

真核細胞の走化性を生み出す自己組織化シグナルシステムの分岐解析

Bifurcation analysis of a self-organizing signaling system for eukaryotic chemotaxis

中村直俊

理化学研究所・生命システム研究センター

Naotoshi Nakamura

RIKEN Quantitative Biology Center, Kobe 650-0047, JAPAN

ホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 (PIP₃) は、走化性真核細胞の細胞膜において細胞の進む方向を指示するリン脂質である。PIP₃ は異なる実験条件によって、細胞膜上で過渡的なスポットパターンを示したり、進行波のパターンを示したりすることが観察されているが、その数学的なメカニズムは明らかでなかった。今回、我々は PIP₃ の動態を記述する 3 変数・空間 1 次元の反応拡散方程式モデルの分岐解析を行った。数値計算によれば、定常解は一様解、1 山解、2 山解の 3 つに大別され、一様解と 1 山解はあるパラメータ領域で安定である。これに基づき、PIP₃ の過渡的なパターンは 1 山解がサドル・ノード分岐で消滅した後の「余韻」として理解できること、また進行波のパターンは 1 山解からピッチフォーク分岐によって生じることが明らかになった。

1 イントロダクション

走化性、すなわち化学誘引物質の濃度勾配に対する細胞の運動は、原核細胞（大腸菌など）や真核細胞（白血球、神経細胞、がん細胞など）に広く見られる普遍的な現象である。ヒトの細胞のような真核細胞においては、細胞がアクチンタンパク質からなる仮足を伸ばして、化学誘引物質の濃度が高い方向に進んでいくことが知られている。しかし、濃度勾配がない状況でも、多くの細胞は同じように仮足を伸ばし、ランダムな方向に進むことができる。

細胞が動く際、ホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP₃) という細胞膜上のリン脂質が仮足を伸ばす方向を指示することがわかっている。PIP₃ は、PI3K というリン酸化酵素によって PIP₂ から新たに作られる一方で、PTEN という脱リン酸化酵素によって PIP₃ へと分解されるので、細胞膜上の PIP₃ の量は常に変化している (図 1)。

動く真核細胞のモデル系である細胞性粘菌を用いて、PIP₃ の振る舞いを生きた細胞で観察することができる。それには PIP₃ に結合する蛍光タンパク質 (PH(Akt)-GFP) を用いるのだが、観察結果によると、PIP₃ は細胞膜上で過渡的なスポットパターンを示す場合と、進行波様のパターンを示す場合があった [3]。しかし、その振る舞いの理由は不明であった。この PIP₃ の細胞膜上の振る舞いを記述する数理モデルが最近作成された [1]。本研究ではこの数理モデルを用いて、PIP₃ の様々なパターン形成を数学的に理解することを試みた [2]。

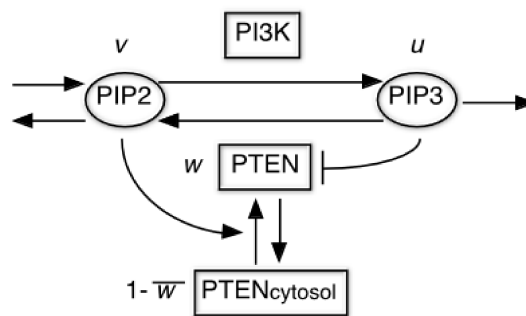


図 1: PIP₃-PIP₂-PTEN の 3 変数反応拡散系。式 (1)-(3) に対応する。リン脂質である PIP₃, PIP₂ は細胞膜上にとどまり、タンパク質である PTEN は細胞膜と細胞質を行き来する。

2 数理モデル

周径 ℓ の 1 次元円周 (細胞膜に相当する) 上で定義された, 3 変数 u, v, w の反応拡散方程式系である。 u が PIP₃, v が PIP₂, w が PTEN に相当する (図 1, 式は無次元化されている [2])。

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - a_1 w \frac{u}{K_1 + u} + a_2 \frac{v}{K_2 + v} - u \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = d_2 \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \lambda_2 \left(a_1 w \frac{u}{K_1 + u} - a_2 \frac{v}{K_2 + v} + 1 - v \right) \quad (2)$$

$$\frac{\partial w}{\partial t} = d_3 \frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + a_0(1 - \bar{w}) \frac{K_4}{K_4 + u} \frac{v}{K_5 + v} - \lambda_3 w \quad (3)$$

ただし, $\bar{w} = \frac{1}{\ell} \int_0^\ell w dx$ (w の全周平均)。以下の数値計算では, パラメータの値として次を用いた: $\ell = 2\pi \cdot 5$, $a_1 = 33.3$, $a_0 = 6.5$, $8 \leq a_2 \leq 12$ (分岐パラメータ), $K_1 = 0.22$, $K_2 = 0.0775$, $K_4 = 0.53$, $K_5 = 0.0665$, $\lambda_2 = 0.005$, $\lambda_3 = 5$, $d_2 = 1$, $d_3 = 0.75$ 。

式の生物学的意味を簡単に解説する。(1) の右辺第 1 項は拡散項, 第 2 項は PIP₃ から PIP₂ への分解, 第 3 項は PIP₂ から PIP₃ の合成, 第 4 項は PIP₃ の分解を示している。(2) の右辺第 1 項は拡散項, 第 2 項は PIP₃ から PIP₂ への分解, 第 3 項は PIP₂ から PIP₃ の合成, 第 4 項は PIP₂ の (他のリン脂質からの) 合成, 第 5 項は PIP₃ の分解を示している。(3) の右辺第 1 項は拡散項, 第 2 項は PTEN の細胞質から膜への移動, 第 3 項は PTEN の膜から細胞質への移動を示している。

3 一様定常解とその安定性

命題: $a_2 \geq 0$ ならば, 空間一様な定常解 (u, v, w) が一意に存在する。

証明:

$$0 = -a_1 w \frac{u}{K_1 + u} + a_2 \frac{v}{K_2 + v} - u, \quad (4)$$

$$0 = a_1 w \frac{u}{K_1 + u} - a_2 \frac{v}{K_2 + v} + 1 - v, \quad (5)$$

$$0 = a_0(1 - w) \frac{K_4}{K_4 + u} \frac{v}{K_5 + v} - \lambda_3 w \quad (6)$$

をみたま u, v, w の存在を示せばよい。(4) と (5) から

$$1 - u - v = 0. \quad (7)$$

(4), (6), (7) を用いて

$$w = \frac{a_0 K_4 (1 - u)}{a_0 K_4 (1 - u) + \lambda_3 (K_4 + u)(K_5 + 1 - u)}. \quad (8)$$

$$\begin{aligned} a_2 &= \frac{K_2 + v}{v} \left(u + a_1 w \frac{u}{K_1 + u} \right) \\ &= \frac{K_2 + 1 - u}{1 - u} \left(\lambda_1 u + a_1 \frac{u}{K_1 + u} \cdot \frac{a_0 K_4 (1 - u)}{a_0 K_4 (1 - u) + \lambda_3 (K_4 + u)(K_5 + 1 - u)} \right). \end{aligned} \quad (9)$$

$u \in [0, 1]$ を 1 つ決めれば, v と w を (8) と (9) から決めることができ, 両方とも正の値になる。(9) を u で微分すると, $0 \leq u < 1$ において a_2 が u の狭義単調増加関数であることがわかる。また, $u = 0$ のとき $a_2 = 0$, $u \nearrow 1$ のとき $a_2 \rightarrow \infty$ である。これより, $a_2 \geq 0$ のとき, 空間一様な定常解 (u, v, w) が一意に存在することが従う。(証明終)

この一様定常解の安定性を調べる。一様定常解 (u_0, v_0, w_0) の近傍 $((u, v, w) = (u_0 + U, v_0 + V, w_0 + W))$ で線形化を行う。

$$L = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2}{\partial x^2} & & \\ & d_2 \frac{\partial^2}{\partial x^2} & \\ & & d_3 \frac{\partial^2}{\partial x^2} - v_0 \frac{K_4}{K_4 + u_0} \frac{v_0}{K_5 + v_0} \cdot \frac{1}{l} \int_0^l dx \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} -a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} - 1 & a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} & -a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ \lambda_2 a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} & -\lambda_2 a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} - \lambda_2 & \lambda_2 a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ -a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{(K_4 + u_0)^2} \frac{v_0}{K_5 + v_0} & a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{K_4 + u_0} \frac{v_0}{(K_5 + v_0)^2} & -\lambda_3 \end{pmatrix} \quad (10)$$

とにおいて、

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = L(\mathbf{u}, a_2), \quad \mathbf{u} = (U, V, W) \quad (11)$$

の安定性を調べればよい。

$$(U, V, W) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} e^{imk_0 x} (\alpha_m, \beta_m, \gamma_m) \quad (k_0 = 2\pi/l) \quad (12)$$

とおき、異なるモードに分解する。モード 0 ($m=0$) では、 L は

$$L_0 = \begin{pmatrix} -a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} - 1 & a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} & -a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ \lambda_2 a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} & -\lambda_2 a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} - \lambda_2 & \lambda_2 a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ -a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{(K_4 + u_0)^2} \frac{v_0}{K_5 + v_0} & a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{K_4 + u_0} \frac{v_0}{(K_5 + v_0)^2} & -v_0 \frac{K_4}{K_4 + u_0} \frac{v_0}{K_5 + v_0} - \lambda_3 \end{pmatrix} \quad (13)$$

それ以外のモード ($m \neq 0$) では、 L は

$$L_m = \begin{pmatrix} -a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} - 1 - m^2 k_0^2 & a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} & -a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ \lambda_2 a_1 w_0 \frac{K_1}{(K_1 + u_0)^2} & -\lambda_2 a_2 \frac{K_2}{(K_2 + v_0)^2} - \lambda_2 - d_2 m^2 k_0^2 & \lambda_2 a_1 \frac{u_0}{K_1 + u_0} \\ -a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{(K_4 + u_0)^2} \frac{v_0}{K_5 + v_0} & a_0(1 - w_0) \frac{K_4}{K_4 + u_0} \frac{v_0}{(K_5 + v_0)^2} & -\lambda_3 - d_3 m^2 k_0^2 \end{pmatrix} \quad (14)$$

となる。固有値のうち実部最大のものを図 2 に示す: L_0 (青), L_1 (緑), L_2 (赤), $7.5 < a_2 < 11$ 。 a_2 が 10.06 より大きくなると、モード 1 が不安定化するが、それ以外のモードは安定であることがわかる。

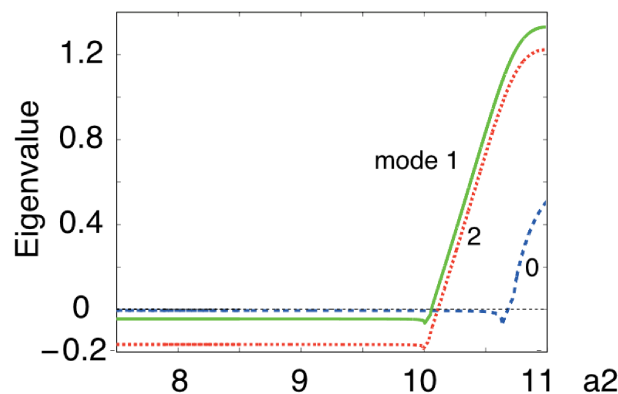


図 2: 各モードの実部最大固有値 (の実部)。横軸は分岐パラメータ a_2 。

4 数値的分岐解析

PI3K の活性に相当する a_2 を分岐パラメータとして、分岐図を数値的に描いた。まず、空間 (1 次元円周) を $N = 256$ 分割し、2 階の偏微分を 2 次の中心差分に置き換えることで、3 変数の PDE を $3N$ 変数の

ODEに変換した。MATLABの自作プログラムを用い、シミュレーションで得られた定常解からスタートして、パラメータ a_2 を変化させながら定常解を追跡した。サドル・ノード点の付近では、疑似弧長法を併用した。定常解の固有値も MATLAB によって計算した。 $N = 128, 512$ でもほぼ同じ結果が得られることを確認している。

図3上に得られた分岐図を示す。横軸は a_2 、縦軸は $\bar{w} = \frac{1}{\ell} \int_0^\ell w dx$ (w の全周平均) である。一様解と1山解, 2山解の3種類の定常解が観察され(図4), 一様解と1山解は太実線の領域で安定である。Bがサドル・ノード点, 1山解の安定領域の左側Cはホップ分岐, 右側Dはピッチフォーク分岐になっている。

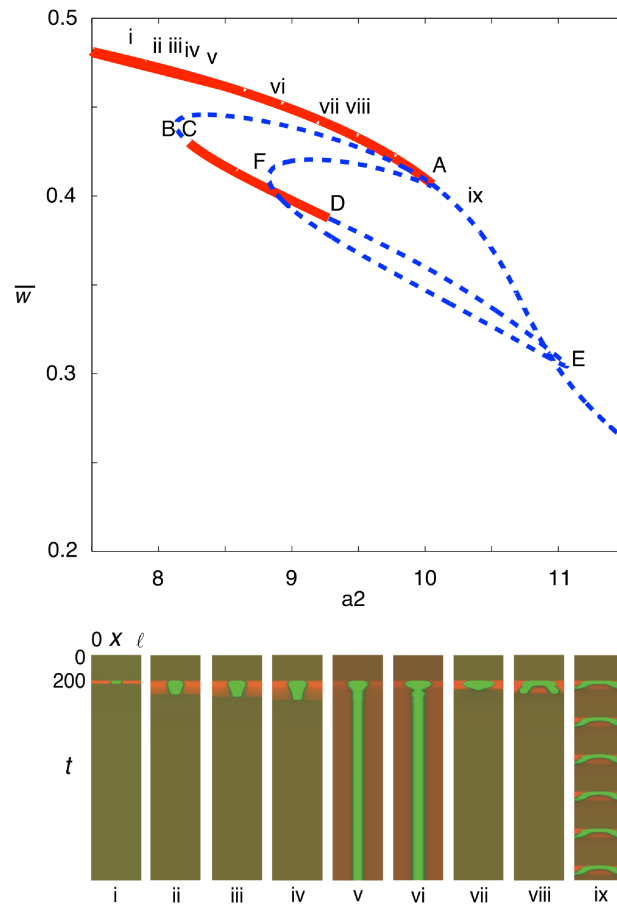


図3: 上: 分岐図。横軸は分岐パラメータ a_2 、縦軸は w の全周平均。下: 代表的な時空間プロット ($a_2 = 7.8, 8.0, 8.1305, 8.2, 8.4, 8.9, 9.3, 9.7, 10.3$)。横方向が空間 (を1次元に展開したもの)、縦方向が時間。 u を緑、 w を赤で示す。一様解からスタートして、 $t = 200$ で u に矩形形状の局所的な摂動を与えている。v, viは1山解が安定な領域なので、1山解が定常なパターンとして観察される。

5 一様解に対する局所的な摂動

一様解からスタートし、 u に局所的な (矩形形状の) 摂動を与え、時間経過を調べた (図3下)。細胞においては、これは PIP_3 にシグナルノイズを与えることに相当する。図5に v の真ん中の値と w の真ん中の値を2次元プロットで示した (真ん中: 矩形形状の摂動の中心)。一様解が右上の四角印、1山解が三角印である。

a_2 の大きい方から見ていくと、 $a_2 = 8.9, 8.4$ では摂動を与えた後すぐに1山解に遷移し、安定なのでそこでとどまる。 $a_2 = 8.2$ では同じように1山解に遷移するが、そこはもはや安定ではないので、しばらくそ

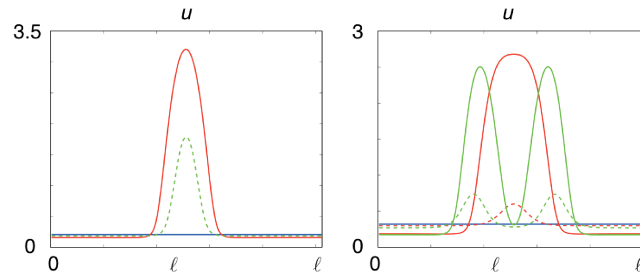


図 4: 一様解, 1 山解と 2 山解。左: $a_2 = 8.4$, 右: $a_2 = 9.7$ 。

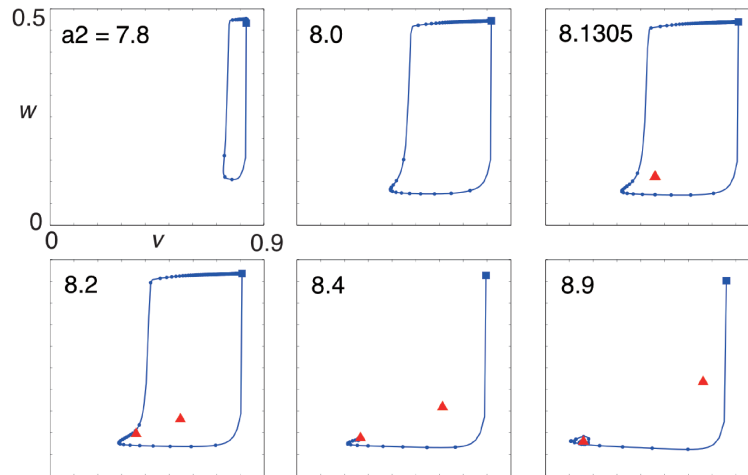


図 5: u に矩形形状の局所的な摂動を与えたときの v - w プロット。右上の四角が一様解, 三角が 1 山解。

の付近で時間を過ごした後, 一様解に戻る。つまり, 興奮性の挙動を示す。これは式 (1)–(3) の空間微分を除いた ODE 系の解析 [3] とも符合する。 $a_2 = 8.1305$ がサドル・ノード点であり, 2つの 1 山解が合体し, 消滅する。 $a_2 = 8$ では 1 山解は存在しないが, 「あたかもそこに定常解があるかのように」系がしばらく時間を過ごした後, 一様解に戻る。これは定常解の余韻 (ghost) として知られる振る舞いになっている。

6 進行波解

一方, 進行波解は $a_2 > 9.28$ (図 3 の D の右側) において見られる。図 6 に示すように, 1 山定常解 D から両方向に進む進行波解が分岐する。実際の細胞においては, PIP_3 の進行波様パターンは, 観察液中にカフェインを入れたときに観察される頻度が上昇する。カフェインは PI3K の作用に影響を与えられっており, a_2 を増加させる働きがあると推定される。このことは分岐図の解析とも合致する。

7 謝辞・参考文献

本研究は理化学研究所・生命システム研究センター・フィジカルバイオロジー研究チームの柴田達夫チームリーダーのもとで行ったものです (参考文献 [2])。ただし, この講義録原稿は中村の責任で執筆しました。研究会においてアドバイスを下さった方々に感謝します。

[1] Arai, Y., Shibata, T., Matsuoka, S., Sato, M.J., Yanagida, T., Ueda, M.: Self-organization of the phosphatidylinositol lipids signaling system for random cell migration. *Proc Natl Acad Sci* 107, 12399–12404, 2010.

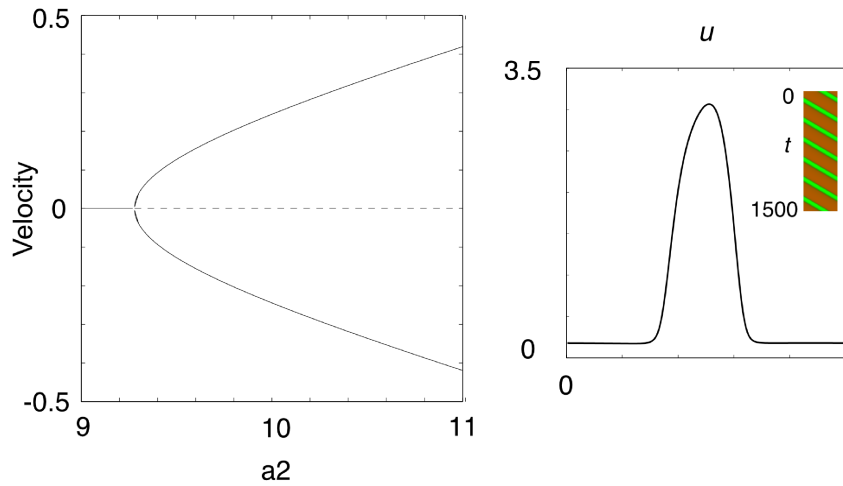


図 6: 進行波解。左: 分岐パラメータ a_2 に対して進行波の速度を示す。 $a_2 > 9.28$ において, 両方向に進む波がある。右: 進行波の形と時空間プロット。 $a_2 = 9.5$ 。

[2] Nakamura, N., Shibata, T.: Bifurcation analysis of a self-organizing signaling system for eukaryotic chemotaxis. *Japan J. Indust. Appl. Math.* 32, 807-828, 2015.

[3] Shibata, T., Nishikawa, M., Matsuoka, S., Ueda, M.: Modeling the self-organized phosphatidylinositol lipid signaling system in chemotactic cells using quantitative image analysis. *J Cell Sci* 125, 5138-5150, 2012.