

[共同研究成果]

3次元フェーズフィールド法によるがんオルガノイドの形態形成

千葉 紀風 川村 洸太郎 今井 正幸

東北大学大学院理学研究科

概要: 本研究では、がん細胞の遺伝子変異が腫瘍の形態に与える力学的影響を解明するために、3次元フェーズフィールド法を用いて腫瘍の形態形成モデルを構築した。がんオルガノイドを対象に、細胞間の接着力や細胞分裂の周期・方向、内腔圧力といったパラメータを変化させることで、細胞集合体の形態変化を数値シミュレーションにより再現した。これにより、原発巣と転移巣のがん特性を力学的観点から判別できることが示された。

序論

がんにおかされた細胞組織である腫瘍は特有の形態を示し、その形態はがんの予後を予測する上で重要な情報を与える [1]。現在の病理診断はがん細胞の遺伝子変異と腫瘍の形態に基づいているが、その遺伝子変異がタンパク質を介してどのような力学作用を細胞に与えて腫瘍の形態を決定しているかを明らかにできれば、がんの病理診断の信頼性は非常に高まることが期待できる (図1)。この課題を解決する第一歩として、我々は腫瘍の形態形成を支配する力学モデルの構築を実験と数値シミュレーションの両面から取り組んでいる。本共同研究では数値シミュレーションとして、細胞集合体の3次元フェーズフィールド法を開発することにより、がん細胞の集合体である腫瘍の形態を決定する力学因子を抽出した。

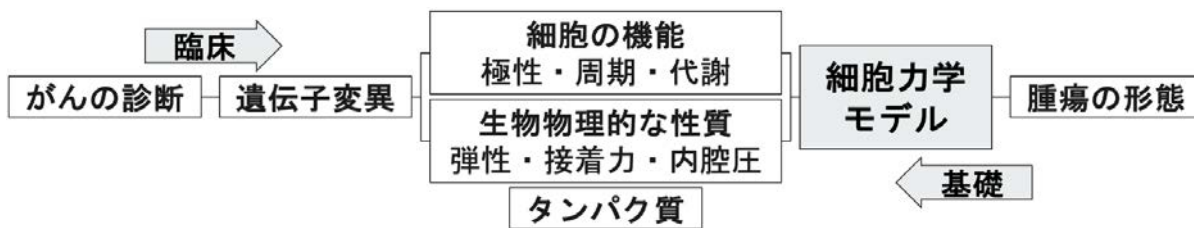


図1 本研究の概要. 病理診断においてがん細胞の遺伝子変異と腫瘍の形態変化を用いて判別するのに対して、力学モデルは両者の情報を結びつけることで、既存の病理診断スキームを裏付けることができると考えられる。

方法

がんオルガノイドは腫瘍から抽出した細胞を培養して形成される細胞集合体であり、生体内の腫瘍が示す遺伝子変異を保持する。がん細胞の遺伝子変異はがんオルガノイドの形態にも反映され、その基本的な構造は細胞集合体である細胞組織と水を主成分とする内腔からなる管腔である。このような管腔構造に対して、フェーズフィールド法では細胞や内腔の形状を相の拡散界面として扱う [2, 3]。相は空間の位置 $\mathbf{r} = (x, y, z)$ 、時間 t で表されるフェーズフィールド変数 $u(\mathbf{r}, t)$ を用いて表される。後述する理由により、フェーズフィールドが非保存場であることを仮定する

と、時間発展は系の自由エネルギーの汎関数微分 $\tau \frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{\delta E}{\delta u}$ に従う。管腔構造の場合、個々の細胞のフェーズフィールド $u_m(\mathbf{r}, t)$ と内腔のフェーズフィールド $s(\mathbf{r}, t)$ について自由エネルギーを定義する。まず、 m 番目の細胞の自由エネルギーを以下のように表す、

$$\begin{aligned} E[u_m] = & \int_{\Omega} \left[\frac{D_u}{2} |\nabla u_m|^2 + \frac{1}{4} u_m^2 (1 - u_m)^2 \right] d\mathbf{r} \\ & + \frac{\alpha}{12} (V_{m,0} - V(u_m))^2 + \sum_{n \neq m}^{N_c} \frac{\beta}{12} \int_{\Omega} h(u_m) h(u_n) d\mathbf{r} + \frac{\beta}{12} \int_{\Omega} h(u_m) h(s) d\mathbf{r} \\ & + \sum_{n \neq m}^{N_c} \frac{\eta}{6} \int_{\Omega} \nabla h(u_m) \nabla h(u_n) d\mathbf{r} + \gamma \int_{\Omega} |\nabla h(u_m)|^2 d\mathbf{r} \end{aligned}$$

ここで、第1項は勾配自由エネルギーとダブルウェルエネルギーを表す。係数 D_u は勾配の幅と界面張力の大きさを決める。第2項は細胞の体積を $V_{m,0}$ に拘束するペナルティ項を表す。係数 α は十分大きい値を指定する。また、細胞 m の体積を $V(u_m) = \int_{\Omega} h(u_m) d\mathbf{r}$ で表す。ここで Ω は空間での有限の領域を表す。第3項と第4項はそれぞれ細胞間、細胞と内腔間の排除体積を表す項であり、係数 β , β_s はペナルティの強さを表す。また、関数 $h(u) = u^2(3 - 2u)$ は数値計算の安定性のために導入する。第5項は細胞間の接着エネルギーである。係数 η は細胞間の接着力である。最後に、第6項は界面が無限に広がることを拘束するペナルティ項を表す。係数 γ は接着力 η よりも大きい値に指定する。

次に内腔の自由エネルギーを以下のように表す、

$$\begin{aligned} E[s] = & \int_{\Omega} \left[\frac{D_s}{2} |\nabla s|^2 + \frac{1}{4} s^2 (1 - s)^2 \right] d\mathbf{r} \\ & + \sum_{n \neq s}^{N_c} \frac{\beta_s}{12} \int_{\Omega} h(s) h(u_n) d\mathbf{r} - \frac{\xi}{6} \int_{\Omega} h(s) d\mathbf{r} \end{aligned}$$

上記の細胞と同じように、第1項は勾配自由エネルギーとダブルウェルエネルギーであり、係数 D_s は勾配の幅と界面張力の大きさを決める。第2項は細胞と内腔間の排除体積を表すペナルティ項である。第3項は内腔の圧力によるエネルギーである。係数 ξ は細胞組織を隔てた内腔の圧力差を表す。

本研究の系では細胞分裂により新たな細胞のフェーズフィールドが生成される。また、内腔の

フェーズフィールドは圧力差によって生成および消滅する。したがって細胞相・内腔相は非保存場と仮定して、時間発展方程式をフェーズフィールドの汎関数微分で以下のように表す、

$$\tau \frac{\partial u_m}{\partial t} = D_u \nabla^2 u_m + u_m(1 - u_m) \left(u_m - \frac{1}{2} + f_u(u_m, \psi) \right).$$

$$f_u(u_m, \psi) = \alpha(V_m - V(u_m)) - \beta(\psi - h(u_m)) + \eta \nabla^2(\psi - h(u_m)) + \gamma \nabla^2 h(u_m).$$

および、内腔の時間発展方程式、

$$\tau \frac{\partial s}{\partial t} = D_s \nabla^2 s + s(1 - s) \left(s - \frac{1}{2} + f_s(s, \psi) \right).$$

$$f_s(s, \psi) = -\beta_s \psi + \xi$$

ここで、係数 τ は単位時間を表す正の定数である。変数 $\psi(\mathbf{r}, t) = \sum_m^M h(u_m(\mathbf{r}, t))$ はある位置における細胞のフェーズフィールドの和を表す。以上の時間発展方程式について 3 次元空間で単位時間ステップごとにオイラー法で更新する。なお、本研究で使用したパラメーターは表 1 に記載した。シミュレーションのプログラムは Fortran, ノード内の並列処理は OpenMP で実装した。また、計算機は AOBA-S を用いて 1VE あたり 16 コアの並列処理で計算を実行した。

表 1 フェーズフィールド法のパラメーター

α	β, β_s	η	γ	D_u, D_s	τ
1	1	0.008	0.01	0.001	1

結果と考察

がんオルガノイドの管腔構造を制御する力学的な因子を明らかにするために、フェーズフィールドモデルを用いて細胞集合体の形態変化の再現を試みた。モデルパラメータとして細胞間の接着力、細胞の分裂周期、内腔圧力、分裂方向の 4 つを変化させて、1 から 100 細胞期までの形態変化を計算した (図 2)。その結果、基本的には内腔の体積増加は内腔圧力に比例するのに対して、細胞間の接着力を弱くすると、内腔の体積増加率は上昇した。また、分裂周期を長くすると細胞組織の外形が滑らかな球形に変化した。最後に、細胞分裂の方向を細胞組織面に対して垂直にすると、細胞組織が多層化して内腔の体積は減少した。

以上の結果から、原発巣では接着力が低下もしくは内腔圧力が増加することで内腔の占有率が大きい形態が形成されるのに対して (図 3) [4]、転移巣では内腔の占有率が小さいため内腔圧力

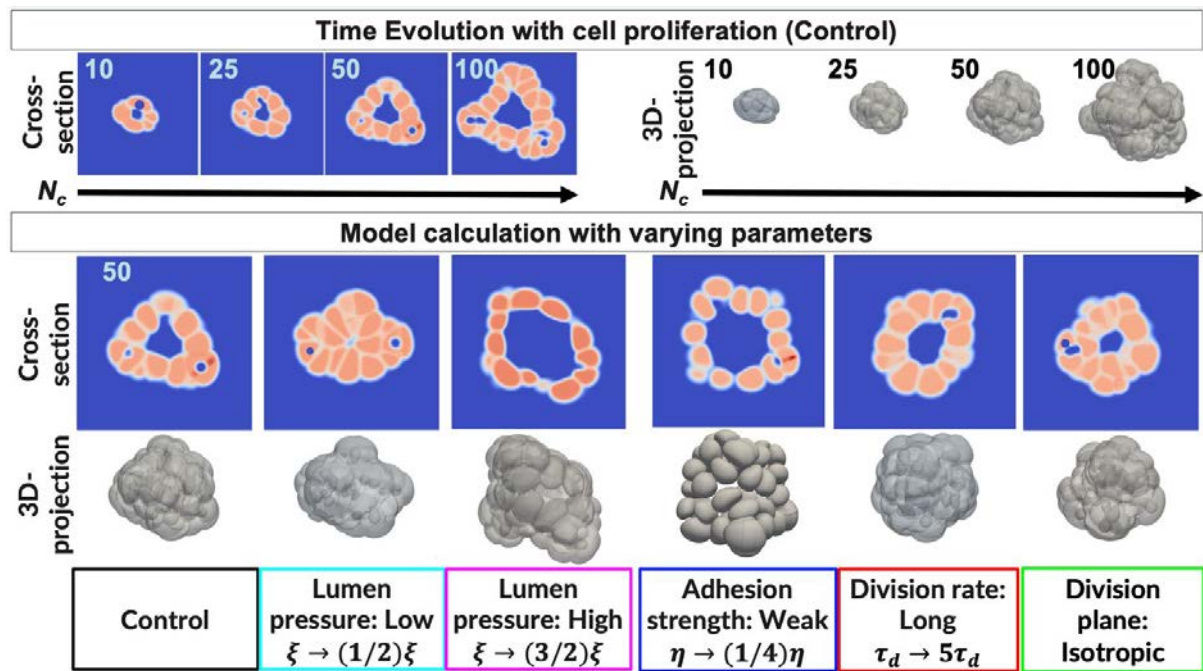


図2 3次元フェーズフィールド法による細胞増殖の時間発展とモデルパラメータごとの形態変化。計算過程では細胞は細胞周期に沿って100細胞まで分裂する。モデルパラメータを変化させると細胞集合体は異なる自己組織化パターンを示す；基準となるパラメータセットに対して、内腔圧力差を増減、細胞間の接着力の減少、細胞周期の延長、分裂方向を変化させた時の3次元フェーズフィールド。Controlのパラメータは $\xi = 0.30$, $\eta = 0.008$, $\tau_d = 10\tau$ 。

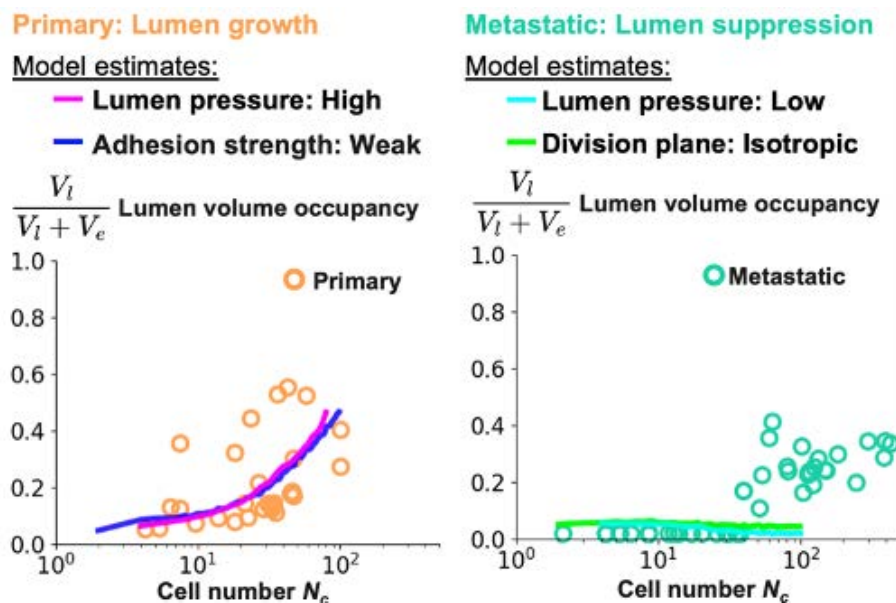


図3 実験データとモデルのフィッティング。細胞数に対してがんオルガノイド全体に対する内腔の体積分率を示す。シンボルは実験データ、曲線はモデルの結果を表す。

が減少しており、また少数細胞期に内腔が形成されないことから原発巣とは異なる分裂方向を示すことが明らかになった。すなわち、がんオルガノイドの形態形成から原発巣と転移巣のがんの特性を判別できることが示され、この手法はがんの分類（腺がんや扁平上皮がんなど）、患者ごとの特性の違いにも適用できる可能性がある [5]。

結論

シミュレーションの結果、原発巣においては接着力の低下や内腔圧力の増加が内腔の体積占有率に影響を与え、特徴的な形態変化が確認された。一方、転移巣では内腔形成が遅く、分裂方向が異なるため、原発巣とは異なる形態を示すことが明らかになった。この手法は、がんの分類や患者ごとの特性の違いに適用でき、がんの診断精度向上に寄与することが期待される。

謝辞

本研究は、東北大学サイバーサイエンスセンターのスーパーコンピュータを利用することで実現することができた。また、研究にあたっては同センター関係各位に有益なご指導とご協力をいただいた。

参考文献

- [1] Fiore, V. F. *et al.* Mechanics of a multilayer epithelium instruct tumour architecture and function. *Nature* **585**, 433–439 (2020).
- [2] Nonomura, M. Study on multicellular systems using a phase field model. *PLoS One* **7**, e33501 (2012).
- [3] Akiyama, M., Nonomura, M., Tero, A. & Kobayashi, R. Numerical study on spindle positioning using phase field method. *Phys. Biol.* **16**, 016005 (2018).
- [4] Chiba, T., Morphology of multicellular system revealed by vesicle aggregates and cancer organoids, PhD thesis., Tohoku University, (2024).
- [5] Kopper, O. *et al.* An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity. *Nat. Med.* **25**, 838–849 (2019).