

平成21年 6月 15日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18700294
 研究課題名(和文) 突然変異ダイナミクスによる発がん過程での腫瘍の形態的变化の計算機シミュレーション
 研究課題名(英文) Simulation of morphological aspects of carcinogenesis

研究代表者
 大内 則幸 (OUCHI NORIYUKI)
 日本原子力研究開発機構 原子力基礎工学研究部門・研究員
 研究者番号：30370365

研究成果の概要：突然変異しながら細胞が増殖し、腫瘍を形成していくダイナミクスを記述するモデルの構築を行った。細胞の突然変異率、細胞死の割合といったパラメータと腫瘍の発生/非発生や成長速度との関係についてシミュレーションを行い、腫瘍の発生において細胞死および突然変異率パラメータに依存したしきい値が存在する事を示し、また Gompertz 曲線でフィットできる成長曲線を得た。また実際の組織構造での発がんダイナミクスをモデル化する為の組織構造の細胞集団モデルを構築した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1500000	0	1500000
2007年度	300000	0	300000
2008年度	500000	150000	650000
年度			
年度			
総計	2300000	150000	2450000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：コンピュータシミュレーション

1. 研究開始当初の背景

わが国において、がんは死因のトップでありおよそ3人に1人ががんで亡くなっている。がん(悪性腫瘍形成)とは、遺伝子に関連した疾患であり、DNA損傷に起因する細胞の突然変異による事が知られている。またがんは、高線量放射線の被曝においてその線量に比例して発症率が上昇する事が知られているが、医療診断や宇宙空間などで被曝するような低線量放射線の影響に関しては良くわかっておらず、高線量における比例関係をそのまま外挿してリスク評価に用いているのが現状である。さらに、アスベストによる発がんや環境因子による化学発がんも含め、バ

ックグラウンドの数～数十倍という低線量域における生物影響の研究は、年々その重要性が増してきていると言える。

また、がんは同じがんでも各個人によってその形成過程の違いから性質が異なり、治療を難しくするひとつの要因にもなっている。その為、がん化プロセスを研究して履歴やメカニズムを知ることが重要である。しかし実験で経時的に細胞のがん化プロセスを調べる事は技術的に困難であり、数理モデルの構築とそのモデルによる発がんプロセスの研究は有効な研究の一つである。特に、近年低線量域においけるこれまで知られていなかった新しいタイプの細胞影響として、細胞集団

における細胞影響のバイスタンダー効果や遺伝的不安定性による遅延的影響、さらには細胞微小環境の発がんへの寄与などの細胞の集団効果とでも言える新しいアイデアに関して、統一的に研究を進めていく必要性が高まってきている。

2. 研究の目的

研究の目的として、突然変異によって変異した細胞が、周りの細胞と相互作用しながら、侵食・増殖し、腫瘍を形成し、転移するようなダイナミクスを取扱い可能なモデルの構築、特に細胞集団としての腫瘍の形態形成を念頭においたモデルの構築が挙げられる。その際、細胞の突然変異率、細胞死の割合、細胞分裂の頻度などの測定可能な統計量と腫瘍の成長速度や形態変化との関係を計算機シミュレーションによって明らかにする。また、実験にて確認されているバイスタンダー効果、密度依存性分裂阻止の喪失、足場依存性の低下、遺伝的不安定性による遅延影響といった空間的な細胞集団の分布を考慮する必要のある問題に対する新たな知見を得る事も目的の一つである

3. 研究の方法

発がん過程を記述する際、細胞事態の物理的ダイナミクスと細胞内の生物学的ダイナミクスの2種類のスケールの異なるダイナミクスが相互にカップルするモデルを構築した。以下にそれぞれのダイナミクスについて簡単に説明する。

(1)細胞の物理的ダイナミクス

細胞が空間的に2次元に制限された状態を、細胞間の接着力や細胞膜の弾性力といった物理的ダイナミクスをCellular Q -Pottsモデルを用いてモデル化する。具体的には、以下の図1の様に格子点上に配置されたスピン数

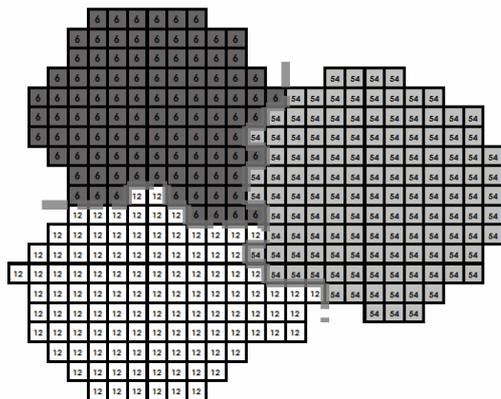


図1 Cellular Q -Pottsモデル

と呼ぶ一群の格子点で一つの細胞を表し、そ

れぞれの細胞毎に多細胞との接着エネルギー、またそれぞれの細胞毎に弾性エネルギー（曲げ弾性、表面張力）を計算し、モンテカルロ法で系全体のエネルギーを下げるようにする。このCellular Q -Pottsモデルはこれまでヒドラの再生現象や細胞性粘菌の生活環などの細胞集団のダイナミクスのモデル化やシミュレーションで非常に有効である事が知られている。このように、例えばシャーレ上で培養された細胞集団の物理的なダイナミクスをモデル化する。

(2)細胞内部ダイナミクス

さらに細胞内部のダイナミクス（突然変異、細胞死や細胞分裂）に関しては、発がんの多段階モデルと呼ばれる、正常細胞からがん細胞に至るまでに離散的な状態を数段階経てから移行するという、つまり発がん過程は細胞内部のダイナミクスから見た場合にその内部に複数個の突然変異が蓄積して進行する、という発がんの多段階仮説をモデル化したものを用いた(図2)。

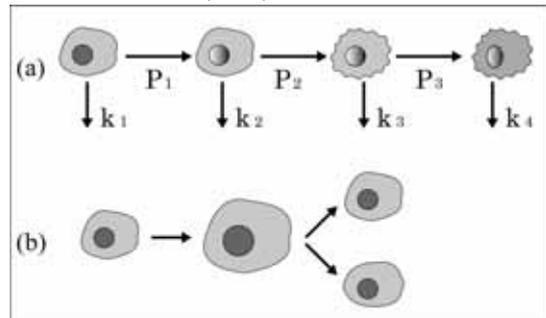


図2 (a)細胞の多段階ダイナミクスと (b)細胞分裂ダイナミクス

この多段階モデルには、その離散的な段階を上のステージに移行する為の突然変異の確率(P1-P3)、さらにそれぞれのステージにおける細胞死の確率(k1-k4)、また細胞が物理的に大きく成長する事による細胞分裂を決める細胞分裂のパラメータという主に3つのパラメータを組み込んだ。Cellular Q -Pottsモデルには細胞間の接着力、さらに細胞の弾性に関連したパラメータが存在するが、正常細胞が発がん化する際に膜たんぱくなどの突然変異からその弾性や接着力を変化させる、細胞内ダイナミクスからの細胞外ダイナミクスへのフィードバック機構もモデルに導入した。

これらを計算機ワークステーション上でシミュレーションし、突然変異や細胞死などのパラメータの変化と腫瘍形成プロセスの関係について、腫瘍の成長曲線やその形態変化など統計的な解析を行い、さらには腫瘍の発生などの条件について調べる。

4. 研究成果

(1)腫瘍(がん)の発生/非発生の条件
人間の体には多数の細胞が存在するが、それらからがん細胞が発生し、増殖して腫瘍を形成するプロセスに関しては未だに未解明な事象が多い。我々の体で生じている突然変異の頻度から考えると、おそらくがん細胞自体は現在考えられているよりも多数発生しているはずで、しかし腫瘍形成(発がん)自体はその確率よりもずっと低いと考えられる事から、がん細胞の発生からその増殖に関するダイナミクスにおいて、様々な要因で腫瘍という大きさまで成長しないケースが多いのだと予想される。そこで、がん細胞の発生から腫瘍の形成までのプロセスにおいて、特に腫瘍がどのような物理/生物学的な要因で発生するのかを、モデルからのシミュレーションで調べた。

具体的には 2 次元の空間上に広がった状態(例えばシャーレ上の細胞培養系のような)における細胞集団の突然変異ダイナミクスについて計算機シミュレーションで調べた。モデルは既に述べたように、細胞間接着や細胞膜の弾性力といった物理的ダイナミクス、加えて細胞の突然変異、細胞死、細胞分裂といった細胞内ダイナミクスを含むものであり、接着力や細胞膜の弾性力などのパラメータは実験と対応可能なデータを用いた。突然変異に関しては3段階(イニシエーション、プロモーション、プログレッション)を考え、細胞死、細胞分裂を導入したモデルでがん細胞の増殖に関してパラメータ(突然変異、細胞死の確率)依存性をがん細胞のポピュレーションダイナミクスから調べたところ(図3)、がん細胞の増殖が認められない(腫瘍の発生しない)領域、および腫瘍が時間に関して線形、または指数関数的に増大する3つの領域が認められた。

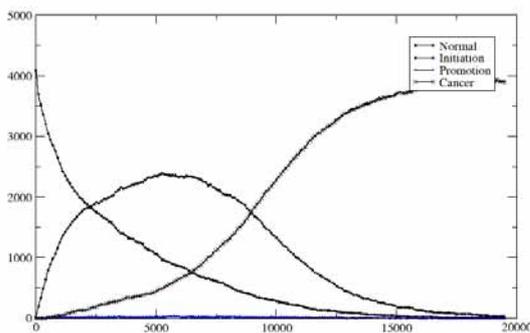


図3 各ステージ毎の細胞数の個体数変動

またがん細胞になるまでに3段階ある突然変異のうち、とくに正常細胞から最初に生じる突然変異(イニシエーション)と腫瘍の発生/非発生に関して顕著な閾値依存性が見られることがわかった。図4はイニシエーションの確率を変化させた場合のある時間までの腫瘍のサイズ変化であり、ある P_1 の値を

境に腫瘍の発生と非発生の領域が分けられる(赤が腫瘍発生、青は発生しない領域)。

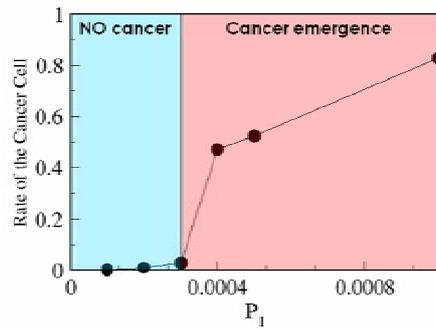


図4 腫瘍の発生とイニシエーション

(2)腫瘍の成長曲線

発がんリスクを考える場合、ダメージを受けて突然変異した細胞ががん化し、腫瘍を形成するまで、つまりある程度の大きさまで成長する際の時間変化の関数形を知る事は、がんの発生までの時間を知るという観点から非常に重要である。そこで、細胞集団の発がんのモデルを用いて、その個体数変動ダイナミクスから腫瘍のサイズの時間変化を表す成長曲線に関する計算と解析を行った。これまでと同様な、2次元に広がった細胞系において、腫瘍が時間とともにどのように増大していくかを突然変異、細胞死といったパラメータを変化させて計算したところ、成長曲線に関しては古くからがんの成長曲線としてよく知られる、Gompertz 曲線を用いる事でフィットさせることができることがわかった。図5が得られた成長曲線の一つであり、縦軸は細胞数、横軸が時間、また赤いラインがシミュレーションで得られた腫瘍の成長曲線で、緑のラインが Gompertz 関数である。

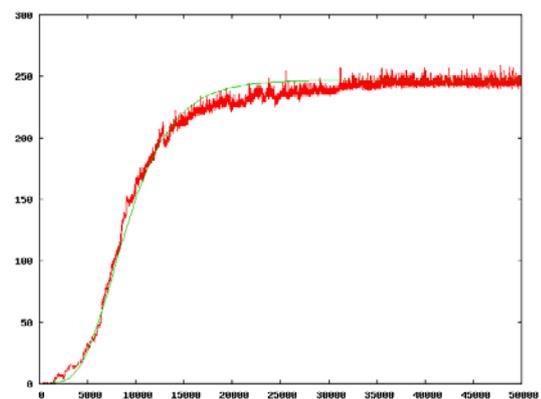


図5 モデルの計算から得られた腫瘍の成長曲線

モデルにおいて導入しているダイナミクスは多段階の発がん過程、細胞死、細胞分裂、細胞自体の成長といった要素だが、そのようなシンプルなモデルから Gompertz 型の成長曲線が再現できたことは、今後の腫瘍の成長

における重要なキー因子の発見に対する寄与が期待される。さらに Gompertz 関数のパラメータを使って成長曲線から腫瘍形成のダイナミクスがおおよそ3つの相に分類可能である事がわかった。詳しい解析は今後の課題である。

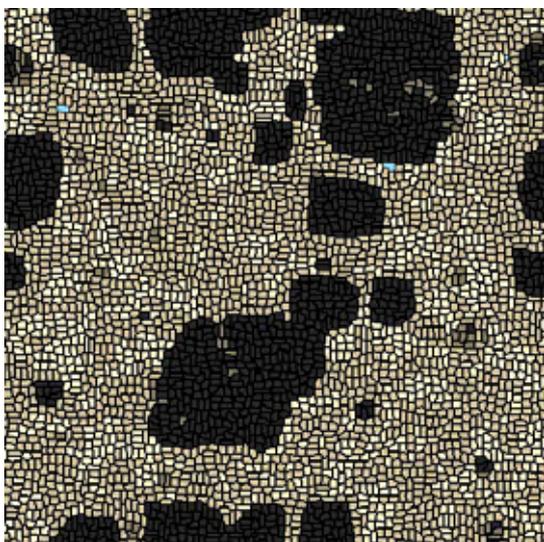


図 6 腫瘍形成シミュレーションのスナップショット

(3) 生体組織中での発がんダイナミクス

これまではシャーレ上の培養細胞という細胞の分布が一様である系を対象にモデル化、シミュレーションを行ってきたが、実際にヒトで生じるがんとの対応関係を調べるためにも、生体組織における構造を持った表皮組織や大腸におけるクリプト構造などの細胞ダイナミクスシミュレーションモデルを構築した。組織中での細胞のダイナミクス、特に移動に関してはこれから解析する予定であり、また今後は同じ多段階モデル的なアプローチで細胞の分化などもモデルに組み込み、その上で発がんダイナミクスの導入によって組織中での発がんプロセスを調べていく予定である。

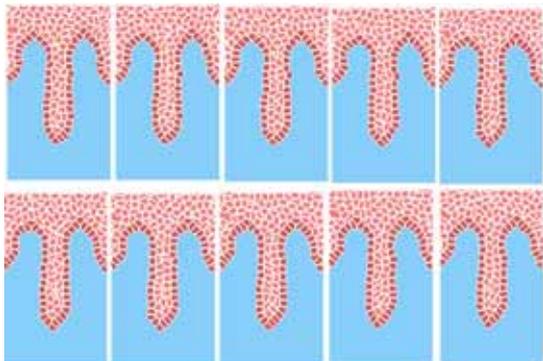


図 7 組織構造の細胞集団モデル

これら組織構造を用いた多段階の発がんモデルシミュレーションにより、実験データと

実際の生体での発がんプロセスの差異、および悪性化として知られる、浸潤や転移に関して調べることができ、細胞がん化の実験と生体での発がんを比較することが可能になると思われる。

低線量域における細胞あるいは生物影響にとって、いわゆる線量-効果関係がどのような関数形を持つかが非常に重要であるが、モデルによるシミュレーションの結果から、腫瘍の発生に関しては何らかのしきい値が存在する事が示唆された。また、細胞の集団を考慮した空間構造を持ったモデルであるため、Gompertz 関数と良く符合する成長曲線が得られた。これらの結果は、腫瘍の成長に関して広く適用されている指数関数型の増殖が組織中では適合しない可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

N.B.Ouchi, COMPUTER MODELING OF RADIATION EFFECTS, Data Science Journal 6 (2007), S278-S284, 査読有

[学会発表](計3件)

大内 則幸 Computer modeling of biological radiation effects, 日中エネルギー技術研究会, 2009年3月16日, 中国 武漢大学

大内 則幸 細胞特性を考慮した発がんモデル, 第18回日本数理生物学会大会, 2008年9月17日, 京都市上京区 同志社大学

大内 則幸 腫瘍形成における組織形態の数理モデル, 日本放射線影響学会 第50回大会, 2007年11月16日, 千葉市幕張メッセ

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.jaea.go.jp/04/nsed/ers/radiation/refa/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大内 則幸 (OUCHI NORIYUKI)

日本原子力研究開発機構・原子力基礎工学研究部門・研究員

研究者番号: 30370365