

研究報告書

「白血球走化性現象の解明と個別化癌治療への応用」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成27年10月～平成31年3月

研究者: 杉山 由恵

1. 研究のねらい

白血球走化性のダイナミクスを解明し、個別化癌治療への応用を試みた。具体的には、生体外実験として「マイクロ流路を用いた再現性のある細胞遊走実験」を実施した。九大・阪大等の医学研究者の協力を得たが、明確な走化性現象を確認するに至らなかった。このような時期に、白血球が寄与する重要な疾患に血栓化があること、更に、血栓化がステント留置による脳動脈瘤治療に活用されているとの知見を得た。血栓化の生体内現象を視覚化した種々の動画を確認し、血管に生じる血栓化過程が、液体(血漿)と固体(血液細胞)による固液二層流と捉えられることと結論付け、流体の自由境界値問題として同現象を定式化することを研究課題とした。同モデルは数学的な解析研究対象として新規性のあるものであり、かつ、凝集現象を記述する汎用性の高い数理モデルであるところに特徴と有用性がある。以下の具体的課題を研究のねらいとした。

■【汎用型数理モデルの構築】

生命科学・物理学には、“個体(物質)の密度及び勾配に依存して、壁面に個体(物質)が成長・凝集”する現象が多く現れる。そこで、同現象を広く記述する数理モデルの確立する。

■【社会的課題への応用1: 脳動脈瘤の増大・破裂指標の精度向上】

幅広い数学分野と、臨床医学・基礎医学や生物学分野を融合し、脳動脈瘤増大・破裂予測指標の精度向上を目指す。

■【社会的課題への応用2: 脳動脈瘤治療過程における血栓化ダイナミクス解明】

汎用型数理モデルの応用例として、医学・数学の異分野融合研究により、脳動脈瘤治療過程における血栓化ダイナミクスを説明する数理モデルを構築し、ステント留置時の血栓形成過程を予測するシミュレータの開発と臨床応用を目指す。

2. 研究成果

(1) 概要

■研究テーマ A

【汎用型数理モデルの構築】

(I) 数理モデル:

個体(物質)の密度及び勾配に依存する flow を持つ常微分方程式を考え、同式を支配方程式とする曲面を“自由境界”として導入し、二層(液体-個体)を分離する界面を通して、拡散-凝集構造を記述する数理モデルを構築した。

(II) 数学解析:

本研究では、体積保存則を有さない現象を自由境界値問題として定式化し、その時間局所適切性の解析手法を確立した。同手法では、Lagrange 変換を用いて非退化準線形放物

型方程式系に帰着させ、固定境界値問題として可解性を保証する。

■研究テーマ B

【社会的課題への応用1:脳動脈瘤の増大・破裂指標の精度向上】

脳動脈瘤の保有率は高い(全人口の 5%と推定される)。一方で、破裂率は、毎年新たに診断される脳動脈瘤の 1%程度に留まる。しかしながら、一旦破裂をすれば致死率は 30%に上る。治療法は、外科的手法に限られており、治療リスクも軽視できない。治療要否は瘤の形態診断によるが患者個々の破裂リスクや治療効果を形態から予測できないことが問題となっている。

本研究では、青木友浩氏(国立循環器病研究センター)が人為的に誘発したラット動物モデルの動脈瘤 DICOM データを用いて、シリコン製3D 鋳型モデル(鏡面仕上げ)を作成し PIV (Particle Image Velocimetry; 粒子画像流速測定法)実験を行った。これにより、血液細胞を模擬した粒子(ヘマトクリット値 20%)を含むビーズが血流中を流動する動画を撮影し、その流線を実測することが出来た。上記のデータを用いることで、脳動脈瘤発生指標とされる指標の数値化が可能となった。

■研究テーマ C

【社会的課題への応用2:脳動脈瘤治療過程における血栓化ダイナミクス解明】

◎シミュレータ開発

(I) 上述の PIV 実験データを併用し、血流シミュレータの支配方程式(Navier-Stokes 方程式)の改良指針を与えた。また、血管分岐部の流れ関数(吸い込みと湧き出し関数)を具体的に明示した。

(II) 「血流シミュレーション」を発展させ、瘤治療時の内腔閉塞過程(血栓化過程)をシミュレーションする技術(以降「血栓形成シミュレータ」と呼称)を OpenFOAM を用いて開発した。

(2) 詳細

■研究テーマ A

【汎用型数理モデルの構築】

(I) 数理モデル: 個体(物質)の密度及び勾配に依存し、空間変数をパラメータとしたflow を持つ常微分方程式を考え、同式を支配方程式とする曲面を“自由境界”として導入し、二層(液体-個体)を分離する界面を通して、多様な拡散-凝集構造(例: 血栓形成, 雨水, 金属成長)を記述する数理モデルを構築した。本報告書では、同モデルを汎用型数理モデルと呼称し、以下に数式を記載する。(特許申請を計画しているため、モデルに課す構造条件は略記載。)

Notation

$$\mathbf{D}(\mathbf{v}) = \frac{1}{2}(\nabla \mathbf{v} + (\nabla \mathbf{v})^T) \text{ (symmetric tensor)}$$

$$\mathbf{I} : \mathbb{R}^N \text{ identity matrix}$$

$$\text{Div}(\mu \mathbf{D}(\mathbf{v}) - p \mathbf{I}) \text{ in } \bigcup_{0 < t < T} \Omega_t \times \{t\}$$

Free boundary and domain

$$(E) \left\{ \begin{array}{l} S_t = \{x \in \mathbb{R}^N \mid \mathbf{n}_x \equiv \mathbf{G}_t(\mathbf{F}, \nabla \mathbf{F}) \in \partial \Omega_0\}, \quad \Omega_t = \{x \in \mathbb{R}^N \mid x \in \bigcup_{0 < t' < T} S_{t'} \cap \{t\}\}, \\ \text{where } \mathbf{v} = \mathbf{v}(\mathbf{x}, t) \text{ is a solution to the Cauchy problem:} \\ \quad (\mathbf{F}, \mathbf{v})|_{t=0} = (\mathbf{F}_0, \frac{\partial \mathbf{x}}{\partial t} \mathbf{v}) \text{ (} t > 0\text{),} \quad \mathbf{x}|_{t=0} = \xi. \quad \text{in } \Omega_0 \\ \quad \Omega_t|_{t=0} = \Omega_0 \end{array} \right.$$

上記数理モデルは、凝集現象を記述出来るところに特徴がある。実際に、自然界に現れる多彩な現象を記述し得るもので、数学の強みを生かした汎用性・普遍性を実現している。(特許出願を予定しているため、個別事象の具体式は略する。)

(II) 数学解析:

初期値問題の“時間局所適切性”の解明は、非線形偏微分方程式の研究において共通する極めて重要な問題意識である。ここで、“時間局所適切性”とは、解が時間局所的(短い時間幅)に“存在”し、かつ“一意(1 つしか存在しない)”であることを言う。同適切性は、数値シミュレーションを安定して実行する場合に不可欠な方程式の性質である。

上記の汎用型数理モデルについて、時間局所適切性を証明した(固定境界条件下での証明手法は[論文:1,2,3,4]で開発)。流れ場自身が自由境界を形成する型の自由境界値問題については従来研究がある。同問題では、流れ場には体積保存則が成り立つ。一方で、(固液二層流体型で)物質が流体を押し上げることに起因して自由境界が形成される場合、流れ場における体積保存則が維持されない。同則の欠如により、従来手法による数学解析は困難を極める。実際、研究成果は移動境界値問題に限定され、自由境界値問題の研究は立ち遅れてきた。

本さきがけ研究では、血流中の血栓形成を典型例とする体積保存則を有さない現象を自由境界値問題として定式化し、その時間局所適切性の解析手法を確立した。同手法では、Lagrange 変換を用いて非退化準線形放物型方程式系に帰着させ、固定境界値問題として可解性を保証する。

■研究テーマ B

【社会的課題への応用1: 脳動脈瘤の増大・破裂指標の精度向上】

◎社会ニーズ: 脳動脈瘤の保有率は高い(5%)一方で、瘤の破裂率は年1%程度に留まる。



しかしながら、一旦破裂をすれば致死率は 30%に上る。治療法は、外科的手法に限られており、治療リスクも軽視できない。治療要否は瘤の形態診断によるが患者個々の破裂リスクや治療効果を形態から予測できないことが問題となっている。

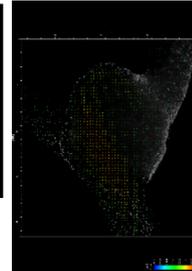
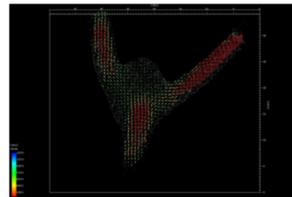
◎PIV(Particle Image Velocimetry; 粒子画像流速測定法):青木友浩氏(国立循環器病研究センター・研究所分子薬理部・室長)は、ラットの総頸動脈吻合により新規血管分岐部を作成し、そこに動脈瘤を誘発するモデル動物を樹立している。同氏が人為的に誘発した動脈瘤 DICOM データを用いて、シリコン製3D 鋳型モデル(鏡面仕上げ・右写真)を作成し PIV 実験を行った。これにより、血液細胞を模擬した粒子(ヘマトクリット値20%)を含むビーズが血流中を流動する動画を撮影し、その流線を実測することが出来た。



実験に際し、以下をさがけ研究者自身で選定・準備した。

- (i) 還流装置(心拍再現機能をもつ)
- (ii) 疑似血液(赤血球と同サイズのビーズとヒト粘性をもつ)
- (iii) 3D シリコン瘤(動物実験による瘤の DICOM データを青木氏が提供)
- (iv) 赤血球を模した蛍光ビーズ

動画撮影は、西華デジタルイメージング社において、同社の設備を用いて行った。撮影の部位・断面は本さがけ研究者が決定し、微粒子撮影の困難さを克服するための詳細は、同社の高い技術支援を受けた。同撮影によって取得したデータを用いることで、脳動脈瘤発生指標とされる以下の指標を数値化することが可能である。



- Wall Shear Stress (WSS): 脳動脈瘤壁におけるせん断応力
- Oscillatory Shear Index (OSI): WSS ベクトルのゆらぎ
- WSS Gradient (WSSG): WSS の分布の均一性を評価するせん断応力勾配
- Gradient Oscillatory Number (GON): WSSG ベクトルのゆらぎ
- Aneurysm Formation Indicator (AFI): 瞬時 WSS ベクトルと時間平均 WSS ベクトルの角度

■研究テーマ C

【社会的課題への応用2:脳動脈瘤治療過程における血栓化ダイナミクス解明】

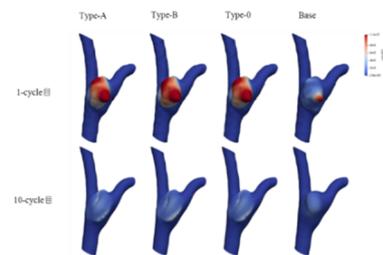
◎社会ニーズ:

(I) 治療効果予測:フローダイバーター(以降, FD と略記)留置術は欧州(2008 年)や米国(2011 年)での承認に引き続き, 国内承認(2015 年)を得ている医療機器である。FD 留置術とは, メッシュ状の細密ステントを瘤ネック部に留置し瘤内血流速度を低減させることにより, 瘤内腔を完全閉塞(血栓化)する治療法である。低侵襲の画期的な治療法であるが, 治療1年経過時の瘤内腔閉塞率は7割程度に留まることから, 治療効果の予測技術開発が待ち望まれている。

(II) 血流シミュレータ:脳動脈瘤の治療法は外科的手法に限られており, 治療リスクも軽視できない。治療要否は, 瘤の形態診断によるが, 患者個々の破裂リスクや治療効果を形態

から予測できないことが問題となっている。近年、次世代診断治療支援技術として「血流シミュレーション」への期待が高まっている。同シミュレーションは、患者体内で生じている血流状態をコンピュータ上で再現するものであり、瘤の病態と血流の関連性を利用し、血流の良性・悪性を評価する新しい試みである。厚労省・PMDA・国立衛研は、その加速的普及に備え「血流シミュレーション」のガイドライン整備事業を進めている。

◎**血栓形成シミュレータ開発の新規性と必要性**：「血流シミュレーション」を発展させ、瘤治療時の内腔閉塞過程（血栓化過程）をシミュレーションするソフトウェアを「血栓形成シミュレータ」と呼称する。瘤内腔の血栓化過程を視覚化したシミュレータの実用化事例はなく、その技術も未開発である。本研究では、同技術とそれに基づくシミュレータの開発を目指した。



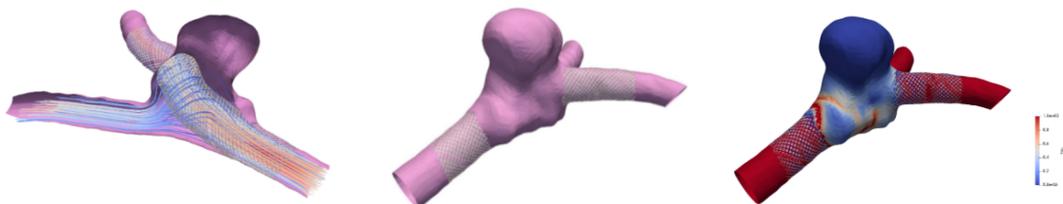
特に、血栓内の細胞運動を数理モデル化し、血栓化の諸過程を記述する数理モデルを構築・利活用するという、従来にはないアプローチを採用した。結果、「鬱滞部位に血栓形成が促進される」という仮説のもとで、OpenFOAM を用いたコーディングと Paraview により、血栓形成による瘤閉塞過程を視覚化することに成功した。

◎**シミュレータ開発**

(I) 研究テーマ B に記載の PIV 実験データを併用し、血流シミュレータの支配方程式 (Navier-Stokes 方程式) と境界条件の改良指針を与えた。具体的には、拍動を考慮するとき、旋回流と速流が反復されることを PIV 実験で検証し、同現象を反映するように、流入境界条件を課すことを提案した。更に、圧力境界条件を課さず、速度境界条件のみにより、シミュレーションが収束するための数式条件を提案した。また、血管分岐部には、流れ関数(吸い込みと湧き出し関数)が発生していることを PIV 実験により検証し、この現象が陽に関数により明示可能であることを示した。

(II) 青木氏によるラット動物モデルの「脳動脈瘤の増大・破裂の時系列データ」を用いて、瘤内の血流場の数値シミュレーションを実施した。

(III) 上記 (II) の「血流シミュレーション」を発展させ、瘤治療時の内腔閉塞過程（血栓化過程）をシミュレーションする技術である「血栓形成シミュレータ」を OpenFOAM を用いて開発した。具体的には、研究テーマ A の数理モデルに対して、壁面での粘性せん断応力に応じた補助関数を導入し、血流鬱滞部に血栓形成が促進される様態を再現する数値シミュレーションを実施した。更に、FD 留置が与える血栓化ダイナミクスのシミュレーションに成功した。上記の成果の一部は、[研究集会発表:2,3,4]において発表した。



血栓形成シミュレーション結果(ラット動物モデルの実血管形状を利用)

3. 今後の展開

医数工連携により、以下の項目の研究を継続・発展させる。

■【汎用型数理モデル】本研究では、流体影響下における拡散-凝集現象を記述する数理モデルを提案した。同モデルは、自由境界条件を考慮することで、構造変化を取り扱えることに特徴がある。今後は「ちぎれ・はがれ」などの特異現象を記述するモデルを構築し、数学解析により時間局所適切性や漸近挙動・特異構造を詳らかにする。これにより、多様な現象についてシミュレータ開発が進むことが期待される。

■【社会的課題への応用1:脳動脈瘤の増大・破裂指標の精度向上】本研究では、脳動脈瘤の血管形状 STL データを利用した PIV 実測により、流れベクトル場の視覚化に成功した。今後は、同ベクトル場の数学的記述を試みる。このための有効な手法に「偏微分方程式」「確率微分方程式」「トポロジー」の各アプローチが挙げられる。上記を融合して、数学による脳動脈瘤増大・破裂指標の開発と精度向上を目指す。

■【社会的課題への応用2:脳動脈瘤治癒過程における血栓化ダイナミクス解明】汎用型数理モデルの応用例として、脳動脈瘤治癒過程における血栓化ダイナミクスを説明する数理モデルを構築し、「鬱滞効果」を仮説に採用した血栓形成過程の予測シミュレーションの実施に成功している。特に、FD 留置術による脳動脈瘤治療は、血栓形成を誘発するものであるため、形態診断のみでは対応しきれない。それにも拘らず、治療適否の意思決定は、形態診断(サイズ, 不整度, 部位)に大きく依存しているのが現状である。そこで、本研究で開発した「血栓形成シミュレータ」を活用し、同シミュレータの医療機器への発展を目指す。同機器開発が進めば、血栓形成進捗評価の指標提案が可能となり、その結果として「(患者個々に異なる)テーラーメイド治療効果の予測診断技術」確立に向かうことが出来る。今後は、新たな研究費を獲得して、医数工の融合研究による仮説実証を行い、シミュレータ開発と臨床応用(特許取得)を目指す。

4. 自己評価

■研究目的の達成状況

計画より進展の大きかった課題を以下に挙げる。

【数理モデル構築とその汎用性】

走化性・拡散性を考慮し「成長・凝集」を普遍的に扱うことの出来る数理モデルを構築しており、粒子法などコーディングの幅が広がることにより、今後は産業界との連携が見込める。

【血栓形成シミュレーション】

血栓形成現象を固液二層の自由境界値問題として定式化した。従来の医工連携による血流シミュレーション(CFD(数値流体力学)解析)を発展させ「鬱滞部位と血栓成長速度」の相互関係を反映させた血栓形成シミュレーションを実施出来た。

【非線形数学解析の発展】

体積保存則は成り立たない自由境界値問題に数学解析では、解の一意存在定理を証明した。

■【PIV 実験】以下(i),(ii),(iii)を反映した PIV 実験で動画撮影に成功した。このために、還流装置開発技術者・疑似血液製造会社・PIV 動画撮影会社・シリコン瘤作成会社との綿密な打ち合わせ・議論を経て、以下を反映した実験系を本さきがけ研究者自身で樹立出来た。(下記を反映することの生物学的視点での重要性については、青木氏の助言を得ている。)

- (i) 血液細胞の血液中体積率; (ii) 心拍; (iii) 血液粘性

【CFD 解析】CFD 解析には支配方程式の正当性検証が欠かせない。上記の PIV 動画撮影により、同検証に必要な現象把握を行う手法を確立出来た。具体的には、瘤内の流れ場に関する「流線の時系変化(渦流から速流への遷移)」の描画に成功しており、同画を用いることで、今後の数学解析(「偏微分方程式」「確率微分方程式」「トポロジー」)による支配方程式検証に有効・有用なデータの取得手法を確立出来た。

■研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)

●研究実施体制 研究補助員を雇用し、研究推進を図ったことは有効であった。

- (i) 実験補助(2名); (ii) 数学解析補助(4名/3.5年間)

●執行状況 以下の項目で必要額に応じた適切な使用を行った。

- (i) 人件費; (ii) 実験消耗品; (iii) 研究委託; (iv) シミュレーションソフト; (v) 旅費

■研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果(今後の見込みを含む)

脳動脈瘤内の流体现象について PIV 実験により把握が進んだ。これにより、CFD の支配方程式改良を実瘤形状に即して試みる事が可能となった。この成果は、CFD シミュレータ開発に資するもので、今後の波及効果としては、医療現場の医師が求める脳動脈瘤破裂予測やステント留置時の瘤閉塞予測に関わる CFD ソフト開発が期待出来る。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- | |
|---|
| 1. J. A. Carrillo and <u>Y. Sugiyama*</u> , Compactly supported stationary states of the degenerate Keller–Segel system in the diffusion–dominated regime, Indiana University Mathematics Journal (in press). |
| 2. H. Kozono, M. Miura and <u>Y. Sugiyama*</u> , Existence and uniqueness theorem on mild solutions to the Keller–Segel system coupled with the Navier–Stokes fluid, J. Funct. Anal., 270, 1663–1683, 2016. |
| 3. T. Kawakami and <u>Y. Sugiyama*</u> , Uniqueness theorem on weak solutions to the Keller–Segel system of degenerate and singular types, J. Differential Equations, 260, 4683–4716, 2016. |
| 4. <u>Y. Sugiyama*</u> , Partial regularity and blow–up asymptotics of weak solutions to degenerate parabolic system of porous medium type, Manuscripta Math., 147, 311–363, 2015. |

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

〈総説〉

1. 杉山由恵, 微分方程式を導出する一偏微分方程式,「数理科学」, 2018年11月号.

〈招待講演〉

2. 杉山由恵, 医数工連携による血栓形成数理モデル構築と CFD シミュレーション, 九州大学マス・フォア・インダストリ研究所(於九州大学), 2019.3.22.

3. 杉山由恵, On the structure of solutions of Keller–Segel systems with fluid and its application to life science, 大阪大学数学教室 微分方程式セミナー (於 大阪大学), 2018.5.11.
 4. 杉山由恵, Global existence and finite time blow-up criterion of solutions to the Keller–Segel systems coupled with the Navier–Stokes fluid, Interactions between Partial Differential Equations & Functional Inequalities, Intstitute Mittag-Leffler, Sweden, 2016.9.15.
 5. 杉山由恵, Mathematical Modeling and Analysis of Chemotactic Cell Migration, 生命動態システム科学拠点セミナー (於 京都大学), 2015.11.6.
- 〈学会発表〉
6. 今岡健汰朗, 中村匡徳, 杉山由恵, 杉田修啓, ”コラーゲン繊維の蛇行度を考慮した血管壁の構成法則-大動脈瘤破裂予測に向けて-“, 第 27 回ライフサポート学会フロンティア講演会, 2018.3.9-3.10, 東京.