

# 反応拡散系の数値計算と その発生生物学への応用

三浦 岳

京都大学大学院医学研究科

生体構造医学講座 形態形成機構学教室

# 応用範囲

- 1変数：morphogen gradient
- 2変数：自発的パターン形成
- 多変数：ネットワークダイナミクス（の複雑なやつ）

# Morphogen gradient

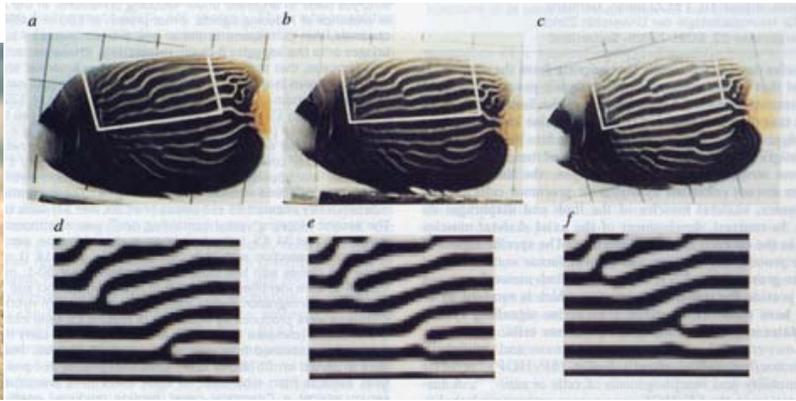


SHH in chick neural tube



FGF8 in mouse limb bud

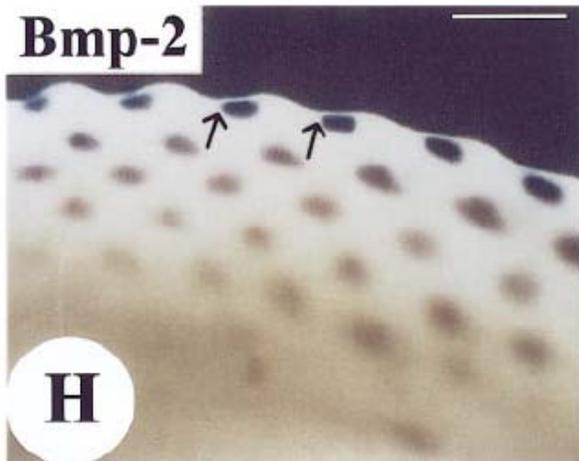
# 自発的パターン形成



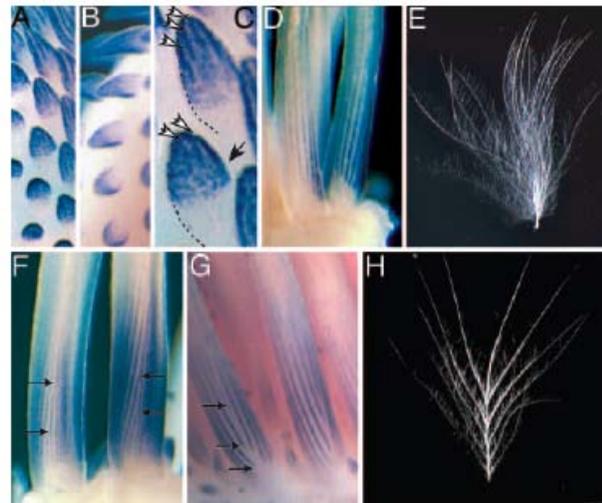
Nature 376: 765-768 (1995)



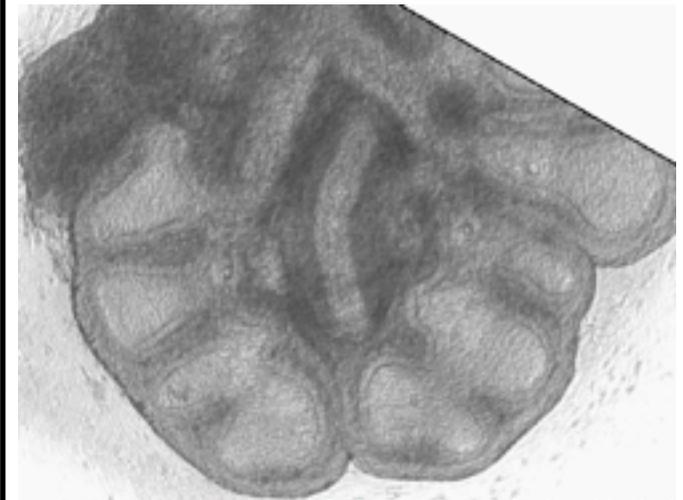
Dev Dyn 217: 241- (2000)



Dev Biol 196: 11-23 (1998)



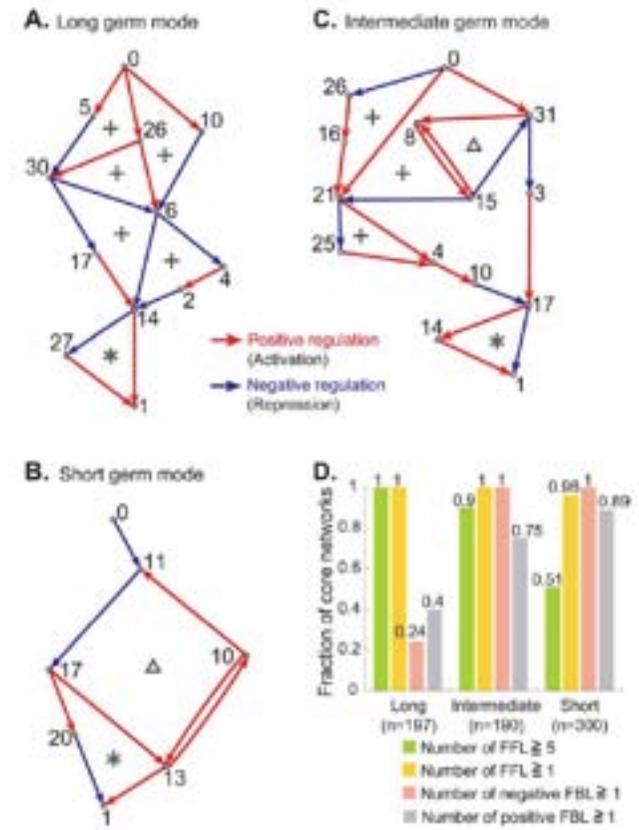
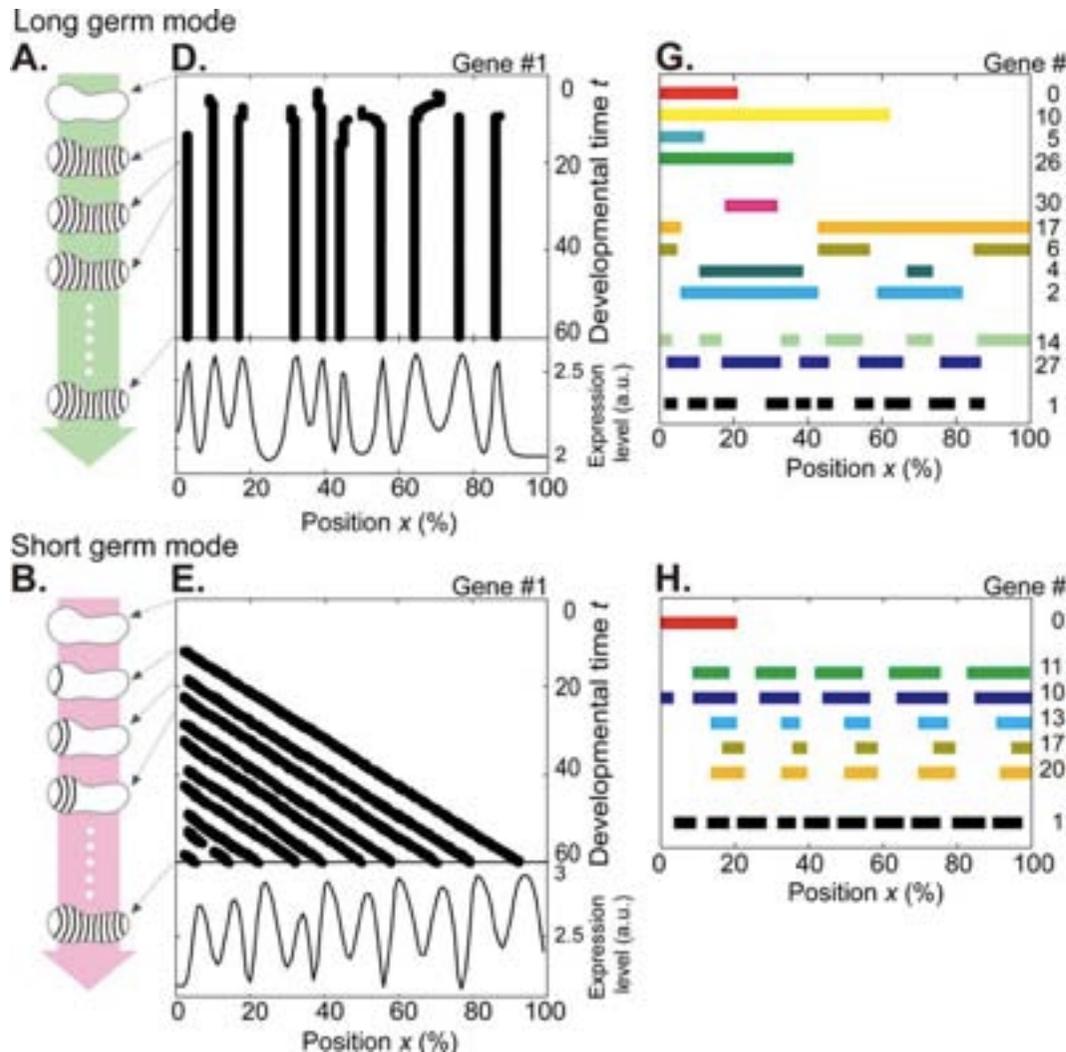
PNAS 102, 11734-11739 (2005)



Mech Dev 116, 29-38 (2002)

# 多変数：

# ネットワークダイナミクス



# 反応拡散方程式

$$\mathbf{u}' = f(\mathbf{u}) + \mathbf{D}\nabla^2 \mathbf{u}$$

...この時点で理解をあきらめる人が多い。

# 必要な数学



$$2 + 3 =$$

$$15 - 9 =$$

$$5 \times 8 =$$

$$18 \div 3 =$$

数値計算はOK.

$$\frac{d}{dx} x^3 = ?$$

$$\frac{d}{dx} e^x = ?$$

$$\frac{d}{dx} \sin x = ?$$

$$\frac{df(t)}{dt} = 2f(t), f(0) = 1$$

のとき

$$f(t) = ?$$

解析もOK.

1 変数の反応拡散系：

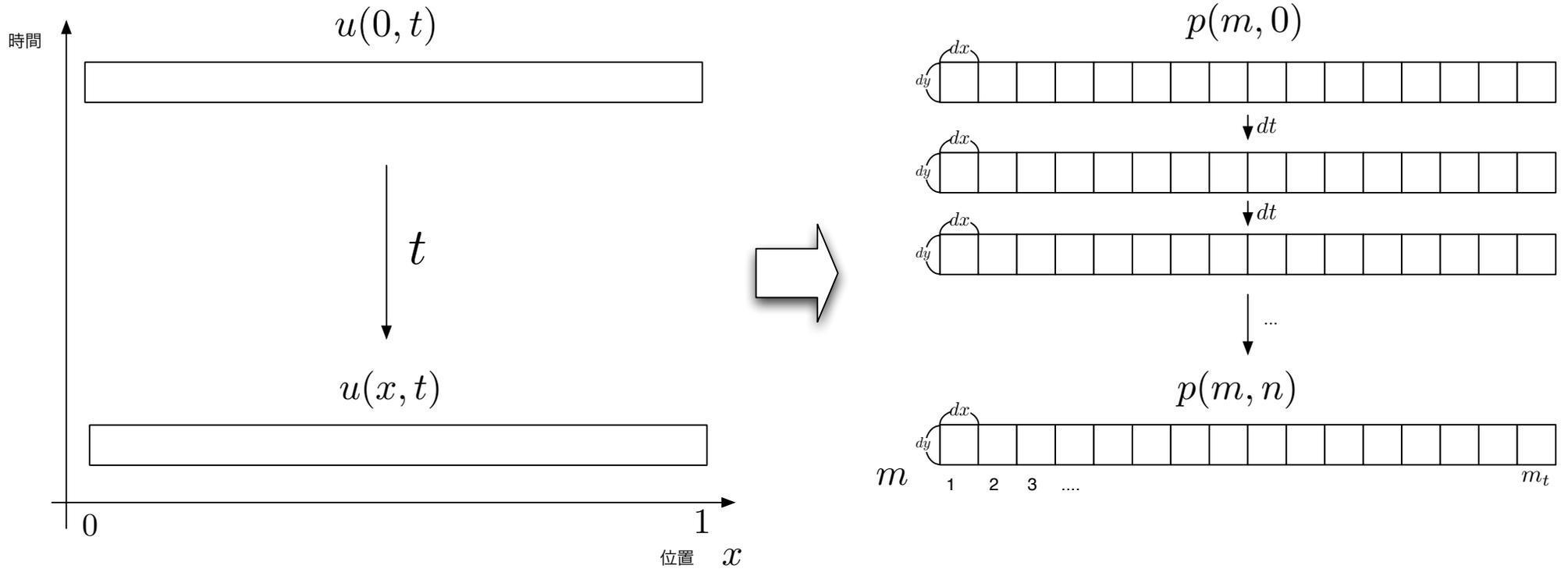
morphogen gradient

# 定義



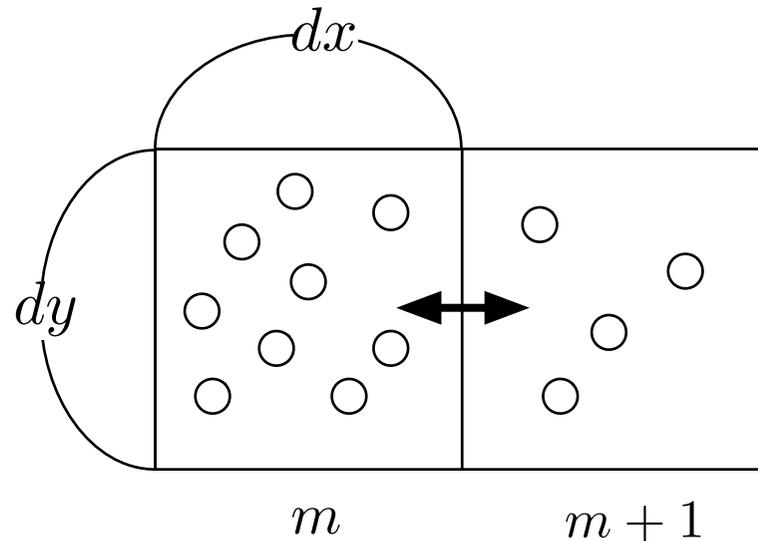
- 領域は 1 次元
- $u(x, t)$ : Morphogen の濃度分布
- $x$ : 空間座標
- $t$ : 時刻

# 離散化





# 拡散項



隣からの流入によるMorphogenの濃度変化：

$$D \times \left( \frac{p(m+1, n) - p(n)}{dx} \right) \times dy \times dt$$

拡散係数                      領域間での濃度勾配                      領域の接する面積                      時間

# 支配方程式 = 反応項 + 拡散項

求める値

時間

$$p(m, n+1) = p(m, n) + (f(p(m, n))) + D \frac{(p(m+1, n) + p(m-1, n) - 2p(m, n))}{dx^2} dt \quad (9)$$

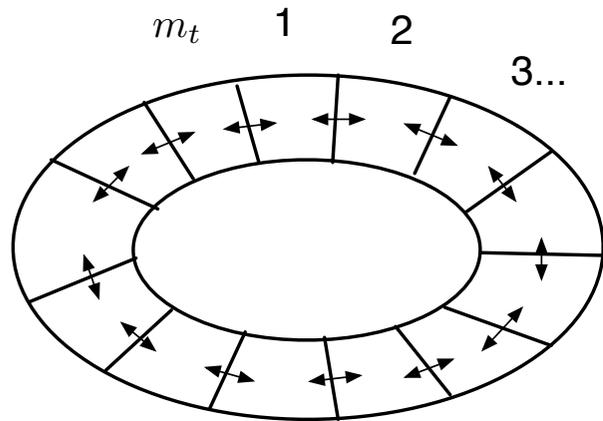
ちよつと前の値

反応項

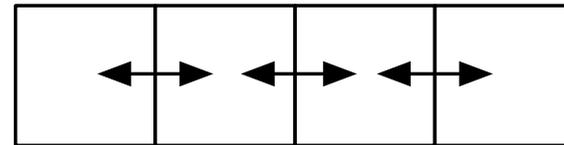
拡散項

The diagram illustrates the components of the governing equation (9). The equation is written as  $p(m, n+1) = p(m, n) + (f(p(m, n))) + D \frac{(p(m+1, n) + p(m-1, n) - 2p(m, n))}{dx^2} dt$ . A line from the text '求める値' (value to be found) points to  $p(m, n+1)$ . A line from '時間' (time) points to  $dt$ . A line from 'ちよつと前の値' (value just before) points to  $p(m, n)$ . A line from '反応項' (reaction term) points to  $(f(p(m, n)))$ . A line from '拡散項' (diffusion term) points to  $D \frac{(p(m+1, n) + p(m-1, n) - 2p(m, n))}{dx^2}$ .

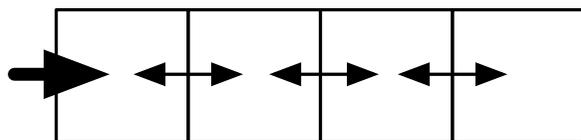
# 境界条件



周期境界条件

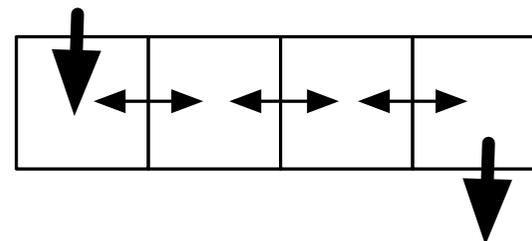


Zero-flux 境界条件



一定の流入がある場合

$$p(0, n) = 1$$



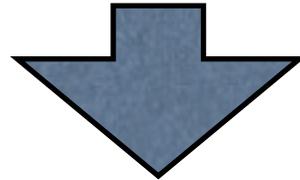
$$p(m_t, n) = 0$$

固定境界条件

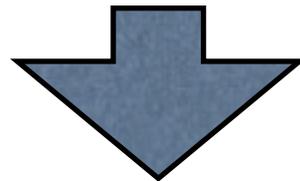
# 数值計算

# 連続の支配方程式

$$\frac{p(m, n+1) - p(m, n)}{dt} = f(p(m, n)) + D \frac{\frac{p(m+1, n) - p(m, n)}{dx} - \frac{p(m, n) - p(m-1, n)}{dx}}{dx} \quad (10)$$



$$\frac{u(x, t+dt) - u(x, t)}{dt} = f(u(x, t)) + D \frac{\frac{u(x+dx, t) - u(x, t)}{dx} - \frac{u(x, t) - u(x-dx, t)}{dx}}{dx}$$



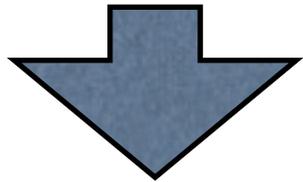
$$\frac{\partial u}{\partial t} = f(u) + D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} \quad \text{or} \quad u' = f(u) + D\Delta u \quad \text{or} \quad u' = f(u) + D\nabla^2 u$$

# 定常状態の解析解

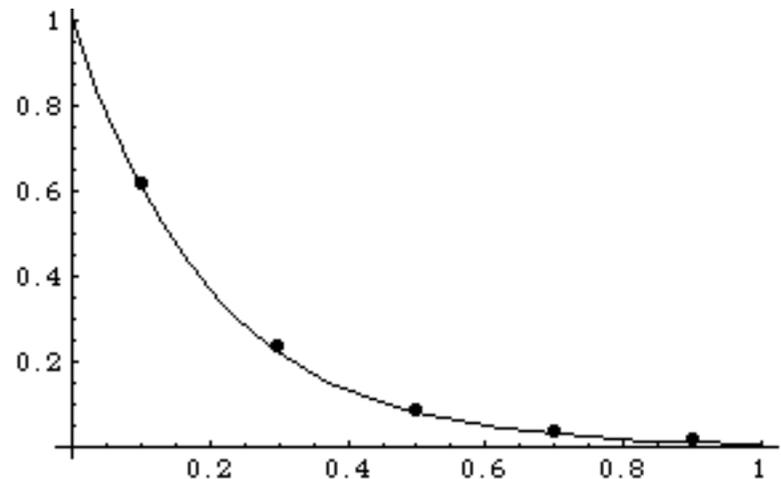
$$0 = -a_1 u + D \nabla^2 u$$

$$D \nabla u = a_0 \quad (x = 0)$$

$$u = 0 \quad (x = \infty)$$



$$u(x) = \frac{a_0}{\sqrt{a_1 D}} e^{-\sqrt{\frac{a_1}{D}} x}$$



# 数値誤差

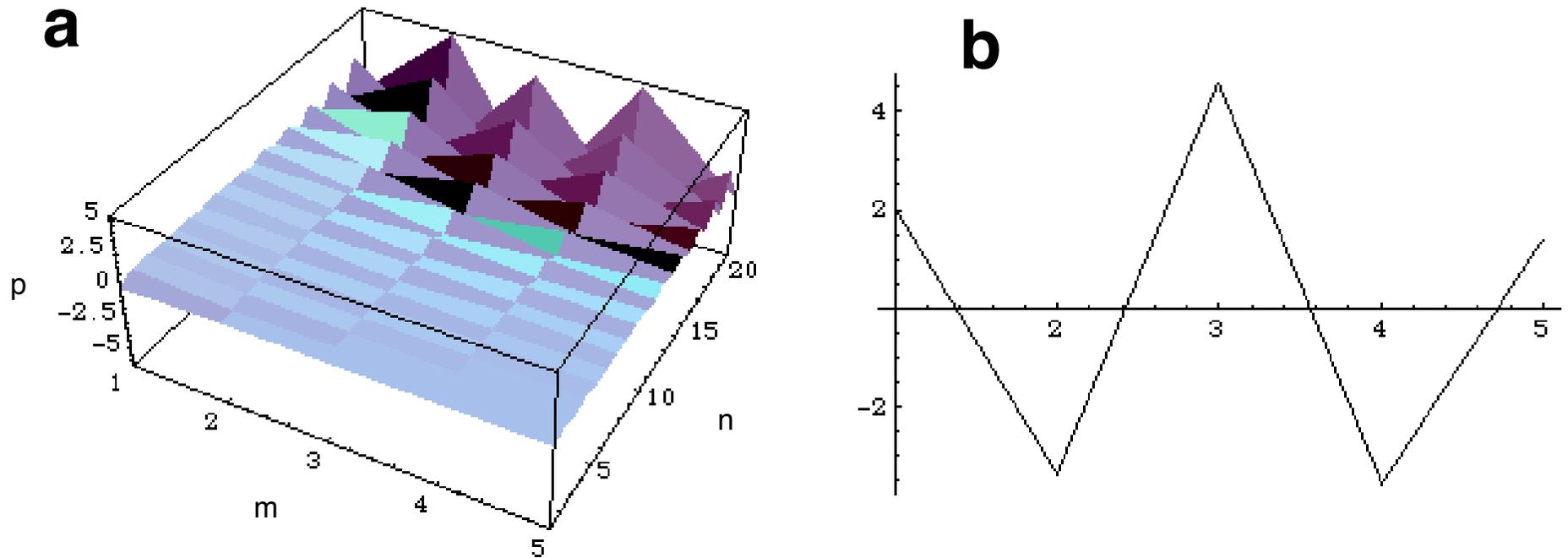


Figure 9: 数値計算の誤差の例。(a) 時間経過。(b)  $n = 20$  での  $p$  の分布。どちらも  $dt = 0.5$  で数値計算を行っている。

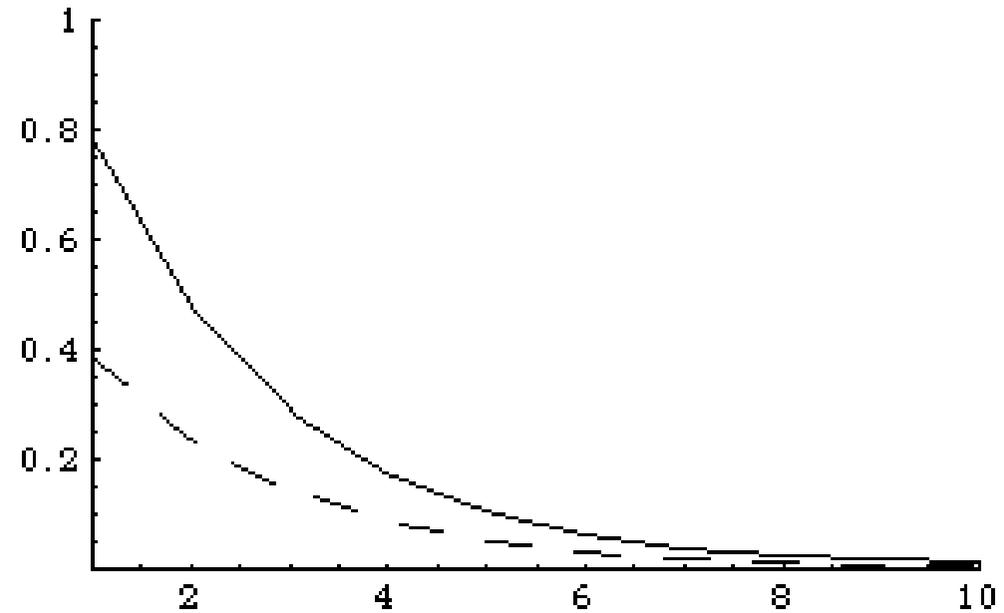
# Robustness of morphogen gradient



Eldar et al., 2003

Shh (+/-) はphenotype出ない。

なぜだ？



— 産生量 1

- - - 産生量 0.5

Nature 383 407- (1996)

# 非線形の分解項

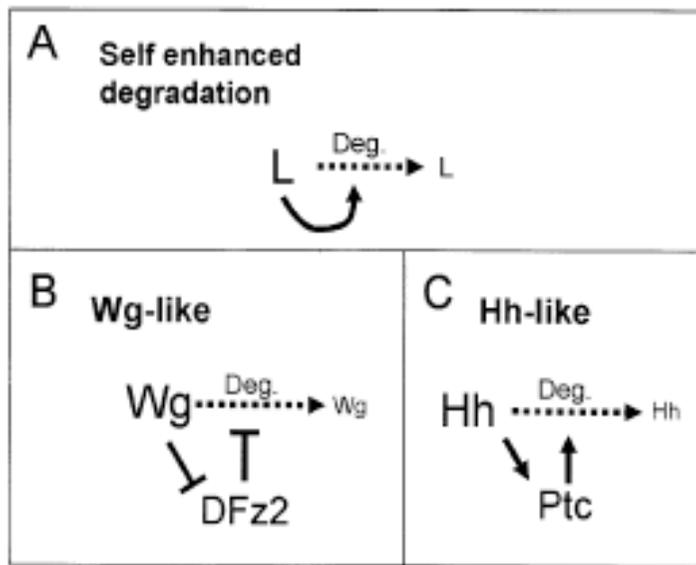


Figure 7. Modes of Achieving Robust Morphogen Patterning

(A) Self-enhanced morphogen degradation may present a general means for achieving robustness.

(B) In the Wg-like class of robust networks, morphogen signaling represses receptor expression, while receptor stabilizes the morphogen.

(C) In the Hh-like class of robust networks morphogen signaling activates receptor expression, while receptor enhances morphogen degradation. Both mechanisms thus ensure robustness using the same principle of enhancing ligand degradation in regions of high-morphogen levels.

$$u' = -a_1 u + D \nabla^2 u$$

ではなく

$$u' = -a_1 u^2 + D \nabla^2 u$$

を使うと...

# 産生が半分でもprofileが 変わらなくなる

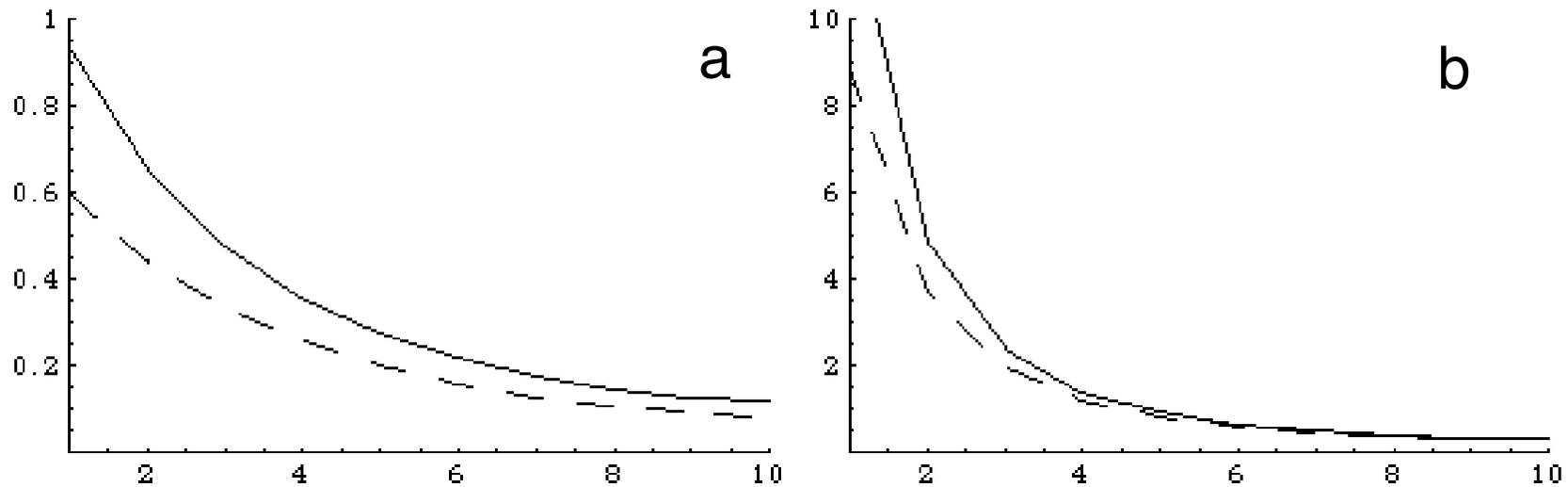
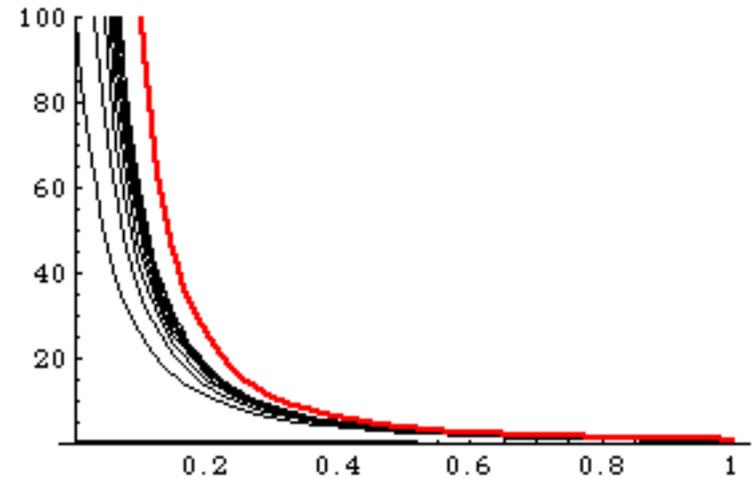


Figure 11: 分解が線形の系で産生が半分になった場合の morphogen gradient のプロファイルの変化。(a) 実線が  $a_0 = 0.2$ , 破線が  $a_0 = 0.1$ 。(b) 実線が  $a_0 = 20$ , 破線が  $a_0 = 10$ 。

# 解析的な理由

$$u' = -a_1 u^2 + D \nabla^2 u$$

$$u(x) = \frac{A}{(x + x_b)^2}$$
$$A = \frac{6D}{a_1}$$
$$x_b = \sqrt[3]{\frac{2AD}{a_0}}$$



$$a_0 \rightarrow \infty \quad \rightarrow \quad u(x) = \frac{A}{x^2}$$

...本当か？

# 京都コレクション

(先天異常標本解析センター)



- 20000体以上のヒト胎児コレクション
- **holoprosencephaly** の頻度がなぜか高い。

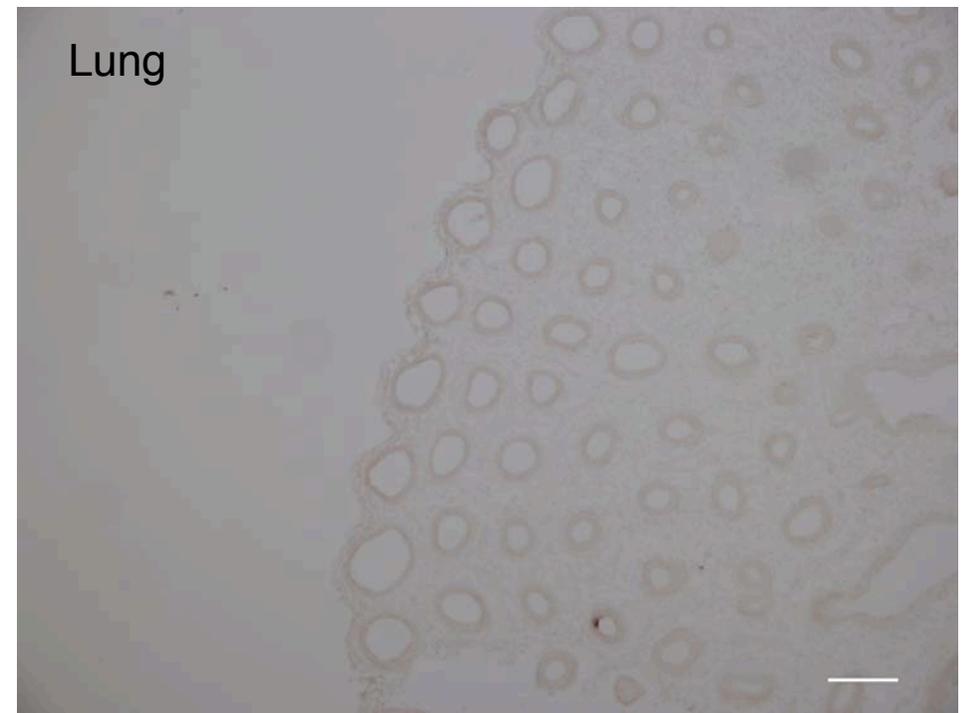
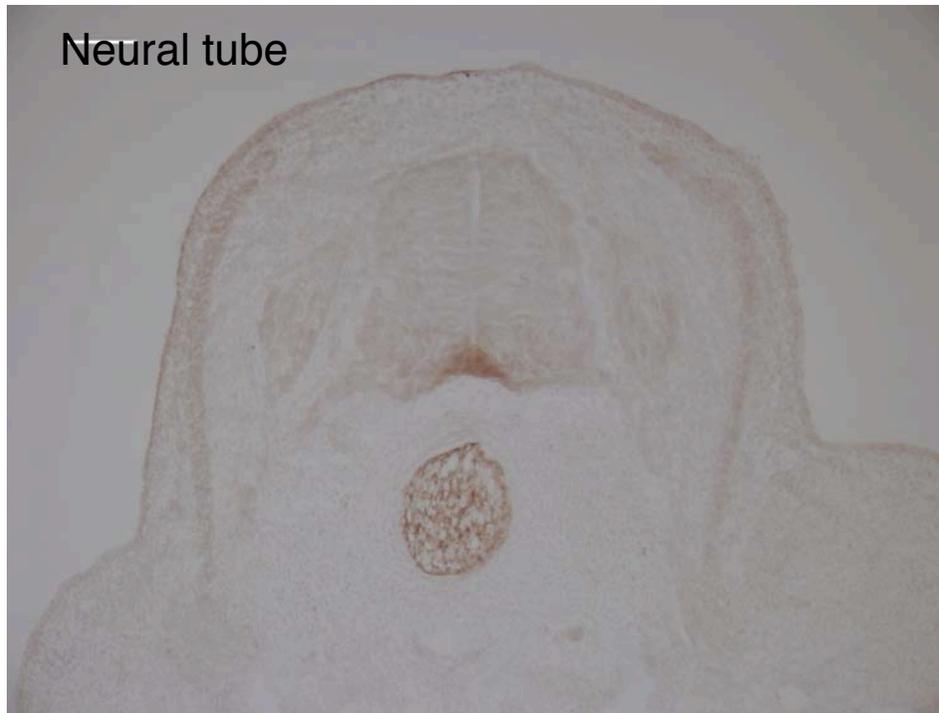
# ヒト *Shh* (+/-) は症状が出る



# Robustnessが低い領域は？

- Shh発現量が低いと、飽和から遠いので、gene dose の変動に弱いはず。

# Shh の mRNA/蛋白質量の定量

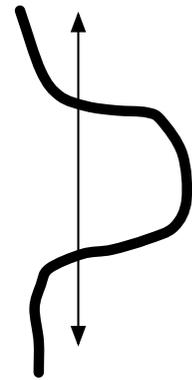


- 高発現領域 (E11 hindlimb bud)
- 低発現領域 (E11 lung)

# Shh の mRNA/蛋白質量の定量

高発現領域 (肢芽)

E11.5 hindlimb bud

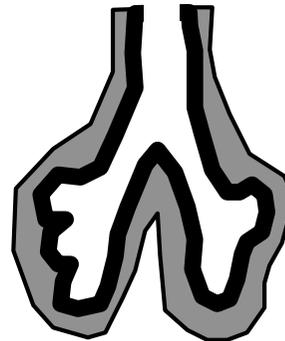


Real-time PCR

ELISA

低発現領域 (肺)

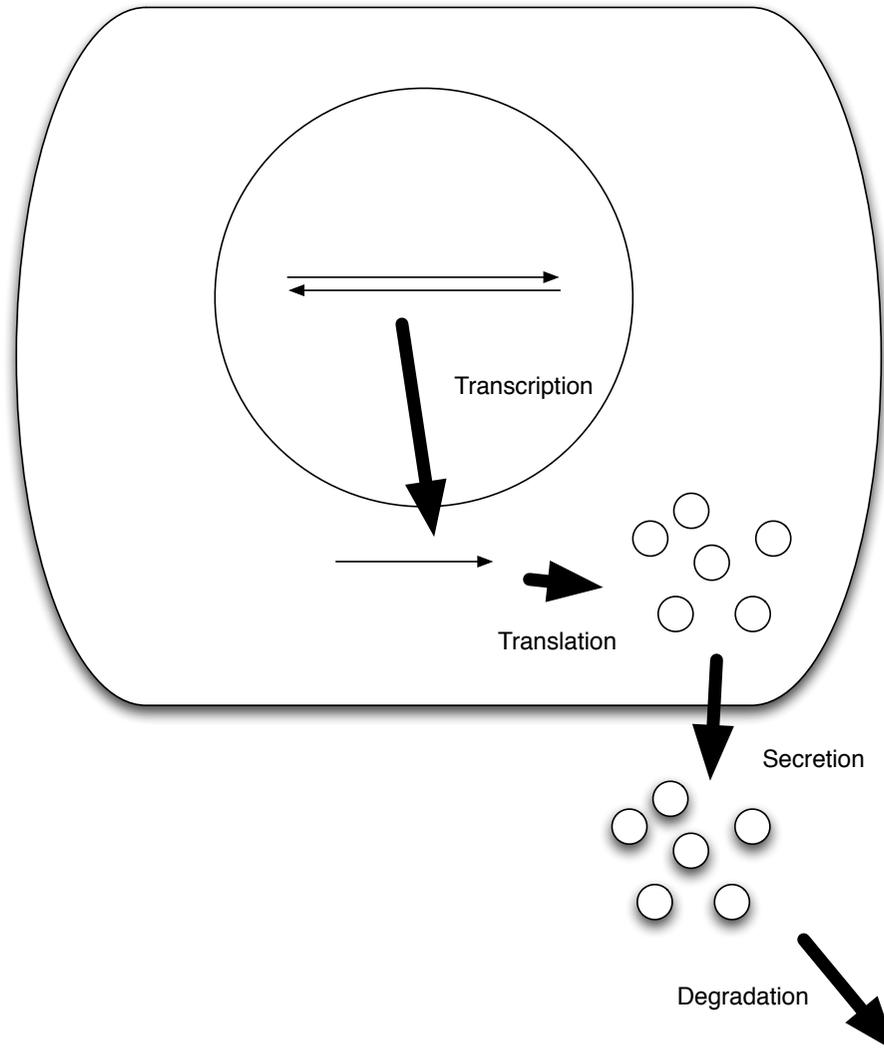
E11.5 lung



Real-time PCR

ELISA

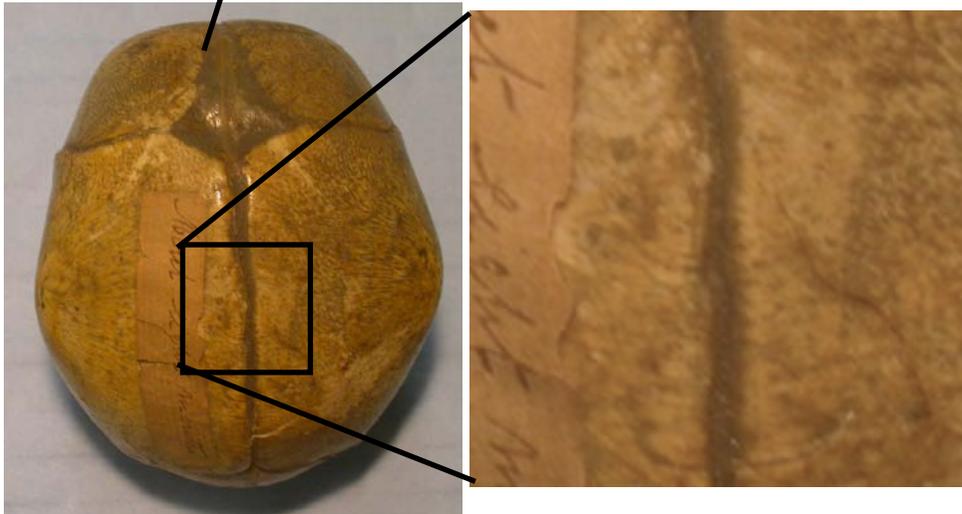
# 律速はどこ？



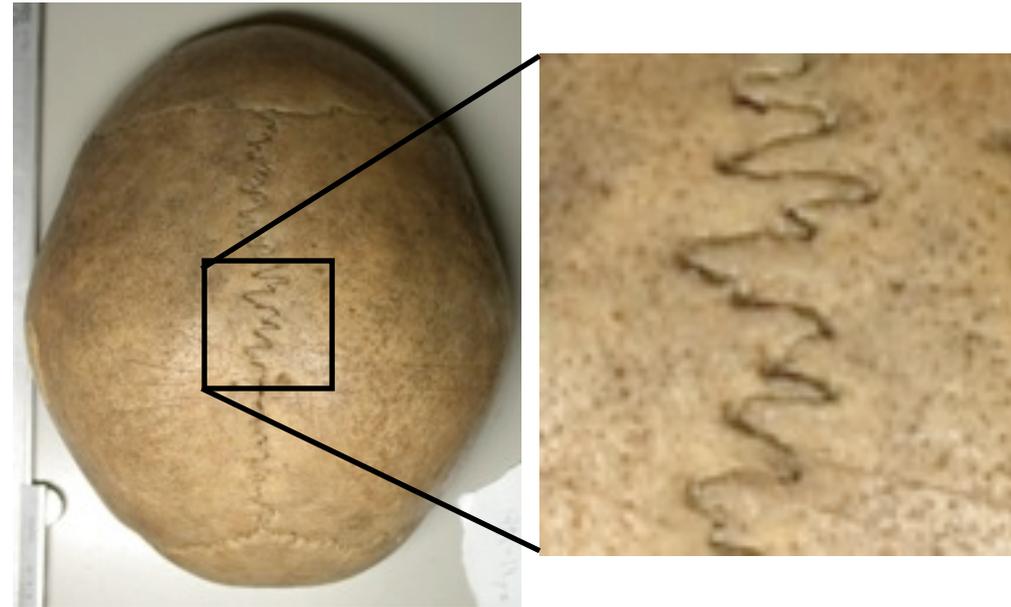
2変数：自発的パターン形成

# 頭蓋骨の縫合線

前頭縫合

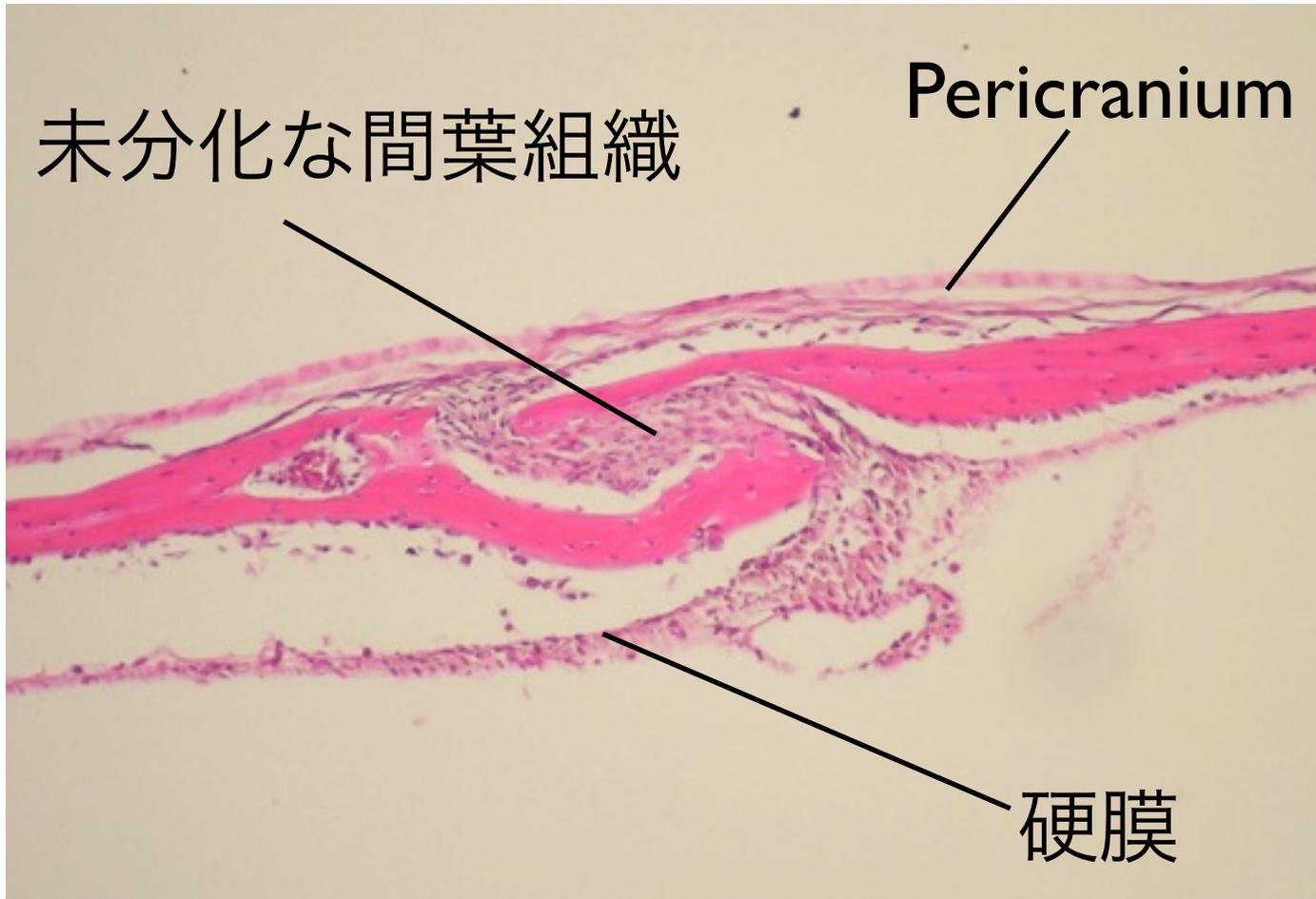


新生児



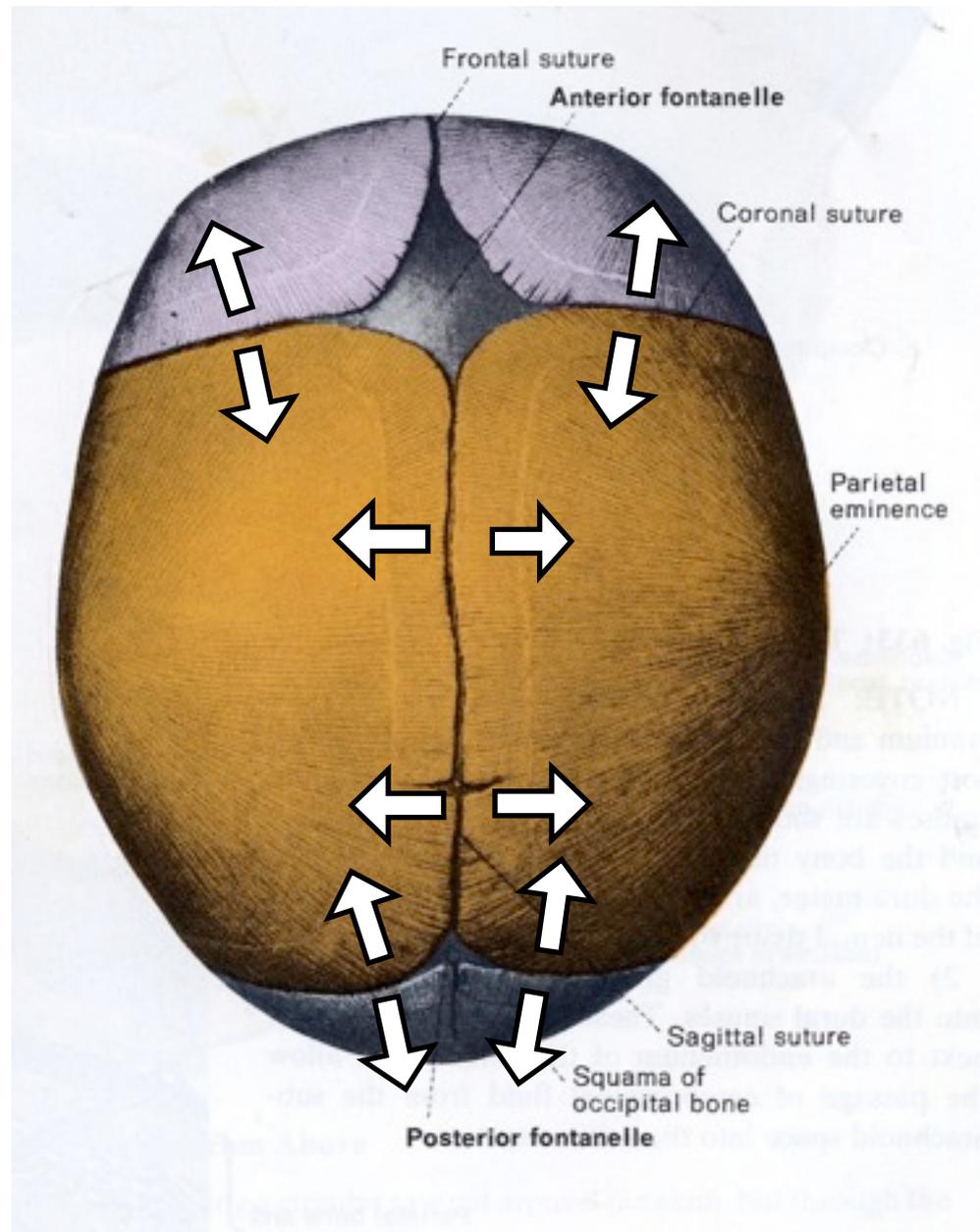
成人

# 組織

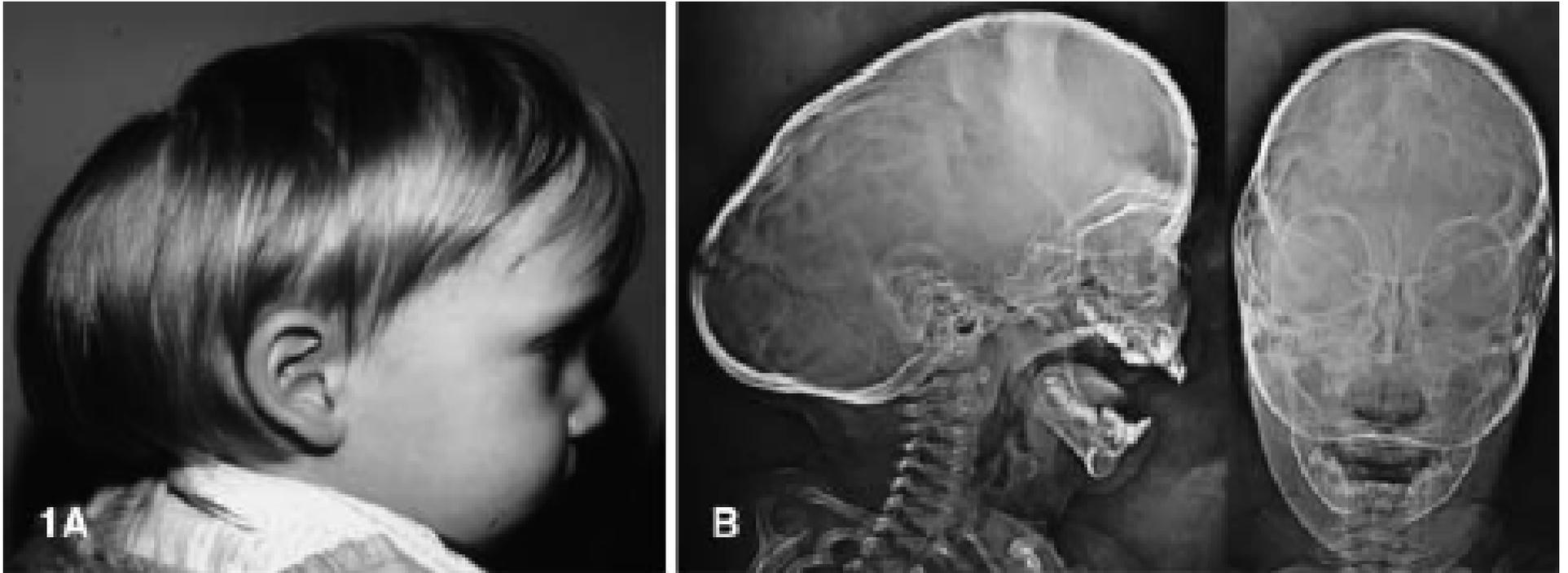


3週齡マウス矢状縫合

# 機能：頭蓋骨の成長



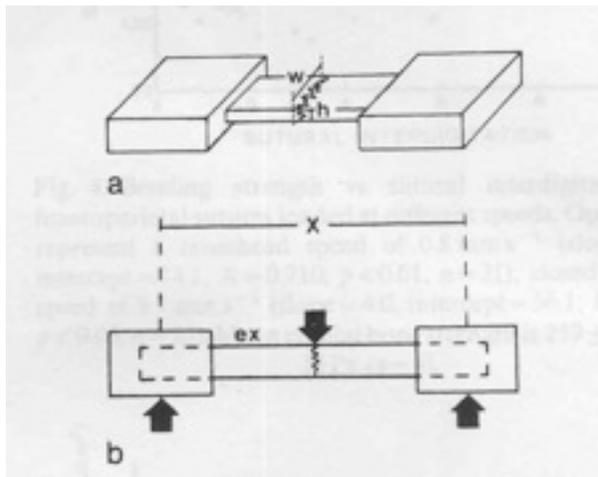
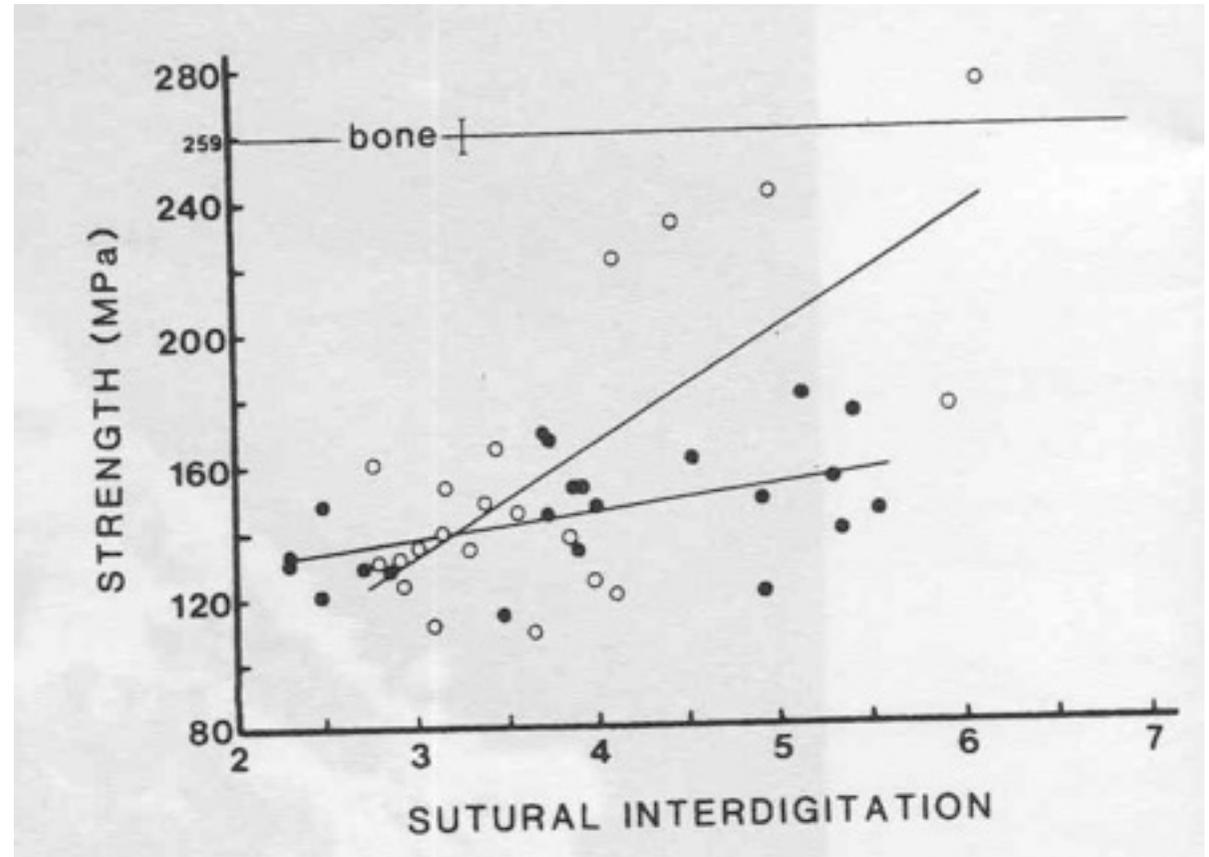
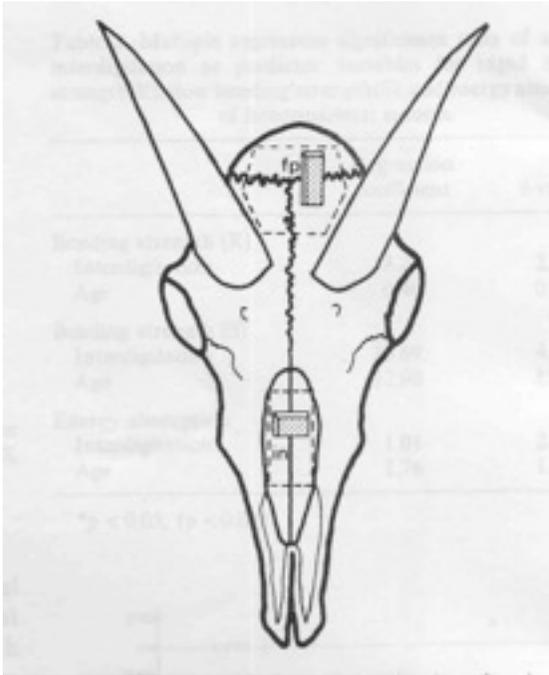
# 頭蓋骨早期癒合症



Crouzon syndrome - FGFR GOF mutation

Child's Nerv Syst (2000) 16:645–658

# 湾曲の機能：縫合線の強度？



J Biomechanics 23(4) 313-321  
(1990)

# フラクタル構造

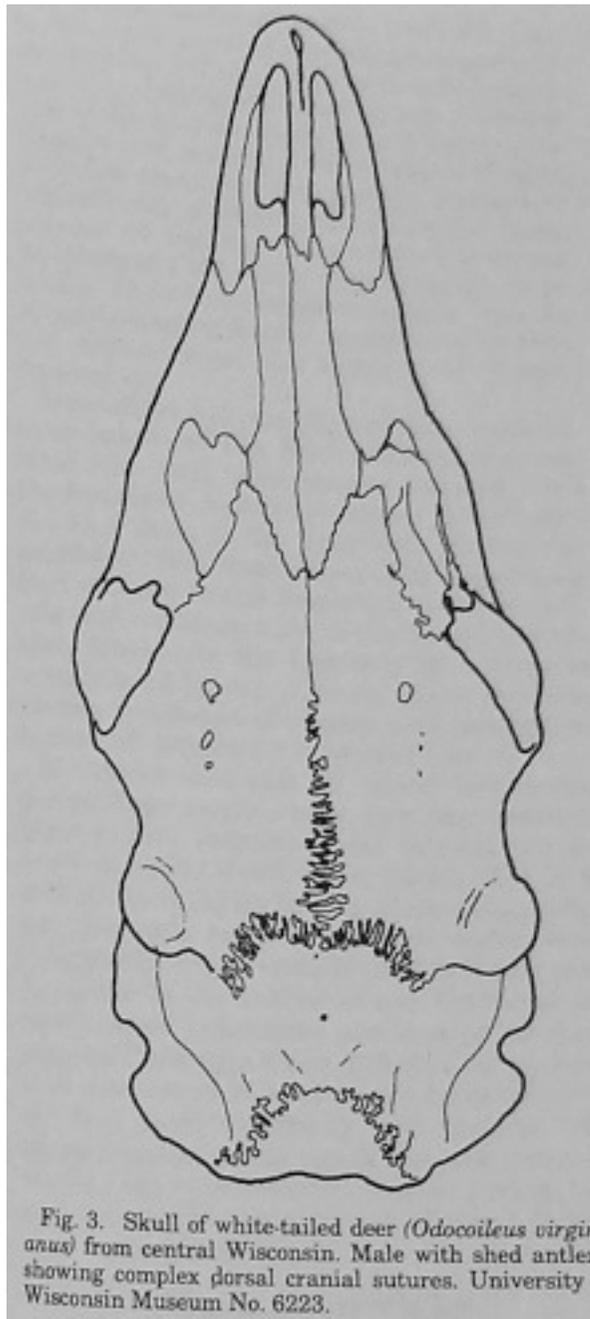


Fig. 3. Skull of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from central Wisconsin. Male with shed antler showing complex dorsal cranial sutures. University Wisconsin Museum No. 6223.

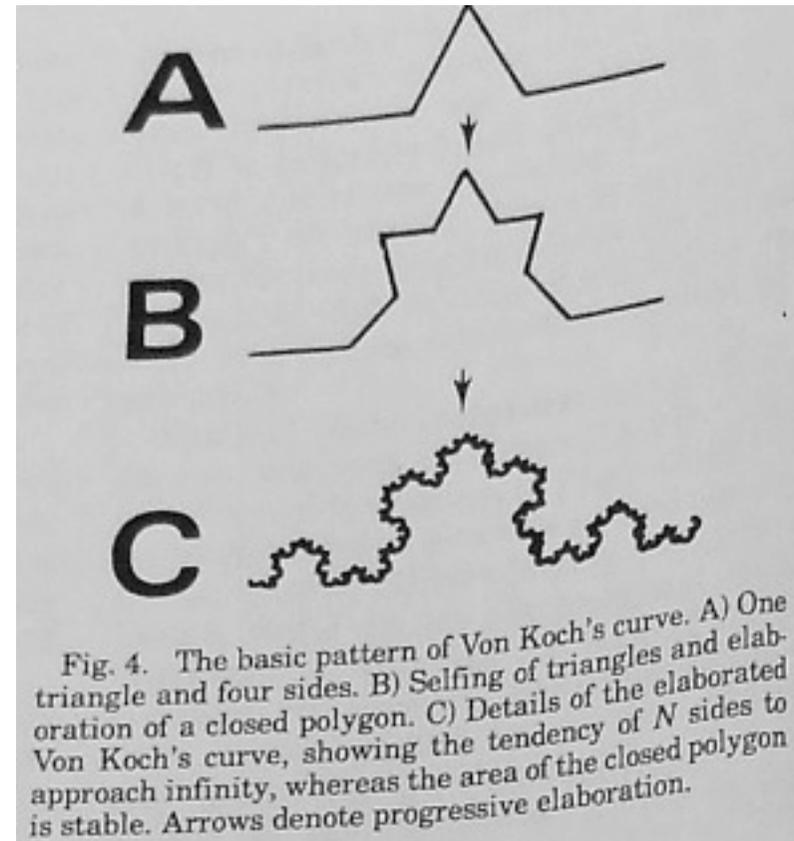
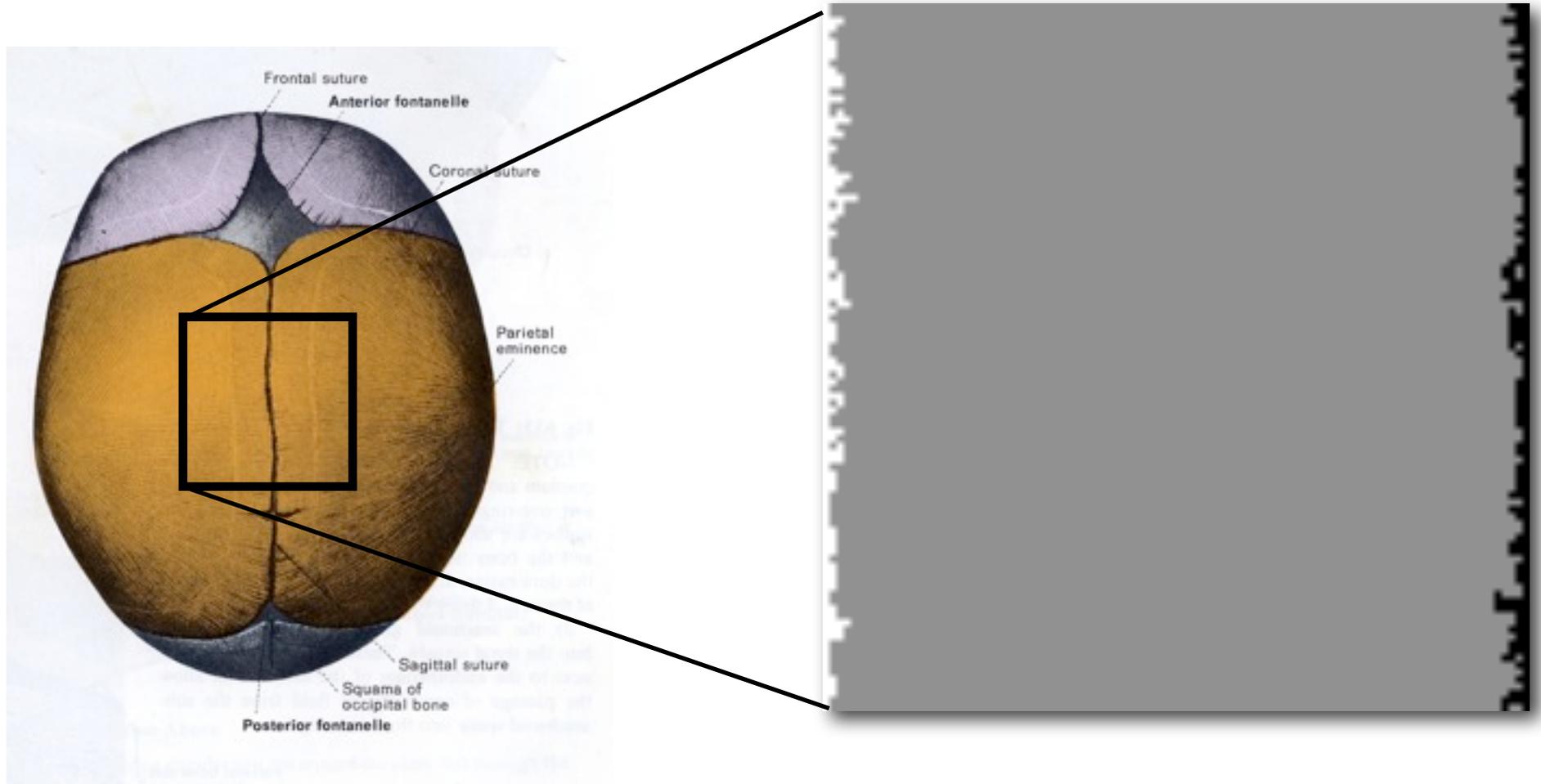


Fig. 4. The basic pattern of Von Koch's curve. A) One triangle and four sides. B) Selfing of triangles and elaboration of a closed polygon. C) Details of the elaborated Von Koch's curve, showing the tendency of  $N$  sides to approach infinity, whereas the area of the closed polygon is stable. Arrows denote progressive elaboration.

J. Morphol. 185. 285- (1985)

# Eden 衝突モデル



Miyajima S., FORMA 19, 197-205 (2004)

# 基本的な問題

- 未分化な間葉組織が一定幅で維持されているのはなぜか？
- 縫合線組織が湾曲するのはなぜか？
- フラクタル構造ができるのはなぜか？

# 関わっている分子

- FGF2, FGF18, FGFR1-4
- BMP4, Noggin, TGF beta 1,2,3
- Osteopontin, Osterix
- Twist, Msx2, Alx4, Runx2, Foxc1

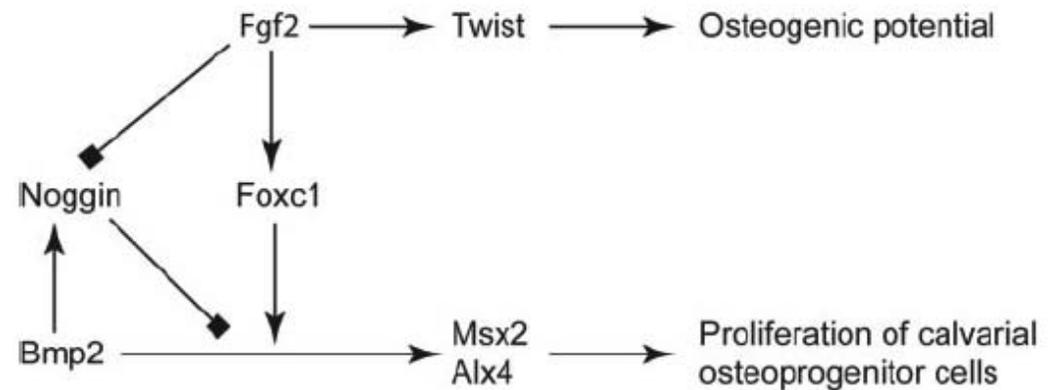


Fig. 4. Fibroblast growth factor (Fgf) and bone morphogenetic protein (Bmp) signalling are integrated through the transcription factor Foxc1, and this integration regulates proliferation of osteoprogenitor cells in calvarial mesenchyme independently of Noggin and Twist.

Dev Dyn 233:847-852, 2005

# モデル化戦略

- 「代表的な分子」がない  
> どう単純化するか？

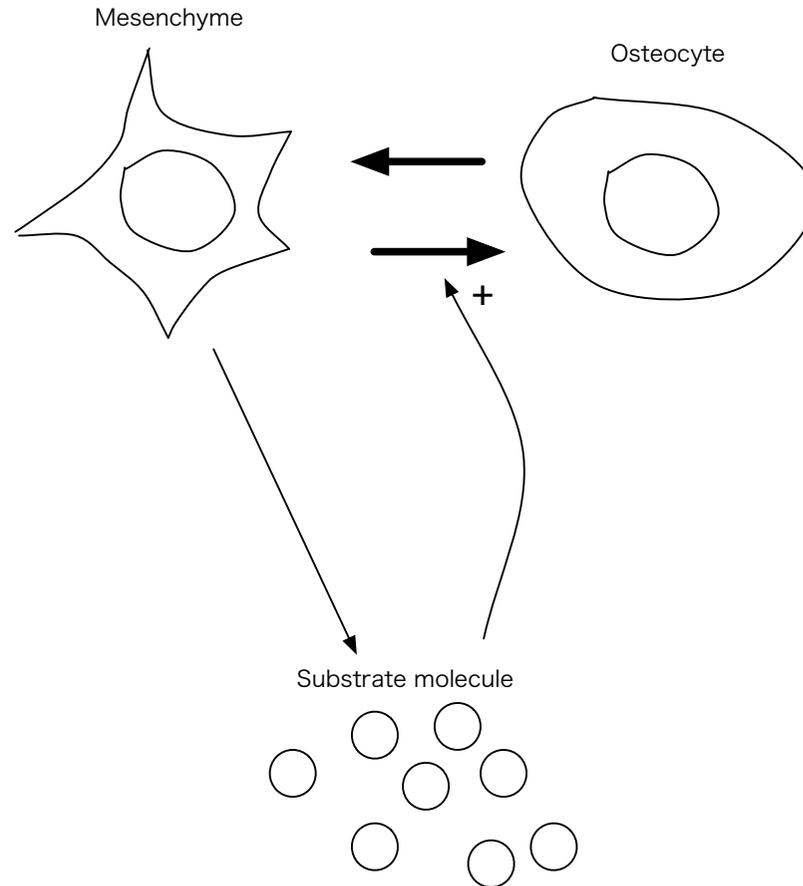
# 分類

局在 / 分化	促進	抑制
骨	Runx2, Osterix	-
間葉	FGF2, FGF18, BMP4	Noggin, Twist

- 安定化因子
- 基質因子

<div style="text-align: right;">分化</div> <div style="text-align: left;">局在</div>	促進	抑制
骨	Runx2, Osterix	-
間葉	FGF2, FGF18, BMP4	Noggin, Twist

u: 組織の分化度



v: 基質因子

- 安定化因子的作用によって、組織には二つの安定な状態がある。一つは骨 (osteocyte,  $u > 0$ )、もう一つは未分化な間葉組織 (mesenchyme,  $u < 0$ ) である。
- 未分化な間葉組織は基質因子を分泌する
- 基質因子は骨分化を促進する

# 支配方程式

安定化因子の作用

飽和

基質因子の作用

ベースの基質因子作用

細胞運動？  
安定化因子の拡散？

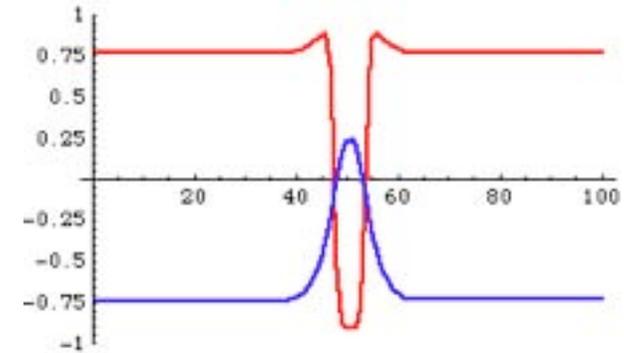
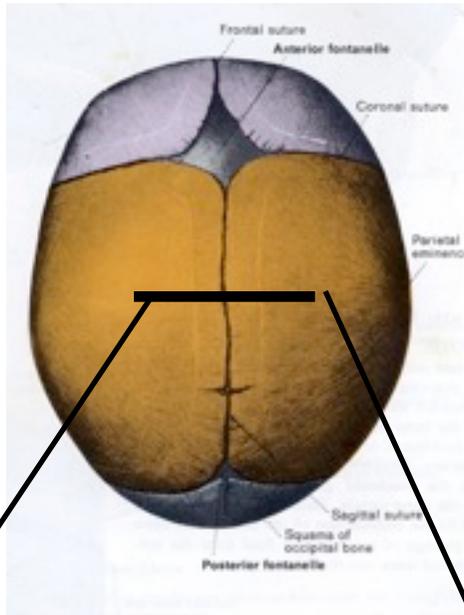
$$u' = u - u^3 + a_1 v + a_0 + \Delta u$$
$$v' = -a_2 u - a_3 v + d \Delta v$$

基質因子の産生

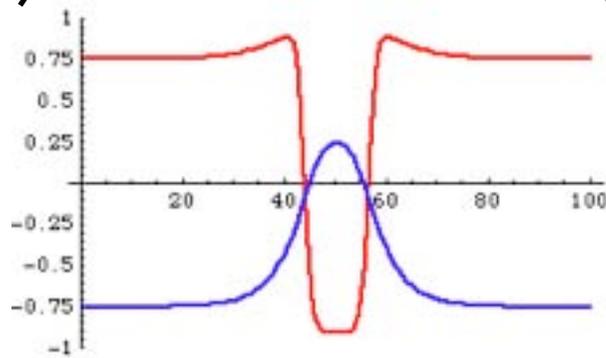
減衰

基質因子の拡散

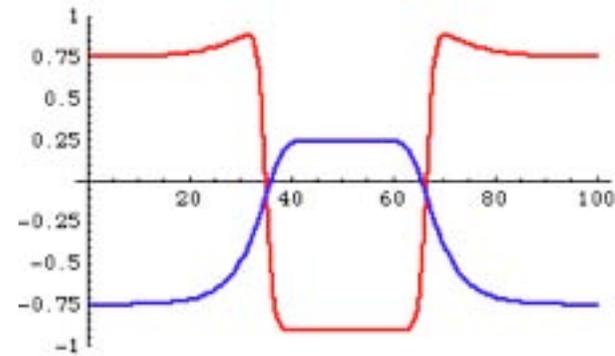
# 組織の幅の維持



幅が狭い場合

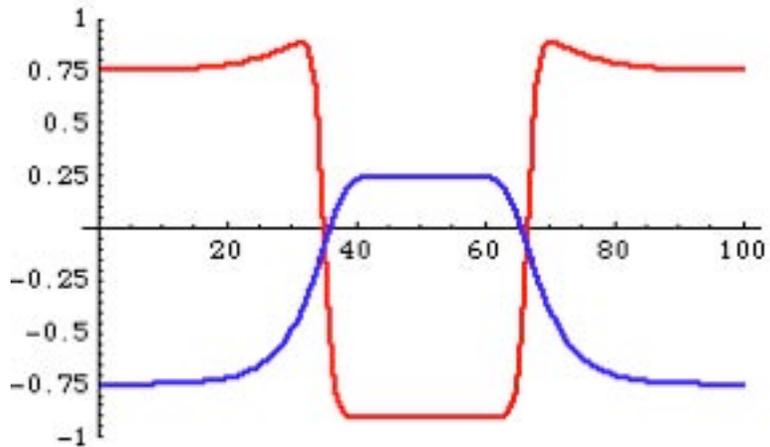


定常解

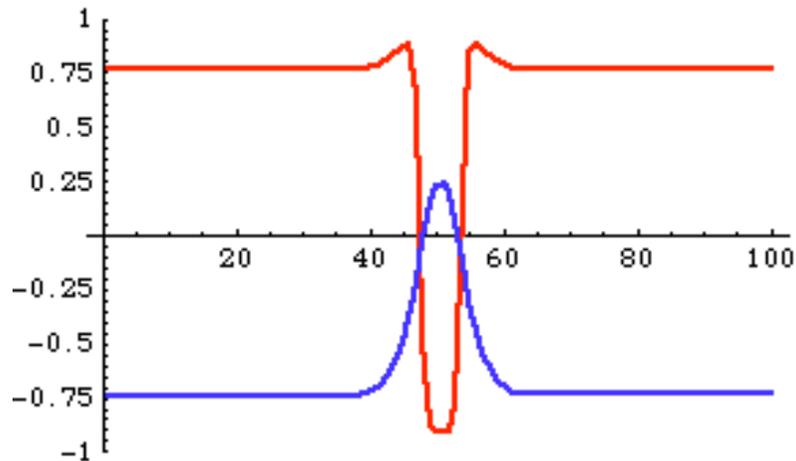


幅が広い場合

# なぜ一定間隔になるのか？

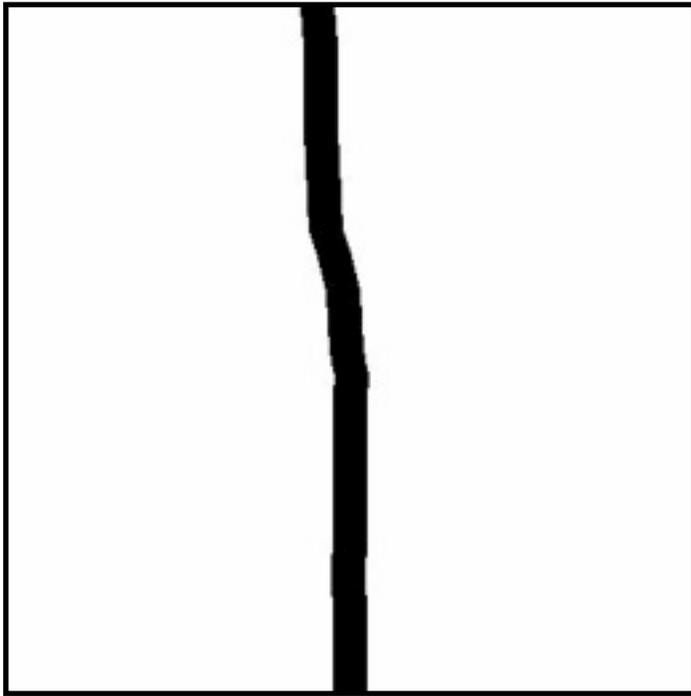


- 広い場合：間の間葉組織が産生する基質因子が多いので骨分化が進む

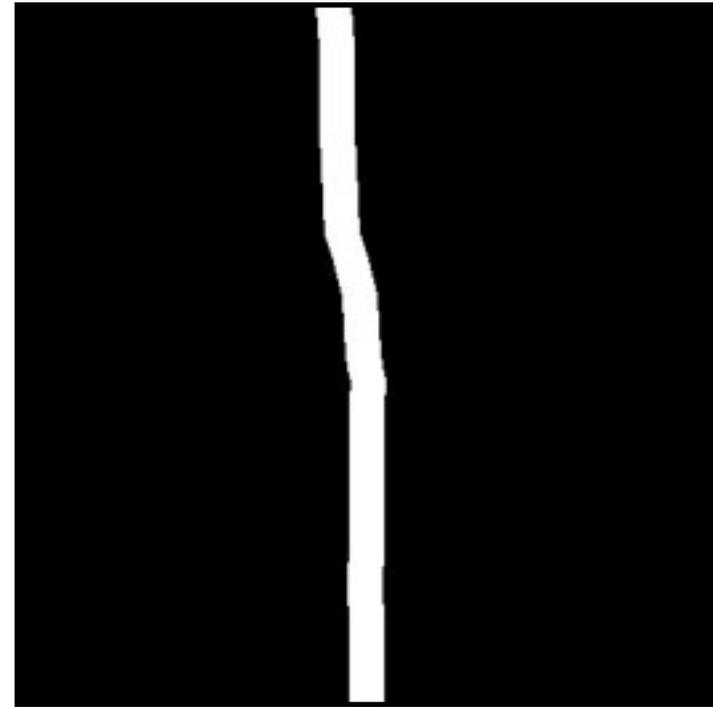


- 狭い場合：間の間葉組織が少ないために基質因子の産生が減って骨吸収が起こる

# 縫合線の湾曲：初期状態



分化度



基質因子の濃度

(白い部分が高い値を表す)

- 未分化な間葉組織が細い線として存在する
- 基質因子が未分化な間葉で産生されている

# パターン形成



分化度

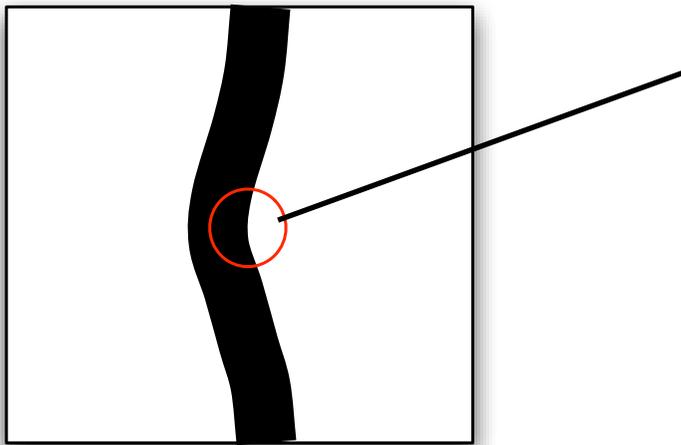
基質濃度

Miura et al., J.Anat. in press.

# なぜ湾曲するのか？

- 組織が一定幅に保たれる+「突出部が早くのびる」傾向による界面の不安定化

周囲の未分化な間葉が多い >  
基質因子の濃度が高い > 分化  
が進む > さらに突出する

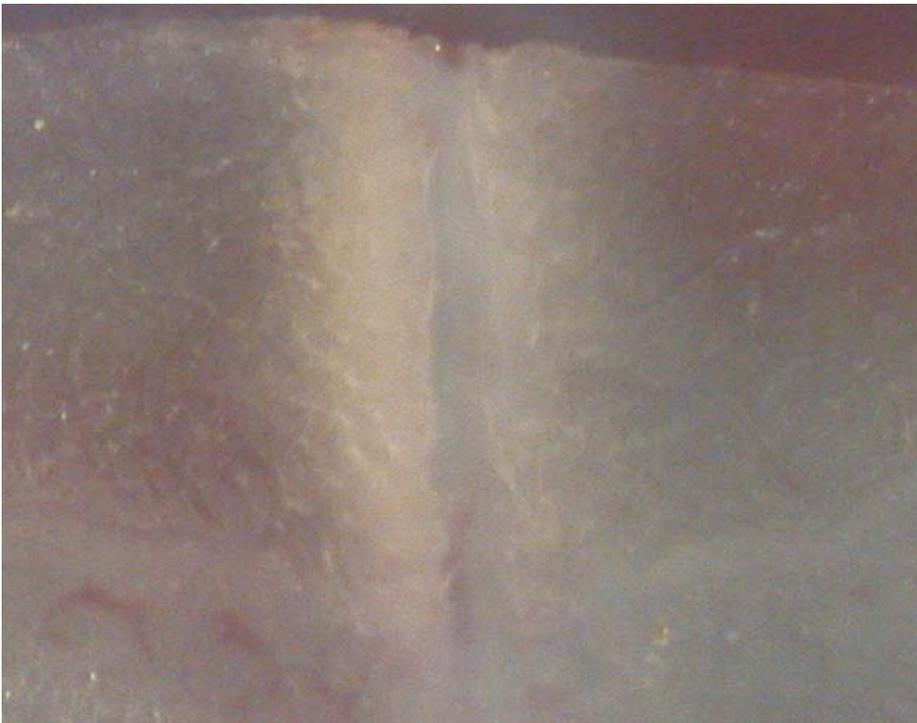


分化度

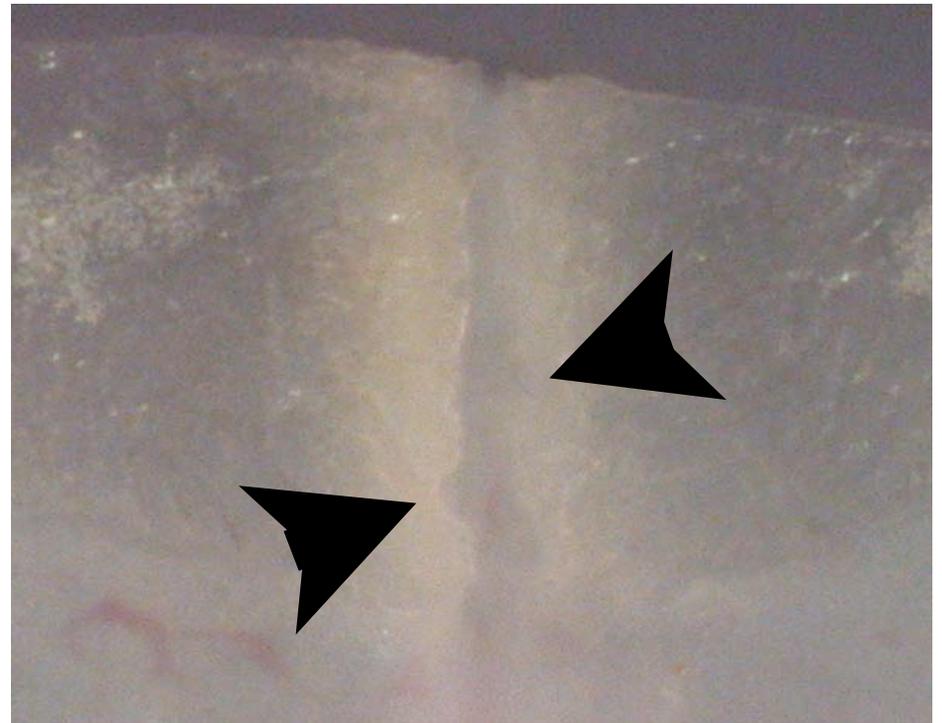
数理解析：

Physica D 34, 115- (1989)

# 骨端の退縮



4 days



7 days

Miura et al., J.Anat. in press.

# 破骨細胞の活性



- 3W mouse skull  
TRAP stain

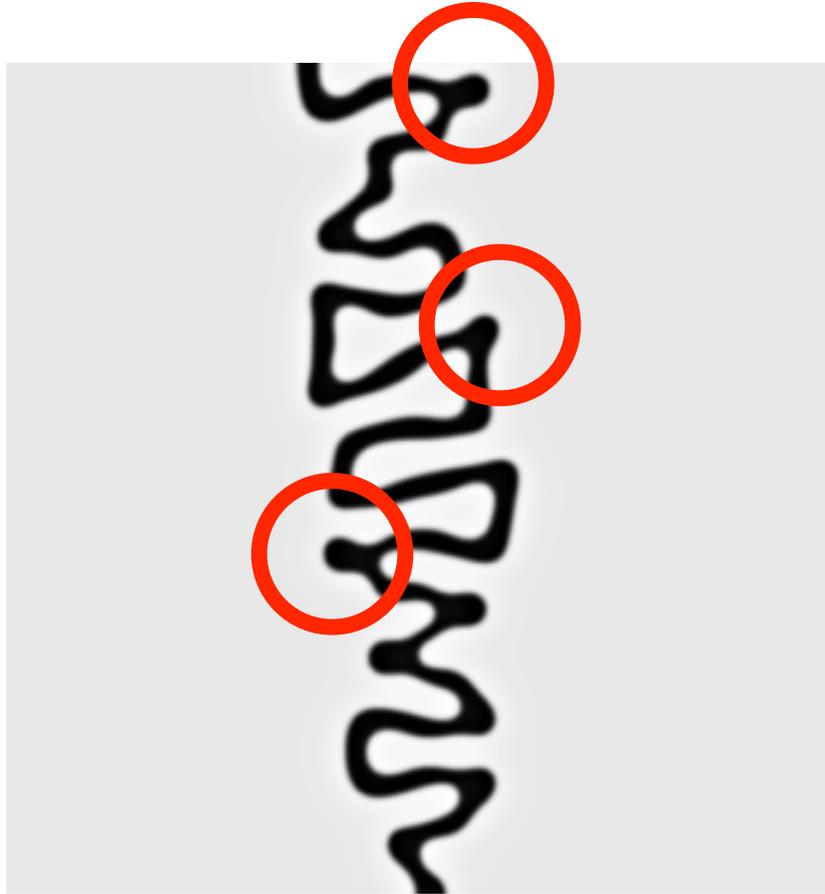
Posterior frontal suture

Coronal suture

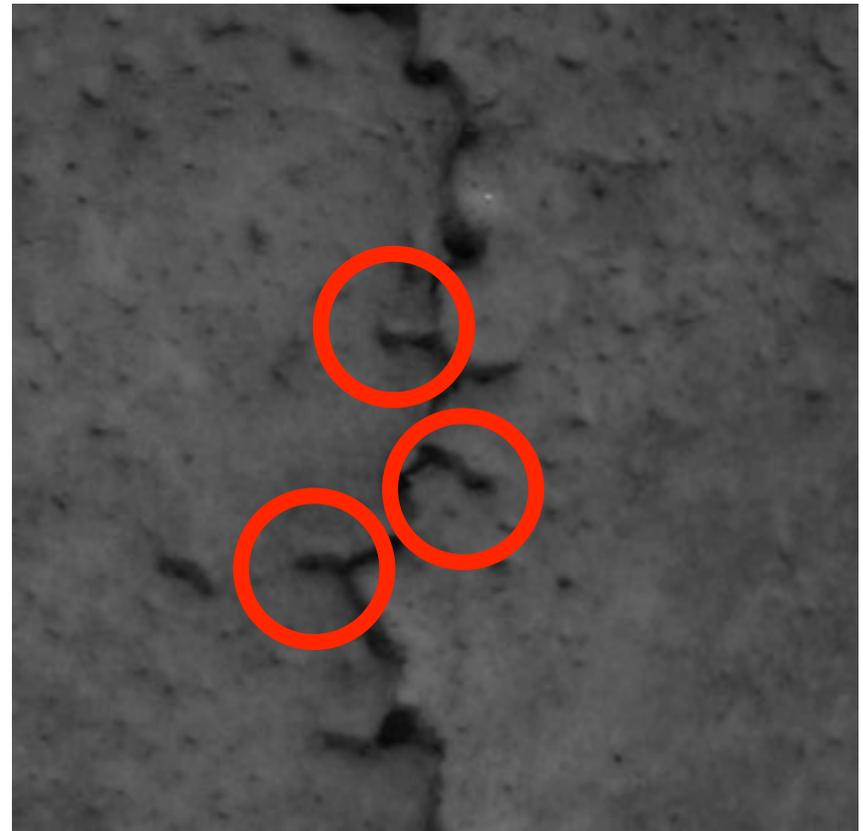
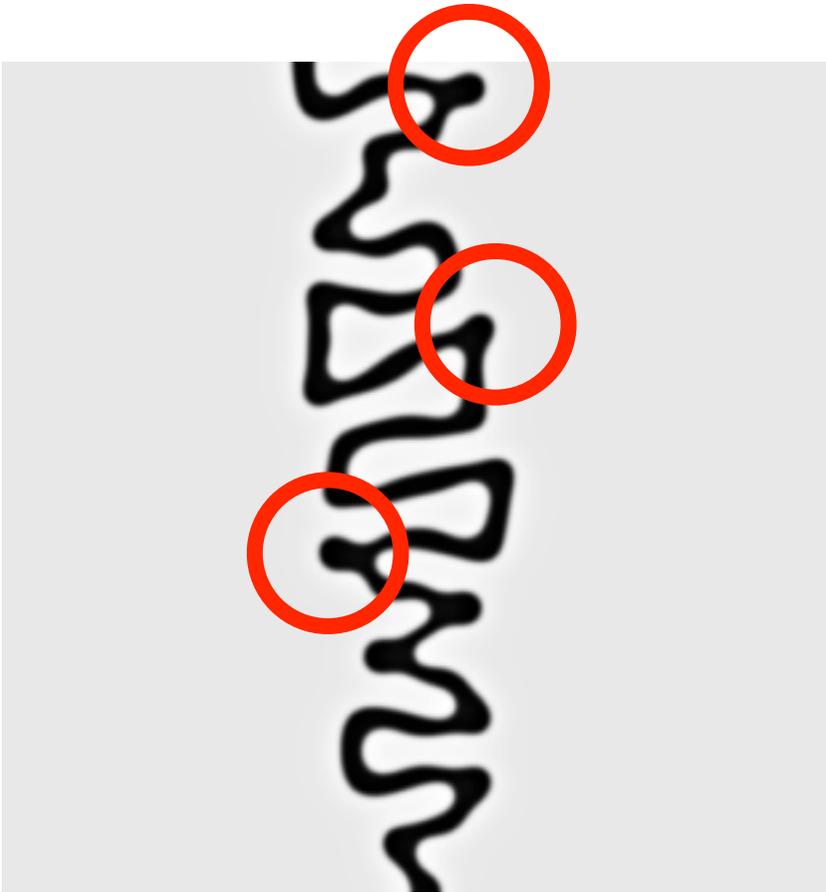
Sagittal suture

Miura et al., J.Anat. in press.

# 「出芽」の存在

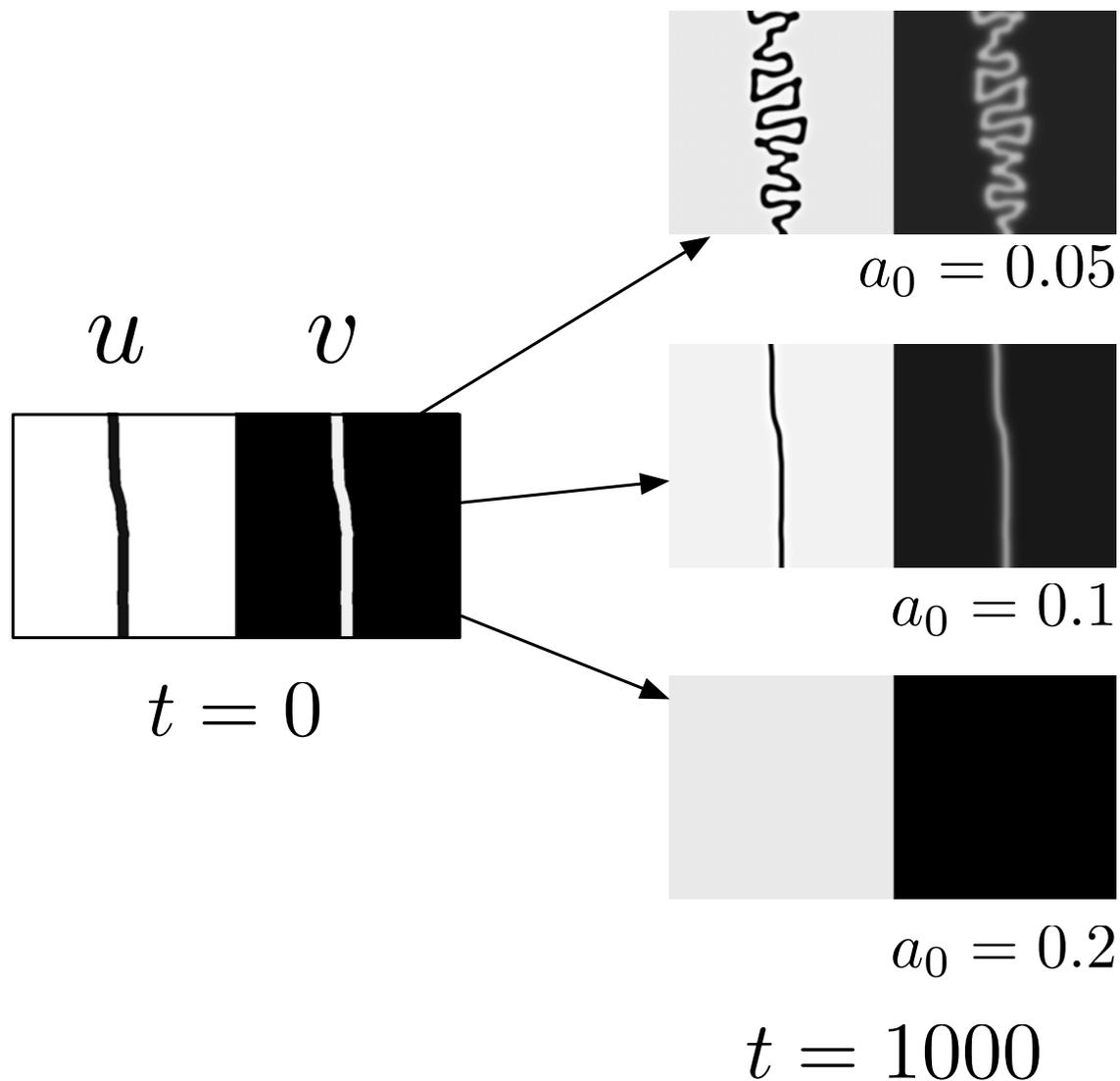


# 実際の標本での出芽

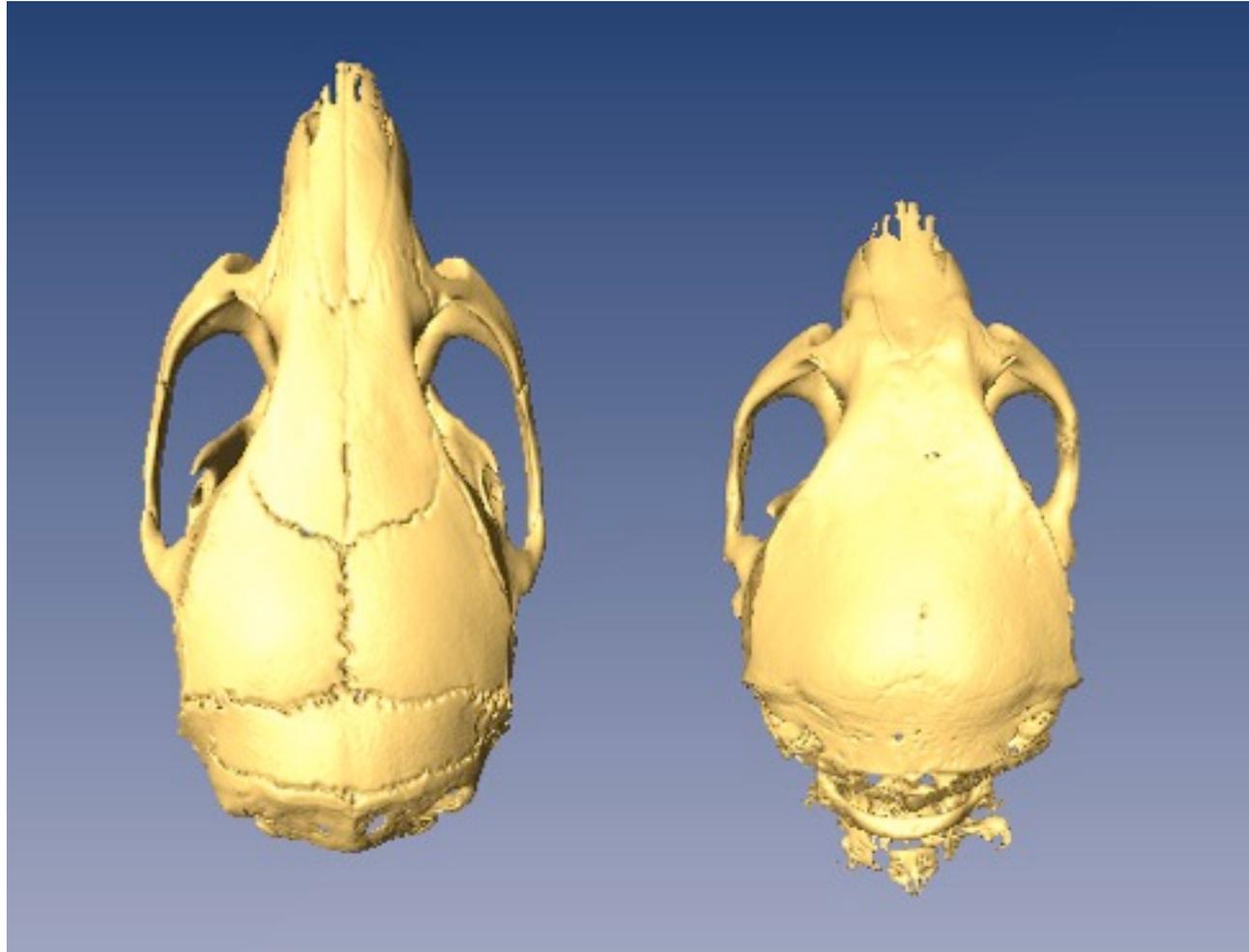


Miura et al., J.Anat. in press.

# 基質因子のベースの活性( $a_0$ )による パターンの変化



# 実験的に $a_0$ を増加させた場合



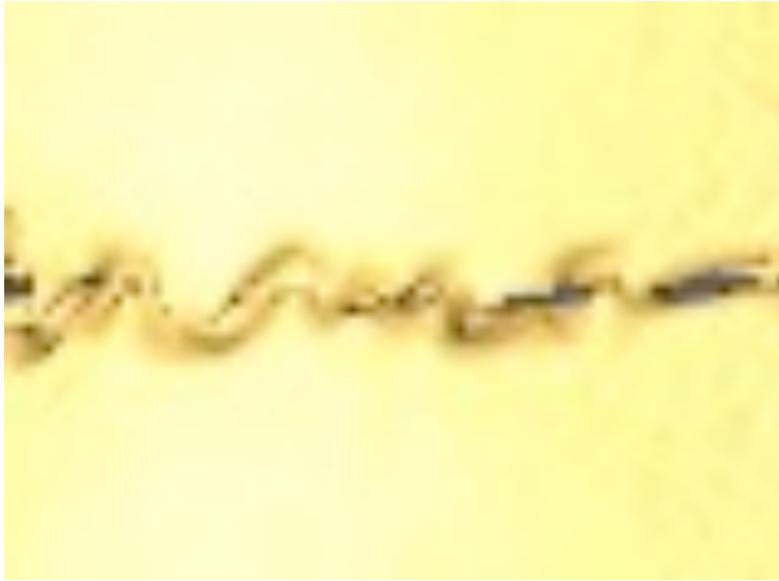
野生型

FGFR2の活性↑

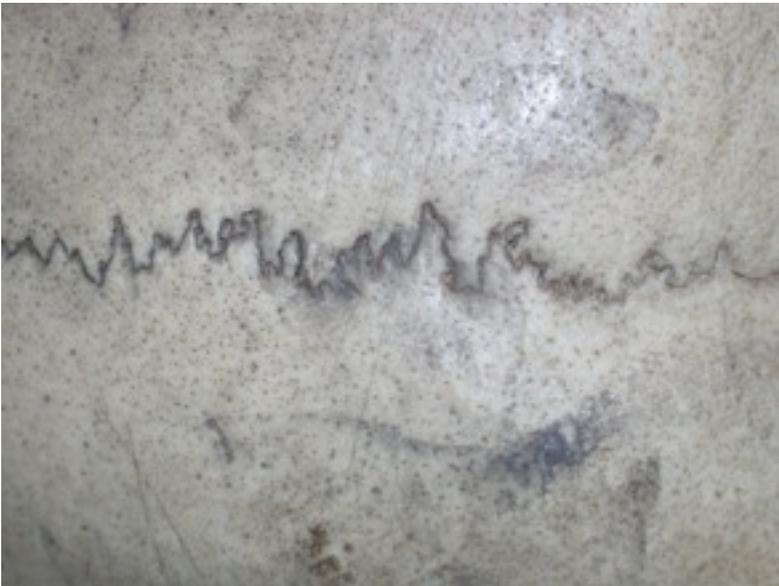
Miura et al., J.Anat. in press.

# 表裏で曲がり方が違う

Mouse



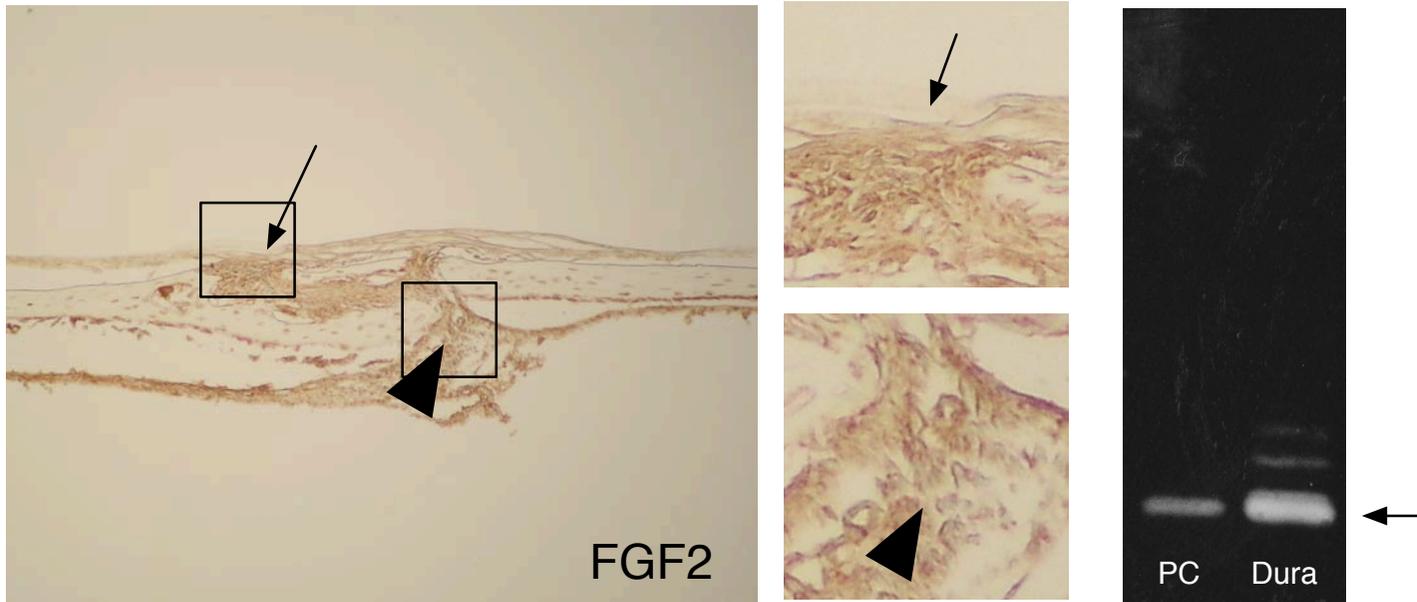
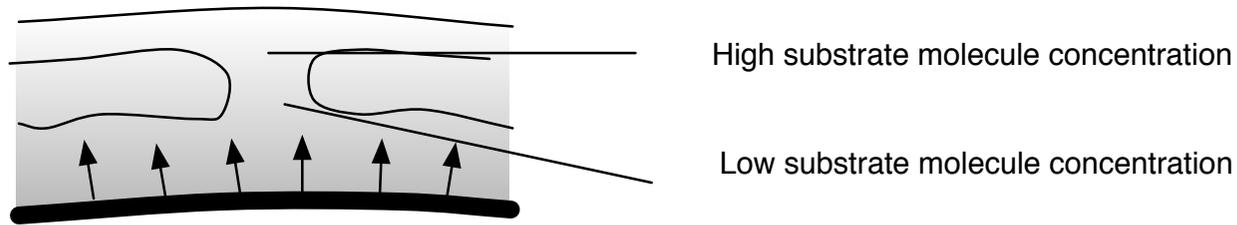
Human



Superficial

Deep

# 硬膜から分泌される基質因子



Miura et al., J.Anat. in press.

# 更に複雑な構造

Human lambda suture



入り組んでいてさらに一本線でできている

# 前述のモデルでは 迷路パターンになってしまう

- 出芽が多すぎる...

パターンを

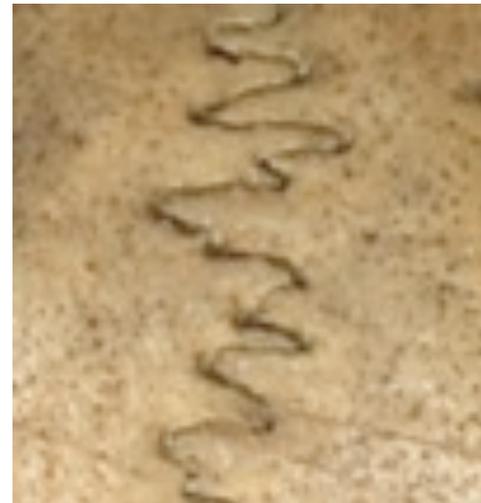
一本の線にするには？

# 実際のパターン形成の観察

- 年齢とともに縫合線の組織が細くなる
- 間葉組織の線維化が進む > 拡散係数の変化？



新生児



成人

# 時間依存パラメータ

$$\begin{aligned}u' &= u - u^3 + a_1 v + a_0 + h(t) \Delta u \\v' &= \epsilon(-u - v) + h(t) \delta \Delta v\end{aligned}$$

$h(t)$ : Exponential decreasing function with  $t$

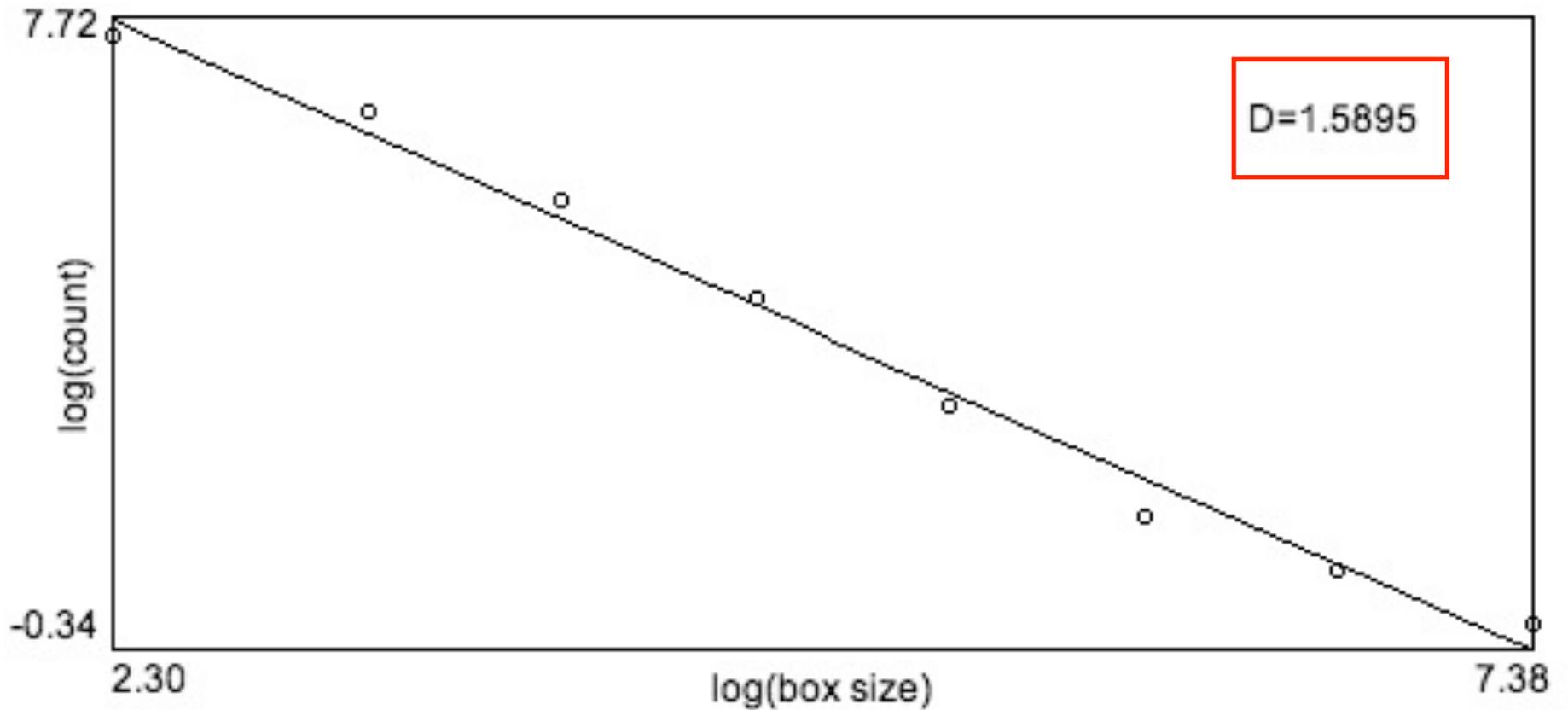
# 数値計算



- 一本の線に出来る

Miura et al., J.Anat. in press.

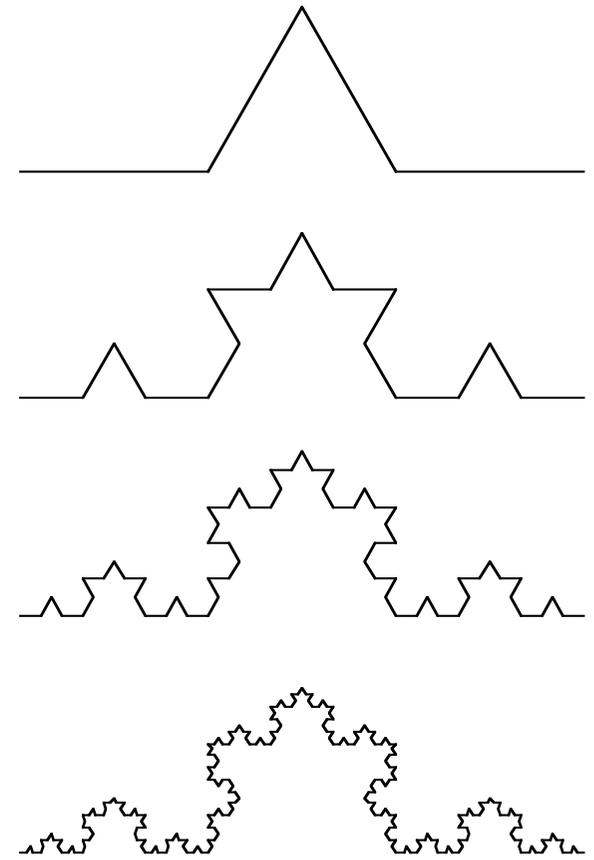
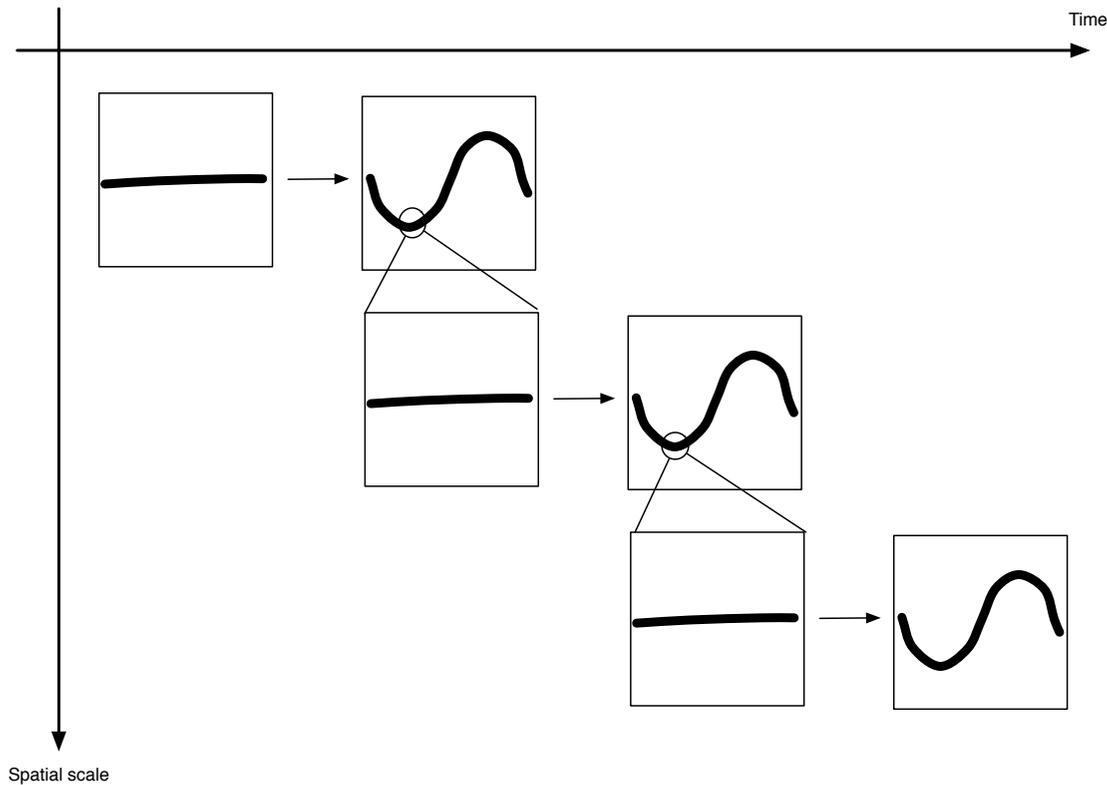
# フラクタル次元



Miura et al., J.Anat. in press.

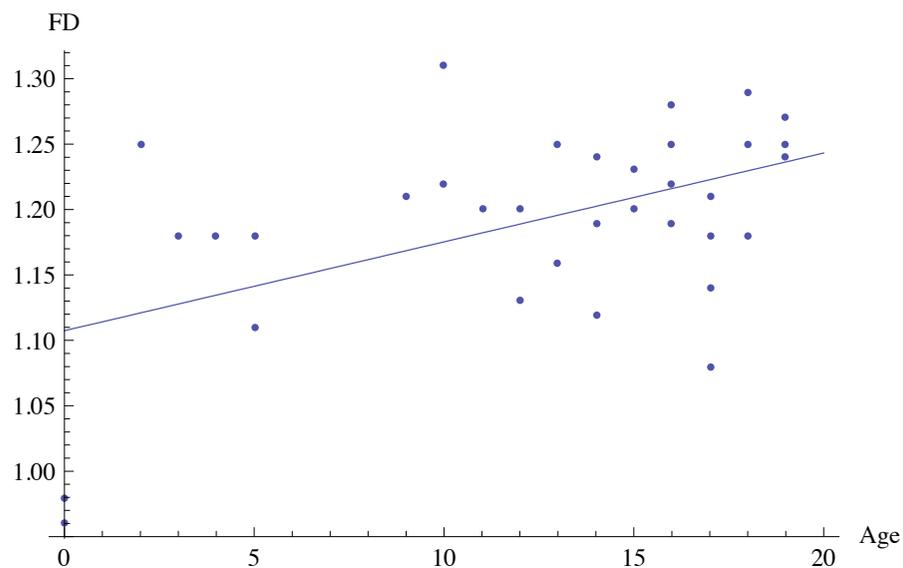
# 直感的説明

## Koch 曲線

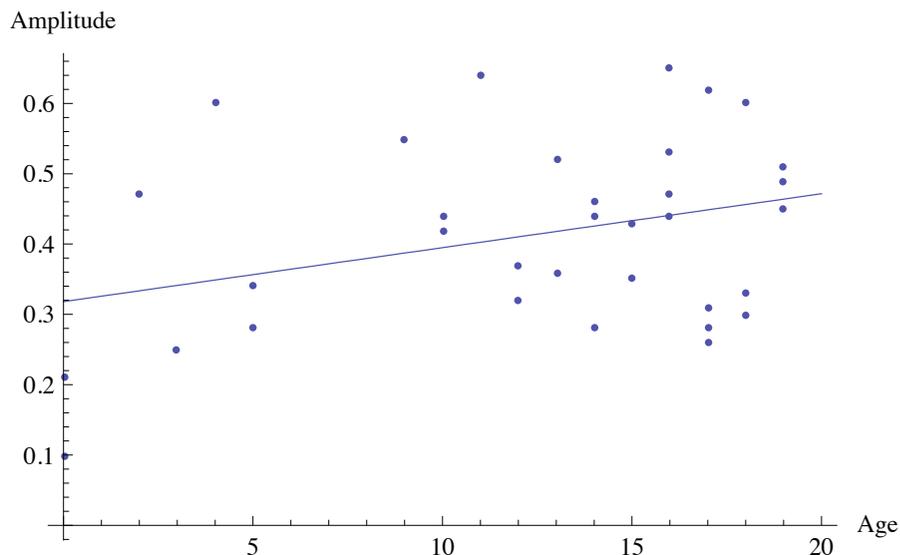


Miura et al., J.Anat. in press.

# 本当にそんなでき方を しているか？



R=0.51



R=0.33

個人差が大きい + 若い標本が少ない  
> ヒトではよくわからない

# 結論

- 頭蓋骨縫合線のパターン形成のモデルを定式化した。
- 現象のうちいくつかは説明できる。
- モデルをベースに実験がデザインできるようになった。

カメ。



# 43rd Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists

Jointly Sponsored by the  
**Asia-Pacific Developmental  
Biology Network**

**June 20 - 23, 2010**

Shiran Kalkan & Kyodal Kalkan &  
Kyoto International Community House (June 20, 2010)  
Kyoto International Conference Center (June 21 - 23, 2010)

**Chairperson:**

Tadashi Uemura (Kyoto University)

**Plenary Lectures:**

Co-organized by  
Institute for Integrated Cell-Material Sciences (iCeMS) at Kyoto University  
Prof. Eric Wieschaus (Princeton Univ.)  
Prof. Roel Nusse (Stanford Univ.)

**Symposium:**

Gamete stem cell  
EvoDevo & comparative genomics  
Developmental timing and growth control: Hormones, microRNAs  
and beyond  
Cellular mechanics in embryogenesis  
Spreading iPS research  
Nuclear reprogramming: from germ to clone animal  
Quantitative biology of spatiotemporal dynamics in development  
Regulatory genetic network controlling cellular dynamics and  
organ morphogenesis  
Organelle dynamics and functions during development  
After Turing: Towards novel mathematical modeling of biological forms  
Regeneration: from model animals to human tissue engineering  
Toward acquisition of brain function  
Organogenesis: diseases and their models

<http://www.jsdb.jp/kaisai/jsdb2010/>



# 問題

生物現象の数理モデル化がなぜ難しいのか  
自分の研究対象を例に挙げて説明しなさい