

エージェントシミュレーションに基づく 細胞間コミュニケーションの解明

Elucidation of Cell-to-Cell Communication Based on Multi-Agent Simulation

○最上智稀*, 張山昌論*, 井上健一**

○Tomoki Mogami*, Masanori Hariyama*, Ken-ichi Inoue**

*東北大学, **獨協医科大学

*Tohoku University, **Dokkyo Medical University

キーワード: 線維芽細胞 (fibroblast), サイトカイン (cytokine),
細胞外マトリックス (extracellular matrix), 複雑系 (complex system),
マルチエージェントシミュレーション (multi-agent simulation)

連絡先: 〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3-09
東北大学 大学院情報科学研究科 情報基礎科学専攻 張山研究室

最上智稀, Tel.: (022)795-7155, Fax.: (022)795-7155, E-mail: tomoki.mogami.q5@dc.tohoku.ac.jp

1. はじめに

単細胞生物から多細胞生物へと進化し、生物がより複雑化かつ大型化していく過程において、生体内ではより長距離の細胞間コミュニケーションが求められるようになった。その細胞同士でのコミュニケーションは、サイトカインと呼ばれるシグナル物質を介して行われていると考えられる。また、ECM (細胞外マトリックス) と呼ばれる生理物質も、細胞間コミュニケーションに関係していると考えられているが、現状では詳しいことは未解明である。これらの物質を介した細胞間コミュニケーションがどのように行われるのかは、生活習慣病やがん等にも密接に関係しており、その分析は意義深いものであると言える。

細胞間コミュニケーションの分析手法として、

本研究ではマルチエージェントシミュレーション (MAS) と呼ばれる手法を用いる。MASとは、複数のエージェントを用いたシミュレーションのことであり、機械学習のみでは予測が難しい、複雑系と呼ばれる事象をも予測しうる手法である。ここで、複雑系とは、様々な要素が絡み合った結果、個々の要素からは予測できないような振る舞いを全体として見せる系のことを指す。MASでは、周囲の状況を認識し、行動モデルに基づき自律的に行動するエージェントを、空間やエージェント同士で相互作用させながらシミュレーションを実行する。各エージェントや空間のパラメータを変化させることで、全体としての振る舞いがどのように変化するかを分析することができる¹⁾。

本研究では、細胞や物質をMASにおけるエージェントとしてモデル化し、それらの数や振る舞

個々の細胞の行動・環境制御

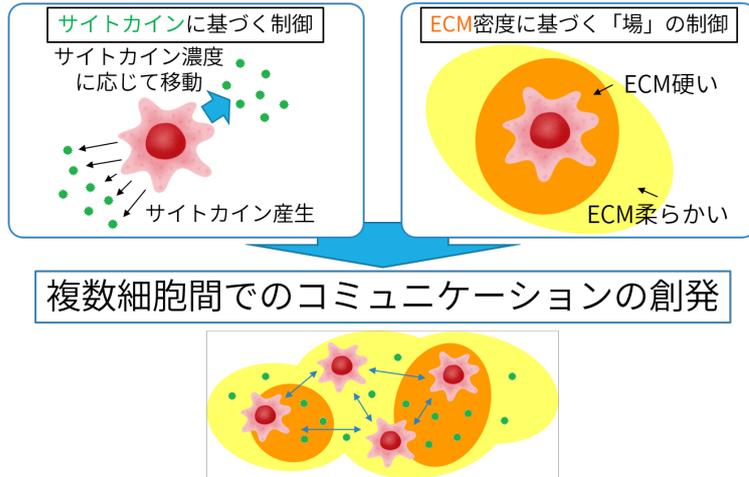


Fig. 1 細胞間コミュニケーションのモデル化

いに関わるパラメータを変化させてシミュレーションを行う。これによって、細胞がサイトカインやECMを用い、どのようにコミュニケーションを行うのかを解明することが、本研究の目的である。

2. エージェントの実装・モデル化

ここでは、細胞間コミュニケーションに関わる細胞と生体内物質について簡潔に紹介し、それらをMASにおけるエージェントとして定義する。生体内物質としては、前述のサイトカイン及びECMが挙げられ、個々の細胞はサイトカインに基づく制御とECM密度に基づく「場」の制御により、他の細胞とのコミュニケーションを図っているものと考えられる (Fig. 1)。細胞エージェントの行動・制御をモデル化し、他の物質エージェントと相互作用させることで、細胞間コミュニケーションの2次元モデルを構築する。なお、実装に際しては、MASに特化したシミュレーションプラットフォームである、artisoc 4.2 standard (株式会社構造計画研究所) を使用した。

2.1 ECM

ECM (細胞外マトリックス) とは、細胞の周囲を満たしている不溶性の物質である。ECMには、コラーゲンなどのタンパク質やグルコサミンなどから構成される多糖類などが含まれ、細胞にとって物理的な足場の役割を果たす²⁾。細胞が移動する際には、ECMが硬いほど足場がしっかりしていることになり、細胞はより動きやすくなる。また、サイトカインはECMの繊維に密着することで、拡散しづらくなるとともに、安定性が増加し、自然分解されにくくなる。ECMが硬くなるほどこの傾向は強くなる。

ECMは細胞によって産生・分解されるため、その硬さは空間的にも時間的にも動的に変化する。そこで、ECMは空間内を2次元の細かいセルに分割し、各地点での硬さを密度として表すことで実装した。空間を $L \times M$ のセルに分割するとき、各セルのECM密度 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}}$ ($i = 0, 1, \dots, L-1$; $j = 0, 1, \dots, M-1$) を、

$$1 \leq \rho_{i,j}^{\text{ECM}} \leq 10 \quad (1)$$

と定義した。ここで、 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}}$ は相対的な値であり、特定の単位を持つような値ではない。後述するサイトカインや細胞は、ECMと重なりながら移動するように実装した。

2.2 サイトカイン

サイトカインとは、細胞間でのシグナル伝達の役割を担う生理活性物質と呼ばれる低分子タンパク質の総称である。本研究では、細胞の遊走を活性化させるサイトカインについて扱う。ここで、遊走とは、細胞が外部からの化学信号などに応答し、個体内の別の位置へと移動することである。

サイトカインをエージェントとして実装する際には、拡散及び自然分解の2つの点でモデル化を行った。これらの度合いは、その地点でのECMの硬さ(密度)に応じて変化する。

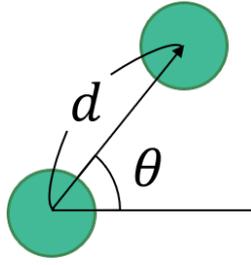


Fig. 2 サイトカインのランダムウォークにおける1ステップ毎の動き

2.2.1 拡散

サイトカインのような微粒子は、生体内でブラウン運動を見せながら拡散していく。このブラウン運動を表現する手法として、ランダムウォークがある。ランダムウォークとは、次の位置がランダムに決まる運動であり、今回実装したモデルでは、各サイトカインエージェントがランダムウォークを行うことで拡散を表現する。今回は、1ステップ毎の進む方向 θ を一様乱数によりランダムに定めることとした。一方、1ステップ毎の進む距離 d に関しては、ECMの密度に応じて小さくなるので、

$$d = \frac{d_0}{\sqrt{\rho_{i,j}^{\text{ECM}}}} \quad (2)$$

と定義した (Fig. 2)。ここで、 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}}$ は前述のECMの密度であり、 i, j はサイトカインが移動する前の時点で重なるECMセルの添字である。また、 $d_0 > 0$ は定数であり、 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}} = 1$ のときに進む距離である。

2.2.2 自然分解

サイトカインは生体内で自然分解されるが、その安定性は周囲のECMの硬さ（密度）に応じて動的に変化する。そこで、自然分解をモデル化するにあたっては、各々のサイトカインについて、各ステップでの消滅確率を局所的なECM密度に反比例するように定義した。具体的には、

各ステップにおける消滅確率 P は、

$$P = \frac{CI}{\rho_{i,j}^{\text{ECM}}} \quad (3)$$

で表される。ここで、 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}}$ はその地点のECMセルの密度である。また、サイトカインの不安定性（分解されやすさ）を表すパラメータ CI (cytokine instability) は、 $0 \leq CI \leq 1$ であり、 $\rho_{i,j}^{\text{ECM}} = 1$ のときの消滅確率に対応する。

2.3 細胞

本研究では、間質細胞と呼ばれる細胞について扱う。間質細胞とは、体や臓器などの表面を覆う上皮細胞を支える組織を構成する細胞の総称であり、白血球などの免疫細胞や血管の内側を構成する血管内皮細胞、線維芽細胞などが含まれる³⁾。大きさは細胞の種類により、数 μm から数十 μm 程である⁴⁾が、今回は細胞半径 R を $15\mu\text{m}$ とした。

細胞は周囲のECMに結合したサイトカインの濃度勾配に従って遊走し、これをhaptotaxis（走触性）と呼ぶ⁵⁾。また、細胞は周囲のサイトカイン濃度に応じて、自らもサイトカインを産生するとともに、周囲のサイトカイン濃度やECMの硬さに応じて、ECMを産生・分解する。これらの機能を細胞エージェントの1ステップ毎の行動・制御として実装した。

2.3.1 サイトカイン濃度測定

今回のモデルでは、細胞がサイトカインの拡散に重なるように動くため、細胞の中心付近 (Fig. 3の実線で囲まれた円領域) と周囲8方向 (Fig. 3の波線で囲まれた円領域) のサイトカイン濃度を測定することで、濃度勾配と平均濃度を算出する。これらの測定領域は、直径が細胞サイズの半分の円 (半径 $R/2$) とした。

サイトカイン濃度勾配を算出する際は、まず、細胞中心付近のサイトカイン濃度 c_0^{Cyto} と、細胞表面付近8方向の濃度のうち最大の濃度 $c_{\text{max}}^{\text{Cyto}}$

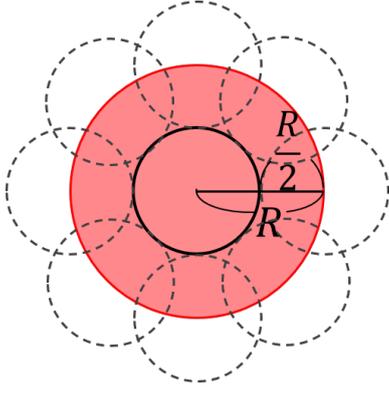


Fig. 3 細胞（赤色）周囲のサイトカイン濃度の測定領域

を測定する．このとき，細胞の位置におけるサイトカインの濃度勾配 $\text{grad } c^{\text{Cyto}}$ の大きさを，

$$|\text{grad } c^{\text{Cyto}}| = \begin{cases} \frac{c_{\text{max}}^{\text{Cyto}} - c_0^{\text{Cyto}}}{R} & (c_{\text{max}}^{\text{Cyto}} \geq c_0^{\text{Cyto}}) \\ 0 & (c_{\text{max}}^{\text{Cyto}} < c_0^{\text{Cyto}}) \end{cases} \quad (4)$$

と求める． $\text{grad } c^{\text{Cyto}}$ の向きは，8方向のうち， $c_{\text{max}}^{\text{Cyto}}$ を与える方向とする．また，細胞周囲のサイトカインの平均濃度 $\overline{c^{\text{Cyto}}}$ は，細胞の表面付近8方向の平均濃度とする．

2.4 ECM 密度測定

細胞による周囲のECMの密度測定について，細胞周囲のECM平均密度 $\overline{\rho^{\text{ECM}}}$ は，細胞の中心から半径 $1.5R$ の円内にあるECMセルの密度の平均値として定めるようにした．

2.5 Haptotaxis

細胞が周囲のECM内のサイトカインの濃度勾配に応じて遊走する haptotaxis では，サイトカイン濃度勾配 $\text{grad } c^{\text{Cyto}}$ の方向に移動する．このとき，ECMは細胞にとって足場の役割を果たすため，ECM密度が高いほど細胞は動きやすくなる．そこで，1ステップ毎の移動距離 v は，周囲のECM平均密度 $\overline{\rho^{\text{ECM}}}$ の係数として，ECM内での動きやすさを表すパラメータ

$MECM \geq 0$ (mobility in ECM) を用いた，

$$v = 10|\text{grad } c^{\text{Cyto}}| + MECM \overline{c^{\text{ECM}}} \quad (5)$$

で表すこととした．

2.6 サイトカイン産生

細胞による周囲へのサイトカイン産生は，サイトカイン濃度勾配が大きくなった際に促進され，周囲のサイトカイン平均濃度が高くなった際に抑制されるように設定した．具体的には，サイトカイン産生数 N^{Cyto} は，サイトカイン産生促進パラメータ $PCP \geq 0$ (promotion of cytokine production) と，サイトカイン産生抑制パラメータ $ICP < 0$ (inhibition of cytokine production) を用いて，

$$N^{\text{Cyto}} = \lfloor PCP|\text{grad } c^{\text{Cyto}}| + ICP \overline{c^{\text{Cyto}}} \rfloor \quad (6)$$

と表される．ここで， $\lfloor x \rfloor$ は， x の小数部分の切り捨てを表す． $N^{\text{Cyto}} \geq 1$ のとき，これらのサイトカイン N^{Cyto} 個は，細胞の中心から半径 $2R$ の円内に一様に配置されるが， $N^{\text{Cyto}} < 1$ のときはサイトカインは産生されない．

2.7 ECM 産生・分解

細胞による周囲のECM密度の変化については，サイトカイン濃度勾配が大きくなった際にECMの産生が促進され，周囲のECM平均密度が高くなった際にECMの産生を抑制したりECMを分解したりするように設定した．具体的には，細胞の中心から半径 $2R$ の円内にある各ECMセルの密度を均一に，ECM密度変化量 $\Delta\rho^{\text{ECM}}$ だけ変化させる． $\Delta\rho^{\text{ECM}}$ は，ECM産生パラメータ $ECMP \geq 0$ (ECM production) と，ECM分解パラメータ $ECMD < 0$ (ECM degradation) を用いて，

$$\Delta\rho^{\text{ECM}} = ECMP|\text{grad } c^{\text{Cyto}}| + ECMD \overline{\rho^{\text{ECM}}} \quad (7)$$

と表される．

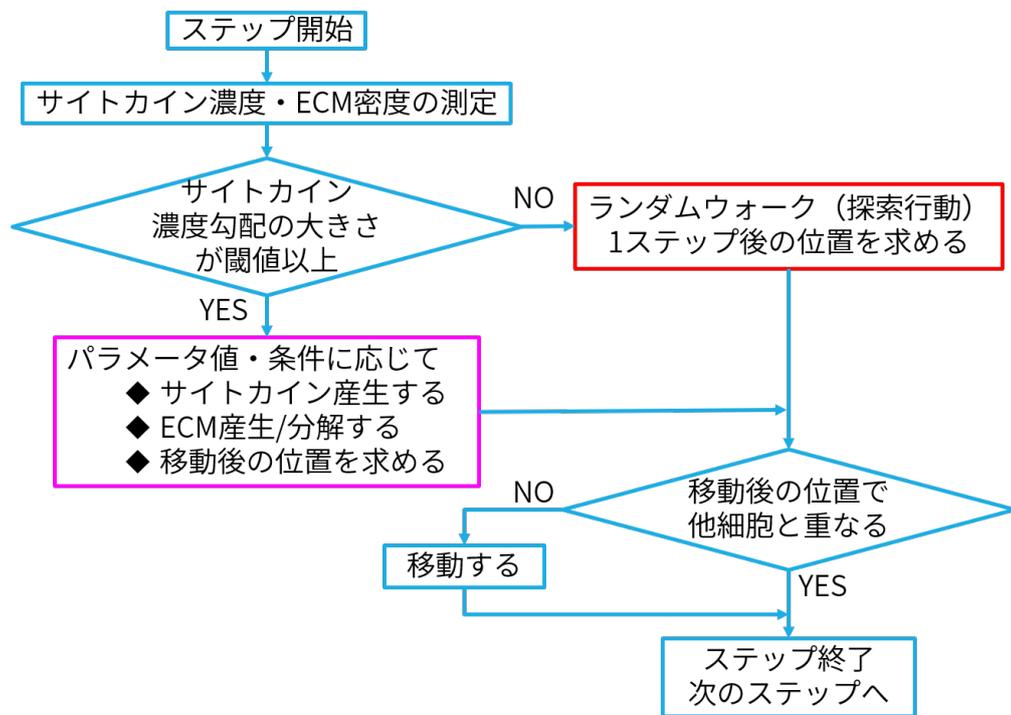


Fig. 4 細胞エージェントの行動モデル

2.8 細胞エージェントの行動モデル

細胞エージェントの各ステップでの行動モデルについて、フローチャートを Fig. 4 に示す。サイトカイン濃度勾配の大きさが閾値を超えなかった場合、サイトカインのシグナルを求め、小さな距離のランダムウォークを繰り返す探索行動に出る。また、移動後の位置で他の細胞と重なる場合は移動しない。

3. シミュレーション

3.1 条件設定

実装したモデルを用いてシミュレーションを行い、ステップ数やサイトカイン産生数に基づき評価を行った。シミュレーションにおける細胞の初期配置を Fig. 5 に示す。シミュレーションが始まると、右上のゴールエリアから、サイトカインが1000ステップに渡り合計5000個放出される。細胞がそれに応じて移動を始め、全細胞が青線よりもゴールエリア側へ移動した時点で、シミュレーションは終了となる。その時点でのステップ数及びサイトカイン産生数を評価の指標とした。全細胞がゴールエリアまで到達

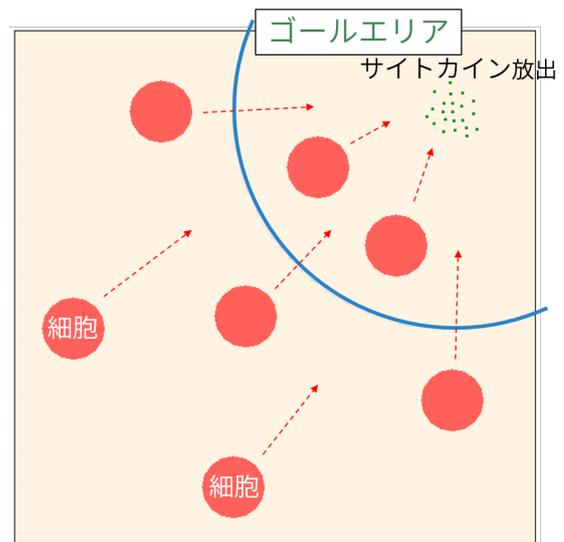


Fig. 5 細胞の初期配置とゴールエリア

達していない場合も、一定ステップ経過後にシミュレーションは切り上げられ、その時点における未到達の細胞のゴールエリアまでの距離を基にステップ数の評価値が算出される。なお、この設定は、好中球などが炎症部へと集合していく様子をイメージしている。

サイトカインの産生の有無やECMの産生・分解の有無の条件を変えながら、次の6つのパラメータを一様乱数を用いて変化させてシミュレーションを行った。

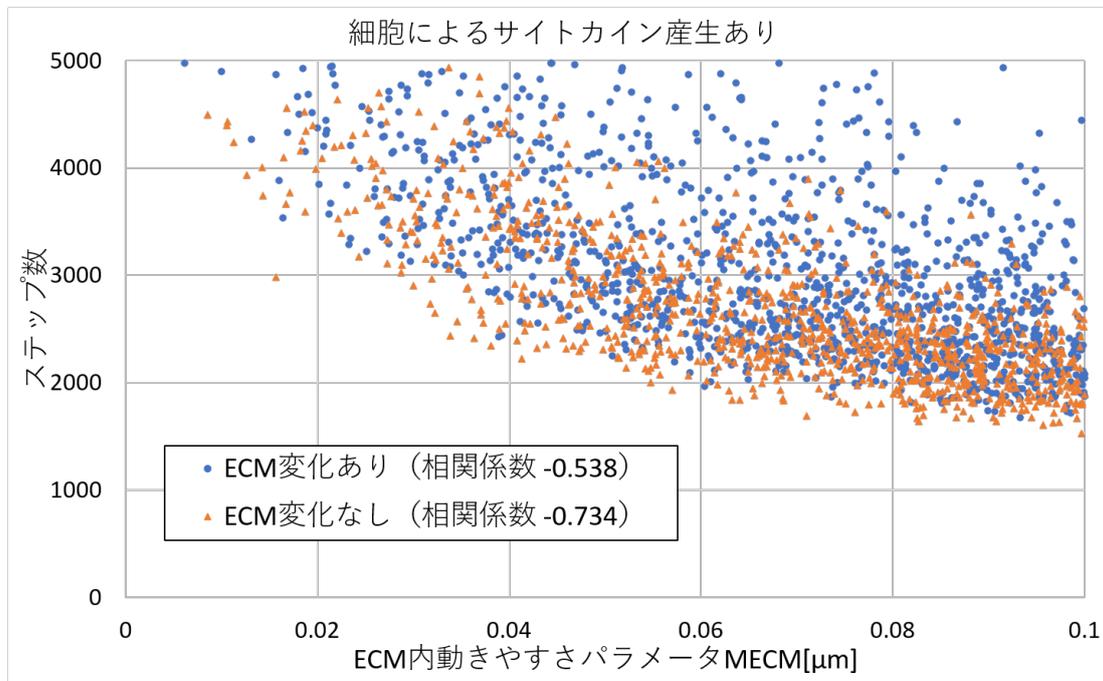


Fig. 6 細胞の ECM 内での動きやすさのパラメータ $MECM$ とステップ数との関係

- $MECM$: 細胞の ECM 内での動きやすさのパラメータ
- PCP : サイトカイン産生促進パラメータ
- ICP : サイトカイン産生抑制パラメータ
- $ECMP$: ECM 産生パラメータ
- $ECMD$: ECM 分解パラメータ
- CI : サイトカインの不安定性のパラメータ

3.2 結果

まず、サイトカインの不安定性パラメータ $CI = 1.0 \times 10^{-4}$ に固定したとき、他の 5 つのパラメータの中でゴール到達までのステップ数と最も強い相関を見せたのは、ECM 内での動きやすさのパラメータ $MECM$ であった。 $MECM$ とステップ数の関係を Fig. 6 に示す。このグラフでは、全細胞がゴールに到達した結果のみを示しているが、ECM の産生・分解の有無によらず、 $MECM$ とステップ数の間に負の相関が見られた。(5) 式より、 $MECM$ が大きいほど、ECM が細胞にとっての足場としての役割をより果たしていると言え、細胞の移動速度が大きくなる。

それによって、細胞がゴールへ到達するのにかかるステップ数が小さくなると直感的には考えられるが、それと一致する結果をシミュレーションを通じて得ることができたと言える。

次に、 $MECM = 0.08$ と固定して、他のパラメータを変化させたときの CI とステップ数との関係を Fig. 7 及び 8 に示す。これらの結果を得たときのシミュレーションの設定として、実行ステップ数の上限を 8000 ステップとしている。よって、8000 ステップ以上の「ゴール未到達」となっている結果のステップ数の値は、8000 ステップ経過時のゴールまで到達していない細胞の位置から求めた評価値である。ECM を産生・分解するとき (Fig. 8) としないとき (Fig. 7) のいずれも、サイトカインを産生するときの方が、サイトカインを産生しないときと比べ、サイトカインの不安定性 CI がより大きく分解されやすいときでも、全細胞がゴールまで到達している結果が多く見られた。これによって、シグナル物質であるサイトカインを細胞自身が産生することが、細胞間でのシグナル伝達の可否に直結するというところを、シミュレーションを通じて確かめることができた。

また、同様の条件から得られた結果における、

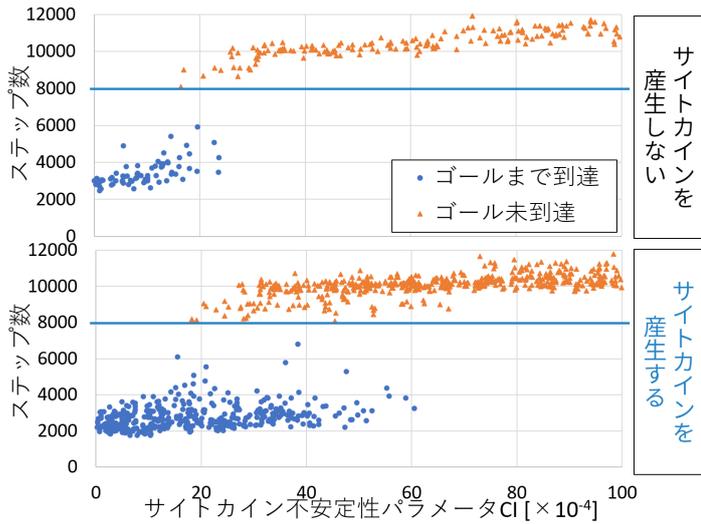


Fig. 7 ECMを産生・分解しないときのサイトカイン不安定性パラメータ CI とステップ数

CI と細胞によるサイトカイン総産生数とステップ数の関係を Fig. 9 に示す。このグラフでは、ECMを産生・分解しないときで、全細胞がゴールまで到達した結果のみ示している。 CI の値が同程度のとき、細胞によるサイトカイン産生数が多いほどゴール到達までのステップ数は小さくなっている。一方、同程度のサイトカイン産生数では、サイトカインの不安定性パラメータ CI の値が大きいほどステップ数は大きくなっている。 CI が 30×10^{-4} を超えると、細胞によるサイトカインの産生がない状況で、ゴールに到達する結果は得られていない。これらのことから、細胞によるサイトカインの産生とサイトカインの安定性（不安定性）が、シグナルの伝達の可否・程度に直結していることが確認できた。

4. おわりに

本研究では、細胞や生体物質を MAS におけるエージェントとして定義し、細胞間コミュニケーションをモデル化した。また、シミュレーションを通じて、細胞がある地点に移動・集合するという目的においては、細胞にとって ECM が足場の役割を果たしていることや細胞による

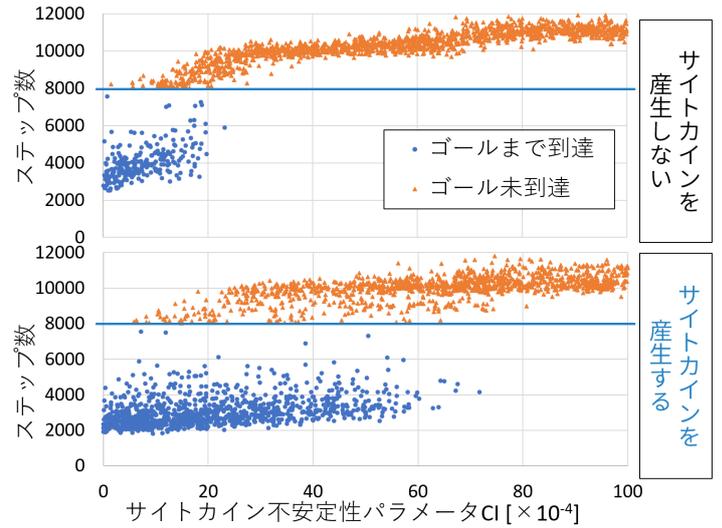


Fig. 8 ECMを産生・分解するときのサイトカイン不安定性パラメータ CI とステップ数

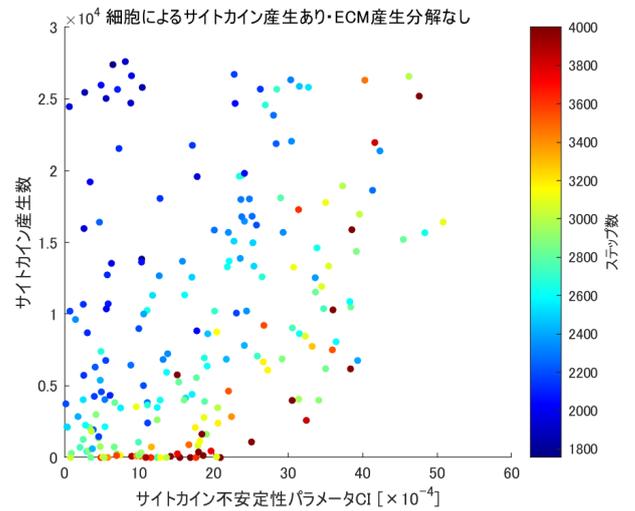


Fig. 9 サイトカインの不安定性パラメータ CI と細胞によるサイトカイン産生数とステップ数

サイトカインの産生とサイトカインの安定性が、大きく影響しているということを確認できた。

直感的にはサイトカインの産生数を増加させてサイトカインが安定であれば、シグナルが伝わりやすいであろうことは予想できる。しかし、生化学的にサイトカインを合成するにはエネルギーも必要であり、無制限に産生数を増加できるわけではない。また、サイトカインの安定性が高い場合、増強したシグナルがいつまで経っても遷延することになる。シグナルが不要となった際に素早くオフにするためには、サイトカインの一定の不安定性が必要であろう。サイトカ

インの安定性を調節する「場」としての ECM の意義は、今回得られた結果だけでは明らかにできなかった。今後の課題として、シミュレーションの条件設定やモデルに修正を施し、ECM の産生・分解が細胞間コミュニケーションに与える影響を解明していきたい。

参考文献

- 1) 山影進：人工社会構築指南 artisoc によるマルチエージェント・シミュレーション入門，29/31，書籍工房早山 (2007)
- 2) 後藤祐児，桑島邦博，谷澤克行：タンパク質科学 — 構造・物性・機能，555/556，株式会社東京化学同人 (2005)
- 3) 永田和宏，中野明彦，米田悦啓：細胞生物学，172/174，株式会社東京化学同人 (2006)
- 4) B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, D. Morgan, M. Raff, K. Roberts, P. Walter (著)，中村桂子，松原謙一 (訳)：細胞の分子生物学 第6版，1240，株式会社ニュートンプレス (2017)
- 5) 張明浩，宮坂昌之：ケモカイン オーバービュー，臨床化学，33-2，57/60 (2004)