

[共同研究成果]

3次元フェーズフィールドモデルとデータ同化による がんオルガノイドの細胞力学モデル

川村 洸太郎 千葉 紀風 今井 正幸

東北大学大学院理学研究科

概要: 本研究では、がんオルガノイドの形態形成を理解するために、3次元 フェーズフィールドモデルを用いた数値シミュレーションを実施し、多細胞集合体における管腔構造の形成機構を解析した。特に、内腔圧と細胞周期の変化が管腔構造の形成に及ぼす影響を調査し、特定の閾値において凝集構造から管腔構造への転移が起こることを明らかにした。さらに、データ同化手法（アンサンブル変分法）を導入し、実験観察データに基づく最適なモデルパラメータの推定を行った。シミュレーション結果と観測データの誤差を最小化することで、データ同化によるモデルパラメータ推定が多細胞集合体でも適応可能であることを示した。本研究の成果は、がんオルガノイドの細胞力学モデル解析の基盤を提供し、将来的にがん研究への応用が期待される。

序論

細胞は生命を構成する最小単位であり、細胞同士の接着や集合により組織を形成することで、特定の機能を持つ器官を構築する。細胞組織の形態形成は、上皮細胞の配置や変形によって制御されるが、そのメカニズムを理解するためには数理モデルを活用したシミュレーションが有用である。

本研究では、がん細胞の増殖と組織形成に着目し、特にがんオルガノイドに関する解析を行う。がんオルガノイドは、患者由来のがん細胞を培養することで作成され、生体内の腫瘍に近い形態を再現できる特徴を持つ [1]。特に、腫瘍の管腔構造の異常ががんの進行に深く関与することが示唆されている [2]。

既存の力学モデルとして Vertex model などが用いられてきたが、多層構造やトポロジーの変化を再現するには複雑なアルゴリズムが必要であり、実装が困難である。一方で、フェーズフィールドモデルは連続体モデルとして柔軟なモデリングが可能であり、計算コストが大きくなるものの、より詳細な細胞組織の挙動を再現できる [3, 4]。

本研究の目的は、3次元のフェーズフィールドモデルを用いてがんオルガノイドを模倣した多細胞集合体の形態形成をシミュレーションし、管腔構造の形成を支配する物理学的・生理学的パラメータを明らかにすることである。さらに、実験データを数値シミュレーションに組み込む手法としてデータ同化を導入し、がんオルガノイドの実験観察データからモデルパラメータを推定する手法の確立を目指す。

3次元におけるがんオルガノイドのフェーズフィールドモデル

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、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。このような基本構造に対して、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。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、

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

ここで、第1項の被積分関数は勾配自由エネルギー密度およびダブルウェルポテンシャルを表す。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項は細胞間の接着による寄与であり、係数 η は細胞間の接着力である。最後に、第6項は界面が無限に拡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項の被積分関数は勾配自由エネルギー密度およびダブルウェルポテンシャル

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寄与であり係数 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 $\psi(\mathbf{r}, t) = \sum_m^{N_c} h(u_m(\mathbf{r}, t))$ 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。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。

結果

細胞周期 τ_d と内腔圧 ξ の関係を解析した結果、内腔形成に大きな影響を与えるパラメータが明らかとなった(図1a, b)。特に、内腔圧が低い場合には、細胞は凝集した構造を形成し、内腔は十分に発達しないことが確認された。一方で、内腔圧が一定値以上になると、細胞組織の中心部に明確な管腔が形成されるようになり、管腔構造が安定的に維持されることが示された。細胞周期が長くなると、細胞の成長と分裂が遅れ、内腔形成の進行が抑制される傾向がみられた。また、内腔圧が過度に高くなると、内腔が管腔構造の外側へと漏出することが確認された。

内腔占有率 (Lumen Occupancy, $\phi = \frac{V(s)}{V(s) + \sum_{m=1}^{N_c} V(u_m)}$) の時間変化を解析したところ、内腔圧が

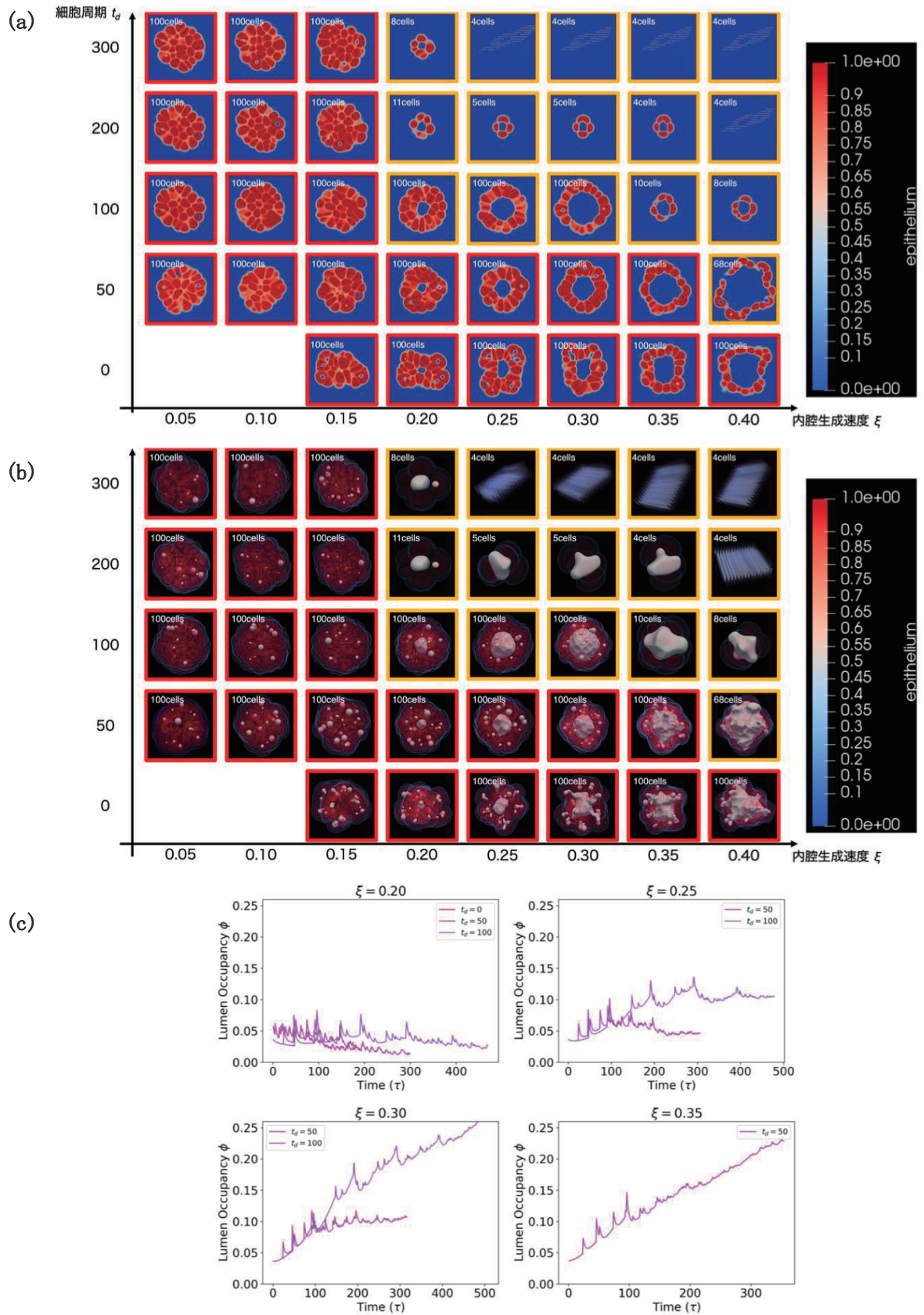


図1 3次元フェーズフィールドモデルで得られたオルガノイド形態の細胞周期 t_d と内腔圧 ξ に対する相図; (a) 断面, (b) 3次元投影; 細胞組織の秩序変数 u_m の値を右側面のカラーコードを用いて色分けして表示. 内腔の秩序変数を白色で表示, (c) 管腔構造を有する形態における Lumen Occupancy ϕ の時間変化

低い条件では細胞分裂のたびに一時的に内腔が拡張するものの、最終的には細胞の増殖により圧縮され、安定的な内腔が維持されないことがわかった（図1c）。一方、内腔圧が一定値以上の場合には、細胞分裂後の内腔の拡張が維持され、時間の経過とともに内腔の占有率が増加し、最終的に安定した値に収束する傾向が見られた。

データ同化によるがんオルガノイドの形態再現

方法

データ同化は、観測データを考慮しながらシミュレーションモデルのパラメータを最適化するための手法である。本研究では、まずモデルパラメータが確率変数であると仮定したうえでモデルパラメータの事前確率 $P(\mathbf{x})$ を定義し、統計的な仮説に基づいた初期値を設定する。次に、観測データとシミュレーション結果の誤差を確率分布として表現する尤度 $p(\mathbf{y}^{obs}|\mathbf{x})$ を導出し、データ同化によるパラメータ修正を可能とした。そして、シミュレーション結果が観測データと一致するようにパラメータを調整することで、事後分布 $p(\mathbf{x}|\mathbf{y}^{obs})$ を求めた。このプロセスを通じて、観測データを最大限活用しながら、モデルの精度を向上させることを目指した。

最尤推定法は、観測データとシミュレーション結果の誤差を最小化することで、最適なモデルパラメータを推定する手法である。本研究では、最尤推定法とアンサンブル変分法（EnVar）を組み合わせ、最適なパラメータ推定を行った [5, 6]。まず、データ同化のプロセスでは、以下のコスト関数 $J(\mathbf{x})$ を最小化することで、観測データに適合するパラメータ推定を行った。

$$J(\mathbf{x}) = \frac{1}{2}(\mathbf{x} - \mathbf{x}')^T \mathbf{B}^{-1'}(\mathbf{x} - \mathbf{x}') + \frac{1}{2}(\mathbf{H}\mathbf{M}(\mathbf{x}) - \mathbf{y}^{obs})^T \mathbf{R}^{-1}(\mathbf{H}\mathbf{M}(\mathbf{x}) - \mathbf{y}^{obs})$$

このコスト関数には、事前情報に基づく背景誤差と、観測データとシミュレーション結果の差異を示す観測誤差の二つの項が含まれる。アンサンブル変分法では、複数のパラメータセット（アンサンブルメンバー）を導入し、確率的な手法でパラメータ推定を行う。各アンサンブルメンバーは以下のように定義される、

$$\mathbf{x}_i = \bar{\mathbf{x}} + \mathbf{X}\boldsymbol{\omega}_i$$

ここで、 $\bar{\mathbf{x}}$ はアンサンブルメンバーの平均、 $\mathbf{X}$ は各メンバーの偏差行列、 $\boldsymbol{\omega}_i$ はメンバーごとの重みを示す。背景誤差共分散行列 $\mathbf{B}$ は以下のように近似される、

$$\mathbf{B} \approx \mathbf{X}^T \mathbf{X}$$

最適化の過程では、最急降下法を用いて重みベクトルを更新し、コスト関数を最小化する、

$$\boldsymbol{\omega}_{j+1} = \boldsymbol{\omega}_j - \alpha \nabla J(\boldsymbol{\omega}_j)$$

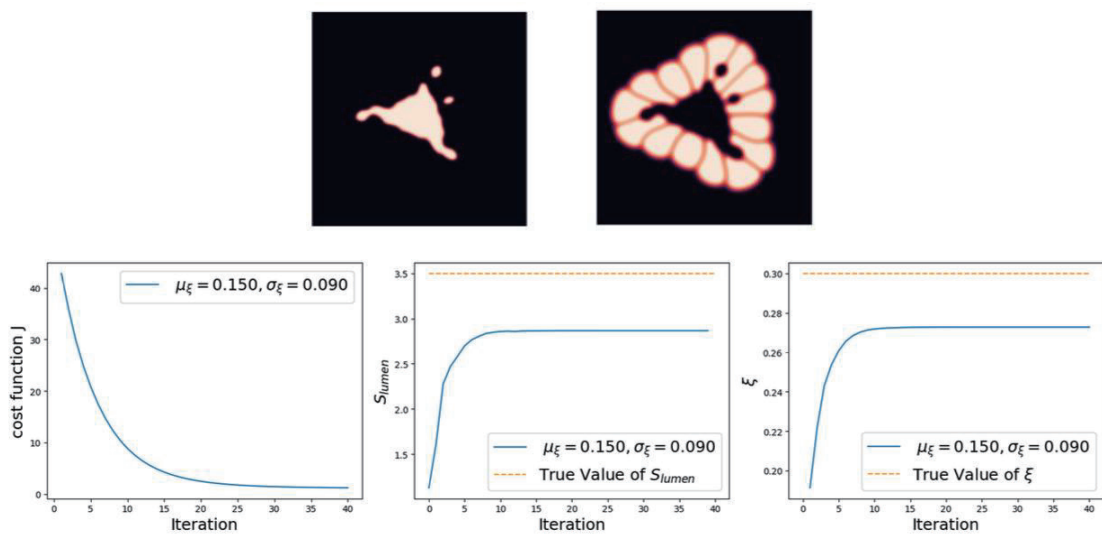
コスト関数の勾配は次式で表される。

$$\nabla J(\boldsymbol{\omega}) = \boldsymbol{\omega} + (\mathbf{H}\mathbf{M}\mathbf{X})^T \mathbf{R}^{-1}(\mathbf{H}\mathbf{M}(\bar{\mathbf{x}} + \mathbf{X}\boldsymbol{\omega}) - \mathbf{y}^{obs})$$

結果

本研究では、内腔圧の真値が既知である場合において、アンサンブル変分法を適用し、推定されたパラメータが適切な値に収束するかを検証した。その結果、推論された内腔圧の値は真値に対して誤差 10%の精度で収束しており、データ同化手法が適切に機能していることが確認された（図 2 a）。また、推定されたパラメータを用いたシミュレーションの最終的な内腔面積を観測データと比較したところ、誤差 20%の精度を示した。このアルゴリズムを 3 次元で検証したところ、推論値と真値との誤差は-17%の精度で収束することが確認できた（図 2 b）。

(a)



(b)

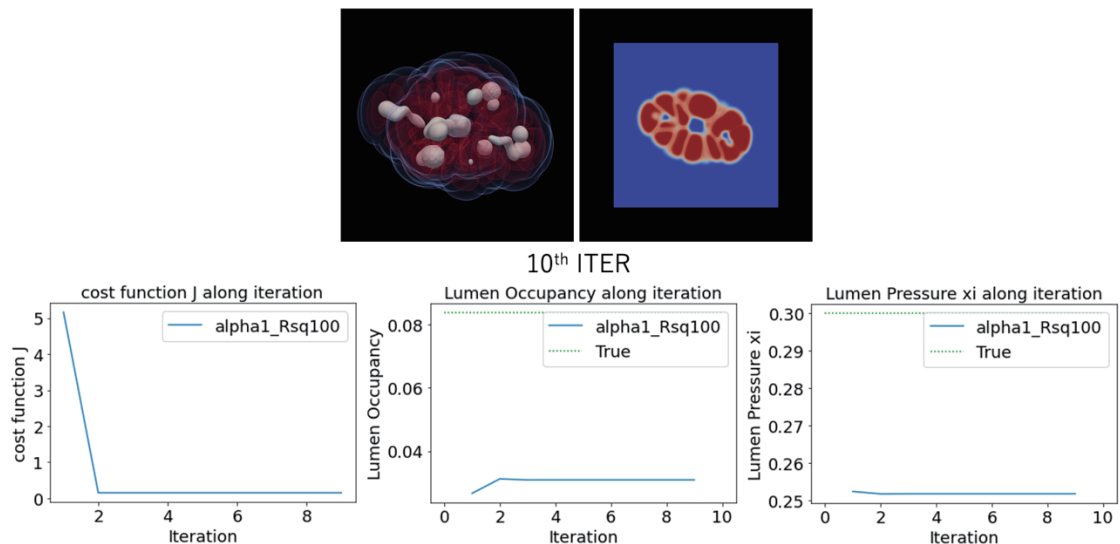


図2 データ同化におけるパラメーターの推移; (a) 2次元; (b) 3次元; (上段) データ同化で推論された内腔と細胞組織の秩序変数を色分けして表示; (下段) データ同化の計算ステップに対して、左から順に、コスト関数 $J(x)$ 、特徴量（内腔の面積，または内腔占有率）、モデルパラメータ（内腔圧 ξ ）を示す。

加えて、同化プロセスにおいてアンサンブル平均や標準偏差がデータ同化の収束性に依存することが明らかになった。実際に、これらのパラメータの初期値が真値から大きく乖離し、かつアンサンブルのばらつきが過度に大きい場合には、コスト関数の収束が遅くなる傾向が見られた。このことから、適切な初期値の設定およびアンサンブルの選択が、データ同化の成功に重要な要素であることが明らかになった。

結論

本研究では、多細胞集合体の3次元フェーズフィールドモデルを構築し、内腔圧力と細胞分裂周期の変化に伴う形態形成のシミュレーションを実施した。その結果、多細胞集合体における管腔構造の形成が、内腔圧および細胞周期により制御されることを明らかにした。また、特定の内腔圧を閾値として、凝集構造から管腔構造へと形態が転移する現象が確認された。

さらに、データ同化手法（アンサンブル変分法）を導入し、実験観察データを数値シミュレーションに適用する手法を構築した。本手法の推定精度は多少の誤差を示すものの、2次元および3次元のフェーズフィールドモデルにおいてデータ同化によるパラメータ推定が可能であることを示唆した。また、データ同化を収束させるためにアンサンブル平均や標準偏差を適切に設定することが重要であることが明らかになった。

本研究の成果は、がんオルガノイドの形態解析における数理モデルの適用可能性を示すものであり、今後のがん研究への応用展開が期待される。

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ました。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きました。改めてここで感謝いたします。

参考文献

- [1] Kopper, O. *et al.* An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity. *Nat. Med.* **25**, 838–849 (2019).
- [2] Fiore, V. F. *et al.* Mechanics of a multilayer epithelium instruct tumour architecture and function. *Nature* **585**, 433–439 (2020).
- [3] Nonomura, M. Study on multicellular systems using a phase field model. *PLoS One* **7**, e33501 (2012).
- [4] Akiyama, M., Nonomura, M., Tero, A. & Kobayashi, R. Numerical study on spindle positioning using phase field method. *Phys. Biol.* **16**, 016005 (2018).
- [5] Ishii, A., Yamanaka, A., Miyoshi, E., Okada, Y. & Yamamoto, A. Estimation of solid-state sintering and material parameters using phase-field modeling and ensemble four-dimensional variational method. *Modell. Simul. Mater. Sci. Eng.* **29**, 065012 (2021).
- [6] Sueki, S., Ishii, A., Coppieters, S. & Yamanaka, A. Inverse characterization of a material model using an ensemble-based four-dimensional variational method. *Int. J. Solids Struct.* **279**, 112350 (2023).