

肝小葉内の類洞と毛細胆管の形態形成数理モデル

Mathematical model for the pattern formation of two types of vein in hepatic lobule

昌子浩登^{1*}

¹ 京都府立医大医学部物理学教室

Hiroto Shoji^{1*}

¹ Department of Physics, Graduate School of Medicine,
Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto 606-0823 JAPAN

* shoji@koto.kpu-m.ac.jp

1 はじめに

肝臓はその基本単位である肝小葉が積み重なって形成されている。肝小葉は約 1mm^3 の大きさで、ヒトでは約 100 万個あり、それが集合し、1 つの肝を構築している [1, 2]。肝小葉の構造を図 1(a) に示した。中心静脈とよばれる静脈が中心にあり、辺縁に肝動脈枝や胆管や神経を含んだ門脈域 (Portal Vein: PV) を配置している。この門脈域から中心静脈 (Central vein: CV) に向かって肝細胞が配置し、これに並行するように血管系である類洞、並びに毛細胆管が配置し、各肝細胞に接している。よって、図 1(b) のような 2 次元的なミクロな配置図の理解では不十分で、3 次元空間での理解が必須になる。しかし、このような 3 次元周期ネットワーク構造の理解は、その構造が煩雑であるし、観察も容易でない。そのため、これまで積極的には行われてこなかった。

類洞と毛細胆管の形成過程を見てみると、類洞は PV 付近から形成されはじめ、CV 付近へ徐々に形成され始める [3]。毛細胆管は、肝細胞が形成されると、肝細胞と肝細胞の間に自発的に形成される [3]。そうして、この 2 種の管が 3 次元周期ネットワーク構造が自発的に構成されている。再生工学の観点からも、このような 3 次元ネットワーク構造を自己組織的に形成するメカニズムを数理的に明らかにすることは必須である。本稿では、肝小葉内における 2 種の管の 3 次元ネットワーク構造形成を形態形成の数理モデルを構築し、検証を行っていく。

これまでに、Gamba ら [4, 5] は、培養系における血管形成の数理モデルとその実験検証研究が行ってきた。彼らの数理モデルでは、血管を形作る血管内皮細胞がモルフォゲンの濃度勾配に従って動くナビエ・ストークス方程式によって形態形成を記述している。我々は、このモデルで記述される 2 種の異なる管と肝細胞の動力学モデルに拡張し、肝小葉中での構成要素の固執性や、類洞と胆管をそれぞれ遠ざけようとする力を導入した 4 変数偏微分方程式モデルを作成した。この数理モデルから形成される 3 次元ネットワークパターンと、マウス肝小葉形態形成過程で形作られる様子を自ら撮影した 2 種の管の 3 次元ネットワークパターンとを比較することで、管間の反発の影響などを考察する。

2 類洞と毛細胆管の織りなす 3 次元ネットワーク構造

2.1 観察

まず、肝小葉内の類洞と毛細胆管の観察についてである。7 週齢雄の C57BL6/N マウスから肝臓を摘出し、免疫染色を施した肝臓片を共焦点顕微鏡で観察した。画像解析を行い、図 2(a) のような 3 次元立体再構築像を作製した。図 2(a) で類洞と胆管は、それぞれ赤色と黄緑色で示した管で示す。図を見ると、太さの異なる 3 次元周期ネットワーク構造が互いに交わることなく、2 種の管が 3 次元空間上に張り巡らされていることがわかる。

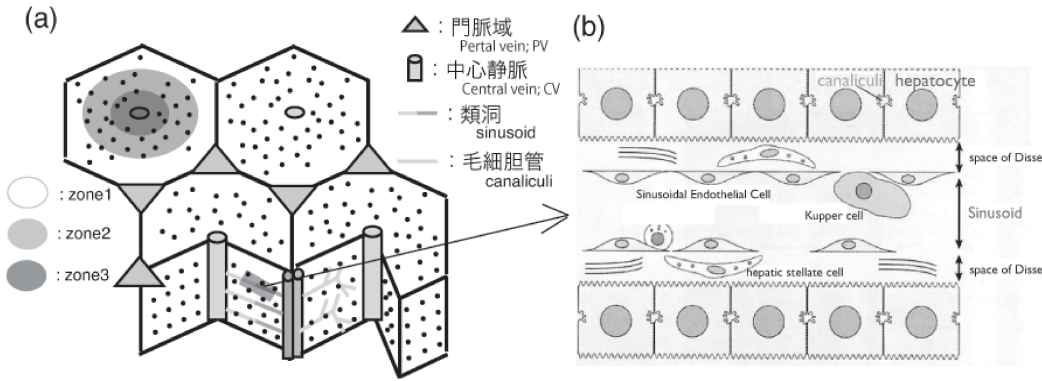


図 1: (a): 肝小葉とその他の構造の配置図. (b): (a) の灰色四角内を拡大した, 2次元マイクロ構造配置図. 異なる 2 種の管 (類洞と毛細胆管) が 3 次元周期ネットワーク構造を作り出し, 配置している.

2.2 パターンの指標

パターンを比較するためには, パターンの特徴を抽出する指標が必要である. ここでは, 類洞と毛細胆管の 2 種の管の太さの違いや, その張巡らされる管には方向性があるのかどうかを検出する指標を作成し, 比較検討に用いる.

文献 [6] で紹介されている手法を一部改変して, 類洞と毛細胆管の周期ネットワーク構造のパターン指標を作成した. 具体的な指標計算手法を述べる. (i) 胆管と類洞それぞれの管内に多数のランダムウォーカーをばらまく. (ii) それぞれのランダムウォーカーは毎ステップ近接 6 格子をランダムに選び, 選ばれた格子が管内であれば移動する. 管外であれば移動しないという単位時間あたりの動きを 200 ステップ行う. そして, (iii) 200 ステップ後のランダムウォーカーの以下の二乗変移を算出する.

$$x_i(\tau)^2 = (x_i(t) - x_i(0))^2, \quad (1)$$

$$y_i(\tau)^2 = (y_i(t) - y_i(0))^2, \quad (2)$$

$$z_i(\tau)^2 = (z_i(t) - z_i(0))^2, \quad (3)$$

$$\langle r(t)^2 \rangle = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [(x_i(t) - x_i(0))^2 + (y_i(t) - y_i(0))^2 + (z_i(t) - z_i(0))^2]. \quad (4)$$

ここで, i はランダムウォーカーの番号, τ はランダムウォーカーの移動時間, そして n はランダムウォーカーの個数をそれぞれ表す. フリースペースでの二乗変位量を $a^2\tau$ として, 値をノーマライズする. (iv) 管内の拡散率: D_n を $D_n = \frac{\langle r(t)^2 \rangle}{a^2\tau}$ を計算する. このように D_n を定義すると, $0 \leq D_n \leq 1$ の範囲に値をとる. つまり, ランダムウォーカーの毎ステップの運動が必ず起こる空間では $D_n = 1$ をとり, 管の太さが細くなればなるほど, 自由に動き回ることができなくなり D_n の値が小さくなることを表す.

また, (v) 40000 個それぞれのランダムウォーカーの 2 乗変移 (x_i^2, y_i^2, z_i^2) を図 2(a) のようにプロットする. (vi) 得られた 2 乗変移のプロットに対して, 文献 [6] で紹介されているアルゴリズムに従って回転させた座標系 (a, b, c) を決め, そして分布を $(a/A)^2 + (b/B)^2 + (c/C)^2 = 1$ の楕円体にフィッティングする. ただし, $A \leq B \leq C$ として, 短軸の長さ C , 中軸の長さ B , そして短軸の長さ C というようにする. (vii) こうして得られたパラメータ D_n, A, B, C を用いて, $(\frac{B}{C} D_n, \frac{A}{C} D_n)$ の値を図 2(d) のようにプロットする. 例えば, 空間中を動き回ることができる場合, この値は $(1, 1)$ の値をとる. そして, 管の伸びている方向性が見られる場合は図 3 の $(0, 0)$ と $(1, 1)$ を結ぶラインから下がってくることを表す. 以上 (i)-(vii) が指標計算の手法である.

では, 具体例として, 図 2(a) のパターンの指標計算プロセスを図 2(b), (c) に示す. 類洞の計測を行ったときのランダムウォーカーの $(\frac{B}{C} D_n, \frac{A}{C} D_n)$ をプロットした図 2(b) で, フィッティングした楕円体が 2(c) である.

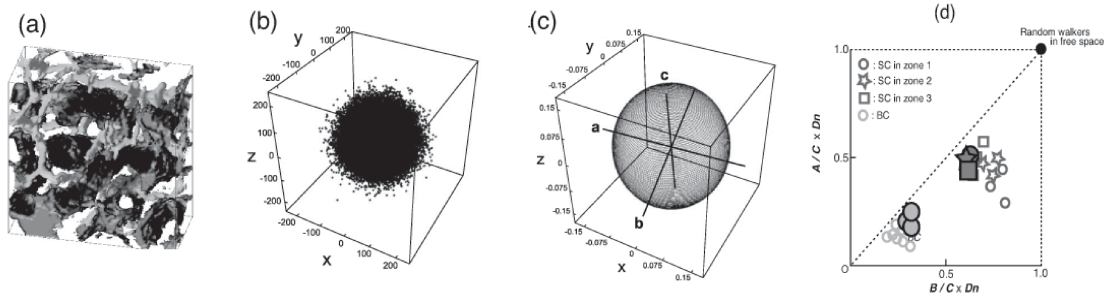


図 2: (a): 類洞と毛細胆管の共焦点観察像から 3 次元再構築した像の例. (b): (a) の類洞をランダムウォーカーの 2 乗変移 (x_i^2, y_i^2, z_i^2) プロット. (c): (b) を $(a/A)^2 + (b/B)^2 + (c/C)^2 = 1$ の楕円体にフィッティングした図. (a) のパターンを解析すると, $D_n = 0.61$, $(\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n) = (0.50, 0.42)$ のようになった. (d): 指標のまとめ. 白抜き印は観察値を示し, 黒抜き印は単純な式 (15)-(18) により得られた数値計算の結果 (図 4 のパターン) の指標を示す.

2.3 zone ごとのパターンの指標の結果

肝小葉内において, 中心静脈付近に存在する細胞と, 門脈付近に存在する細胞は, その機能が異なっていることが知られている [1]. そこで, 肝小葉内の領域を, 図 1(a) に示したように門脈付近から中心静脈付近へと 3 つの領域に分け, それぞれ門脈付近を zone1, 中心静脈付近を zone3, そしてこれらの中間を zone2 とよび, それぞれの領域 zone1~3 において類洞と毛細胆管のそれぞれの $(\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n)$ の値を計測し, 領域ごとに丸ぬき (zone1), 星 (zone2), 四角 (zone3) で図 2(d), 図 5(e) にそれぞれプロットした. すると, 毛細胆管の太さには領域性は影響していないようである. が, 類洞の太さは zone によって若干異なっていて, zone1~3 にいくに従って細くなっていた. また, 方向性についても類洞ネットワークは zone ごとに異なっているという結果を得た.

次の章では, このパターンを数理モデルを作成し, この指標を通してパターンの性質を比較, 検討する.

3 数理モデルの作成

3.1 *in vitro* 血管形成を説明するメカノケミカルモデル

Gamba ら [4, 5] は, ヒト臍帯静脈内皮細胞をシャーレ内のゲル上にランダムにばらまいた後の, 内皮細胞の振る舞いを観察した. そして, この細胞の振る舞いを説明する下のようなメカノケミカルモデルを提案した.

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (n\vec{v}) = 0, \quad (5)$$

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} = \mu \nabla c - \beta \vec{v} - \nabla g(n), \quad (6)$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c + \alpha n - \frac{1}{\tau} c. \quad (7)$$

ここで, n は内皮細胞の細胞密度, $\vec{v}$ は内皮細胞の速度ベクトル, c はモルフォゲンの濃度を表し, $\mu, \beta, g(n)$ は細胞の圧力を表す. それぞれの式は, 内皮細胞の保存式, 内皮細胞の動きを表すナビエ・ストークス方程式, そして, モルフォゲンの反応拡散方程式である.

このモデルを類洞と毛細胆管を作成するためにそれぞれ用いる. それぞれの管が, このモデルで記述される血管のように捉え, それぞれの 2 種の管が, 肝小葉内での振る舞いに照らし合わせて, 要素の力学的, 生物学的条件を加えて, 肝小葉内での振る舞いに沿うべく, 次の章のようにモデルを改変して作り上げる.

3.2 モデルの改変

3.2.1 細胞の固執性

Gamba モデル [4, 5] では、ゲル上の細胞の密度が低いいため内皮細胞は自由に動き回ることができる。が、肝小葉内では未分化な細胞が詰まっていて、細胞がそんなに自由に動き回れるわけではない。なので、式 (6) の左辺が 0 と考え、 $\vec{v}$ について解き、式 (5) に代入すると、 $\frac{\partial n}{\partial t} = \nabla \cdot (nh(n)\nabla n - \chi n \nabla c)$, $\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c + \alpha n - \frac{1}{\tau}c$, という Keller-Segel モデル [8] に帰着する。ここで、 $\chi = \mu/\beta$, $h(n) = \beta^{-1}g(n)$ とおいた。類洞と胆管のそれぞれの管に対して、このモデルを考え、肝細胞が類洞と胆管の振る舞いに介在するとういうように考えて、モデルたてると、

$$\partial u_a / \partial t = \nabla \cdot (\nabla u_a - \chi u_a \nabla c_a) - \gamma_1 u_a + \gamma_2 u_c, \quad (8)$$

$$\partial u_b / \partial t = \nabla \cdot (\nabla u_b - \chi u_b \nabla c_b) - \gamma_4 u_b + \gamma_3 u_c, \quad (9)$$

$$\partial u_c / \partial t = D\nabla^2 + \alpha n - \frac{1}{\tau}c, \quad (10)$$

$$\partial c_a / \partial t = D_{c_a} \nabla^2 c_a + \alpha u_a - \delta c_a, \quad (11)$$

$$\partial c_b / \partial t = D_{c_b} \nabla^2 c_b + \beta u_b - \delta c_b. \quad (12)$$

ここで、 u_a , u_b , u_c はそれぞれ、類洞、毛細胆管と肝細胞の濃度を表す。 c_a , c_b はそれぞれ類洞と毛細胆管のモルフォゲンの濃度を表す。 χ , γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , α , β , δ はそれぞれ相互作用を表すパラメータである。

3.2.2 類洞と胆管の反発作用

次に、肝細胞のアピコベール極性を数理モデルに取り込むことを考える。というのも、肝細胞のような上皮細胞は、細胞膜や細胞内成分は細胞内に均一に分布しているわけではなく、ある偏りをもって存在する。この細胞内の極性により、細胞膜にアピカル側とベール側という極性が形成され、血管系周辺にはベール側を配置し、その反対側 (血管を出来るだけ遠ざけるような方向) にはアピカル側に胆管のような構造を配置する [3]。

この極性を形態形成モデルに導入するために、類洞の濃度 u_a と毛細胆管の濃度 u_b の間に反発力が働き、肝小葉上で互いにできるだけ遠ざけ合うという作用を次のように導入した。

秩序変数 ψ と ϕ を導入し、それぞれ $\psi = u_a - u_b$ と $\phi = u_a + u_b$ というようにとった。3次元空間上には類洞と毛細胆管と肝細胞のどれかが存在するということを考えて、 $u_a + u_b + u_c = C$ (一定値) という条件を設定した。

u_a と u_b の間の反発力を表すラティス・ガスハミルトニアン H [7] を

$$H = -\frac{1}{2} \sum_{i,\delta} \sum_{\alpha,\beta} J_{\alpha,\beta} u_\alpha(i) u_\beta(i+\delta) \quad (13)$$

とおく。ここで、 i はラティスポイント、 δ は最近接ラティスをそれぞれ示す。 $J_{\alpha,\beta}$ は、 α と β 間の相互作用の大きさを表すパラメータであり、 α と β は、隣の配置によって類洞 A、毛細胆管 B、もしくは肝細胞 C のどれかをさす。 $J_{\alpha,\beta}$ の値が負の場合、 u_a と u_b が反発していることを表す。

この離散的なラティス上の相互作用を、平均場近似を用い、連続極限をとると次のような Ginzburg-Landau タイプの自由エネルギーを得ることできる [10]。

$$F = \int d\vec{r} \left[\frac{D_1}{2} |\nabla \psi|^2 + \frac{D_2}{2} |\nabla \phi|^2 - \frac{\tau}{2} \psi^2 + \frac{1}{12\phi^3} + \frac{K}{2} (\phi - \bar{\phi})^2 \right]. \quad (14)$$

ここで、 D_1 , D_2 は、反発力の強さを表すパラメータ。 τ と K は計算してまとめたパラメータをそれぞれ表す。

この自由エネルギーを用いて, u_a と u_b の反発を取り込み, 秩序変数 ψ と ϕ を用いて, 式 (8)-(12) をまとめると次のようになる.

$$\begin{aligned} \partial\psi/\partial t = & \nabla^2[-D_1\nabla^2\psi - \tau\psi + \psi^3] - \frac{\chi}{2}\nabla \cdot ((\phi + \psi)\nabla c_a - (\phi - \psi)\nabla c_b) \\ & - (\frac{\gamma_1}{2} + \frac{\gamma_4}{2})\phi - (\frac{\gamma_1}{2} + \gamma_2 - \gamma_3 - \frac{\gamma_4}{2})\phi + \gamma_2 - \gamma_4, \end{aligned} \quad (15)$$

$$\begin{aligned} \partial\phi/\partial t = & \nabla^2[-D_2\nabla^2\phi + \tau\phi] - \frac{\chi}{2}\nabla \cdot ((\phi + \psi)\nabla c_a + (\phi - \psi)\nabla c_b) \\ & - (\frac{\gamma_4}{2} + \frac{\gamma_1}{2})\phi - (\frac{\gamma_1}{2} + \gamma_2 + \gamma_3 + \frac{\gamma_4}{2})\phi + \gamma_2 + \gamma_4, \end{aligned} \quad (16)$$

$$\partial c_a/\partial t = D_{c_a}\nabla^2 c_a + \frac{\alpha}{2}(\psi + \phi) - \delta c_a, \quad (17)$$

$$\partial c_b/\partial t = D_{c_b}\nabla^2 c_b + \frac{\beta}{2}(\phi - \psi) - \delta c_b. \quad (18)$$

ここで, パラメータは既述の通りである. 以下, この数理モデルを解析する.

4 数値解析

4.1 線形解析

まずモデルの平衡点解析を行う. 式 (15)-(18) の平衡点 $(\bar{\psi}, \bar{\phi}, \bar{c}_a, \bar{c}_b)$ は,

$$(\bar{\psi}, \bar{\phi}, \bar{c}_a, \bar{c}_b) = \left(\frac{-\gamma_1\gamma_3 + \gamma_2\gamma_4}{\gamma_1\gamma_3 + \gamma_1\gamma_4 + \gamma_2\gamma_4}, \frac{\gamma_1\gamma_3 + \gamma_2\gamma_4}{\gamma_1\gamma_3 + \gamma_1\gamma_4 + \gamma_2\gamma_4}, \frac{\alpha\gamma_2\gamma_4}{\delta(\gamma_1\gamma_3 + \gamma_1\gamma_4 + \gamma_2\gamma_4)}, \frac{\beta\gamma_1\gamma_3 + \gamma_2\gamma_4}{\delta(\gamma_1\gamma_3 + \gamma_1\gamma_4 + \gamma_2\gamma_4)} \right). \quad (19)$$

であった. この平衡点の周りで線形化し空間を導入したときの不安定解になるよう

$(\psi, \phi, c_a, c_b) \sim \exp[\lambda t + i\vec{q} \cdot \vec{x}]$ の解を代入する. ここで, λ と $\vec{q}$ は成長率と波数を表す. 行列形式で表現すると,

$$\begin{pmatrix} -q^4 D_1 + (\tau - 3\bar{\psi}^2)q^2 - \frac{\gamma_1}{2} - \frac{\gamma_4}{2} - \lambda & -D_2 q^4 - \sigma q^2 - \frac{\gamma_1}{2} - \gamma_2 - \gamma_3 - \frac{\gamma_4}{2} - \lambda & \frac{\chi}{2}(\bar{\phi} + \bar{\psi})q^2 & -\frac{\chi}{2}(\bar{\phi} - \bar{\psi})q^2 \\ \frac{\gamma_4}{2} - \frac{\gamma_1}{2} & \frac{\gamma_4}{2} - \gamma_2 - \gamma_3 - \frac{\gamma_4}{2} - \lambda & \frac{\chi}{2}(\bar{\psi} + \bar{\phi})q^2 & \frac{\chi}{2}(\bar{\psi} - \bar{\phi})q - 2 \\ -\frac{\gamma_2}{2} & \frac{\gamma_2}{2} & -q^2 D_{c_a} - \delta - \lambda & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -q^2 D_{c_b} - \delta - \lambda \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \psi \\ \phi \\ c_a \\ c_b \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (20)$$

λ に関する分散関係式を計算すると,

$$\begin{aligned} 0 = \lambda^4 & + \lambda^3(q^4 + B_{11}q^2 - B_{12} + \lambda^2(B_{21}q^6 + B_{22}q^4 + B_{23}q^2 + B_{24} \\ & + \lambda(B_{31}q^8 + B_{32}q^6 + B_{33}q^4 + B_{34}q^2 + B_{35}) + (B_{41}q^8 + B_{42}q^6 + B_{43}q^4 + B_{44}q^2 + B_{45})). \end{aligned} \quad (21)$$

ここで, B_{ij} はパラメータで, γ_1 などに関連するものである. 単安定の平衡点で, 空間を導入すると不安定になるようなパラメータを数値的に探す. 例えば, $D_1 = 1.00$, $D_2 = 0.01$, $D_{c_a} = 0.001$, $D_{c_b} = 0.001$, $\chi = 0.1$, $\alpha = 0.01$, $\beta = 0.01$, $\gamma_1 = 0.05$, $\gamma_2 = 0.04$, $\gamma_3 = 0.03$, $\gamma_4 = 0.03$ を選ぶと, 有限波数が不安定する. このパラメータをメインに使って, 以下数値計算を行っていく.

4.2 数値計算

式 (15)-(18) の数値計算を行う. 移流項の箇所を上流差分法を用いて計算する. ここで, Keller-Segel モデルのような移流項を含む方程式の時間発展を見る場合, 数値の発散について注意を払わなくてはならない. が, 式 (15) の ∇^2 の括弧内に ψ^3 の項が存在する. この項の効果は [9] で導入された Volume-filling 項と同じような効果を持っていて数値の発散を押さええている. 実際に数値計算行っている, これまで移流項の影響で値が発散するという事はなかった.

4.2.1 1次元空間での数値計算

まず式 (15)-(18) の 1次元空間での数値計算を行う. 図 3(e) の矢印で示したように, 門脈域 (PV 側) から中心静脈側 (CV 側) へ向かう方向に一次元領域をとり計算を行う. 肝小葉内の類洞過程をみると, 既述のよ

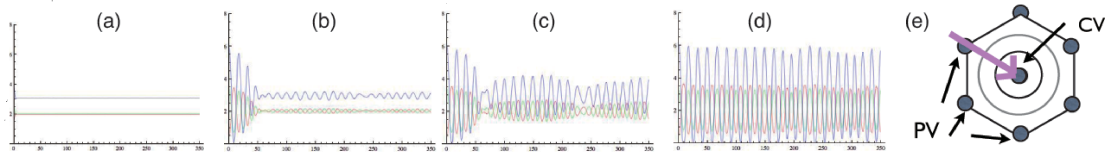


図 3: 式 (15)-(18) の数値計算で得られる 1 次元パターンの時間発展. u_a , u_b , u_c をプロット. (a): $t=0.0$, (b): $t=8.0$, (c): $t=13.0$, (d): $t=80.0$, (e): 肝小葉内の方向図を示す.

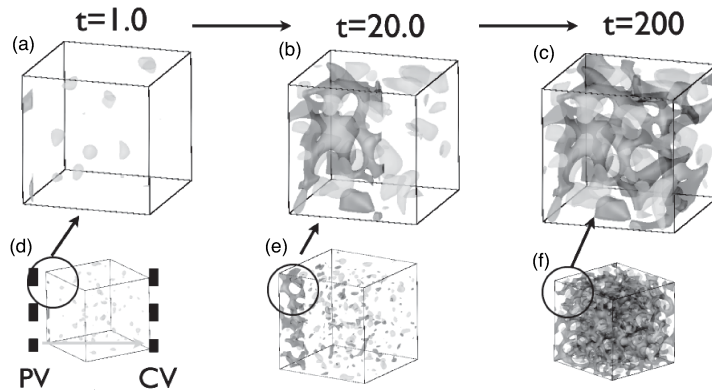


図 4: 式 (15)-(18) の数値計算の時間発展の図. 赤色が類洞の濃度 u_a , 緑色が毛細胆管の濃度 u_b の等高面を示す. (d)-(f): 数値計算した空間全体の分布. (a)-(c): (e)-(g) の PV 側をピックアップして示した図.

うに PV 側から形成されはじめ, 徐々に肝小葉全体で形成される [3]. このことから, 数値計算の初期条件に $x = 0$ の地点 (PV 側) の類洞の濃度 u_a を少し大きくなるように設定した. それ以外の濃度は, 平衡点の値に微小摂動を与えた分布を初期分布として設定した. 境界条件は Neumann 境界条件を課した.

観察で計測している PV から CV の間に並ぶ肝細胞の個数を考慮して, 波数を調節したパラメータを用いた. 具体的には, $D_1 = 1.00$, $D_2 = 0.01$, $D_{c_a} = 0.001$, $D_{c_b} = 0.001$, $\chi = 0.1$, $\chi = 0.1$, $\alpha = 0.01$, $\beta = 0.01$, $\gamma_1 = 0.05$, $\gamma_2 = 0.04$, $\gamma_3 = 0.03$, $\gamma_4 = 0.03$ という値を用い, 空間格子数 $N_x = 256$ で空間刻み幅 $dx = 0.5$ の 1 次元領域において, 不安定性から得られる波数と同様になるように設定した.

式 (15)-(18) で ψ , ϕ , c_a , c_b の数値計算を行い, 分布のプロットに際しては, $\psi = u_a - u_b$, $\phi = u_a + u_b$, $u_c = C - u_a - u_b$ を計算し, 各点での u_a , u_b , u_c の濃度を計算し, 図 3(a)-(d) のように作図している. 図 3 の (a)-(d) を見ると類洞 u_a の周期的な分布が PV 側から CV 側に徐々に形成されていることがわかる. また, 毛細胆管 u_b の分布は空間一様に形成されることがわかる.

4.2.2 3 次元空間での数値計算

では, 実際に 3 次元空間での数値計算を行っていく. 1 次元空間での数値計算と同様に PV 側と CV 側を図 4(d) のように考慮した. 初期分布は式 (15)-(18) の平衡点の値に摂動を加えたものにさらに, u_a の初期分布が PV ($(x, y, z) = (0, 0, z)$) 領域で少し多くとるように設定した. ノイマン境界条件を導入し, $(N_x \times N_y \times N_z) = (256, 256, 256)$ の立方格子上で, 空間刻み幅 $dx = 0.5$ とした計算領域を設定した. パターンの周期を考慮して 1 次元数値計算と同様のパラメータを用いて, 3 次元空間で数値計算を行う.

図 4 がその数値計算の結果である. 赤, 緑色で類洞の濃度 u_a , 毛細胆管の濃度 u_b の濃度が高い場所を示した. 図 4(d)-(f) は $256 \times 256 \times 256$ の数値計算した空間全体の分布を表す. 図 4(a)-(c) はそれぞれ PV 側

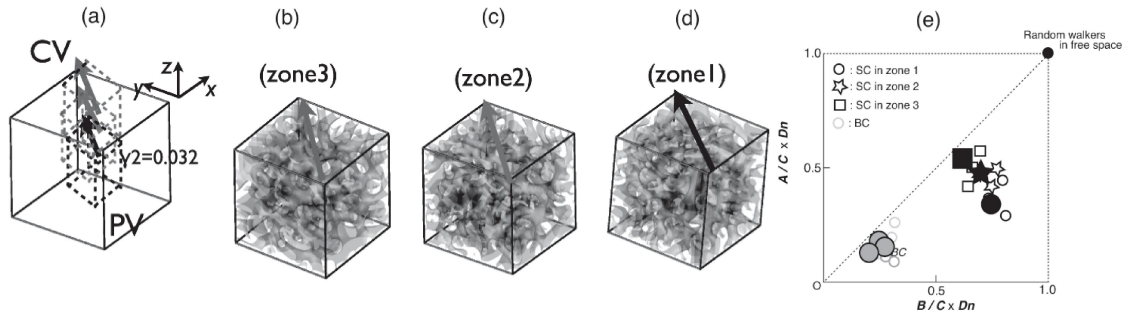


図 5: 数値計算で得られる 3 次元パターンと肝小葉観察で得られるパターンの指標比較. (a):数値計算での 3 次元ドメインでのそれぞれの zone の解釈の仕方. (b)-(d): zone1~3 の数値計算で得られたパターン. (e): 数値計算, 観察値のパターンの指標比較. 中抜き印が観察値を表す.

の領域をピックアップしたプロットを示す. すると, 類洞が PV 側から CV 側に徐々に形成されていくのがわかる. また, 毛細血管は空間一様に形成されていることがわかる.

4.3 パターン比較とモデルの改良

4.3.1 指標によるパターンの比較

ここで, 2.2 節で作成したパターン指標 ($\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n$) を数理モデルの数値計算で得られたパターンに対しても適用し, 指標を通して得られたパターンを比較してみる. $t = 200$ のときの類洞と毛細血管の 3 次元周期ネットワーク構造の ($\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n$) を計算する.

図 5(a) に示すように, 計算ドメインを zone に分け, 肝臓片と同じように観察値 PV 側 (zone3) と CV 側 (zone1) とその中間 (zone2) からそれぞれの類洞と毛細血管の 3 次元パターンをピックアップして指標の比較を行った. その結果が図 2(d) である. 毛細血管に関しては, 値も非常に似ている結果が得られているが, 類洞については, zone の違いが現れていない. 類洞の指標が zone1~3 の数値計算の結果も同じような 1 点に集まっていて, 観察で得られている類洞の zone ごとの違いが現れていなかった.

類洞の zone ごとの違いを数理モデルから得られるパターンに反映させるため, 次の節で紹介するモデル改訂を導入している.

4.3.2 肝細胞の部域ごとの反応性

文献 [1, 3] では, CV 側と PV 側では肝細胞の代謝やさまざまな物質への反応性が異なっていたり, 異常肝細胞が形成される zone が疾患によって異なっていることが報告されている. この事実をもとに, 形態形成モデル, 式 (15)-(18) において, 相互作用を表す項に空間勾配を導入してみる.

具体的にどの項をどのように設定すれば, 文献 [1, 3] に乗っているすべての代謝や反応性の違いを表現するのは不可能である. が, 例えば, 肝細胞が類洞をアクティベートするという反応パラメータ γ_2 をピックアップして PV 付近から CV 付近にかけて変化するようにとしてみた. 具体的には, $\gamma_2 = 0.032 + k \times (x=0, y=0 \text{ からの距離})$ という γ_2 の値が PV 付近から CV 付近へ線形で変化するような勾配を導入する. このよう設定して数値計算を行い, $t = 200$ での部域ごとにネットワーク構造を見たのが図 5(b)-(d) である. また, $t = 200$ のときのパターンの ($\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n$) を計算し, まとめたのが, 図 5(e) である. 黒塗りの四角, 丸, 星形がそれぞれ数値計算から得られた結果である. マウス肝小葉から観察で得られた類洞, 毛細血管ネットワーク構造の ($\frac{B}{C}D_n, \frac{A}{C}D_n$) の値と似たような分布をとっていることがわかる.

5 まとめと考察

Gamba ら [4, 5] によって提案されたメカノケミカルモデルをもとに, 2 本の管の 3 次元周期ネットワーク構造が自発的に形成する数理モデルを作成し, 実際の観察で得られた 3 次元パターンと, ランダムウォーカーを用いて測定する計量を用いて比較した.

類洞と毛細胆管の反発の強さを表す D_1 の値を小さくとったときには, (本稿ではパターンは示していないが) 2 種の管どうしが接することが起こる. 観察される 2 種の管の 3 次元周期ネットワーク構造を再現するためには, 何かしらのアピコベールサルの関係する作用が必要だと考えられる.

また, 観察で見られる類洞のパターン指標の部域性のように, 肝小葉内に PV-CV 方向の空間勾配の何かの要素が必要である. そのため, 本稿では反応項のある一つのパラメータを空間的に導入したモデルを作成して, その一例を示し, 観察パターンの指標と非常によく似た分布が得られた.

2 種の管それぞれに対して, Keller-Segel モデルを用いて作成した. 類洞に対してのモルフォゲンは VEGF であると言われている [2] が, 毛細胆管のモルフォゲンについては明らかではないので, まだ式 (15)-(18) の作成したモデルはまだ改善する必要があると考えている.

また, アピコベールサルの関係を類洞と毛細胆管の反発力と数理的に表現して作成したモデルである. が, 実際に類洞と毛細胆管が肝細胞を介して反発しているかどうかは定かではない. また, 他の相互作用も考えられるかもしれない. 今後, 界面モデルを作成して具体的に相互作用を数理的に解析する研究を計画している.

6 謝辞

肝臓摘出のためのマウス解剖と肝小葉観察は, 京都府立医科大学老化研センター田中雅樹教授, 渡邊義久講師, 並びに同大学医学部生物学教室小野勝彦教授にご教授していただいた. 本稿で示した研究は, JSPS, KAKENHI(26800225) の支援を受け実施している.

参考文献

- [1] S. Sheila, J. Dooley, "Diseases of the Liver and Biliary System", Willey-Blackwell (2002).
- [2] 戸田剛太郎, 滝川一, 小池和彦編, "ここまでの肝の科学", 中外医学社 (2002).
- [3] 小川和朗, 溝口史郎編, "組織学", 文光堂 (1993).
- [4] A. Gamba *et al.*, Phys. Rev. Lett., **90**, 118101 (2003).
- [5] G. Serini *et al.*, Embo J. **22**, 1771 (2003).
- [6] Y. Nakashima, S. Kamiya, J. Nuclear Scie. and Tech. **44**, 1233-1247 (2007).
- [7] S. A. Safran, "Statistical Thermodynamics of surfaces, interfaces, and membranes", Westview Press (1994)
- [8] E.F.Keller, L.A.Segel, J. Theor. Biol. **26** 399-415 (1970).
- [9] T. Hillen, K. Painter, Adv. Appl. Math. **26** 280-301 (2001).
- [10] T. Okuzono, T. Ohta, Phys. Rev. E, **67**, 56211 (2003).