

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20888

研究課題名（和文）がん細胞の力学モデルの構築と病理診断への応用

研究課題名（英文）Mechanical Model of Cancer Cells and Its Application to Pathology

研究代表者

今井 正幸（Imai, Masayuki）

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60251485

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：複数のベシクルが接着したモデル細胞組織の形態形成を、実験と膜弾性理論に基づく力学モデルで明らかにした。モデル組織の形態は接着力、表面張力、及び曲げ弾性力のバランスで決定し、実験で得られた典型的な形状はこの力学モデルでよく記述されることがわかった。この力学モデルを用いて腫瘍（がん細胞集団組織）の形態の再現を試みた。子宮頸がんの典型的な腫瘍組織及びがん細胞のカニバリズムと呼ばれる食細胞現象を力学モデルにより再現することには成功した。しかしながら、そこから病理診断に応用できるがん細胞の特徴を抽出することは困難であった。現在、実際にごん細胞を培養しながらがん細胞に特有な形態の抽出を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞または腫瘍組織の形態からがんの病状を診断する病理診断は、今まで病理医の経験に大きく依存してきた。最近AIを使った病理診断も行われているが、がんの機序との関連が不明であるためその精度には限界がある。そこでモデル細胞であるベシクル組織の形態を再現する力学モデルを導入して腫瘍形態とがんの機序をつなぐことを目指した。ある程度の腫瘍構造の再現は可能であるが、がんのエッセンスを取り出すにはさらなる研究が必要である。

研究成果の概要（英文）：The morphologies of the model cellular tissue has been investigate by experiments and a mechanical model based on membrane elasticity theory. The morphology of the model tissue is determined by the balance of adhesion force, surface tension, and bending elastic force. This mechanical model well describes typical model tissue morphologies obtained in the experiments. Using this mechanical model, we attempted to reproduce the morphology of a tumor. We succeeded in reproducing the typical tumor tissue of cervical cancer and the phagocytic phenomenon called cannibalism of cancer cells by the mechanical model. However, it was difficult to extract the characteristics of cancer cells that can be applied to pathological diagnosis. Currently, we are working on the extraction of the unique morphology of cancer cells by culturing cancer cells.

研究分野：ソフトマター物理学

キーワード：がん細胞形態 腫瘍形態 力学モデル ベシクル集合体

## 1. 研究開始当初の背景

細胞は、生命活動を行う核や小器官を含む細胞質とそれらを取り囲む細胞膜から形成されており、その形態は細胞骨格からの膜張力・細胞膜の膜弾性・細胞間を接着する接着力・細胞分裂をもたらす収縮環による線張力のバランスで決定される。したがって、細胞の形状を力学モデル(表面エネルギー + 膜弾性エネルギー + 接着エネルギー で表される全エネルギーを最小化する膜構造)を用いて再構築することによって、細胞内でこのような力がどのように形態に影響しているかを評価することができる。研究代表者はこの考えに基づき、モデル細胞膜であるリン脂質ベシクル(リン脂質の2分子膜が作る袋状構造)が接着した形状を力学モデルを用いて再構築し、その形状と力学パラメーター(膜張力・膜弾性率・接着強度)の関係を定量的に明らかにしてきた。特に、従来の細胞の形態に関する研究は1つの細胞を対象にしたものが主で多細胞系の形態と力学パラメーターの関係は殆ど解明されていなかったが、我々のモデル実験と膜弾性モデルに基づくシミュレーションにより、その基礎的な理解が進んできた。

一方でがん細胞は正常細胞の遺伝子変異が変異して、その増殖を制御できなくなり異常に増殖する特徴を有しており、その個体を死に至らしめることからその機序の解明と診断・治療は人類の大きな課題となっている。がんの診断はその細胞組織(多細胞系)の形態から判断される(病理診断)が、がん細胞は正常細胞の形態的特徴が消失している点は共通しているが、その形態はバラバラであり、明確な形態的特徴を有していない。そのため診断が非常に難しいのが現状である。そこで、正常な細胞とがん細胞の形態の違いを力学モデルを用いて説明し、病理診断に結びつけることができないかという要望がある。

## 2. 研究の目的

ソフトマター物理学は近年、細胞集団の形態や動きを膜弾性理論や流体力学的方程式を基盤にして明らかにする研究が急速に発展し、細胞の形態と力学的パラメーター(膜弾性率・表面張力・接着力)の関係がかなり明らかになってきている。このような研究の成果を臨床の場で行われている細胞の形から病気を診断する病理診断に用いることにより、病気による細胞の形態変化を支配する力学パラメータを明らかにし、病気の発生メカニズムの解明につながる事が予想される。本研究ではがん細胞の集合体である腫瘍の形態を記述する力学モデルを構築し、病理診断に結びつける特徴的な力学パラメーターを明らかにすることを旨とするとともに、がん化の引き金となる遺伝子変異による病理形態の物理モデルを構築し、「遺伝子変異-力学パラメーターの変調-細胞形態の変化」を統一的に理解する病理モデルの確立に向けた基盤を整備する。

## 3. 研究の方法

本研究は、1)モデル細胞を用いた多細胞組織の形態を記述する力学モデルの構築、と2)がん細胞が作る細胞集団(腫瘍)の形態の膜弾性理論に基づく力学モデルによる再現、を2本柱として研究を進めた。また3)遺伝子変異による病理形態の物理モデルの構築、は2)に関連してがんの病理診断が専門の研究分担者の鶴山が研究を進め、2)の結果と合わせて統一モデルのための基盤とした。

### 1)モデル細胞を用いた多細胞組織の形態を記述する力学モデルの構築

モデル細胞としてリン脂質ベシクルを用いて、ベシクルを少数個(2~3個)接着させた少数ベシクル系で接着力を変化させた時の形態変化を実験から系統的に明らかにする。また、膜弾性モデルを用いた計算機シミュレーション(オープンソースのソフトウェアである Surface Evolver を多細胞系に拡張して使用)により少数ベシクル系の形態を再現し、少数ベシクル系を支配する力学モデルを構築する。

また、モデル細胞を多数(数十個)集積させたモデル細胞組織を構築し、その形態形成を実験的に明らかにするとともに、少数系の力学モデルを展開することにより細胞組織系の形態を記述する力学モデルを構築する。

### 2)腫瘍形態の膜弾性理論に基づく力学モデルによる再現

研究分担者の鶴山が抽出した典型的な腫瘍の形態を1)で作成した細胞組織系の形態を記述する力学モデルを用いて再現する。また、その力学モデルを用いてがん細胞に特徴的な挙動であるがん細胞が近くの細胞を取り込む現象(Cannibalism)を再現する。

## 4. 研究成果

### 1)モデル細胞を用いた多細胞組織の形態を記述する力学モデルの構築

#### 1-1)少数モデル細胞接着系の形態形成

今まで行ってきた2つのベシクルが接着した2細胞モデルを3細胞モデルへと展開した。強い接着力を持つ3細胞系での形態変化と力学モデルを用いてその形態を再現したシミュレーション結果を図1に示す。この実験では、ベシクルをファンデルワールス力強く接着させた後、温度を上げて脂質分子の熱膨張を利用してベシクルの体積/面積比を変化させた時の形態変化を観察し(図1上段)、膜弾性エネルギー + 接着エネルギー + 表面エネルギーからなる全エネルギー

ギーを最小にする形状をシミュレーションで求めた。体積 / 面積比が大きい時は3つの球状ベシクルがフラットな接着面を介して3角形状に重合している形状(25°C)が最も安定であるが、熱膨張により体積 / 面積比を小さくしていくと、フラットな接着面を広げながらコンパクトになっていき(30°C)、一つの球を3分割した形状(35°C)へと転移する。さらに体積 / 面積比を小さくすると全体の形状は球形を保ったまま、フラットな接着面がS字状の接着面へと変形した。これは膜間の強い引力により膜分子が接着面に引き寄せられることにより、非接着面に強い膜張力が発生するとともに、接着面の膜張力は大きく減少するため(two tension model)接着面積を増やしてベシクル集合体の全エネルギーを最小にするためである。この力学モデルに従ってシミュレーションを行うと図1下段にあるように実験で得られた結果を非常によく再現する計算結果が得られた。このS字状に変形した接着面はがん細胞にも見られることから、がん細胞間にも強い接着力が働くとともに、接着面の膜張力はかなり弱くなっていることが予想される。この成果については現在論文を執筆中である。

### 1-2) 細胞組織モデル系の形態形成

#### 次に細胞組織のモデル系を確立

するために数十個のベシクルを集積した多細胞組織モデルの構築を行った。この時、通常の静置水和法を用いてジャイアントベシクルを作製すると、大きさが多分散なベシクルが出来るために、細胞組織モデルを構築できない。そのため多分散なベシクルからサイズの揃ったベシクルを抽出し、それを集積するデバイスを作製した。これはマイクロ流路を用いたデバイスで、マイクロ流路内に一定間隔に整列した柱を設置し、そこを流れる層流とベシクルの重心位置との関係からサイズ選別し(図2a)、ターゲットとなるサイズを持つベシクルはその後のベシクルトラップ部により集積される。サイズの揃ったベシクル約40個が集積されている様子を図2bに示す。少数ベシクル系と同じように、集積した組織モデルのベシクル膜間相互作用を変調させて、強く接着させ(塩を加えて静電斥力を遮蔽して、ファンデルワールス力により強く接着させる)、

熱膨張により体積 / 面積比を変化させて形態変化を調べたが、マイクロデバイス中を流れる媒体からの流体抵抗により、途中でトラップ領域から抜け出るベシクルが多く見られ、形態変化を正確に観察することには成功していない。現在、実験を重ねているところである。

一方、少数ベシクル系で確立した力学モデルを用いて Surface Evolver による組織モデルの形態シミュレーションを行っている。ま

ずは、膜弾性エネルギーと接着エネルギーからなるエネルギーモデルで接着力( $\gamma$ )と体積 / 面積比( $v$ )を変化させてシミュレーションした。接着力が弱い場合は、接着面は比較的平坦で、体積 / 面積比を小さくするにつれて、ベシクルは異方的に伸びて prolate 形状のベシクルをベースとした組織構造へと変化した。一方、接着力が強い場合は、組織の全体の形状は円形に近くなり

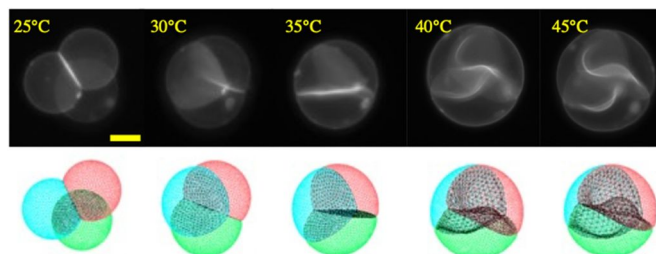


図1 強い接着をする3ベシクル系で体積 / 面積比を減少させた時の形態変化(上段)と two tension model を用いたシミュレーション結果(下段)。

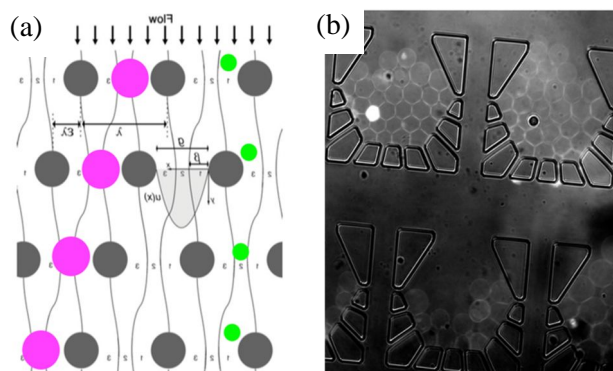


図2 (a)ベシクルをサイズ選別するマイクロ流路の原理。柱の間を流れる層流により大きいベシクル(ピンク)は左に流れ、小さいベシクル(緑)はまっすぐ進む。(b)選別されたベシクルが集積している様子。

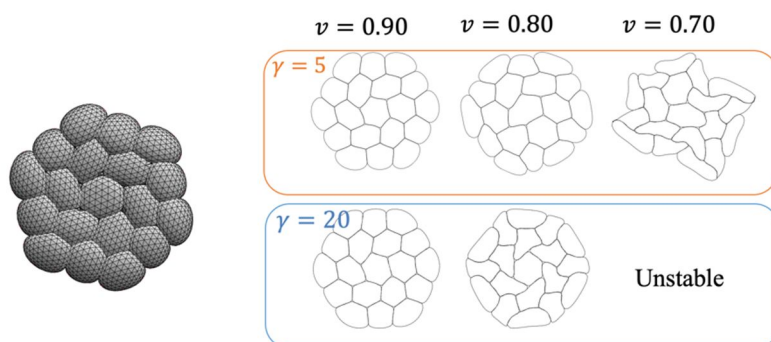


図3 膜弾性エネルギーと接着エネルギーからなる力学モデルで計算した多細胞組織モデルの形態シミュレーション。

左: 初期構造、右上段: 弱接着、右下段: 強接着



接着面が曲がってくる傾向がある。しかし、体積/面積比を小さくすると構造が不安定化し、安定な構造解が得られなかった。このシミュレーション結果については、組織モデルの実験と合わせて今後進めていく予定である。

## 2) 腫瘍形態の膜弾性理論に基づく力学モデルによる再現

### 2-1) 多細胞組織力学モデルを用いた子宮頸がんの形状再現

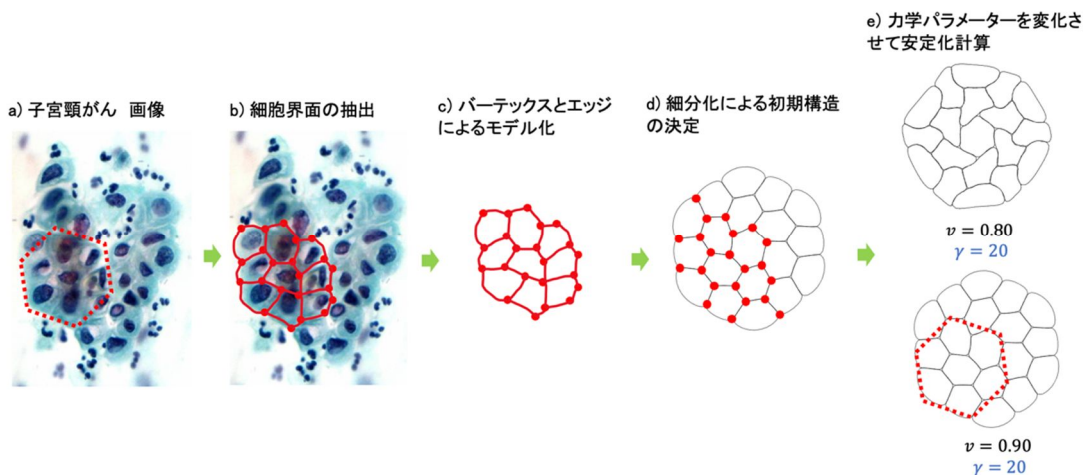


図4 子宮頸がんの形状抽出と安定化計算による力学パラメーターの決定のスキーム

子宮頸がん(分類 CIN2)の画像を膜弾性理論に基づく力学モデルを用いて再現することを試みた。まず、腫瘍の画像データ(図4a)から、ターゲットとなる腫瘍構造(赤点線)を病理医の鶴山が細胞界面を抽出した(図4b)。それを元にバーテックスとエッジを取り出し(図4c)、細分化して初期形状を作成した(図4d)。それを初期形状として力学パラメーターを変化させて、形状の安定性から腫瘍構造を支配する力学パラメーターを決定する戦略をとった(図4e)。図4eを見ると、下の力学パラメーターを用いると腫瘍構造を比較的良好に再現していることがわかるが、これで腫瘍の構造パラメーターが抽出できたかという点、必ずしもそうではなく、ターゲットとする腫瘍により様々な結果が得られ腫瘍構造の特徴が抽出できていないことが判明した。これは形状だけを再現してもがんの多様性のためがんの特徴を抽出できないことを示している。そこで、よりがん細胞に特徴的な現象を再現することによりがん細胞の特徴を抽出する戦略に切り替えた。

### 2-2) 力学モデルを用いたカニバリズムの再現

カニバリズムはがん細胞が近接の生きている細胞、死んだ細胞、または非生物(コロイド粒子など)を飲み込む現象である(図5a)。このカニバリズムはがん細胞に特徴的な現象の一つとして知られているので、我々の力学モデル

$$w = w_{b,1} + w_{b,2} - \gamma a_c + \sigma_1^{nc} |a_1^{nc} - a_{0,1}^{nc}| + \sigma_2^{nc} |a_2^{nc} - a_{0,2}^{nc}| + \sigma_1^c |a_1^c - a_{0,1}^c| + \sigma_2^c |a_2^c - a_{0,2}^c|$$

$$w_b = \frac{1}{4\pi} \oint (H)^2 dA$$

を用いてカニバリズムの再現を試みた。力学パラメーターとして細胞同士の体積比:  $\varepsilon = V_2 / V_1$ 、 $i$ 番目の非接着面の表面張力:  $\sigma_i^{nc}$ 、細胞の接着面の表面張力:  $\sigma_i^c$ 、細胞間の接着力:  $\gamma$ を選んで、隣接する細胞の飲み込み相図を作成した。例として  $\varepsilon = 10, \gamma = 1, \sigma_i^c = 0$  の時の  $\sigma_1^{nc}/\gamma$  と  $\sigma_2^{nc}/\gamma$  に対する相図を図5bに示す。これから、細胞間の張力と体積の非対称性がカニバリズムに大きな影響を与えていることがわかる。

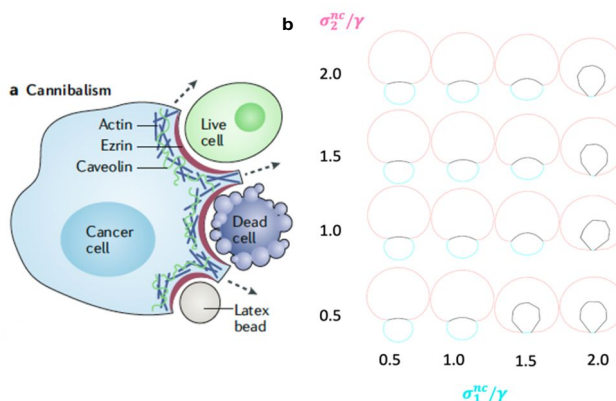


図5 a)カニバリズムの模式図、b)力学モデルによるシミュレーションに基づくカニバリズム相図。

このシミュレーションから  $\varepsilon \neq 1, \sigma_1^{nc} \neq \sigma_2^{nc}$  かつ  $\sigma_i^c = \sigma_i^{nc}$  の場合、1)体積の大きい細胞の張力が弱い、2)接着力が強い場合、カニバリズムが起こる。一方、 $\sigma_i^c \neq \sigma_i^{nc}$  の場合、接着力が弱くてもカニバリズムが起こることがわかった。細胞の大きさが同じの場合は、飲み込まれる細胞: 表面

張力が強い、飲み込む細胞：表面張力が弱い、接着力が強い場合カニバリズムが起こる。  
このようにカニバリズムが発生する条件は抽出できるが、これががん細胞の特性とどのような関係があるかは残念ながらよくわからない。

以上の研究から、細胞の力学モデルを用いてがん細胞（腫瘍）の形状や現象を再現することは可能であるが、そこで抽出したパラメーターが病理的な知見とどのように結びつくかは不透明である。そこで、我々は実際にごん細胞を培養して、がん細胞をどのように特徴づけるかという観点からもう一度戦略を見直して研究を進めることとした。

### 3) 遺伝子変異による病理形態の物理モデルの構築

研究分担者の鶴山は、がん細胞内 Kras、Wnt、p53 などのがん関連シグナル伝達の遺伝子変異の病理形態分析、非平衡非線形熱力学モデルを定式化した。特にオンサーガーの相反定理に類似した関係がシグナル伝達に成立する条件、シグナル分子あたりのエントロピー生成率の保存、線形応答が成り立たない場合、ゆらぎ循環がシグナル分子のリン酸化速度によって与えられることを導き、各がん種の分析のアイデアとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsuruyama Tatsuaki	4. 巻 523
2. 論文標題 Nonlinear thermodynamics of biological signal transduction for predicting conservation of entropy production rate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Theoretical Biology	6. 最初と最後の頁 110716 ~ 110716
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtbi.2021.110716	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 T. Chiba, H. Sugiyama, T. Toyota and M. Imai
2. 発表標題 Development of Microfluidic Device for Planar Assembly of Giant Vesicles
3. 学会等名 The 4th Symposium for The Core Research Cluster for Materials Science（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 千葉紀風, 今井正幸, P. Zihnerl
2. 発表標題 Mechanical Model of Vesicle Aggregates
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学理学研究科物理学専攻ソフトマター・生物物理研究室  
https://www.bio.phys.tohoku.ac.jp

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	鶴山 竜昭  (Tsuruyama Tatsuaki)  (00303842)	公益財団法人放射線影響研究所・分子生物科学部・主任研究員   (85401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------