

「数学と諸分野の協働によるブレークスルーの探索」  
平成21年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告
----------------

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. 研究実施体制

### (1)「阪大」グループ

① 研究代表者: 鈴木 貴 (大阪大学大学院基礎工学研究科、教授)

#### ② 研究項目

- ・パスイネネットワーク数学解析
- ・細胞生物学数理モデリング・数学解析
- ・組織画像自動検査のための位相的方法
- ・脊髄磁場逆源探索

### (2)「東大」グループ

① 主たる共同研究者: 清木元治 (東京大学医科学研究所腫瘍細胞社会学分野、教授)

#### ② 研究項目

- ・病理データ分析
- ・実験と数理による初期浸潤過程のタンパク質微細動態解明
- ・細胞接着の細胞生物学

## § 2. 研究実施内容

### 1. ボトムアップモデルのパス解析 [1]

研究のねらい がんの浸潤・転移に重要な役割を担う細胞外基質分解酵素 MMP2 の活性化についてチームで構築した MT1-MMP/TIMP2/MMP2 の結合・解離数理モデルに対し、阻害解析を行ってどの相互作用を薬剤標的とすることが最も効率的なのかを調べた。

研究実施方法 最初に一般の複合体形成過程において阻害剤濃度に対する系の反応を定量化し、阻害効率により相互作用の分類を行う方法を開発し上記モデルに適用した。その結果 TIMP2 と MMP2 の結合・解離反応が最も阻害効率の高い相互作用であることを突き止めた。

今後の見通し 本手法は MMP モデルのみではなく、広く複合体形成過程に関して阻害効率による相互作用の分類を行うものであり、がん治療の新たな戦略となる見通しである。

### 2. 初期浸潤過程 ECM 分解の数理モデル予測と分子細胞生物学実験による照合 [5]

研究のねらい 膜型 MMP (MT1-MMP) ががんの浸潤・転移に重要であることが報告されているが、どのように浸潤突起へ局在するのか等未解明な点が多い。そのメカニズムの一端を数理モデルと細胞生物学実験の照合により解明した。

研究実施方法 MT1-MMP の膜輸送を確認するため、蛍光タンパク質を融合させた MT1-MMP を発現させたがん細胞を作製した。浸潤突起はアクチンドットで、小胞内 MT1-MMP の蛍光シグナルと判別するのが困難であるが、特定の波長で pH 依存的に蛍光を発する変異型 GFP を用いることで、この問題を解決した[3,4]。次にこの変異型 GFP ががん細胞を用い、MT1-MMP の浸潤突起への局在様式を FRAP で解析してターンオーバー時間が 26 秒と 259 秒の二つの経路が存在することを見出した。さらに、MT1-MMP の浸潤突起への輸送は膜内拡散によるものでなく小胞輸送で制御されていること、さらにリソソーム分泌経路で行われていることを明らかにした。これらの実験的データを基に数理モデルを修正し、26 秒・259 秒どちらの経路も効率的な ECM 分解に必須であることを確認した。

今後の見通し 本研究で浸潤突起への MT1-MMP の繰り返し輸送が ECM 分解に大きく寄与する因子であることが明らかとなった。また詳細なアクチンバンド動態を視覚化する方法も確立した [2]。数理的な方法により挿入された MT1-MMP 濃度のピークと続く定常状態濃度の関係も明らかになる見通しである。

### 3. ECM 分解・細胞変形フィードバック揺らぎと局在化 [6]

研究のねらい がんの浸潤過程では ECM 分解と細胞運動が浸潤突起と呼ばれる構造体で協調的に働き、特に ECM 分解されたフラグメントが細胞表面の受容体に捕捉されて正のフィードバックが実現することが報告されている。数理モデルを構築してこれらの現象を俯瞰し、細胞内の 2 つのポジティブフィードバックループのそれぞれの役割を検証した。

研究実施方法 細胞内外の分子間相互作用を偏微分方程式によってモデリングし、ECM 分解に

関してゆらぎを導入した数値シミュレーションを行った。その結果、実験で報告されている時空間スケールを持った浸潤突起が再現できた。

今後の見通し 本モデルによって浸潤突起形成において正のフィードバックと ECM 分解のゆらぎが関与し、細胞内の 2 つのフィードバックループのそれぞれの役割が明らかになった。一方でシミュレーションでは細胞膜による内外の分離が徹底しなかったため自由境界を用いた改良モデルを開発した。改良モデルによって細胞間の接着剥離を組み込んだ多細胞ハイブリッドシミュレーションが実施できる見通しである。

#### 4. 細胞接着の分子細胞生物学研究

研究のねらい 免疫グロブリン・スーパーファミリー細胞接着分子 CADM1 は細胞内タンパク質である 4.1B や MPP3、アクチンと結合して上皮の接着・上皮様細胞形態の形成・維持に関わる癌抑制タンパク質である。細胞生物学実験によりその役割を詳細に解明する。

研究実施方法 乳癌・腎癌では悪性化に伴い CADM1 の発現欠如や異常が認められる[7,8]一方、小細胞肺癌では CADM1 が過剰発現し、悪性形質を増強する癌タンパク質として機能する[9]。そこでこれら発現異常、特に機能喪失型の異常の分子機構として遺伝子のメチル化による発現抑制・miRNA による制御・プロテアーゼによる分解に加えて、CADM1 タンパク質の細胞膜への局在の消失が重要であることを見出した[7,8,10,11]。

今後の見通し タンパク質を蛍光標識し、FARP 解析・FLIP 解析を行うことによりその細胞膜上の動態を検討する。CADM1 タンパク質はその細胞内結合タンパク質である 4.1B や MPP3、アクチンと比較して細胞膜上で安定に存在し、その安定性には細胞内結合タンパク質との複合体形成や脂質ラフトが関わっている。数理モデルの援用によって CADM1 の動態と拡散との関係が明らかになる見通しである。

#### 5. 生体磁場を用いた脊髄機能分析

研究のねらい 患者からの脊髄磁場測定データに逆問題解アルゴリズムを適用するため、いくつかの前処理を確立する。

研究実施方法 拡散 MRI で取得した患者の頸椎および腰椎の解剖学的構造データに即し、より精密な脊髄周囲の電機伝導度モデルを作成するためのソフトウェアを構築した。

今後の見通し 患者の測定データには環境磁気雑音や電気刺激のアーチファクトなどの種々の雑音が混入するが、統計的手法を適用した雑音処理アルゴリズムを実データ分析のためのモジュールとして使用できる見通しである。

#### 6. 細胞数理モデルの数学解析

研究のねらい 生命動態を解明するために様々な数理モデルが用いられている。特に細胞と関わるものについて数理構造を明確にして数学解析を行い、モデルの正当性を検証する。

研究実施方法 最初に細胞動態に対するマルチスケールモデルの数学解析を実施した[16]。次

に化学反応を組み込んだ確率・離散シミュレーションを正当化するため、平均場近似を導出し解の減衰レートを明確にした[12, 15]. さらに競合的な走化性方程式系を導入して、マクロファージとがん細胞の相互作用下で実現される自己組織化の原理を解明した[13].

今後の見通し 多種の相互作用を熱力学系としてとらえ、生命系のホメオスタティスを確立する原理は、より広い生物モデルで解明される見通しである[14].

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### ●論文詳細情報

- [1] T. Saitou, K. Itano, D. Hoshino, N. Koshikawa, M. Seiki, K. Ichikawa, and T. Suzuki, Control and inhibition analysis of complex formation processes, *Theoretical Biology and Medical Modelling* **9**:33, 2012 (DOI:10.1186/1742-4682-9-33)
- [2] D. Hoshino, M. Nagano, A. Saitoh, N. Koshikawa, T. Suzuki, and M. Seiki, The Phosphoinositide-Binding Protein ZF21 Regulates ECM Degradation by Invadopodia. *PLoS One*. 2013;8(1):e50825. doi: 10.1371
- [3] D. Hoshino, J. Jourquin, S.W. Emmons, T. Miller, M. Goldgof, K. Costello, D.R. Tyson, B. Brown, Y. Lu, N.K. Prasad, B. Zhang, G.B. Mills, W.G. Yarbrough, V. Quaranta, M. Seiki, and A.M. Weaver, Network analysis of the focal adhesion to invadopodia transition identifies a PI3K-PKC $\alpha$  invasive signaling axis. *Sci Signal*. 2012 Sep 11;5(241):ra66. doi: 10.1126
- [4] T. Shuo, N. Koshikawa, D. Hoshino, T. Minegishi, H. Ao-Kondo, M. Oyama, S. Sekiya, S. Iwamoto, K. Tanaka, and M. Seiki, Detection of the heterogeneous O-glycosylation profile of MT1-MMP expressed in cancer cells by a simple MALDI-MS method. *PLoS One*. 2012;7(8):e43751. doi: 10.1371
- [5] D. Hoshino, N. Koshikawa, T. Suzuki, V. Quaranta, A.M. Weaver, M. Seiki, and K. Ichikawa, Establishment and validation of computational model for MT1-MMP dependent ECM degradation and intervention strategies. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(4):e1002479. doi: 10.137
- [6] T. Saitou, M. Rouzaimaiti, N. Koshikawa, M. Seiki, K. Ichikawa, and T. Suzuki, Mathematical modeling of invadopodia formation. *J Theor Biol*. 2012 Apr 7;298:138-46. doi: 10.1016
- [7] M. Nagata, M. Sakurai-Yageta, D. Yamada, A. Goto, A. Ito, H. Fukuhara, H. Kume, T. Morikawa, M. Murayama, Y. Homma, and Y. Murakami, Aberrations of a cell

- adhesion molecule CADM4 in renal clear cell carcinoma. *Int J Cancer*, 130:1329-1337, 2012
- [8] Y. Takahashi, M. Iwai, T. Kawai, A. Arakawa, T. Ito, M. Sakurai-Yageta, A. Ito, A. Goto, M. Saito, F. Kasumi, and Y. Murakami, Aberrant expression of tumor suppressors, CADM1 and 4.1B, in invasive lesions of primary breast cancer. *Breast Cancer*, 19:242-252, 2012
- [9] S. Kikuchi, M. Iwai, M. Sakurai-Yageta, Y. Tsuboi, T. Ito, T. Masuda, H. Tsuda, Y. Kanai, M. Onizuka, Y. Sato Y, and Y. Murakami, Expression of a splicing variant of the CADM1 specific to small cell lung cancer. *Cancer Science*, 103, 1051-1057, 2012
- [10] Y. Nagara, M. Hagiyaama, N. Hatano, E. Futai, S. Suo, Y. Takaoka, Y. Murakami, S. Ishiura, and A. Ito, Tumor suppressor cell adhesion molecule 1 (CADM1) is cleaved by A disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10) and subsequently cleaved by gamma-secretase complex. *Biochem Biophys Res Commun*, 417:462-467, 2012
- [11] M. Ishimura, M. Sakurai-Yageta, T. Maruyama, T. Ando, M. Fukayama, A. Goto, and Y. Murakami, Involvement of miR-214 and miR-375 in malignant features of non-small-cell lung cancer by down-regulating CADM1. *J Cancer Therapy*, 3:379-387, 2012
- [12] N. Kavallaris and T. Suzuki, Non-local reaction-diffusion system involved by reaction radius I, *IMA J. Appl. Math.* (2012) 1-19, doi:10.1093/imamat/hxr068
- [13] E.E. Espejo, A. Stevens, and T. Suzuki, Simultaneous blowup and mass separation during collapse in an interacting system of chemotactic species, *Differential and Integral Equations* (2012) 251-288
- [14] E. Latos, T. Suzuki, and Y. Yamada, Transient and asymptotic dynamics of a prey - predator system with diffusion, *Math. Meth. Appl. Sci.* 35 (2012) 1101-1109
- [15] N. Kavallaris and T. Suzuki, Non-local reaction-diffusion system involving reaction radius II, rate of convergence, *IMA J. Appl. Math.* doi:10.1093/imamat/hxs032.
- [16] T. Suzuki, Mathematical models of tumor growth systems, *Mathematica Bohemica* 137 (2012) 201-218

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)