w}, \frac{R_w - 1}{k} \right)$ が存在する。

数学的には E_1 は $R_w < 1$ の場合でも第 3 象限にあることになるが、生物学的には第 1 象限以外は意味をなさなくなる。平衡点の安定性について定理としてまとめておこう。

定理 2.1 原点である平衡点 E_0 は $R_w < 1$ のとき局所漸近安定であり、 $R_w > 1$ のとき不安定である。

[証明] 平衡点 E_0 に対するヤコビ行列の固有値を求め、その値より平衡点の性質が分かる。因みに (2.3) のヤコビ行列 $Df(w, v)$ は

$$Df(w, v) = \begin{pmatrix} \frac{(2a_w - 1)r_w}{1 + kv} - 1 & -\frac{(2a_w - 1)kr_w}{(1 + kv)^2}w \\ \frac{2(1 - a_w)r_w}{1 + kv} & -\frac{2(1 - a_w)kr_w}{(1 + kv)^2}w - m \end{pmatrix} \quad (2.8)$$

となり、これより平衡点 E_0 に対するヤコビ行列は

$$Df(E_0) = \begin{pmatrix} R_w - 1 & 0 \\ 2(1 - a_w)r_w & -m \end{pmatrix} \quad (2.9)$$

となりこの固有値は $R_w - 1$ と $-m$ になる。これより $R_w < 1$ ならば E_0 は沈点となり、また、 $R_w > 1$ ならば鞍点となることが分かる。これらの結果より定理が従う。■

定理 2.2 $R_w > 1$ を仮定する。平衡点 E_1 は局所漸近安定である。

[証明] 定理 2.1 の証明と同様に行えばよいので結果のみ示す。平衡点 E_1 に対するヤコビ行列は

$$Df(E_1) = \begin{pmatrix} 0 & \frac{m_v(R_w - 1)}{2(1 - a_w)r_w} \\ \frac{2(1 - a_w)r_w}{R_w} & \frac{m_v(2R_w - 1)}{R_w} \end{pmatrix} \quad (2.10)$$

となり、この固有値 $\lambda_{1,2}$ は

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2} \left(-\frac{m_v(2R_w - 1)}{R_w} \pm \sqrt{\frac{m_v^2(2R_w - 1)^2}{R_w^2} - \frac{4m_v(R_w - 1)}{R_w}} \right) \quad (2.11)$$

となる。 $\text{Re}(\lambda_{1,2}) < 0$ であるので定理が従う。■

系 2.1 $R_w > 1$ を仮定する。平衡点 E_1 は $m_v > \frac{4R_w(R_w - 1)}{(2R_w - 1)^2}$ のとき沈点であり、 $m_v < \frac{4R_w(R_w - 1)}{(2R_w - 1)^2}$ のとき渦状沈点となる。

[証明] (2.11) の根号の中を計算すればよい。■

3 再生医療の数理解析 [3][4]

何らかの原因で成熟細胞の数が適正量に達しない症状を回復させるために iPS 細胞などの幹細胞を外部より投与することが再生医療である。ここでは、幹細胞の外部投与による再生医療の数理解析を試みよう。2分画モデルの再生医療モデルとしては (2.3) の2分画モデル Σ_s に対して幹細胞 w を外部投与するので

$$\Sigma_s^\varepsilon : \begin{cases} \dot{w} = (2a_w - 1)\frac{r_w}{1 + kv}w - w + \varepsilon_w w, \\ \dot{v} = 2(1 - a_w)\frac{r_w}{1 + kv}w - m_v v \end{cases} \quad (3.1)$$

と書くことができる。ただし、 $\varepsilon (> 0)$ を幹細胞の外部投与量を決める定数のパラメータとし、 $\varepsilon_w (> 0)$ は ε を幹細胞の死滅率 μ_w で規格化したもの、すなわち、 $\varepsilon_w = \frac{\varepsilon}{\mu_w}$ である。

表 1: 再生医療モデル Σ_s^ε (3.1) の平衡点の特性の違い.

	$0 < \varepsilon_w < 1$	$\varepsilon_w > 1$
$R_w^\varepsilon < 1$	(i) E_0 : 沈点, E_1^ε : 存在せず	(iii) E_0 : 沈点, E_1^ε : 鞍点
$R_w^\varepsilon > 1$	(ii) E_0 : 鞍点, E_1^ε : 沈点または渦状沈点	(iv) E_0 : 鞍点, E_1^ε : 存在せず

3.1 平衡点の解析

前節と同様にして (3.1) の平衡点を求めよう. まず, 幹細胞の再生産数 R_w^ε をつぎのように定義する.

$$R_w^\varepsilon = (2a_w - 1)r_w + \varepsilon_w \quad (3.2)$$

これは 2 分画モデルにおける再生産数 R_w に外部投与量を加えたものである. 平衡点は 2 分画モデルと同様に二つ求まる. 一つは 2 分画モデルと同じ原点 E_0 であり, 他を E_1^ε としよう.

1. $E_0 = (0, 0)$, すなわち原点は平衡点となりいつでも存在する.
2. ($0 < \varepsilon < 1$ かつ $R_w > 1$) または ($\varepsilon > 1$ かつ $R_w < 1$) ならば有意な ((w, v) 平面の第一象限内) 平衡点

$$E_1^\varepsilon = \left(\frac{m_v(R_w^\varepsilon - 1)(R_w^\varepsilon - \varepsilon_w)}{2kr_w(1 - a_w)(1 - \varepsilon_w)^2}, \frac{R_w^\varepsilon - 1}{k(1 - \varepsilon_w)} \right) \quad (3.3)$$

が存在する.

平衡点の安定性について定理としてまとめておこう. 証明は前節と同様にできるので省略する.

定理 3.1 原点である平衡点 E_0 は $R_w^\varepsilon < 1$ のとき局所漸近安定であり, $R_w^\varepsilon > 1$ のとき不安定である.

定理 3.2 平衡点 E_1^ε は $0 < \varepsilon_w < 1$ かつ $R_w^\varepsilon > 1$ のとき局所漸近安定であり, また, $\varepsilon_w > 1$ かつ $R_w^\varepsilon < 1$ のとき不安定である.

系 3.1 $0 < \varepsilon_w < 1, R_w^\varepsilon > 1$ を仮定する. 平衡点 E_1^ε は $m_v > \frac{4(1 - \varepsilon_w)(R_w^\varepsilon - 1)(R_w^\varepsilon - \varepsilon_w)}{(2R_w^\varepsilon - 1 - \varepsilon_w)^2}$ のとき沈点であり, $m_v < \frac{4(1 - \varepsilon_w)(R_w^\varepsilon - 1)(R_w^\varepsilon - \varepsilon_w)}{(2R_w^\varepsilon - 1 - \varepsilon_w)^2}$ のとき渦状沈点となる.

再生医療モデル Σ_s^ε (3.1) の平衡点の特性の違いを ε_w と R_w^ε をパラメータとして場合分けをすると表 1 となる.

3.2 シミュレーション

シミュレーションは幹細胞, 成熟細胞ともに細胞死に至る症状を幹細胞の外部投与により両細胞とも増殖させ恒常的にある一定量に維持するというシナリオに基づいて行おう. 図 3.2 にこのシナリオのフローを示す. まず, 両細胞とも細胞死に至る症状は 2 分画モデル Σ_s で平衡点 E_0 が漸近安定な場合であるパラメータ $a_w = 0.8, r_w = 1.5, k = 1.0, m_w = 1.0$ を使う (STAGE I). この状態で幹細胞外部投与量 $\varepsilon_w = 0.09$ とする (STAGE I' でモデルは Σ_s^ε). このときには

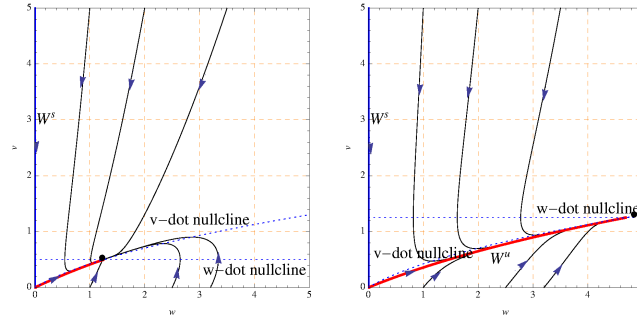


図 3.1: Σ_ε^c にて $a_w = 0.8$, $r_w = 1.5$, $k = 1.0$, $m_w = 1.0$ とし, $\varepsilon_w = 0.4$ (左図) と $\varepsilon_w = 0.6$ (右図) としたときの相図 (STAGE II', STAGE II'') : 有意な平衡点 E_1^ε が ε_w の増加とともに右上に移動する. この場合, 幹細胞外部投与量の効果が十分表れ, 幹細胞, 成熟細胞ともに適当な細胞数が恒常的に維持されることになる. 外部投与の効果は ε_w に比例している.

ε_w が十分でないので表中の (i) $0 < \varepsilon_w < 1$ かつ $R_w^c < 1$ の状態となる. 原点 E_0 が沈点であるので, 解軌跡は原点に収束する. すなわち, STAGE I' ではまだ両細胞とも死滅し, 幹細胞の外部投与による効果は表れていない.

つぎに外部投与量を $\varepsilon_w = 0.2$ と増加させたのが, STAGE II である. このとき表中の (ii) $0 < \varepsilon_w < 1$ かつ $R_w^c > 1$ の状態となる. 原点 E_0 は鞍点となり, 第一象限に沈点または渦状沈点となる有意な平衡点が出現し初期値が安定多様体 W^s (v 軸) 上にある特別な場合を除き, それ以外の初期値に対して解軌跡はこの有意な平衡点に収束する. すなわち, STAGE II では幹細胞の外部投与の効果が表れ両細胞とも死滅を免れる. しかし, 外部投与量がわずかであるため, 両細胞数の収束値はごくわずかである. そのため, 外部投与量を $\varepsilon_w = 0.4, 0.6$ と増加させたのが STAGE II' と STAGE II'' であり, 両細胞の増殖は外部投与量に比例し増加しこの段階で幹細胞による十分な再生医療効果が表れて両細胞共適当な細胞数が恒常的に維持されることになる (図 3.1).

さらに外部投与量を増やし $\varepsilon_w = 1.3$ とすると, STAGE III となり表中の (iv) $\varepsilon_w > 1$ かつ $R_w^c > 1$ の状態である. 初期値が安定多様体 W^s 上以外では両細胞共発散してしまう. 細胞の癌化などが起こっていると考えられる. 外部投与の効果が ε_w に比例するのは $0 < \varepsilon_w < 1$ の範囲においてである.

また, パラメータを変更し $a_w = 0.1$, $r_w = 5.0$, $k = 1.0$, $m_w = 1.0$ とし, $\varepsilon_w = 2.0$ とすると STAGE IV となり表中の (iii) $\varepsilon_w > 1$ かつ $R_w^c < 1$ の状態である. 相図を図 3.3 に示す. この場合の有意な平衡点は鞍点であるので, ここに収束するような初期値に設定するのは極めて困難であり危険な状態と言える. すなわち, 特殊な場合の初期値を除いて両細胞共発散して細胞の癌化などが起こるか, あるいは, 両細胞共原点に収束し細胞死に至るかのどちらかである.

このシミュレーションは幹細胞の外部投与量 $\varepsilon_w = \frac{\varepsilon}{\mu_w}$ は 1 を超えてはならない, すなわち, $0 < \varepsilon < \mu_w$ とすべきであると示している. この意味するところは, 細胞の死滅率を上回る幹細胞の外部投与をすると, 細胞増殖が暴走し, 癌化などが起き得るということである.

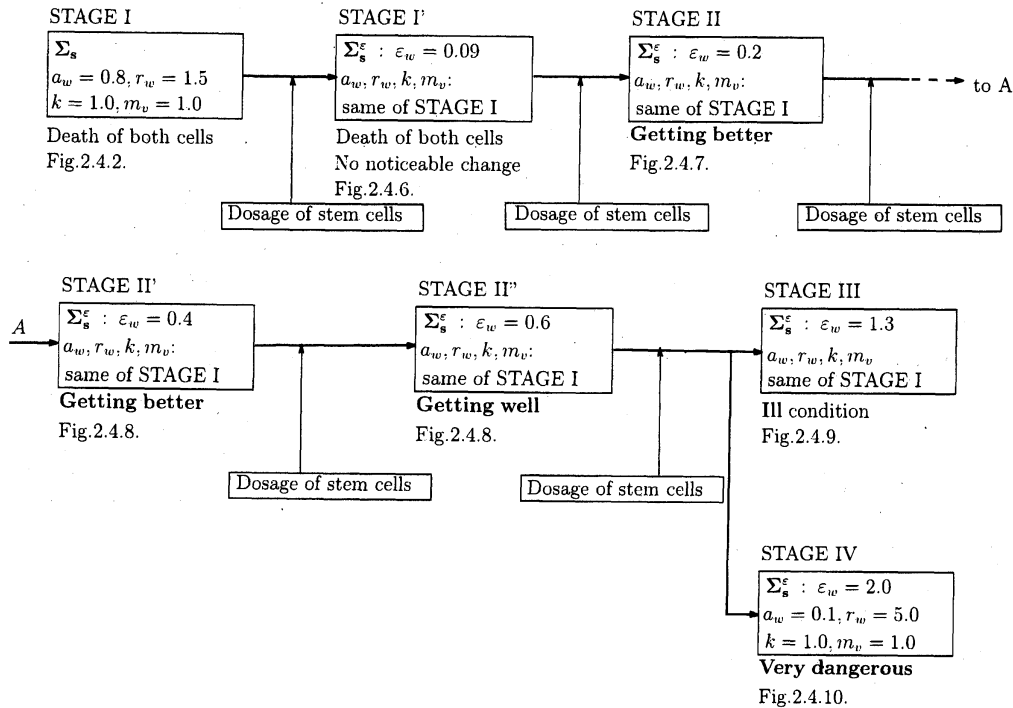


図 3.2: シミュレーションのシナリオとその結果: 幹細胞の外部投与により幹細胞と成熟細胞がどのように増殖していくかをシミュレーションするためのシナリオ: STAGE I ではモデルを Σ_s^ϵ とし幹細胞, 成熟細胞共死滅するパラメータと設定する. この STAGE I に対して幹細胞の外部投与を行なう. したがって, STAGE I' 以降ではモデルは Σ_s^ϵ となる. まず, 外部投与量 $\epsilon_w = 0.09$ としたのが, STAGE I' であるが, 外部投与量が少ないため改善は見られず両細胞とも死滅に至る. 外部投与量 $\epsilon_w = 0.2$ と増加させたのが, STAGE II である. この段階では両細胞とも死滅には至らないが, 細胞数の収束値は両者ともごくわずかである. 引き続き $\epsilon_w = 0.4, 0.6$ と増加させるにしたがって両細胞の収束値は増えていくのが分かる (STAGE II', STAGE II''). さらに $\epsilon_w = 1.3$ と増加させると STAGE III の領域になり, 細胞の癌化などのように無限に増殖し, 両細胞共その数は発散してしまう. あるいは, モデルのパラメータを変えると STAGE IV のようになる場合がある. この場合の有意な平衡点は鞍点であるので, ここに収束するような初期値に設定するのは極めて困難であり危険な状態である.

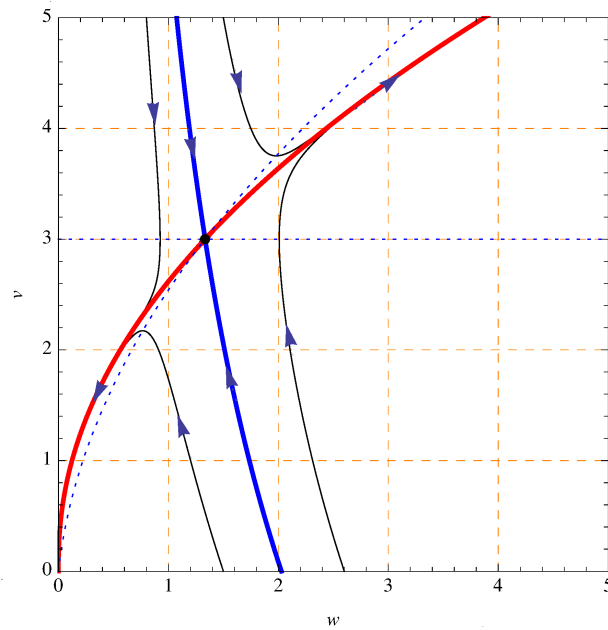


図 3.3: Σ_s^ϵ にて $a_w = 0.1$, $r_w = 5.0$, $k = 1.0$, $m_w = 1.0$ とし, $\epsilon_w = 2.0$ としたときの相図 (STAGE IV): 外部投与量が $\epsilon_w = 2.0 > 1$ となり, $R_w^\epsilon < 1$ となったため, 原点が沈点となり, 平衡点 E_1^ϵ が鞍点となった. その結果, 平衡点 E_1^ϵ に収束するような初期値に設定するのは極めて困難であり危険な状態と言える. すなわち, 特殊な場合の初期値を除いては両細胞共発散して細胞の癌化などが起こるか, あるいは, 両細胞共原点に収束し細胞死に至るかのどちらかである.

参考文献

- [1] 阿形清和ら, 「再生医療生物学」, 岩波書店, 2009.
- [2] 中辻憲夫編, 「再生医学の基礎」, 名古屋大学出版会, 2003.
- [3] 野原勉, 応用微分方程式講義—振り子から生態系モデルまで, 東京大学出版会, 2013.
- [4] 野原勉, *Mathematica と微分方程式*, 日新出版, 2014.
- [5] Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, New York, USA, 2002.
- [6] Al-Hajj, M. and Clarke M.F., 'Self-renewal and solid tumor stem cells', *Oncogene* **23**, 7274/7278, 2004.
- [7] Beachy, P.A., Karhadkar, S.S. and Berman, D.M., 'Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis', *Nature* **432**, 324/331. 2004.
- [8] Marciniak-Czochra, A., Stiehl, T., Ho, A.D., Jaeger, W. and Wagner W., 'Modeling of Asymmetric Cell Division in Hematopoietic Stem Cells - Regulation of Self-Renewal Is Essential for Efficient Repopulation', *Stem Cells and Development*, **18**(3), 377/386, 2009.
- [9] Nakata, Y., Getto, P., Marciniak-Czochra, A. and Alarcón, T., 'Stability analysis of multi-compartment models for cell production systems', *Journal of Biological Dynamics*, **6**, suppl.1, 2/18, 2012.
- [10] Takahashi, K. and Yamanaka, S., 'Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors', *Cell*, **126**, 663/676(2006).
- [11] Takahashi, K. Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K. and Yamanaka, S., 'Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors', *Cell*, **131**, 861/872, 2007.