

血管新生における血管内皮細胞動態の数理モデル

酒井 一馬 (東京大学大学院 数理科学研究科 数理科学専攻)

— はじめに —

血管新生とは、既存の血管から新しい血管ネットワークが構築される生命現象である。発生時だけでなく、悪性腫瘍（癌）などの病態の進行に深く関係するため、そのメカニズムを解明し制御することは基礎医学において重要な課題の一つである。近年、可視化技術の向上によって細胞集団による動態が捉えられるようになってきており、発芽後の内皮細胞集団は伸長方向に対して順向、逆向、U-turn, 追い越しやすれ違いといった複雑な運動 (cell-mixing) をすることが明らかとなった (図1)。このような複雑な運動機構を理解することは血管形成のメカニズムを理解する上でも重要であるが、内皮細胞の運動を実験的に厳密に調べることは困難であるため、数理モデルを用いた研究への期待が高まっている。血管新生に関する数理モデルはセルラーポッツモデル[2]や反応拡散系[3]を代表としてこれまでも数多くのモデルが提案され、血管新生の様々な特徴が

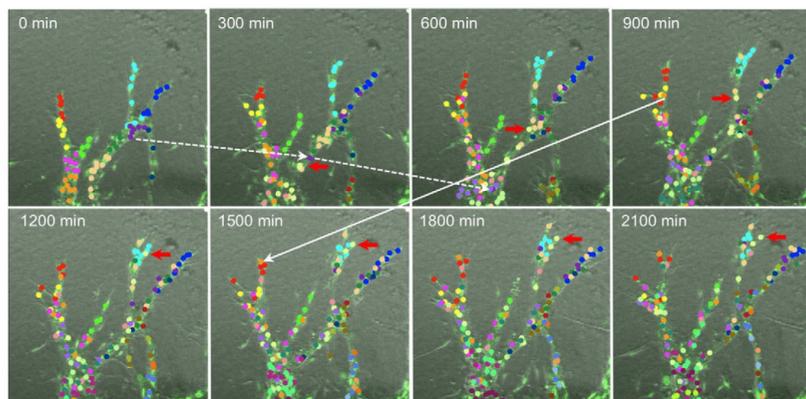


図1：内皮細胞のcell-mixingの様子 [1].

再現されている。cell-mixingなどの最近の実験結果を再現するモデルはまだ少ないが、近年、2体間相互作用を取り入れた決定論的モデル [5,6,7]が提案され、実際の細胞動態の再現に成功しつつある (表1)。

— 修士論文での主結果 —

細胞動態の更なる再現を目指し、2つのメカニズムの解明に取り組み、次の結果を得た：

① 管腔形成のメカニズム

- 内皮細胞集団はいずれ管腔構造を形成するが、管腔形成の再現には先行研究のような1次元や2次元のモデルでは難いため、管腔形成を視野に入れたモデル構築の第一歩としてモデル[6]の3次元化を行った。
- 細胞の形状がパターンに大きな影響を与えることを示した。それは配向性の違いによることが示唆された。
- 細胞形状以外の各パラメータにおいてもパターンに与える影響を調べた。

② 分岐のメカニズム

- 血管新生時の分岐がどのような要因により引き起こされているのかは知られていない。上皮細胞の実験結果[8]をもとに、細胞外基質 (ECM) などの効果を取り入れた拡張モデルを提案した。
- 実験状況に類似したシミュレーションにおいて、伸長・分岐・cell-mixingが生じるモデルであることを確認した。

表1：栗原研究室（医学系研究科）の実験をもとに提案されたモデル。

モデル	次元	特徴	主要結果
Sugihara [4]	1	細胞間相互作用のない確率論的モデル	細胞の前進後退運動の再現
Matsuya [5]	1	2体間相互作用の決定論的モデル	複雑なcell-mixingの再現
Yura [6]	2	2体間相互作用の決定論的モデル	2次元面での枝伸長の再現
Hayashi [7]	2	2体間相互作用の決定論的モデル, 位相の導入	2細胞動態の再現
Sakai	3	2体間相互作用の決定論的モデル	3次元面での枝伸長の再現
Sakai	2	2体間相互作用の決定論的モデル, ECMの導入	複雑なcell-mixingの再現, 2次元面での枝伸長・分岐の再現

— 3次元の血管新生モデル —

血管内皮細胞を回転楕円体で表現し、扁平率 $f := 1 - b_r/a_r$ を用いて形状を定める（図2）。モデルを下記に示す：

$$\mathbf{r}_i^{t+1} = \mathbf{r}_i^t + \mathbf{v}_i^t, \quad (1)$$

$$\mathbf{v}_i^{t+1} = \mathbf{v}_i^t - \gamma_1 \mathbf{v}_i^t + \sum_{j \neq i} (\mathbf{F}_{r,ij}^t + \mathbf{F}_{a,ij}^t) + \mathbf{D}_i^t, \quad (2)$$

$$\mathbf{e}_{x,i}^{t+1} = R_i^t \mathbf{e}_{x,i}^t. \quad (3)$$

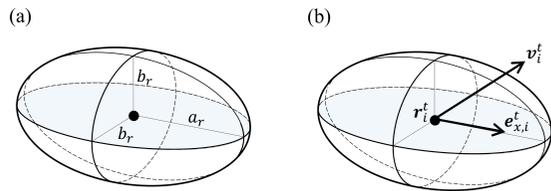


図2：(a) 各細胞は長半径 a_r 、2つの短半径 b_r をもつ回転楕円体で表現される。(b) 時刻 t における細胞 i の中心を $\mathbf{r}_i^t \in \mathbb{R}^3$ 、速度を $\mathbf{v}_i^t \in \mathbb{R}^3$ 、長軸方向の単位ベクトルを $\mathbf{e}_{x,i}^t \in \mathbb{R}^3$ とする。

以下、各式の記号について説明する。

・斥力 $\mathbf{F}_{r,ij}^t$

細胞 i と細胞 j の楕円体が重なっているとき排除体積効果によって

$$\mathbf{F}_{r,ij}^t := -f_r \frac{\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t}{\|\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t\|}$$

が生じる。

・引力 $\mathbf{F}_{a,ij}^t$

各細胞より大きな同心同軸回転楕円体を考えて、その内部を引力領域と定める。細胞 i と細胞 j の引力領域が重なっているとき、仮足が接触しているとみなし

$$\mathbf{F}_{a,ij}^t := +f_a \frac{\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t}{\|\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t\|}$$

が生じる。

・自己駆動力 \mathbf{D}_i^t

$$\mathbf{D}_i^t := \begin{cases} d \frac{\mathbf{v}_i^t}{\|\mathbf{v}_i^t\|} & (\mathbf{v}_i^t \neq \mathbf{0} \text{ かつ引力領域が重なっている細胞が少なくとも1つ存在}) \\ \mathbf{0} & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

・回転行列 $R_i^t \in SO(3)$

細胞同士の接触回転と楕円体の長軸方向が速度方向を向く回転の2つ効果を加えている。

・ γ_1, f_r, f_a, d は正のパラメータである。

— 3次元モデルのシミュレーションと解析 —

扁平率 f を変化させて数値シミュレーションを行ったところパターン形成に違いが生じた（図3）。特に $f = 0.7$ の場合には血管パターンに類似した樹状構造を形成しているのが特徴的である。

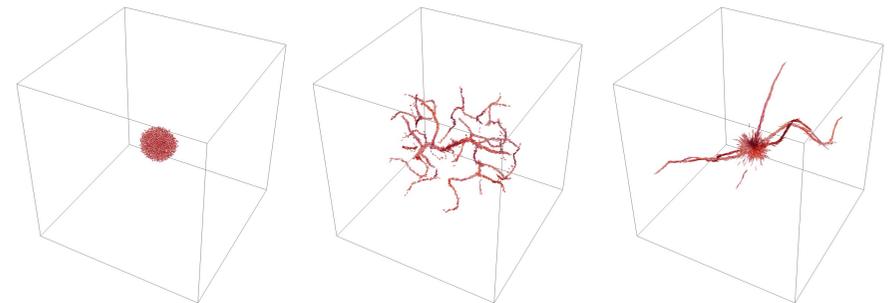


図3：細胞を中心部へ定期的に注入していくシミュレーションにおける $t = 25000$ での様子。左： $f = 0.3$ 、中央： $f = 0.7$ 、右： $f = 0.9$ 。

この結果に対して、Box-Counting次元（ボックスカウント法によるフラクタル次元）を計算した（図4）． $f = 0.7 \sim 0.8$ において1次元に近づいている． 標準的な内皮細胞の扁平率もおよそ $f = 0.7 \sim 0.8$ であるため、実験とも矛盾がない結果である．

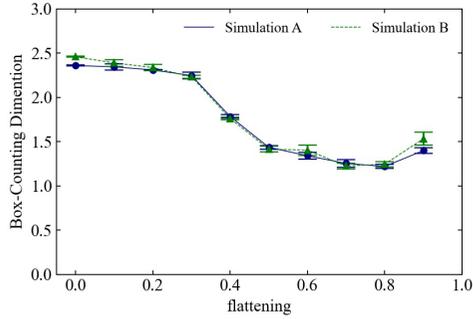


図4：扁平率とBox-Counting次元の関係．平均と95%信頼区間を表示している．

- Simulation A…図3に示した中心部注入のシミュレーション．
- Simulation B…細胞をあらかじめ蒔いておき、途中の注入はしない場合のシミュレーション．

次に、Simulation A,Bに対してOrder Parameterを計算した（ここではSimulation Aに対する結果を図5に示す）．扁平率によるパターンの違いは配向性によるものだと示唆される．

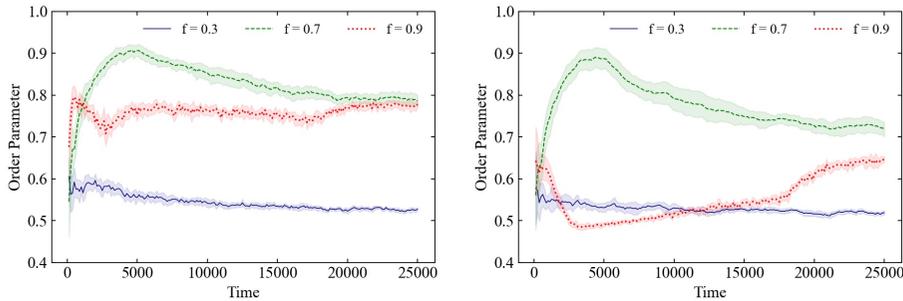


図5：Order Parameter $O_1(\varepsilon) := \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |\cos \sigma_i(\varepsilon)|$ ． N は全細胞数、 $\sigma_i(\varepsilon)$ は $\mathbf{e}_{x,i}^t$ と $\overline{\mathbf{e}}_{x,i}^t(\varepsilon) := \sum_{j \neq i; \|\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t\| < \varepsilon} \mathbf{e}_{x,j}^t$ のなす角である．(左) $\varepsilon = 5$ ，(右) $\varepsilon = 20$ ．

— ECMの効果を取り入れた2次元の拡張モデル —

実験[8,9]をもとにECMの効果を取り入れ、引力の拡張を行う．式(2)を式(2')に改める．

$$\mathbf{v}_i^{t+1} = \mathbf{v}_i^t - \gamma_1 \mathbf{v}_i^t + \sum_{j \neq i} (\mathbf{F}_{r,ij}^t + \tilde{\mathbf{F}}_{a,ij}^t) + \mathbf{D}_i^t + \mathbf{G}_i^t \quad (2')$$

- ECM分解度：

$$U(\mathbf{x}, t) := \max \left[1 - \frac{h(\mathbf{x}, t)}{H}, 0 \right] \quad (\in [0, 1])$$

- $h(\mathbf{x}, t) \in \mathbb{Z}_{\geq 0}$ ：位置 \mathbf{x} における時刻 t までのECM分解酵素発現時間
- $H \in \mathbb{Z}_{>0}$ ：ECMが完全に分解されるまでの時間

- ECMから細胞が受ける抵抗力：

$$\mathbf{G}_i^t := -g \oint_{C_i^t} \nabla U(\mathbf{x}, t) dc$$

- $g (> 0)$ ：抵抗力の大きさを表すパラメータ
- C_i^t ：時刻 t での細胞 i の周上を正の方向に一周する積分路
- dc ：積分経路の微小な長さ

- 拡張した引力：

$$\tilde{\mathbf{F}}_{a,ij}^t := f_{a,ij} \frac{\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t}{\|\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t\|} u \left(\lambda_a - \frac{1}{\pi R_{GEL}^2} \int_{D_{GEL,ij}^t} U(\mathbf{x}, t) dx \right)$$

$$f_{a,ij} := \begin{cases} f_{a,1} & (\mathbf{r}_i^t - \mathbf{r}_j^t) \cdot \mathbf{v}_i^t > 0 \text{ かつ } (\mathbf{r}_i^t - \mathbf{r}_j^t) \cdot \mathbf{v}_j^t < 0, \\ f_{a,2} & (\mathbf{r}_i^t - \mathbf{r}_j^t) \cdot \mathbf{v}_i^t < 0 \text{ かつ } (\mathbf{r}_i^t - \mathbf{r}_j^t) \cdot \mathbf{v}_j^t > 0, \\ f_{a,3} & \text{otherwise.} \end{cases}$$

- $u(x)$ ：ステップ関数
- λ_a ：引力判定の閾値
- $D_{GEL,ij}^t$ ：中心 $(\mathbf{r}_i^t + \mathbf{r}_j^t)/2$ ，半径 R_{GEL} の円の内部領域

(今回の拡張にあたり着目した知見や考察)

- 細胞はECMを分解し、自分自身だけではなく周囲の細胞にとっても進みやすい道を作る．細胞は周囲のECMから抵抗力を受け、ECMの分解されると抵抗力は低減される [8]．
- 同方向に運動する2体間の引力はほとんど生じていない [9]．よって $f_{a,3} \approx 0$ と考えられる．
- 式(2)の引力の定義はECMの影響を無視する可能性があるため、ECM分解度に応じた引力を再定義する必要がある．

— 2次元の拡張モデルのシミュレーション —

図6のように大動脈リングアッセイに類似したシステムでのシミュレーションを行った。標準的な内皮細胞の扁平率 $f = 0.7 \sim 0.8$ を用いることで、先行研究

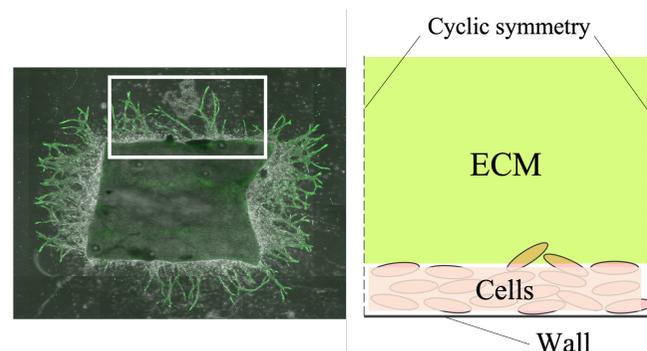


図6：(左) 大動脈リングアッセイの実験の様子[9]、(右) 左図を再現するシミュレーション設定。

で見られていた枝伸長に加え、先端部での分岐が確認された(図7)。次に $f = 0.75$ において、伸長した枝を抽出し、細胞がどの程度すれ違っているかを確認した(図8)。先端細胞が何度か入れ替わり、枝の根元に近い部分ではU-turn細胞の存在が確認された。これは、実際の細胞集団のcell-mixingをある程度再現できていると考えられる。

ことで、先行研究で見られていた枝伸長に加え、先端部での分岐が確認された(図7)。次に $f = 0.75$ において、伸長した枝を抽出し、細胞がどの程度すれ違っているかを確認した(図8)。先端細胞が何度か入れ替わり、枝の根元に近い部分ではU-turn細胞の存在が確認された。これは、実際の細胞集団のcell-mixingをある程度再現できていると考えられる。

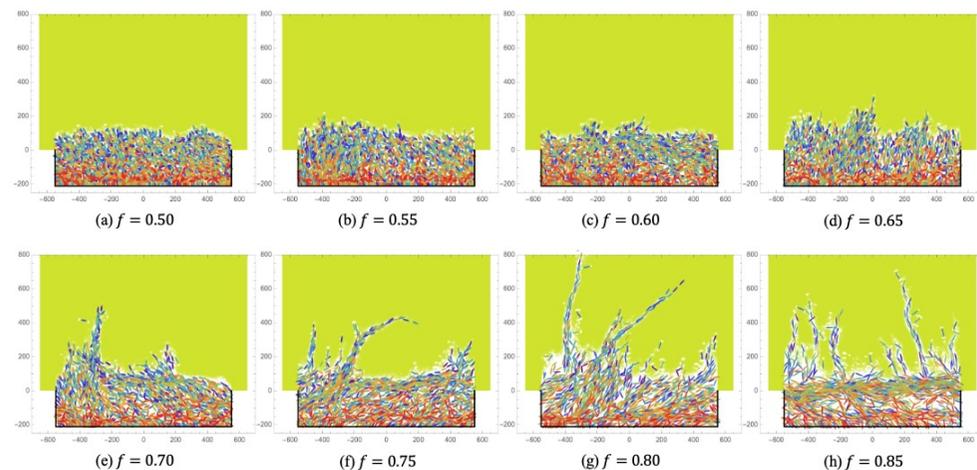


図7：扁平率 $f = 0.50 \sim 0.85$ におけるリングアッセイを再現するシミュレーションの様子。

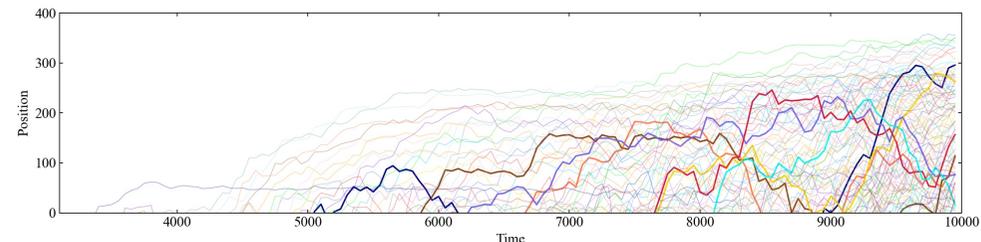


図8： $f = 0.75$ において伸長した枝を抽出し、各細胞の中心を長軸の平均方向に射影することで枝内での運動を観察した。

— 今後の課題 —

- ・管腔形成を意識したモデルへの第一歩としてモデル[6]の3次元化を行い血管新生の初期パターンの3次元再現に成功したが、管腔形成の再現はできていないため、更なる拡張を行う必要がある。また、一般の楕円体に拡張した場合にどのようなパターンが得られるかは未検証である。
- ・ECMの効果を加えた2次元モデルでは、伸長・分岐・cell-mixingが実験結果と類似しているが定量的な解析ができていない。また、実験データから分枝の長さや分岐の角度、すれ違いの回数等を解析し、本モデルのパラメータを見積もる必要がある。

— 参考文献 —

- [1] Satoshi Arima, *et al.*, *Development*, 138(21):4763–4776, 2011.
- [2] Amy L Bauer, *et al.*, *PLoS computational biology*, 5(7):e1000445, 2009.
- [3] Alexander RA Anderson, *et al.*, *Bulletin of mathematical biology*, 60(5):857–899, 1998.
- [4] Kei Sugihara, *et al.*, *Cell reports*, 13(9):1814–1827, 2015.
- [5] Keisuke Matsuya, *et al.*, *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 76(6):2243–2259, 2016.
- [6] Tatsuya Hayashi, *et al.*, *arXiv:2201.03023*, 2022.
- [7] Tatsuya Hayashi, *et al.*, *In The 20th International Conference on System Biology*, 2019.
- [8] Masaya Hagiwara, *et al.*, *Communications Biology*, 4(1):808, 2021.
- [9] Naoko Takubo, *et al.*, *Scientific reports*, 9(1):1–9, 2019.