

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K16088

研究課題名(和文)ニューラルネットワークを応用した低線量放射線応答の解析

研究課題名(英文)Computational analysis of low-dose radiation responses based on artificial neural network

研究代表者

服部 佑哉(Hattori, Yuya)

東京工業大学・工学院・助教

研究者番号：30709803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低線量放射線の生物影響の評価につながる細胞集団の低線量放射線応答の発生メカニズムを理解することである。そのために、低線量の放射線が照射された培養細胞集団内の細胞間シグナル伝達と放射線応答の時空間動態を解析可能な数理モデルを構築した。構築したモデルは、従来研究の実験結果について、放射線に対する細胞応答をモデルで十分に再現出来た。また、本モデルによって、低線量放射線応答の非線形特性が推定された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to understand the mechanism of low-dose radiation response in cellular population related to evaluations of radiation risks. We developed a mathematical model which can calculate temporal and spatial intercellular signaling and radiation responses of individual cells. Our model successfully reproduced radiation responses of experimental data previously reported. The model also showed non-linear characteristics of low-dose radiation response.

研究分野：制御工学

キーワード：放射線生物 数理生物 数理解析 低線量放射線応答

1. 研究開始当初の背景

(1) 低線量の放射線環境下では、生物に対して放射線がまばらに照射されるため、放射線が照射されていない細胞が存在する。細胞集団レベルの放射線応答では、放射線が照射されていない細胞にも、放射線の影響が現れること(バystander効果)が、培養細胞を用いた実験により報告されている。したがって、組織レベルや個体レベルの放射線リスクを考える上で、バystander効果が、細胞集団全体にどのような影響を与えるのかを調べることは重要である。

(2) これまでの研究によって、照射された細胞が何らかの物質を放出して、照射されていない細胞がその物質を受け取ることにより、バystander効果が誘発されることが明らかとなっている。しかしながら、放出された伝達物質が細胞集団内をどのように時間・空間的に広がり、個々の細胞に伝わるのかは分かっていない。この伝達物質を介した細胞間シグナル伝達の時空間動態と、それによって個々の細胞が示す放射線応答の時空間動態が、バystander効果の影響を調べる上で重要であると考えた。

2. 研究の目的

(1) 伝達物質と細胞の放射線応答の時空間動態を実験で計測することは困難である。そこで、これらを解析可能な数理モデルの構築を目的とする。また、シミュレーション計算に必要なパラメータ値の取得方法についても検討する。

3. 研究の方法

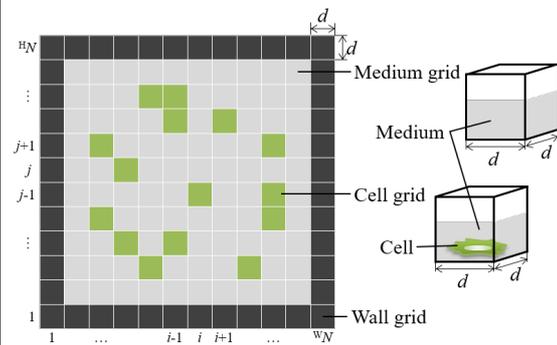
(1) 数理モデルの構築では、代表的な細胞の放射線応答であるDNA損傷、細胞周期変化、細胞死に着目し、これらの量や状態を数理モデルの変数とする。また、細胞間シグナル伝達は、伝達物質を仮想シグナルとして表現し、シグナル量を変数とする。これらの変数を細胞ごとに設定し、変数間の作用を物理的な現象(ポアソン分布に従う放射線のヒットや拡散方程式に従う物質の伝達等)に基づいて数式化する。

(2) 数理モデルの構築後、モデルの表現能力を確認するために、既に計測されている実験データの再現を試みる。

(3) 数理モデルを使って、細胞集団中の放射線応答の時間変化を推定する。

(4) パラメータ値の取得方法では、放射線を当てていない細胞の細胞特性を簡便に計測する手法として、FACS(fluorescence activated cell sorting)解析に着目し、実際にFACS解析を行い、機械学習を用いてパラメータの導出を行う。

(a) Two-dimensional cellular automaton composed of three types of grids



(b) Four components of simulation algorithm

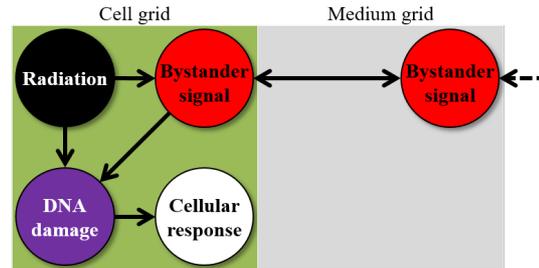


図1 バystander効果解析モデル

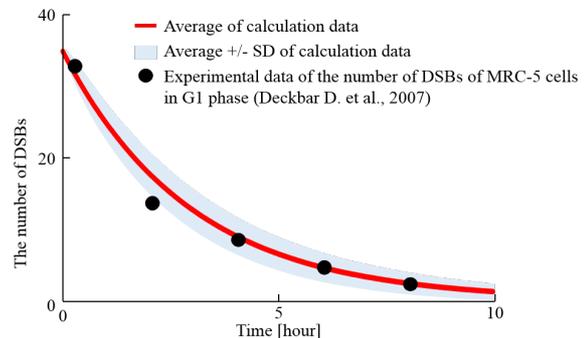


図2 DNA損傷量の時間変化

4. 研究成果

(1) 低線量放射線を照射した時の細胞集団の応答を1細胞レベルで解析可能な数理モデルを構築した。構築したモデルでは、細胞集団を2次元の格子で表現した(図1(a))。格子は、培養液のみの格子(培養液格子)と培養液と細胞を含む格子(細胞格子)、壁を表す格子の3種類とした。細胞格子では、放射線が細胞に当たってから細胞応答が現れるまでを放射線のヒット、細胞間シグナル伝達、DNA損傷(DNA二本鎖切断)、細胞応答(細胞周期変調や細胞死)の4つのステップで表現した(図1(b))。

(2) 構築したモデルが実験データの特徴を表現可能か調べるために、数理モデルを使ってシミュレーションした結果と、従来研究の実験で得られているデータを比較した。従来研究の実験データを基にパラメータフィッティングした結果を図2と図3に示す。どちらも高線量域だが、モデルが実験結果を十分に再現していることが確認できた。

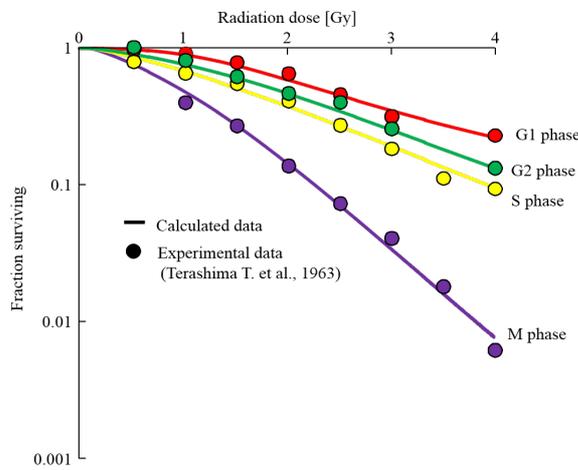


図3 細胞線損率の線量依存性

(3) 放射線誘発の細胞間シグナル伝達がどれくらいの細胞にどのように影響を与えるのか、細胞周期停止を指標として推定を試みた。約5,000個の細胞を密に培養した細胞集団Aを仮想空間内に作成し、同じ空間内の別の細胞集団Bに0、0.1、0.2、0.5Gyの放射線を照射した。細胞集団Aの細胞は、細胞集団Bからの細胞間シグナル伝達によってDNAが損傷し、細胞周期変調や細胞死となる。放射線照射後の細胞集団Aの細胞停止細胞数の時間変化の計算結果を図4に示す。図4より、照射した線量依存的に細胞周期停止の細胞数が増加していることが分かる。これは、照射された線量と細胞間シグナルの生成量、シグナル量とDNA二本鎖切断の誘発数が比例関係であるため、線量依存的に各細胞内のDNA二本鎖切断数が増加し、増加したDNA二本鎖切断数に基づいて細胞周期停止が引き起こされるからである。また、細胞周期停止細胞数の増加は線量と比例していない。これは、本モデルで定義した「細胞周期停止はDNA二本鎖切断数がしきい値を超えた時に引き起こされる」という非線形な関係が影響していると考えられる。このDNA二本鎖切断数のしきい値は、従来研究に基づいて決定した。さらに、図4より、細胞周期停止細胞数が最大となる時間は、照射直後ではなく照射から20~30時間後であることが分かる。これは、細

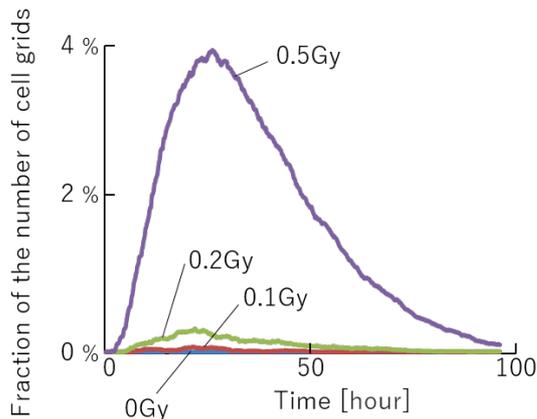
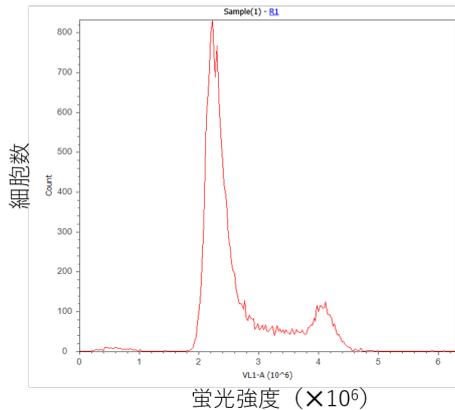


図4 細胞周期停止細胞数の時間変化

胞間シグナルが消失するまでの時間や、DNA二本鎖切断数がしきい値を超えてから細胞周期停止が発生するまでの時間遅れが影響していると考えられる。これらの結果から、本モデルでは細胞周期停止の細胞数が線量に対して非線形で増加すること、照射から時間遅れを持って現れることが分かった。

(4) 本モデルを使って培養細胞が示す放射線応答を解析するためには、様々なパラメータの設定が必要である。これらのパラメータには、照射していない状態の細胞が示す特性も含まれる。非照射の細胞特性を簡便に計測する手法として、FACS解析に着目し、解析結果からパラメータの導出を行った。非照射の細胞集団をFACS解析すると、図5(a)の結果が得られた。この図の横軸は蛍光強度、縦軸は細胞数を示す。蛍光強度はDNA含量に比例しているため、蛍光強度 $2 \sim 3 \times 10^6$ で見られる細胞数のピークはDNA複製前のG0、G1期の細胞数、蛍光強度 $4 \times 10^6$ 近くで見られる細胞数のピークはDNA複製後のG2、M期の細胞数を表している。したがって、細胞集団を構成する細胞周期別の細胞数がDNA含量を基に推定できる。本研究では、FACS解析の結果から、機械学習を用いて細胞周期別の細胞数を推定する手法を新たに考案した。

(a) 非照射細胞集団のFACS解析結果



(b) FACS解析結果の細胞周期別細胞数推定

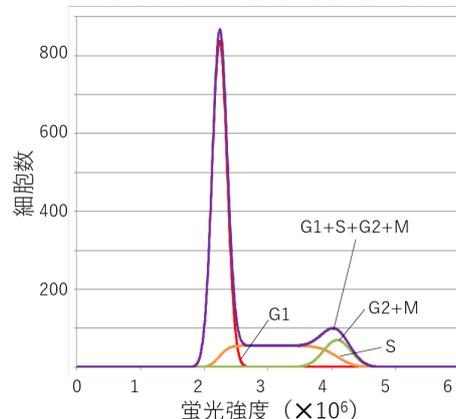


図5 蛍光強度別の細胞数

(5) 本手法では、正規分布を基にした各細胞周期の細胞数の分布を個別に作成し、全ての分布の合計が FACS 解析の結果となるように、各細胞周期の分布の形を機械学習によって決定する。本手法によって推定した各細胞周期の細胞数の分布を図 5 (b)に示す。全ての分布の合計を示す G1 + S + G2 + M の分布が、FACS 解析結果を十分に再現していることが分かる。また、蛍光強度  $2 \sim 3 \times 10^6$  で見られる細胞数のピークのほとんどが G1 期の細胞であるのに対し、蛍光強度  $4 \times 10^6$  近くで見られる細胞数のピークは S 期の割合も多かった。分布を推定した結果から、解析した細胞集団は、G1 期細胞 : S 期細胞 : G2、M 期細胞 = 0.64 : 0.26 : 0.10 の比で構成されていることが分かった。この構成比は、構築した放射線応答モデルのパラメータとして必要な値である。

(6) 以上により、低線量放射線が照射された細胞集団の放射線応答解析モデルとモデルに必要なパラメータを簡便な実験から導出する手法が構築出来た。

#### 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)

Yuya Hattori, Akinari Yokoya, Ritsuko Watanabe, Cellular automaton-based model for radiation-induced bystander effects, BMC Systems Biology, 査読有り, Vol. 9:90, pp. 1-22, DOI: 10.1186/s12918-015-0235-2, 2015.

〔学会発表〕(計 5 件)

服部 佑哉, 放射線影響解明のための計算論的アプローチ～細胞間コミュニケーションに関する解析～, 平成 29 年東京 RBC 新春放談会, 東京都千代田区, 2017 年 2 月 4 日.

服部 佑哉, バイスタンダー効果による DNA 二本鎖切断生成数の数理解析, 日本放射線影響学会第 59 回大会, 広島県広島市, 2016 年 10 月 26-28 日.

服部 佑哉, 放射線誘発バイスタンダー効果の統合的な解析のためのシミュレーションアプローチ, 東京工業大学先端原子力研究所コロキウム, 東京都目黒区, 2016 年 5 月 16 日.

Yuya Hattori, A mathematical model of modification of cell-cycle progression by radiation-induced bystander effects, 12th International Workshop on Microbeam Probes of Cellular Radiation Response (IWM2015), Tsuruga, Japan, May 30 - June 1, 2015.

Yuya Hattori, Simulation study of individual cellular responses by bystander effects in cellular population,

15th International Congress of Radiation Research (ICRR2015), Kyoto, Japan, May 25 - 29, 2015.

〔図書〕(計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

なし

取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

ホームページ等

なし

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

服部 佑哉 (HATTORI, Yuya)

東京工業大学・工学院システム制御系・助教

研究者番号 : 30709803

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし