

細胞間接着の数理モデルとその応用

九州大学大学院数理学研究院 村川 秀樹

Hideki Murakawa

Faculty of Mathematics,

Kyushu University

1 概要

多細胞生物のからだを構成する細胞は独立に存在するのではなく、組織の中で統制のとれた集団として周囲と協調しながら活動している。例えば、動物の組織を単細胞に解離し、その細胞を浮遊培養すると再び集まって塊ができる。2種類の細胞をばらばらに混ぜ合わせて培養した場合、それぞれ同種の細胞同士が集まって多細胞塊を形成するが、一方の種は丸い塊を形成し、もう一方の種はその周りを囲むように組織を再構築する。このような組織の再構築や、個体発生時の臓器形成、成体の組織細胞における機能協調には、2つの必須過程が含まれている。1つは細胞接着であり、もう1つは細胞選別である。細胞の接着なしに多細胞体が形成されることはなく、細胞が選別され、同種の細胞同士が集合し、それらが適切に配置されることにより、組織としてそれぞれの細胞の特有の機能を発揮することができる。1970年代に最初の細胞接着分子が発見されて以降、細胞接着に関する研究は急速に進み、現在では数百種類に及ぶ細胞接着分子が発見されている。更に、細胞接着分子の研究を通じて、細胞接着と細胞選別が密接に関係していることが指摘されており、その関係性についての研究が進んでいる。細胞接着・細胞選別は非常に重要なテーマとして細胞生物学、発生生物学などの生命科学分野において活発に研究が行われている。

その重要性にも関わらず、細胞接着・細胞選別現象に関する数理的研究は近年までほとんどなかった。細胞に関連する現象の理解のために、細胞単位のモデルがいくつか考案されており、それらを用いた数値計算が行われている。生命科学の現場において多く用いられているものに、cellular Potts model, lattice-free model, vertex dynamics model等が挙げられる。これらの方法を用いた数値実験では、もっともらしい数値結果が得られる。また、ルールを自由に決めることができるため、目的とする現象の要因抽出に役立つこともあるであろう。しかし欠点もある。例えば、計算のために多くのルールやパラメーターを設定する必要があり、その設定が煩雑である；因果関係にある複数の要因を個別に設定する必要がある；細胞のサイズや形状に制限があり、神経細胞の様な複雑な形状、複雑な振る舞いをする細胞の集団を考えることが困難である；論理的な解析によって現象の本質に迫ることが困難である；などの問題がある。そこで、細胞密度に関する連続モデルの構築が要望される。Armstrong等 [1] は細胞接着に対する連続モデルを提案した。彼らのモデルは、細胞接着を非局所移流項で表現するものであり、多くの研究者の興味を引き付けている。しかし、残念ながら、彼らのモデルを用いた数値解は現象に照らし合わせて不自然な挙動をし、現象を再現できるとは言い難かった。その主たる原因は、そのモデルが個々の細胞のランダムウォークを基礎としていることにあった。村川と富樫 [4] はこのことを指摘し、実験の観察から、ベースとなる細胞の挙動を「ランダムウォーク」から「圧力に従って移動する」と考え直し、修正モデルを提案した。そ

のモデルは細胞接着に起因する細胞選別現象を再現できるものであるが、細胞塊の密度が波打つという、不自然な振る舞いをみせるものであった。Carrillo等 [2] は連続モデルを更に見直し、接着力に関する飽和を考慮することによって、細胞接着に対する新たな数理モデルを提案した。数値実験により、これまでの不自然な挙動が解消され、定性的、定量的に細胞選別現象を再現できることが確認された。本稿では、そのモデル、数値結果、応用について紹介する。

2 数理モデル

まずは1種類の細胞集団のモデルを紹介し、後に2種細胞集団のモデルへと拡張する。 $\Omega \subset \mathbb{R}^d (d \in \mathbb{N})$ を領域、 T を正定数とし、位置 $x \in \Omega$ 、時刻 $t \in [0, T]$ における細胞密度を $u = u(x, t)$ とする。次の保存則から始める。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = -\nabla \cdot (u\mathbf{V}).$$

ここで、速度ベクトル \mathbf{V} は圧力に起因するもの \mathbf{V}_p と接着に起因するもの \mathbf{V}_a の2つから成るとする。圧力 p は細胞密度に比例していると仮定し、その比例定数を c_p とすると、次の関係を得る。

$$\mathbf{V}_p = -\nabla p = -c_p \nabla u.$$

接着に起因する速度ベクトルは次のように与えられる。

$$\mathbf{V}_a(\mathbf{x}) = \frac{\phi}{R}(1 - u/m)\mathbf{K}(u)(\mathbf{x}) = \frac{\phi}{R}(1 - u/m) \int_0^R \int_{S^{d-1}} a u(\mathbf{x} + r\boldsymbol{\eta}) \omega(r) r^{d-1} \boldsymbol{\eta} d\boldsymbol{\eta} dr.$$

ここで、 ϕ は粘性に関する比例定数、 R は知覚範囲、 m は接着力の飽和度、 S^{d-1} は d 次元単位球面 ($d=1$ の場合は積分の代わりに2点における和となる)、 a は細胞接着強度、 ω は接着力が \mathbf{x} からの距離にどのように依存しているかを表す関数である。この接着項は、各細胞が自分の周囲の状況を把握し、知覚範囲内に他の細胞がいればそこに向かって動くことを表している。ただし、自身がすでに多くの細胞に囲まれている場合には、接着による動きは制限される。これは、 $1 - u/m$ によって表現されている。各細胞は周囲の状況を線形にカウントし、局所的な密度に依存して動くように規定されている。こうして、次の方程式を得る。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = c_p \nabla \cdot (u \nabla u) - \frac{\phi}{R} \nabla \cdot (u(1 - u/m)\mathbf{K}(u)).$$

次のスケール変換により無次元化を行う。

$$x^* = \frac{x}{R}, \quad t^* = \frac{c_p m}{R^2} t, \quad u^* = \frac{u}{m}, \quad a^* = \frac{R^d \phi}{c_p} a.$$

右肩の*を落とすと、1種細胞種の細胞接着現象を記述する方程式を得る。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (u \nabla u) - \nabla \cdot (u(1 - u)\mathbf{K}(u)),$$

$$\mathbf{K}(u)(\mathbf{x}) = \int_0^1 \int_{S^{d-1}} a u(\mathbf{x} + r\boldsymbol{\eta}) \omega(r) r^{d-1} \boldsymbol{\eta} d\boldsymbol{\eta} dr.$$

無次元化により、重要なパラメーターは接着力 a のみとなった。この様にして、退化型の非線形拡散項と非局所移流項から成る方程式を得る。

このアイデアを、2成分に拡張すれば、2種細胞種に対する次のモデルを得る。

$$\begin{cases} \frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (u \nabla (u+v)) - \nabla \cdot (u(1-u-v) \mathbf{K}_1(u,v)), \\ \frac{\partial v}{\partial t} = \nabla \cdot (v \nabla (u+v)) - \nabla \cdot (v(1-u-v) \mathbf{K}_2(u,v)), \end{cases} \quad (1)$$

$$\mathbf{K}_i(u,v)(\mathbf{x}) = \int_0^1 \int_{S^{d-1}} [a_{i1} u(\mathbf{x} + r\boldsymbol{\eta}) + a_{i2} v(\mathbf{x} + r\boldsymbol{\eta})] \omega(r) r^{d-1} \boldsymbol{\eta} \, d\boldsymbol{\eta} dr.$$

ここで、 a_{ij} ($i, j = 1, 2$) は第 i 種と第 j 種間の (リスケールされた) 接着強度パラメーターである。

3 差次接着仮説と数値計算

形態形成時における細胞の挙動を説明するために Steinberg は差次接着仮説を提案した [5]。これは、水と油のように混ざり合わない液体が分子間力によって結合エネルギーを大きくするように分子の再配置が行われることと同様に、細胞集団においては接着力の相対的な関係によって細胞の再配置、すなわち、細胞選別が行われるという仮説である。このような細胞の振る舞いは、2種細胞を混ぜ合わせて共培養した実験によって確かめられている。図 1 A は、相対的接着力と予想される細胞選別パターン の概念図である。この細胞接着由来の細胞選別現象が (1) によって定性的に再現できるかを確かめるため

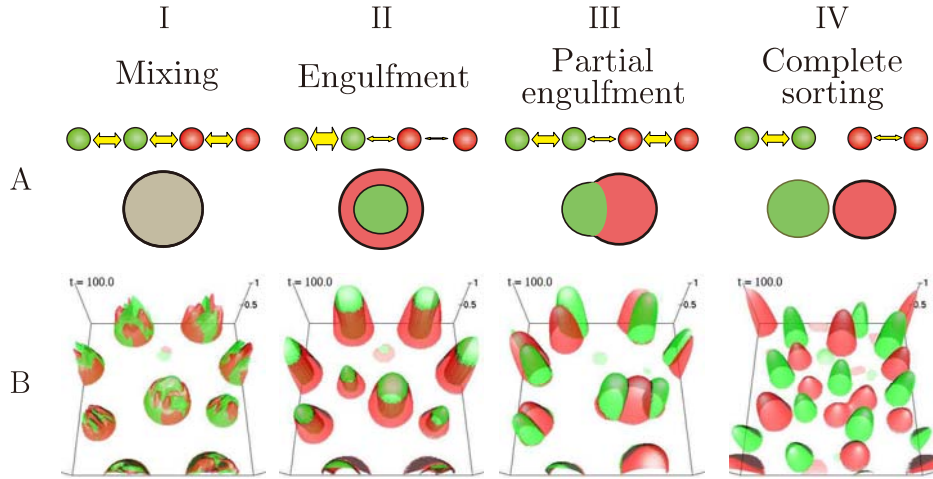


図 1: 差次接着仮説に関する (1) を用いた空間 2 次元数値計算結果。(A) 相対的接着力と実験により予想される細胞選別パターン。(B) 異なる接着力パラメーターを用いた数値解。(B-I) $a_{11} = 4, a_{12} = a_{21} = 4, a_{22} = 4$, (B-II) $a_{11} = 6, a_{12} = a_{21} = 4, a_{22} = 2$, (B-III) $a_{11} = 6, a_{12} = a_{21} = 2, a_{22} = 4$, (B-IV) $a_{11} = 6, a_{12} = a_{21} = 0, a_{22} = 4$ 。

に、空間 2 次元の数値実験を行った。図 1 B は、 u, v の数値解を半透明の 2 色で描いた鳥瞰図である。 $u, v < 10^{-3}$ となる領域は白で描かれている。計算領域を $\Omega = [-5, 5]^2$ と

し、周期境界条件を課している。初期値 u_0, v_0 は体積比が 1:1 となるようにランダムに混ぜ合わせたものである。 $\omega \equiv 1$ としている。いずれの場合も、実験による観測を再現している。Armstrong 等のモデル [1] や村川-富樫のモデル [4] において見られたような不自然な挙動は観察されない。より詳しくは、[2] を参照。

4 定量的再現性と応用

モデル (1) は定性的にも定量的にも細胞選別現象を再現できるものであることが数値実験により確かめられている。また、密度に関するモデルは、細胞のサイズや形状に制限がなく、神経細胞などの集合体の挙動について研究する際に有用であると思われる。実際に、いくつかの応用が行われている。ここでは、定量的再現性に関する数値実験と 2 つの応用について紹介する。紙面の都合上、簡単な紹介に留めるが、参考文献を参照してほしい。

4.1 ネクチン発現細胞を用いた実験と定量的再現性

細胞接着分子の族に、カドヘリンやネクチンと呼ばれる分子族がある。カドヘリンやネクチンの発現の組み合わせにより細胞間の接着力をコントロールすることができる。2 種類の細胞塊を距離を隔てて左右に置き、培養すると、細胞は増殖し、細胞塊のサイズを大きくしていき、いずれ互いにぶつかり合う。ぶつかり合った後の挙動は、相対的な接着力の違いによって様々である。例えば、増殖や移動が止まり、2 種細胞塊の境界がはっきりとしている場合、2 種がお互いの細胞塊に互いに侵入していく場合、片方の細胞集団が他方の集団を押し退けていく場合、片方の細胞集団のみが他方の細胞塊の中に侵入していく場合などが観察される。知覚範囲、増殖率、環境収容力、接着力など、実験により定量される値を用いて、(1) の数値実験を行った。上記の全てのパターンが侵入速度も込めて再現された。この数値実験は、モデル (1) が定性的な現象の理解に役立つ可能性を示すだけでなく、定量的にも現象を再現できるものであることを示唆するものである。より詳しくは [2] 参照。

4.2 哺乳類の脳新皮質の層構造形成におけるある糖たんぱく質の役割

哺乳類の脳新皮質は、神経細胞が規則正しく整列した 6 層からなる層構造を持っている。脳皮質の層構造形成過程において、リーリンと呼ばれる糖たんぱく質が必須であることが知られていた。しかし、それがどのように神経細胞に作用し、最終的にどのように脳の層構造を形成するかは知られていなかった。松永等 [3] はリーリンが神経細胞間の接着力を高め、神経細胞を凝集させる機能を持っていることを細胞を用いた実験により示した。しかし、リーリンによる直接的な接着力の増強を確認するために行った実験では、上記機能では説明がつかない結果が得られた。そこで、村川-富樫 [4] のモデルを基に数理モデルを構成し、数値実験によりその原因を探った。数値実験の結果、神経細胞間の接着力増強は永続的なものではなく一時的なものであるということが推測された。多くの追加実験により、この数理的推測が正しいことが支持され、最終的に、永続的でなく、一時的な接着力の増強が脳皮質の層構造形成に必要であると結論付けられた。より詳しくは [3] 参照。

4.3 ショウジョウバエの脳のカラム構造形成における差次接着の役割

ショウジョウバエの脳における視覚中枢の形成において、複数の神経細胞が集合し、カラム構造と呼ばれる柱状構造を形成する。カラム構造形成の初期段階においては、3種類の神経細胞が重要な役割を果たしていると思われ、特に、それらの神経細胞間の接着力の大小関係がカラム構造形成の主要な部分を担っていると考えられる。実際に、接着分子の発現を変えた変異体を用いた生物実験では、不揃いな形の形成や標準と異なる構造の形成が見られた。生物実験によって、カラム構造形成と差次接着との関係に関する証拠は得られる。しかし、生物実験では接着力の定量が難しいこともあり、差次接着以外の要因がある可能性は排除できない。そこで、(1)を基にした3成分のモデルを構成し、数値実験を行った。数値実験の結果、3種の神経細胞の接着力の大小関係の違いにより野生型や変異体におけるパターンが再現され、確かに、差次接着がカラム構造形成を説明するのに十分なものであることが示唆された。より詳しくは [6] 参照。

Acknowledgment This work was supported by JSPS KAKENHI Grant nos. 26287025, 15H03635 and 17K05368. The editing work was performed during a visit of the author to Imperial College London thanks to JST CREST Grant No. JPMJCR14D3. The support of JST and the hospitality of Imperial College London are warmly acknowledged.

参考文献

- [1] N. J. Armstrong, K. J. Painter and J. A. Sherratt, A continuum approach to modelling cell-cell adhesion, *J. Theor. Biol.*, **243** (2006), 98–113.
- [2] J. A. Carrillo, H. Murakawa, M. Sato, H. Togashi and O. Trush, A population dynamics model of cell-cell adhesion incorporating population pressure and density saturation, preprint.
- [3] Y. Matsunaga, M. Noda, H. Murakawa, K. Hayashi, A. Nagasaka, S. Inoue, T. Miyata, T. Miura, K. I. Kubo and K. Nakajima, Reelin transiently promotes N-cadherin-dependent neuronal adhesion during mouse cortical development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114** (2017), 2048–2053.
- [4] H. Murakawa and H. Togashi, Continuous models for cell-cell adhesion, *J. Theor. Biol.*, **372** (2015), 1–12.
- [5] M. S. Steinberg, On the mechanism of tissue reconstruction by dissociated cells, I. Population kinetics, differential adhesiveness, and the absence of directed migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **48** (1962), 1577–1582.
- [6] O. Trush, C. Liu, X. Han, Y. Nakai, R. Takayama, H. Murakawa, J. A. Carrillo, H. Takechi, S. Hakeda-Suzuki, T. Suzuki and M. Sato, 3D organization of columnar units by N-cadherin-dependent differential adhesion and inter-layer interactions in the fly visual center, preprint.