

## 機械刺激による表皮細胞間カルシウム伝播の数理解モデルについて - 角層再生数理解モデルの構成に向けて -

長山雅晴 (金沢大学理工研究域数物科学系・JST さきがけ),  
参納由実 (金沢大学大学院自然科学研究科),  
傳田光洋, 堤も絵, 新妻真希子 (資生堂リサーチセンター),  
中田聡 (広島大学理学研究科), 北畑裕之 (千葉大学理学研究科)

### 1 はじめに

皮膚は真皮部分と表皮部分から成っており, 外側にある表皮では, 基底層から表皮細胞が細胞分裂し, 有棘層, 顆粒層と分化していき, 最後に細胞死により角層となっている. 角層は死んだ表皮細胞と細胞間脂質より形成されている. 皮膚の持つ重要な役割の一つに体内水分の保持機能 (バリア機能) があるが, この機能は表皮の中の角層が担っている. 角層が破壊されたままだと体内水分を保持することができなくなるため, 角層は破壊されると約 24 時間で 90 % 以上回復する. 角層が角層破壊からの早期回復機能を有しているために, 体内の水分は保持されているのである [1]. 角層がバリア機能を保持するために 2 つの機能 (恒常性維持と早期回復) を持っていることは分かっていたが, その機能がどのような機構で維持されているのかほとんど分かっていない. 本研究の目的は角層の恒常性維持機能と早期回復機能の仕組みを数理的立場から明らかにすることにある.

これまでの研究から角層の恒常的維持機能には角層直下でのカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) の局在化と消失が重要であることがわかってきた [2]. また, 培養表皮細胞の一部を空気暴露することにより  $\text{Ca}^{2+}$  波が空気暴露した表皮細胞から培養液中の表皮細胞に伝播する現象が発見された [3]. このことは角層が破壊され表皮細胞が空気にさらされると表皮細胞間を  $\text{Ca}^{2+}$  波が伝播し, 皮膚表面で起こった事象を表皮内部に情報伝達できることを示唆しており, 角層の早期回復機構に関わっているのではないかと考えられる. これらの事実から角層の持つ 2 つの機能には  $\text{Ca}^{2+}$  が深く関わっている可能性が出てきた. これまでの細胞における  $\text{Ca}^{2+}$  の数理解モデルは FitzHugh-Nagumo 型のモデル方程式になっており [4], 局在構造を持つ解を構成することが困難であることがわかった. 従って, 表皮細胞における  $\text{Ca}^{2+}$  の振る舞いを定性的に記述する数理解モデルの構成が必要となった. 本研究では機械刺激を受けた培養表皮細胞の振る舞いに注目し, 表皮細胞に対する  $\text{Ca}^{2+}$  の伝播形態を定性的に記述する数理解モデルを構成する.

### 2 ATP 感受性受容体付モデル

我々は 1 貯蔵庫モデルとよばれる細胞質中でのカルシウム興奮現象を記述している数理解モデル [5] を基礎として, この 1 貯蔵庫モデルに対して

- 1) 刺激による細胞外への ATP 放出と ATP の細胞外拡散
- 2) ATP 受容による  $\text{IP}_3$  の細胞質内放出
- 3)  $\text{IP}_3$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  の Gap-Junction を通じた細胞間拡散
- 4)  $\text{Ca}^{2+}$  興奮による細胞外への ATP 放出

を加えることによって, 表皮細胞間カルシウムイオン伝播の数理解モデルを構成する. さらに,

機械刺激による興奮現象を記述するために、次のことを仮定する：

5) 機械刺激を受けた細胞は細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の流入により興奮する (実験から示唆された事実) また、細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が約  $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$  であるのに対して細胞外および貯蔵庫内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は約  $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$  であることから、細胞外や貯蔵庫内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化は考えないものとする。以上の仮定から、我々は次の数理モデルを構成した：

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = d_A A - G(A) + \sum_{i=1}^N I(c_i, \mathbf{x}_i), \\ \frac{dP_i}{dt} = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^N d_P(i, j, \ell)(P_j - P_i) + H(A(t, \mathbf{x}_i)) - J(P_i), \\ \frac{dc_i}{dt} = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^N d_c(i, j, \ell)(c_j - c_i) + F_u(P_i, c_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{dt} = \frac{1}{\tau_{h0}} F_h(c_i, h_i). \end{cases} \quad (2.1)$$

このモデルは  $\text{IP}_3$  感受性貯蔵庫において、3つのドメインが存在し1つが  $\text{IP}_3$  と結合し、残りの2つに  $\text{Ca}^{2+}$  が結合できると仮定している<sup>1</sup>。ここで、各関数は次のように与える：

$$F_u(P, c, h) = K_F \left( \mu_0 + \frac{\mu_1 P}{k_\mu + P} \right) \left( B + \frac{(1-B)c}{K_1 + c} \right) h - \frac{\gamma c}{K_\gamma + c} + \beta,$$

$$F_h(c, h) = \frac{K_2^2}{K_2^2 + c^2} - h, \quad G(A) = \frac{K_{aa} A^{m_{a3}}}{G_0^{m_{a4}} + A^{m_{a4}}},$$

$$H(A) = \frac{K_{pa} A^{m_{a1}}}{H_0^{m_{a2}} + A^{m_{a2}}}, \quad J(P) = \frac{K_{pp} P^{m_{p1}}}{J_0^{m_{p2}} + P^{m_{p2}}},$$

$$d_P(i, j, L) = \frac{d_P}{\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2} o(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j; 2L), \quad d_c(i, j, L) = \frac{d_c}{\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2} o(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j; 2L),$$

$$I(c, \mathbf{x}_i) = \begin{cases} \frac{K_{ac}(c - \bar{c})^{m_{c1}}}{I_0^{m_{c2}} + (c - \bar{c})^{m_{c2}}} \delta(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i, r), & c \geq \bar{c}, \\ 0, & c < \bar{c}. \end{cases}$$

ただし、

$$\delta(\mathbf{x}, \mathbf{y}; r) = \frac{1}{2} \left( 1 + \tanh \left( \frac{r - \|\mathbf{x} - \mathbf{y}\|}{\delta} \right) \right),$$

$$o(\mathbf{x}, \mathbf{y}; r) = \begin{cases} 1, & \|\mathbf{x} - \mathbf{y}\| \leq r, \\ 0, & \|\mathbf{x} - \mathbf{y}\| > r \end{cases}$$

である。各変数および定数は次の通りである： $c_i(t)$  は細胞質内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度、 $P_i(t)$  は細胞質内の  $\text{IP}_3$  濃度、 $A(t, \mathbf{x})$  は細胞外の ATP 濃度であり、 $h_i(t)$  は  $\text{IP}_3$  感受性貯蔵から細胞質内への  $\text{Ca}^{2+}$  放出の活性効果を表す変数である。 $r$  は細胞の半径、 $\gamma$  は細胞質内から  $\text{IP}_3$  感受性貯蔵庫や細胞外への  $\text{Ca}^{2+}$  のくみ出し率、 $\beta$  は  $\text{IP}_3$  感受性貯蔵庫や細胞外から細胞質への  $\text{Ca}^{2+}$  のもれを表し、 $L$  は細胞中心からの距離である。

<sup>1</sup>細胞が興奮性や振動性を示す現象は2貯蔵庫モデルと同じである [4].

## 2.1 無次元化

$$u_i = \frac{c_i}{K_1}, p_i = \frac{P_i}{K_\mu}, a = \frac{A}{H_0}, \mathbf{y} = \frac{1}{r} \mathbf{x}, t_1 = \frac{K_1}{K_F \mu_0 B}, \tau = \frac{t}{t_1}$$

とおくと、モデル方程式 (2.1) は

$$\begin{cases} \frac{\partial a}{\partial \tau} = d_a a - g(a) + \sum_{i=1}^N i(u_i), \\ \frac{dp_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_p(i, j, \ell)(p_j - p_i) + h(a(t, \mathbf{x}_i)) - j(p_i), \\ \frac{du_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_u(i, j, \ell)(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{d\tau} = \frac{1}{\tau_h} f_h(u_i, h_i) \end{cases} \quad (2.2)$$

となる。ただし、

$$f_u(p, u, h) = \left(1 + \frac{\mu p}{1+p}\right) \left(1 + \frac{bu}{1+u}\right) h - \frac{\gamma_1 u}{k_1 + u} + \beta_1,$$

$$f_h(u, h) = \frac{k_2^2}{k_2^2 + u^2} - h, \quad g(a) = \frac{k_{aa} a^{m_{a3}}}{g_0^{m_{a4}} + a^{m_{a4}}},$$

$$h(a) = \frac{k_{pa} a^{m_{a1}}}{1 + a^{m_{a2}}}, \quad j(p) = \frac{k_{pp} p^{m_{p1}}}{j_0^{m_{p2}} + p^{m_{p2}}},$$

$$i(u, \mathbf{y}_i) = \begin{cases} \frac{k_{ac}(u - \bar{u})^{m_{c1}}}{i_0^{m_{c2}} + (u - \bar{u})^{m_{c2}}} \delta(\mathbf{y}, \mathbf{y}_i, 1), & u \geq \bar{u}, \\ 0, & u < \bar{u}, \end{cases}$$

$$d_p(i, j, \ell) = \frac{d_p}{\|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} o(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell),$$

$$d_u(i, j, \ell) = \frac{d_u}{\|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} o(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell)$$

である。ここで、

$$d_a = \frac{t_1 d_A}{r^2}, d_p = \frac{t_1 d_P}{r^2}, d_u = \frac{t_1 d_c}{r^2},$$

$$\bar{u} = \frac{\bar{c}}{K_1}, \mu = \frac{\mu_1}{\mu_0}, b = \frac{1-B}{B}, \gamma_1 = \frac{\gamma}{K_F \mu_0 B}, k_1 = \frac{K_\gamma}{K_1}, \beta_1 = \frac{\beta}{K_F \mu_0 B},$$

$$k_2 = \frac{K_2}{K_1}, k_{aa} = t_1 H_0^{m_{a3} - m_{a4} - 1}, k_{ac} = \frac{t_1 K_{ac} K_1^{m_{c1} - m_{c2}}}{H_0}, k_{pa} = \frac{t_1 K_{pa}}{K_\mu} H_0^{m_{a1} - m_{a2}},$$

$$k_{pp} = t_1 K_{pp} K_\mu^{m_{p1} - m_{p2} - 1}, g_0 = \frac{G_0}{H_0}, i_0 = \frac{I_0}{K_1}, j_0 = \frac{J_0}{K_\mu}, \ell = \frac{L}{r}, \tau_h = \frac{\tau h_0}{t_1}.$$

となる。

## 2.2 Gap-Junction の開閉モデル

細胞  $C_i$  と細胞  $C_j$  間の Gap-Junction(GJ) の開閉を考える. GJ の開閉を変数  $w_{ij}(t; u_i, u_j)$  を用いて,  $w_{ij} \rightarrow 1$  ならば細胞  $C_i$  と細胞  $C_j$  間の GJ は開いている,  $w_{ij} \rightarrow 0$  ならば細胞  $C_i$  と細胞  $C_j$  間の GJ は閉じているとする. このとき, 次の微分方程式で GJ の開閉を表す:

$$\frac{dw_{ij}}{dt} = D(u_i, u_j)(1 - w_{ij})w_{ij}. \quad (2.3)$$

ただし, GJ の開閉は  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度差によって行われるとして

$$D(u_i, u_j) = \frac{w_0 - w_c}{2} + \left( w - \left( \frac{w_0 - W_c}{2} \right) \right) \tanh \left( \frac{w_d - (u_j - u_i)}{\varepsilon_w} \right)$$

とする. ここで, パラメータは  $w_0 = 0.2, w_c = 0.4, w_d = 0.1, \varepsilon_w = 0.001$  としている. このとき, GJ の開閉に依存して  $\text{IP}_3$  と  $\text{Ca}^{2+}$  の細胞間拡散係数が変化すると仮定し,

$$d_p(t; i, j, \ell) = \frac{d_p w(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} o(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell),$$

$$d_u(t; i, j, \ell) = \frac{d_u w(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} o(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell)$$

とおく.

## 3 改良版モデル

$\text{Ca}^{2+}$  興奮により細胞外へ ATP 放出が行われるモデル (2.2) においては, ATP 放出が停止しない場合がある. この現象はモデル方程式において細胞が放出する ATP が無尽蔵にあることに起因している. この問題を解決するために, 細胞内の ATP 濃度変化を記述するモデル方程式を導入し, この問題点の解決を図る. そこで, 細胞内の ATP 濃度  $B_i(t)$  を考えた数理モデルを考える. このとき生じる問題は細胞内 ATP を消費する現象が何であるか? である. この問題を解決するためには実験を行う必要があるが, ここでは可能性のあるすべての現象で細胞内 ATP を消費すると仮定する. すなわち以下の通りである:

(1) 機械刺激, カルシウム興奮によって ATP を細胞外に放出することで細胞内 ATP を消費する:

$$I(c_i, \mathbf{x}_i) \rightarrow I(c_i(t), \mathbf{x}_i)B_i(t).$$

(2) 細胞外へ絶えずカルシウムイオンをくみ出すことで細胞内 ATP を消費する:

$$F_u(P, c, h) = K_F \left( \mu_0 + \frac{\mu_1 P}{k_\mu + P} \right) \left( B + \frac{(1-B)c}{K_1 + c} \right) h - \frac{\gamma c}{K_\gamma + c} B_i(t) + \beta.$$

(3)  $\text{IP}_3$  を生成時に細胞内 ATP を消費する:

$$H(A(t), \mathbf{x}_i) \rightarrow H(A(t), \mathbf{x}_i)B_i.$$

(4) 常に一定の割合で ATP は生成される. このとき飽和 ATP 濃度があると仮定する:

$$K_B(B_0 - B).$$

以上のことを考慮し、 $B = B/B_0$  と変数変換すると無次元化された数理モデルは次のように書くことができる：

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial a}{\partial \tau} = d_a a - g(a) + \sum_{i=1}^N i(u_i, \mathbf{x}_i)\beta_i, \\ \frac{dB_i}{d\tau} = d_B(1 - B_i) - \sum_{i=1}^N \varepsilon_a i(u_i, \mathbf{x}_i)B_i - \varepsilon_p h(a(t, \mathbf{x}_i))B_i - \varepsilon_u \frac{\gamma_1 u_i}{k_\gamma + u_i} B_i, \\ \frac{dp_i}{d\tau} = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^N d_p(t; i, j, \ell)(p_j - p_i) + h(a(t, \mathbf{x}_i))B_i - j(p_i), \\ \frac{du_i}{d\tau} = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^N d_u(t; i, j, \ell)(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{d\tau} = \frac{1}{\tau_h} f_h(u_i, h_i). \end{array} \right. \quad (3.1)$$

ただし、 $\varepsilon_a, \varepsilon_p, \varepsilon_u$  は ATP 消費率を表す。

#### 4 数値シミュレーション

培養実験系での機械刺激に対する数値計算を行うために、細胞を2次元平面にランダムに配置する。細胞外 ATP は連続場での偏微分方程式として数値計算を行い、表皮細胞は各細胞を質点とし常微分方程式として数値計算を行う。モデル方程式(3.1)に対して、個々の細胞が単安定系となるように適当なパラメータを設定し数値計算を行った。また、 $\text{Ca}^{2+}$  の GJ を通じた拡散は  $\text{IP}_3$  の GJ を通じた拡散より十分小さいことがわかっている<sup>2</sup>ので、 $0 < d_u \ll d_p$  とする。その結果、図 4.1 のように  $\text{Ca}^{2+}$  波が円板状にある程度まで広がり伝播が停止した。これは機械刺激の実験結果を定性的に再現していると考えられる。

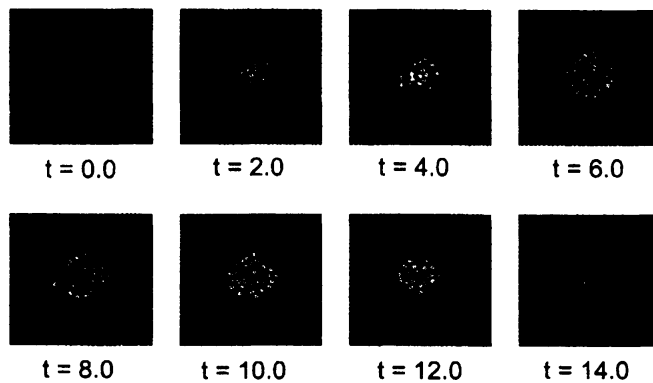


図 4.1: 機械刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播現象の数値シミュレーション

この伝播現象を起こす機構を明らかにするための実験として ATP 受容阻害剤と GJ 阻害剤を入れた実験がある。いずれの場合にも  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播範囲が小さくなっていることがわかっている<sup>2</sup>。この実験結果を再現する数値計算を行った。ATP 受容阻害剤をいれると細胞

<sup>2</sup>ページの関係で実験の詳細は省略することにする。

外 ATP を細胞が受容できなくなり  $IP_3$  を生成しなくなることから、モデル方程式 (3.1) において  $h(a) \equiv 0$  として数値計算を行った。その結果、図 4.2(a) のようになった。次に、GJ 阻害剤を入れると細胞間での物質移動が阻害されることから、モデル方程式 (3.1) において  $d_p = 0, d_u = 0$  として数値計算を行った。その結果、図 4.2(b) のようになった。いずれの場合も  $Ca^{2+}$  波の伝播範囲が小さくなっていることがわかった。この結果から、我々の構成した数理モデルは  $Ca^{2+}$  の細胞間伝播現象を定性的に再現していることが示唆された。

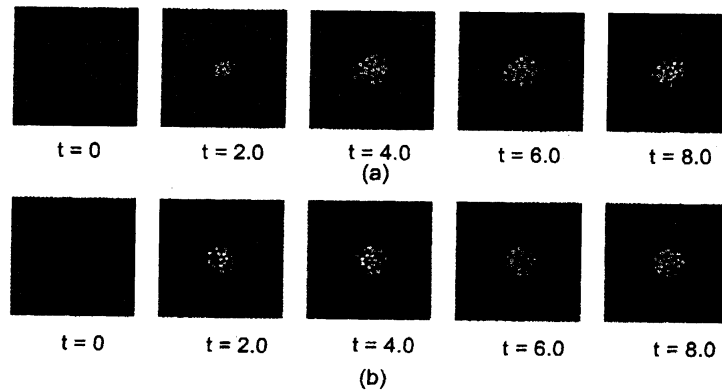


図 4.2: 阻害剤導入時の機械刺激による  $Ca^{2+}$  波の伝播現象の数値シミュレーション。(a) : ATP 受容阻害剤導入時, (b) : Gap-Junction 阻害剤導入時。

以上の結果から、培養表皮細胞での  $Ca^{2+}$  伝播現象は、神経軸索に現れる電位伝播のような強い興奮伝播現象ではなく、 $Ca^{2+}$  の弱い興奮性と細胞外 ATP と細胞間  $IP_3$  の拡散効果の相互作用によって起こっており、 $Ca^{2+}$  波は弱興奮性の伝播であることがわかった。

## 参考文献

- [1] 傳田 光洋, 皮膚は考える (岩波科学ライブラリー 112), 岩波書店.
- [2] M. Denda, J. Hosoi and Y. Ashida, *Visual imaging of ion distribution in human epidermis*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **272**, 789-795(2000).
- [3] M. Denda and S. Denda, *Air-exposed keratinocytes exhibited intercellular calcium oscillation*, *Skin Research and Technology*, **13**, 195-201(2007).
- [4] J.Keener, J.Sneyd[著], 中垣俊之 [監訳], 数理生理学 (上), 日本評論社.
- [5] Atri, A., J.Amundson, D.Clapham, and J.Sneyd, *A single-pool model for intracellular calcium oscillations and waves in the Xenopus laevis oocyte*, *Biophysical Journal*, **65**, 1727-1739(1993).