

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32634

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K12207

研究課題名（和文）リアルタイムイメージングから構築するがん細胞動態の高精度予測モデル

研究課題名（英文）High-Precision Predictive Model of Cancer Cell Dynamics Constructed from Real-Time Imaging

研究代表者

小田切 健太 (Odagiri, Kenta)

専修大学・ネットワーク情報学部・准教授

研究者番号：20552425

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、実験で計測された細胞集団の挙動や細胞内外のシグナル化学物質の時空間分布を参考にして、Cellular-Pottsモデルと呼ばれる細胞集団の挙動を記述する数理モデルを用いた数値シミュレーションを行った。特に創傷治癒過程を題材に取り上げ、実験で示されていた細胞集団に伸展刺激を加えた際の創傷治癒速度の変化を再現した。さらに、シミュレーション結果から得られた時系列データを用いて、ディープラーニングによる特徴的な細胞ダイナミクスの抽出を行うことで、創傷治癒の段階に応じて引き出させる自由度の時間変化に違いがあることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
計測技術の発達により、細胞の集団挙動に関して精密な時空間データを取得することが可能となった。しかし細胞の集団挙動は非常に複雑であり、計測データから挙動の予測につながる情報を抽出することは容易ではない。本研究課題では、実験による細胞集団のデータ計測、細胞集団の挙動を再現する数理モデルの構築、細胞集団の挙動を予測するための実験データおよび数値シミュレーションデータの時空間データ解析、の3つの研究を組み合わせることで、細胞の集団挙動を高精度で予測する数値シミュレーションの構築を行った。今回の研究で確立した手法は、がん細胞を含む様々な種類の細胞集団の挙動を予測する今後の研究の足掛かりとなる。

研究成果の概要（英文）：In this research project, we conducted numerical simulations using a mathematical model known as the Cellular Potts Model, which describes the behavior of cell populations. These simulations are based on experimentally measured behaviors of cell populations and the spatiotemporal distribution of signaling chemicals inside and outside the cells. We focused on the wound healing process in the project. We successfully reproduced the changes in wound healing speed observed experimentally when stretch stimuli were applied to the cell population. Furthermore, we employed deep learning techniques to extract characteristic cell dynamics by using time-series data obtained from the simulations. This approach revealed differences in the time variation of the degrees of freedom, depending on the stages of wound healing.

研究分野：生物物理

キーワード：細胞集団動態 数理モデル リアルタイムイメージング ディープラーニング

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ゲノム配列の高速解読、生細胞内での1分子イメージング等、現在の生命医学の発展は、計測技術の発展と切っても切り離せない関係にあり、高精度の時空間データや膨大な時系列データを容易に手に入れることが可能になった。しかし、膨大な計測データが容易に手に入るがゆえに、重要な情報が膨大なデータの中に埋もれてしまう副作用も生じてしまった。だからこそ、得られた膨大な計測データをどのように解析して重要な情報を抽出するかが、現代の生命医学研究のカギと言える。膨大なデータ(ビッグデータ)の解析に関しては、機械学習など統計科学的手法が近年大いに脚光を浴びており、社会活動で得られるデータの解析・予測や、医療現場で得られる画像データを用いた診断のみならず、基礎研究の分野での活用も広がっている。このような学術的な背景において、膨大な計測データを積極的に活用した理論研究を進めるうえで、統計科学的手法を有効に活用することは必要不可欠である。

(2) 本研究で対象とする細胞集団動態(ダイナミクス)についても、共焦点レーザー顕微鏡などを用いたリアルタイムイメージング技術の発展により、生きたままの細胞動態についての高精度時空間データを得ることが可能となった。しかし、単純に機械学習などの手法を適用して、膨大な計測データの解析から細胞動態についての局所的な理解を積み重ねても、階層性を越えた生命現象の統合的な理解に直接つながるとは言いがたい。膨大な計測データを基にした生命現象の統合的な理解を進めるためには、データを適用すべき数理モデルと統計科学的手法を高度に融合させた新たな枠組みが必要となる。

(3) 細胞動態の数理モデル化には多くの先行研究があるものの、実験結果との定性的な比較に基づいて実験の再現性を議論することがほとんどである。これに対して本研究課題では、細胞動態の膨大な計測データを直接活用するために、統計科学的手法と組み合わせて数理モデルを構築する。これにより、実験データとの定量的な比較に基づく再現性の議論や細胞動態の高精度予測が可能となる。

2. 研究の目的

(1) 研究の目的は、細胞集団動態の膨大な計測データを統計科学的手法を用いて活用した上で、高精度な予測を可能とする細胞集団動態の数理(シミュレーション)モデルを構築することである。具体的には、がん細胞動態を主な対象とする。がん細胞は正常な細胞と異なり、接触抑制と呼ばれる細胞同士が接触すると増殖が抑制される性質を持たず、異常増殖を続けることが知られている。この接触抑制に着目して、がん細胞の変形や移動、増殖といった細胞集団の挙動や、細胞内外のシグナル物質の時空間分布などを計測し、これらの計測データを用いてがん細胞動態を高精度に予測する数理モデルを構築する。

(2) 本研究課題の手法が確立すれば、医療データと数理モデルを活用した病態の解析や新たな治療法の提案が可能になる。例えば、数理モデルから得られたがん細胞の特徴的な挙動から、がん細胞の異常増殖に寄与する要因を抽出することで、それをターゲットとして効果的にブロックする治療法が考えられる。

3. 研究の方法

(1) 本研究課題は、実験で得られた細胞動態の計測データを利用して、高精度予測が可能な細胞集団動態の数理モデル構築が目標である。そのために、実験による細胞動態のデータ計測、細胞動態の数理モデル構築、実験データを利用した数理モデルのパラメータ推定の3段階の研究を組み合わせ、研究を効率的に進める。

(2) 実験による細胞動態のデータ計測では、細胞の蛍光顕微鏡による長時間撮影(透過像・蛍光像のタイムラプス撮影)を行うことで、細胞の変形、移動、増殖などの細胞動態に関する計測データを取得する。あわせて、ATPやCa²⁺イオン等の細胞内外のシグナル物質のリアルタイムイメージングを行うことで、シグナル物質の時空間分布についての計測データを取得する。また、圧刺激による細胞の変形挙動の解析等も行う。

(3) 細胞動態の数理モデル構築では、細胞の移動や変形、増殖などの時空間データや、細胞内外のシグナル物質(化学種)等の時空間分布、細胞に働く圧力の情報などを適切に組み込み、細胞

集団動態を記述する数理モデルを構築する。モデルのベースとして、細胞集団のモデリングでしばしば用いられる Cellular Potts Model (CPM)を採用する。シグナル物質への応答や圧力の影響による細胞動態の変化を取り込んだ CPM と、化学種の濃度分布を記述する発展方程式(反応拡散方程式)を組み合わせ、計測データとの定量的な比較と実験の再現が可能な数理モデルを構築する。

(4) 数理モデルのパラメータ推定では、実験で得られた計測データに基づいて、構築した数理モデルのパラメータ推定を行う。多数のパラメータが存在するモデルについて、最適なパラメータを効率的に推定するために、重み付きアンサンブル法等を用いるほか、細胞動態の時空間データに、時間遅れのあるオートエンコーダ(time-lagged Auto Encoder, tAE)や多様体学習の一種である拡散マップを適用することで、複雑な細胞動態ダイナミクスから重要なダイナミクスを抽出しパラメータ推定に活用する。

4. 研究成果

(1) 細胞集団動態に関する実験については、まず咽頭がんにおける呼吸や発声による刺激の影響を想定した実験を行った。喉頭部粘膜扁平上皮癌細胞(KB細胞)に対して、細胞頂上面からの周期的圧刺激を負荷することによって呼吸や発声による振動を再現し、細胞内Ca²⁺あるいはK⁺濃度変化をリアルタイムイメージングした結果、50 Hzの振動では組織中の細胞外K⁺放出が確認された。さらに、培養したKB細胞にヒスタミンを投与してK⁺チャンネル応答をリアルタイムイメージングしたところ、ヒスタミン刺激によってK⁺チャンネル開口は顕著に抑制されるが、ヒスタミン刺激5分前にあらかじめ振動圧刺激を負荷することで、K⁺チャンネル応答の改善されることが分かった。

(2) 同様に、ヒト皮膚微小血管内皮細胞(HMEC-1細胞)に対する拍動による振動を再現した実験でも、細胞内Ca²⁺流入や持続的な細胞外K⁺放出が生じることが確認された。さらに、炎症を引き起こすヒスタミン添加の場合と同様、過剰な周期的圧刺激によっても細胞が収縮することで細胞間力の減少が推察される結果が得られた。これは、炎症時のバリア機能の減弱化に相当すると考えられるので、細胞外をCa²⁺フリーにする、あるいはグリベンクラミドなどのK⁺チャンネル阻害剤を添加した結果、細胞収縮は抑制されることが確認された。

(3) また、圧刺激印加時における培養基質の違いの影響を調べるために、KB細胞を型コラーゲンゲル薄層に播種し、サブコンフルエントの状態であがロースゲルを乗層したところ、増殖が抑制されることが分かった。がん細胞の特徴として、単層でコンフルエント過剰になっても接触阻害を起こさず、分裂・増殖を続ける。しかし、あがロースゲルの圧刺激により、細胞の遊走・増殖が抑制されたことから、圧刺激によって細胞間接触阻害機構が働いたと考えられる。

(4) 細胞動態の数理モデル化とシミュレーションについては、細胞動態の数理モデルの構築のために、圧刺激環境下でのヒト上皮細胞による創傷治癒過程を記述するより精緻な数理モデルの構築を進めていった。これまでに構築していた圧刺激を加えた際に生じるシグナル物質の影響をあらわに取り入れたモデルに加えて、細胞間の接触抑制の効果を取り入れたモデルへの拡張を行った。このモデルを用いた数値計算の結果、圧刺激による創傷部先頭列細胞からのATP放出により、速やかに創傷部が閉鎖される実験結果を再現できた。また、ATP放出がない場合の結果との比較により、特に創傷治癒の途上段階において、ATP放出に起因する細胞遊走が接触抑制による細胞成長にも影響を与えることで、創傷閉鎖速度の顕著な違いが表れることを明らかにした。

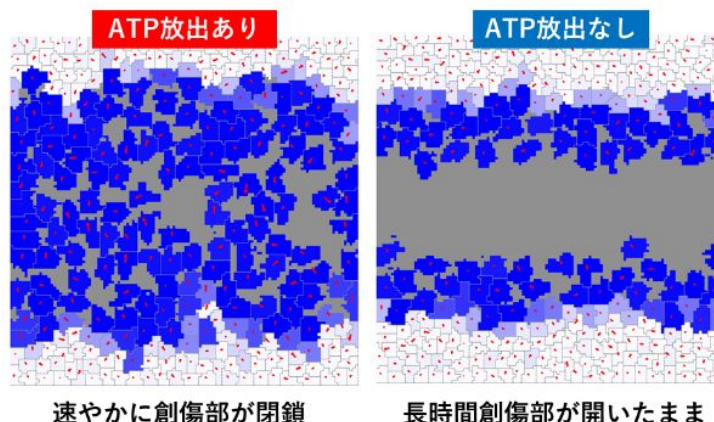


図1 創傷治癒過程のシミュレーション

(5) また、HMEC-1 細胞や皮膚リンパ管内皮細胞の基質の違いによる構造変化や、圧刺激印加時における管腔形成の実験を再現する数理モデルの構築を行った。このモデルでは、(4)で述べた創傷治癒過程を記述する数理モデルを基にして、圧刺激により血管状(ネットワーク状)構造を自発的に形成する血管上皮細胞の細胞動態を想定した数モデルの構築を行った。このモデルを用いた数値計算の結果、細胞間接着の強度や細胞の形状(アスペクト比)に関するパラメータを変化させることで、細胞集団が長時間に渡って血管状構造を維持するような結果が得られた。特に、先行研究では導入されていたシグナル物質への走化性の効果を入れずとも、細胞間接着の強度の違いにより血管状構造が形成されることを示した。

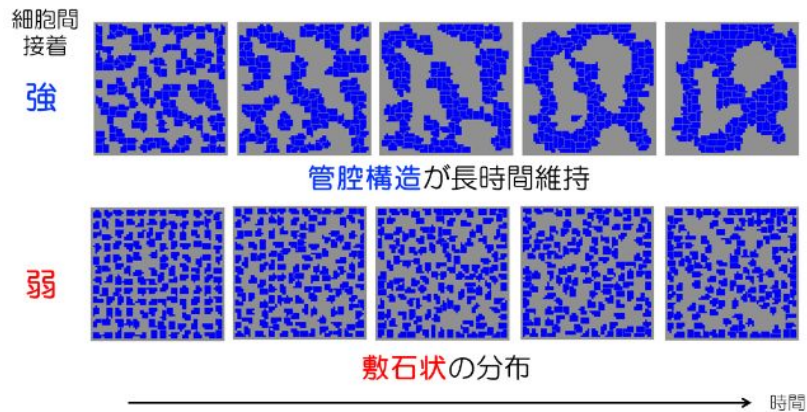


図2 血管形成過程のシミュレーション

(6) パラメータ推定については、(4)で述べた創傷治癒過程の数理モデルによる数値計算結果から得られた時系列データを用いて、時間遅れのあるオートエンコーダ(tAE)により特徴的な細胞ダイナミクスの抽出を行った。その結果、創傷治癒が起こらない状況で引き出される自由度は時間変化をほとんどしないが、創傷治癒が起こる状況では抽出されるいくつかの自由度が特徴的に時間変化することが分かった。

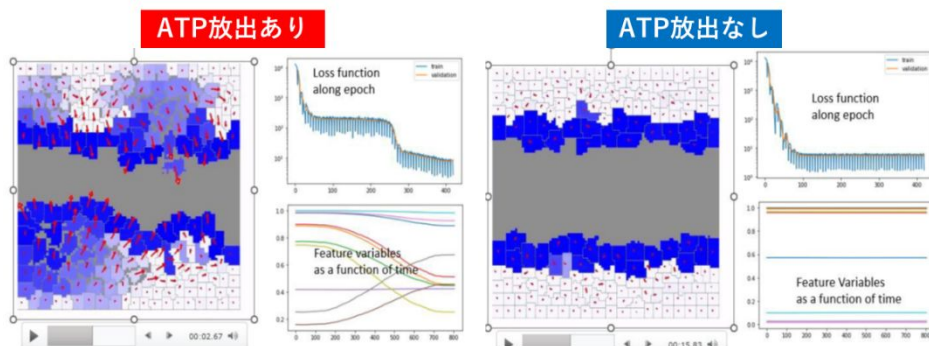


図3 tAEを用いた創傷治癒過程からの特徴的な細胞ダイナミクス抽出

(7) さらに詳細に細胞ダイナミクスの解析を行うために、(4)の創傷治癒過程の数値計算結果とモデル細胞系のシンプルな4種類のダイナミクス(並進、回転、振動、分岐)の数値計算結果に拡散マップを適用することで、主要な細胞ダイナミクスの抽出を試みた。その結果、創傷治癒過程に関する低次元の自由度を抽出することはできたが、モデル細胞系におけるシンプルな細胞ダイナミクスとの関係性については十分な理解を深めることはできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Odagiri Kenta, Fujisaki Hiroshi	4. 巻 2543
2. 論文標題 Mathematical model for wound healing caused by exogeneous mechanical forces	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 AIP Conference Proceedings	6. 最初と最後の頁 20017
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/5.0048360	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 -

1. 著者名 Odagiri Kenta, Fujisaki Hiroshi, Takada Hiroya, Ogawa Rei	4. 巻 20
2. 論文標題 Mathematical model for promotion of wound closure with ATP release	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 e200023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophysico.bppb-v20.0023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroshi Fujisaki, Kenta Odagiri, Hiromichi Suetani, Hiroya Takada, Rei Ogawa
2. 発表標題 Manifold and machine learning techniques applied to cellular movement dynamics under external forces
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Fujisaki, Kenta Odagiri, Hiromichi Suetani, Hiroya Takada, Rei Ogawa
2. 発表標題 Modeling and analyzing collective cellular movement under external forces
3. 学会等名 AMED メカノバイオ領域国際シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田切健太, 藤崎弘士、高田弘弥、小川令
2. 発表標題 圧刺激依存性血管ネットワーク形成のモデル化
3. 学会等名 日本物理学会 2022 年秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Fujisaki, Kenta Odagiri, Hironichi Suetani, Hiroya Takada, Rei Ogawa
2. 発表標題 Dimension compression and mechanobiological effects of collective cell movement dynamics using machine learning
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小田切健太
2. 発表標題 細胞集団動態の数理モデリングと高精度計測データの活用に向けて
3. 学会等名 MIMS研究集会「現象と数理モデル～数理モデリング学の形成に向けて～」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenta Odagiri and Hiroshi Fujisaki
2. 発表標題 Mathematical model for wound healing caused by exogeneous mechanical Forces
3. 学会等名 The 6th Quantum Science Symposium, INTERNATIONAL CONFERENCE OF COMPUTATIONAL METHODS IN SCIENCES AND ENGINEERING ICCMSE 2020 (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小田切健太、藤崎弘士
2. 発表標題 細胞に加わる力を考慮した血管ネットワーク形成のモデル化
3. 学会等名 日本物理学会2020年秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小田切健太
2. 発表標題 実データを用いた細胞集団動態のモデル化にむけて
3. 学会等名 研究会 現象数理学の形成と発展（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田切健太、藤崎弘士
2. 発表標題 細胞に加わる力を考慮した創傷治癒過程のモデル化
3. 学会等名 日本物理学会 第75回年次大会（発表成立扱い）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Fujisaki, Kenta Odagiri, Hiromichi Suetani, Hiroya Takada, Rei Ogawa
2. 発表標題 Extracting dynamic degrees of freedom involved in angiogenesis using deep learning
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	高田 弘弥 (Takada Hiroya) (30824833)	日本医科大学・医学部・教授 (32666)	
研究 分担者	藤崎 弘士 (Fujisaki Hiroshi) (60573243)	日本医科大学・医学部・教授 (32666)	

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
---------	---------