

免疫細胞の運動動態解析のためのコンピュータシミュレーション

柿添, 友輔
九州大学システム生命学府

岩見, 真吾
九州大学大学院理学研究院生物科学部門

<https://hdl.handle.net/2324/1522097>

出版情報 : MI lecture note series. 60, pp.90-93, 2014-11-28. 九州大学マス・フォア・インダストリ
研究所
バージョン :
権利関係 :

免疫細胞の運動動態解析のためのコンピュータシミュレーション Individual Based Simulations for Dynamic Behavior of Immune Cells In Vivo.

九州大学システム生命科学府

柿添友輔 (Yusuke Kakizoe)

九州大学大学院理学研究院生物科学部門

岩見真吾 (Shingo Iwami)

概要

近代免疫学で盛んに行われている研究手法の一つに、多光子顕微鏡を用いた解析が挙げられる。多光子顕微鏡を用いることにより従来の顕微鏡では不可能であった、生体内を非侵襲のまま観察かつ三次元空間+時間の4次元データを取得することができる。しかし、4次元データの持つ意味は複雑であり生のデータを直感的に解釈することは容易ではない。本研究では個体ベースモデルによるリンパ節内の免疫細胞運動のコンピュータシミュレーションを開発し、4次元データを再現する。さらに開発したシミュレーションから速度・方向性などの運動統計量を推定し、免疫細胞の運動動態を解析する。

Abstract

Recently, two-photon microscopy (2pm) has been widely used in immunology and the 2pm analysis enables us directly to observe the dynamic behavior of cells *in vivo*. However, time-lapse imaging experiments are complicated to carry out, and the tracking of cell movement from the resulting videos is a laborious and error-prone process. To analyze these data correctly, we are trying to establish individual based simulation to mimic the cell behavior.

1. 序論

適応免疫は樹状細胞が T 細胞に抗原ペプチドを提示することにより誘導される。このような免疫細胞間の相互作用は主にリンパ節や脾臓などの二次リンパ組織と呼ばれる場所で行われる。従って、適応免疫の誘導を理解するためには、これら3次元的な構造を持つ二次リンパ組織内で行われる免疫細胞の運動動態を解析する事が重要である。しかしながら、リンパ組織における免疫細胞の運動は、細胞同士の相互作用も組み合わさっている事よりその動態を知ることは難しい。事実、適当な時刻に適当な場所に移動し、適当な相互作用を行わなければならない免疫細胞の運

動（細胞動態ネットワーク）は、極めて巧妙に制御されていて複雑である。しかし、生体内でのこのような免疫細胞の運動が、どのような仕組みにより制御され、正常な動きを行えているのかは不明な点が多い。その為近年の免疫学研究では多光子顕微鏡を用いて、このような複雑な免疫細胞の動態を捉えようとする研究が盛んになりつつある。多光子顕微鏡を用いることで、従来まで困難であった非侵襲のまま生体内を観察する事が可能になり、3次元（x-y-z 方向）+時間の4次元データを取得する事が可能となった。一方で、これらの4次元データから細胞運動動態を客観的に評価（定量化）することは容易ではない。昨今ではコンピュータシミュレーションを用いて4次元データを解析・定量化しようとする研究が行われ始めた([1],[2])。しかし、シミュレーションを通して4次元データを解析する研究は少数であり、こうした手法を用いた研究が強く期待されている。そうした現状から私達は、多光子顕微鏡より得られる4次元データ解析のためのコンピュータシミュレーションを開発し、リンパ組織内の免疫細胞の運動動態を定量化しようと試みた。

2. 本論

(1)多光子顕微鏡によるヒト化マウスリンパ組織内の細胞運動動態の観察

京都大学ウイルス研究所の佐藤佳助教らと共同で、免疫不全マウス (NOG マウス) にヒト造血幹細胞を移植した「ヒト化マウス」のリンパ組織内 CD4T 細胞の運動を二光子顕微鏡により可視化している。具体的には、GFP（緑色蛍光タンパク質）でラベルした CD4T 細胞をヒト化マウス尾静脈より移入し、移入後 24 時間のリンパ組織中における CD4T 細胞（赤色および緑色）の運動を二光子顕微鏡により 4次元実験データとして取得している。

(2)リンパ組織内免疫細胞運動のコンピュータシミュレーション開発

まず、4次元データ解析のため、一つ一つの免疫細胞の運動を独立して計算する個体ベースモデル (IBM) を用いて、免疫細胞の運動をシミュレーションする。リンパ節内には免疫細胞が移動する足場となる繊維芽細胞が編目状に存在している事より、シミュレーションでは免疫細胞がランダムなファイバー上を移動するように設定する。ここでは、特に、CD4T 細胞及び樹状細胞の運動を考えて行く。リンパ組織内には様々な免疫細胞が存在するが、単純化のため適応免疫誘導において最も重要と考えられる CD4T 細胞と樹状細胞の相互作用にのみ焦点を当てる。また、シミュレーションの全過程で免疫細胞の流入と流出は考えない事にする。CD4T 細胞及び樹状細胞の運動は、運動の指向性や寿命の分布、速度分布などで特徴づけられる

と考える。シミュレーションでは(1)の実験データと同様に移入後24時間の免疫細胞の運動を計算する。そして、シミュレーションから各細胞の走査速度や自由行程、活性化時間等を定量する。

図1は、試作段階のシミュレーターによる細胞運動を表している。本シミュ

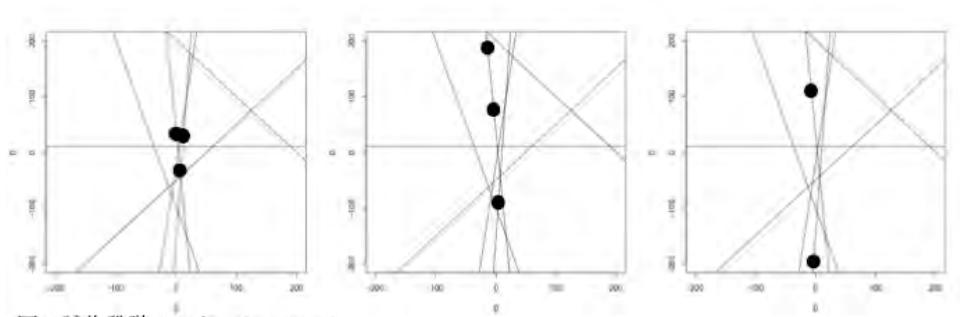


図1 試作段階のシミュレーション

レーションでは、足場（直線上）を免疫細胞が慣性をもったランダムウォーク、即ち、一度ある方向に動き始めればその方向に暫くの間動き続けると仮定している。また、現段階では1種の免疫細胞（CD4T細胞）のみしか想定されていないため、各細胞の相互作用を含んでいない。今後は、シミュレーションに多種の免疫細胞を採用し、各々の細胞間での相互作用を計算する個体ベースシミュレーション（IBM）を開発して行く。

(3) 生体組織内部の細胞運動の定量化

画像解析ソフト Imaris を用いて可視化した細胞運動を4次元データにする。そして、細胞運動を定量的に扱うための運動統計量（細胞運動の速度・指向性・寿命など）を計算して行く。例えば、免疫細胞の平均二乗変異量を計算すれば、細胞運動がランダムであるか又は方向性を持っているのかを明らかにすることができる。加えて、(2)で開発したシミュレーションから同様

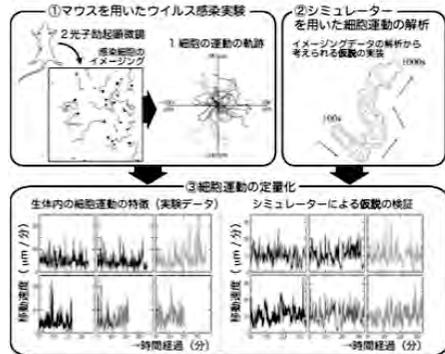


図2 生体内イメージングデータとシミュレーションによる解析

に定量化した運動統計量と比較(図2)して、ヒト化マウスのリンパ節内におけるCD4T細胞の運動動態を明らかにする。シミュレーションでは、細胞運動のルール（細胞の寿命分布や速度分布など）を自由に変えられるという利点を用いて、種々の仮

説の妥当性を確認することができる。これらの融合的な方法により、免疫細胞の接触頻度や僅かな運動の方向性の差異等、実験データのみでは知りうることのできない知見を得る事ができる。

(4)今後の展望

今後は、二光子顕微鏡を用いて HIV-1 感染ヒト化マウスのリンパ節における、未感染 CD4T 細胞と HIV-1 感染 CD4T 細胞の運動動態を観測・定量し、それらの質的な違いを明らかにする研究を展開する。特に、実験データから取得した運動統計量を基に HIV-1 感染 CD4T 細胞を考慮したシミュレーションを開発し、cell-to-cell 感染を含む細胞の接触到焦点を当てた解析を行っていく。生体内における cell-to-cell 感染の実態が明らかになれば新たな抗 HIV-1 治療の開発にもつながっていく。

3. 結論

本稿では、二光子顕微鏡を用いた観察により生体内リンパ節における免疫細胞の 4 次元データの取得が可能となり、その解析にはコンピュータシミュレーションが有用であることを説明した。また、試作段階のシミュレーターによる細胞運動の動態を紹介した。本研究から得られる免疫細胞のリンパ組織における運動動態に関する知見は、抗ウイルス薬やワクチンの開発に応用でき、本研究の生物学・医学的意義は計り知れない。

4. 参考文献

1. Gong C, Mattila JT, Miller M, Flynn JL, Linderman JJ, Kirschner, DE. “Predicting lymph node output efficiency through systems biology.” *J. Theor. Biol.* 335: 69-184, 2013.
2. Beltman J.B., Marée A.F., Lynch J.N., Miller M.J. & De Boer R.J. “Lymph node topology dictates T cell migration behavior.” *J. Exp. Med.* 204: 771-780, 2007