

研 究 報 告 書

「自己組織化としての皮膚バリア機能の数理解析」

研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：長山 雅晴

1. 研究のねらい

皮膚科学において病理学的研究や細胞レベルの研究は日々進歩しており、皮膚構成要素全体が持つ重要な機能であるバリア機能（保水機能と病原体等の侵入を防ぐ機能）に関する基礎的な研究も多く行われている。しかしながら、バリア機能の恒常性維持と早期回復に対する動的機構の研究はほとんどなされていないのが現状である。皮膚バリア機能は死んだ表皮細胞から構成される角質層が重要な役割を果たしている機能であり、バリア機能の形成過程においては「表皮細胞の分化、アポトーシス、角質層形成、細胞間脂質形成」を総合して考える必要がある。それ故に皮膚バリア機能動態を解明するためには皮膚を構成する細胞集団の振る舞いを明らかにしなければならず、実験による研究が困難となっていたからである。しかしながら、近年、皮膚のバリア機能に関する研究の中で

- (1) 角層が正常な場合、角層直下にカルシウムイオンの局在化がある。
- (2) 角層が破壊された場合、角層直下のカルシウムイオン局在が消失する。
- (3) 培養表皮細胞において空気暴露した部分から内部にカルシウムイオンの伝播現象がみられる。
- (4) アトピー性皮膚炎や老人性乾皮症などバリアに異常をきたす病気では表皮細胞内カルシウムイオンの濃度勾配が無い。

等の結果からカルシウムイオンの重要性がわかってきた。また、外的要因が皮膚バリア機能の回復に与える影響として

- (5) 空気暴露刺激の有無が角層の回復速度に依存する。
- (6) 空気暴露刺激を受けるとその深部にある基底細胞の分裂が促進する。
- (7) 角層破壊後に皮膚表面を正に帯電するとバリア機能の回復が遅れる。
- (8) 角層破壊後に皮膚表面を負に帯電するとバリア機能の回復が促進される。

が報告された。この実験結果からバリアの早期回復は電気仕掛けであることが予想される。これらの結果を総合すると、バリア機能の一部である「角層の形成・恒常性維持機能」と「角層破壊からの早期回復機構」は、カルシウムイオンによる情報伝達によって形成される自己組織化現象として考えることができる。そこで数理モデルを構成することによって、実験グループとの協働により数理科学的視点からカルシウムイオンの局在化とその伝播が角層の恒常性維持機構と角層破壊からの早期回復機構の本質的であることを明らかにする。また将来、本研究によりアトピー性皮膚炎、乾癬、老人性乾皮症等の皮膚バリア機能破壊が見られる皮膚疾患に対して、バリア機構破壊の要因を数理モデルの解析から明らかにすることができる可能性を与えることも目指す。

2. 研究成果

角層形成の数理モデル化をおこなうために次の3段階に分けて研究を遂行した。

(1) 細胞間カルシウムイオン伝播モデルの構成と局在化の再現

表皮細胞間カルシウムイオンの伝播を記述する数理モデルを構成するために、最初に、機械刺激によるカルシウムイオン伝播実験の数理モデルを構成した(図1)。この数理モデルは、既存モデルである1貯蔵庫モデルを基盤にして、表皮細胞のカルシウムイオン興奮によるATP放出現象を取り入れている。この数理モデルは機械刺激実験に現れるカルシウムイオン伝播を定性的に再現することが数値計算によってわかった。機械刺激実験とそれに対応する数値実験により、カルシウムイオン伝播は、細胞外からのATP刺激とGap-Junctionを通じたIP₃の拡散によって起こることがわかった。

数理モデル(図1)だけは自己組織的な局在解を形成しないことがわかり、皮膚構造に見られるカルシウムイオン局在は再現できない。従って、境界条件の影響によって局在化するのではないかと予測される。強すぎる機械刺激によって死亡した表皮細胞の周囲の細胞がカルシウムイオン興奮し続ける現象の考察から、数理モデル(図1)と細胞死に伴う細胞刺激物質の放出を仮定した数理モデルを構成し、3次元皮膚構造(図2)におけるカルシウムイオンの局在化の再現に成功した(図3)。この結果から、実際に皮膚においても表皮細胞が角質化する時点で何らかの刺激物質の放出が行われている可能性がある。しかし、現時点ではその存在は未確認のみである。

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = d_A \Delta A - K_A A + \sum_{i=1}^N I(c_i), \\ \frac{dP_i}{dt} = \sum_{j \in \Lambda_i} w_{ij}(t) d_P (P_j - P_i) + \frac{K_{PA} A(t, \mathbf{x}_i)}{H_0 + A(t, \mathbf{x}_i)} - K_P P_i, \\ \frac{dc_i}{dt} = \sum_{j \in \Lambda_i} w_{ij}(t) d_c (c_j - c_i) + f_c(P_i, c_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{dt} = \frac{1}{\tau_h} f_h(c_i, h_i). \end{cases}$$

図1：細胞間カルシウムイオン伝播の数理モデル

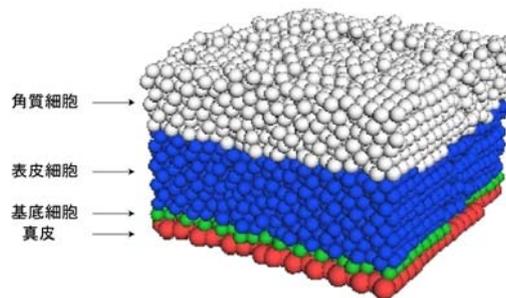


図2：数値計算のための3次元皮膚構造

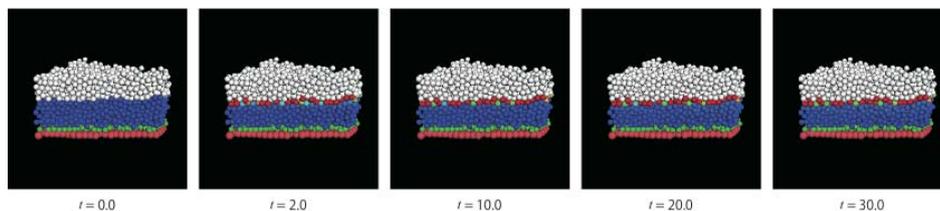


図3：角層直下でのカルシウムイオン局在の再現。

数理モデル(図1)に対して3次元構造皮膚において角層破壊時のカルシウムイオンの挙動について数値計算を行った。空気暴露実験において暴露した細胞からATPを放出することが知られており、その結果を用いて、角層破壊された表皮細胞部分に空気暴露があると仮定し、空気に触れている表皮細胞からATPが放出される条件下で数値計算を行った。その結果、表皮細胞の深部へとカルシウムイオンの伝播現象が見られた(図4)。この結果から、生体表皮細胞においても空気暴露部分からカルシウムイオン伝播が起こっているのではないかと考えられる。

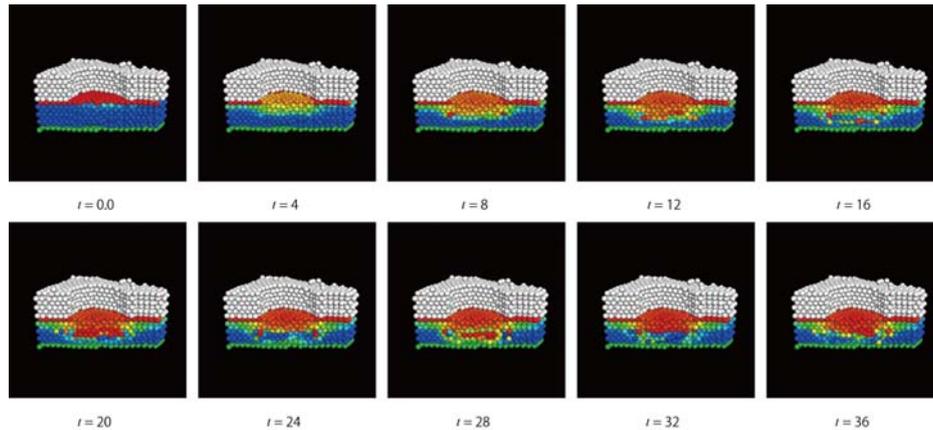


図4:角層破壊時におけるカルシウムイオン伝播現象の数値計算結果.

(2)細胞ダイナミクスモデルの構成

角層回復機構の数値計算を行うためには、細胞ダイナミクスに関して基底層における細胞分裂、有棘層から角質層にかけての細胞分化、細胞運動、細胞成長の数理モデルを構成する必要がある。本研究では分裂や分化に対する詳細なモデルを考えるのではなく、カルシウムイオン濃度に依存して分裂時間や分化速度が変化するという単純なモデルを考えた。

(2-1)細胞分化のモデル化

細胞分化を表現するために状態変数 $S_k(t)$ を導入し、この状態変数の値によって細胞の分化を表現することにした。

(2-2)細胞分裂のモデル化

細胞分裂に関して多くの実験によって詳しく研究されているが、ここでは分裂期だけを表現することにした。細胞分化と同様に細胞分裂の状態変数を導入することによって分裂期を表現した。また、細胞分裂時の分裂方向は、細胞間にかかる力(排除体積効果から計算)を計算することによって最も力のかからない方向に分裂すると仮定した。基底層における細胞の種類として、幹細胞(分裂し続ける細胞)、娘幹細胞(3回分裂可能)、分裂不可能な細胞を用意した。

(2-3)細胞運動のモデル化

細胞の移動を表現する数理モデルとして、レナード・ジョーンズ型ポテンシャルを用いた排除体積効果をもった運動方程式を導入した。この系では細胞運動が受動的な動きしかしないが、3次元皮膚構造を再現するだけなら問題ないと判断した。

(2-4)細胞成長のモデル化

細胞の大きさを定義するため、細胞成長を記述する常微分方程式を導入した。ここでは、細胞はある大きさ以上は成長しないと仮定した。

(3)統合モデルの構成と数値シミュレーション

培養細胞の実験結果から、細胞の分化が進むことによって未分化細胞と分化細胞によって

Gap-Junction 発現率や細胞外 ATP の感受性が異なることから、細胞間カルシウムイオン伝播モデルに対して分化による細胞の性質の違いを考慮した分化機能つきカルシウムイオン伝播モデル(図5)を構築した。この数理モデルと2)で構成した細分ダイナミクスを結合した統合モデルを考える。カルシウムイオン伝播

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = d_A \Delta A - K_A + \sum_{i=1}^N I(c_i) \\ \frac{dP_i}{dt} = \sum_{j \in \Lambda_i} d_p(S_k, i; i, j, L)(P_j - P_i) + \frac{K_{PA}(S_k)A^{m_A}}{H_0 + A^{m_A}} - K_P P_i, \\ \frac{dc_i}{dt} = \sum_{j \in \Lambda_i} d_c(S_k, i; i, j, L)(c_j - c_i) + f_c(P_i, c_i, h_i), \\ \frac{dh_i}{dt} = \frac{1}{\tau(S_k)} f_h(c_i, h_i) \end{cases}$$

図5:分化機能を有した細胞間カルシウムイオン伝播の数理モデル.

現象と細胞ダイナミクスは観測する時間スケールが異なる。そこで時間平均化法を導入して数値計算を行った。

(3-1)カルシウムイオン局在化の再現

細胞ダイナミクスを伴っていても(図3)のように角層直下のカルシウムイオン局在を再現することが可能であるか数値計算を行った。その結果、細胞ダイナミクスを伴った場合においてもカルシウムイオン局在化を再現することがわかった(図6)。

(3-2)角層破壊における早期回復機構の再現

空気暴露の有無が角層破壊における回復に与える実験を定性的に再現することができるか数値計算によって調べた。まず、空気暴露条件下での角層の回復現象を再現することができるか調べた結果、構成した数理モデルにおいて角層の回復現象を再現することができた(図7)。また、空気暴露がなくても角層が回復することも数値計算からわかった。次に空気暴露の有無が回復速度に影響するか調べた。その結果、空気暴露がある場合の角層回復時間は空気暴露がない場合と比較して約2倍速く回復することがわかった(図8)。これにより、我々が構成した数理モデルは、空気暴露が角層回復時間を早めることができるという実験結果を定性的に再現していることがわかった。

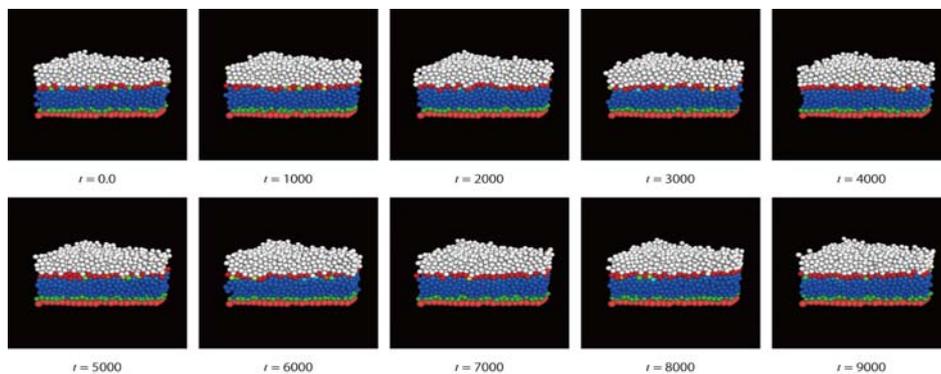


図6：細胞ダイナミクスを伴った角層直下におけるカルシウムイオン局在化現象の再現。

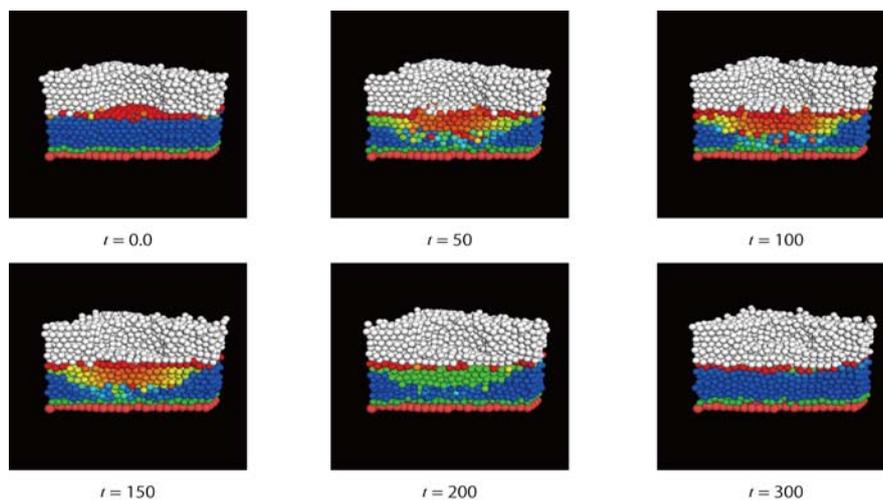


図7：角層破壊からの回復現象の数値計算(空気暴露あり)。

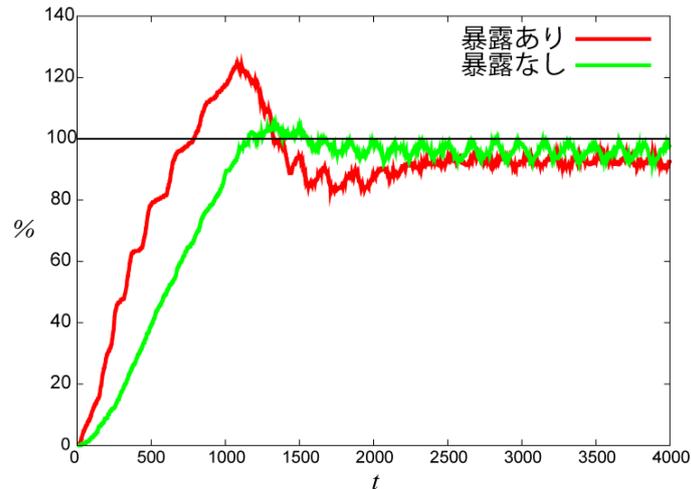


図8：角層回復率の時間変化，角層破壊部分での破壊前の角質化細胞数に対する新たに角質化細胞となった細胞数の比，100%になった時点で角層が回復したとみなす。

(3-3)異常分裂，異常分化の数値計算

基底層ある一つの幹細胞が異常(分裂速度が速く，その細胞から分化する細胞の分化速度も速い)であると仮定した数値計算を行った。その結果，皮膚疾患の一つである「鶏眼(うおのめ)」に似た現象を再現することができた(図9)。この結果から，細胞内部での生化学反応等を省略した比較的簡単な数理モデルにおいても皮膚疾患機構を解明する手がかりになる可能性を示唆することができた。



図9：鶏眼形成の数値計算，角質化細胞が表皮細胞中に徐々に潜り込む時系列。

3. 今後の展開

本研究に対しては次の3つの方面から研究を遂行していく。

(1) 数理モデル化における仮定や数値実験から予想される現象に対する実験

本研究で構成した数理モデルの正当化を行うためには，カルシウムイオン局在を再現するために仮定した「角質化時に何らかの刺激物質の放出」や数値計算結果から得られた「空気暴露時に見られるカルシウムイオン伝播現象」の予測に対して，実験グループとともにこれらの事実の可否を実験によって示す必要がある。今後は実験グループと一緒に数理モデルと実験の間にあるギャップを埋めていく研究を展開していく。

(2) 細胞間脂質形成のモデル化

本来のバリア機能には角層形成のほかに角質間脂質生成とその形成が必要である。今回の研究では角層形成に的を絞って数理モデル化を行ってきたが，今後は脂質生成と形成に対する数理モデルも構築し，最終的なバリア機能形成に対する数理モデルを構成していく。

(3) 角層形成の数理解析

数理モデルによって構成した3次元皮膚構造での角層形成に対する数学的描像を与える。そのためには，これまでの研究成果は定義されていない言葉を多く使っており，それらの言葉に数

学的な定義を与えることが必要である。現時点で明らかなのは、3次元皮膚構造が安定であるという意味を数学として定義していないことである。図6のような構造が維持されるということは「図6の構造が安定である」と言いたいが、その定義を与えられていないので評価することができない。皮膚科学に必要な数学的定義を与え、数理的視点から角層形成がなされる機構を理解していく。これによってバリア機能が低下している皮膚疾患に対する数理解析を与え、皮膚疾患機構に対する数理解析を行っていく。

4. 自己評価

この研究では、傳田光洋氏(資生堂)の研究グループからの全面的な協力を得て、実験事実とそこから予測される現象を仮定し、その仮定に基づいて数理モデルを構成した。その数理モデルから角層形成の再現には成功した。しかし、角層直下のカルシウムイオン局在を再現する数理モデルの構成に時間を要したこともあり、本来この研究期間に展開する予定であった数理的視点からの角層形成機構の理解まで研究を進めることができなかった。現時点では現象の再現はできたが、計算結果に対する他方面から評価が全くできていない。今後の展開にも記したが、実験グループとともに実験からの検証を行うことや数理学からのバリア機構の理解を進めていく必要性を強く感じている。また、本研究成果に対する論文出版をなす事がほとんどできなかったことは大きく反省する点である。

5. 研究総括の見解

(1)細胞間カルシウムイオン伝播モデルの構成と局在化の再現、(2)細胞ダイナミクスモデルの構成、(3)統合モデルの構成と数値シミュレーション、により角層形成の数理モデル化を行なった。数理モデル化と実験グループとの協働により、数理科学的視点からカルシウムイオンの局在化とその伝播が角層の恒常性維持機構と角層破壊からの早期回復機構の本質的であることが明らかにされた。皮膚科学への数理からの貢献の第一歩として期待される。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1.	M.Tsutsumi, H.Kitahata, S.Nakata, Y.Sanno, M.Nagayama and M.Denda, "Mathematical analysis of intercellular calcium propagation induced by adenosine triphosphate", <i>Skin Research and Technology</i> , 16(2010) 146-150.
2.	M.Yadome, K.-I.Ueda, T.Teramoto, M.Nagayama and Y.Nishiura, "Periodic transition sequences of scattering patterns in a three-component reaction-diffusion system", <i>Bulletin of the Institute of Mathematics, Academia Sinica New Series</i> , 3(4)(2008) 585-602.
3.	M.Nagayama, M.Yadome, N.Kato, J.Kirisaka, M.Murakami and S.Nakata, "Bifurcation of self-motion depending on the reaction order", <i>Physical Chemistry Chemical Physics</i> , 11(2009) 1085-1090.
4.	H.Kitahata, J.Taguchi, M.Nagayama, T.Sakurai, Y.Ikura, A.Osa, Y.Sumino, M.Tanaka, E.Yokoyama and H.Miike, "Oscillation and synchronization in combustion of candles: Radiation coupling could induce synchronization of oscillatory combustion", <i>Journal of Physical Chemistry (A)</i> , 113(29) (2009) 8164-8168.
5.	M.Nagayama, K.-I.Ueda and M.Yadome, "Numerical approach for transient dynamics of periodic pulse solutions in a bistable reaction-diffusion system", <i>Japan Journal of Industrial and Applied Mathematics</i> , 27(2) (2010) 295-322.

(2)特許出願

研究期間累積件数: 1件

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

学会発表

- 1)角層形成の数理モデル, 日本応用数理学会, 明治大学, 2010年9月8日
- 2)表皮細胞間カルシウムイオン伝播の数理モデル, 定量生物の会, 大阪大学, 2010年1月11日(招待講演)

受賞:なし

著作物

- 1)長山雅晴, 角層形成の数理モデル, 数学セミナー7月号, 2010, p14-18.
- 2)長山雅晴, 参納由実, 傳田光洋, 堤も絵, 新妻真紀子, 中田聡, 北畑裕之, 機械刺激による表皮細胞間カルシウムイオン伝播の数理モデルについて, p206-211, 数理解析研究所講究録 1662.