

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26330340

研究課題名(和文) 突然変異の質的变化が発がんに与える影響の解明

研究課題名(英文) studying the effect of phenotypic changes on tumorigenesis using mathematical model

研究代表者

大内 則幸 (OUCHI, Noriyuki)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 東海量子ビーム応用研究センター・主幹研究員(定常)

研究者番号：30370365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：突然変異が引き起こす細胞の性質の変化(表現型の変化)が微小環境を通じた周りの細胞との相互作用の結果、どのようにがん細胞の増殖に影響するのかを、数理モデルの研究から調べた。突然変異の種類としてはセルラーポッツモデルで表現可能な細胞膜の固さ、及び接着力が変化する場合を想定した。細胞の相対的に異なる固さと相対的に異なる接着力をそれぞれ2種類導入し、4種類の性質の異なる細胞をモデル化し、計16種類の組合せの変異ダイナミクスを計算した結果、がん細胞が指数関数的に増殖して腫瘍を形成する場合に加えて、がん細胞がある一定以上は増殖しない、腫瘍が生じない表現型変化の組合せが存在することを発見した。

研究成果の概要(英文)：Effect of the phenotypic changes by gene mutation on its microenvironment and growth dynamics of cancer cells (tumorigenesis) are studied using a mathematical model made up from the combination of cellular Potts model (CPM) and multistage IPP model. Two different cellular properties, i.e. elastic property and adhesion property of cell membrane, are introduced to study its effect on the tumorigenesis. Four different types of cells are mathematically constructed and sixteen different combinations of these four cells are incorporated into multistage dynamics of carcinogenesis.

Simulation results show that the combination of the phenotypic changes affect the emergence and growth of the tumor, for example, state of the exponential growth of cancer cells, ratio of the number of the cancer cells in system is regulated by the type of phenotypic changes, and no tumor state are found.

研究分野：数理生物学

キーワード：発がんモデル セルラーポッツモデル 多段階モデル

### 1. 研究開始当初の背景

がんは日本における死亡原因の第一位であり、統計的におよそ3人に1人はがんで亡くなっている計算になる。ということは、生涯にわたってがんに罹患する人の割合はさらに大きいと考えられ、日常生活においてもとも関係する機会の多い疾患であると考えられる。そのような「がん」であるが、その発生・成長メカニズムに関してはいまだに未知である事柄が多い。がんの認知度の高さに比べ、その発症原因はいまだに解明されておらず、また遺伝子の突然変異というマイクロメーターオーダーの現象がきっかけとなって、数年から数十年かけて個体レベルでの現象に発展していく、非常に広範囲なスケールの複合現象でもあることから、全てを実験で研究することは困難な状況である。また様々な-omics研究が広がりを見せ、大規模なデータの蓄積に伴い、それらをミクロな分子・細胞レベルの実験データを統合し、システムレベルで理解するために数理モデルを用いた研究および、妥当なモデルの構築がニーズとして存在した。

### 2. 研究の目的

現在、一般に知られる発がんの分子生物学的機構は「遺伝子突然変異モデル」として知られる発がんの突然変異起因説である (Fearon and Vogelstein 1990)。これは、がん細胞は正常細胞に遺伝子の突然変異が複数個、ある程度の順序を持って「蓄積」することによって発生する、というアイデアでもある。このような細胞への複数の突然変異の蓄積によってがん化が進行するという仮説は、1950年代に数学者によって構築された、がん進行は階段を登るように段階を経て生じる、という「発がんの多段階数理モデル」 (Armitage and Doll 1954) の分子生物学的基盤を与え、よく知られたがんの死亡率が年齢のべき乗に比例して増加するという疫学データの説明も可能であることから、現在でも発がんの分子生物学的モデルとして一般的に知られている。人の正常細胞に生じた遺伝子の突然変異がどんどん蓄積することによって細胞ががん化するという描像は、一見感覚的にも正しいように思える。しかし、大腸がん患者のがん細胞の遺伝子突然変異の解析結果から、たとえ同じ種類のがん患者であっても、個人毎にがん細胞に生じている突然変異の種類や数が異なっている、言い換えると個人の数だけががんの種類がある、という事が明らかになり (Smith et al. 2002)、単一細胞からのクローン増殖で大きくなると思われた腫瘍を構成する細胞群にもさまざまな種類の細胞が含まれるという多様性の存在も明らかになり、現在では、正常細胞からがん細胞に至る発がん経路が想像以上に多様である事が予想される。さらに通常の地域よりも数倍～数十倍自然放射線量の大きい高自然放射線地域の疫学調査の結果からは、放射線の総

線量 (蓄積線量) に比例して染色体異常は増加するが、発がん率とは無相関である事が明らかになり (Boice et al. 2010)、遺伝子突然変異の「蓄積」のみでは実際の発がん現象が完全には説明できない事がわかってきた。そのため新しく細胞集団の数理モデルを用いて、現在判明している現象を説明可能な、腫瘍形成の動態を探ることを目標とする。

### 3. 研究の方法

従来の発がん過程の描像では発がんの機序として細胞内の変化のみしか考慮されていないが、現実的には突然変異が生じることによって、様々な「細胞の性質の変化 (表現型の変化)」が現れる。突然変異の結果として生じる細胞の「接着力」や「固さ」といった物理的性質の変化が、がん細胞の増殖に与える影響に関して数理モデルの構築とその計算機シミュレーションを通じた研究から明らかにする。

発がん過程の実験研究は、主に細胞内のがん関連遺伝子とその関連物質に関する分子生物学的なスケール (**細胞内ダイナミクス**)、それから細胞単体を用いた細胞培養などのスケール (**細胞レベル**)、さらにマウスなどの実験動物を用いた生物個体での組織レベル (**組織レベル**)、一番大きなスケールではヒト集団における大規模ながん罹患率や遺伝子突然変異に関するゲノム解析等の疫学的なもの (**個体レベル**)、という具合に時間・空間の両方に広がった発がん過程という現象をそれぞれ分割して行っているのが現状である。このように空間や時間スケールで分割されて得られた実験データも、本来は単一の発がん過程を様々な側面から切り取ったものであり、まだ未発見ではあるが、「発がん方程式」とでも呼べるような全てのデータを統一的に説明可能な基本的な理論や原理が存在するのでは無いだろうか? と考えた。そこで、異なるスケール毎にばらばらに存在する知見を統合的にまとめる事ができ、全てのスケールのダイナミクスを含む数理モデルを構築して、実験 (データ) とシミュレーションを相補的に用いる事で、最終的に発がん過程を支配する一般的な原理を発見する事を目標として、数理モデルを構築した。上述したように、発がんダイナミクスは関与する因子によって時間・空間に関して複数の階層構造が存在する。今回の研究では、まず一番スケールの小さな**[細胞内ダイナミクス]**がその上の**[細胞ダイナミクス]**に影響を及ぼし、さらにその細胞を集団でモデル化する事で**[組織レベル]**の現象、つまり空間的に広がった腫瘍構造までを研究の対象とする。独自に開発した空間的に広がった細胞を表現可能なセルラーポッツモデル (CPM) は、固さや接着力といった細胞の性質を持つ多数の細胞集団をモデル化したものである。CPMは細胞集団の運動に伴う特徴的な空間構造 (細胞選別過程やエンガルフメント) を再現

可能なだけでなく細胞集団中の細胞移動に関する実験データとも一致する定量性をも持っている (Ouchi et al. 2003)。その CPM を拡張して、細胞分裂と細胞死のダイナミクスを導入し、さらに[細胞内ダイナミクス]である変異ダイナミクス(図 1)と組み合わせる事で発がん過程をモデル化した。ここで図中の P1 や P2 は確率的に導入した突然変異で、最初の変異がイニシエーション、次がプロモーションとして知られ、k1、k2、k3 はそれぞれ変異した細胞ごとの細胞死の確率である。

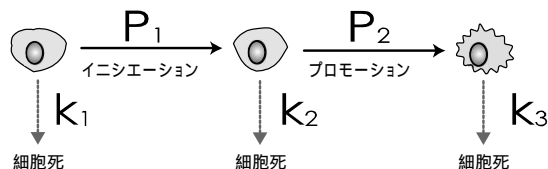


図 1

細胞の数理モデルとして用いる CPM は、細胞自体の物理的な特徴量として、細胞の大きさ(体積)、細胞の固さ(細胞膜の変形度)、さらに細胞間の接着力の強さ、という3種類の具体的な物理量をパラメータとして持つ。そこで、図 1 で説明した P1 や P2 などの突然変異で表現型として細胞自体の物理的性質自体が変化するとして数理モデルを構築した。具体的には、細胞間の接着力の違い(ネバネバ、つるつる)と細胞の固さの違い(硬い、柔らかい)という接着力と固さに関するそれぞれ2種類の異なる性質を導入し、その組み合わせで4種類の物理的性質の異なる細胞をモデル化した(図 2)。

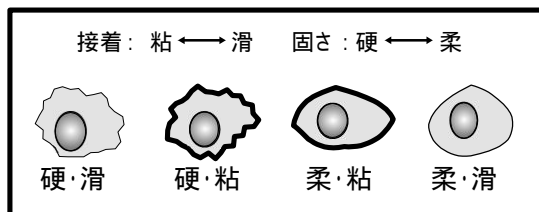


図 2

これらの細胞を図 1 の突然変異ダイナミクスを用いて変異させ、例えば正常細胞として柔らかくてネバネバした細胞が、突然変異で固くてつるつるした細胞に変異する、などを想定した。細胞が4種類で突然変異が2回なので、考えうる組み合わせとしては16種類の突然変異ダイナミクスになるが、計算時間がかかるため(およそ細胞数が4000個程度で一度の計算に数日以上かかる)、パラメータを変化させて多数の計算を行う必要があることから、固さと接着力の両方が変異するケース、つまり4通りの突然変異ダイナミクスを想定して、接着力と固さの変化が腫瘍の成長にどのように効果的なのか調べることにした。

#### 4. 研究成果

当初考えた変異ダイナミクスは、

- A) [硬・粘] [柔・滑]
- B) [柔・粘] [硬・滑]
- C) [硬・滑] [柔・粘]
- D) [柔・滑] [硬・粘]

という4通りのものであり、一般的にイニシエーションという変異過程では表現形変化は起きないとされるので、プロモーション段階でそれぞれ上記の変異が起きるとした。細胞数を1000個程度で予備的にシミュレーションを行った結果は B)と C)ががん細胞が指数関数的に増殖する腫瘍発生であったのに対し、A)とD)のケースではがん細胞の数が一定数以上増加しない、つまり腫瘍が発生しない状態であることがわかった(図 3)。

接着: 粘 ←→ 滑 固さ: 硬 ←→ 柔

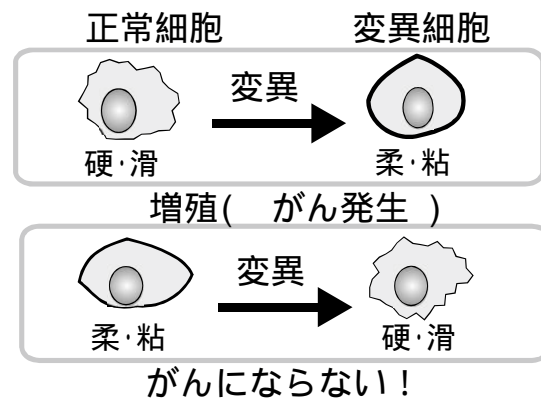


図 3

およその系の振る舞いが判明したので、細胞数を4000個程度に増やして計算を行った結果も同様であった。このように突然変異が蓄積すると仮定しても、その蓄積した突然変異の種類、つまり表現型によっては腫瘍が発生しない場合がある事がわかった(図 3)。そこで腫瘍の増殖に効果的な表現型変化が何なのかをシミュレーションの結果から探ると、固さの変異でも接着力の変異でも、どちらも腫瘍の増殖に影響している事がわかった。そこで、当初計画では考えていなかったが、突然変異の組み合わせを、現在のモデル化した4種類の細胞に関して同一の変化を除いた考えうる全ての組み合わせである14種類の突然変異ダイナミクスのモデルをそれぞれ構築し、シミュレーションを行った。結果は非常に驚くべきもので、上述したように腫瘍が成長し、その成長曲線に関しては固形がんの持つ Gompertz 型の増殖曲線である事を確認するケースと、腫瘍が一定数以上は増えないケースがあり、しかも増殖可能な最大のがん細胞数はパラメータに依存しているであろう事がわかった。シミュレーション結果を見る限り、今回パラメータとして用いた「接着力」と「細胞の固さ」以外にも腫瘍

の増殖・形態形成に影響を与えている因子の存在を示唆する結果となり、当初想定していたものよりも、扱っている問題がはるかに大きく、また非常に広い問題に関わっている事が判明した(ここまでの研究結果に関しては、現在論文にまとめて投稿準備中)。

また、当初計画していたよりも4倍以上の計算機シミュレーションを行う事にしたため、計算時間の関係で得られる結果が限定されてしまうと考え、計算コードの高速化を図り、改良前は細胞数が4千個程度で計算すると数日程度計算時間がかかっていたが、予算で購入する事ができた計算機のおかげもあり、およそ4-5倍計算速度をあげることに成功した。そこで限定したケースで細胞数を10000個まで増やしてシミュレーションを行った結果、これまでサイズが小さい計算では見えなかった、変異細胞で形成される大きな空間構造が見えてきた(図4)。従来の計算のサイズでは、がん細胞が形成する一種の「バンド構造」のスケールが、系のスケールと同じ程度であった為、さらにマクロな構造が見えなかった事が判明した。また、腫瘍のサイズに関して、モデルで取り上げた接着力、あるいは細胞の固さという物理的性質がコントロールしている可能性がわかり、さらに発がん過程に関わるどのような因子が腫瘍のサイズをコントロールしているのか調べていく必要があると考えている。

最後に、研究期間の初年度に組織内の改編で研究室の引っ越しがあり、さらにその翌年には研究機関を移籍する事になり、研究の遂行で判明した問題の複雑さと相まって、当初の予想通りには研究が進捗しなかった。逆に、簡単に理解できると考えていた問題が、さらに一般的な形態形成などで見られる組織構造の比率制御や空間構造形成に適用可能である事も判明し、一度問題を整理して、突然変異だけではなく、細胞分化という現象を通じた細胞変化での空間構造形成という観点からも研究を進めてみたいと考えている。

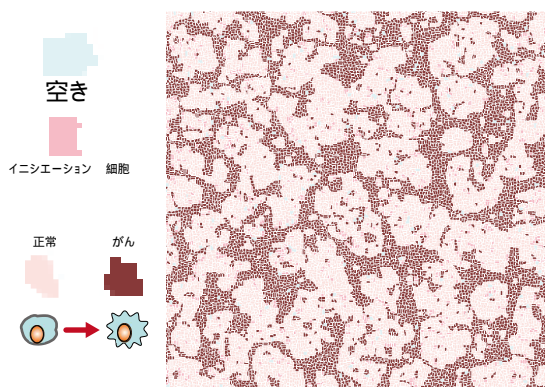


図4

#### <引用文献>

Fearon and Vogelstein, A genetic model for colorectal tumorigenesis, Cell 61, 759 (1990)

Armitage P, Doll R., The Age Distribution of Cancer and a Multi-stage Theory of Carcinogenesis, British Journal of Cancer 8(1), 1 (1954)

Smith et al., Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53-alternative genetic pathways to colorectal cancer, PNAS 99, 9433 (2002)

Boice et al., Low-Dose-Rate Epidemiology of High Background Radiation Areas, Radiation Research 173, 6, 849 (2010)

Ouchi et al., Improving the realism of Potts model in simulations of biological cells, Physica A, 329,451 (2003)

#### 5. 主な発表論文等

[学会発表](計3件)

1. 大内則幸, Study of the effect of physical properties of cell on Tumorigenesis using spatially extended model, 33rd International Symposium of RBC, Cutting Edge of Radiation and Cancer Biology, 2017
2. 大内則幸, ゲノム突然変異による表現型変化の発がんへの影響、日本放射線影響学会 第60回大会、2017
3. T. Sakashita, N. Hamada, I. Kawaguchi, N.B.Ouchi, T. Hara, Y. Kobayashi and K. Saito, A frame work for understanding the production kinetics of abortive colony size distributions in irradiated normal human fibroblasts, ICRR2015, 2015

[図書](計1件)

1. N. B. Ouchi, On the Dynamical Approach of Quantitative Radiation Biology, InTech, Evolution of Ionizing Radiation Research (ISBN: 978-953-51-2167-1), 41-62, 2015

[その他]

ホームページ等

[http://www.taka.qst.go.jp/tokai\\_center/rbs/](http://www.taka.qst.go.jp/tokai_center/rbs/)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

大内 則幸 (OUCHI Noriyuki)

量子科学技術研究開発機構・東海量子ビーム応用研究センター・主幹研究員

研究者番号：30370365