

ディレイ方程式による短期細胞増殖過程の定式化

中岡慎治 (Shinji Nakaoka)

理化学研究所アレルギー免疫総合研究センター免疫数理モデリング (YCI) ラボ
RIKEN Research Center for Allergy and Immunology, Laboratory for
Mathematical Modeling of Immune System

ABSTRACT

抗原刺激を受けて活性化・分裂を始めた免疫細胞の短期増殖過程のダイナミクスは、CFSE など蛍光色素を用いた標識によって定量的・短期間の測定が可能である。先行研究で提案された数理モデルは、主に常微分方程式 (ordinary differential equation; ODE) や時間遅れをもつ微分方程式 (delay differential equation; DDE) によって定式化されている。先行研究で考察されている数理モデルのいくつかは、数理人口学の分野で発展したパーティ拡大モデルを基に構築された世代拡大モデルの特別な場合として導出できる [8]。本稿では、[8] では取り上げていない先行研究内で考案された数理モデルを対象とし、それらと同値な時間遅れをもつ微分方程式と再生方程式からなるディレイ方程式を導出する。これまでに用いられてきた定式化方法の関連性を整理するのが狙いである。

Key words: 世代拡大モデル; ディレイ方程式; 免疫細胞の短期増殖過程のダイナミクス;

1 はじめに

複雑でダイナミックな免疫応答の全体像を把握することは困難であることから、ある特定の免疫細胞の増殖過程を培養系 (*in vitro*) において観察する実験が盛んに行われている。近年の実験測定技術の発達により、免疫細胞の増殖過程を系時的に追うことが可能になってきた。CFSE と呼ばれる蛍光色素を用いて細胞をラベリングすることで、増殖した細胞数のみならず、細胞の分裂回数も追跡できる。

抗原刺激を受けて活性化したリンパ球は分裂によって増殖し、アポトーシスによって死亡する。この過程を数学的に記述するためには、細胞分裂完了と死亡するまでの時間に対して何らかの (確率的な) 法則を仮定する必要がある。数理モデル構築とパラメータ推定手法を併せることで、CFSE を利用した経時的な細胞数計測データから T 細胞の分裂速度 (division rate) や死亡速度 (death rate) が推定できる (詳細はレビュー記事 [2, 9] の各論文参照)。たとえば常微分方程式の場合、細胞分裂および死亡が生じるまでの時間を表した確率分布は、指数分布に従うことが仮定されている。しかしながら、短期間における細胞増殖のダイナミクスを定量的に測定した実験によると、細胞分裂発生までの確率が指数分布に従うと仮定すると、実験データを上手く説明

できないこともある。たとえば活性化を受けた T 細胞は、活発にクローン増殖するエフェクター期を経た後に収縮期 (contraction phase) と呼ばれる期間に突入する。収縮期では、アポトーシスによる細胞死の発生頻度が高くなることが知られている。すなわち、細胞死が起こるタイミングは、活性化後の経過時間と相関している可能性が示唆される。また、1 細胞レベルで直接細胞死を観察した実験によると、細胞死が生じるまでの時間間隔は指数分布ではなく、むしろ Weibull 分布でうまく表現できるとの報告がある [7]。

抗原刺激を受けた直後の CD4 陽性 T 細胞の増殖過程を記述した定量的数理モデルはこれまで独立に提案されてきたが、それら数理モデルを横断的に比較・検討することで、数理モデル間に類似性が見られることを明らかになっている [9]。[8] において、筆者らは既存の定量的数理モデルのいくつかを、数理人口学で発展してきたパーティ拡大モデルをベースに構築した世代拡大モデル (generation progression model) の特別な場合に帰着できることを示した。本稿では、[8] において考察しなかったその他代表的な先行研究で考察された定量的数理モデルを対象にし、それらがディレイ方程式で記述できることを示す。

2 短期細胞増殖過程のディレイ方程式による表現

2.1 世代拡大モデル

細胞分裂の回数によって細胞の世代を定義しよう。もし世代間で分裂・死亡といった個体群ダイナミクスに関わる性質が異なる場合、異質性を考慮した多状態系 (multi-state) として定式化する方が自然である。この場合、細胞分裂に要する時間は各世代における滞在期間とみなすことができる。一般に幹細胞を除いた前駆細胞や分化細胞は無制限に増殖できるわけではなく、分裂回数は高々有限回であることが知られている。幹細胞など源となる細胞を第 0 世代と呼び、系には第 N 世代まで存在すると仮定しよう。すなわち、合計 $N + 1$ 世代が存在すると仮定する。第 n 世代の時刻 t における細胞群生産率 (cell population production rate) を $b_n(t)$ ($n = 0, 1, \dots, N$) とする。第 0 世代は細胞分裂に関する機構がそれ以外の世代の細胞と異なる場合が多い。先行研究に準じて、第 0 世代の時間変化は既知の関数で与えられると仮定する。 τ を世代における滞在時間とする。第 n 世代における細胞の分裂率を $\lambda_n(\tau)$ 、死亡率を $\mu_n(\tau)$ とする。このとき、第 n 世代の細胞分裂の発生確率 $\Lambda_n(\tau)$ および生存確率 $\mathcal{F}_n(\tau)$ はそれぞれ

$$\Lambda_n(\tau) = \lambda_n(\tau) \exp\left(-\int_0^\tau \lambda_n(\sigma) d\sigma\right) \quad (2.1)$$

および

$$\mathcal{F}_n(\tau) = \exp\left(-\int_0^\tau \mu_n(\sigma) d\sigma\right) \quad (2.2)$$

となる. 世代拡大モデルは

$$b_n(t) = 2 \int_0^\infty \Lambda_{n-1}(\tau) \mathcal{F}_{n-1}(\tau) b_{n-1}(t-\tau) d\tau \quad (2.3)$$

と表される. ここで $b_0(t) = f(t)$ は初期条件として与える.

2.2 DGH モデル

Gett and Hodgkin [6], Deenick ら [3] の免疫細胞の増殖率計測実験によると, 初回の分裂にかかる時間はおよそ 24–48 h であるのに対して, 二回目以降の分裂時間はおよそ 12–15h であるとの報告がある. これまでの数理モデル (たとえば [10]) と同様に初回の分裂過程を二回目以降と同様にモデリングしてしまうと, 成長曲線の立ち上がりが観測データよりも早くなりすぎる傾向がある. Gett and Hodgkin, Deenick らは, 細胞分裂速度の不均一性を説明するための数理モデルを構築し, 実験データとのフィットを試みている. なお, de Boer らの論文 [1] においても指摘があるように, Gett and Hodgkin, Deenick らの数理モデルはデータを良くフィットするものの, 細胞が増殖する機構 (growth kinetic mechanism) を表現していない. de Boer らは [6] および [3] の数理モデルを微分方程式系によって記述し, 細胞の増殖機構を表現する手法を考案した. 以下, [1] に従って de Boer らの数理モデルを DGH モデルと呼ぶ.

Deenick らの実験によれば, 初回の分裂にかかる時間は細胞個体毎に異なり, log-normal 分布がデータをよくフィットすると報告されている [3]. ここで μ_0, σ_0 をそれぞれ log-normal 分布の平均および分散, C を初期細胞数とする. 補充速度 (recruitment rate) $f(t)$ は, $t > 0$ に対して

$$f(t) = \frac{C}{\sqrt{2\pi\sigma_0 t}} \exp\left(-\frac{[\log t - \log \mu_0]^2}{2(\sigma_0)^2}\right) \quad (2.4)$$

と与えられる. ただし $t \leq 0$ に対して $f(t) = 0$ とする. $x_n(t)$ を時刻 t における n 回分裂を完了した細胞数とすると, DGH モデルは

$$\begin{cases} \frac{d}{dt} x_1(t) = f(t + T_0) - e^{-\mu_1 T} f(t - T + T_0) - \mu_1 x_1(t), \\ \frac{d}{dt} x_n(t) = 2^{n-1} e^{-(\sum_{i=1}^{n-1} \mu_i) T} f(t - (n-1)T + T_0) \\ \quad - 2^{n-1} e^{-(\sum_{i=1}^n \mu_i) T} f(t - nT + T_0) - \mu_n x_n(t), \quad n = 2, \dots, N \end{cases} \quad (2.5)$$

によって与えられる [1]. $x_0(t) = f(t)$ である. ここで, $x_n(t)$ は細胞群生産率 $b_n(t)$ とは変数の意味が異なるため, 異なる記号を用いた. μ_n ($n = 1, 2, \dots, N$) は n 回分裂し

た細胞の死亡率で、分裂回数 n に関する線形依存型 $\mu_n = d + (n-1)\alpha$ を仮定している。 2^{n-1} は合計 $n-1$ 回の分裂によって生じた総細胞数を表し、指数関数の項は生存確率を表す。 T_0 は log-normal 分布の変数に関するシフト項 (分裂開始のタイミングを調整するための項)、 T は二回目以降の分裂にかかる時間を表す。 $n-1$ 回の分裂を終えた細胞は、初回の分裂を始めてから時間が $(n-1)T$ だけ経過すれば、 n 回分裂完了ステージへ移行することに注意する。 x_n に関する方程式の第 1 項は x_{n-1} に関する方程式の第 2 項に一致し、これらは分裂による n 回分裂完了ステージへの移入を表している。同様に、 x_n に関する方程式の第 2 項は、分裂による $n+1$ 回分裂完了ステージへの移行を表す。第 3 項は死亡による消失を表す。

DGH モデルは、もし細胞数を表す変数 $x_n(t)$ を細胞群生産率 $b_n(t)$ へと形式的に置き換えた場合、以下のような積分形式による表現が可能である。

$$b_n(t) = \int_0^T \prod_{i=1}^{n-1} (2e^{-\mu_i T}) e^{-\mu_n \tau} f(t - \tau - (n-1)T + T_0) d\tau. \quad (2.6)$$

ここで $\prod_{i=1}^0 (2e^{-\mu_i T}) = 1$ と定義する。(2.6) において、 τ は第 n 世代における滞在時間を表す。ある世代で細胞が滞在時間 T に到達すれば、分裂によって生じた娘細胞は次の世代へ移行するため、第 n 世代の総細胞数は、細胞群生産率を区間 $[0, T]$ において積分したものに对应する。各細胞は細胞分裂によって 2 個の娘細胞を再生産するが、第 n 世代開始時に生き残っている細胞は、各世代における生存確率 $e^{-\mu_i T}$ の累積確率 $\prod_{i=1}^{n-1} e^{-\mu_i T}$ を乗じたものである。したがって、(2.5) 第 2 式の $\prod_{i=1}^{n-1} (2e^{-\mu_i T})$ は、第 n 世代における子孫の数の期待比を表している。なお、積分形式 (2.6) において τ を $t-s$ と変数変換し、両辺を時間 t に関して微分すれば微分方程式系 (2.5) が得られる。

免疫細胞の増殖ダイナミクスを記述した定量的数理モデルの中で、DGH モデルは世代拡大モデル (2.3) からは導出できない。DGH モデルの特徴は、第 n 世代の細胞増殖過程が $f(t)$ によって完全に規定されている点である。積分形式による表現 (2.6) では、この点が明瞭に表れている。Deenick らによるオリジナルの方程式系 (2.5) は、個体数に着目した視点と速度に着目した視点とが混在しているため意味が不明瞭であるが、積分形に変形すると方程式系の意味が明確になる。

2.3 修正型 SM モデル

Ganusov ら [5] は、Deenick らのエフェクター CD4 陽性 T 細胞の増殖ダイナミクスの定量的測定実験データを下に、新たな数理モデルを考案した。[5] において提案された数理モデルは Smith-Martin モデルを修正したもので、修正型 SM モデルと呼ば

れる. 修正型 SM モデルは

$$\begin{cases} \frac{d}{dt}A_0(t) = f(t - T_0) - (\lambda + \mu_0)A_0(t), \\ \frac{d}{dt}A_n(t) = 2\lambda e^{-\mu_{n-1}T} A_{n-1}(t - T) - (\lambda + \mu_n)A_n(t), \quad n = 1, 2, \dots, N \\ \frac{d}{dt}B_{n-1}(t) = \lambda A_{n-1}(t) - e^{-\mu_{n-1}T} \lambda A_{n-1}(t - T) - \mu_{n-1}B_{n-1}(t) \end{cases} \quad (2.7)$$

によって与えられる. $f(t)$ は DGH モデルと同じく (2.4) によって表される. T_0 は (2.5) と同じく log-normal 分布のシフト項を表しているが, 両者では $f(t)$ の利用方法に本質的な違いがあることに注意する. DGH モデルでは, 2 回目以降の細胞分裂が全て $f(t)$ によって規定されているので, 修正型 SM モデルでは, 初回の分裂のみ $f(t)$ によって規定され, 2 回目以降の分裂は一段階分裂前の細胞数によって規定されている. μ_n は n 回分裂ステージの細胞の死亡率を表し, 分裂回数 n に関して線型で増加, すなわち $\mu_n = \mu + (n - 1)\alpha$ と仮定する. $A_n(t)$ の第 1 項と $B_{n-1}(t)$ の第 2 項は関連しており, 時刻 T 前に A-phase から B-phase に移行した細胞の中で, 生き残ったものが分裂を行って A-phase に移行する状況を表している ($2\lambda e^{-\mu_{n-1}T} A_{n-1}(t - T)$).

$f(t)$ を $s \leq T_0$ に対して $f(s) \equiv 0$ と定義領域を延長する. $A_n(t)$ および $B_{n-1}(t)$ を再生方程式の形に変形すると

$$\begin{cases} A_0(t) = \int_0^t e^{-(\lambda + \mu_0)\tau} f(t - T_0 - \tau) d\tau, \\ A_n(t) = \int_T^\infty 2e^{-(\lambda + \mu_n)(\tau - T)} e^{-\mu_{n-1}T} \lambda A_{n-1}(t - \tau) d\tau, \\ B_{n-1}(t) = \int_0^T e^{-\mu_{n-1}\tau} \lambda A_{n-1}(t - \tau) d\tau \end{cases} \quad (2.8)$$

となる. 世代拡大モデル (2.3) と比較すると, 修正型 SM モデルは世代拡大モデルの特別な形として導出できることがわかる.

2.4 IL-2 消費モデル

Deenick らの定量的測定実験 [3] は IL-2 濃度の異なる実験を複数実施している. 多くの先行研究で提案された数理モデルでは, 実験系の違いをパラメーターの違いとして個別に解析して, 結果を比較検討している. 一方, [5] では修正型 Smith-Martin モデルを更に拡張し, IL-2 濃度の時間的变化を陽に組み込んだ数理モデルを構築している. 修正型 Smith-Martin モデルを拡張した数理モデルは, IL-2 消費モデル (consumption model) と呼ばれている. IL-2 は T 細胞の細胞分裂速度に影響を与えることから, IL-2 消費モデルでは B-phase における滞在期間を変動型の時間遅れ (variable delay) として取り扱っている. 以下, IL-2 消費モデルがディレイ方程式によって表現できることを示そう.

数学的表記に関していくつかの準備を行う。 $I(t)$ を時刻 t における IL-2 の濃度とする。 $I_t(\theta)$ ($\theta \leq 0$) は時刻 t における関数 I の履歴を表し、 $I_t(\theta) := I(t + \theta)$ と定義する。ここで、ある正の定数 M に対して変動型の時間遅れ $T_m(I_t)$ を

$$\int_{-T_m}^0 V(I_t(\theta))d\theta = M \quad (2.9)$$

を満たす解 $T := T_m(I_t)$ として定義する。 V は IL-2 に依存した細胞分裂速度を記述した関数である。一方、

$$\int_0^T V_{-\tau}(I_t(\theta))d\theta = M \quad (2.10)$$

を満たす解を $T = \tilde{T}_m(\tau, I_t)$ と定義する。 $\tilde{T}_m(\tau, I_t)$ は、滞在時間 τ ($\geq T_m(I_t)$) である個体が過去に成熟した年齢を表す。変動型の時間遅れの詳しい定義および性質は [4] 参照。

分裂 1 回の A-phase に滞在している細胞集団 $A_1(t)$ に対する再生方程式は

$$A_1(t) = \int_0^t \exp \left[- \int_s^t \{ \mu(I(\sigma)) + \lambda(I(\sigma)) \} d\sigma \right] f(s) ds \quad (2.11)$$

と表される。ここで $\mu(I)$ および $\lambda(I)$ は、それぞれ細胞の死亡率、A-phase から B-phase への移行速度を表す (具体的な関数型は [5, Appendix] 参照)。同様に、分裂 n 回の A-phase に滞在している細胞集団 $A_n(t)$ に対する再生方程式系は

$$\begin{aligned} A_n(t) = & 2 \int_{T_m(I_t)}^{\infty} \lambda(I_t(-\tau)) \exp \left[- \int_{\tilde{T}_m(\tau, I_t)}^{\tau} \lambda(I_t(-\tau + \sigma)) d\sigma \right] \\ & \times \exp \left[- \int_0^{\tau} \mu(I_t(-\sigma)) d\sigma \right] A_{n-1}(t - \tau) d\tau \end{aligned} \quad (2.12)$$

と表される ($n \geq 2$)。 $\mathcal{F}_n(\tau, I_t)$ を滞在時間 τ および IL-2 濃度に依存した生存確率、 $\Lambda_n(\tau, I_t)$ を分裂発生確率とする。系 (2.12) の一般型は

$$A_n(t) = 2 \int_{T_m(I_t)}^{\infty} \Lambda_n(\tau, I_t) \mathcal{F}_n(\tau, I_t) A_{n-1}(t - \tau) d\tau \quad (2.13)$$

とかける。ここで $\mathcal{F}_n(\tau, I_t)$ と $\Lambda_n(\tau, I_t)$ の具体型はそれぞれ

$$\mathcal{F}_n(\tau, I_t) = \exp \left[- \int_0^{\tau} \mu(I_t(-\sigma)) d\sigma \right] \quad (2.14)$$

かつ

$$\Lambda_n(\tau, I_t) = \begin{cases} \lambda(I_t(-\tau)) \exp \left(- \int_{\tilde{T}_m(\tau, I_t)}^{\tau} \lambda(I_t(-\tau + \sigma)) d\sigma \right), & \tau > T_m(I_t), \\ 0, & 0 \leq \tau \leq T_m(I_t) \end{cases} \quad (2.15)$$

である。時刻 t における分裂 n 回の B-phase に滞在している細胞集団 $B_n(t)$ は、再生方程式は

$$B_{n-1}(t) = \int_0^{T_m(I_t)} \lambda(I_t(-\tau)) \exp \left[- \int_0^\tau \mu(I_t(-\sigma)) d\sigma \right] A_{n-1}(t-\tau) d\tau \quad (2.16)$$

と表される ($n \geq 2$)。続いて、IL-2 濃度の時間変化を表す微分方程式系について考察する。IL-2 は速度 $g(I(t))$ に従って自然減少 (input がある場合は増加) すると仮定する。 $X_n(t) = A_n(t) + B_n(t)$ とおくと、IL-2 のダイナミクスの一般型は

$$\frac{dI}{dt}(t) = g(I(t)) - \int_0^\infty \sum_{n=0}^N \mathcal{F}_n(\tau) \gamma_n(\tau, I(t)) X_n(t-\tau) d\tau \quad (2.17)$$

とかける。ここで $\gamma_n(\tau, I(t))$ は第 n 世代に滞在している細胞 1 つあたりの IL-2 消費量を表す。一方、[5] で考察された方程式は

$$\frac{dI}{dt}(t) = - \left[c_1 \sum_{n=1}^\infty (A_n(t) + B_n(t)) + c_2 f(t) \right] \frac{I(t)}{h + I(t)} \quad (2.18)$$

である。すなわち、式 (2.17) において $N = \infty$, $g(I(t)) \equiv 0$, $\mathcal{F}_n(\tau) \equiv 1$, $\gamma_0(\tau, I(t)) = c_2 I(t)/(h + I(t))$ かつ $\gamma_n(\tau, I(t)) = c_1 I(t)/(h + I(t))$ と形式的においた場合に対応する。最後に、再生方程式系 (2.12) & (2.16) が [5] の IL-2 消費モデルの $A_n(t)$ および $B_n(t)$ に一致することを示そう。方程式 (2.11), (2.12) および (2.16) の積分変数を $t - \tau = \alpha$ と変数変換し、両辺 t について微分すると

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} A_n(t) &= 2\lambda(I(t - T_m(I_t))) \exp \left[- \int_{t-T_m(I_t)}^t \mu(I(s)) ds \right] A(t - T_m(I_t)) \\ &\times \left[1 - \frac{dT_m(I_t)}{dI} \right] - (\lambda(I(t)) + \mu(I(t))) A_n(t) \end{aligned} \quad (2.19)$$

および

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} B_{n-1}(t) &= \lambda(I(t)) A(t) - \lambda(I(t - T_m(I_t))) \times \\ &\exp \left[- \int_{t-T_m(I_t)}^t \mu(I(s)) ds \right] A(t - T_m(I_t)) \left[1 - \frac{dT_m(I_t)}{dI} \right] - \mu(I(t)) B_{n-1}(t) \end{aligned} \quad (2.20)$$

が得られる ($n \geq 2$)。[5, Appendix] で述べられているように、IL-2 消費モデルは導出の際に簡略化の仮定が置かれており、ここで導いたディレイ方程式とは若干形式が異なる。

3 考察

数値計算・実験データの定量的取り扱いと拡張を比較的容易に実行できるモデリングフレームワークが必要である。本稿では述べなかったが、世代拡大モデルの各世代

に対して世代拡大比 (generation progression ratio) が定義できる。世代拡大比は二世間で平均してどれくらい個体数が増加もしくは減少するかを比として表現したものであり、細胞集団が増加傾向にあるのか減少傾向にあるのかを計算することができる [8]。他、世代時間の計算など定量的に有益な指標も計算できる。世代拡大モデルは、特に短期の細胞増殖過程を定量的に記述する上で非常に有効であり、リンパ球増殖過程のみならず今後は他の細胞生物学分野への活用が期待される。

参考文献

- [1] R. J. D. Boer, V. V. Ganusov, D. Milutinović, P. D. Hodgkin, and A. S. Perelson. Estimating lymphocyte division and death rates from CFSE data. *Bull Math Biol*, **68**, pp.1011–1031, (2006).
- [2] R. Callard and P. Hodgkin. Modeling T- and B-cell growth and differentiation. *Immunol Rev*, **216** pp.119–129, (2007).
- [3] E. K. Deenick, A. V. Gett, and P. D. Hodgkin. Stochastic model of T cell proliferation: a calculus revealing IL-2 regulation of precursor frequencies, cell cycle time, and survival. *J Immunol*, **170**, pp.4963–4972, (2003).
- [4] O. Diekmann, M. Gyllenberg, J. A. J. Metz, S. Nakaoka, and A. M. de Roos. Daphnia revisited: local stability and bifurcation theory for physiologically structured population models explained by way of an example. *J Math Biol*, **61**, pp.277–318, (2010).
- [5] V. V. Ganusov, D. Milutinović, and R. J. D. Boer. IL-2 regulates expansion of CD4+ T cell populations by affecting cell death: insights from modeling CFSE data. *J Immunol*, **179**, pp.950–957, (2007).
- [6] A. V. Gett and P. D. Hodgkin. A cellular calculus for signal integration by T cells. *Nat Immunol*, **1**, pp.239–244, (2000).
- [7] E. D. Hawkins, J. F. Markham, L. P. McGuinness, and P. D. Hodgkin. A single-cell pedigree analysis of alternative stochastic lymphocyte fates. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**, pp.13457–13462, (2009).
- [8] S. Nakaoka and H. Inaba. Demographic modeling of transient amplifying cell population growth. *Mathematical Biosciences and engineering*, submitted.
- [9] S. Nakaoka, H. Taki, and K. Aihara. Mathematical modeling study on immune systems. *Seisan Kenkyu*, **62**, pp.39–44, (2010).
- [10] P. Revy, M. Sospedra, B. Barbour, and A. Trautmann. Functional antigen-independent synapses formed between T cells and dendritic cells. *Nat Immunol*, **2**, pp.925–931, (2001).