

増殖する細胞集団中における薬剤耐性獲得と発がんの数理モデル

Hiroshi Haeno¹, Yoh Iwasa¹, and Franziska Michor²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University

² Computational Biology Center, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, 10065

要旨: がんに対する化学療法は薬剤耐性がん細胞の出現によって失敗に終わることがある。また、がんはがん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異により生じることがわかってきている。これらの問題の特徴は、細胞がヒト体内で増殖し、突然変異によって変異細胞が生み出されるということである。私たちは、これらの生物学的特性に基づいた数理モデルから、細胞集団がある一定の数まで増殖したとき、特定の2つの突然変異を持った細胞が集団中に存在する確率を示す公式を導いた。その公式を用いて薬剤耐性や発がん細胞が出現する確率が大きくなる条件を示す。

1. はじめに

がんに対する化学療法は薬剤耐性がん細胞の出現によって失敗に終わることがある。例えば、慢性骨髄性白血病では“イマチニブ”と“ダサチニブ”という2つの薬があり、それらを投与された患者の中には、両方の薬に耐性を持ったがん細胞が出現することが知られている[1]。その原因として、少数の薬剤耐性細胞が薬を投与する前に既に存在していたことが考えられる。そこで、薬の非存在下で、がん細胞が発見される集団サイズになるまで増殖している状況を考えて、特定の2つの突然変異を持った薬剤耐性がん細胞が生まれ、維持されている可能性がどれだけあるのかということを含め知ることは投薬戦略を考える際に重要である。

また、がんはがん遺伝子やがん抑制遺伝子の変異により生じることがわかってきている。例えば、小児がんの1つである網膜芽細胞腫は、RB1 と呼ばれるがん抑制遺伝子が突然変異によって不活化することで生じることが知られている[2]。果たして、網膜の組織が完成するまでに、がん抑制遺伝子の2つの対立遺伝子に変異し、散発性網膜芽細胞腫が起こる可能性はどれくらいあるのだろうか？そして、どのような条件でがんの起こるリスクが高くなるのだろうか？

これらの問題は共通した2つの特徴を持っている。それは、(1) 細胞が元となる

1つの細胞から増殖していく、(2) 2つの突然変異によって問題となる細胞が出現する、ということである。これまで、巖佐ら[3]によって、細胞が元となる1つの細胞から増殖して、ある集団サイズになった時に、特定の1つの変異を持った細胞が集団中に存在する確率について研究がなされている。私たちは、巖佐らの手法に基づいて確率過程の計算を用いて研究を行った。

2. モデル

ゲノムの特定の2つの箇所に注目して、突然変異を持っていない野生型細胞が1細胞から指数的に増殖している細胞集団を考える。突然変異を持っていない細胞をタイプ0、1つ持っている細胞をタイプ1、2つ持っている細胞をタイプ2と呼ぶ。タイプ0細胞は細胞分裂あたり突然変異率 u_1 で1つのタイプ1細胞を生み出し、タイプ1細胞は突然変異率 u_2 で1つのタイプ2細胞を生み出す。タイプ0細胞は増殖率 r を持ち、タイプ1細胞、タイプ2細胞はそれぞれ増殖率 a_1 , a_2 を持つ。死亡率はそれぞれのタイプの細胞で同じ(d)になると仮定した(図1)。全ての細胞数が一定の数(M)になったとき、タイプ2細胞が存在する確率を求める。

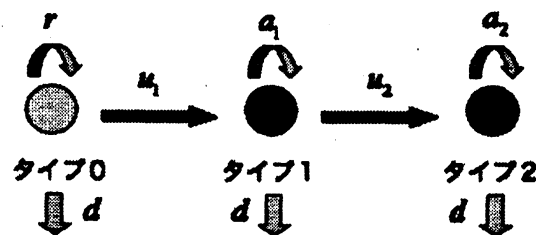


図1 本モデルの模式図。タイプ0細胞は増殖率 r 死亡率 d を持つ。タイプ1細胞は突然変異率 u_1 でタイプ0細胞から生まれ、増殖率 a_1 死亡率 d を持つ。タイプ2細胞は突然変異率 u_2 でタイプ1細胞から生まれ、増殖率 a_2 死亡率 d を持つ。

タイプ2細胞が生み出されるためには2つのステップが必要である。1つは「タイプ1細胞が生まれその子孫が生き残ること」で、もう1つは「全体の細胞数が M になるまでにタイプ1細胞がタイプ2細胞を生むこと」である。タイプ0細胞の数が x の時に1つ目のステップが起こる確率を P_x とすると、以下の式が得られる。

$$P_x = e^{-\beta(x-1)}(1 - e^{-\beta}). \quad (1)$$

ここで $\beta = (1 - d/a_1)u_1/(1 - d/r)$ となる。 β はタイプ0細胞の数が x の時に新しく生まれるタイプ1細胞の平均数($u_1/(1 - d/r)$)に、新しく生まれたタイプ1細胞が生き残る確率($1 - d/a_1$)をかけたものである。導出は巖佐らの論文[3]を参考にした。式(1)の初めの

項 $e^{-\beta(x-1)}$ はタイプ0細胞の数が $x-1$ までにタイプ1細胞を生み出さない確率で、2番目の項はタイプ0細胞の数が x の時にタイプ1細胞を生み出す確率である。

タイプ1細胞が生まれた直後は、タイプ0細胞の数が x でタイプ1細胞の数が1である。私たちはそれらの細胞が合計 M になるまで指数的に増殖すると仮定する。タイプ1細胞が生まれてから合計が M になるまでの時間を τ_x とすると、タイプ1細胞の最終的な細胞数(y)は $y = \exp[(a_1 - d)\tau_x]$ となる。その数になるまでに起こる細胞分裂の数の期待値は $y/(1 - d/a_1)$ となる。突然変異が起こる回数の期待値は細胞分裂の数に比例するので、タイプ1細胞がタイプ2細胞を生む確率(Q_x)は以下の式で表される。

$$Q_x = 1 - e^{-u_2 y / (1 - d/a_1)}. \quad (2)$$

ここで、タイプ1が生まれた時点から細胞数の合計が M になるまでの時間(τ_x)は、タイプ2の細胞数が無視できるほど小さいと仮定して、以下の式を数値的に解くことで与えられる。

$$xe^{(r-d)\tau_x} + e^{(a_1-b_1)\tau_x} = M. \quad (3)$$

以上より、集団の細胞数が M になった時に少なくとも1つのタイプ2細胞が存在する確率(P)は式(4)のように与えられる。

$$P = \sum_{x=1}^{M-1} P_x \cdot Q_x = \sum_{x=1}^{M-1} e^{-\beta(x-1)} (1 - e^{-\beta}) \left(1 - \exp \left[-\frac{u_2 y}{1 - d/a_1} \right] \right). \quad (4)$$

3. 結果

前章では細胞数の合計が M になった時に特定の2カ所に突然変異を持つ細胞が少なくとも1つ存在する確率を示す式(4)を導いた。導いた公式には7つのパラメータが含まれている。細胞集団が増殖することができる上限のサイズ(M)、ゲノム上の2カ所への細胞分裂あたりの突然変異率(u_1, u_2)、それぞれのタイプの増殖率(r, a_1, a_2)、そして死亡率(d)。私たちはどのような時にタイプ2細胞が存在する確率が上がるかを調べるために、 P に関してパラメータ依存性を調べた(図2)。増殖率と死亡率は同じ因子をかけても、タイプ2が存在する確率(P)には影響しないので、 $r=1$ を固定し6つのパラメータ($u_1, u_2, a_1/r, a_2/r, d/r, M$)について調べた。

- (i) ゲノムの1つ目の箇所に対する突然変異率(u_1)。タイプ2細胞が存在する確率(P)は1つ目の箇所に関する突然変異率が高い時に大きくなることがわかった(図2-a)。
- (ii) ゲノムの2つ目の箇所に対する突然変異率(u_2)。タイプ2細胞が存在する確率は2つ目の箇所に関する突然変異率が高い時に大きくなることがわかった(図2-b)。

- (iii) タイプ1細胞の相対的な増殖率(a_1/r)。タイプ1細胞の増殖率がタイプ0細胞のものに比べて大きい時に2つの突然変異を持った細胞が存在しやすいことがわかった (図2-a,b)。
- (iv) タイプ2細胞の相対的な増殖率(a_2/r)。タイプ2細胞の増殖率がタイプ0細胞のものに比べて大きくても小さくても、2つの突然変異を持った細胞の存在する確率にはあまり影響を与えないことがわかった (図なし)。タイプ2細胞の増殖率が死亡率よりも十分大きければタイプ2細胞が存在する確率は高くなるが、タイプ2細胞がタイプ0細胞の増殖率より大きくてもそれほど確率に影響を与えない。ただし、タイプ2細胞の数に関しては大きく影響を与えらる。
- (v) タイプ0細胞の増殖率に対する相対的な死亡率(d/r)。タイプ2細胞が存在する確率は相対的な死亡率が大きい時に大きくなることがわかった (図2-c)。死亡率が大きいと一定の大きさ(M)になるまでに多くの細胞分裂が行われるので、確率が大きくなると考えられる。
- (vi) タイプ2が存在しているかを調べる時の細胞集団の大きさ(M)。タイプ2細胞が存在する確率は M が大きいと大きくなることがわかった (図2-c)。

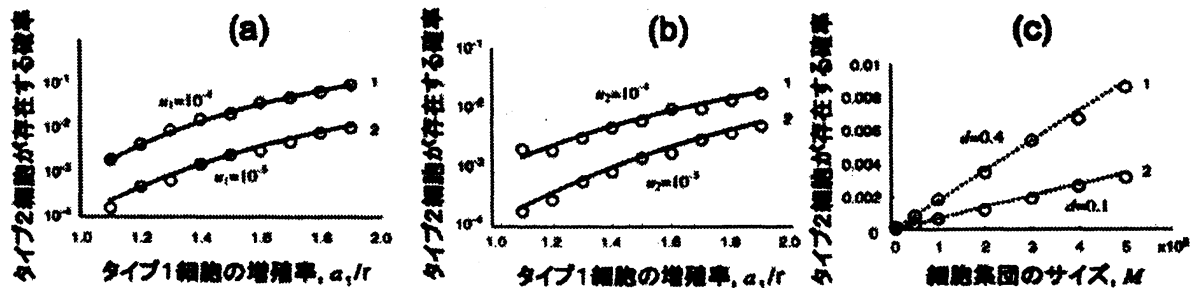


図2 タイプ2細胞が存在する確率(P)のパラメータ依存性。パネルaはタイプ1細胞の増殖率(a_1/r)と1つ目の突然変異率(u_1)に関する依存性を示している。パネルbはタイプ1細胞の増殖率(a_1/r)と2つ目の突然変異率(u_2)に関する依存性を示している。パネルcは細胞集団のサイズ(M)と死亡率(d)に関する依存性を示している。式(4)によって得られた結果は点で表され、円はモンテカルロ法によるコンピュータシミュレーションの結果を表している。パラメータの値はそれぞれ(a) $r=1$, $M=10^6$, $a_2=1.1a_1$, $d=b_1=b_2=0.1$, $u_2=10^{-6}$, $u_1=10^{-4}$ (線1), $u_1=10^{-5}$ (線2);(b) $u_1=10^{-6}$, $u_2=10^{-4}$ (線1), $u_2=10^{-5}$ (線2);(c) $u_1=10^{-6}$, $u_2=10^{-4}$, $a_1=1.5$, $a_2=1.65$, $d=b_1=b_2=0.4$ (線1), $d=b_1=b_2=0.1$ (線2)。

4. 考察

私たちは細胞集団が増殖している時に、2つの突然変異を持った細胞が細胞集団中に存在している確率について、公式を求め、どのような時に確率が高くなるかを調べた。この結果は医療の分野に示唆を与えることができる。例えば、ゲノム中の2カ所に変異が入ることで薬剤耐性がん細胞が出現する可能性を投薬前に調べることができる。また、タイプ2細胞が存在する確率の細胞集団サイズ M に対する依存性の結果から、病気の早期発見が薬剤耐性の出現を抑えることにつながるということがわかった。さらに、タイプ2細胞の増殖率に対する依存性の結果から、薬剤耐性細胞やがん細胞の増殖率は薬剤耐性や発がんの確率には大きく関わらないことが示唆された。ただ、薬剤耐性細胞やがん細胞の数には関わっていることが考えられるので、タイプ2細胞の数がそれぞれのパラメータにどう依存するかを調べることが重要になると考えられる。

この研究は、細胞が分裂している時にゲノム中に2つの変異が入ることで薬剤耐性や発がんが起こると仮定していた。今後はこのモデルを応用し、3つやそれ以上、または n 箇所の変異が入るモデルを考えることが重要になるだろう。また、HIV などのウイルスによる病気でも薬剤耐性の問題が知られている。増殖の様式が細胞とウイルスでは異なるが、本研究を応用して、ウイルスの薬剤耐性の問題にも適用できるモデルや公式を考えることも今後の課題になる。

5. 参考文献

- [1] Shah, N. P., B. Skaggs, S. Branford, T. P. Hughes, J. M. Nicoll, R. L. Paquette, and C. L. Sawyers, 2007. Sequential ABL kinase inhibitor therapy selects for compound drug-resistant BCR-ABL mutations with increased oncogenic potency. *J Clin Invest.* 117: 2562-2569.
- [2] Friend, S. H., R. Bernards, S. Rogeli, R. A. Weinberg, J. M. Rapaport, D. M. Albert and T. P. Dryja, 1986 A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 323: 643-646.
- [3] Iwasa, Y., M. A. Nowak and F. Michor, 2006 Evolution of resistance during clonal expansion. *Genetics* 172: 2557-2566.