

修士学位論文要約（令和4年3月）

# 概日リズム制御下における大腸腫瘍発達のコンピュータシミュレーション

一戸 陸玖

指導教員：中尾 光之

## Computer simulation of colorectal tumor development under the influence of circadian rhythm

Riku ICHINOHE

Supervisor: Mitsuyuki NAKAO

It is known that prevalence of colorectal cancer increases in work schedules that do not follow the circadian rhythm such as night-shift-workers. In this study, we modeled the formation and maintenance mechanism of colonic epithelial tissue that repeats reorganization under the control of the central and peripheral circadian rhythm mechanisms. Based on this, we simulated the dynamics of tumor development by changing intensity of peripheral clock mechanism. Based on the results, we evaluated the carcinogenic risk and linked it to proposals for lower-risk lifestyle.

### 1. はじめに

我が国では、大腸癌は最も罹患者の多い癌であることで知られており、死亡者数も男女合計で2位である。2018年の人口動態統計では、50,654人が大腸癌で亡くなっていることから、その予防策が求められている[1]。また、大腸癌は夜間勤務者や交代勤務者等の、概日リズムにそぐわない就労スケジュールにおいて罹率が高まることも知られている[2]。

そこで、本研究では中枢および末梢に存在する概日リズム機構に焦点を当て、再編成を繰り返す大腸上皮組織の形成・維持機構をモデル化する。それに基づいて、シフトワーク、特に夜間勤務を想定した概日リズムの乱れによる癌組織の発生・発達メカニズムについて考察し、その予防法の提案を行うことを目標とする。

### 2. 大腸上皮組織の生物学的特性

大腸上皮には、試験管様の構造を持つ窪みが存在し、これを陰窩と呼ぶ。陰窩の底部には幹細胞およびパネート細胞が存在する幹細胞領域があり、その上部には多数の前駆細胞が存在する前駆細胞領域がある。更にその上部には吸収細胞や杯細胞が存在する分化細胞領域がある[3]。

大腸上皮組織において、特に重要であると考えられる分子シグナルとして Wnt, Bmp, Notch, Hh がある。これらはいずれも CLOCK/BMAL1 の下流に存在する分子シグナルであり、シグナル量に概日リズムが見られる。これらの分子シグナル量は陰窩底部からの距離が離れるほど減少する[4]。

大腸上皮細胞は、これらの分子シグナルの影響を受けて分化を行いながら、細胞の分裂圧により陰窩

上部へ向かって遊走する[4]。

大腸上皮組織の細胞は G1-G0 期, S 期, G2 期, M 期の4つのフェーズからなる細胞分裂フェーズを持ち、細胞周期伸縮量の大部分を G0-G1 期が占めている。そのため、大腸上皮細胞の細胞周期は G1-S 遷移を制御するチェックポイント遺伝子によって制御されていると考えられる[5]。

大腸上皮癌は APC, K-RAS, TP53 の順で遺伝子変異が生じることで深刻化していくというプロセスが提案されている[6]。

### 3. 大腸上皮組織のモデル化

シミュレーション空間として、六角形格子のシートを20層積み重ねたモデルを用いた。1層に対応するシート的一端には、陰窩の先端部の窄みを表現するために三角形領域が付加されている。

細胞周期は確率オートマトンモデルを用いてモデル化した。前駆細胞の自然細胞周期は12h、それ以外の細胞周期は24hとし、各フェーズの持続時間は正規分布に従って確率的に決定されるものとした。G1期の終了時には、一定以上の $\beta$ -カテニンが核内に蓄積している場合のみG1-S遷移が行われるものとした。

Bmal1のmRNA発現量と各分子シグナル量は近似式を用いてモデル化し、核内 $\beta$ -カテニン蓄積量はWnt, Bmp, Hhシグナル量の線形和で表現できると仮定した。各細胞は一定の閾値以上の分子シグナルを受けている場合、G1期のみ分化を行うものとした。

細胞分裂が行われた場合、自身より陰窩上部方向に存在する細胞を1細胞空間分押し出すようにア

ルゴリズムを設計し、これに従って細胞遊走を行うようにモデル化した。

#### 4. シミュレーション条件

概日リズム異常時として夜間勤務を想定し、Bmallの mRNA 発現量を概日リズム正常時の半分となるように設定した。幹細胞 1 つが陰窩底部に存在する状態を初期値とし、遺伝子変異発生率を 0 とした状態で概日リズム正常時では 30 日、概日リズム異常時は 45 日の陰窩発達シミュレーションを行う。その後遺伝子発生率を  $2.5 \times 10^{-3}$  に変更し、それぞれ 30 日の腫瘍発達シミュレーションを行う。このシミュレーションを概日リズム正常時・異常時でそれぞれ 100 回行った。

#### 5. 腫瘍発生のプロセスに関する結果と考察

腫瘍発生時には、始めに APC 変異細胞が発生し、この細胞に重ねて K-RAS 変異が発生した場合に腫瘍へ発達するという様子が観察された。また、TP53 変異細胞はシミュレーション中で大幅な増加は見られなかったが、TP53 正常細胞が徐々に減少し、TP53 変異細胞が増加する様子が観察された。

上記の現象が発生する理由は、大腸陰窩における腫瘍が次のような過程で発生するためであると考えられる。

1. APC 変異によって細胞間接着が弱まり、1 層上のシートに分裂できるようになる。K-RAS 変異および TP53 変異のみが発生した場合、正常細胞の分裂により、陰窩上部へ遊走し剥落する。
2. 間質細胞からの距離が離れることで Egf シグナルを受けられず、細胞分裂が停止する。
3. K-RAS 変異によって、Egf シグナル非存在下でも細胞分裂を行うようになる。
4. 腫瘍内の TP53 変異細胞は死亡率が低下しているため、TP53 正常細胞と入れ替わる。

#### 6. 腫瘍発生率の概日リズム依存性に関する結果と考察

概日リズム正常時の腫瘍発生率は 21.0%、概日リズム異常時の腫瘍発生率は 11.0%だった。すなわち、概日リズムの減衰は腫瘍発生率の上昇に繋がった。

概日リズム正常時の陰窩の代謝回転周期は  $5.6 \pm 0.2$ (SD)日であった。これは細胞の代謝回転周期が 5.0-5.9 日であるという先行研究結果に矛盾しない[7]。一方で、概日リズム異常時の代謝回転周期は  $15.8 \pm 0.5$ (SD)日であった。

概日リズム正常時は正常前駆細胞の分裂周期が約 12h の細胞と約 24h の細胞が存在したのに対し、概日リズム異常時はほぼ全ての細胞が約 24 時間の分裂周期を持っていた。また、概日リズム正常時に比べ、概日リズム異常時では細胞分裂の頻

度が低下した。

正常前駆細胞の分裂周期伸長の原因は、概日リズム減衰によって核内  $\beta$ -カテニン蓄積量が低下したことである。概日リズム正常時において、核内  $\beta$ -カテニン蓄積量が G1-S 遷移の閾値を超えている期間は 12 時間以上であったため、G1-S 遷移が起きた後、次の遷移タイミングでも G1-S 期遷移が行われる。一方で、概日リズム以上時においては、G1-S 遷移の閾値を超えている期間が 12 時間未満であったため、G1-S 遷移が起きた後、次の遷移タイミングでは遷移が行われず、細胞周期が G1 期で停止する。よって、概日リズム正常時においては概日リズムと分裂リズムの引き込み比が 1:2 になるのに対し、概日リズム異常時には 1:1 となる。

腫瘍発生率の上昇の原因は、この引き込み比の変化である。概日リズム異常時において、正常な前駆細胞は分裂頻度が低下する。一方で、APC 変異前駆細胞は APC 変異の影響により核内  $\beta$ -カテニンが分解されないため、常に G1-S 遷移を行うだけの  $\beta$ -カテニンが核内に蓄積する。そのため概日リズムの影響を受けず、高い分裂頻度を保つ。そのため、概日リズム異常時において正常前駆細胞が 1 回分裂及び遊走を行う期間で APC 変異前駆細胞が分裂を行う回数は 1 回から 2 回に増加する。結果、APC 変異前駆細胞が生涯で分裂する回数が増加するため、腫瘍発生率の上昇を引き起こす。

#### 6. まとめ

以上より、概日リズムの減衰は大腸陰窩腫瘍発生率の上昇を引き起こすことが示唆される。本研究では概日リズム機構を始め、様々な要素を網羅したシミュレーションを行うことができた。一方で、それを構成するサブシステムは単純化された記述に留まった。今後、より生物学的な実態に即したシミュレーションを行うためには、モデル化を生物学に忠実なメカニズムに沿って行う必要がある。

#### 文献

- 1) 2018 年人口動態統計, 厚生労働省大臣官房統計, (2018).
- 2) IARC, List of classifications agents classified by the iarc monographs, 98(2022), 124.
- 3) Paulina Strzycz, Aug, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 20(2019), pp.572.
- 4) Bertrand et al., December, Cell Cycle, 11(2012), 4344-4351.
- 5) Toru Matsu-Ura et al., Nov, Mol Cell, 64(2016), pp. 900-912.
- 6) Armaghany et al., Jan, Gastrointest Cancer Res. 5(2012), pp.19-27.
- 7) Liisa Arike et al., Jan, Cell Report, 30(2020), pp.1077-1087.