

## 表皮細胞間カルシウムイオン波の伝播モデルについて

金沢大学・理工研究域数物科学系・JST CREST 長山雅晴  
金沢大学・大学院自然科学研究科 坂井昭彦  
資生堂リサーチセンター 傳田光洋, 堤も絵, 新妻真希子, 仲谷正史  
広島大学理学研究科 中田聡  
千葉大学理学研究科・JST さきがけ 北畑裕之  
Masaharu Nagayama  
Institute of Science and Engineering, Kanazawa University,  
CREST, Japan Science and Technology Agency  
Akihiko Sakai  
Graduate School of Science and Technology, Kanazawa University  
Mitsuhiro Denda, Moe Tsutsumi, Makiko Niitsuma, Masashi Nakatani  
Shiseido Research Center  
Satoshi Nakata  
Graduate School of Science, Hiroshima University  
Hiroyuki Kitahata  
Department of Physics, Graduate School of Science, Chiba University,  
PRESTO, Japan Science and Technology Agency

### 1 はじめに

皮膚は真皮部分と表皮部分から成っており, 外側にある表皮は基底層, 有棘層, 顆粒層, 角層なら成っている. 基底層では表皮幹細胞から表皮細胞が細胞分裂し, 有棘細胞, 顆粒細胞と分化していき, 最後にアポトーシスにより角質細胞となって角層の一部となる (図 1.1). その角層は角質細胞と細胞間脂質より形成されている. 皮膚の持つ重要な機能は体内水分の保持機能や細菌等の侵入を防ぐ機能であり, それらは表皮バリア機能と呼ばれ, 角層がその機能を担っている. さらに, バリア機能は破壊されると約 48 時間で 90 % 以上回復することが知られている [1]. 角層が破壊からの早期回復機能を有しているために, 体内の水分は常に保持されているのである [2]. バリア機能を保持するために, 角層が 2 つの機能 (恒常性維持と早期回復) を持つことは分かってきたが, 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わかっていない. 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し, 恒常的に角層を維持するメカニズムを解明することである.

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 [3]. すなわち, 角層が正常な場合には角層直下の表皮細胞内で  $\text{Ca}^{2+}$  が高濃度になっており  $\text{Ca}^{2+}$  の局在化が見られるが, 角層を破壊した場合, 角層直下の表皮細胞内での  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が低下し,  $\text{Ca}^{2+}$  の局在化が消失するのである. 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 [4]. 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. それを裏付けるように, 角層破壊後に空気暴露した表皮ではその深部である基底層で細胞分裂が促進する実験がある [5]. 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ある. そこで表皮細胞間の  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスを基盤とした角層の維持と回復に対する数理モデルを構築し, バリア機能を数理的に理解する. これまでの細胞における  $\text{Ca}^{2+}$  の数理モデルは FitzHugh-Nagumo 型のモデル方程式になっており [6], 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モデルの構築が必要となる. 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モデルを構成し, その数理モデルと細胞ダイナミクスの数理モデル (細胞分裂, 細胞分化, 細胞成長, 細胞運動) を結合することによって角層形成の数理モデルを構築する.

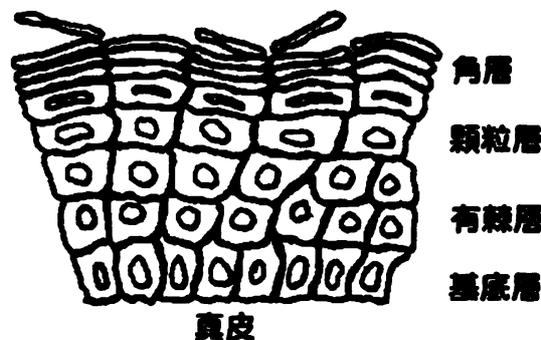


図 1.1: 皮膚構造の模式図

## 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モデル [7] 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) 機械刺激をうけた細胞は細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  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

での  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は約  $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$  であることから、細胞外や貯蔵庫内での  $\text{Ca}^{2+}$  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：

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

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：

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

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

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

$$d_P(i, j, L) = \frac{d_P}{\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j; 2L), \quad d_c(i, j, L) = \frac{d_c}{\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{x}_i, \mathbf{x}_j; 2L),$$

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

ただし、

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

$$\chi_0(\mathbf{x}, \mathbf{y}; r) = \begin{cases} 1, & \|\mathbf{x} - \mathbf{y}\| \leq r, \\ 0, & \|\mathbf{x} - \mathbf{y}\| > r \end{cases}$$

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  $\text{IP}_3$  感受性貯蔵庫から細胞質内への  $\text{Ca}^{2+}$  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 [6].

## 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

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial a}{\partial \tau} = d_a \Delta a - g(a) + \sum_{i=1}^N i(u_i), \\ \frac{dp_i}{d\tau} = \sum_{\substack{j \neq i \\ j=1 \\ j=N}}^N d_p(i, j, \ell)(p_j - p_i) + h(a(t, x_i)) - j(p_i), \\ \frac{du_i}{d\tau} = \sum_{\substack{j \neq i \\ j=1 \\ j=N}}^N d_u(i, j, \ell)(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{d\tau} = \frac{1}{\tau_h} f_h(u_i, h_i) \end{array} \right. \quad (2.2)$$

となる。ただし、

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

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

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

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

$$d_p(i, j, \ell) = \frac{d_p}{\|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell),$$

$$d_u(i, j, \ell) = \frac{d_u}{\|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell)$$

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。GJ の開閉が  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度差によって行われるとすると、GJ の開閉を次の微分方程式で表す：

$$\frac{dw_{ij}}{dt} = 1.0 - w_{ij} + \frac{1}{2} \left( -1.0 + \tanh \left( \frac{w_d - |u_i - u_j|}{\varepsilon_{w2}} \right) \right). \quad (2.3)$$

ただし  $w_d = 0.1$ ,  $\varepsilon_{w2} = 0.1$  とする。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、

$$d_p(t; i, j, \ell) = \frac{d_p w_{ij}(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell),$$

$$d_u(t; i, j, \ell) = \frac{d_u w_{ij}(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell)$$

とおく。

## 3 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 (2.2) 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ので、 $0 < d_u \ll d_p$  とする。その結果、図 3.1 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 [8]。

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もある。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 [8]。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外 ATP を細胞が受容できなくなり  $\text{IP}_3$  を生成しなくなることから、モデル方程式 (2.2) において  $h(a) \equiv 0$  として数値計算を行った。その結果、図 3.2(a) のように  $\text{Ca}^{2+}$  ほとんど伝播しないことがわかる。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 (2.2) 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 3.2(b) のように伝播範囲が狭くなった。いずれの場合も  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播範囲が小さくなっていることがわかった。この結果から、我々の構成した数理モデルは  $\text{Ca}^{2+}$  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る。

以上の結果から、培養表皮細胞での  $\text{Ca}^{2+}$  伝播現象は、神経軸策に現れる電位伝播のような強い興奮伝播現象ではなく、 $\text{Ca}^{2+}$  の弱い興奮性と細胞外 ATP と細胞間  $\text{IP}_3$

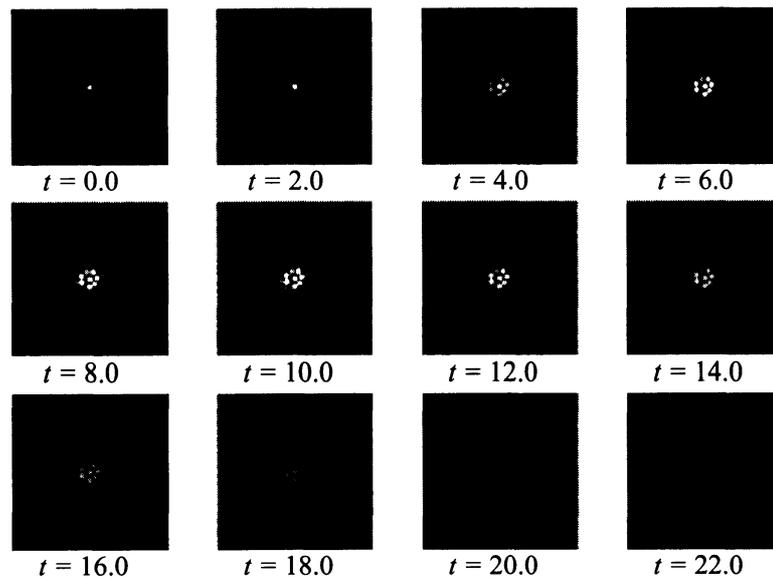


図 3.1: 機械刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播現象の数値シミュレーション

の拡散効果の相互作用によって起こっており、 $\text{Ca}^{2+}$  波は弱興奮性の伝播であることがわかった。

## 4 3次元構造モデル

この節では生体表皮構造における  $\text{Ca}^{2+}$  局在化の数理モデルを構築する。

### 4.1 細胞分化モデル

表皮細胞は基底層、有棘層、顆粒層、角層と各層において細胞の性質が異なっているため、表皮細胞の分化に対する数理モデルを構築する必要がある。基底層では細胞分裂を起こすことから別途考えることにする。実験から示唆されている有棘層と顆粒層での性質の違いは、細胞外 ATP 感受性の強さと Gap-Junction の発現である [9]。まず、各細胞に対する状態を規定する状態変数  $S_k$  を定義し、(1)  $0 < S_k < S_s$  ならば有棘細胞、(2)  $S_s < S_k < S_c$  ならば顆粒細胞、(3)  $S_c > S_k$  ならば角質細胞とする。この状態変数を用いて細胞性質の遷移を記述する。

細胞外 ATP 感受性の違いを  $k_{pa}$  で表し、次のように記述する：

$$k_{pa}(S_k) = k_g + \frac{k_s - k_g}{2} \left( 1 + \tanh \left( \frac{S_s - S_k}{\delta_k} \right) \right). \quad (4.1)$$

ただし、 $k_s$  は有棘層での  $k_{pa}$  の値、 $k_g$  は顆粒層での  $k_{pa}$  の値である。

次に、Gap-Junction の発現について考える。有棘細胞では Gap-Junction が発現しておらず細胞間での物質のやり取りはなく、顆粒細胞では GJ が発現しており、既存

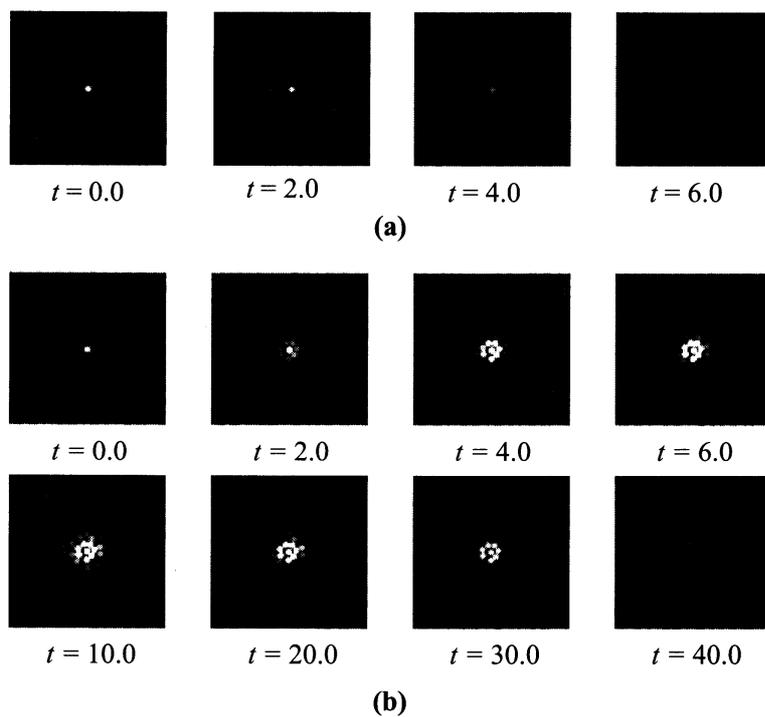


図 3.2: 阻害剤導入時の機械刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播現象の数値シミュレーション.  
(a) : ATP 受容阻害剤導入時, (b) : Gap-Junction 阻害剤導入時.

の数理モデル (2.2) と同様に Gap-Junction を通じた物質交換が出来る。GJ 発現率  $I_n$  を次のように記述する：

$$I_n(S_k) = \frac{1}{2} \left( 1 + \tanh \left( \frac{S_k - S_s}{\delta_I} \right) \right). \quad (4.2)$$

この  $I_n$  を用いて

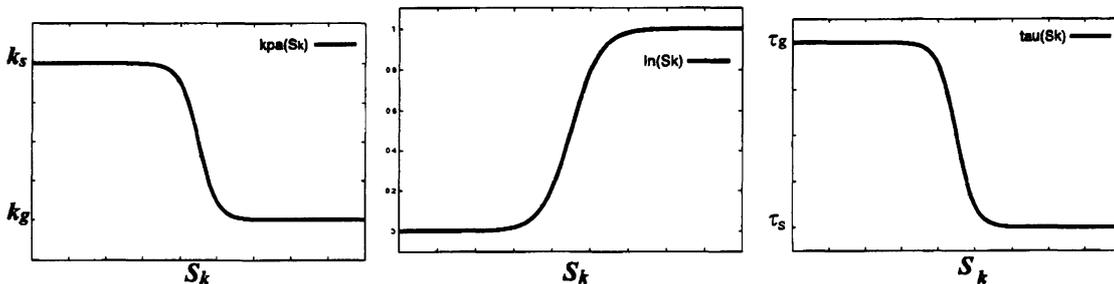
$$\begin{cases} d_p(t; i, j, \ell, S_k) = \frac{d_p I_n(S_k) w_{ij}(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell), \\ d_u(t; i, j, \ell, S_k) = \frac{d_u I_n(S_k) w_{ij}(t)}{4\ell^2 \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2} \chi_0(\mathbf{y}_i, \mathbf{y}_j; 2\ell) \end{cases} \quad (4.3)$$

とすることによって Gap-Junction の発現率を表現する。

実験からはっきりした結果はないが、興奮性も分化によって変化していると考えられるため、興奮性の強さを表すパラメータ  $\tau_h$  も変化するとし、次のように記述する：

$$\tau_h(S_k) = \tau_g + \frac{\tau_s - \tau_g}{2} \left( 1 + \tanh \left( \frac{S_s - S_k}{\delta_\tau} \right) \right) \quad (4.4)$$

とする。ただし  $\tau_s$  は未分化細胞の  $\tau_h$  の値、 $\tau_g$  は分化した細胞の  $\tau_h$  の値である (図 4.1(c))。



(a) 状態変数による ATP 感受性 (b) 状態変数による GJ 発現率 (c) 状態変数による興奮性

図 4.1: 状態変数による細胞の特徴付けを表した各関数。ATP 感受性 (a) や興奮性 (c) は、状態変数の値が低い未分化細胞ほど強いことを表す。また未分化細胞ほど GJ が発現していないため (b) のように分化するまでは物質交換を制限する。

## 4.2 分化付きカルシウムイオン伝播モデル

前節で用いた関数 (4.1)-(4.4) を用いて分化付きの数値モデルを次の用に記述する：

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial a}{\partial \tau} = d_a \Delta a - g(a) + \sum_{i=1}^N i(u_i), \\ \frac{dp_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_p(i, j, \ell, S_{k_i})(p_j - p_i) + h(a(t, x_i), S_{k_i}) - j(p_i), \\ \frac{du_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_u(i, j, \ell, S_{k_i})(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{d\tau} = \frac{1}{\tau_h(S_{k_i})} f_h(u_i, h_i), \\ \frac{dw_{ij}}{dt} = 1.0 - w_{ij} + \frac{1}{2} \left( -1.0 + \tanh \left( \frac{w_d - |u_i - u_j|}{\varepsilon_{w2}} \right) \right). \end{array} \right. \quad (4.5)$$

数値モデル (4.5) を用いて図 4.2 のような 3 次元構造において  $\text{Ca}^{2+}$  の局在化が現れるか数値計算によって調べる。残念ながらモデル方程式 (4.5) では  $\text{Ca}^{2+}$  の局在化を再現することができない。この結果は、FitzHugh-Nagumo 方程式と同様にモデル (2.2) に安定な局在定常解が存在しないことに起因しており、数値モデルを改良する必要がある。そこで次のような仮説を考える：

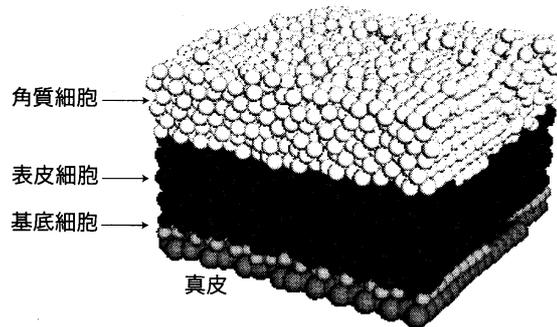


図 4.2: 角層直下の表皮細胞内のカルシウムイオン局在が見られない

(仮説) 表皮細胞は角化するとき、表皮細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  の興奮現象を起こす何らかの刺激物質を細胞外に放出する

この仮説に基づいて謎の刺激物質  $B(t, \mathbf{x})$  に対する数値モデルを構築する。単位時間あたりに放出する刺激物質の量を

$$F_B(S_{k_i}, \mathbf{x}_i) = k_0 \frac{1}{4} \left( 1 + \tanh \left( \frac{S_{k_i} - S_{c1}}{\sigma_1} \right) \right) \left( 1 + \tanh \left( \frac{S_{c2} - S_{k_i}}{\sigma_2} \right) \right) \chi_0(\mathbf{x}, \mathbf{x}_i, r) \quad (4.6)$$

とし、刺激物質  $B(t, \mathbf{x})$  によって  $\text{Ca}^{2+}$  興奮する仮定から

$$\frac{du_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_u(t; i, j, \ell)(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i) + \frac{K_{bc} B(t, \mathbf{x}_i)^{m_{b1}}}{H_b^{m_{b2}} + B(t, \mathbf{x}_i)^{m_{b2}}} \quad (4.7)$$

とする。(4.6)を用いて刺激物質のモデルを次のように記述する：

$$\frac{\partial B}{\partial \tau} = \varepsilon_B (D_B \Delta B - K_B B + B_0 F_B(S_{ki}, \mathbf{x}_i)). \quad (4.8)$$

ただし、 $\varepsilon_B$  は時定数、 $S_{c_1} < S_c \leq S_{c_2}$  とする。(4.7)に対して  $B = B/B_0$  と変数変換すると、(4.7)、(4.8)を用いて、無次元化された新しい  $\text{Ca}^{2+}$  伝播モデルは次のように書くことができる：

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial a}{\partial \tau} = d_a \Delta a - g(a) + \sum_{i=1}^N i(u_i), \\ \frac{dp_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_p(i, j, \ell, S_{k_i})(p_j - p_i) + h(a(t, \mathbf{x}_i), S_{k_i}) - j(p_i), \\ \frac{du_i}{d\tau} = \sum_{j \neq i}^N d_u(i, j, \ell, S_{k_i})(u_j - u_i) + f_u(p_i, u_i, h_i) + \frac{k_{bc} B(t, \mathbf{x}_i)^{m_{b_1}}}{h_b^{m_{b_2}} + B(t, \mathbf{x}_i)^{m_{b_2}}}, \\ \frac{dh_i}{d\tau} = \frac{1}{\tau_h(S_{k_i})} f_h(u_i, h_i), \\ \frac{\partial B}{\partial \tau} = \varepsilon_B (d_B \Delta B - k_B B + F_B(S_{ki}, \mathbf{x}_i)), \\ \frac{dw_{ij}}{dt} = 1.0 - w_{ij} + \frac{1}{2} \left( -1.0 + \tanh \left( \frac{w_d - |u_i - u_j|}{\varepsilon_{w_2}} \right) \right). \end{array} \right. \quad (4.9)$$

数理モデル(4.9)を用いて数値計算すると、図4.3のように角層直下において  $\text{Ca}^{2+}$  の局在化が再現できる。従って、仮説である刺激物質の存在を検証することができれば角層直下での  $\text{Ca}^{2+}$  局在現象のメカニズムは明らかとなるが、仮説の検証は今後の課題となっている。上記の数値計算結果は、ディリクレ境界条件を与えて安定な非定数定常解を求めることに近いが、そのような場合においても振動現象する例を FitzHugh-Nagumo 方程式を用いて作ることができるため、安定定常解が得られることは自明な結果でないことがわかる。

それでは、角層が破壊されたら表皮では何が起こるのか？実験と同様に角層を破壊し、空気刺激を境界条件<sup>2</sup>として与えることによって数値計算を行った。その結果、図4.4に見られるように、表皮細胞間において  $\text{Ca}^{2+}$  の振動現象が見られた。これは培養表皮細胞実験で見られた現象と同じである。数理モデル(4.9)が、定性的によいモデル<sup>3</sup>であるなら生体の皮膚構造においても角層が破壊された場合には  $\text{Ca}^{2+}$  の振動現象が観測されると予想されるが、現時点では実験系において3次元皮膚構造内の  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスを観測することは出来ておらず、皮膚構造内部における  $\text{Ca}^{2+}$  動態を観測することは今後の課題となっている。

<sup>2</sup>空気刺激を与えると細胞外にATPを放出することが実験によってわかっているため、空気に触れている細胞からATPを細胞外に放出するように与える。

<sup>3</sup>定性的によいモデルとはどんなモデルでしょうか？私は「現象が再現できること」と「数理モデルから現象のメカニズムが理解できること」があればよいモデルだと考えています。そして、数理モデルから予言した現象を実験から観測できれば最高でしょう。

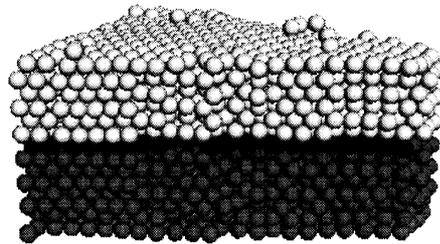


図 4.3: 角層直下カルシウムイオンの局在化の再現. 角化細胞直下の表皮細胞だけカルシウムイオン濃度が高くなる. ただし, 真皮層は非表示.

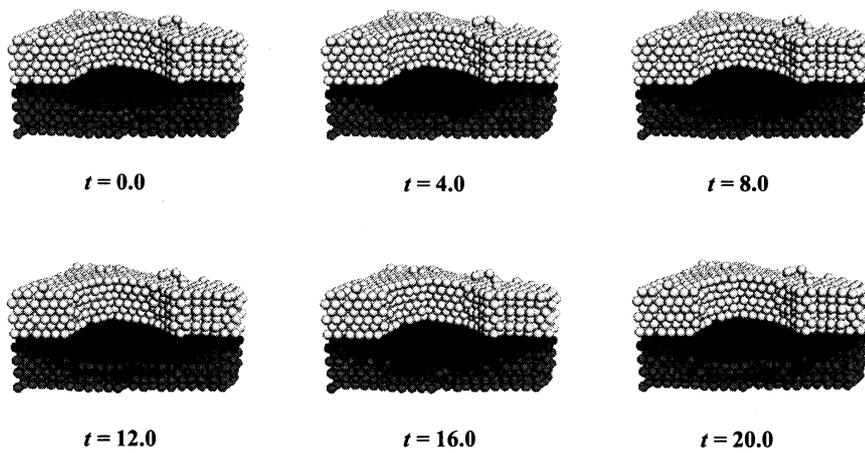


図 4.4: 角層破壊時に現れる表皮細胞間  $\text{Ca}^{2+}$  伝播現象, 実験に対する数値計算からの示唆. ただし, 真皮層は非表示.

## 5 角層回復の数理モデル

この節では角層が破壊されてから回復するまでの現象を記述する数理モデルを構築する。表皮細胞は基底層で分裂し、成長を伴い有棘層、顆粒層へと分化しながら移動し、角化して角層となり、最後は垢となって剥離している。これらをまとめて細胞ダイナミクスと呼ぶことにする。この細胞ダイナミクスに要する時間は分裂してから角化するまでに約2週間、角化してから剥離するまでに約2週間かかることがわかっており、 $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスと比較すると時間に対して非常に遅い運動であることがわかる。細胞ダイナミクスの数理モデルは非常に複雑なので本稿では省略するが、アイディアは各細胞の持つ状態変数を時間変化させることによって細胞運動を制御することである。今、状態変数が細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に依存すると仮定し、 $i$  番目の細胞状態変数モデルを次のように記述する：

$$\frac{dS_{k_i}}{dt} = \varepsilon_{S_k} (\bar{c} + \alpha_k (c_i - \bar{c})). \quad (5.1)$$

ただし、 $\varepsilon_{S_k}$  は時定数であり、 $\bar{c}$  は平衡  $\text{Ca}^{2+}$  濃度である。このほかに、細胞分裂を表現するための状態変数モデル、細胞分裂モデル、細胞移動モデル、細胞成長モデルを構築する。(5.1)を用いて前節で構築した  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの数理モデルと細胞ダイナミクスモデルを結合する。すなわち、結合モデルは  $\text{Ca}^{2+}$  モデルと細胞ダイナミクスモデルが状態変数モデルの部分以外では相互作用しない。

$\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスは秒単位で変化するが、細胞運動は時間単位で非常にゆっくり変化するため、それらを結合した数理モデルは、当然早い時間スケールで変化する量とゆっくりとした時間スケールで変化する量を持つ。まともに数値計算をすると  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの時間スケールで細胞運動の数値計算をすることになり、計算量が膨大になる。そこで、時間均質化法を用いて結合数理モデルの数値計算を行う。詳しく述べると、最初に  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの数値計算を行い、各細胞に対して一定時間平均の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の値を求め、その値を用いて細胞ダイナミクスモデルの計算を行う。そして、ある個数の細胞が角化したら、再び  $\text{Ca}^{2+}$  ダイナミクスの数値計算を行い、再び各細胞に対して一定時間平均を求める作業を繰り返す。

まず、結合モデルに対して角層が恒常的に維持されるか調べる。図4.3の状態を初期値として結合モデルの数値計算を行うと、細胞運動を伴いながらも図4.3と同様に角層直下での細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  局在化現象が維持される結果を得る。次に、角層破壊からの回復現象が数理モデルによって再現できるか数値実験を行う。図5.1は角層回復の時系列図である。この図から時間が経つにつれて角層が徐々に回復することが見て取れる。これにより結合モデルを用いて角層の回復現象を表現できることがわかった。

ところで、角層回復において興味深い実験結果が知られている。それは、角層を破壊したあと、空気を通さない膜で覆うと回復が遅れ、空気を通す膜で覆うと空気暴露している状態と同様に急速に回復することである [1]。そこで、構築した数理モデルを用いて、空気暴露の有無が角層回復にどのように依存するのか調べる。その結果、実験と同様に空気暴露している方が角層が早く回復することがわかった (図5.2)。数

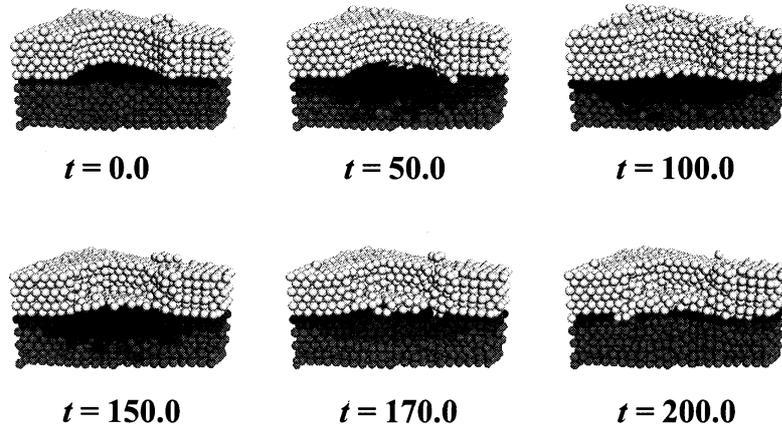


図 5.1: 角層回復現象の数値計算結果, 真皮層は非表示.

理モデルでは空気暴露の有無が表皮細胞間  $\text{Ca}^{2+}$  伝播現象の有無と関係しており, 細胞の状態変数変化が  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に適切に依存していれば当然得られる結果である. このことから, 角層の回復機構の要因の一つは角層破壊による  $\text{Ca}^{2+}$  伝播現象であることが示唆されるが, この事実を実験によって検証することは今後の研究課題である.

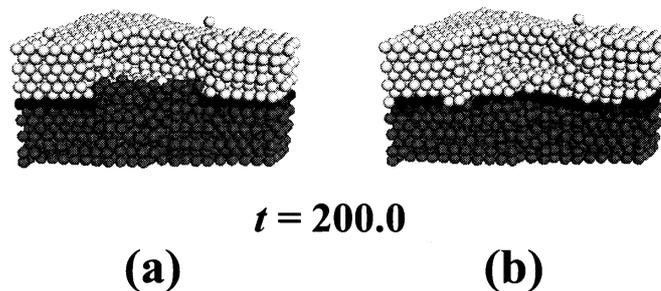


図 5.2: 空気暴露の有無による角層回復モデルの数値計算, 空気暴露している方が角層の回復が早い: (a) 空気暴露していない場合, (b) 空気暴露している場合. 真皮層は非表示.

## 6 おわりに

今回は  $\text{Ca}^{2+}$  伝播を手がかりにして角層の回復機構を理解するための数理モデルを構成した. 今回の結果は仮説と機構に対する示唆を与えているだけあり, 構築した数理モデルが回復機能の正しいメカニズムを与えている保証はまだない. しかしながら, 角層回復機能を理解するための基礎は作れたのではないと考えている.

数理モデルを用いた研究の利点は、再現するための十分条件（仮説）を見いだすことで、現象を引き起こす本質的機構を示唆できることです。本質的機構を捕らえていれば、数理モデルは観測が困難な現象の理解にも大いに役立つはずである。例えば、今回構成した数理モデルにおいて基底細胞の一部が異常分裂し、その細胞が異常分化すると仮定した数値計算を行うと、図(6.1)のように鶏眼のような状態を再現することができる。現時点では回復機能のメカニズムを示唆するに止まっているが、今後皮膚内部で起こる様々な現象を理解するうえで数理モデルを用いた研究は有益だと考えている。

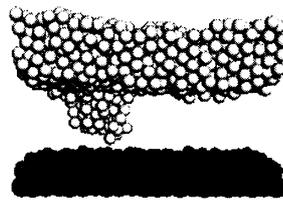


図 6.1: 異常分裂, 異常分化を起こした場合の角層形成モデルの数値計算結果, 鶏眼が形成される。図は角質細胞, 基底細胞, 真皮層のみを表示している。

## 参考文献

- [1] G. Grubauer, K. R. Feingold, R. M. Harris and P. M. Elias , *Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier*, J. Lipid. Res. **30**, 323-332(1989).
- [2] 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.
- [3] M. Denda, J. Hosoi and Y. Ashida, *Visual imaging of ion distribution in human epidermis*, Biochem. Biophys. Res. Commun., **272**, 789-795(2000).
- [4] M. Denda and S. Denda, *Air-exposed keratinocytes exhibited intracellular calcium oscillation*, Skin Research and Technology, **13**, 195-201(2007).
- [5] E. Proksch, K. R. Feingold, M. M. Qiang and P. M. Elias, *Barrier function regulates epidermal DNA synthesis*, J. Clinical Invest., **87**, 1668-1673(1991).
- [6] J.Keener, J.Sneyd[著], 中垣俊之[監訳], 数理生理学 (上) , 日本評論社.

- [7] A Atri, 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).
- [8] M. Tsutsumi, K. Inoue, S. Denda, K.Ikeyama, M. Goto and M. Denda, *Mechanical-stimulation-evoked calcium waves in proliferating and differentiated human keratinocytes*, Cell Tissue. Res., **339**, 99-106(2009).
- [9] M. Tsutsumi, S. Denda, K. Inoue, K. Ikeyama and M. Denda, *Calcium Ion Gradients and Dynamics in Cultured Skin Slices of Rat Hindpaw in Response to Stimulation with ATP*, Journal of Investigative Dermatology, **129**, 584-589(2009).