

細胞分化モデルの探索

九州大学理学研究院 波江野 洋 (Hiroshi Haeno)
立命館大学大学院理工学研究科 川口 喬 (Takashi Kawaguchi)
岡山大学環境学研究科 李 聖林 (Sungrim Seirin Lee)
静岡大学工学研究科 清水 貴彦 (Takahiko Shimizu)

1 はじめに

成人の身体は兆単位の膨大な細胞で構成されている。それらの細胞は一樣ではなく、神経系、造血系、消化器系など様々な機能や形態を持った細胞に特化している。その神経系などのシステムの内部を見ると、構成要素である細胞はここでも一樣ではなく、幹細胞、幹細胞より分化した細胞、機能を果たす最終分化細胞に分かれている。例えば、神経系には、神経幹細胞、神経前駆細胞、神経細胞、グリア細胞が存在する [1]。また、造血系には、造血幹細胞、造血前駆細胞、赤血球、白血球、リンパ球、血小板、単球などが存在する [2]。

多様な系、細胞によって構成されている成人の身体は、細胞の入れ替わり（分裂と細胞死）が頻繁に起こり、動的な平衡状態によって保たれている。例えば、腸の上皮細胞は5日以内に古い細胞から新しい細胞へ置換し [3]、血小板は8-9日で新しい細胞に置き換わる [4]。このような置換に必要な新しい細胞はそれぞれの組織に存在する体性幹細胞から、前駆細胞を経て供給されている。

ヒトが生きていくためには、機能を果たすための細胞（最終分化細胞）が一定量必要である。また、逆に増えすぎることもあってはならない。先に述べたような機構が明らかになることで、ヒトの恒常性が維持される仕組みを理論的に調べるのが比較的容易で現実的になってきている。実際、造血機構のモデル化や、大腸の機構のモデル化が行われている [5] [6] [7]。このような研究はがん発生などの恒常性の異常を理解する上で非常に重要である。

今回我々は、ヒトの細胞密度の安定性についての理解を深めるため、簡単な力学系のモデルを複数構築し、解析を行った。はじめに最終分化細胞が前駆細胞に対して抑制を行うことを考慮に入れたモデルを考える。次に自己増殖率と細胞分化率の変化が最終分化細胞密度に与える影響について考える。最後に細胞の密度効果を含めたモデルを構築して、安定性を調べた。

2 成熟細胞の前駆細胞に対する抑制モデル

この章では最終分化細胞が前駆細胞に与える影響を調べる。初めのモデルでは成熟細胞は一つ前の前駆細胞に抑制効果を与える。2つめのモデルでは最終分化細胞は二つ前の前駆細胞の分化を抑制する。これらのモデルを解析することによって抑制する段階と抑制による影響を調べる。

2.1 一つ前の前駆細胞に抑制効果を与えるモデル

$N_0(t)$ を最終分化細胞の前段階の前駆細胞の密度、 $N_1(t)$ を最終分化細胞の密度とする。前駆細胞はその前の段階の前駆細胞 (幹細胞) から常に一定の供給があるものとする。また、前駆細胞の分裂による増殖や前駆細胞から最終分化細胞への分化は最終分化細胞によって抑制されるものと仮定する。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + (r_0 - \epsilon_0)\frac{N_0}{N_1} - dN_0, \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \epsilon_0\frac{N_0}{N_1} - dN_1.\end{aligned}\tag{1}$$

ここで、 λ は幹細胞からの供給、 r_0 は自己増殖率、 d は死亡率、 $\epsilon_0 (\leq r_0)$ は前駆細胞の分化率である。このモデルは内部平衡点を常に一つだけもつ。

$$\begin{aligned}N_0^* &= \frac{d}{\epsilon_0}\xi, \\ N_1^* &= \xi.\end{aligned}$$

ここで、

$$\xi = \frac{1}{2d} \left(b_0 + \sqrt{b_0^2 + 4\lambda\epsilon_0} \right), \quad b_0 = r_0 - \epsilon_0.$$

正の内部平衡点は常に一つだけ存在する。また、この平衡点の局所安定性を調べると、平衡点は常に安定であることが分かる。つまり、このモデルでは最終分化細胞の抑制効果によって前駆細胞や最終分化細胞が常に一定量を保とうとする仕組みがある。

2.2 最終分化細胞が二つ前の前駆細胞の分化を抑制しているモデル

次のモデルは成熟細胞が分化抑制の効果を与えるのが二つ前の前駆細胞であると仮定したモデルである。 $N_1(t)$, $N_2(t)$ を各段階の前駆細胞の密度、 $N_2(t)$ を最終分化細胞の密度とする。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + (r_0 - \epsilon_0)\frac{N_0}{N_2} - dN_0, \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \epsilon_0\frac{N_0}{N_2} + (r_1 - \epsilon_1)N_1 - dN_1, \\ \frac{d}{dt}N_2 &= \epsilon_1N_1 - dN_2.\end{aligned}\tag{2}$$

このモデルは平衡点を一つ持つ。

$$\begin{aligned} N_0^* &= \frac{\epsilon_1}{\epsilon_0 d} (d - b_1) \phi, \\ N_1^* &= \phi, \\ N_2^* &= \frac{\epsilon_1}{d} \phi. \end{aligned}$$

ここで、

$$\begin{aligned} \phi &= \frac{1}{2\epsilon_1} \left(b_0 + \sqrt{b_0^2 + 4 \frac{\epsilon_0 \epsilon_1 \lambda}{d - b_1}} \right), \\ b_i &= r_i - \epsilon_i \quad (i = 0, 1). \end{aligned}$$

この平衡点は $b_1 < d$ のときのみ存在する。 $b_1 > d$ のとき、方程式の第二式の右辺は常に正となり $N_1(t), N_2(t)$ は発散する。数値計算の結果、平衡点が存在するとき解は振動しながら平衡点へ向かうことが分かった。このモデルでも最終分化細胞の抑制効果によって前駆細胞や最終分化細胞が常に一定量を保とうとする仕組みがあることがわかる。

2.3 問題点と課題

以上の結果から系に最終分化細胞からの抑制効果を加えるだけで、簡単に細胞密度の安定性を作り出せることがわかった。2つ目のモデルにおいて、第三式に対して準定常状態を仮定すると平衡点が存在する場合では一つ目のモデルと同じになる。また同じように3つ目4つ目のモデルを作ったとしても1つ目のモデルと同じになってしまうためこれ以上の多次元のモデルを作る意味はあまり無い。

細胞分化の抑制する段階と抑制による影響を調べるモデルを作るには2つ目のモデルにおいて分化の項を改良する必要がある。例えば2段階目の細胞分化に関しても最終分化細胞による抑制を考えても良いだろう。

3 細胞分化モデルにおけるスイッチング効果について

最終分化細胞密度を維持するためには、必要以上に前駆細胞を分化させ最終分化細胞へ取り込む必要はない。そこで、効率的に人体を健康な状態に保ち続けるひとつの方法として、最終分化細胞が不足したときにだけ前駆細胞へシグナルを送り、自己複製や分化を活発な状態にスイッチすることが考えられる。ここでは、細胞分化率と自己増殖率に着目し、それぞれが不連続なスイッチング変動を示す場合と、連続的な変動を示す場合の比較を行い、より健康な人体を持続しやすいモデルを検討する。

3.1 細胞分化率と自己増殖率が共に不連続変動するモデル

$N_0(t), N_1(t)$ を前駆細胞の細胞密度、 $N_2(t)$ を最終分化細胞の細胞密度とする。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + (r_0 - \beta_0)N_0 \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \alpha_1\beta_0N_0 + (r_1 - \beta_1)N_1 \\ \frac{d}{dt}N_2 &= \alpha_2\beta_1N_1 - dN_2\end{aligned}\tag{3}$$

幹細胞から流入してくる第1段階の細胞密度 λ は一定とし、最終分化細胞の細胞の死亡率は d とする。前駆細胞の死亡率は β に含めている($\beta_0 = \epsilon_0 + d, \beta_1 = \epsilon_1 + d$)。このモデルでの細胞分化率は α で表される。このときの内部平衡点(N_0^*, N_1^*, N_2^*)は

$$\begin{aligned}N_0^* &= \frac{\lambda}{\beta_0 - r_0} \\ N_1^* &= \frac{\alpha_1\beta_0N_0^*}{\beta_1 - r_1} \\ N_2^* &= \frac{\alpha_2\beta_1N_1^*}{d}\end{aligned}$$

となる。この系では前駆細胞の自己複製率が一定以上大きくないとき($\beta_i > r_i$ のとき)に内部平衡点を持つ。またこの平衡点はRouth-Hurwitzの定理により局所安定である。

ここで最終分化細胞 N_2 が外的要因によって減少した場合を考える。このとき N_2 から N_1 へシグナルが送られ、 N_1 を増加させるために分化率 α_1 を α'_1 に増やし、自己増殖率 r_1 も r'_1 へ増加させるとする。すると単位時間当たりに N_2 へ流入してくる細胞密度は $\alpha'_1(\beta_1 - r_1)/\alpha_1(\beta_1 - r_1)$ 倍に増加する。さらに自己増殖率 r'_1 が β_1 よりも大きくなれば内部平衡点は負の値をとり系が不安定になる。すると N_1 が発散を始め、 N_2 も指数関数的に増加し、平衡点での密度 N_2^* まで急速に回復する事になる。

3.2 自己増殖率が連続変動するモデル

次に分化率のみスイッチングをして、自己増殖率は連続的に変動するモデルを調べる。このとき第 i 段階の自己増殖率は第 $i+1$ 段階の細胞密度に反比例して減少すると仮定する。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + \left(\frac{r_0}{N_1} - \beta_0\right)N_0 \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \alpha_1\beta_0N_0 + \left(\frac{r_1}{N_2} - \beta_1\right)N_1 \\ \frac{d}{dt}N_2 &= \alpha_2\beta_1N_1 - dN_2\end{aligned}\tag{4}$$

はじめに内部平衡点を求めるために式 (4) を無次元化すると

$$\begin{aligned}\frac{d}{d\tau}n_0 &= 1 + \left(\frac{1}{n_1} - 1\right)n_0 \\ \frac{d}{d\tau}n_1 &= A_1n_0 + E_1\left(\frac{1}{n_2} - 1\right)n_1 \\ \frac{d}{d\tau}n_2 &= A_2E_1^2n_1 - Dn_2\end{aligned}\tag{5}$$

となる。ただし、それぞれの変数は

$$\begin{aligned}\tau &= \beta_0 t, \quad n_0 = \frac{\beta_0 N_0}{\lambda}, \quad n_1 = \frac{\beta_0 N_1}{r_0}, \quad n_2 = \frac{\beta_1 N_2}{r_1}, \\ A_1 &= \frac{\alpha_1 \lambda}{r_0}, \quad A_2 = \frac{\alpha_2 r_0}{r_1}, \quad E_1 = \frac{\beta_1}{\beta_0}, \quad D = \frac{d}{\beta_0}\end{aligned}$$

となっている。このとき、内部平衡点 (n_0^*, n_1^*, n_2^*) は

$$\begin{aligned}n_0^* &= \frac{n_1^*}{n_1^* - 1} \\ n_1^* &= \frac{1}{2} \left(b + \sqrt{b^2 - \frac{4D_2}{A_2 E_1^2}} \right) \\ n_2^* &= \frac{A_2 E_1^2 n_1^*}{D_2}\end{aligned}$$

となる。ただし、

$$b = \frac{A_1}{E_1} + \frac{D_2}{A_2 E_1^2} + 1$$

とおいている。

Routh-Hurwitz の定理より、このモデルの平衡点も局所安定である。 N_2 の減少で細胞分化率 α_1 が増加し α_1' になったとする。このとき N_2 への流入細胞密度は n_1^*/n_1' 倍になる。ただし n_1' は n_1^* の細胞分化率が増加したときの値である。このとき N_2 への流入細胞密度をモデル (3) と比較することは難しく、今後の課題である。しかし自己増殖率増加による系の不安定化が生じないのでモデル (3) と比較すると回復力が高くなりにくいと考えられる。

3.3 細胞分化率が連続変動するモデル

モデル (4) とは逆に自己増殖率がスイッチングを行い、細胞分化率は細胞密度に反比例するモデルを考える。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + (r_0 - \beta_0)N_0 \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \frac{\alpha_1 \beta_0 N_0}{N_1} + (r_1 - \beta_1)N_1 \\ \frac{d}{dt}N_2 &= \frac{\alpha_2 \beta_1 N_1}{N_2} - dN_2\end{aligned}\tag{6}$$

はじめに内部平衡点を求めるために式 (6) を無次元化すると

$$\begin{aligned}\frac{d}{d\tau}n_0 &= 1 + (R_0 - E_0)n_0 \\ \frac{d}{d\tau}n_1 &= \frac{E_0 A_1 n_0}{n_1} + (R_1 - E_1)n_1 \\ \frac{d}{d\tau}n_2 &= \frac{A_2 E_1 n_1}{n_2} - d n_2\end{aligned}\tag{7}$$

となる。ただし、それぞれの変数は

$$\begin{aligned}\tau &= d_2 t, \quad n_0 = \frac{d N_0}{\lambda}, \quad n_1 = \frac{N_1}{\alpha_1}, \quad n_2 = \frac{N_2}{\alpha_2}, \quad A_1 = \frac{\lambda}{\alpha_1 d_2}, \\ A_2 &= \frac{\alpha_1}{\alpha_2}, \quad E_0 = \frac{\beta_1}{d}, \quad E_1 = \frac{\beta_1}{d}, \quad R_0 = \frac{r_0}{d}, \quad R_1 = \frac{r_1}{d}\end{aligned}$$

となっている。このときの内部平衡点 (n_0^*, n_1^*, n_2^*) は

$$\begin{aligned}n_0^* &= \frac{1}{E_0 - R_0} \\ n_1^* &= \sqrt{\frac{A_1 E_0 n_0^*}{E_1 - R_1}} \\ n_2^* &= \sqrt{A_2 E_1 n_1^*}\end{aligned}$$

であり、自己増殖率があまり大きくない ($\beta_i > r_i$) ときに存在して局所安定になる。

N_2 の減少で自己増殖率 r_1 がスイッチングして r_1' に増加すれば、元に戻る速度は $n_2^* \sqrt{\beta_1 - r_1} / n_2' \sqrt{\beta_1 - r_1'}$ 倍になる。ただし n_2' は n_2^* が外的要因によって減少したときの密度である。つまり最終分化細胞が大きな損害を受けるほど早く回復する。また自己増殖率 r_1' が β_1 よりも大きくなればモデル (3) と同様に系が不安定化する。そして N_1 が発散し、 N_2 も指数関数的に増加し、最終分化細胞の密度を回復する。つまりこのモデルの回復力は高いといえる。

3.4 スイッチング効果に対する考察

この章で述べた3つのモデルを調べた結果、細胞分化率は連続的に変動するが、自己増殖率は不連続なスイッチングをする場合 (モデル (6)) に回復力が高くなり、細胞分化率が不連続で、自己増殖率が連続な場合 (モデル (4)) には、回復力が高くなりにくいことがわかった。その理由は、自己増殖率の増加が最終分化細胞の密度に依存せず、大きく増えることによって、前者では系の不安定化が起こり、より早く最終分化細胞の密度を回復できるからである。細胞分化率を大きく変化させても、自己増殖率の場合のような系を不安定化させ、最終分化細胞の回復を早める効果はないことがわかった。

今回のモデルにおいては回復力の比較を最終分化細胞へ流入してくる細胞密度の変化から調べた。ところがモデル (2) の結果が他のモデルと比較することが困難であり、今後の課題となっている。そこで、それぞれの段階にある細胞が最終分化細胞に与える影響を調べようと考えている。それぞれのモデルで細胞間の間接効果を解析し [8]、感度行列の成分を比較することで、回復力の比較ができるのではないかと考えている。

4 前駆細胞分化の密度依存モデル

4.1 密度依存モデル

$N_0(t)$, $N_1(t)$ を各段階の前駆細胞の密度、 $N_2(t)$ を最終分化細胞へ分化する1段階前の細胞密度とする。最初の段階の前駆細胞 N_0 は幹細胞から作られているので、一定の割合の流入 λ があるとする。このとき、以下のような細胞分化のモデルを考える。

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}N_0 &= \lambda + r_0N_0 - d_0N_0^2 - \epsilon_0N_0N_1, \\ \frac{d}{dt}N_1 &= \alpha_1N_0N_1 + r_1N_1 - d_1N_1^2 - \epsilon_1N_1N_2, \\ \frac{d}{dt}N_2 &= \alpha_2N_1N_2 - d_2N_2^2 - \epsilon_2N_2.\end{aligned}\tag{8}$$

ここで、 r_i は自己増殖率、 d_i は死亡率、 α_i は $i-1$ 段階細胞の分化によって作られる i 段階細胞の割合、 ϵ_i は i 段階細胞の分化率である。前駆細胞は密度の二乗に比例して死亡すると仮定する。このモデルで i 段階の細胞分化は、 $i+1$ 段階の細胞から一定のシグナルを受けて行われると仮定する。さらに、そのシグナルは $i+1$ 段階の細胞密度に比例すると仮定する。ただし、 N_2 の細胞だけは分化を行わない最終分化細胞の密度に依存せず、一定のシグナルを受けると考える。 i 段階の細胞一個当たりの分化は $i+1$ 段階の細胞密度に比例するとした。

モデル (8) は2つの境界平衡点と最大1つの内部平衡点をもつ。

$$\begin{aligned}E_1 &= \left(\frac{r_0 + \sqrt{r_0^2 + 4\lambda_0}}{2d_0}, 0, 0 \right), \\ E_2 &= \left(\xi, \frac{\alpha_1\epsilon_0}{d_1}\xi + \frac{r_1}{d_1}, 0 \right), \\ E_* &= \left(N_0^*, N_1^*, \frac{1}{d_2}(\alpha_2\epsilon_1N_1^* - \epsilon_2) \right).\end{aligned}$$

ここで、

$$\begin{aligned}\xi &= \frac{r_0 - \frac{\epsilon_0}{d_1}r_1 + \sqrt{(r_0 - \frac{\epsilon_0}{d_1}r_1)^2 + 4\lambda(d_0 + \frac{\epsilon_0^2}{d_1}\alpha_1)}}{2(d_0 + \frac{\epsilon_0^2}{d_1}\alpha_1)} (> 0), \\ N_0^* &= \frac{-\xi^* + \sqrt{\xi^{*2} + 4\lambda\{(d_0(d_1 + \frac{\alpha_2\epsilon_1^2}{d_2}) + \epsilon_0^2\alpha_1)\}(d_1 + \frac{\alpha_2\epsilon_1^2}{d_2})}}{2(d_0(d_1 + \frac{\alpha_2\epsilon_1^2}{d_2}) + \epsilon_0^2\alpha_1)} (> 0), \\ (\xi^* &= \epsilon_0(r_0 + \frac{\epsilon_1\epsilon_2}{d_2}) - r_0(d_1 + \frac{\alpha_2\epsilon_1^2}{d_2})), \\ N_1^* &= \frac{\alpha_1\epsilon_0N_0^* + r_0 + \frac{\epsilon_1\epsilon_2}{d_2}}{(d_1 + \frac{\alpha_2\epsilon_1^2}{d_2})} (> 0).\end{aligned}$$

正の内部平衡点に関しては、 $r_0\alpha_2\epsilon_1 > \epsilon_2d_1$ を満たす範囲であれば常に存在する。

次に、Routh-Hurwitz の定理により、線形安定性を調べたところ、 E_1 は常に不安定であることがわかる。 E_2, E^* に関しては数学的な計算の結果は得られないが、数値計算の結果、安定な内部平衡点が存在して、そこに減衰振動しながら収束する解が確認できる (Figure1)。数値計算によると、モデル (8) では特定のパラメータの値によっては安定な内

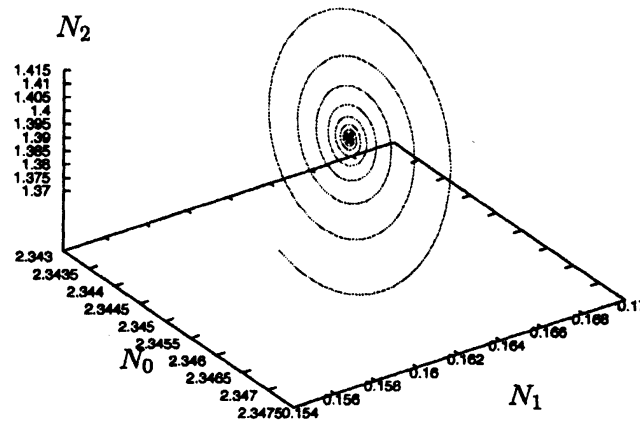


図 1: モデル (8) のダイナミクス

部平衡点に収束する。つまり、このモデルによって、ヒトの細胞が分化過程を経て一定の数を保つことができることを説明できる。

4.2 細胞分化を制限した密度依存モデル

ここでは、 i から $i+1$ 段階への細胞分化が i 段階の細胞によって制限されるモデルを考える。 i 段階の細胞は $i+1$ 段階の細胞に一定以上は分化できないと仮定し、 i 段階の細胞全体の分化は $N_i N_{i+1} / (N_i + 1)$ に比例すると考える。そこで、以下のようなモデルを考える。

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} N_0 &= \lambda + r_0 N_0 - d_0 N_0^2 - \epsilon_0 \frac{N_0 N_1}{N_0 + 1}, \\ \frac{d}{dt} N_1 &= \alpha_1 \frac{N_0 N_1}{N_0 + 1} + r_1 N_1 - d_1 N_1^2 - \epsilon_1 \frac{N_0 N_1}{N_1 + 1}, \\ \frac{d}{dt} N_2 &= \alpha_2 \frac{N_0 N_1}{N_1 + 1} - d_2 N_2^2 - \epsilon_2 N_2. \end{aligned} \quad (9)$$

数値計算で解析を行うと、モデル (9) ではパラメータ d_1 が小さくなると、安定だった内部平衡点が不安定になり、リミットサイクルが現れることがわかった (Figure2)。

細胞 N_1 の死亡率 d_1 が小さくなると、細胞 $N_i (i = 0, 1, 2)$ は一定の密度を保つのではなく、時間とともに常に振動するようになる。死亡率がある値以上になると、モデル (9) の解は安定な内部平衡点に収束する。つまり、体の細胞が常に一定の密度を維持するためには、分化だけではなく死亡による密度減少効果も不可欠であることがわかる。

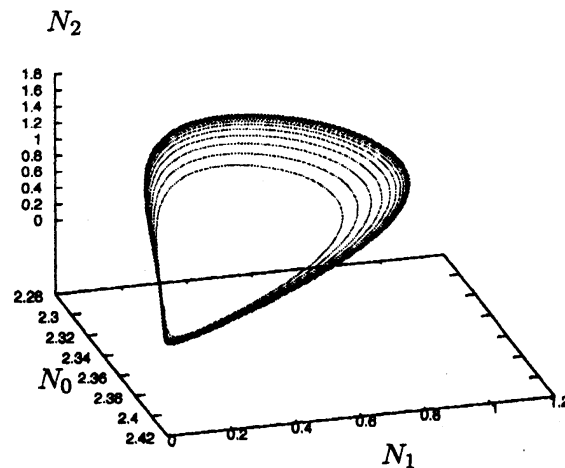


図 2: モデル (9) のダイナミクス

4.3 密度効果モデルのまとめ

モデル (8) とモデル (9) の解析の結果から、安定な動態を示す複数の細胞集団に、細胞分化を制限した密度依存の流出、流入の項を含めると不安定になりリミットサイクルが現れる可能性があることが示された。前駆細胞の死亡率が小さくなるとリミットサイクルが現れることは細胞死が系の安定性に重要であることを示している。

5 おわりに

ここまで、我々は3つの細胞分化のモデルについて考えてきて、いくつかの示唆が得られた。1つは、何らかの理由で最終分化細胞が減少し補充しなければならないとき、自己増殖率を一定以上に上げるような仕組みを持った系ではすぐに細胞密度が回復するが、細胞分化率を一定以上に上げるような仕組みでは、回復する速さが遅くなることがわかった。さらに、3段階の細胞分化モデルにある密度効果を含めた時（モデル (9)）、中間の細胞集団の死亡率が小さいときに系が不安定になることがわかった。このことから、細胞集団が安定で保たれるために、細胞死が関わっている可能性が示唆された。これから、それぞれのモデルのより深い解析が必要になるだろう。

参考文献

- [1] Sally, T., 2001 The development of neural stem cells. Nature 414: 112-117.
- [2] Ogawa, M., 1993 Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. Blood 81: 2844-2853.

- [3] Blanpain, C., V. Horsley, E. Fuchs, 2007 Epithelial Stem cells: Turning over new leaves. *Cell* 128: 445-458.
- [4] Deutsch, V. R., A. Tomer, 2006 Megakaryocyte development and platelet production. *Br. J. Haematol.* 134: 453-466.
- [5] Colijn, C., M. C. Mackey, 2005 A mathematical model of hematopoiesis-I. Periodic chronic myelogenous leukemia. *J. Theor. Biol.* 237: 117-132.
- [6] Colijn, C., M. C. Mackey, 2005 A mathematical model of hematopoiesis: II. Cyclical neutropenia. *J. Theor. Biol.* 237: 133-146.
- [7] d'Onofrio, A., I. P. M. Tomlinson, 2007 A nonlinear mathematical model of cell turnover, differentiation and tumorigenesis in the intestinal crypt. *J. Theor. Biol.* 244: 367-374.
- [8] Higashi, M., H. Nakajima, 1995 Indirect effects in ecological interaction networks. I. The chain rule approach. *Math. Biosci.* 130: 99-128.