

鈴木 貴

大阪大学大学院基礎工学研究科・教授

数理医学が拓く腫瘍形成原理解明と医療技術革新

§1. 研究実施の概要

全体計画の 1/3 を占める「基礎医学の数理学」の最終年度として、基礎医学研究に数理的方法を導入し、同時に医学における様々な数理的問題の定式化と解決法の指針を定めた。最初のテーマでは初期浸潤過程における細胞変形・ECM 分解相互作用を素材とし、パスウェイと連続モデルによる二つの研究方法を確立した。すなわち、前者においては細胞分子生物学研究に基づいた化学反応パスウェイ数理モデリングを構築し、シミュレーションと実験との照合、キーパス探索を実施した。その結果、細胞内でのタンパク分子の微細な動態やキーパスに関する数理的予測が得られ、知見との照合が確認されるとともに、新たな実験が設定された。また後者においてはパスウェイ研究に基づいてよりマクロなスケールを俯瞰するトップダウンモデリングを実施し、数値シミュレーションによって浸潤突起を再現することで、ハイブリッドシミュレーションの基盤を確立した。2 番目のテーマでは、2 次元画像を用いた腫瘍組織自動診断において低分化型に有効な方法や生体磁場による脊髄機能分析法に関する数理モデルを開発して実用化を促進した。

§2. 研究実施体制

(1)「阪大」グループ

① 研究分担グループ長: 鈴木 貴 (大阪大学基礎工学研究科, 教授)

② 研究項目

- ・パスウェイネットワークモデルにおけるキーパス探索法
- ・膜型マトリックス・メタロプロテアーゼ生成に関するキーパス探索と阻害剤シミュレーション
- ・ECM 分解, 細胞変形のフィードバックのトップダウンモデリングと数値シミュレーション
- ・数理的手法による 2 次元画像解析腫瘍診断法の開発と実用化
- ・生体磁場に関する数理研究

(2)「東大」グループ

① 研究分担グループ長: 清木 元治 (東京大学医科学研究所所長, 教授)

② 研究項目

- ECM分解, 接着剥離など初期浸潤過程に関するパスウェイネットワークモデリングとシミュレーションによる細胞内タンパク質微細動態の数理的予測
- 分子細胞生物学の知見と実験によるシミュレーションの検証

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

初期浸潤パスウェイ解析

パスウェイモデリングでは Src 活性化, CADM1 のラフト集積に関して実施し, シミュレーションによってこれまでの分子細胞生物学実験による知見との合一性を検証した. 接着分子関連実験では, 細胞接着分子 CADM1 が, 接着状態では増殖因子受容体 MET と複合体を形成し, 細胞増殖, 遊走シグナルを阻害すること, 一方離脱状態では低分子量 G タンパク質 Rac の活性化因子 Tiam1 と結合し, Rac の活性化を介して細胞運動を促進することを見出し(文献 5), 初期浸潤過程の解析に適した実験系であることを示した. ECM 分解実験では MT1-MMP/HB-EGF の相互作用の役割を検証した. すなわち, 膜型 MMP1 (MT1-MMP) がヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (HB-EGF) の N 末端のプロセシングすることで, HB-EGF をヘパリン非依存的な EGF 様増殖因子へと変換することを新たに見出した. MT1-MMP によるプロセシングを受けた HB-EGF は EGF 受容体の活性化を介した胃がん TMK-1 細胞の 3 次元コラーゲンゲル内での増殖や浸潤を亢進した(文献 2). これら現象は卵巣がん細胞でも同様な結果が得られた(文献 6). また浸潤性卵巣がん組織の浸潤先進部では MT1-MMP, HB-EGF の共局在が見られ, 腹膜播種した浸潤がん細胞でも両者の共発現が見られた(文献 7). さらに腹水中の HB-EGF の分子種を調べたところ, 3/10 の腹水サンプルで MT1-MMP でプロセシングを受けた HB-EGF が検出された(文献 9).

反応拡散系ボトムアップモデリング

反応半径を用いて新しい化学反応規則を定式化し(市川公式, 文献 10), 分子の跳びに対してポアソン過程を適用したモンテカルロシミュレーションを検証した(文献 4). 存在確率を時空に連続分布させることで物質輸送のマスター方程式を定式化し, 特に平均場極限において拡散係数がアインシュタインの式と一致するものであることを示した. 同じ方法で化学反応項に市川公式を適用した場合では非局所項をもつ反応拡散方程式が出現すること, また平均待ち時間一定の正規化を行った障害モデルから Smoluchowski 方程式が得られることを明らかにした(文献 11).

ECM分解・細胞変形トップダウンモデリング

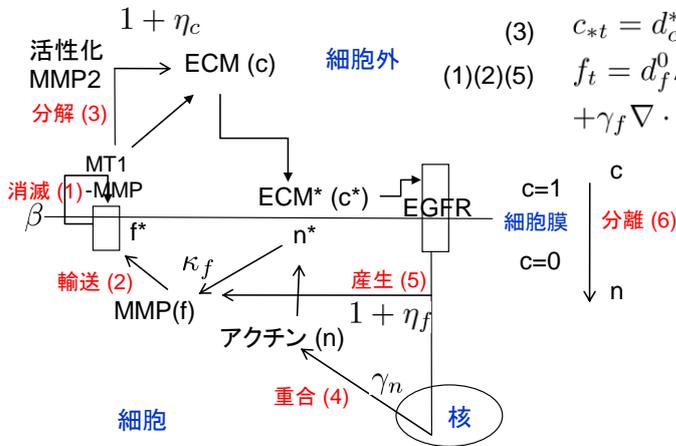
細胞分子生物学実験の知見を調査して初期浸潤の 3 要素である ECM 分解・細胞膜接着剥離・細胞変形に関わる統合パスウェイを構築し, 階層的なポジティブフィードバックの存在を明らかにした. 特に ECM 分解における MT1-MMP 発現について TIMP による活性化の揺らぎに着目したトップダウンモデル(図 1)を構築して数値シミュレーションを実施し, MT1-MMP 発現の局在化に起因する突起(インバードポディア)の生成や, 二つのフィードバックループの細胞変形における異なる役割が確認された.

ECM 分解 - 細胞変形トップダウンモデル (4)(6) $n_t = d_n^0 \Delta n + \nabla \cdot n \nabla \chi(c) - \gamma_n \nabla \cdot n \nabla c_*$

(3) $c_t = -\kappa_c(1 + \eta_c)cf$

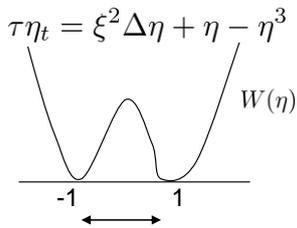
(3) $c_{*t} = d_c^* \Delta c_* + \kappa_c(1 + \eta_c)cf$

(1)(2)(5) $f_t = d_f^0 \Delta f + \kappa_f(1 + \eta_f)\chi_{n>0}fc^* - \beta f + \gamma_f \nabla \cdot f \nabla n$

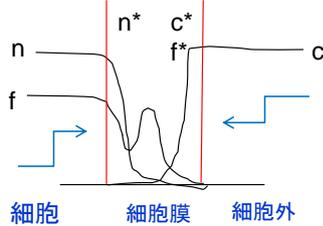


$\eta_c \rightarrow -1$
 $\eta_f \Rightarrow -1$ 2重スイッチ
 $\chi(c) = \delta_n \tan(c\pi/2)$

スイッチング

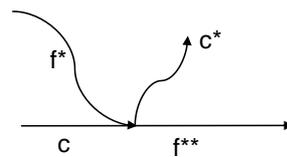


細胞内・細胞外相互作用域



ECM 分解

$c_t = -\kappa_c(1 + \eta_c)cf$



(図 1)

ECM 分解・細胞変形トップダウンモデルに基づいて、アクチン動態に関するハイブリッドシミュレーションを実行し、重合は組み込んでいないものの、F-アクチンが細胞膜に移動する様子が再現された。

腫瘍微小環境トップダウンモデリング

間質に浸潤したがん細胞と微小環境との相互作用(図 2)の組織レベルでの数理モデルとして、走化性競合系を導入し、特に質量分離と同時爆発を数学的に証明した(文献 12)。

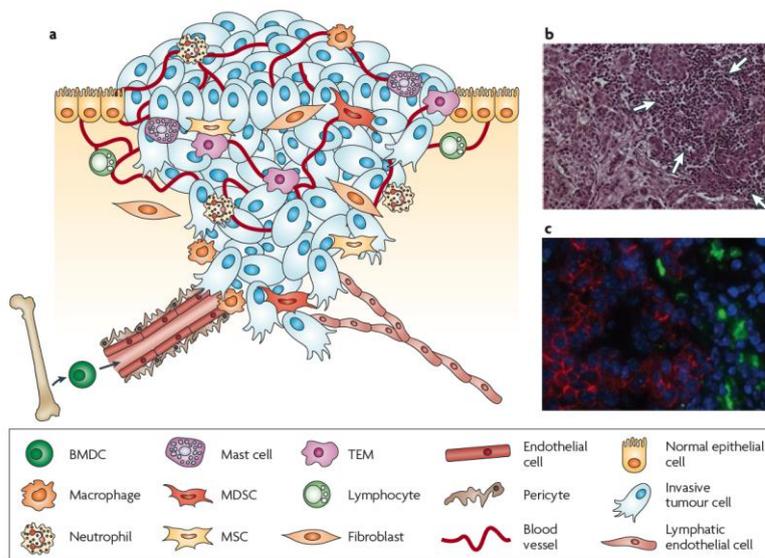


図 2

(J. Joyce and J. Pollard, 2009)

腺がん自動検査ソフトウェア開発

生体組織画像から癌病変部を抽出するアルゴリズム(組み合わせ不変量アルゴリズム)を実装したソフトウェアを開発した。本ソフトウェアは閾値を定めてボクセル毎の画像データを2値化して1検体の画像を標準化する手法と、標準化した画像のホモロジーから二つの指標を定式化する部分から成り立つ。大腸がんに対する画像分析結果では、癌の増殖に伴う接触・離散の変化を新しい動作原理で読み取り、偽陰性が少なく処理速度が速いこと、1%程度の擬陽性はあるものの病理医の判断と良く一致していることが実証された。本年度から新たに戦略的基盤技術高度化支援事業の支援も受け、組織画像自動撮影装置を導入して撮影と同時に判定できるように改良を試みた。

生体磁場源探索

新しい逆源探索法 ENIDM(element number increasing-decreasing method)の動作原理と実行ソフトを開発して脳磁図分析の数値実験を行った。この方法は個数、位置、モーメントが未知の逆源(双極子をモデルとした3次元ベクトル)を平行最適化理論に基づくclusteringとは逆に素片数を増やすことで探索する方法で、モーメント推定が不安定なことを逆に利用し、GOFの変化率による素片数の制御が核となっているものである(図3)。10個の双極子を正しく推定するなど、高速で多数双極子推定に有利であり、ノイズに対してロバストであることを確認した(文献1)。

- 分析例 (数値実験)
 - 分析内容・・・複数電流源の推定
 - 電流源20パターン×ノイズ10パターン=計200回の分析実験
 - 分析結果・・・高確率で正しい電流源を推定
 - 電流源が少ないほど高確率で推定可能
 - 5個の電流源の例⇒200回中93回で推定に成功

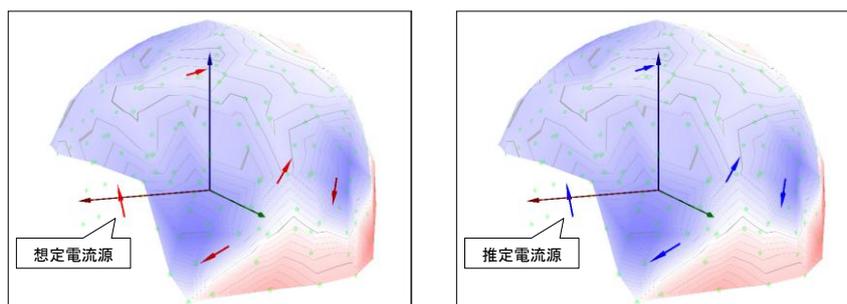


図 3

次に ENIDM を用いて高次脳機能情報を含む脳磁場実データを分析し、異常モーメントを有する推定電流双極子の出現などの諸問題を抽出した。これらの問題解決のためプログラム改良、境界条件最適化などを行い、異常モーメントを排除し、脳機能の説明に適切な解をほぼ安定して得ることが可能となった(文献 8)。また脊椎機能分析に向けて順問題(静磁場方程式)の実効的解法研究を開始した。二つの Geselowitz 方程式と双極子仮説によってモデル方程式を構築し、脊椎標準的骨格画像を入手して表面の単体分割粗視化を実行した。境界要素法による順問題解法ソフトを開発し、数値実験によってその特性を確認して改良を進めた。ファントムデータを入手し(文献 3)、実験とシミュレーションとの照合を実施した。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. 佐藤真, 鈴木貴, 足立善昭, 電流双極子を自動決定する複数電流双極子推定手法, 日本生体磁気学会誌, 23, 36-37, 2010.

2. N. Koshikawa, H. Mizushima, T. Minegishi, T. Iwamoto, E. Mekada, M. Seiki, Membrane type 1-matrix metalloproteinase cleaves off the NH₂-terminal portion of heparin-binding epidermal growth factor and converts it into a heparin-independent growth factor. *Cancer Res.* 70 (14):6093-103, 2010

3. 足立善昭, 上原弦, 石井宣一, 榊経平, 川端茂徳, 河田芳秀, 佐藤真, 多極カテーテル電極を用いた脊髄ファントムの試作, 日本生体磁気学会誌, 23, 180-181, 2010.
4. Ichikawa, K., Suzuki, T., and Murata, T., “Stochastic simulation of biological reactions, and its applications for studying actin polymerization”, *Physical Biol.*, Vol.7(2010), 046010. (doi: 10.1088/1478-3975/7/4/046010)
5. M. Masuda, T. Maruyama, T. Ohta, A. Ito, T. Hayashi, K. Tsukasaki, S. Kamihira, S. Yamaoka, H. Hoshino, T. Yoshida, T. Watanabe, E.J. Stanbridge, and Y. Murakami, CADM1 interacts with Tiam1 and promotes invasive phenotype of human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) transformed cells and adult T-cell leukemia (ATL) cells. *J. Biol. Chem.* 285, 15511-15522, 2010 (doi:10.1074/jbc.M109.076653)
6. KS. Riggins, G. Mernaugh, Y. Su, V. Quaranta, N. Koshikawa, M. Seiki, A. Pozzi, R. Zent, MT1-MMP-mediated basement membrane remodeling modulates renal development. *Exp Cell Res.* 316 (17):2993-3005, 2010
7. N. Koshikawa, H. Mizushima, T. Minegishi, F. Eguchi, F. Yotumoto, K. Nabeshima, S. Miyamoto, E. Mekada, M. Seiki, Proteolytic activation of heparin-binding EGF-like growth factor by memberane-type matrix metalloproteinase-1 in ovarian carcinoma cells, *Cancer Sci.* 102 (1) 111-6, 2011
8. 佐藤真, 脊髄誘発磁場分析における磁場源の考察, 日本応用数理学会論文誌, 2010, in press.
9. D. Hoshino, N. Koshikawa, M. Seiki, A p27kip1-binding protein, p27RF-Rho, promotes cancer metastasis via activation of RhoA and RhoC. *J Biol Chem.* in press.
10. K. Ichikawa, Localized activation of proteins in a free intracellular space: dependence of cellular morphologies and reaction schemes, *Bio Sys.* Accepted
11. K. Ichikawa, M. Rouzaimaiti, T. Suzuki, Reaction diffusion equation with non-local term arises as a mean field limit of the master equation, *Proc. PDE Approximations of Fast Reaction and Slow Diffusion* (ed. T. Aiki), accepted

12. A. Stevens, T. Suzuki, A competitive system of chemotaxis: simultaneous blowup and collapse mass separation, Adv. Differential Equations, accepted

(4-2) 知財出願

① 平成22年度特許出願件数
該当なし

② CREST 研究期間累積件数(国内 1件)