

集団細胞遊走を表現する自己駆動粒子モデル

A self-propelled particle model representing collective cell migrations

北海道大学・電子科学研究所 須志田 隆道
北海道大学・電子科学研究所 秋山 正和

Takamichi SUSHIDA and Masakazu AKIYAMA
Research Institute for Electronic Science
Hokkaido University

E-mail: takamichi.sushida@es.hokudai.ac.jp

1 はじめに

細胞は内的あるいは外的要因によって、前後方向の極性(細胞内の分子の偏り)を形成し、方向性をもった移動を可能にしている [1]. 例えば、細胞性粘菌に外部から cyclic AMP と呼ばれる化学誘引物質を与えると、様々な運動を行うことが報告されている [2]. 一方で、細胞性粘菌は飢餓状態になると cyclic AMP を放出し、その走化性によってマウンドと呼ばれる集団を形成する. 特に、マウンド内の細胞群は回転運動を行うことが知られている. さらに、細胞性粘菌が子実体を構築する際に観察される三次元的な組織伸長においても、細胞群の回転運動が観察される. 細胞性粘菌では、細胞群の内側に存在する細胞の角速度よりも外側の細胞の角速度が小さい回転運動、すなわち、非剛体的な回転運動が観察されている [3]. 他にも、ゼブラフィッシュの体節伸長(武田 洋幸, et al., 未出版データ)などの形態形成の過程において細胞群の回転運動が観察される. MDCK 細胞(イヌ腎尿細管上皮細胞)を用いた *in vitro* の実験では、細胞群の内側および外側の細胞の角速度が等しい回転運動、すなわち、剛体的な回転運動が観察される [4].

このように細胞群の回転運動はさまざまな生物の形態形成において観察されることから、回転運動と形態形成過程の間には生物種を超えた何らかの普遍性があるのではないかと推測できる. 我々の最終的なゴールは、三次元的あるいは二次元的な形態形成の過程において、細胞群の回転運動がどのような役割を担っているかを見出すことである. 本稿では、研究の第一段階として、平面上を移動する細胞の数理モデルを提案し、実際の生物で観察される回転運動などの集団遊走モードがロバストに起こる最小のメカニズムを探求する.

2 細胞極性に着目した細胞移動の数理モデリング

本稿では細胞を円板粒子として見做した自己駆動粒子モデルを考える. 細胞は半径 R_A の円板であるとして、 N 個の細胞を考えることにする. 時刻 t において、 i 番目の細胞の中心を表す位置ベクトルを $\mathbf{r}_i = \mathbf{r}_i(t)$ とし、細胞の極性の方向を $\theta_i = \theta_i(t)$ とする. i 番目の細胞の駆動力を \mathbf{F}_i とし、一つの細胞の駆動力 \mathbf{F}_i は細胞の位置 \mathbf{r}_i の一点にかかるものとし、慣性力および重力を無視することにする.

2.1 駆動力の大きさと細胞移動の速さの関係

駆動力 \mathbf{F}_i と速度に比例した抵抗力 $-\mu\dot{\mathbf{r}}_i$ ($\mu > 0$) の関係は $\mathbf{F}_i - \mu\dot{\mathbf{r}}_i = \mathbf{0}$ として表されることがあるが、細胞においても両者の関係が線形であるかは問題である。細胞性粘菌がもつ走電性の実験 [5] では、電場 (入力刺激) と平均変位速度 (走電性効率) の関係はシグモイダルになることが示された。このことから、細胞に大きな力がかかったとしても、その全てを移動するための力に変換できないことが推測される。よって、本稿では駆動力の大きさ $|\mathbf{F}_i|$ と細胞移動の速さ $|\dot{\mathbf{r}}_i|$ の関係を次のように表す:

$$\dot{\mathbf{r}}_i = f(|\mathbf{F}_i|)\mathbf{F}_i, \quad f(|\mathbf{F}_i|) := \frac{v_{\max}}{|\mathbf{F}_i|} \tanh\left(\frac{\rho}{v_{\max}}|\mathbf{F}_i|\right). \quad (1)$$

ここで、 $\rho > 0$ であり、 v_{\max} は細胞移動の速さの最大値を表す。[5] では、電場と平均変位速度の関係がヒル関数によってフィッティングできることが示されているが、 f の関数型をヒル関数に変更しても定性的な振る舞いが変わらないことが数値的に確認できたため、本稿では (1) を採用した。

以下では、細胞の駆動力 \mathbf{F}_i および細胞極性の方向 θ_i を決定する効果を具体的に記述して、細胞群が起こす集団遊走がどのように変化するかを吟味しながら数理モデルを構築する。さらに数値シミュレーションを行い、各集団遊走モードがロバストに起こる仕組みを検討する。集団遊走モードがロバストであるとは、初期値やパラメータの微小な変化に対して集団遊走モードが変化しないことである。数値シミュレーションでは、細胞の直径を $R_A = 4.0$ 、細胞数を $N = 100$ とする。 $\theta_i(0)$ をランダムに与え、 $\mathbf{r}_i(0)$ を半径 $R_{\min} = R_A\sqrt{12M-3}/6$ ($M = 150$) の円内にランダムに配置する。 R_{\min} は M 個の細胞が最密充填してできる円の半径を近似的に求めたものである。

2.2 極性の方向に移動する駆動力

細胞は形成された極性の方向に移動することから、極性の方向の駆動力がはたらくことを仮定する。 i 番目の極性の方向は θ_i であるから、 θ_i の方向の駆動力を次のように表す:

$$\mathbf{F}_{\text{polar}}^i = \begin{pmatrix} \cos \theta_i \\ \sin \theta_i \end{pmatrix}. \quad (2)$$

2.3 細胞間の接着力と細胞極性の共有

ショウジョウバエの羽の上皮組織 [6] のように、細胞同士が互いに接着して形成された組織では極性の方向を揃えることが指摘されていることから、接着力がはたらくことおよび接着する細胞同士の極性が揃うことを仮定する。

ここでは細胞を円板に置き換えているので、実際の上皮組織のように細胞膜による接着を考慮することができないため、細胞同士が接着する効果を、細胞間の距離を一定に保つ効果として導入する。以下では、接着効果によって保たれる細胞間の距離を R_A とし、ポテンシャルエネルギーの汎関数微分によって接着力を導出する。

粒子間相互作用を表すポテンシャルエネルギーとして、レナード・ジョーンズポテンシャルが知られているが、本稿では次のポテンシャルエネルギー $U(\mathbf{r})$ を考える:

$$U(\mathbf{r}) = \begin{cases} p(|\mathbf{r}| - R_A)^2 - r, & 0 < |\mathbf{r}| < R_C, \\ -q(|\mathbf{r}| - R_T)^2, & R_C \leq |\mathbf{r}| < R_T, \\ 0, & |\mathbf{r}| \geq R_T. \end{cases} \quad (3)$$

ここで, $p, q, r > 0$ および $0 < R_A < R_C < R_T$ である. また, $|\mathbf{r}| = R_C$ において, $U(\mathbf{r})$ は連続かつ一階微分が連続であるとする. このとき, p, q および R_A, R_T に対して, r および R_C は $r = \frac{pq(R_A - R_T)^2}{p+q}$, $R_C = \frac{pR_A + qR_T}{p+q}$ として一意に定まる. この $U(\mathbf{r})$ は, 細胞間の距離が R_T 以上であるときに力が働かず, R_T よりも小さくなったとき, 細胞間の距離が R_A になるようにに力が働くことを意味する. (3) の汎関数微分 $\delta U(\mathbf{r})/\delta \mathbf{r}$ によって, i 番目の細胞の接着力 $\mathbf{F}_{\text{adhesion}}^i$ は次のように導出される:

$$\mathbf{F}_{\text{adhesion}}^i = \sum_{j \neq i} \begin{cases} 2p(|\mathbf{r}_{i,j}| - R_A) \frac{\mathbf{r}_{i,j}}{|\mathbf{r}_{i,j}|}, & 0 < |\mathbf{r}_{i,j}| < R_C \\ 2q(R_T - |\mathbf{r}_{i,j}|) \frac{\mathbf{r}_{i,j}}{|\mathbf{r}_{i,j}|}, & R_C \leq |\mathbf{r}_{i,j}| < R_T \\ 0, & |\mathbf{r}_{i,j}| \geq R_T \end{cases} \quad (4)$$

ここで, $\mathbf{r}_{i,j} := \mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i$ である.

次に, 接着した細胞同士が極性の方向を共有する効果を導入する. ここでは, 平面内細胞極性の数理モデル [6] を参考にして, 極性の方向が共有される効果を次のように表す:

$$\dot{\theta}_i = \xi G_{\text{share}}^i = \xi \sum_{j \neq i} g(|\mathbf{r}_{i,j}|) \sin(\theta_j - \theta_i), \quad g(|\mathbf{r}_{i,j}|) := \begin{cases} 1 & (|\mathbf{r}_{i,j}| < R_T), \\ 0 & (\text{Otherwise}). \end{cases} \quad (5)$$

ここで, $\xi > 0$ は極性が共有される効果の速さを表すパラメータである.

2.4 駆動力の方向の極性を獲得

ショウジョウバエの上皮組織では, 外部から力によって引き伸ばされると伸びた方向の極性を獲得することが知られている [7]. [8] では, 細胞が伸びたときに発生する細胞膜の張力のフィードバック効果によって, 伸びた方向の極性を獲得することが指摘された. このことから, 駆動力の方向の極性を獲得することを仮定し, 次のように表す:

$$G_{\text{motion}}^i = \sin(\text{Arg}(\mathbf{F}_i) - \theta_i) \quad (6)$$

ここで, $\text{Arg}(\mathbf{x})$ ($\mathbf{x} = (x, y) \in \mathbb{R}^2$) は y/x の逆正接によって計算される角度である.

次に, 2.1 章から 2.3 章で導入した効果および G_{motion}^i を導入した次の方程式を考える:

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{r}}_i = f(|\mathbf{F}_i|) \mathbf{F}_i, & \mathbf{F}_i = \alpha \mathbf{F}_{\text{polar}}^i + \beta \mathbf{F}_{\text{adhesion}}^i, \\ \dot{\theta}_i = \xi G_{\text{share}}^i + \eta G_{\text{motion}}^i. \end{cases} \quad (7)$$

ここで, $\alpha, \beta > 0$ は極性方向の駆動力のパラメータおよび接着力のパラメータであり, $\eta > 0$ は駆動力の方向の極性を獲得する効果の速さを表すパラメータである. G_{motion}^i の導入によって, 図 1(a) と (b) が示すように, 提案モデルが示す典型的な集団遊走モードとして並進運動だけでなく我々のターゲットである回転運動を示す例が得られる. しかし, ここでの回転運動は初期値に依存したものであり, ロバスタな運動ではないことが確認できる.

2.5 化学誘引物質の濃度勾配の高い方向の極性を獲得

これまでに導入した極性が共有される効果 G_{share}^i と駆動力の方向の極性を獲得する効果 G_{motion}^i に次いで, 極性が決定される重要な要因として化学誘引物質による走化性の効果が挙げられる. [1] では, 外部から化学誘引物質が与えられると, 細胞はその濃度勾配を感じ

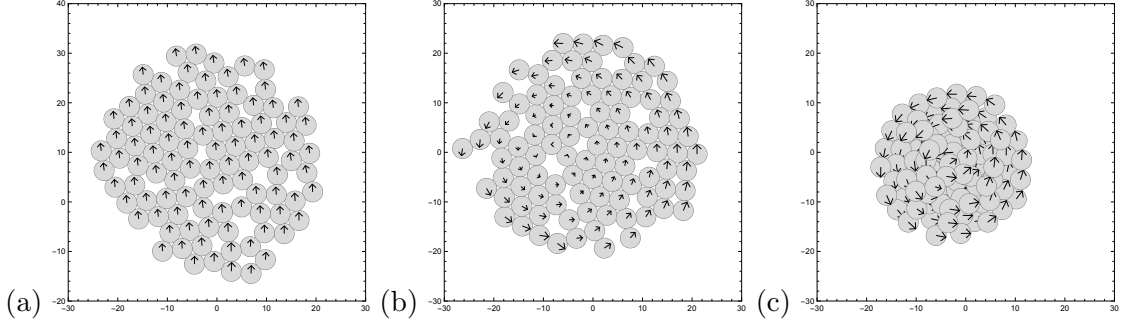


図 1: (a) (7) が示す並進集団遊走モード. (b) (7) が示す回転集団遊走モード. (a) および (b) のパラメータは $\alpha = 1.0$, $\beta = 20.0$, $p = q = 1.0$, $R_A = 4.0$, $R_T = 4.5$, $\xi = 1.0$, $\eta = 2.0$, $v_{\max} = \rho = 2.0$ である. (c) (10) が示す回転集団遊走モード. パラメータは (a) および (b) の場合に追加して, $\zeta = 4.0$, $D = 10.0$, $a = 50.0$, $b = 0.01$ である.

して勾配の高い方向に移動することが指摘されている. また [9] では, 細胞性粘菌や神経細胞など, 各細胞ごとに走化性を示す化学誘引物質は異なるが, 走化性による極性の獲得という性質は普遍的であることが指摘されている.

本稿では, 個々の細胞が拡散性をもつ化学誘引物質を放出することによって濃度場が形成される場合を考える. 化学誘引物質の濃度場を $P = P(t, x, y)$ と表し, $P(t, x, y)$ は次の反応拡散方程式に従うものとする:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D\Delta P + a \sum_{i=1}^N \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - bP. \quad (8)$$

ここで, $D > 0$ は拡散係数, $a > 0$ は供給速度, $b > 0$ は減衰速度を表す. $\delta(\mathbf{x})$ はディラックのデルタ関数である. 境界条件は境界で微分が 0 であるノイマン型を採用する.

次に, 濃度勾配の高い方向の極性を獲得する効果を次のように導入する. 勾配を感知する分子レセプターは細胞膜にあるため, 濃度勾配を通常の微分でなく, i 番目の細胞の直径 R_A および細胞核の位置 $\mathbf{r}_i = (x_i, y_i)^T$ を用いて, i 番目の細胞が感知する $P(x, y)$ の濃度勾配を $\mathbf{P}_i := (P_x^i, P_y^i)^T$, $P_x^i := \frac{P(x_i + \frac{R_A}{2}, y_i) - P(x_i - \frac{R_A}{2}, y_i)}{R_A}$, $P_y^i := \frac{P(x_i, y_i + \frac{R_A}{2}) - P(x_i, y_i - \frac{R_A}{2})}{R_A}$ と定め, 濃度勾配の高い方向の極性を獲得する効果を次のように表す:

$$G_{\text{chemotaxis}}^i = \sin(\text{Arg}(\mathbf{P}_i) - \theta_i). \quad (9)$$

次に, (7) に $G_{\text{chemotaxis}}^i$ を追加した次の方程式を考える:

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{r}}_i = f(|\mathbf{F}_i|)\mathbf{F}_i, & \mathbf{F}_i = \alpha \mathbf{F}_{\text{polar}}^i + \beta \mathbf{F}_{\text{adhesion}}^i, \\ \dot{\theta}_i = \xi G_{\text{share}}^i + \eta G_{\text{motion}}^i + \zeta G_{\text{chemotaxis}}^i. \end{cases} \quad (10)$$

ここで, $\zeta > 0$ は濃度勾配の高い方向の極性を獲得する効果の速さを表すパラメータである.

図 1 は一つのクラスタが形成される場合を示した例である. この例は, $G_{\text{chemotaxis}}^i$ を導入することによって凝集力が生み出された結果として, 初期値に依存しないロバストな回転運動が起こることを示している.

3 数理モデルで表現される集団遊走モード

提案モデルにおける集団遊走モードの堅牢性を示すために, 数値シミュレーションによって得られるパラメータの相図を調べる. はじめに, 数値シミュレーションで得られる集団遊

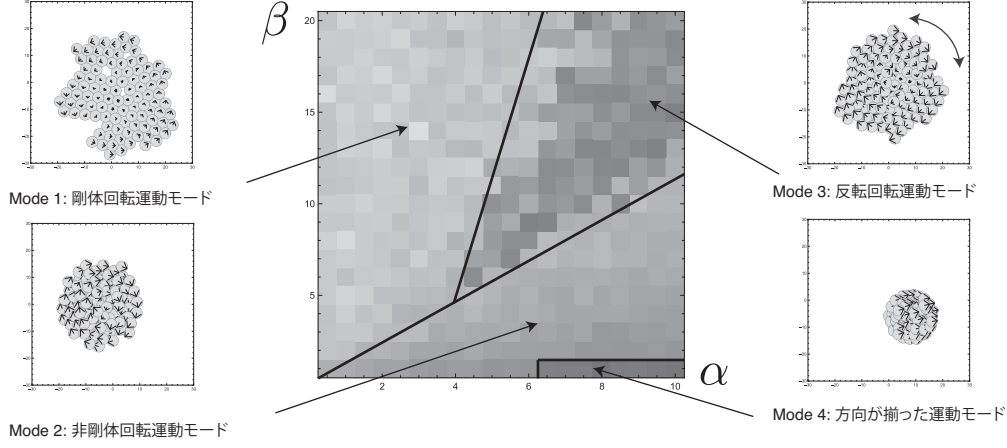


図 2: (10) におけるパラメータの相図. α, β の範囲は $0.5 \leq \alpha \leq 10, 1 \leq \beta \leq 20$ である.

走モードを分類するために, 細胞群の位置ベクトルの集合 $\{\mathbf{r}_i : 1 \leq i \leq N\}$ の凸包の重心の位置を表すベクトルを \mathbf{G} として, 以下の 3 つの指標を導入する:

- (i) 回転運動の指標: 2 つの二次元ベクトル $\mathbf{a}_1 = (x_1 \ y_1)^T, \mathbf{a}_2 = (x_2 \ y_2)^T$ に対して, 演算子 \times_2 を $\mathbf{a}_1 \times_2 \mathbf{a}_2 = x_1 y_2 - x_2 y_1$ と定める. 数値シミュレーションにおける各時間ステップ毎に,

$$\left| \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \text{sgn}(\mathbf{r}_i \times_2 (\mathbf{G} - \mathbf{r}_i)) \right|$$

を計算し, 全時間ステップの値の平均値を回転運動の指標とする. $\text{sgn}(x)$ は符号関数であり, $\text{sgn}(x) = 1 (x > 0); 0 (x = 0); -1 (x < 0)$ である.

- (ii) 細胞群のサイズを示す指標: $R_{\text{Tissue}} = |\mathbf{G}(t) - \mathbf{r}_i| + R_A/2$ として, 数値シミュレーションの最終ステップにおける比 $R_{\text{Tissue}}/R_{\text{Min}}$ を細胞群のサイズを示す指標とする. ここで, R_{Min} は N 個の細胞が最密充填してできる円の半径である.

- (iii) 細胞極性の揃い具合を示す指標: 数値シミュレーションにおける各時間ステップ毎に,

$$\left| \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \cos(\theta_i - \mu) \right|, \quad \mu = \tan^{-1} \left(\frac{\sum_{i=1}^N \sin \theta_i}{\sum_{i=1}^N \cos \theta_i} \right)$$

を計算し, 全時間ステップの値の平均値を極性の揃い具合を示す指標とする.

次に, 極性による駆動力のパラメータ α と接着力のパラメータ β の相図を示す. α, β 以外のパラメータは図 1(c) の場合と同様である. 細胞の半径を $R_A = 4.0$, 細胞数を $N = 100$ として, 細胞の位置 \mathbf{r}_i および細胞極性の方向 θ_i の初期値はランダムに与えられるものとする. 細胞群のサイズを示す指標 $R_{\text{Tissue}}/R_{\text{Min}}$ は 1 よりも大きくなることもあるため, 調査するパラメータの対 (α, β) 毎のデータから最も大きい値を抽出し, その値を用いてデータを正規化する. 集団遊走モードの指標 (i), (ii), (iii) の値を RGB 値に変換することによって, 相図内に示された対 (α, β) に対応する正方形領域の色が決定される. (本稿ではグレースケールに変換した相図を示す.)

図 2 はパラメータ α および β の相図である. 図 2 の相図において, 提案モデルが示す集団遊走モードは次の 4 つのモードに分類することができる:

Mode 1: 剛体的な回転集団遊走モード

Mode 2: 非剛体的な回転集団遊走モード

Mode 3: 反転回転集団遊走モード

Mode 4: 方向が揃った集団遊走モード

実際の実験で観察される集団遊走と相図が示す集団遊走モードを比較すると、MDCK 細胞は剛体的な回転運動を示し、細胞性粘菌は非剛体的な回転運動を示すことが報告されているため、得られた相図において、MDCK 細胞は Mode 1 を示すパラメータ領域に属し、細胞性粘菌は Mode 2 を示すパラメータ領域に属していると考えられる。最近、Mode 4 の集団遊走モードがコラーゲンゼル上を遊走する食道がん細胞の *in vitro* の実験 (芳賀 永, et al., 未出版データ) で観察されたことから、食道がん細胞が Mode 4 を示すパラメータ領域に属していると考えられる。

一方、Mode 3 が示すような回転方向が定まらない運動はゼブラフィッシュの体節形成や細胞性粘菌の子実体形成などの形態形成の過程で観察されないため、実際の細胞群の集団遊走とは無関係である可能性があった。相図を読み取ると Mode 4 を示す食道がん細胞の接着力を増強することができれば、Mode 3 が起こり得ることが推測される。最近、マトリゲルに包埋した食道がん細胞を用いた芳賀らの *in vitro* の実験によって、Mode 3 に該当する集団遊走は食道がん細胞において観察されることが報告された (芳賀 永 et al., 未出版データ)。

4 まとめと今後の課題

本稿では、細胞極性が走化性の影響を受ける場合に関して自己駆動粒子モデルを構築し、数値シミュレーションによって得られる相図から提案モデルが再現する集団遊走は 4 つの集団遊走モードに分類されることを示した。回転運動が起こる仕組みを説明する先行研究において、自己駆動粒子モデルを扱っている研究はよく知られている。[10] では、接着阻害作用を考慮した自己駆動粒子モデルを構築し、一方向の回転運動が起こる要因が走化性にあることを示している。本稿においても走化性による極性の獲得によって生み出される凝集力がロバストな回転運動を引き起こす要因であることを確認した。しかし、Mode 3 のような回転運動は [10] において報告されていない。Mode 3 が引き起こされる要因は本稿の提案モデルに導入した非線形関数 f にある [11]。Mode 3 が実際の食道がん細胞の集団遊走モードとして確認されたことから、提案モデルは実際の生物が引き起こす集団遊走モードを推測できるため、高い妥当性をもつものであることが示唆される。

その一方で、提案モデルでは食道がん細胞の実験のようにコラーゲンゼルなどの基質と細胞間の相互作用を考慮することができていないので、基質を導入した数理モデルを構築することは今後の課題である。また、食道がん細胞など個々の細胞に注目した詳細な数理モデルの構築も課題の一つである。さらに、ゼブラフィッシュの体節形成や細胞性粘菌の子実体形成など、実際の形態形成の過程では三次元空間内における細胞群の回転運動が観察されていることから、提案モデルを三次元空間の問題に適応できるように拡張することが望まれる。その上で、凝集力が回転運動を引き起こす本質的な要因であるかどうかを考えることは今後の課題である。

謝辞

本研究は、平成 27 年度～平成 31 年度文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究 (研究領域提案型) 「生物の 3D 形態を構築するロジック」 (課題番号 15H05857) の助成を受けて

いる。本研究を進めるにあたって、武田 洋幸氏 (東京大学), 芳賀 永氏 (北海道大学), 井上 康博氏 (京都大学), 近藤 滋氏 (大阪大学) に有益なコメントを頂いた。ここに感謝の意を表す。

参考文献

- [1] G. Reig, E. Pulgar, and M. L. Concha. Cell migration: from tissue culture to embryos. *Development*, Vol. 141, No. 10, pp. 1999–2013, 2014.
- [2] A. Nakajima, S. Ishihara, D. Imoto, and S. Sawai. Rectified directional sensing in long-range cell migration. *Nat Commun*, Vol. 5, p. 5367, 2014.
- [3] F. Siegert and C. J. Weijer. Spiral and concentric waves organize multicellular dictyostelium mounds. *Curr Biol*, Vol. 5, No. 8, pp. 937–43, 1995.
- [4] K. Doxzen, S. R. Vedula, M. C. Leong, H. Hirata, N. S. Gov, A. J. Kabla, B. Ladoux, and C. T. Lim. Guidance of collective cell migration by substrate geometry. *Integr Biol (Camb)*, Vol. 5, No. 8, pp. 1026–35, 2013.
- [5] M. J. Sato, M. Ueda, H. Takagi, T. M. Watanabe, T. Yanagida, and M. Ueda. Input-output relationship in galvanotactic response of dictyostelium cells. *Biosystems*, Vol. 88, No. 3, pp. 261–72, 2007.
- [6] T. Ayukawa, M. Akiyama, J. L. Mummery-Widmer, T. Stoeger, J. Sasaki, J. A. Knoblich, H. Senoo, T. Sasaki, and M. Yamazaki. Dachshous-dependent asymmetric localization of spiny-legs determines planar cell polarity orientation in drosophila. *Cell Rep*, Vol. 8, No. 2, pp. 610–21, 2014.
- [7] W. Y. Aw, B. W. Heck, B. Joyce, and D. Devnport. Transient tissue-scale deformation coordinates alignment of planar cell polarity junctions in the mammalian skin. *Curr Biol*, Vol. 26, No. 16, pp. 2090–100, 2016.
- [8] K. Tsujita, T. Takenawa, and T. Itoh. Feedback regulation between plasma membrane tension and membrane-bending proteins organizes cell polarity during leading edge formation. *Nat Cell Biol*, Vol. 17, No. 6, pp. 749–58, 2015.
- [9] A. Jilkine and L. Edelstein-Keshet. A comparison of mathematical models for polarization of single eukaryotic cells in response to guided cues. *PLoS Comput Biol*, Vol. 7, No. 4, p. e1001121, 2011.
- [10] B. A. Camley, J. Zimmermann, H. Levine, and W. J. Rappel. Collective signal processing in cluster chemotaxis: Roles of adaptation, amplification, and co-attraction in collective guidance. *PLoS Comput Biol*, Vol. 12, No. 7, p. e1005008, 2016.
- [11] M. Akiyama, T. Sushida, S. Ishida, and H. Haga. A mathematical model of collective cell migrations based on cell polarity. *submitted*, 2017.