

「生命現象の革新モデルと展開」研究領域 領域活動・評価報告書

—平成22年度終了研究課題—

研究総括 重定 南奈子

1. 研究領域の概要

本研究領域は、多様な生命現象に潜むメカニズムの解明に資する斬新なモデルの構築を目指す研究であって、治療、防疫、環境保全などに貢献できる予測力や発展性に富む研究を対象とする。

具体的には、環境へ適応しつつ合目的に機能していると見られる生命システムの、遺伝子発現、細胞の機能と動き、発生・形態生成、免疫、脳の高次機能、生物社会の形成、生態系などの制御機構や、老化や疫病などのメカニズムに対して統合的かつ数理科学的な理解を可能にするモデルの構築を通じて、課題解決への手がかりを与える革新的で基盤的な研究を対象とする。

2. 研究課題・研究者名

別紙一覧表参照

3. 選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

- 1) 選考は「生命現象の革新モデルと展開」領域に設けた選考委員10名と研究総括で行った。
- 2) 選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とした。
- 3) 選考にあたっては、募集要領に示された共通の選考基準(戦略目標、領域趣旨に合致、本人の着想、独創性、手掛かり、インパクト、適切な規模)に加えて、当領域として次の点を重視した。
 - ① 査読選考にあたっては、独創的な数理モデルの提案であること、どのような数理モデルを用いて何をどこまでしようとしているかが明確に提案されているか。
 - ② 書類および面接選考にあたっては、ミクロからマクロまでの様々なレベルの生命現象に対する研究課題を可能な範囲でバランスよく選考し、同レベルの評価を得た提案については、若い人や女性のピックアップと、研究機関・地域のバランスに配慮する。

4. 選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー3名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補者を選定した。

選 考	書類選考	面接選考	採用者
対象者数	174 名	25 名	11 名

採用者 11 名のうち 1 名は出産・育児でライフイベントを 1 年間取得し、研究期間を 1 年間延長したので、H22 年度研究終了者は 10 名である。

5. 研究実施期間

平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究修了者のうち 1 名は途中で出産のためライフイベントを 3 ヶ月余取得したので平成 23 年 7 月まで延長。

6. 領域の活動状況

領域会議: 7 回

研究報告会: 1 回

研究総括(または技術参事)の研究実施場所訪問:

研究開始時に、研究総括と技術参事、事務参事が研究現場を訪問し、研究状況の把握と研究環境、設備等の確認、並びに研究者の上司への協力依頼を行った。本人からは、研究内容、設備、施設の状況の説明を受け、研究総括からは研究の方向づけや進め方についてアドバイスした。

その後は、研究進捗状況のフォローアップ、研究実施場所移動時の研究環境確認、物品確認、特許出願や個別相談などで、技術参事、事務参事が適宜訪問し、各研究者の個別問題把握とそれに対する支援を行った。

7. 評価の手続き

各研究者からの報告・自己評価をにもとに、領域アドバイザーの協力を得て行った。また領域会議での研究進捗状況発表や外部発表の内容を考慮した。さらに一般公開の研究報告会の参加者からの意見、質疑応答の内容も参考にした。

(評価の流れ)

平成 19 年 10 月～
平成 23 年 3 月 研究期間終了
平成 23 年 2 月 研究報告会開催
平成 23 年 3 月 研究報告書提出
平成 23 年 3 月 研究総括による評価

8. 評価項目

- (1) 研究計画提案書の目標に対する研究課題の達成度
- (2) 外部発表(学術論文、口頭発表など)、特許など研究成果の発信状況
- (3) 学術賞、学会招待講演、新聞記事発表など外部からの評価状況
- (4) 得られた研究成果の科学技術への貢献度

9. 研究結果

平成 19 年度に採択した研究者 10 名(第 1 期生:ライフイベントによる研究期間延長者 1 名を除く)の研究分野は、遺伝子発現や細胞の機能と働きに関するミクロな階層を対象とする研究が 4 名、発生・形態形成や脳の高次機能を対象とする中間的階層の研究が 3 名、生態・遺伝・進化のようなマクロな階層の研究が 3 名であった。このように研究対象はミクロからマクロまで多岐にわたっているが、数理モデルという共通のツールを使用することで相互の理解が生まれ、領域会議をきっかけとして 1 期生同士および 2 年目以降に参画した 2 期生、3 期生との交流も積極的に行われた。

平成 23 年 2 月に実施した 1 期生修了者の研究報告会には、領域の関係者以外に外部から 85 名に達する予想を超える多数の参加者があった。コンピュータ関係など当該分野以外の研究者からの質問があったり、また、アンケートでは“生命現象を数学的なモデルで示すことに興味をもった”とか、“生命活動の根幹がまだまだ解明されていないことに驚き、奥が深いと感じた”等の感想もあり、革新的モデルを標榜する本領域に様々な分野の方々から関心が寄せられたと感じている。1 期生が着実に進めた研究成果が客観的に評価されたものと受けとめている。

遺伝子発現を対象とするミクロ分野においては、望月敦史研究者が、生体分子相互作用の制御ネットワーク構造とそこから生じる分子の活性ダイナミクスとを結びつける理論“Linkage Logic”を開発した。これは一般性が高く応用範囲の広い理論であり、この分野を代表する特筆すべき成果といえる。

細胞の機能と働きの分野においては、柴田達夫研究者が、細胞性粘菌においてシグナル伝達系が自己組織的に細胞極性を作り出す現象を発見し、それを基盤に細胞が濃度勾配を鋭敏に認識して走化性運動を引き起こすメカニズムを明らかにした。さらに細胞形態を考慮した細胞運動の数理モデル構築にも成功した。柴田研究者はこれら一連のシグナル伝達系の研究により、H22 年度文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞した。

この分野では、手老篤史研究者も、単細胞生物である真正粘菌が迷路を解いたり、人間が作った交通網と同様の効率のよい物質輸送ネットワークを作るという知的行動を示すことに対し、数理モデルを用いて理論的解明を行った。この研究は Science 誌に掲載され、さらに、2 度のイグ・ノーベル賞及び日本数理生物学会奨励賞の受賞に結びついた。また、本研究は、国内外のマスコミからも大きな関心が寄せられ、本領域の意義を一般に広める上で貴重な貢献をした。

発生・形態形成分野では、森下喜弘研究者が、これまで理論的にはあまり進んでいなかった器官形成プロセスのシステム的理解に取り組み、まず、情報理論を導入して細胞の位置情報の最適空間コーディング理論を構築し、ニワトリの四肢形成やショウジョウバエの初期発生過程でその有用性を示した。次いで提案した器官形態の変形に伴う幾何学量の統計的推定法は汎用性が高く四肢以外の器官発生や再生過程への応用も期待される。

脳の高次機能分野では、舘野高研究者が、実際の脳の神経細胞と計算機上に構築した数理モデルをハイブリッド化して大脳基底核の神経回路網の働きを探るという斬新なアイデアに基づいて薬物依存症に関わる回路網の機能解析を進めた。その過程でイメージング・ダイナミック・クランプ法という新たな計測系を開発す

ることに成功し特許出願に結びついた。基礎的な理論研究が多い本領域からも出願ができた例となった。また館野研究者は領域アドバイザーの合原一幸教授と共に Daiwa Adrian Prize 2010 を受賞した。

生態・遺伝・進化を対象とするマクロ分野においては、佐々木顕研究者が、インフルエンザウイルスの流行予測を理論的に行うという挑戦的で難度の高い研究課題に取り組んだ。その主要な成果として、大規模な宿主個体ベースシミュレータや多次元尺度法を導入して次年度の流行予測を可能にする応用性の高い数学理論を構築した。これはこの分野の代表的な成果といえる。

他の1期生も顕著な成果を挙げているので、各研究者の研究報告書を是非参照願いたい。

以上概観したように、数理モデルを共通のツールとするミクロからマクロに渡る多様な研究課題を採択して研究者の交流や成長に寄与したいとの本領域の当初の意図はかなり達成できたと考えている。新鮮な発想をもつ若手研究者が、ある期間個人型研究に集中し、自分のやりたいテーマを徹底的に追求することは、研究者人生にとって大変重要と考えられる。それを支援しようというさきがけの理念は大変優れていることが今回の経験から実感された。

10. 評価者

研究総括 重定 南奈子 同志社大学 文化情報学部 教授

領域アドバイザー氏名(五十音順)

合原 一幸	東京大学 生産技術研究所 教授
有田 正規	東京大学大学院 理学系研究科 准教授
巖佐 庸	九州大学大学院 理学院 教授
岡田 清孝	自然科学研究機構 基礎生物学研究所 所長
岸野 洋久	東京大学大学院 農学生命科学研究科 教授
郷 信広	理化学研究所 放射光科学総合研究センター 上級研究員
嶋田 正和	東京大学大学院 総合文化研究科 教授・副研究科長
本多 久夫	兵庫大学 健康科学部 教授
三村 昌泰	明治大学 理工学部教授
山口 陽子	理化学研究所 脳科学総合研究センター チームリーダー

(参考)

(1) 外部発表件数

	国 内	国 際	計
論 文	3	64	67
口 頭	119	44	163
その他	13	6	19
合 計	135	114	249

※平成23年3月現在

(2) 特許出願件数

国 内	国 際	計
1	1	2

(3) 受賞等

・柴田 達夫

H22年度文部科学大臣表彰 若手科学者賞 (H22.4)

・館野 高

Daiwa Adrian Prize 2010 (H.23.2)

・手老 篤史

Ig Nobel Prize 2008 (Cognitive Science) (H19.10)

第5回(2010年度)日本数理生物学会 研究奨励賞 (H21.9)

Ig Nobel Prize 2010 (Transportation Network) (H21.10)

(4)招待講演
国際 17 件
国内 31 件

「生命現象の革新モデルと展開」領域 研究課題名および研究者氏名

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職 (応募時所属)	研究費 (百万円)
佐々木 顕 (兼任)	病原体抗原型と宿主免疫の共進化動態の解明・将来流行予測 (総合研究大学院大学 先導科学研究科)	総合研究大学院大学 先導科学研究科 教授 (九州大学大学院理学研究院 准教授)	44
柴田 達夫 (兼任)	細胞膜－細胞質結合反応系による細胞情報処理の動作原理の解明 (広島大学大学院 理学研究科)	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター ユニットリーダー (広島大学大学院 理学研究科 准教授)	45
舘野 高 (兼任)	大脳基底核回路網のハイブリッドシステムモデリング (大阪大学大学院 基礎工学研究科)	大阪大学大学院 基礎工学研究科 准教授 (同上)	53
手老 篤史 (専任)	真正粘菌に学ぶ時間・空間に対する原始的インテリジェンス (北海道大学 電子科学研究所)	九州大学大学院 数理学研究院 准教授 (北海道大学 日本学術振興会 特別研究員)	36
富樫 辰也 (兼任)	性的二型の進化と生息環境に関する基本原理の解明 (千葉大学海洋バイオシステム研究センター)	千葉大学 海洋バイオシステム研究センター 教授 (同上 助教)	40
三浦 岳 (兼任)	上皮組織のかたちづくりを理解する (京都大学大学院 医学研究科)	京都大学大学院 医学研究科 准教授 (同上 助教)	41
望月 敦史 (兼任)	生体分子相互作用のネットワーク構造の力学的解明 (理化学研究所 基幹研究所)	理化学研究所 基幹研究所 主任研究員 (自然科学研究機構 基礎生物学 研究所 准教授)	34
元池 育子 (専任)	時間発展する樹状経路構造上の信号伝播様式 (京都大学物質－細胞統合システム 拠点)	科学技術振興機構さきがけ研究者 (はこだて未来大学 システム情報 科学部 助教)	27
森下 喜弘 (兼任)	形態形成ダイナミクスの新しいモデリング手法の構築 (九州大学大学院 理学研究院)	九州大学大学院理学研究院 助教 (科学技術振興機構 複雑系生命 プロジェクト 研究員)	40

山内 淳 (兼任)	生物多様性の統合理論の構築:ゲノム から生態系まで (京都大学 生態学研究センター)	京都大学 生態学研究センター 教授 (同上 准教授)	33
--------------	--	--------------------------------------	----

研 究 報 告 書

「病原体抗原型と宿主免疫の共進化動態の解明・将来流行予測」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究者：佐々木 顕

1. 研究のねらい

インフルエンザウイルス、AIDS ウイルスなど急速に進化する病原体は、ワクチンや薬剤に対する抵抗性を急速に進化させ、また宿主免疫の攻撃目標となるエピトープを変えることによって、ワクチン接種や自然免疫からエスケープする。表面抗原の特定の領域のアミノ酸配列で定義されるエピトープは、宿主免疫系との強い相互作用による頻度依存淘汰を受け、多次元配列空間のなかを「予測不可能な」軌跡を描いて進化し、また系統樹上の新しい枝が分岐し、多様化する。このような病原体の表現型（抗原型）と配列の進化を取り扱うための数学的理論の確立を目指した。

2. 研究成果

(1) インフルエンザの抗原連続変異：不連続進化とスリムな系統樹

1968-2009 のインフルエンザ A 香港型の表面抗原の表現型（その違いは免疫的距離で定義される）は、進化停滞期と飛躍期が繰り返す断続平衡的な進化を示す。このような不連続的な進化がどのようなメカニズムで起こるかを、ウイルスの抗原変異株の流行とそれに伴う宿主免疫構造の変化を結合させた動態モデルで解析した。交差免疫の幅とウイルスの突然変異の幅の比が閾値より小さいと、ウイルス集団の抗原変異の分布は、一次元抗原型空間上の孤立進行波として一定速度で進化し、宿主免疫系が同じ速度でそれを追う。一方、交叉免疫幅と突然変異幅の比が閾値を超えると断続平衡的な進化が起きる。これは、あるウイルス株が大流行すると、宿主集団の獲得免疫が免疫学的に近い変異株の増殖も抑え、十分な数の突然変異が蓄積するまで進化が停滞するためである。

インフルエンザ A 型ウイルスの表面抗原は、宿主免疫から逃れる変異体を有利にする頻度依存淘汰に駆動され、急速に進化する。この少数者有利の淘汰は、ウイルスの遺伝的多様性も促進するはずだが、その系統樹形は枝分かれの少ない直線状（サボテン型）に保たれている。このインフルエンザのシンプルな系統樹形の謎を解明するために、抗原決定座位に毎年定常的に変異が固定する単純な抗原連続変異モデルで、系統樹が枝分かれする条件を解析的に求めた。次に、詳細モデルとして、ウイルスの抗原決定座位配列で定義される遺伝子型と 10 万人規模の宿主個体の感染履歴の全てを追跡する、個体ベース共進化シミュレーターを開発した。この単純モデルと複雑モデルの双方の解析により、高速に進化し、かつ系統樹形が直線状に保たれるインフルエンザ A 型の進化パターンが維持されるためには、感染の季節性と宿主一般免疫による先住者効果（シーズン初期の流行が、後発の系統の侵入を抑制する効果）が最も重要であることが分かった（図 1）。

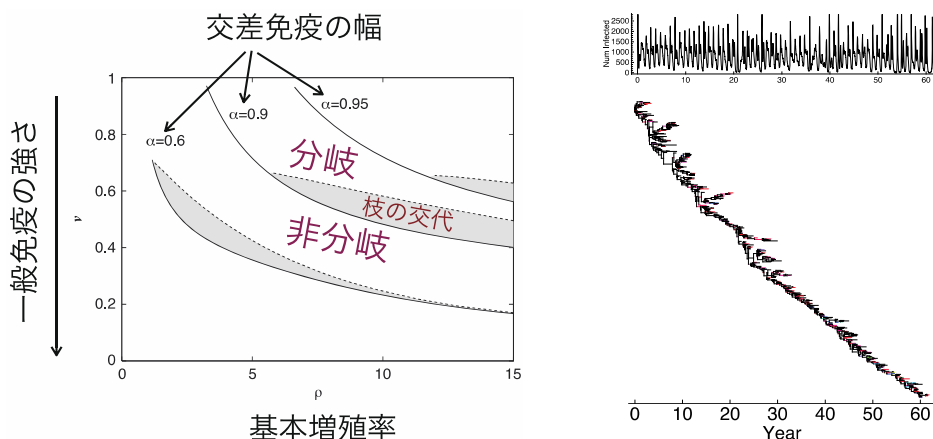


図1 インフルエンザ抗原連続変異モデルの相図。系統樹の分岐は非特異的免疫が強いとき抑制される(曲線の下「非分岐」領域)。交叉免疫の幅が広いほど(a が大きいほど)直線的樹形の領域は広がる(左)。個体ベース抗原連続変異シミュレーションで再現された長期にわたる抗原連続変異と直線的な系統樹(右)。

(2) 次に流行する系統はいつ出現するか？

あるエピトープをもつ系統(親系統)が宿主集団に出現し、流行がピークを迎え終息するまでのさまざまな時期に出現する突然変異体の定着確率を、突然変異体に感染した個体数に関する出生死亡過程として定式化した。親系統の流行に伴い、宿主免疫構造が変化するので、突然変異体の出生率・死亡率は時間依存する。定着確率に関する時間依存の「後ろ向き方程式」を解くことにより、親系統の流行の初期に生じた突然変異体の定着率が、流行中期・後期に生じた系統よりもずっと高いこと、つまり、突然変異体のなかで次の流行を担う系統は前年の流行のごく初期に生じたものに強く偏ることが解析的に明らかになった(図2)。感染力の季節性も考慮すると、春先に流行した系統から、その後のシーズンの流行を起こす系統が出現しやすいことも分かった。

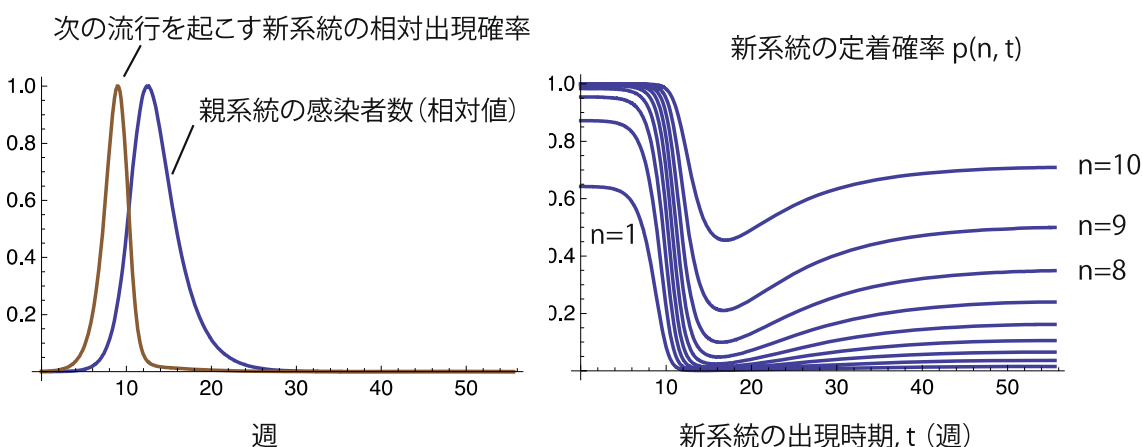


図2 親系統の流行曲線と、次の流行を担う新系統が出現する時期の確率分布(左)、新系統の定着確率 $p(n, t)$ の出現時期 t 依存性 (n は初期感染者数)(右)。基本増殖率は3、親系統に感染し回復した個体が、その子孫系統に感染する場合の基本増殖率は、交叉免疫によって20%に減少する場合。

(3) 多次元尺度法によるインフルエンザ抗原進化予測

ヘマグルチニンの抗原決定座位(エピトープ)配列の進化を、宿主集団の免疫応答とカップルさせた抗原連続変異(antigenic drift)個体ベースモデルでシミュレートした結果に、多次元

尺度法を適用することにより超多次元配列空間上の進化軌道が2～3次元空間上の軌道として再現できることを確認し、この進化軌道をもとに、過去の流行型のデータから次年度の抗原型を予測する理論の構築が可能であることを見いだした。

具体的には、過去40年間のA香港型(H3N2)ヘマグルチニンHA1領域のアミノ酸配列進化データ(DDBJ、2500配列)と、ウイルス抗原連続変異のシミュレーション結果の両方に、多次元尺度法を適用することにより、以下の結果を得た(図3)：

1. ウイルス抗原配列空間と宿主免疫状態の極めて高い次元性に関わらず、5～10年の直線的な進化トレンドを2～3次元の主座標空間で抽出できる。
2. 主座標空間上で進化軌道の方向が変わる時期は、ウイルスの系統樹上で主要なクレードが分岐する時期に対応する。
3. A香港型のアミノ酸配列進化に多次元尺度法を適用すると、1990年代初頭に主座標空間上の大きな方向転換が起こり、これは系統樹上でのクレード分岐に対応する。

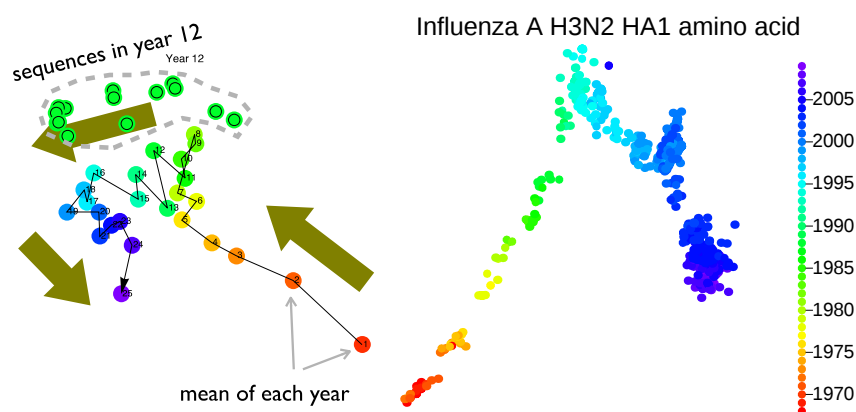


図3 個体ベース抗原連続変異シミュレーション結果に多次元尺度法を適用した結果(左)。部分的な直線トレンドと方向転換が見える。インフルエンザA香港型ヘマグルチニンアミノ酸配列から作成した多次元尺度法マップ(右)。1990年代の方向転換は系統樹のクレード交代に対応する。

(4) 口蹄疫農場ベースモデル

2010年宮崎県における口蹄疫流行に関して、農場ベース疫学モデルを適用し、流行の解析と予測をもとに有効な対策を提言するための研究を行った。OIE(国際獣疫事務局)に報告された感染農場基礎データから流行の時系列と空間的な伝播のデータを抽出し、農場を単位とする伝染病モデルを作成した。モデルを用いてパラメータの最尤推定や、今後の流行予測を行った。牛と豚の感受性、感染性のパラメータや農場間距離に対する感染力低減率などの基礎パラメータは、2001年の英国口蹄疫流行時に推定されたパラメータと驚くべき一致を示した。一方、農場の飼育頭数と農場の感受性、感染力との関係について、従来の農場ベースモデルはそれぞれが飼育頭数に比例するとしてきたが、飼育頭数に対する頭打ちの効果を入れると、尤度が大きく上昇することも分かった。未感染農場に関する流行の確率予測(リスクプロファイル)と、感染農場のまわりの環状農場処理など個々の対策の有効性を数量的に評価することが可能になった(図4)。

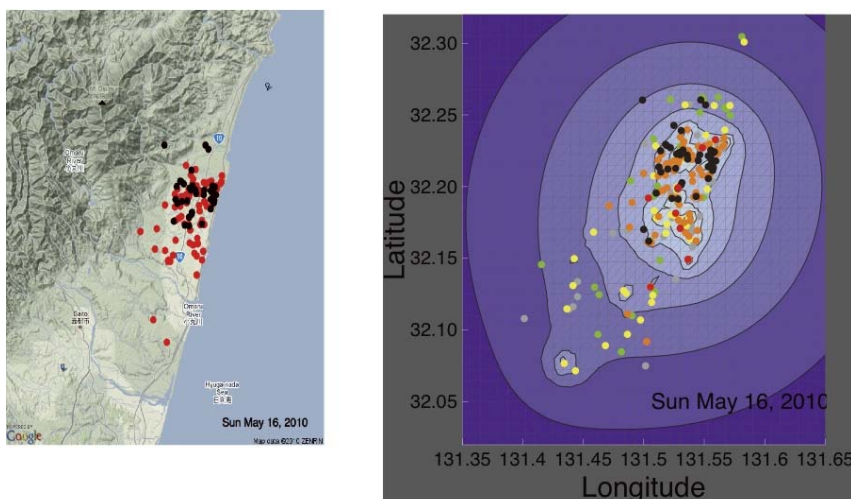


図4 2010年5月16日の宮崎県の口蹄疫感染農場(赤)と処理済み農場(黒)のデータ(左)。農場ベースモデルとパラメータの最尤推定値に基づく5月16日の感染リスクプロファイル(右)。

3. 今後の展開

インフルエンザに関しては、多次元尺度法によって低減した空間上の進化予測から、次年度流行型のアミノ酸配列への逆写像を行うステップを完成させることにより、翌年流行するウイルス株のヘマグルチニンアミノ酸配列予測を可能にする理論としての完成を目指す。

口蹄疫に関しては、今回の数理モデルベースの解析の有効性を国際学術誌や省庁でのセミナー等で訴えていく。また、数理モデルをベースにした政策提言の道を開くため、厚生労働省、農林水産省の行政担当者の協力を得て、農場の規模と位置情報、農場間の交通流動のデータベースの整備と、数理モデルとの統合を行う。

4. 自己評価

研究開始当初の目標は、抗原性の異なるインフルエンザウイルス系統と宿主免疫系の相互作用の動態をもとに、インフルエンザウイルスの進化予測を行い、翌年の流行型を予測することであった。インフルエンザウイルスの主要抗原は表面糖タンパク質のヘマグルチニンであるが、そのヘマグルチニンを構成するアミノ酸のうち、50～100におよぶ残基が抗原型の決定に寄与しているため、アミノ酸配列の組み合わせ可能性は膨大な数にわたる。また、それぞれの抗原型に感染することで獲得される特異的免疫が、多少異なる抗原型をも押さえる「交差免疫」の程度がアミノ酸配列間の差異によってどう決まるかも推定は難しい。このふたつの困難により、インフルエンザウイルスの進化予測は極めて難しい課題であった。ここに数理モデルを導入することで、予測を可能にするために、どのような理論体系を整備すればよいかが次第に明らかになった。

まず、着目したのはインフルエンザ A ウイルスの系統樹の単純性であった。免疫系から逃れることが有利になるため、新しい変異が次々と固定し、急速に進化をするインフルエンザウイルスが、なぜ単純な系統樹をもつのかは大きな謎であったが、そのメカニズムを理論的に解明することができた。また、系統樹の単純性が下に記述する進化軌道の低次元性の根拠となり、将来進化予測を可能にすることに気づいた。

Smith らが 2004 年に始めた、インフルエンザ系統間の遺伝的距離関係を低次元空間で再表現する試み(多次元尺度法)は、インフルエンザウイルスの進化軌道が本質的に低次元であってはじめて可能になるものである。これは、本課題で作成したウイルス抗原型進化の宿主個体ベースシミュレーターの試行結果に多次元尺度法を適用することにより明らかになったことである。また進化軌道の直線性と方向転換が、宿主免疫系・ウイルス抗原型共進化において何に対応するのかも明らかになった。

これらの発見をもとにインフルエンザウイルスの過去のアミノ酸配列データを低次元の空間に投影して進化軌道を予測し、その予測域をアミノ酸配列に逆写像することにより、次年度流行するインフルエンザ株のアミノ酸配列を予測する理論的可能性が開かれたと考える。プロジェクトはまだ未完であるが、本課題で得られた様々な結果が国際誌等に公表され、データ解析グループとの共同研究が進むことにより、理論にもとづく進化・流行予測とワクチン政策が現実のものになると考えている。

5. 研究総括の見解

インフルエンザウイルスの抗原型が飛躍期と停滞期を繰り返す断続平衡的な進化を示すことに注目し、そのメカニズムを数理モデルを用いて解明すると同時に、インフルエンザの流行予測を可能にする斬新な手法を提案する事をめざした非常に挑戦的でスケールの大きい研究課題に取り組んだ。流行中に出現したウイルス変異株のうち次年度に受け継がれる系統を解析的に予測する数理モデル、10万人規模の宿主個体の感染履歴を追跡する個体ベースモデル、そして、統計的手法である多次元尺度法を用いた流行予測など、様々な解析手法を開発し、応用性の高い数学理論を構築したことは高く評価される。

また、研究期間中に発生して急遽対応した宮崎県の口蹄疫の問題では、数理モデル研究が病原体流行予測や予防にとって非常に重要な武器となりうることを如実に示した。これらの実績から、理論的側面から政策に提言できる人材として今後大いに期待される。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1.	Suzuki S, Sasaki A, How does the resistance threshold in spatially explicit epidemic dynamics depend on the basic reproductive ratio and spatial correlation of crop genotypes? Journal of Theoretical Biology 276: 117-125 (2011)
2.	Nakabayashi J, Sasaki A, A mathematical model of the intracellular replication and within host evolution of hepatitis type B virus: Understanding the long time course of the chronic hepatitis, Journal of Theoretical Biology, 269: 318-29 (2011)
3.	Omori R, Adams B, Sasaki A, Coexistence conditions for strains of influenza with immune cross-reaction, Journal of Theoretical Biology 262: 48-57 (2010)
4.	Sasaki A, Dieckmann U, Oligomorphic dynamics for analyzing the quantitative genetics of adaptive speciation, Journal of Mathematical Biology (Online First, 19 November 2010)
5.	Adams B, Sasaki A, Antigenic distance and cross-immunity, invasibility and coexistence of pathogen strains in an epidemiological model with discrete antigenic space, Theoretical Population Biology 76: 157-167 (2009)
6.	Nakabayashi J, Sasaki A, The function of temporally ordered viral gene expression in the intracellular replication of herpes simplex virus type 1 (HSV-1), Journal of Theoretical Biology 261: 156-164 (2009)
7.	Yahara K, Fukuyo M, Sasaki A, Kobayashi I, Evolutionary maintenance of selfish homing endonuclease genes in the absence of horizontal transfer, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106: 18861-18866 (2009)

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

招待講演など

1. Akira Sasaki, "Theory of Species Packing", Winter school on eco-evolutionary modeling of speciation, Abisko, Sweden, March 7-11, 2011(集中講義)
2. Akira Sasaki, "Forecasting host-parasite arms races: models and time-series data", MMEMS Network EPSRC Workshop Coevolution: Models and microbial model system, 2010 April 14-15, Liverpool, UK. (招待講演)
3. Akira Sasaki, "Emergence probability of new flu escape variants: Be aware of early stage mutants and of spring outbreak", BICS Conference Multiply Structured Populations in Biology, University of Bath, Bath, UK, July 1, 2009 (招待講演)

著書

1. 佐々木顕, 軍拡競争・共進化・種分化, 「行動・進化」の数理生物学、日本数理生物学会編, pp129-151, 共立出版 (2010)
2. 佐々木顕, 毒性の進化と「小さな世界」, ネットワーク科学への招待(青山秀明・相馬亘・藤原義久編), pp 50-55, サイエンス社 (2008)
3. 佐々木顕, 病原体の進化と疫学動態, 感染症の数理モデル(稲葉寿編), pp 268-304, 培風館 (2008)

研 究 報 告 書

「細胞膜-細胞質結合反応系による細胞情報処理の動作原理の解明」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研 究 者：柴田達夫

1. 研究のねらい

細胞の走化性は、細胞が外部の化学物質の濃度勾配を感知し、それに対して方向性のある運動を示す性質で、単細胞生物の環境探索や多細胞生物の形態形成に重要な細胞機能のひとつである。濃度勾配を認識するためには、細胞はその前後でシグナルの濃度を検出し、その情報を散逸することなく比較し、濃度の高い方向を計算する必要がある。しかし、レセプターと結合している走化性リガンドの前後の個数の差は百数十から十程度と極めて小さい。さらに、レセプターとリガンドの結合・解離は確率的プロセスであるため、結合しているリガンドの個数は時間的に確率的な変動をする。このような、ノイズのともなう微弱なシグナルから、シグナル伝達系はどのようにして適切に走化性の応答を作り出すことができるのだろうか (Ueda & Shibata, 2007, Biophys. J.; Shibata & Ueda, 2008, Biosystems)。一方、走化性運動をする細胞は誘因シグナルのない状態においても、自発的に細胞極性を作り出しランダムな方向に向かって運動を繰り返す。そのためには、細胞は外部のシグナルに依存することなく、どちらの方向に運動装置を伸長させるべきなのかを時々刻々と決定する必要がある。そのためのシグナルが細胞内で生成されていると考えられる。つまり、細胞は外部のシグナルに依存することなく自発的に空間対称性の破れたシグナルを細胞内に形成することができると考えられる。このように細胞の情報処理を担っているシグナル伝達系は、外部のシグナルを処理し、応答する作用と、外部にシグナルの無い状態においても自発的にシグナルを形成する作用の両方が備わっている。本研究では、細胞が示す自発的に空間対称性を破る自己組織化能に注目して、シグナル伝達系が濃度勾配を認識し走化性運動を引き起こす機構の解明をめざした。特に、走化性情報処理の鍵となる反応であるイノシトールリン脂質反応の自己組織化現象に、イメージングデータの統計的な解析と数理モデルの構築を組み合わせ取り組んだ。さらに、その結果が最終的にあらわれる細胞運動に注目し、細胞運動のデータの取得から運動の統計的な解析を進めた。また、細胞内の反応系と形態変化が結合した結果表れる細胞運動の計算モデルの開発をめざした。

2. 研究成果

2-1. イノシトールリン脂質反応の自発的な極性形成と走化性刺激に対する応答

真核細胞における走化性は細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* において、詳しく調べられてきた。細胞性粘菌と白血球細胞では走化性の分子メカニズムが良く保存されており、比較すると実験の容易な細胞性粘菌の研究を通じて、そのメカニズムの理解が進んでいる。細胞性粘菌において、走化性のシグナル伝達系は、7 回膜貫通型受容体、受容体と結合する 3 量体 G 蛋白質をシグナル受容の入り口として、その下流に複数の並列的な経路が知られている。そのなかで、イノシトールリン脂質代謝系の経路は最もよく調べられており、また、主要な役割を果たしている。細胞性粘菌の誘引物質である cAMP の勾配下において、イノシトールリン脂質代謝系の主要酵素のひとつである PI3 キナーゼ (PI3K) が、濃度の高い側でホスファチジルイノシトール (3, 4, 5) トリリン酸 (以下 PIP3) を産生する。PIP3 の局所的な増加がアクチンの重合を促し、細胞膜を伸長させ仮足形成を促すことで走化性が実現されると考えられている。一方、細胞の後方では PIP3 は脱リン酸化酵素 PTEN によって分解されている。

わたしたちは、勾配認識の鍵となるこれらの分子 PIP3 と PTEN の動態を多色のイメージング法によって 1 細胞スケールで計測し、それらが自己組織化的現象を示すことを発見し

た(図 1A, B)。つまり、PIP3 が局在ドメインを膜上に形成する。さらに、局在ドメインは時間的に膜上を運動していた。この自己組織化現象の発見が本研究の出発点のひとつである。このような自己組織化を引き起こすメカニズムは何であろうか。また、その生物学的な役割は何であろうか。それにたいして数理モデルを通じて解明することに取り組んだ。

蛍光データの時間・空間相関関数の解析から、この自己組織化現象が 2-3 分程度の周期を持つ周期的現象であることや、PTEN と PIP3 の振動に位相差のあることがわかった。さらに、ノイジーな PIP3 と PTEN の時系列から平均的な動力学を抽出するために、主成分分析を用いた方法を開発した。その方法も用いて図 1C に示した特徴的なダイナミクスを抽出することに成功した。位相空間のダイナミクスは relaxation oscillator の特徴を示し、PIP3 のレベルが高い状態と低い状態を速い遷移がつないでいた。この解析にもとづいて、細胞膜上におけるイノシトールリン脂質代謝系の反応拡散モデルを構築した。このモデルにおいて、これまで知られていない新たな調節を仮定すると、実験結果を上手く再現できることがわかった。(Arai, Shibata, et al. 2010 PNAS)。

さらに数理モデルを解析したところ、いくつかの重要なパラメータの値に依存して、モデルは PIP3 のウェーブパタンのみならず、PIP3 の局在が一過的に形成される興奮系の特徴を示すことも分かった。実験的にも条件を調整することで、PIP3 の一過的な局在形成が観測された。つまり、実験データに基づいて構成した数理モデルはパラメータを調節することでイノシトールリン脂質代謝系の示す様々な現象を説明できることが明らかになったのである。(Shibata、出版準備中)

このような、自己組織化現象は、細胞性粘菌のイノシトールリン脂質代謝反応の本来の機能である勾配認識においてどのような役割を果たすのであろうか。数理モデルの解析から、自己組織化現象で PIP3 が自発的にドメインを形成することで、走化性誘引物質のゆるやかな勾配に対して極めて敏感に走化性応答をすることがわかった。その敏感さは、自己組織化現象がなく、自発的に PIP3 の局在が形成されない場合に比べると極めて顕著であった。これらのことから、真核細胞の走化性シグナル伝達系は、外部のシグナルに依存することなく、自発的に対称性を破ってなんらかの秩序形成をする作用を持っていて、外部のシグナルは局在形成をバイアスすることで、走化性応答が実現されていると考えることができる。つまり、外部シグナルは、局在形成を駆動するのではなく、シグナル伝達系の内在的な性質として形成される PIP3 の局在をバイアスしているのである。これによって、ゆるやかな勾配に極めて敏感に応答することが可能になると考えることができる。(Shibata、出版準備中)

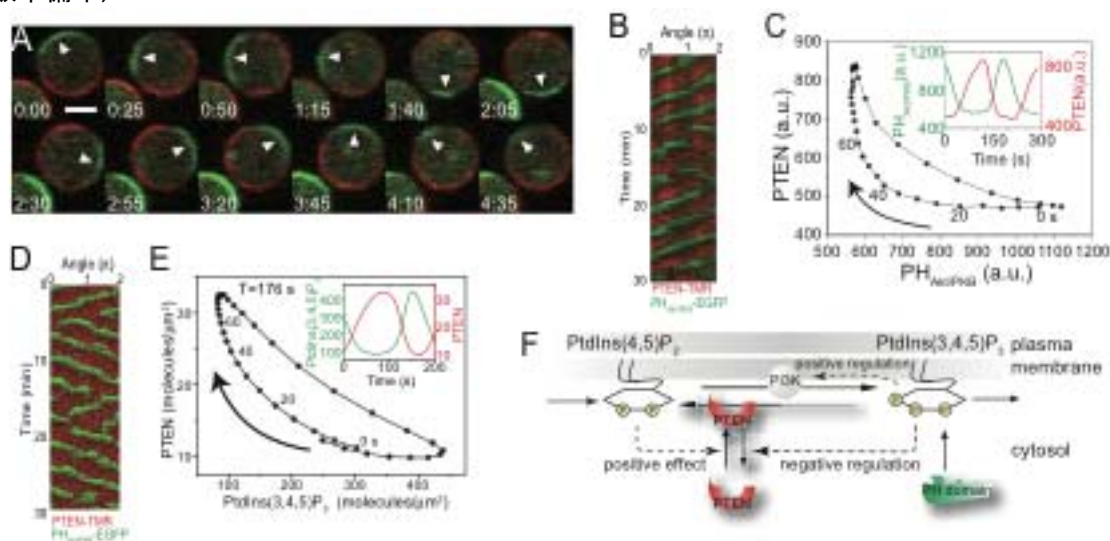


図 1 イノシトールリン脂質代謝系における自己組織化反応 A. 細胞膜上における PIP3 (緑) と PTEN (赤) の強度の時間経過。 B. 細胞膜上における PIP3 (緑) と PTEN (赤) の強度変化の時間空間ダイアグラム (キモグラム)。 C. 抽出された相空間中にお

ける PIP3 と PTEN の平均的な時間変化。D. 確率的な数値計算によって得られたイノシトールリン脂質反応のキモグラフ。E. 再現された、相空間中における PIP3 と PTEN の平均的な時間変化。F. イノシトールリン脂質反応の模式図

2-2. 細胞形態を考慮した細胞運動の数値モデル

細胞運動は、シグナル伝達系やその他の細胞内の活性が、アクチンなどの運動装置を誘導して実現される。走化性の場合、そのような運動の結果、細胞が濃度勾配に沿って伸長すれば、細胞の形の変形ばかりではなく、勾配認識のためのシグナル処理はより進むかもしれない。そこで、そのようなシグナル反応と細胞の形態の相互作用を議論するための計算モデルの構築を行った。このモデルにおいては、(1)細胞の形態が変化できること、(2)細胞膜上でのシグナル反応が実現できること、(3)細胞質中でのシグナル反応が実現できること、さらに(4)細胞膜と細胞質の反応がカップルしていること、の4要件の実現をめざした。細胞運動はアクチン重合などを含む分子スケールの記述よりは、より粗視化されたスケールによる記述をめざした。

細胞の形態の変形によって反応場の境界の形状が時々刻々と変化する。濃度場の境界が時々刻々と変化するとは、境界付近の濃度の扱いに関する計算法において大きな問題が生じる。これを回避するために粒子法を用いた。ここでは、粒子法的一种である Smoothed particle hydrodynamics (SPH)法を用いた。さらに、SPHを構成する粒子を細胞の境界の範囲にとどめておくために、フェーズフィールド法を用いた。つまり、SPHによって細胞質を、フェーズフィールドによって細胞膜をそれぞれ表わしたと考えることができる。フェーズフィールドの収縮力を細胞膜上のシグナル因子の濃度に依存するようにすることで、反応と形態の変化がカップルするようにした。これは、ちょうど、シグナル因子によってアクチンなどの骨格の重合が誘導されることに対応している。

さらに、細胞質と細胞膜のそれぞれにおけるシグナル反応拡散系を、SPHを構成する粒子上に実装した。細胞膜と細胞質を行き来する分子によって、それら2つの反応系はカップルしている。シグナル反応のプロトタイプとして、細胞が円形で形状の変化を起こさないときには定常的な局在パターン(モード1のチューリングパターン)を形成する反応を用いた。

当初、細胞は、シグナル反応の局在パターンに駆動されて直進運動することを予想していた。ところが細胞は、回転運動やジグザグ運動など多様な運動を示すことが分かった。つまり、形の変形によって新たな不安定性が容易に生じることを示唆している。反応から形態変化への反映の時定数を小さい値から大きくしていくと、直進運動がジグザグ運動に変化し、さらに回転運動に変化していくこともわかった(Shibata 出版準備中)。

これらの結果は現在出版準備中である。反応を細胞性粘菌の走化性シグナル伝達系反応にするなどして、より実際の状況において、形と反応、さらに勾配認識が形態にどのように影響されるのかを調べていくための基盤ができた。

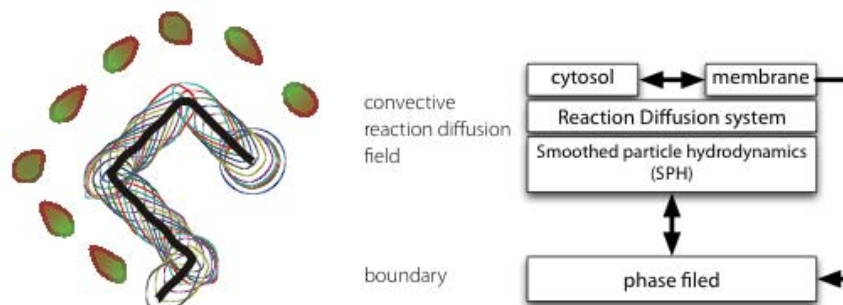


図2 粒子法とフェーズフィールド法を組み合わせた細胞運動モデル

2-3 細胞性粘菌の運動の統計的解析

細胞のシグナル受容やシグナル処理の結果あらわれる細胞の形態変化や細胞運動は、細胞内部の活動の最終的な出力であると考えることができる。特に、細胞の外部に誘引物質のない場合や一様にある環境において現れる細胞運動は、活性の自発的な対称性の破れを含む、細胞内部の活動を推測する手がかりをあたえるだろう。また、走化性が細胞のランダムな運動をバイアスすることで現れていることを考えると、細胞のランダムな運動の性質を解明することは、走化性運動の解明にとって不可欠である。そこで、学生と協力して、細胞性粘菌を恒常的に培養できる環境を整備することから開始した。また、細胞運動の位相差顕微画像を取得するための環境を整備した。そして、細胞性粘菌の走化性誘引物質である cAMP を 0、100pM、1nM、10nM、100nM、1 μ M の濃度で空間的に一様な条件のときの細胞運動の位相差顕微画像を取得することに成功している。

実験系の確立と平行して、細胞形態、特に仮足の形成に注目して解析を進めるための解析法の開発に取り組んだ。まずは、位相差顕微画像から細胞の縁取りをするアルゴリズムを開発した。細胞の縁取りのアルゴリズムとしては画像解析にもとづく方法と統計モデルにもとづく2つの方法が使用可能な状態にある。さらに細胞の運動を解析するためにそのために、仮足を検出するアルゴリズムを開発した。その結果、仮足形成のタイミングや伸張時間に関する統計則と細胞重心の運動の統計則を調べることに成功している。さらに、走化性誘引物質の空間的一様刺激に対するそれらの統計則の変化を調べた。それらは重心および仮足形成に関する簡単な確率モデルで説明できる可能性がわかった。(Shibata, 出版準備中)

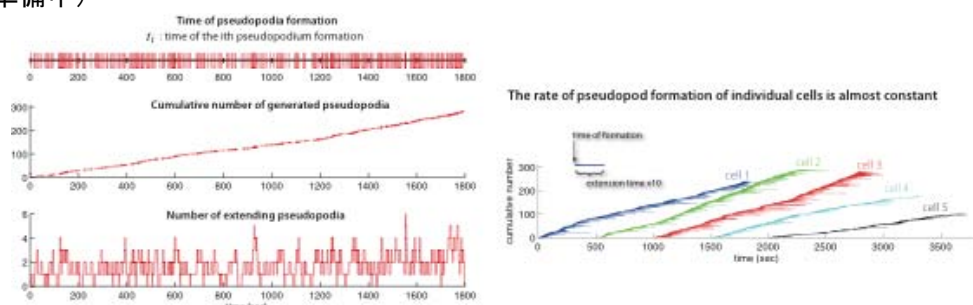


図3 仮足の動態：左：仮足の形成された時系列。右：仮足形成の細胞間の違い

3. 今後の展開

3年半の研究を通じて、学生や共同研究者と協力して多くの成果が得られた。これらを順次、論文として出版していく作業を進めている。

近年の細胞のイメージング技術の発達で、様々な細胞で自己組織化現象が定量的に計測できるようになってきた。そのなかでも、細胞の極性形成は、単細胞の運動のみならず、多細胞における組織形成などにおいても本質的に重要な役割を果たしている。本研究で示されたことは、細胞が内在的に持つ極性形成の能力の重要性である。これまでは、しばしば、細胞の外部環境によって細胞の性質が誘導されるという面が強調されてきたように思われる。本研究の成果が、そうした見方に対して細胞自身の自発的性質の重要性に視線を向けるきっかけになることを大いに期待する。

また、運動のモデルは「形態と反応」という新しいフィールドの発展を予感させる。数理的にも豊かな内容を含むはずである。細胞スケールのみならず、組織スケールも射程におく問題である。時々刻々と境界が変化しながら反応が進む、数理モデルの展開につながることを期待したい。さらには、細胞や組織の現象は、数理モデル自身が時々刻々と変化していくような、よりダイナミックな記述を通じて理解される必要があるかもしれない。こうした問題は、細胞や組織の定量的な計測に裏打ちされている必要がある。本研究課題で発展させた、細胞運動の定量化技術が、生命現象の理解、記述のみならず、新しい数理科学の発展に資することを期待する。

4. 自己評価

走化性シグナル伝達系から細胞運動までを統合的に理解するというテーマは、3年半の研究テーマとして、欲張りすぎたか内容だったかもしれない。しかし、その端緒はつかめたのではないかと自負している。細胞運動の形態変形を含むモデルや、細胞運動の計測・解析技術は今後、様々な形で展開・発展が期待できる。

本研究は、実験グループとの共同研究の一環として進められ、実験グループの協力は何より不可欠であった。その過程で、走化性シグナル伝達系の性質に関する理論からの貢献は大いにあったものと自負している。細胞や組織スケールの生命科学において、理論が影響力を持とうと思えば、実験結果の本質を看破し、数理的方法を通じて現象の本質を明らかにする必要があるだろう。しかし、理論家がデータを通じて生命科学の既存のスタイルに適應するばかりではなく、理論自身が持つ力を示していく必要もあるのかもしれない。細胞、組織スケールにおける生命科学において、理論生物学の役割、また、理論家の地位、については未だに議論の余地がある。国際的にも手探りの感じを受け取る。もしも、本研究によって生命科学における理論的な研究の可能性や重要性が少しでも認識されたならば、幸いである。

5. 研究総括の見解

走化性運動をする細胞は、外部の誘因シグナルを処理し応答する能力と外部刺激の無い状態においても自発的に細胞極性を作り出しランダム運動を行う能力を合わせ持つことに着眼し、細胞のシグナル伝達系が走化性運動を引き起こす機構の解明を目指した難度の高い挑戦的な研究課題である。まず、細胞性粘菌において本研究者らが発見したイノシトールリン脂質反応の自己組織化現象を取り上げ、イメージングデータの統計解析と数理モデルを駆使して、自発的極性形成や誘因物質濃度勾配認識のメカニズムを見事に解き明かした。さらに外部シグナルによって引き起こされる細胞形態と細胞運動を統合的に記述する数理モデルの構築にも成功したことは高く評価できる。これらは、理論と実験が双方向的に密接にタイアップした実証的研究の卓越した成果であるといえる。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Yoshiyuki Arai*, Tatsuo Shibata*, Satomi Matsuoka, Masayuki Sato, Toshio Yanagida and Masahiro Ueda, (2010), "Self-organization of the phosphatidylinositol lipids signaling system for random cell migration", Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107 12399-12404 (*equal contribution) (Science Signaling, EDITORS' CHOICE; Nature Chemical Biology, Research Highlights; Faculty of 1000 Biology に選出された.)
2. Shibata, T. and Ueda, M. (2008). Noise generation, amplification and propagation in chemotactic signaling systems of living cells. <i>BioSystems</i> , 93, 126-132.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

受賞

柴田達夫, 「細胞の確率的な情報処理システムに関する研究」, 平成 22 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞

その他の論文

- (1) Nishikawa M, Shibata T (2010) "Nonadaptive Fluctuation in an Adaptive Sensory System: Bacterial Chemoreceptor". PLoS ONE 5(6): e11224
- (2) Yasuaki Kobayashi, Tatsuo Shibata, Yoshiki Kuramoto, and Alexander S. Mikhailov, (2010) "Evolutionary design of oscillatory genetic networks", European Physical Journal B, 76,

167-178

- (3) Hibino K, Shibata T, Yanagida T, Sako Y. 2009. "A RasGTP-induced conformational change in C-RAF is essential for accurate molecular recognition". *Biophys Journal* 97(5):1277-1287
- (4) Matsuoka, S., T. Shibata, and M. Ueda, "Statistical analysis of lateral diffusion and multistate kinetics in single-molecule imaging". *Biophys Journal*, 2009. 97(4): p. 1115-24
- (5) Nishikawa, M., Takagi, H., Shibata, T. Iwane, A. H. and Yanagida, T. (2008). Fluctuation analysis of mechanochemical coupling depending on the type of biomolecular motors. *Physical Review Letter*, 101, 128103
- (6) M. Ueda and T. Shibata (2007), "Stochastic signal processing and transduction in chemotactic response of eukaryotic cells" *Biophysical Journal* 93:11-20 (2007)

主な著作物

- (1) Masahiro Ueda, Tatsuo Shibata, and Yasushi Sako (2008). "Signal transduction across the plasma membrane". In *Single Molecule Dynamics in Life Science*. (eds. T. Yanagida and Y. Ishii) WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp. 99-116.
- (2) Tatsuo Shibata (2010). "Noisy signal transduction in cellular systems," In *Cell Signaling Reactions: Single-Molecule Kinetic Analysis*. (eds. Y. Sako and M. Ueda). p 297-324
- (3) 柴田達夫、上田昌宏、(2011)「細胞における情報処理の確率性と自発的対称性の破れ」、*「生命科学の新しい潮流 理論生物学」*(望月敦史編集) 共立出版 p.97-p.115

主な招待講演

- (1) Tatsuo Shibata (2009) "Deterministic and probabilistic aspects of signal processing and transduction in chemotactic response of eukaryotic cells", 第 32 回日本分子生物学会年会, シンポジウム "Systems biology of cellular signaling", 2009 年 12 月 9 日~12 日, パシフィコ横浜, 横浜
- (2) Shibata, T. (2008), "Self-organization in chemotactic signaling for spontaneous cell migration of Eukaryotic cells" Integrating Physics, Chemistry, Mathematics and Biology to understand living systems (IPCMB 2008), 4-6, Dec, 2008 Bose Institute, Kolkata, India.
- (3) 柴田達夫 (2008) "細胞スケールの自己組織化現象 イメージ・データ解析と数理モデル", 細胞・発生生物学研究への数理科学的アプローチ, 2008 年 9 月 2~3 日, 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター, 神戸
- (4) 柴田達夫 (2008) "走化性情報処理のゆらぎと協同性", 第 60 回日本細胞生物学会大会, 2008 年 6 月 29 日~7 月 1 日, パシフィコ横浜, 横浜

新聞報道

- (1) 原著論文(Arai, Shibata et al. 2010 PNAS)について JST, 大阪大学, 広島大学の共同でプレス発表を行なった. 平成22年6月15日
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20100615/index.html>
- (2) 日経産業新聞, 『酵素が細胞の動き決定』, 平成22年6月16日.
- (3) 科学新聞, 『細胞の自発運動時に機能, 分子挙動を解明』, 平成22年6月25日.

その他

- (1) Science Signaling, EDITORS' CHOICE にて原著論文(Arai, Shibata et al. 2010 PNAS)が紹介された. "Organized Randomness", Vol. 3, Issue 130, p. ec210 (13 July, 2010).
- (2) Nature Chemical Biology, Research Highlights にて原著論文(Arai, Shibata et al. 2010 PNAS)が紹介された. "Migration in cue-less cells", Vol. 6, p564 (August, 2010).
- (3) Faculty of 1000 Biology に原著論文(Arai, Shibata et al. 2010 PNAS)が選ばれた.
<http://www.f1000biology.com/article/id/4195956>

- (4) 物理系研究者に生物関連論文を紹介する: Virtual Journal of Biological Physics Research に原著論文(Arai, Shibata et al. 2010 PNAS)が選ばれた.

研 究 報 告 書

「大脳基底核回路網のハイブリッドシステムモデリング」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究者：舘野 高

1. 研究のねらい

大脳基底核は大脳皮質、視床、脳幹などと神経結合をもつ神経核群であり、運動、情動、学習などの多様な機能を担う重要な脳の部位である。近年、アルコール、タバコ、麻薬などの物質を過度に繰り返し摂取することが原因で起こる物質依存症、あるいは、薬物嗜癖とよばれる物質関連障害と大脳基底核の働きは重要な関連があることが解ってきた。現在、薬物嗜癖の分子や細胞レベルでの研究には多くの知見が蓄積されつつある。また、薬物嗜癖に関連する物質は快情動を引き起こす物質であることが多いことから、その仕組みの解明は、ヒトの意思決定に深く関与する情動の発現メカニズムの解明にも繋がると期待されている。このように、薬物嗜癖のメカニズムを探る研究には、分子や細胞レベルのミクロな研究からヒトの意思決定に至るマクロな脳機能まで、生体を構成する複数の階層間で起こる現象を関係付ける研究アプローチが必要であり、数理モデルが有用であると考えられる。しかし、このような場合の多くの数理モデルは、対象とする現象を単純化・抽象化することによって得られるために、物質レベルの研究結果と直接的な因果関係を理解する場合に困難が生じる。本研究では、脳内の強化とよばれる現象に関連するミクロな分子ネットワークからマクロな大脳基底核の回路網までの数理モデルを扱った。特に、ミクロなモデルとマクロなモデルの接点として、大脳基底核の神経細胞の局所的回路を取り上げた。そして、実際の脳の神経細胞と計算機上に構築した数理モデルをハイブリッド化することによって、神経細胞とその回路網の働きのいくつかの点を理解することを目指した。

2. 研究成果

(1)ダイナミック・クランプ法を用いた細胞膜のイオンチャネル及び受容体の動態モデル
パッチクランプ法は、薬剤の神経細胞に対する急性の応答を知るために、細胞膜のイオンチャネルや受容体の電気生理学的特性を測定する手法の一つである。特に、電流固定による全細胞パッチクランプ法は、微細なガラス電極と細胞膜の間に強固なシールをパッチ状に形成して、電流を固定しながら細胞膜電位を計測する方法である。近年、その手法を拡張して、実時間で膜電位を計測しながら、その計測電位に応じて時間的に変動する固定電流を細胞に注入するダイナミック・クランプ法とよばれる手法が、細胞膜の動的特性を理解するために利用されており、本研究ではこの方法を応用した(図1)。この手法の利点は、数理モデルに基づいて電流を細胞に注入させ、架空のイオンチャネルや受容体を細胞膜に仮想的に発現させることができる上に、同様に、細胞膜に既に発現しているイオンチャネルや受容体を発現していないかのように、その電流成分を打ち消すことができる点にある。また、この手法を用いれば、対象の数理モデルの検証が実際の細胞を利用して実時間で可能となる。本研究では、この方法を応用して、げっ歯類の中脳及び大脳基底核の神経細胞種のイオンチャネルと受容体に対して、常微分方程式から成る数理モデルを作成した。そして、実際の神経細胞を用いて、特定のイオンチャネルに対する数理モデルを検証した。その結果、83種類のイオンチャネルと受容体を含

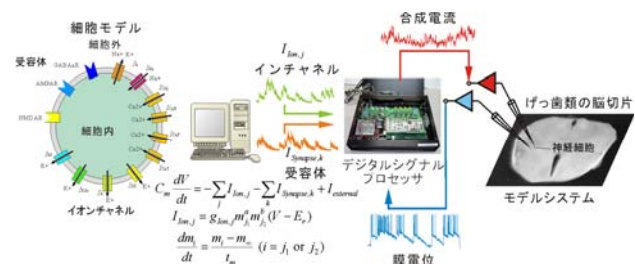


図1. ダイナミック・クランプ法の概念図

む9つの細胞種の興奮膜の数値モデルを作成し、そのモデル係数を決定した。特に、黒質緻密部と腹側被蓋野のドーパミン作動性細胞を対象に実験を行った結果、自発的な発火活動とその発火モードの遷移にイオンチャネルである hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated (HCN)チャネルとカルシウムイオン依存型カリウムイオン(small conductance, SK)チャネルが重要な役割を果たしていることが判った。

(2) イメージング・ダイナミック・クランプ法の新規開発

カルシウムイオン(Ca^{2+})は、細胞膜にあるイオンチャネルや受容体から細胞内に流入し、あるいは、細胞内ストアから放出されることで細胞膜電位を変動させる。また、 Ca^{2+} はセカンドメッセンジャーとして細胞内の様々なシグナル伝達系などに重要な役割を果たしている。本研究では、細胞内のカルシウム動態と細胞膜の興奮性を理解するために、カルシウム指示薬のイメージング法を使って、上記のダイナミック・クランプ法を拡張した実験系(イメージング・ダイナミック・クランプ法)を構築した。特に、本研究では、カルシウム指示薬(Fura 2)の蛍光強度を計測すると同時に、細胞内カルシウムイオン濃度を実時間で推定し、膜電位変動の情報と合わせて、注入電流を細胞に加える方法を開発した(特許出願中)。この手法を応用することによって、SKチャネルがドーパミン作動性細胞の発火モードに重要な役割を果たしていることを数値モデルとそのモデルに基づく実験によって示した。また、実時間で人工的なSKチャネル電流を神経細胞に注入することで、細胞の発火モードを遷移させることができることを示した。この結果は、イオンチャネル電流の数値モデルのパラメータを上記の実験中に推定することで可能になり、イオンチャネル動態の数値モデルが膜電位の発火モードを遷移させる意味では妥当であったことを示している。

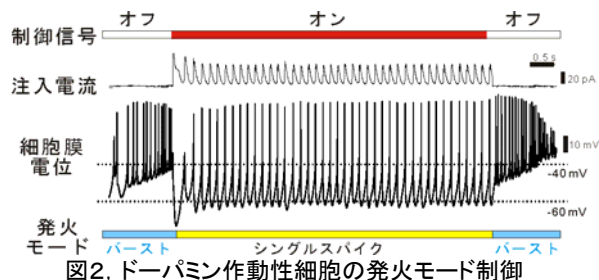


図2. ドーパミン作動性細胞の発火モード制御

(3) アルコールがドーパミン作動性神経細胞へ及ぼす急性の影響と局所回路網での発火活動変化

過度の飲酒の繰り返しはアルコール依存症を引き起こすことは今日よく知られている。また、従来からアルコールが神経細胞やその回路網に及ぼす急性及び慢性の影響は多くの知見がある。しかし、どのようなメカニズムと神経回路網の変化によって、アルコール依存症が生じるのかという問いには、今日でも十分に答えることはできない。本研究では、中脳のドーパミン作動性細胞におけるアルコールの急性応答とその細胞が神経回路網の中で果たす初期段階での役割の一端を理解するために、パッチクランプ法を用いて細胞動態の変化を調べた。まず、アルコールはドーパミン作動性細胞と抑制性神経細胞の HCN チャネル動態を変化させることが実験の結果から判明した。次に、実際の神経回路網に基づく、右図に示すような2種類の単純化した局所神経回路を考えて、それらの回路網内の神経細胞の発

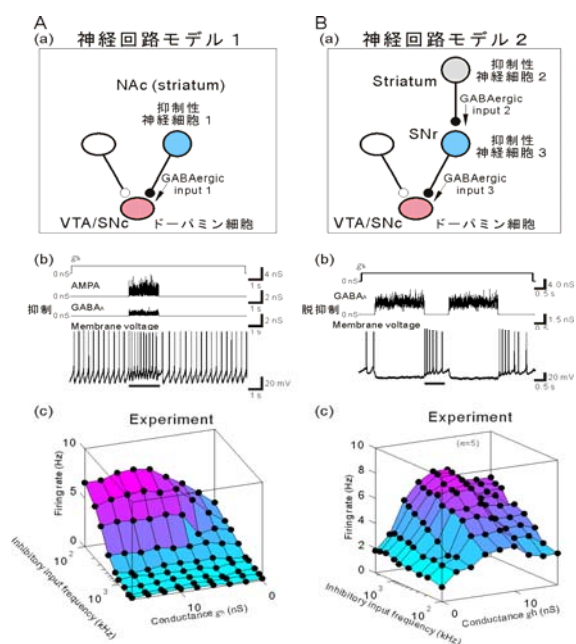


図3. エタノールが2つの局所回路でドーパミン細胞の発火活動に与える影響

火活動が、アルコールの影響によってどのように変化するかについて脳切片を用いた実験を行い、その後に結果を解析した。実際には、数理モデルと脳切片内の神経細胞のハイブリッドモデルを作成して、特に HCN チャンネルに着目してダイナミック・クランプ法で実験を行った。その結果から、アルコールの存在下では、抑制性細胞のドーパミン作動性細胞への抑制性入力と HCN チャンネルは、相互依存的にドーパミン作動性細胞の発火活動を変化させることが解った。特に、アルコールの効果として、脱抑制によるドーパミン作動性細胞の発火活動は図の係数空間内で先鋭化されて(右下図 3Bc)、投射先でのドーパミンの放出量の変化を特徴的に増加させる可能性があることが解った。この結果は、哺乳類の生体内でアルコールを摂取した際に起きる現象であると考えられる。

3. 今後の展開

本研究課題では、主に、細胞膜のイオンチャンネルと受容体の数理モデル、及び、大脳基底核の神経細胞間のハイブリッドモデル実験系を中心に研究を行った。しかし、薬物依存症・嗜癖のメカニズムの解明には、薬物の急性応答後の神経回路網の長期的変化が最も重要であり、この点には十分な時間を割くことができなかった。本研究では、研究助成期間内に、上記のハイブリッドモデル実験系の内容に加えて、嗜癖に関係する神経伝達物質の細胞内シグナリング、薬物強化、行動選択などの数理モデルの作成に取り組んだ。これらの数理モデルは、ミクロな分子ネットワークの相互作用からマクロな脳の機能の現象を扱っており、抽象化のレベルが大きく異なる。そこで、本研究では、複雑な多次元の数理モデルの時間と空間スケールを粗視化して、低次元に簡略化する手法を応用することで、階層構造の上下に隣接する数理モデルを連結することに具体的なモデルを使って取り組んだ。こうした数理モデルを用いた方法が薬物嗜癖に共通するメカニズムの解明に繋がると同時に、既に、物質レベルで判明している現象を理解する上で研究者の助けに繋がるのではないかと期待している。また、数理モデルで予測される現象を、実際の生体を使った実験によって検証していくことが重要であり、今後の課題として研究を継続していきたい。

4. 自己評価

本研究では、当初の目標課題にできる限り忠実に研究スケジュールを設定して、実行しようとした。しかし、研究開始の当初の目標に、特許出願は予定しておらず、実験課題遂行の中で、新たな計測系が実現できることが判明し、特許出願を行うことになった。また、研究課題の実行過程で特許出願のための実験に多くの研究時間を割く必要があり、助成期間の半ばから研究スケジュールが予定外に遅れることになった。このために、特に、単一神経細胞におけるイオンチャンネルの発現遺伝子とその数理モデルの力学系の特徴を関係付ける実験、及び、解析を行う時間が少なくなり、設定した目標を十分に果たすことができなかった。この点を考慮すると、自己評価としては、70%程度の達成度であると考えている。また、研究助成期間に行った研究内容の多くは、現時点で未発表や論文投稿中であるために公開しておらず、今後、順次、研究会や会議等で発表していく予定である。

5. 研究総括の見解

実際の脳の神経細胞と計算機上に構築した数理モデルをハイブリッド化して、大脳基底核の神経回路網の働きを探るといふ、非常に斬新なアイデアにもとづくユニークな研究であった。この研究課題の達成には高度な実験技術が必要であるが、緻密な実験計画と優れた解析力により正確なデータ取得に成功し、このハイブリッドモデルの有用性を方向づけた点が高く評価される。特に、薬物嗜癖のメカニズムに関連して、中脳のドーパミン作動性細胞におけるアルコールの急性応答に注目した解析を進め興味深い結果を得ている。これらの研究は当初予定していなかった特許出願に結びつき、大阪大学の評価を得て大学承継となった上に、さらに海外 PCT 出願も承認されたことは特筆に値する。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Takashi Tateno and Hugh P.C. Robinson, "Integration of broadband conductance input in rat somatosensory cortical inhibitory interneurons – an inhibition-controlled switch between intrinsic and input-driven spiking in fast-spiking cells" J. Neurophysiol., 10, 1056 – 1072, (2009)
2. Takashi Tateno, "A small-conductance Ca^{2+} -dependent K^+ current regulates dopamine neuron activity: a combined approach of dynamic current clamping and intracellular imaging of calcium signals" NeuroReport, 21, 667–674, (2010)
3. Gouwens et al., "Synchronization of firing in cortical fast-spiking interneurons at gamma frequencies: a phase-resetting analysis" PLoS Computational Biology, 6, 1–13, (2010)
4. 舘野 高, "中脳ドーパミン細胞における形態発達の特徴と受動的膜モデルの一構成法", 電気学会誌 IEE Japan Transactions on Electronics, Information and Systems, Sec. C, 131 (1), 50–55, (2011)

(2)特許出願

研究期間累積件数: 国内 1 件、海外 1 件

発 明 者: 舘野 高

発明の名称: 電気生理測定装置及び方法

出 願 人: 大阪大学

出 願 日: 2010/2/17

PCT 出願番号: PCT/JP2011/052164

出 願 日: 2011/2/2

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

主要な学会発表:

国際

- T. Tateno, Firing-mode analysis of neurons in rat substantia nigra pars compacta using a conductance-injection method and conductance-based models, Abstracts of the 38th Annual Meeting of Society of Neuroscience, Washington D.C., November 18, 2008.
- T. Tateno, Analysis of an inhibitory and hyperpolarization-activated current (I_h) controlled switch between firing modes in dopaminergic neurons and inhibitory interneurons of rat substantia nigra and their computational modeling, Abstracts of the 39th Annual Meeting of Society of Neuroscience Chicago, 23 October, 2009.
- Y. Inui and T. Tateno, Computational modeling of molecular networks underlying postsynaptic plasticity in striatal medium spiny neurons, 7th Forum of European Neuroscience, Amsterdam, Netherlands, July 5th, 2010, p. 296 in FENS Forum Abstracts.
- T. Tateno, Analysis of ethanol effects on hyperpolarization-activated cation current in rat dopamine neurons and its influence to midbrain local circuits, Abstracts of the 40th Annual Meeting of Society of Neuroscience, San Diego, 13 November, 2010.

国内

- T. Tateno, Analysis of an inhibitory and hyperpolarization-activated current (I_h) controlled switch between single-spiking and burst firing modes in dopaminergic neurons of rat substantia nigra pars compacta, the 32 Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2009), Nagoya, Japan, 16 September, 2009
- R. Iwahashi and T. Tateno, Firing-mode analysis of neurons in rat substantia nigra pars compacta using a conductance-injection method, the 31st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Neuroscience 2008), Tokyo, Japan, 11th July, 2008.

受賞:

Daiwa Adrian Prize 2010 (日英の各グループに属する他の9名との共同受賞).

著作物:

P. Zeberg et al., “Phase-resetting analysis of gamma-frequency synchronization of cortical fast-spiking interneurons using synaptic-like conductance injection”, in *Phase response curves in neuroscience: theory, experiment and analysis*, Eds. Schultheiss, Prinz, and Butera (in press).

研 究 報 告 書

「真正粘菌に学ぶ時間・空間に対する原始的インテリジェンス」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研 究 者：手老 篤史

1. 研究のねらい

本研究は真正粘菌変形体という多核単細胞生物の知性を解明する事を目的とする。粘菌には迷路を解いたり、最適なネットワークを発見したり、時間間隔を記憶して予測行動をとるという能力がある事が近年実験によりわかってきた。本研究はこの粘菌の行動をモデル方程式であらわし、コンピューター上で再現する事により、原生生物の知性を理解し、生物の知性の起源を調べるものである。

2. 研究成果

(1) 真正粘菌の作る管ネットワークの解明

本研究は中垣俊之氏(現はこだて未来大学教授)の行った、真正粘菌変形体という単細胞生物が迷路を解く実験に基づく。私はこのメカニズムを数理モデルにより解明した。これが重み付きの最短経路問題や最短ネットワーク問題にも適応可能であることを示し、新しい解法を得た。このように単細胞生物であっても高度に知的な振る舞いをするという研究が認められ、2008 年にイグノーベル賞を共同受賞した。(Nature 誌 Nature News でも紹介された)

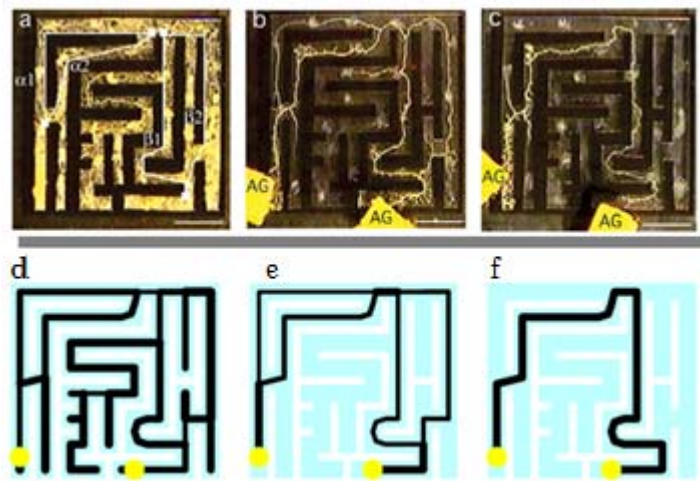


図1 粘菌が迷路を解く実験(a-c)とコンピュータシミュレーションの結果(d-f)

(2) 適応ネットワークの共通原理の解明

この粘菌による最短経路が求まるパラメータは適応的ネットワークの形状決定の重要な境界となっており、この結果、様々な生物ネットワークに共通する原理の解明に成功した。特に人間が作る鉄道網を例とし、都市ネットワークの構築に応用した結果を Science 誌にて第一著者として発表した[1]。この研究の反響は大きく、他に Science 誌にて Wolfgang Marwan にも解説され、読売新聞・日経新聞等の国内主要13紙等にて幅広く紹介されるなど、大きな反響を得た。

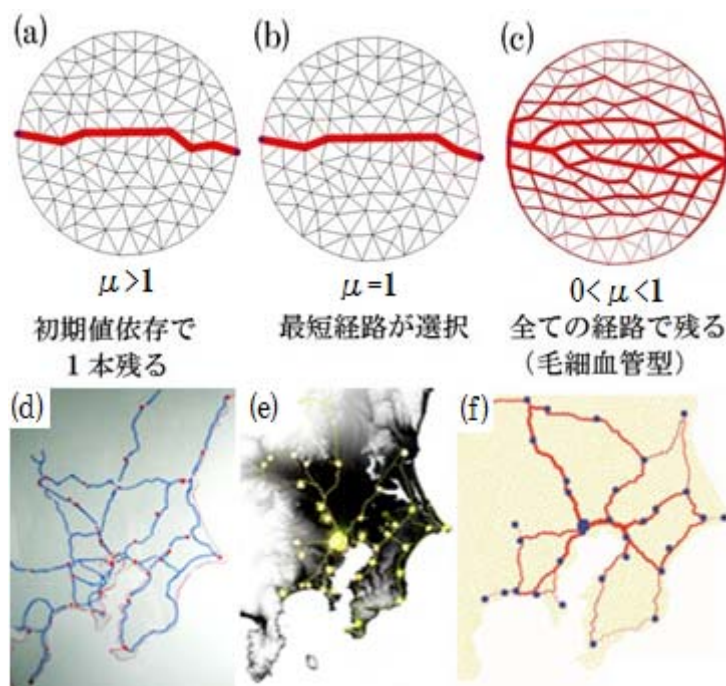


図2 適応ネットワークの最終的な形状(a-c)。最短経路上のみ経路が残るパラメータを境としてネットワーク形状は大きく変化する。その法則を用いて行った鉄道網との比較実験(d-f)。(d)実際の鉄道、(e)粘菌のネットワーク(f)シミュレーション結果。

(3) 真正粘菌の記憶現象の解明

粘菌はカビやバクテリアを捕食するために通常ゆっくりと前進する。また粘菌は通常落ち葉の下など暗くて湿度の高い場所において乾燥を嫌い、寒い環境に長時間いると胞子を作りライフサイクルの異なるモードへと移行する性質がある。粘菌はこのように高い湿度とある程度の暖気を好む生物であり、乾燥・低温の悪条件においては前述した前進速度が低下する。この乾燥・低温の刺激に対し、粘菌は記憶・想起現象を引き起こす(図3)。これは簡単に説明すると、以下の2つである。

① 粘菌に防御体制を取らせるような刺激を周期的に与えると刺激を止めても次のタイミングで防御体制をとる。

② このように刺激間隔を学習した粘菌はもう一度刺激を受けるとそのタイミングを思い出し、次のタイミングでまた防御体制をとるというものである。この事からわかるとおり、粘菌は刺激間隔を学習する事が可能である。だが、脳機能を持たない粘菌がこのような振舞いをするという事は大変興味深い。生物は脈拍や呼吸などの短い周期から日周リズムなどの長い周期まで様々なリズムがあり、一見単純に見える単細胞生物の内部でも様々な反応が起こっているため周期的な活動が見られる。粘菌も同じように体内に様々なリズムを持っており、このリズムを用いることにより記憶や学習的な動きができる事をモデル方程式で説明する。その結果、このモデル方程式は振動子群により学習・想起が可能な新しい系となっている[2]。

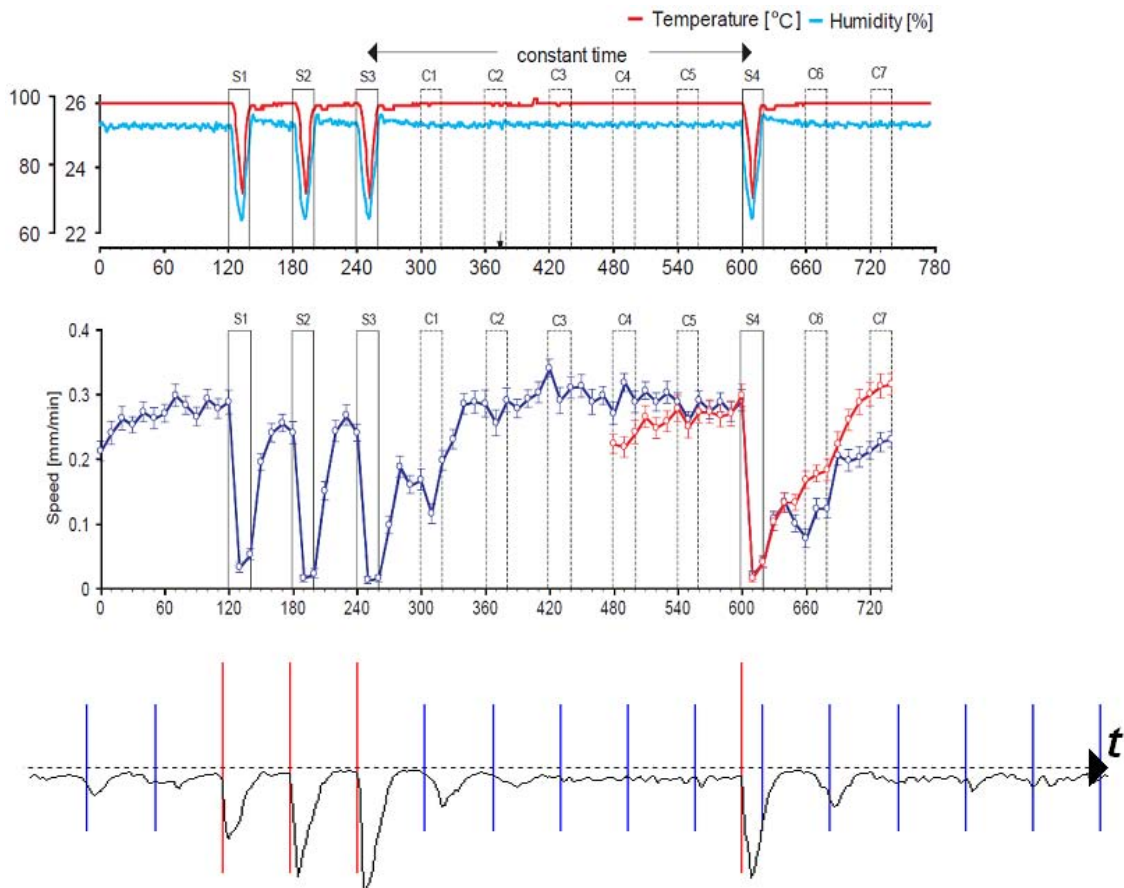


図3 (上段)粘菌に与えた温度(赤)と湿度(青)。(中段)粘菌の移動速度(共同研究者の中垣氏らによる)。(下段)多重リズムによるシミュレーション結果。

(4) 多重リズムから創発される知的制御

単細胞生物である粘菌の記憶現象の方程式は他の系へも適応可能である。例えば1935年 Fritz Bramstedt によってゾウリムシが容器の形状を覚えているという実験結果が報告されている(図4(a))。これについても2-(3)で得られた減衰振動による多重リズムの方程式で説明が可能であることを示した(図4(b))。また、四脚歩行動物はその移動速度によって歩容が自発的に変化する。脳からの情報が切断された四脚動物であってもこの歩容遷移がでる事から現在では歩容遷移は脊髄等の神経回路によるものであるとの研究が多いが、物理的な身体特性によって歩容遷移が創発される可能性を示した。

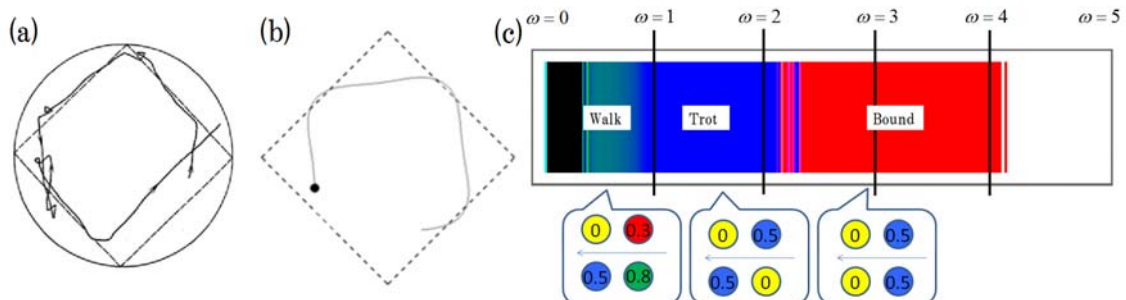


図4 (a)Fritz Bramstedt によるゾウリムシの記憶実験結果。(b)その多重リズムを持った減衰振動子を用いた再現結果。(c)多重リズムを持った減衰振動子を用いた四脚動物の歩容遷移のシミュレーション結果。

ュレーション結果。

3. 今後の展開

(1) 真正粘菌に学ぶ空間に対する原始的インテリジェンス

本研究テーマでは粘菌の管ネットワークの法則を用いて鉄道網の解析を行った。他にも蟻の列・血管網・葉脈など、使われている経路が発達し使われて無い経路は縮退していく性質を持つネットワークがある。このような適応ネットワークに対しても本研究で得られた法則が適応可能なため、今後はこれらのネットワークに対して、本研究で得られた結果を適応していくことを予定している。

(2) 真正粘菌に学ぶ時間に対する原始的インテリジェンス

本研究テーマでは多重リズムを持った減衰振動子群に着目することにより、単細胞生物等の知的制御の創発を再現した。このような単純な生物の知性の創発を進める一方、人間の脳機能についても研究を行う。人間の脳波でも α 波や θ 波といった異なる周期を持ったリズムが観測されており、これらはお互いに密接に影響を及ぼし合っている。今後はこれらのリズムについて着目することにより、単純な状況から創発される知的現象についても解明して行くことを目標とする。

4. 自己評価

本研究は当初目標としていた真正粘菌の原始的インテリジェンスを解明することに成功した。その結果、適応ネットワークに関する共通法則が得られた。これを用いて粘菌のネットワークと人間の鉄道網を比較する研究成果は Science 誌に掲載され大きな反響を得た。主要新聞の掲載やイグノーベル賞受賞により、一般社会にも広く知られ、今後の実用的な応用が期待されている。

5. 研究総括の見解

脳をもたない多核単細胞生物の真性粘菌が迷路を解いたり、時間・空間を記憶するといった原始的インテリジェンスを示すことに注目し、それを数理モデルで再現する研究課題に取り組んだ。特に、粘菌の迷路解きの数理モデルでは、重み付きの最短経路問題と対応づけることにより人間の作る鉄道網に類似の形状が再現されることを示した。この成果は Science 誌に掲載されたのみならず、その意外性が2度のイグ・ノーベル賞受賞に結びついた。時空間記憶の原始的インテリジェンスは多重リズムをもった減衰振動子群として一連のモデル化が進められているが、なお深く掘り下げて集大成されることを期待する。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.	A. Tero, S. Takagi, T. Saigusa, K. Ito, D. P. Bebber, M. D. Fricker, K. Yumiki, R. Kobayashi, T. Nakagaki, Rules for Biologically Inspired Adaptive Network Design. Science 2010/1/22 Vol. 327, No.5964 P.439-442 (2010)
2.	T. Saigusa, A. Tero, T. Nakagaki, Y. Kuramoto, Amoebae anticipate periodic events. <i>Physical Review Letters American Physical Society</i> 2008/1/11 Vol. 100, 018101 (2008)
3.	A. Tero, T. Saigusa, T. Nakagaki, Protoplasmic computing to memorize and recall periodic environmental events. <i>Proceedings in Information and Communications Technology Springer Japan</i> 2008/12/18, Volume 1, p 213-221 (2008)
4.	T. Miyaji, I. Ohnishi, A. Tero, T. Nakagaki, Failure to the shortest path decision of an adaptive transport network with double edges in Plasmodium system. <i>International Journal of Dynamical Systems and Differential Equations Inderscience Publishers</i> , 2008/7/20 Vol. 1, Number 3, 210-219 (2008)
5.	A. Tero, K. Yumiki, R. Kobayashi, T. Saigusa, T. Nakagaki, Flow-network adaptation in <i>Physarum amoebae</i> . <i>Theory in Biosciences. Springer Berlin / Heidelberg</i> 2008/4/16 Vol. 127, 89-94 (2008)

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

受賞

1. 第 5 回(2010 年度)日本数理生物学会研究奨励賞受賞
2. Ig Nobel Prize 2010(Transportation network)受賞, 中垣俊之、手老篤史、他、
2010/9/30
3. Ig Nobel Prize 2008(Cognitive Science)受賞, 中垣俊之、手老篤史、他 2008/10/03

研 究 報 告 書

「性的二型の進化と生息環境に関する基本原理の解明」

研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：富樫 辰也

1. 研究のねらい

地球上の様々な生息環境で幅広い生物群に形態的(例、雄の鹿に見られる大型の角)、行動的(例、鳥類の雄が行う求愛ダンス)な雌雄の違いが見られる。これらの性的二型の進化は、性淘汰によって説明することができる。性淘汰が起きるメカニズムは個々の生物において様々な説明がなされているが、その背景には小型で多数生産される精子による大型で少数しか生産できない卵をめぐる競争がある(精子競争)。さまざまな性的二型はこれに勝つために進化してきたと考えることができる。したがって、性的二型が進化する根本的な原因は、雌雄の間に見られる配偶子のサイズの違いとそれに伴って生じる配偶子生産数の非対称性にある。そこで本研究課題では、おもに配偶子サイズの進化機構について焦点を当てて研究を展開し、海産緑色藻類をモデルとして、これまでの理論を検証するとともに、多様な配偶システムが生まれたメカニズムを理解することによって、雌雄の違いが進化する究極の理由を解明することをねらった。

2. 研究成果

(1)海産緑色藻類の配偶システムと繁殖戦略

広く食用にも用いられるヒトエグサ(*Monostoroma*)、アオノリ(*Enteromorpha*)をはじめとする多くの海産緑藻類は、遊泳能力を持つ異なる性の2つの配偶子を海中に放出し、それらが接合することによって有性生殖を行っている。精子と卵による極端な異型配偶である卵配偶を行っている他の多くの生物グループと違い、海産緑藻類には現生種のなかに同型配偶から顕著な異型配偶まで多様な配偶システムを見られることがわかった。特に特徴的なのは、両性で配偶子のサイズが異なる同型配偶を行う種が見られることである。これには2つのタイプがある。ひとつは、多くの理論研究でもっとも原始的だとされてきた小型の配偶子どうしの同型配偶である。もうひとつは、より大きなサイズの配偶子どうしの同型配偶である。これまでに行われてきた多くの理論研究で進化的に極めて不安定だとされてきたわずかな異型配偶を行う種も多く見られた。顕著な異型配偶を行う種もあった。

これらのさまざまな配偶システムと雌雄の配偶子の同時放出システムなどの繁殖戦略は、それぞれ配偶子が示す特異的な行動ならびに、生息場所の環境と密接な関係を持っていた(図1)。大型の配偶子どうしの同型配偶、ならびにわずかな異型配偶を行う種は、眼点と光受容器官から成る走光性器官を持っており、海中に放出されると直ちに正の走光性を示して、海面直下の2次元平面に集合して効率的な接合を行う。これらの種はいずれも潮間帯上部に生息する。配偶子の放出は、配偶子嚢から光照射条件下でのみ分泌される配偶子の放出を促進する物質によってコントロールされている。海面までの距離が最も近い昼間の大潮の干潮時に水位の低下によってこの物質の濃度が高まることによって雌雄の配偶子は同時に放出される。これは走光性を利用するのに最も都合のよいシステムである。雌性配偶子が走光性器官を有しているにも拘わらず雄性配偶子が小型で走光性器官を有していない種では、性フェロモンによって雄性配偶子は雌性配偶子に誘導される(世界で初めての海産緑藻における性フェロモンの発見)。海面までの距離が遠い深い場所に生息する種では雌雄の配偶子にはともに走光性器官が見られない。このような場所では、潮汐リズムと連動した配偶子の雌雄同時放出システムが使えないため、光刺激による配偶子放出システムが使われている。これらの結果から、雌雄の配偶子の接合効率は、海産緑藻の繁殖戦略を理解するうえで重要な要因となっていることが示唆された。また、この研究の過程で、次項以降に示す理論研究を行うために必要な多くの実験データも蓄積することができた。

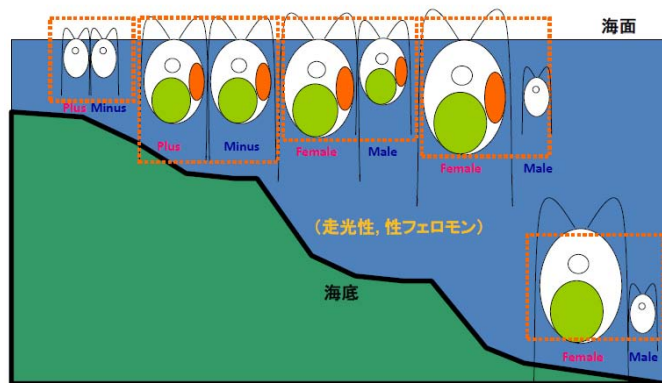


図1 海産緑藻の配偶システムと生息場所

(2) 接合子形成モデルの構築

これまで行われてきた配偶子の異型性の進化に関する多くの理論研究においては、単に生産数が少ないほうの配偶子(雌性配偶子)はすべて接合すると考えるなど、接合子の形成過程の十分なモデル化はなされてこなかった。また、モデル化に必要な実験データも乏しく、実験的な根拠が薄弱な仮定に基づいた信頼性に乏しいモデルも見られた。これらは誤った結論に達する危険性を孕んでいた。

本研究者はこれまでの海産緑藻を対象とした研究において、前項に示したように接合子形成効率の重要性を明らかにするとともに、接合子形成過程をモデル化するために必要な実験データの蓄積を進めてきた。配偶子はサイズが小さいため、レイノルズ数(粘性力に対する慣性力の比率)は極めて小さく、その運動は粘性力によって支配される。従って、潮流や乱流の影響は限定的である。計測した配偶子のサイズと遊泳速度のデータは、配偶子はサイズに関わらず一定の推進力を有する傾向にあることを示していた。これは、遊泳速度が小型の配偶子では速く、逆に大型の配偶子では遅くなることを意味している。また、配偶子生産に投資されている資源の量は雌雄で異なっていなかった。従って、小型の配偶子は多く生産することができるが、大型の配偶子は少数しか生産することができない(サイズ・ナンバートレードオフの関係)。さらに、雌雄の配偶子は、基本的にお互いの配偶子の行動に影響を及ぼすことはなかった。

これらのことを用いると、接合子の形成過程は、配偶子を球形と近似して、3次元空間における粒子の衝突頻度の計算方法を参考にした微分方程式によって記述することができる。このモデルを用いて、実際の生物を用いて行うことができない理論的な実験を行った。その結果、いくつかの興味深いことがわかった。第一に、接合子形成までに長い時間が与えられる場合には、形成される接合子のサイズが同じでも、同型配偶の方が異型配偶よりも多くの接合子を形成することができる。第二に、配偶子生産に投資することができる資源が少ない場合には、同様に形成される接合子のサイズが同じでも、異型配偶の方が同型配偶よりも多くの接合子を形成することができる。第三に、同型配偶でも、性が存在する場合には、存在しない場合に比べて最大で2倍近いコストが発生し得ることがわかった。これらの結果は、海産緑藻に見られる配偶システムと生息場所(特に水深)との関係をよく説明することができた(図2)。

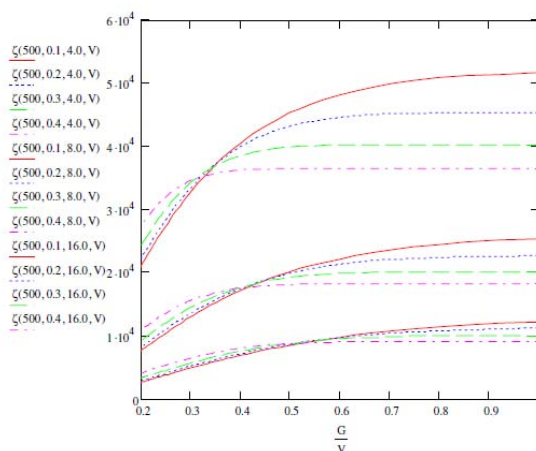


図2 単位空間あたり配偶子資源(横軸)と形成される接合子数(縦軸)。G: 配偶子資源;

V空間の広さ

(3) 配偶子サイズの進化機構に対する理論的アプローチ

海産緑色藻類に見られる多様な配偶子システムの進化を説明するために個体ベースの進化動態モデルを構築した。これまでに蓄積した実験データに基づいて生活史の各ステージをモデルに組み込んだ。第一に、配偶子は、雌雄で同一量の資源を同調的に分割しながら形成されるとした。このため、配偶子のサイズは離散的になる。第二に、接合子の形成過程では前項(2)で得られた研究成果を活用した。第三に、形成された接合子の生き残りやすさは、死亡率がサイズに依存することを考慮に入れた。このモデルを使って、マイクロミューテーションによって生じた突然変異体が侵入してきた場合の集団の安定性をもとに配偶子サイズの進化の方向性を議論した。

その結果、配偶子サイズについての細胞分裂の回数を1回変化させる突然変異がランダムに起こる場合、原始的な同型配偶から、3つの進化の方向性が見られた：1) 小型の配偶子どうしの同型配偶(CSS)；2) より大きな配偶子どうしの同型配偶(CSSかつESS)；3) 大きな雌性配偶子とできるだけ小さな雄性配偶子からなる異型配偶(CSS)。わずかな異型配偶は、走光性器官が必要とされる場合に雄性配偶子が小型化できないことで説明された。これら3つの進化の方向性は、同一の環境パラメーターのもとで見られた。より大型の雌性配偶子は、より厳しい環境下で進化することがわかった。理論的に示されたこれらの安定な戦略は、すべて海産緑色藻類で実際に見られる配偶システムであった。環境との関連性についてもこの研究結果でよく説明することができた。

これらの結果は、Parker, Baker and Smith の理論の考え方の枠内で海産緑藻の配偶システムが多様化に向かうプロセスを説明できることを示している。近年、より大きな配偶子どうしの同型配偶を行う海産緑藻でも細胞内小器官の片親遺伝が証明された。このことは、細胞内小器官の片親遺伝を行うための手段として、雄性配偶子を小型化する必要はないことを意味している。本研究による研究結果は、むしろ細胞内小器官の片親遺伝による雄性配偶子の資源価値の低下が結果として小型化を引き起こすことを示した。

3. 今後の展開

本研究課題を通して行った理論研究で重要性が明確になったにも関わらず実験による裏付けが乏しい2つの重要な課題を、海産緑色藻類がもつ有利な性質を利用して実験によって定量的に解明していきたいと考えている：1) 雄性配偶子が有する資源が接合子の適応度に寄与する割合；2) 接合子(受精卵)のサイズとその適応度の関係。これによって、本研究分野における理論研究と実験研究の間に残された重要なギャップを埋めることを目指す。

4. 自己評価

今後の実験によって検証可能な基盤となる理論的研究を行うことができた。さきがけ研究期間中に、総括ならびにアドバイザーの先生方の助言を得ながら、それまでうまく説明できなかった海産緑色藻類に見られる配偶子サイズの多様性の進化機構と環境要因との関係について、自らの実験データを活用しながら数理モデルを構築することによって納得のいく説明に到達するという目標を掲げていたが、これについて概ね出来たのではないかと考えている。また、海産緑色藻類をモデルにすることによって、これまでに示されてきたおもな理論的枠組みをどのようにとらえたらよいのかについても理解を深めることができた。さらに、これまでの研究成果を英国のケンブリッジ大学出版会より著書として出版することができた。これによって、本研究分野の重要性と発展の可能性を本研究者が中心となって世界に示すことができたと考えている。

5. 研究総括の見解

海産緑藻類が多様な配偶システムをもっていることに着目し、性的二型の進化と生息環境に関する理論構築を行うというユニークな研究課題に取り組んだ。自ら蓄積した配偶システムと生息環境の実験観察データを活用しながら、接合子形成モデルを構築し、それを用いて

配偶子サイズの進化機構に関する理論を提唱した。この成果は海外の研究者にも認められ、本人が筆頭編集者となってこの分野を集大成した著書がケンブリッジ大学出版会から発刊される運びになったことは特筆される。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.	<u>Togashi, T.</u> , P.A. Cox and J.L. Bartelt. 2007. Underwater fertilization dynamics of marine green algae. <i>Mathematical Biosciences</i> 209 : 205–221.
2.	<u>Togashi, T.</u> , T. Miyazaki, J. Yoshimura, K. Yodate and P.A. Cox. 2007. Using carbonized refuse derived fuel to restore seaweed forests: A potential conservation technique. <i>Applied Ecology and Environmental Research</i> 5 (1): 19–26.
3.	<u>Togashi, T.</u> and P. A. Cox. 2008. Equal sex ratios of a marine green alga, <i>Bryopsis plumosa</i> (Hudson) C. Agardh. <i>Journal of Integrative Plant Biology</i> 50 (6): 648–652 (顕微鏡写真が表紙に掲載された。)
4.	<u>Togashi, T.</u> , M. Nagisa, T. Miyazaki, J. Yoshimura, K. Tainaka, J.L. Bartelt and P.A. Cox. 2008. Effects of gamete behavior and density on fertilization success in marine green algae: insights from three-dimensional numerical simulations. <i>Aquatic Ecology</i> 42 : 355–362.
5.	<u>Togashi, T.</u> , Y. Sakisaka, T. Miyazaki, M. Nagisa, N. Nakagiri, J. Yoshimura, K. Tainaka, P.A. Cox and J.L. Bartelt. 2009. Evolution of gamete size in primitive taxa without mating types. <i>Population Ecology</i> 51 : 83–88.
6.	Nakagiri N., Y. Sakisaka, <u>T. Togashi</u> , S. Morita and K. Tainaka. 2010. Effects of habitat destruction in model ecosystems: parity law depending on species richness. <i>Ecological Informatics</i> 5 : 241–247.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

学会発表・招待講演

1. 富樫辰也、宮崎龍雄 配偶子の行動と異型性の進化 第10回日本進化学会大会、2008年8月22日—8月24日、東京大学駒場キャンパス
2. 富樫辰也、宮崎龍雄 水面下の受精動態と異型配偶子の進化 第19回日本数理生物学会大会、2009年9月9日—9月11日、東京大学駒場キャンパス
3. 富樫辰也 G-COEセミナー“Beyond the Origin: 精子と卵のサイズ進化”グローバルCOEプログラム「免疫システム統御治療学の国際教育研究拠点」(千葉大学医学部)

著作

Togashi T., Bartelt J.L. Evolution of anisogamy and related phenomena in marine green algae. in *The Evolution of Anisogamy: A Fundamental Phenomenon Underlying Sexual Selection*, eds Togashi T, Cox PA (Cambridge University Press, Cambridge) (in press)

研 究 報 告 書

「上皮組織のかたちづくりを理解する」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研 究 者：三浦 岳

1. 研究のねらい

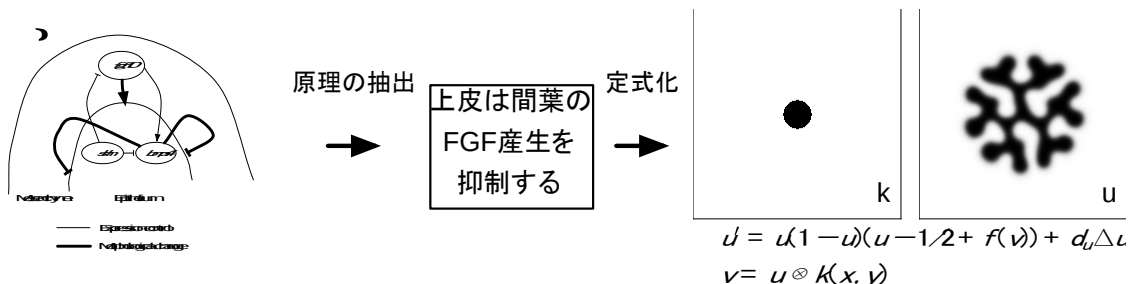
上皮組織とは、外界と人体の界面に存在するシート状の組織です。発生段階で様々な形を変えていろいろな器官を作り出します。しかし、この形をうまく記述する枠組みがこれまでほとんど提案されていませんでした。この研究では、シート構造が周囲と相互作用しながら形を作っていく現象をできるだけうまく定式化する事で、生物の形づくりの本質に迫ります。

2. 研究成果

肺の枝分かれ形成

肺の枝分かれ構造形成は古くから研究が進んでおり、関与する分子は数多く同定されていましたが、それらの相互作用がどのようにして枝分かれ構造を作るのか、そのメカニズムは不明なままでした。我々は肺の上皮のみを単離した培養系を用いて、間葉が無い状態での枝分かれ形成の本質は上皮による FGF の消費であることを示しましたが、間葉が存在する状況で何が起きているのかはよく理解されていませんでした(1)。

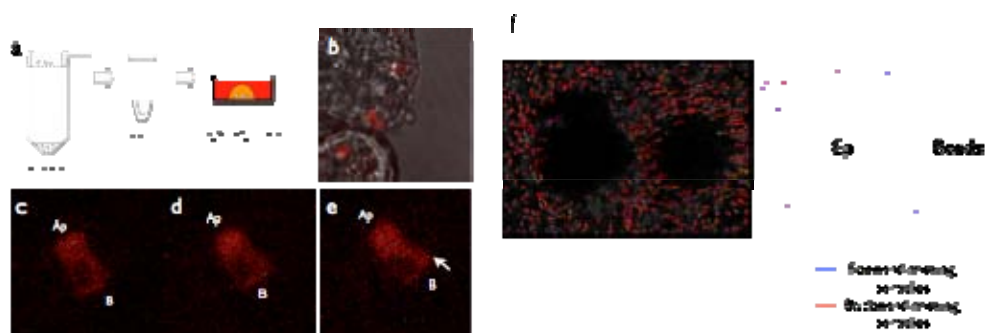
我々はまず、肺の枝分かれ形成と嚢胞形成が同時に起こる鳥類肺の系で、嚢胞形成が FGF の拡散係数の差によって生じることを示しました (2)。また最近になって、Sonic Hedgehog と呼ばれる分子を介した上皮間葉間相互作用と境界の形状の関係によって分岐構造が作られるという形のモデルが他のグループによって提案されたのですが、我々は再構成培養系を用いて境界形状とは無関係に枝分れを形成できることを示しました。この培養系の遺伝子発現の解析から、発生段階の肺における上皮間葉間相互作用は要するに「上皮組織が間葉組織での FGF 産生を抑制する」という作用に集約できることがわかってきました。これは、2 変数の充分簡単な反応拡散系に落とすことができ、解析的に扱う事も可能です。また、間葉が上皮に及ぼす作用を畳み込み積分のカーネルで表現する事で、実測データから直接この影響関数を算出する事も原理的には可能です。これはまだ培養系での枝分かれ構造形成のモデルですが、上皮間葉間相互作用を充分単純な形に落とせたというのは一歩前進であると思います。



上皮-間葉間相互作用のモデル化。複雑な分子間相互作用から本質的な反応のみを抜き出して定式化する。

また、FGF の産生領域に向かって上皮が動いて行くメカニズムに関して、Collective cell migration という観点から解明を行いました。その結果、FGF に向かって行く上皮の先頭部分

は特に変化がなかったのですが、組織の側面にある細胞群が力を出して目標に向かって進んで行く事が明らかになり、これまでの先頭の細胞群が大きな役割を果たすメカニズムとは別種の仕組みがある事が明らかになりました。このような挙動をモデル化しようとした場合、界面を進行波解で表すこれまでのやり方では表現できないため、各細胞の位置を明示的に書き下す別種のやり方を導入する必要があります。

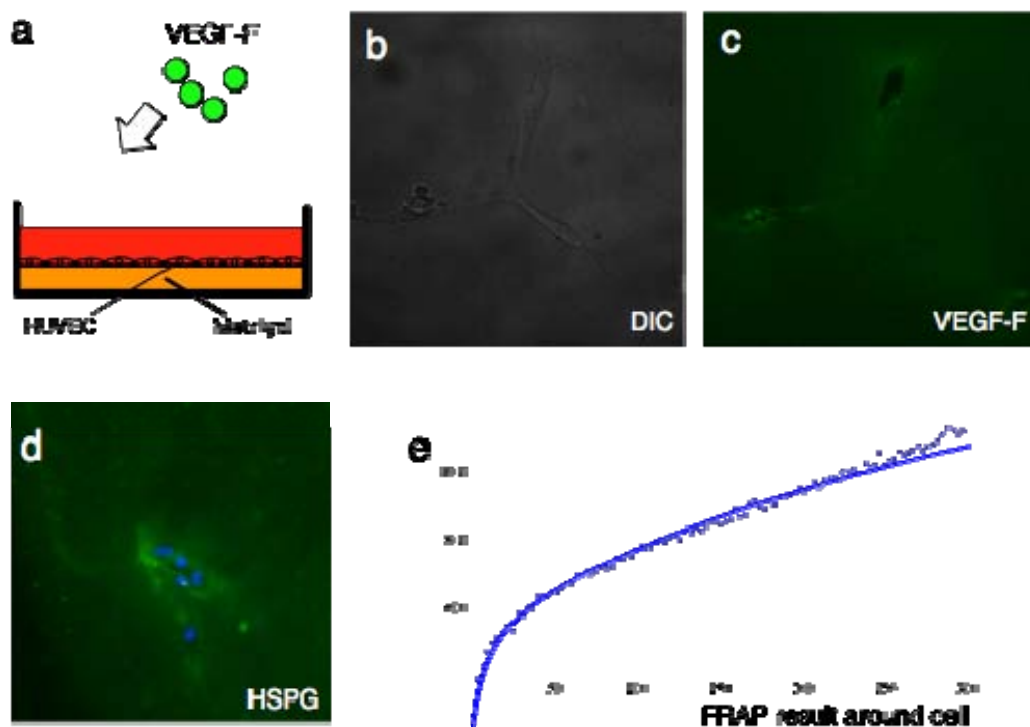


(a) 肺上皮の大量培養のプロトコル。(b) 肺上皮の細胞骨格運動の可視化。(c-e) 肺上皮細胞の運動。基底膜側が活発に運動している。(f) 肺上皮組織が動く際の周辺のゲルの変形。

HUVECによる血管構造形成

血管構造は、三次元組織に酸素、栄養を供給する上で必要不可欠であり、どの器官形成を研究する場合でも必ず関わってくるので、その原理を理解するのは発生生物学の立場からは非常に大事です。その過程の研究によく使われる実験系としてヒト臍帯静脈由来内皮細胞(HUVEC)があります。この細胞は、Matrigel と呼ばれる細胞外基質上で培養すると自発的にメッシュワーク構造を形成します。この構造形成に関しては、イタリアの Gamba, Serini らのグループの作った連続モデル、オランダの Merks らの用いている Cellular Potts model の2種類の定式化がありますが、どちらのモデルでも、血管のメッシュワーク構造の特徴長さを決定する最も重要な因子は拡散性のシグナル因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)の拡散係数と分解です。我々はこのそれぞれを実験的に計測し、Matrigel 単独では VEGF の拡散が速すぎて適正な構造を構成できないことを示しました (4)。

それでは、HUVEC はどのようにして血管網を形成するのでしょうか？じつは、FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching)を用いた解析によって、内皮細胞周辺でのみ VEGF の拡散係数が3桁も減少している事が明らかになりました。また、細胞による VEGF の産生もそれほど多くなく、培地中の VEGF が細胞外基質に吸着されてパターン形成を誘発するという新しい描像に到達しました。このストーリーに関しては、応用数学者のグループと共同で論文にまとめる予定です。

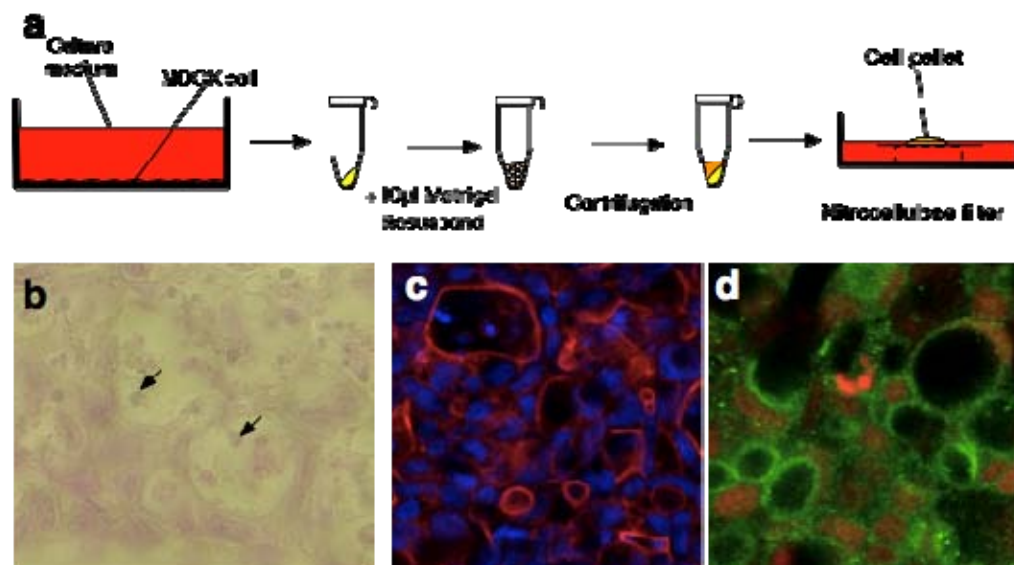


(a) 実験条件。培地中に蛍光ラベルした VEGF を投与する。(b) HUVEC の微分干渉像。(c) 実験開始後 30 分で吸着された VEGF の分布。(d) ヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)の細胞外の分布。(e) FRAP による蛍光の回復曲線。拡散の速い成分と遅い成分があると仮定しないとうまく Fitting できない。

上皮細胞での組織構造の形成

かたちづくりの真の理解とは何でしょうか？端的には、対象となる構造を制御して作ることができたら真の理解に近いと言ってよいと思います。Turing パターンも、ごく最近までは想像上のものでしたが、1990 年代はじめに化学者が CIMA 反応を実際に開発してから理論研究が再燃した経緯があります。

個々の上皮細胞は apical-basal 側の極性を形成しようとするがあります。また、その上皮細胞同士は相互作用を行い、極性の方向をそろえる性質があります。ただし、スピングラスや平面極性とは異なり、Apical 面同士、Basal 面同士の接触も許可されます。この挙動は化学に於ける界面活性剤分子やコポリマーの挙動と定性的に一緒なので、極性形成能の強い細胞集団を一緒にするだけである程度組織構造を作ることが予想されます。我々は MDCK 細胞株を用いてこのような三次元的な高密度の状態を作り出し、ある種の組織構造を作り出すことに成功しました。まだ構造がきちんとコントロールできない状態なので、apical 側と basal 側の領域を制御する工夫が必要であると思われます。



(a) 培養条件。MDCK 細胞株を高密度で培養する。(b) 形成される組織構造。(c) Phalloidin-Rhodamine による Apical 膜の染色。(d) Syntaxin3 による Apical 膜の染色。

3. 今後の展開

肺の枝分かれに関しては、上皮間葉間相互作用を充分単純化したモデルがようやく研究期間の終盤で導出できたため、今一番面白い段階にあると思います。FGF の遺伝子発現パターンから deconvolution による影響関数 k の導出、実測した影響関数を用いた数値計算、枝分かれ形成の実測データからの界面方程式の導出等(細胞運動で確立されたやり方がある)、考える枠組みができたため、やるべきことは沢山あります。

また、導出したモデルは一般的であることから、発生段階で生じる他の枝分れ器官にも応用できる事が期待されます。来年度から合流する九州大学の平島氏は腎臓の枝分かれ形成のモデルを作っていましたが、この系ではキーとなる GDNF という分子が FGF と同様に枝分れを起こす上皮の周辺に発現することがわかっています。このような場合、分子の名前を入れ替えるだけで簡単に他の系の定式化も可能です。

細胞外に分泌されるシグナル因子の拡散速度の定量はこれまでほとんど行われて来ていませんでした。最近になって morphogen gradient の形成に関連する分子の計測結果がトップジャーナルに載るようになってきましたが、自発的パターン形成の特徴長さを決めるパラメータ、という観点での仕事はまだありません。研究期間後半になって、拡散の計測に関する技術と道具が揃ったので、この分野にも独自の視点で攻めて行こうと思います。

4. 自己評価

当初は反応拡散系を用いた定式化からの脱却を計っていたのですが、結局使い慣れた道具に回帰してしまった感があります。Cellular automaton を使った系や粒子系も試してはみたのですが、数値計算の結果のバラエティや、数理解析の道具の整備のされ方等から結局連続モデルに戻ってしまいました。しかし、実験結果と対応の付けやすい定式化の仕方を探る、という点では独自性が出せたと思います。

成果の発信の部分に関しては、通常の論文発表の他に、発生生物学会における国際シンポジウム主催という経験をさせていただきました。2009 年度は大会長が数理を用いた研究を後押しする意向が強かったのと、JST の国際強化支援策で金銭面のサポートをしていただい

たのが大きかったと思います。学会におけるシンポジウム主催がどの程度波及力があるものなのか少し経ってみないとわかりませんが、各種学会でこのような試みは続けていった方がよいと思います。

研究費の主要な使い道は共焦点顕微鏡の購入とラボテクニシヤンの人件費ですが、これはどちらも非常によく働いてくれました。共焦点顕微鏡は主に培養系の経時観察に用いていたので、可動時間が4000時間を超えましたが、特にいまのところトラブルがありません。共用設備ではとてもこうはいかなかったでしょう。また、技官さんも優秀な方で、私がへたっているときは実験に追い立ててくれ、混乱した指示も的確に整理して実験を遂行してくれたため、たくさんの実験データを出すことができました。

5. 研究総括の見解

発生段階で上皮組織が形を変えて様々な器官を作り出す過程を理論的に記述しようという、まだ未開拓な部分が多い研究課題に様々な角度から意欲的かつ挑戦的に取り組んだ。具体的には、肺の枝分かれ形成やヒト腔帯静脈由来内皮細胞による血管構造形成などを取り上げた。特に前者に関しては、上皮組織が間葉組織での FGF 産生を抑制することを最近自ら発見し、それに基づいて2変数の簡単なフェイズフィールドモデルを構築し、枝分かれ形成が定性的に再現されることを明らかにした。今後このモデルがどのように発展するか期待が持たれる。また、JST の支援を受けて発生生物学会で国際シンポジウムを開催し、この分野での数理研究の波及を図るなど情報発信に向けた積極性も評価される。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Miura. Modeling lung branching morphogenesis. Current topics in developmental biology (2008)
2. Miura et al. The cyst-branch difference in developing chick lung results from a different morphogen diffusion coefficient. Mech Dev (2009) vol. 126 (3-4) pp. 160-72
3. Miura T. and R. Tanaka. In vitro Vasculogenesis Models Revisited-Measurement of VEGF Diffusion in Matrigel. Mathematical Modelling of Natural Phenomena Vol. 4, No. 4, 2009, pp. 118-130 (2009)
4. Kondo and Miura. Reaction-diffusion model as a framework for understanding biological pattern formation. Science (2010) vol. 329 (5999) pp. 1616-20
5. "Mechanism of lung branching morphogenesis", T. Miura, In "Biological and Physical Constraints on the Evolution of Form in Plants and Animals", Vienna series in Theoretical biology, in press.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

Mechanism of lung branching morphogenesis、Biological and Physical Constraints on the Evolution of Form in Plants and Animals, Konrad Lorentz Institute, 2010/9/23 (Austria)

FGF-induced collective cell migration during lung branching morphogenesis, SDB-JSDB Joint Meeting in Albuquerque, 2010/8/8, Albuquerque (USA)

Modeling lung branching morphogenesis, EMBO Conference on Morphogenesis and Dynamics of Multicellular System, 2009/10/6, Heidelberg

研 究 報 告 書

「生体分子相互作用のネットワーク構造の力学的解明」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研究者：望月 敦史

1. 研究のねらい

分子生物学の発展により、多数の生体分子が相互作用の複雑なネットワークを作り、そのシステム全体から機能が生まれることが、様々な生命現象で解明されてきた。つまり制御ネットワークに基づき、遺伝子や蛋白質などの活性のダイナミクスが走り、それらが生み出す時間変動や空間パターンが、生物らしい現象の起源なのだと考えられている。しかし、生体分子制御から、生命機能までの間には、ダイナミクスの理解が立ちだかっている。制御関係が情報として与えられたときに、分子活性がどのようなダイナミクスを示すか、ということに関して、我々はこれまで殆ど理解を持っていなかった。

本研究では、「生体分子の制御ネットワークの構造と、そこから生じるダイナミクスとの関係」を明らかにする理論の確立を目的とする。制御構造から決まる動態に対する制約を、数学的に定式化することにより、構造とダイナミクスを結び付ける一般的な理論の構築を目指す。これをもとに様々な生命システムの複雑ネットワークを実際に解析し、その動態を解明する。理論の構築とその一般化、および生命現象への適用による有用性の実証、という二つの方向で研究を進める。本研究を通じて、生命の複雑システムを理解する新しい方法を確立したいと考えた。

2. 研究成果

(1) 制御ネットワークの構造と活性ダイナミクスに関する一般理論

構造と動態とを結びつける理論、Linkage Logic を開発することに成功した。この理論の成り立ちはごく素直であり、「制御ネットワークが分子活性のダイナミクスの依存関係の情報を与える」こと、すなわち「各生体分子の活性ダイナミクスは、それを制御する因子の関数である」、という自明の論理だけに基づく。制御構造から定まる力学への制約として二つの側面があり、生体分子活性状態の「不和合性 (compatibility)」、及び「独立性 (dependency)」と名づけた。以下で両者を直感的に説明する。

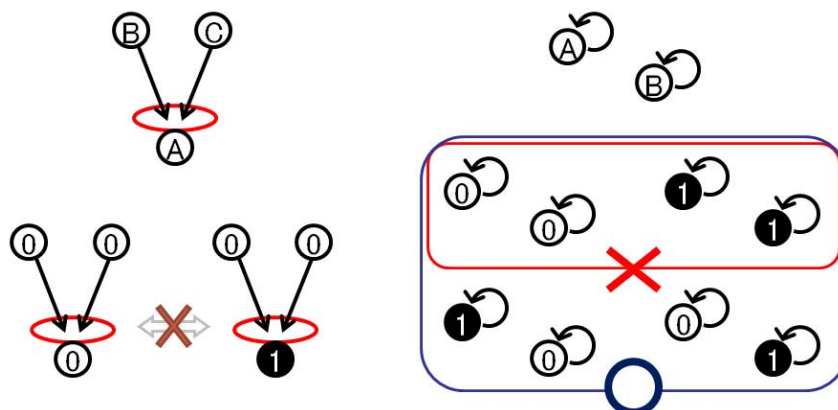


図1 不和合性(左)と独立性(右)の直感的説明

図1の左上の制御の情報が与えられたとき、下に示した二つの活性状態は、定常状態として両立しえない。なぜなら、分子 A は同一の入力に対し、異なる複数の出力を返すことはないからである。逆にもし図左下の二つの状態が、異なる細胞で観察されたならば、分子 A に対する未知の制御を考えなければ説明できない。一方で図の右は、ネットワークの構造が定常状態の「集合」に対して制約を与えていることを示す。独立な二つのフィードバックループと

いう制御構造を信じるならば、赤線で囲まれた二つの活性状態が定常状態として観測された際に、それだけで十分であるはずが無い。青線で囲まれた中にある、片方活性でもう一方が不活性であるような二つの状態も観測されるはずである。

実際にはこれらの論理を、生体分子活性の動態を一般的に記述する微分方程式系を用いて、数学的に定式化した。その結果、方程式の全ての漸近解が、システムに含まれる変数のうちの一部、Informative nodes だけによって代表されること、またそれらの Informative nodes はネットワークの構造だけから決められることが分かった(不和合性)。また、制御構造から決まる定常状態の集合が満たすべき条件を、両者の整合性を判別する式の形で導いた(独立性)。Linkage Logicに必要な条件は、制御関数の一意性のみであり、極めて一般性が高い。制御関数の形やパラメータの値などに依存せず、ネットワークの情報だけから、これらの帰結が得られることが分かった(文献 1, 5)。

(2) 実際のネットワークへのLinkage Logicの適用

Linkage Logic を用いることで、複雑なネットワークに対しても手続き的な操作で、次の情報が得られる。(1)複雑なネットワークから全体の力学的挙動を代表する一部の分子 Informative nodes を抜き出し、(2)力学的な性質を失わずにネットワークの単純化を行える。さらに定常状態が実験的に観測されていた場合、(3)定常状態の集合とネットワーク構造との整合性を判別でき、(4)データによっては未知の制御を予測できる。これらの結果を幾つかのシステムに対して適用した。

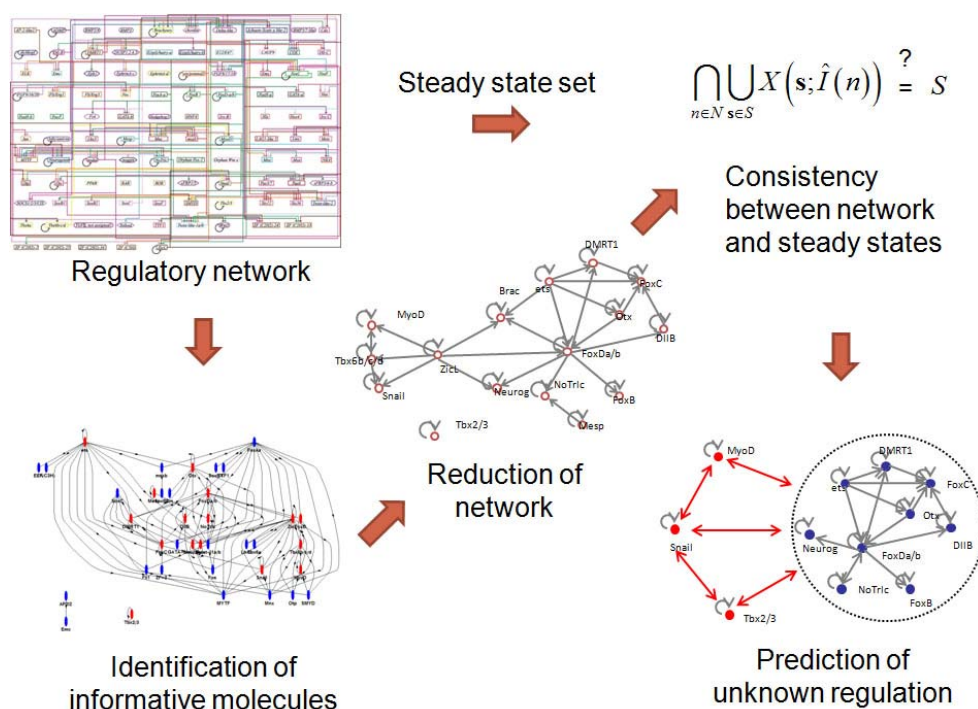


図2 ホヤの遺伝子ネットワークの解析のまとめ

ホヤの初期発生にかかわる遺伝子ネットワークを解析したところ、76 の遺伝子を含む制御ネットワークの中から、発現多様性を網羅する 16 の遺伝子を抽出できた。これを用いて遺伝子発現ダイナミクスの性質を失わないままに、ネットワークを単純化した。さらに観測された遺伝子発現パターンを取り入れることで、ネットワーク構造と発現パターンとの間の不整合性を示した。ここから未発見の遺伝子発現パターン、もしくは制御が存在することを予測し、その候補を示すことができた(文献1)。

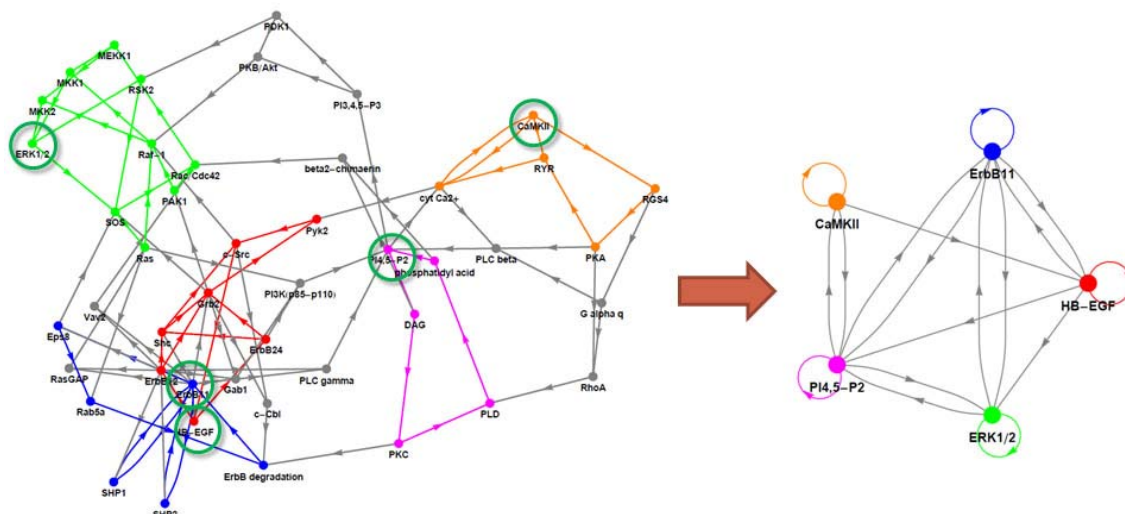


図3 シグナル伝達系ネットワークの解析

EGF レセプター下流のシグナル伝達系の生体分子間制御は、細胞外から受け取ったシグナルを元に細胞が行動を切り替える、いわば行動決定を行う重要な系である。100 種以上の分子が相互作用する複雑なネットワークを構築している。数多くの研究者が注目している系であるが、その振る舞いの全体像はほとんど解明されていない。Linkage Logic を適用することで、このネットワークの振る舞いが、たった 5 つの分子の動態に帰着され、合理的に単純化できることが分かった。現在、これら 5 つの分子の活性を様々な細胞状態で観測する実験を、共同研究者と進めている。この研究は理化学研究所の、佐甲靖志博士、岡田眞里子博士との共同研究である。

(3) その他のネットワークシステムの解析

Linkage logic を用いた解析に加え、様々な生命ネットワークに対して、数理モデルを用いてその動態を解明する研究もおこなった。脊椎動物の体節形成において働く遺伝子の時空間ダイナミクスに対して、実験と理論を組み合わせた研究を行った。新たに発見された体節形成遺伝子の制御について、二つの仮説に対応するモデルを構築し、生成される時空間ダイナミクスを解析した。従来信じられていた仮説に従うモデルでは、変異体の発現パターンを説明できないことが分かった。ここから新たな制御の経路が予測され、この制御経路の存在は実験的に確認された。この研究は基礎生物学研究所の、高田慎治博士、高橋潤博士との共同研究である(文献 2)。また、線虫の温度走性行動を対象に、多数の個体の移動を記録した画像データから各個体の追跡を行う画像解析技術と、そこから行動の特徴を抽出する技術を開発した。この研究は名古屋大学の森郁恵博士、久原篤博士らとの共同研究である(文献 4)。

3. 今後の展開

今後も生命の複雑なネットワークシステムを対象に、理論的研究を展開していく。特に Linkage Logic は、既存のデータだけから分子生物学的に検証可能な予測を与えうる、強力な理論である。今回のさきがけ研究を通じて、理論の基礎を打ち立てることができた。今後は以下の三つの方向で展開を進めたい。

第一に、実際の様々な生物ネットワークへの適用を進める。生物学的に重要な複雑システムに対し、ネットワークの単純化を示すことで理解を進め、理論の有効性を示す。可能な場合には、未知の制御を理論からの予測として導き、実験生物学者への検証を依頼する。この繰り返しにより、理論の有効性の実証を進め、同時に実用性を高める。現在、細胞周期のネットワークなどについて、解析を始めている。

第二に、理論の利便性を高める。理論の中身を知らなくとも、データの解析を簡易に行えるアプリケーションを開発したい。既存の実験データに対し、あるいは新規の実験事実が得られた際に随時、作業仮説の導出に利用できるツールとして使えるものを目指す。

第三に、数学的な展開を進めたい。これまで、Linkage Logic は微分方程式系の定常状態に対する理論だと考えてきた。しかし最近、微分方程式のクラスをある程度具体化することで、定常状態以外の周期振動や準周期的振る舞いに対しても適用可能であることを明らかにした。つまり広いクラスの微分方程式系の全ての漸近解に対して、この理論は適用可能である。さらなる数学的展開を、Berlin Freie University の Bernold Fiedler 博士との共同研究として進める。(論文準備中)

以上のように様々な方向に、この理論を発展させる。理論予測と実験的検証によって進展するこれからの生物学において、一つの方法としてこの理論を確立させたい。

4. 自己評価

「制御ネットワークの情報だけからダイナミクスを決める一般的理論の構築」という当初の目標を達成することができた。当初は制約が多かった基本アイデアを、ほとんど仮定を必要としない、極めて一般性が高く、応用範囲の広い理論に育てることができた。また、数理モデルの仮定なしに、実験データだけから、未知の制御や未知の発現状態の存在を予測できる方法を示せたことは、予想外の成果であった。一方でシグナル伝達系ネットワークに関して、理論からの予測を実験的に検証するところまでは、3 年間のうちに完了できなかった。ただし、このプロジェクトは現在も実験生物学者と共同研究を続けている。今回のさきがけ研究で理論構築は一段落したと考えており、今後は様々なシステムに適用して実用性を示すことを中心に、展開を行っていきたいと考えている。

5. 研究総括の見解

生体分子相互作用の制御ネットワークの構造だけから分子活性のダイナミクスを予測する一般理論を構築するという、極めて意欲的かつ先進的な研究課題に取り組んだ。制御構造から定まる生体分子の活性状態は、「不和合性」と「独立性」という二つの制約を受けていることに着目して、制御構造と生体分子動態とを結びつける一般性の高い Linkage Logic と呼ばれる理論を構築した。これにより、複雑なネットワークから全体の力学的挙動を代表する一部の分子“Informative nodes”を抽出できること、また、分子活性の定常状態から未知の制御を予測できることなどが示された。さらに、この理論を展開する今後の道筋も明確に示しており、本研究は理論生物学分野における一つのブレークスルーと位置づけられよう。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1.	<u>Mochizuki A.</u> and Saito D. (2010) Analyzing steady states of dynamics of bio-molecules from the structure of regulatory networks <i>J. Theor. Biol.</i> 266 , 323–335.
2.	Takahashi, J., Ohbayashi, A., Oginuma, M., Saito, D., <u>Mochizuki, A.</u> , Saga, Y. and Takada, S. (2010) Analysis of Ripply1/2-deficient mouse embryos reveals a mechanism underlying the rostrocaudal patterning within a somite. <i>Dev. Biol.</i> 342 , 134–145.
3.	Shimono, K., Sugimura, K., Kengaku, M., Uemura, T. and <u>Mochizuki, A.</u> (2010) Computational modeling of dendritic tiling by diffusible extracellular suppressor. <i>Genes Cells</i> 15 , 137–149.
4.	Nakazato, K. and <u>Mochizuki A.</u> (2009) Steepness of thermal gradient is essential to obtain a unified view of thermotaxis in <i>C. elegans</i> . <i>J. Theor. Biol.</i> 260 , 56–65.
5.	<u>Mochizuki A.</u> (2008) Structure of regulatory networks and diversity of gene expression patterns. <i>J. Theor. Biol.</i> 250 , 307–321.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

編集・著作

	1. 望月敦史 (2011) 「はじめに 一本書の読み方」. <i>生命科学の新しい潮流 理論生物学</i> (望月敦史 編) 第 1-1 節 pp. 3-7. 2011 年 1 月刊行 共立出版
	2. 望月敦史 (2011) 「生体分子制御ネットワークの構造の力学的解明」. <i>生命科学の新しい潮流 理論生物学</i> (望月敦史 編) 第 2-3 節 pp. 74-93. 2011 年 1 月刊行 共立出版
	3. 「発生と形づくりの数理」 <i>数理科学事典 第二版</i> (広中平祐 代表編集) II. 生命の数理 第4章 4-1~4-4. 2009 年刊行 丸善出版

研 究 報 告 書

「時間発展する樹状経路構造上の信号伝播様式」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 7 月

研究者：元池 育子

1. 研究のねらい

信号処理素子である神経細胞や、粘菌の管などは、枝分かれした樹状という特徴的な「形」をしている。そしてこの形は、信号の伝播に応じて、少しずつ変化している。本研究では、この樹状のかたちをとることによって得られる特性、そして双方の階層が相互に作用して時間発展する形、というものに焦点をあてる。研究方法としては、信号の伝播と伝播の経路である「形」のダイナミクスを、反応拡散という共通のことばで記述し、信号伝播や形の変化や多様性を調べ、信号伝播の様式から信号処理機能の解釈を試みる。これらを通して、樹状という「形」をとることによるメリットは何なのか、単純化した数理モデルを用いて、樹状を走る信号のパターンを知ることを通して、生命の信号処理の理解を目指す。

2. 研究成果

(1) 信号伝播の履歴に応じて時間発展する樹状パターンダイナミクスの提案

信号伝播の履歴に応じて樹状経路を形成するダイナミクスの提案を行った。経路形成に関しては、経路因子(形成因子、成長痕因子)と成長促進因子の 3 変数系を採用した。当該経路上の信号伝播には、興奮波伝播の一般モデルである、活性・抑制因子の 2 変数系を採用した。また系の記述には、時空間状態を離散化したセルオートマトン法を用いた。樹状・分岐形状は、経路形成因子が成長促進因子を取得する際の競合の結果、成長痕の空間分布として形成され、その形状特性は、経路形成因子や形成促進因子の易動度、促進因子の初期値などに依存する。本研究では、経路変化に対する信号伝播履歴の効果として、信号の伝播履歴により経路は成長し、伝播がなければ縮退するという相互作用を導入した。

ここでは、まず信号伝播が樹状経路形成に与える影響を見るため、信号伝播履歴に依らない樹状形成ダイナミクスのみの場合の形状と、相互作用があり、かつ場の中心から定期的に信号が入力される場

合の形状との比較を行った(図1)。その結果、相互作用がある場合において定性的に異なる二つのモードの樹状形成が見いだされた。入力信号の等方伝播による一過性の信号伝播モードと、枝の端点での再帰的な自発振モードである。後者のモードは信号伝播経路の伸展と、信号の担体である興奮波のもつタイムスケールの兼ね合いで発現していると考えられ、両者のタイムスケール比が特定の値をもつ領域で頻繁に観測された。

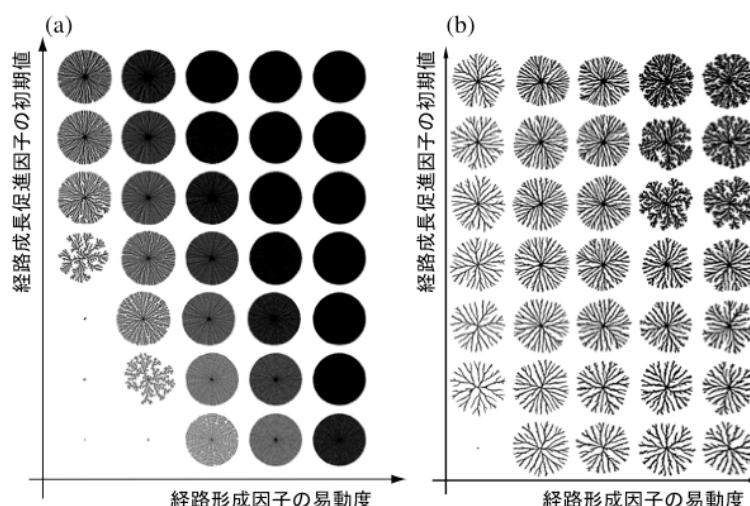


図1 樹状形成ダイナミクスのみの場合(a)と信号伝播との相互作用を含む場合のパターン(b)。(b)の右上の領域で主にペースメーカー的な信号の発振がみられた。

(2) 入力信号情報の樹状形状への反映

(1)の結果は、信号伝播履歴が樹状形状形成に与える効果のうち、経路伸展の促進効果に焦点を当てたものであった。次に、信号伝播が途絶えた経路の縮退効果に着目した。効果を明確にするため、初期状態として樹状経路を設定し、樹状の任意の複数点から入力がある定期的に行われるとした。系の時間発展としては、信号が頻繁に伝播する経路は維持・伸展し、そうでない経路は縮退することから、場の条件に依存して、大きくわけて次の三つの結果が得られた。初期経路をほぼ残す場合、初期経路をある程度維持しつつ、入力の時空間パターンを反映したかたちで経路が時間発展する場合、そして初期経路に依存せず、新しいパターンを形成する場合である。図2は、二つ目の場合の例であり、2点から定期的な信号入力がある条件下での経路変化を示す。おおよそ2点を結ぶような経路が残り、その他の経路は徐々に縮退していく。なお、簡単のため、経路上を伝播する信号は表示していない。この結果は、信号処理の観点からは、入力信号の履歴が経路形状として記憶されているともみなせる。

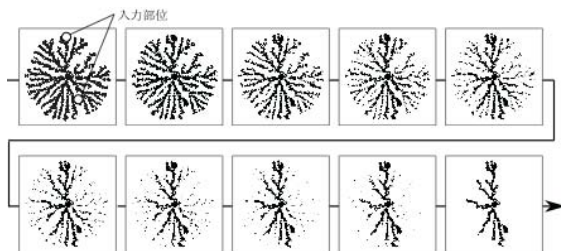


図2 入力に伴う興奮波の伝播に応じた経路変化。

(3) 樹状形状と信号処理能

樹状形状の特徴のひとつは、多分岐の集約構造である。個々の分枝点をみると、枝が集約する箇所では、進行する興奮波の取りうる幅が、集約点の前よりも一過的に広がることが多い。したがって、空間の広がり効果により、経路の興奮性によっては単一の興奮波では伝播できず、複数の興奮波が同期して伝播してきた場合にのみ継続して伝播が可能になることがありうる(図 3(a))。本研究では信号の伝播時間を本質的に含んだ信号処理を想定しており、上記の信号伝播の性質について、空間的な集約構造によって、論理和あるいは場の特性に応じた時間窓をもつ論理積演算が行われるという解釈が成り立つ。ここで後者の演算は、同期検出ともとらえられる。この性質を活用し、多数の枝をもつ樹状構造が、枝端点からの入力信号セットに対する中心での出力、という多入力ー(いち)出力の演算素子とみなせることを示した。さらに、入力信号に対する出力応答性が経路の反応性(興奮性)に依存すること、また分岐形状が画一的でないことにより、幅広いデータに対応できることを示した。

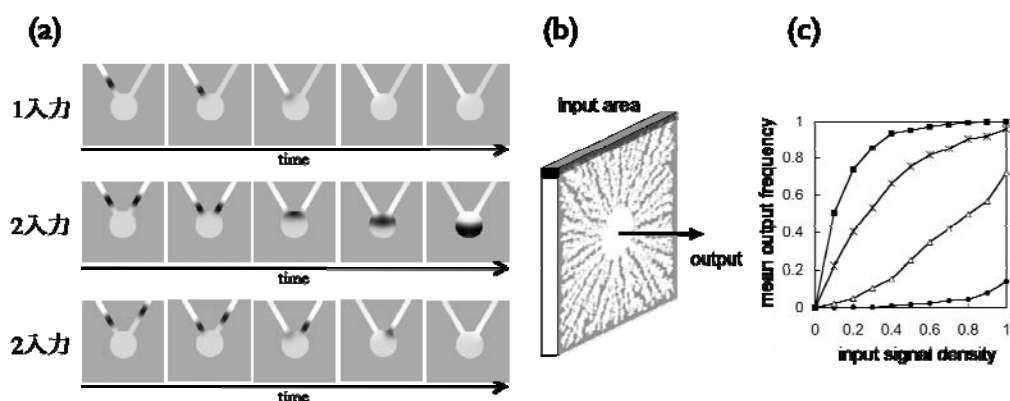


図3 (a)二入力における同期検出の振る舞い (b)樹状形状の多入力ー出力素子としての模式図 (c)(b)における場の興奮性による入出力条件の違い

(4) 樹状パターンの結合系における信号伝達

上述した系は、基本的に単一の樹状素子内での信号伝播の様式を対象としたが、より高次の階層の信号処理能の理解のため、樹状素子の結合系における信号伝達の可能性を探

った。樹状経路そのものの結合様式については、経路形成の成長促進因子の値等に依存して、相対して伸展する枝の成長が排他的となる場合と、融合する場合が見られた。前者の代表的なものは、異なる点から成長した樹状がわずかな間隙を挟んで伸展を止めるパターンであり、その場合、信号が樹状素子間隙を伝達できるか否かが焦点となる。樹状素子二体が排他的かつ近距離まで成長する条件下で、枝の端末の幾何特性によって、間隙を超えた信号伝達が起こる条件があることを見いだした。より単純な境界形状をとる場の離散結合系における興奮信号伝播に関して、これまでの得られてきている知見として、間隙を経由することにより、波数のフィルタリングや整流特性が見いだされることが知られており、樹状の離散結合系においても、多様な信号処理が各端点の結合部位で得られることが期待される。

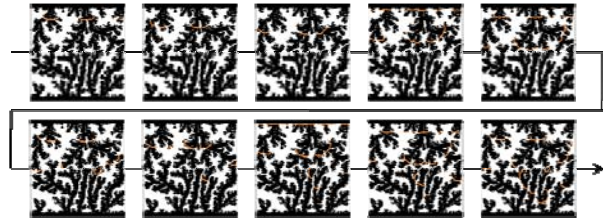


図4 上部の樹状を伝播する信号が間隙を介して下部の樹状に伝達する例

3. 今後の展開

時間発展する樹状経路上の信号伝播様式について、基本的な性質は明らかになってきたが、各分岐点や素子結合系における端点間での単純な演算処理が、樹状全体、あるいは樹状結合系全体でどのような信号処理機能に結びつく可能性があるかについては、今後例を挙げて示し、記号化を模索する必要がある。また、樹状に対する入力信号の自由度を高次にする(例えば動画など)ことを念頭に、現在樹状経路自体を3次元化することを試みているところであり、信号処理のみならず3次元樹状の形態形成そのもののダイナミクスも興味深く、継続して行う。一方、本研究はダイナミクスを一般化したところを起点としており、実際の生命現象、実データと寄り添う方向は不足しているところである。樹状が見られる生命系のひとつ、神経細胞を例にとってみても、多様な形態があり、各形状特性と信号処理特性との関連性を、数理モデルを通して明らかにすることは非常に有用であると考えられる。今後の課題のひとつに、実験で得られたデータの解析を通して、より現象に即した形状特性及び信号伝播の様式を見いだすことを掲げている。

多様な「形」と「機能」が密接に関連していること、また時空間スケールの異なるダイナミクスの関係性が生命現象の本質のひとつであることを念頭に置き、研究を進めていきたい。

4. 自己評価

本さがけ研究では、信号伝播履歴に応じて形状変化する樹状構造と信号伝播様式に関して、信号伝播と樹状形成の二つのダイナミクスが相互作用することによる、(1)樹状形成過程における信号伝播パターンの定性的に異なるモードの発現、および(2)経路縮退と伸展のバランスによる経路変化の信号伝播パターンの反映の結果を得た。また(3)経路が分岐・樹状構造をとることに起因する時間信号処理機能の発現、(4)樹状経路が結合することにより樹状経路間の信号伝達可能性の提示を得た。本研究の目的のひとつである、パターン形成・変化の評価面においては、静的パターンの定量化、および定性的な違いに対する動的モードの同定といった点で達成されている。主目的である信号処理機能の解釈については、構造を反映する局所的な信号処理機能についての提示にとどまり、樹状構造全体における情報処理機能の記述に関しては、今後の大きな課題となっている。また当該モデルの実験系との対応は成果を出せる段階にないが、本研究での結果の提示をきっかけに、いくつかの実験系について今後発展が見込めることとなった。本さがけ研究を遂行したことにより、形と信号伝播・信号処理という分野に関して数理モデルからの切り口によるひとつの基盤を構築できたのではないかと考えている。今後はモデルのさらなる一般化、定量化の解析方法の検討、および実データとの対応などを通して、形状特性に起因する機能性の実証にむけて、本アプローチ方法の有用性を実証していく必要がある。

5. 研究総括の見解

神経細胞を初めとして生物界で普遍的に見られる樹状という形態にはどのようなメリットがあるのかを知る為に、樹状を伝播する信号パターンを数理モデルを用いて分析するというユニークな研究課題に取り組んだ。信号伝播の履歴に応じて樹状経路が形成される過程の時間発展を解析した結果、樹状経路の分岐点と集約点で論理積演算が行われること、入力信号の履歴が経路形状として記憶されること、また、ペースメーカー的な信号発信が起こる事など、様々な信号処理能力が自己組織的に形成されていることを見いだした。以上の興味深い発見を基盤にして、今後は、樹状構造全体における情報処理機能の理解へと発展されることを期待したい。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. I. N. Motoike and H. Takigawa-Imamura, "Branching pattern formation that reflects the history of signal propagation". Phys. Rev. E, 82(4), 046205. (2010). 著者、発表論文タイトル、掲載誌名、巻号頁、発行年等
2. I. N. Motoike, S. Nakata, Y. Iguchi, K. K. Takemura, K. Hayashi, and K. Yoshikawa, "Apex of a V-shaped cut field acts as a pacemaker on an oscillatory system", Chem. Phys. Lett., 490, 238-241 (2010).
3. I. N. Motoike, "Multi-Valued Operations with an Inhomogeneous Reaction-Diffusion Field" J. Comput. Chem. Jpn, 9(3), 121-126, (2010).
4. H. Takigawa-Imamura and I. N. Motoike, "Towards computation in noisy reaction-diffusion cellular automata." Intelligent Signal Processing and Communication Systems, 2009. International Symposium on (pp. 355-358) (2009).

(2)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

学会発表

- ・ 元池 N.育子, "3次元樹状構造形成と信号伝播", 第48回日本生物物理学会年会, 2010.9, 仙台.
- ・ 元池 N.育子, "信号伝播履歴に依存して変形する経路における経路間相互作用", 日本物理学会 2010 秋季大会, 2010.9, 大阪.
- ・ H. Takigawa-Imamura and I.N. Motoike, "Image Processing with Neuron-like Branching Elements", 9th International Conference on Unconventional Computation, Tokyo, 2010.6.
- ・ 元池 N.育子, "経路形成が信号伝播履歴に依存する2体経路系におけるパターン", 第47回日本生物物理学会年会, 2009.11, 徳島.
- ・ 元池 N.育子, "信号伝播履歴に依存する経路形成系における経路変化特性", 日本物理学会第64回年次大会, 2009.3, 東京.
- ・ 元池 N.育子, "信号伝播履歴に依存して伸長・縮退する樹状場上の信号伝播特性", 第46回日本生物物理学会年会, 2008.12, 福岡.

招待講演

- ・ 元池 N. 育子, "Hypothesis of Real-Time Field-Computation; A Simple Model of Autonomous Informational Operation", 第48回日本生物物理学会年会, 2010.9, 仙台
- ・ H. Takigawa-Imamura and I. N. Motoike, "Towards Computation in Noisy Reaction-Diffusion Cellular Automata", 2009 International Symposium on Intelligent Signal Processing and Communication Systems, 2009.12, 金沢
- ・ 元池 N. 育子 "Signal propagation on deforming branching paths correlated with a history of signal propagation", 日本数理生物学会 2008 年年会, 2008.9, 京都

著作物

- ・ 元池 N. 育子, “場の幾何学的形状に依存する興奮波伝播パターンと信号処理”. システム/制御/情報, 54(1), 3-8 (2010).
- ・ 元池 N. 育子, 浅井 哲也, “樹状構造の自己組織化と単電子回路への応用トポロジーデザイン——新しい幾何学からはじめる物質・材料設計——”, 有限会社ブッカーズ編, NTS 出版, 東京 (2009).

研 究 報 告 書

「形態形成ダイナミクスの新しいモデリング手法の構築」

研究期間：平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研 究 者：森下 喜弘

1. 研究のねらい

我々動物の発生過程を理解することは、理学的にも医学的にも非常に重要な問題である。この 30～40 年間、分子生物学の飛躍的な進歩により、発生現象に関わる多くの遺伝子やその制御関係等、膨大な分子情報が蓄積されてきた。しかし、器官形成過程を遺伝子型と表現型の 1 対 1 対応で理解することは必ずしも容易ではなかった。器官形成過程では、まず拡散性分子(モルフォゲン)を介して組織内に位置情報場が形成される。次に、各細胞は自身の場所に応じて適切な応答(細胞増殖、細胞死、運動、分化など)を決定する。それら細胞応答は組織内の各場所で異なる変形パターンを引き起こし、最終的に器官全体の形態が実現される。したがって発生ダイナミクスを理解するためには、これら異なるスケールで見られる現象を理解し、さらにそれらの相互関係性を明らかにすることが不可欠となる。本研究では、特に、「情報」「幾何」「力学」の観点から、現象の数学的定式化やデータ解析手法の構築を行い、それらを実験データに適用することで発生現象のロジックを解明することを目指す。

2. 研究成果

[2-1] 位置情報の最適コーディング理論の構築と実験的検証

目標の外形や骨格パターンを実現するための最初のステップは、各細胞が自身の位置を正確に認識し、適切に応答(分裂、細胞死、分化など)をすることである。位置に関する情報はモルフォゲンと呼ばれる拡散性分子の濃度勾配によって与えられるが、その濃度分布は生体内のゆらぎのために個体ごとにばらつきが生じる。ノイズ環境下における情報伝達の精度や効率を議論するために情報理論の考え方を発生学に導入し、位置情報コーディングに関する様々な概念の数学的定式化、最適コーディングデザインの解明を行った。

モルフォゲン濃度勾配 $u(x)$ を、空間座標 x をモルフォゲン濃度 u への位置情報のエンコード、各細胞が自身の観測濃度 u' から空間座標の推定値 $\hat{x}(u')$ を返すことをデコードと定義する(図1)。このとき、組織内の位置 x にいる細胞が受け取る位置情報の精度を $\det[\text{Var}(\hat{x}(u; x))]$ とすると、Cramer-Rao の不等式により、最尤デコーディング $\hat{x}_{ML}(u')$ が最適となる。またこのときエンコードの良さは $\det[I(x)]$ で評価される。ここで、 $I(x)$ は Fisher 情報行列である。したがって、位置情報の最適エンコーディング(=最適モルフォゲン濃度分布)とは、空間情報を与えるべき組織内領域での $\det[I(x)]$ の重み付き積分を最大化するものと予想される [Morishita and Iwasa (submitted)]。

提案した理論を実際の生命システムへ適用し、(i)脊椎動物四肢形成過程における位置情報源配置の最適性 [Morishita and Iwasa (2008)]、(ii)ショウジョウバエ初期発生における拡散因子(Bicoid, Caudal)の持つ情報精度の解析 [Morishita and Iwasa (2009)] を行い、その有効性を示した。

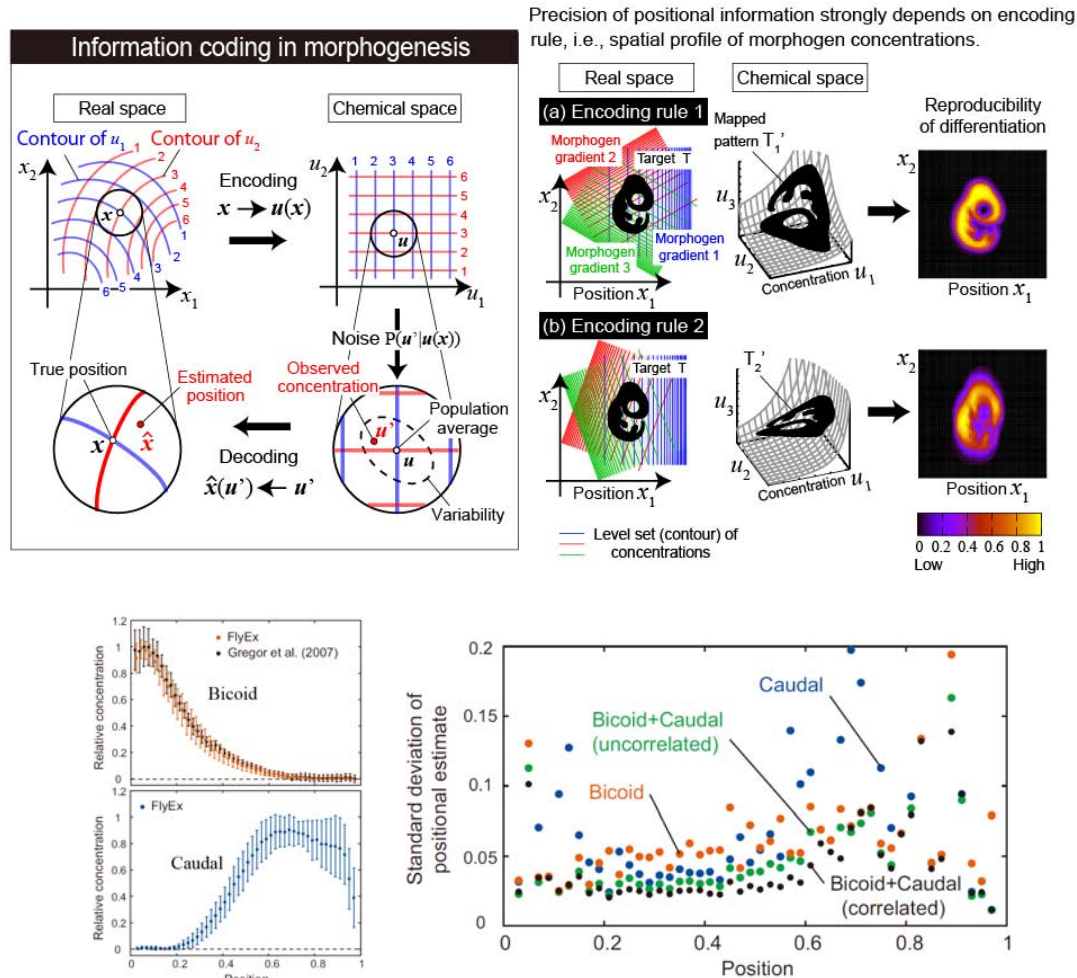


図1: 位置情報コーディングプロセスの数学的定式化(左上)。組織内の各場所で与えられる位置情報の精度は、モルフォゲン濃度の空間分布の形状(主にモルフォゲンソースの配置によって決まる)によって大きく変化するため、分化の再現性を高めるためには、より良い濃度分布が採用されていると予想される(右上)。ショウジョウバエの初期発生で見られる Bicoid と Caudal の濃度勾配のデータ(FlyEx データベースを利用)に理論を適用し、各分子が与える空間情報の精度の空間依存性を解析した(下段)。

[2-2] 組織変形の幾何学的解析手法の構築と実験データへの応用

ダイナミックな器官形態の変形は、数学的には変形前後の組織内座標の対応関係である写像 $x = \phi(X, t)$ によって記述される。ここで、 x は変形前に位置 X にいた細胞(または組織片)の時間 t 後の位置を表す。本研究では、発生生物学における Fate map 解析で得られた組織変形に関する断片的な情報から変形写像 ϕ を推定するための統計的手法を構築した。これにより、リアルタイムで細胞軌道追跡が不可能な不透明な組織や卵の中で生じる変形過程を定量的に議論することが可能となった。写像 ϕ を用いると、組織内の各場所各時刻における体積増加率など変形に関する幾何学量の計算が可能となる。本研究では、提案した手法をニワトリ四肢のデータに適用し、各幾何学量の時空間変化を定量化することに成功した [Morishita and Iwasa (2009); Morishita and Suzuki (in prep.)] (図2)。

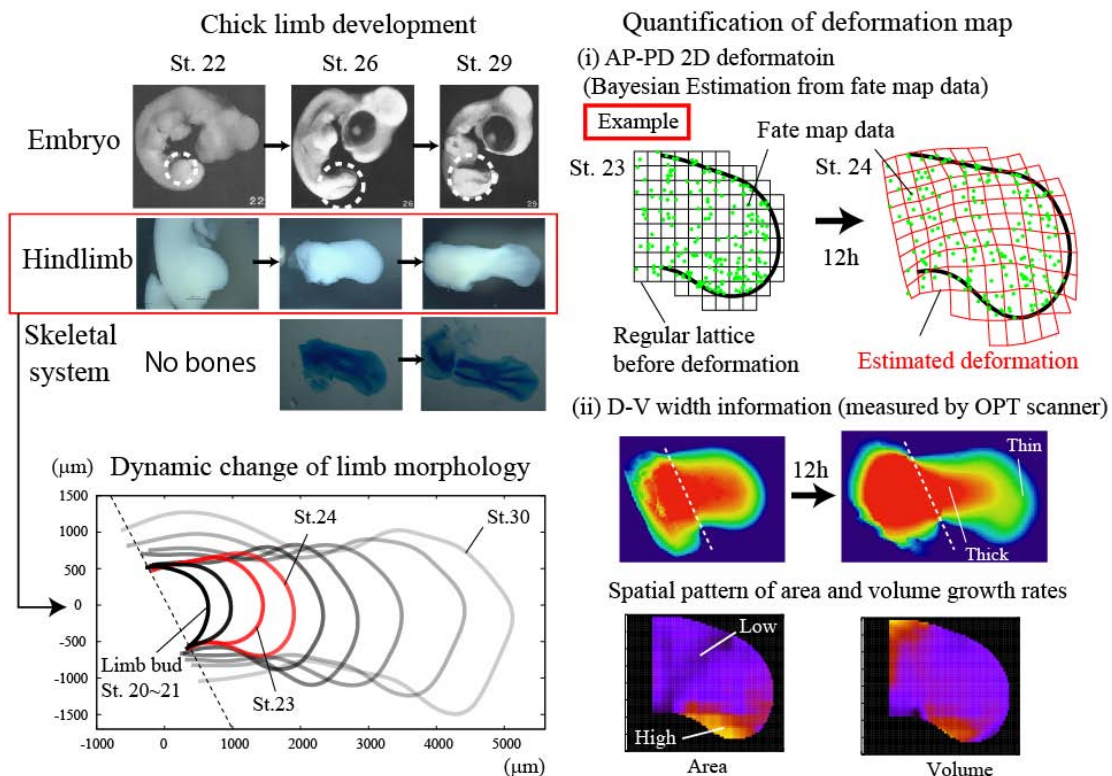


図2:ニワトリの四肢形成過程(左)。Fate map データから組織変形を表す写像 $x = \phi(X, t)$ を推定する手法を構築し、変形モードの解析を行った(右)。右下図は発生ステージ 23~24 における変形における体積増加率の空間分布。黄色が増加率が高い場所を示す。

[2-3] 器官形成過程の力学モデリング

組織変形は、細胞増殖などを通じた組織内応力によって引き起こされると考えられる。現時点では、各時刻における組織内の各場所における構成方程式(物性を決める応力と歪、歪速度の関数関係)に関する情報は定量的議論をするには不十分である。そこで、実験で観察される変異体の説明を定性的・直感的に理解するための数理モデリングが必要となる。本研究では、組織を粒の集合で表す Cell-center dynamics モデルと、格子空間によって現す Cellular Potts model を、脊椎動物の四芽形成過程と腎臓の尿細管形成時の分岐過程にそれぞれ適用し、変異体の説明に成功した [Morishita and Iwasa (2008); Hirashima, Iwasa, and Morishita (2009)]。

[2-4] 生化学反応ダイナミクスによる空間パターンメカニズムのシステムの解析

空間非一様な遺伝子発現パターンを安定に生成することは、正常に器官発生を実現するために不可欠なイベントの一つである。本研究では特に、脊椎動物の肺発生時とショウジョウバエの胸背板形成時における位置情報源の安定局所化メカニズム [Hirashima, Iwasa and Morishita (2009); Hironaka, Iwasa, and Morishita (submitted)] と、ゼブラフィッシュの体節形成時に見られる時計遺伝子発現の時空間ダイナミクスに関する解析 [Uriu, Morishita, and Iwasa (2009, 2010a, 2010b)] を行い、生物がいかんしてノイズに対して安定に遺伝子発現の空間パターンを実現しているかを解明した。

3. 今後の展開

数学的には、『形態形成過程=分子活性や細胞応答を組織変形を表す幾何学量(変形

勾配または速度勾配テンソル)へ変換すること』、と解釈できる。今後は特に、研究結果 2-2 で得られたニワトリ四肢形成過程における幾何学量の時空間パターンと、分子活性(トランスクリプトームデータ)・細胞応答(細胞周期の時空間パターンなど)の対応関係を中心に解析を行っていく予定である。これにより、ミクロスケールで生じるイベントがどのようにマクロな形態へと関係するのかが明らかになり、正常発生や変異体の説明だけでなく、異種間における相同器官の進化についての理解が可能となると考える。また、本研究で得られた解析手法は、汎用性を有するため、四肢以外の器官発生・再生過程へと応用していきたい。

4. 自己評価

掲げた目標に関して概ね納得した成果が得られたと思う。特に、位置情報コーディングデザインに関する研究は、一般化した形で定式化することができたため、今後急速に増えていくと予想されるモルフォゲン濃度勾配の生成と読み取り過程に関する定量データに対し、(工学的最適デザインと生物現象がどれだけ近いかわかるかは遠いかわるを見極めるための)解析基準を与えたことになる。また、実験データ(Fate map data)から組織変形に関する幾何学量を推定する一般的な解析手法を提案したことにより、四肢だけでなく今後様々な器官形成過程における幾何学的解析を可能とした。一方で、器官形成の力学モデリングに関しては当初の目標に対して不満足な点が残る。脊椎動物の四肢や腎臓初期発生における尿細管の分岐現象といった個別論的なモデリングには成功したが、より一般的な物性(構成方程式)を表現するための汎用モデリングの構築を達成することができなかった。また、情報・幾何・力学の異なる観点からの解析を統合的にあつかう数学的定式化も必ずしも十分にはできなかったところが反省点として挙げられる。今回のさきがけ研究を通じて、実験データを重視した理論研究の重要性を再認識した。自身でデータをとることにより、生物・医学系の論文を読むだけでは得られない問題点の発見やインスピレーションを感じることができたため、今後発生・再生現象の研究を継続していく上でとても貴重な経験となった。

5. 研究総括の見解

器官形態形成過程は、位置情報場の形成、細胞の位置依存応答決定および変形を通して実現されることに着目し、これら異なるスケールで見られる現象を情報、幾何、力学の観点からデータ解析ならびに数理モデルを用いて理解しようという斬新で野心的な研究課題である。まず、発生学に情報理論の考え方を導入することにより、位置情報の最適コーディング理論を構築し、脊椎動物四肢形成やハエの発生でその有用性を示した。ついで、発生学における Fate map を用いて、ダイナミックな器官形態の幾何学的解析手法を構築した。さらに、形態変化過程は本質的に力学過程であることに着目して Cell-center dynamics を構築することにより、脊椎動物の肢芽形成過程とその変異体の説明に成功した。これら一連の成果は、器官形成プロセスの統合的理解を大きく進めた極めて先駆的な数理的研究として高く評価できる。

6. 主要な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1.	Y. Morishita and Y. Iwasa, "Optimal placement of multiple morphogen sources," Physical Review E. 77 041909 (2008)
2.	Y. Morishita and Y. Iwasa, "Growth based morphogenesis of vertebrate limb bud," Bulletin of Mathematical Biology, vol.70, p1957-1978 (2008)
3.	Y. Morishita and Y. Iwasa, "Accuracy of positional information provided multiple morphogen gradients with correlated noise," Physical Review E. 79 061905 (2009)
4.	Y. Morishita and Y. Iwasa, "Estimating the spatio-temporal pattern of volumetric growth rate from fate maps in chick limb development", Developmental Dynamics ,vol.238, p415-422 (2009)
5.	T. Hirashima, Y. Iwasa, and Y. Morishita, "Dynamic modeling of branching morphogenesis of

	ureteric bud in early kidney development”, Journal of Theoretical Biology vol. 259, p58–66 (2009)
	6. T. Hirashima, Y. Iwasa, and Y. Morishita, “Mechanisms for split localization of Fgf10 expression in early lung development”, Developmental Dynamics, vol.238, p2813–2822 (2009)
	7. K. Uriu, Y. Morishita, and Y. Iwasa, “Traveling wave formation in vertebrate segmentation”, Journal of Theoretical Biology vol.257, p385–396 (2009)
	8. K. Uriu, Y. Morishita, and Y. Iwasa, “Random cell movement promotes synchronization of segmentation clock”, Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol.107, p 4979–4984 (2010)
	9. K. Uriu, Y. Morishita, and Y. Iwasa, “Synchronized oscillation of the segmentation clock gene in vertebrate development”, Journal of Mathematical Biology Vol.61, p207–229 (2010)

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

招待講演

“Mathematical model for organ morphogenesis; illustrated by vertebrate limb development,” 2nd China–Japan Colloquium of Mathematical Biology, Okayama, Japan, Aug. 4, 2008

“Mechanical modeling and quantification of organ morphogenesis,” Annual Meeting of KSMB, Daejeon, Korea, Oct. 29, 2009

学会発表

“Estimating the spatio-temporal pattern of volumetric growth rate from fate maps in chick limb development,” Symposium on Developmental Biology from a Cell Biology and Biophysics Perspective, Madrid, Spain, May 21–22, 2009

“Optimal design of positional information encoding by morphogens –from an engineering viewpoint–,” 2nd JOINT MEETING OF THE SFBD AND JSDB 2010, Paris, France, May 26–28, 2010

“Quantification of dynamic cell fate and analysis the Proximo–Distal axis specification in the chick limb,” 11th International Conference Limb Development and Regeneration, Virginia, USA, July13–17, 2010

研 究 報 告 書

「生物多様性の統合理論の構築:ゲノムから生態系まで」

研究期間: 平成 19 年 10 月～平成 23 年 3 月

研 究 者: 山内 淳

1. 研究のねらい

近年、分子レベルの遺伝解析が進んだことで、ゲノム情報に基づいて生物個体の形質や集団の性質が作り出されるメカニズムが明らかになりつつある。しかしながら生物の性質は、ゲノム情報に象徴されるマイクロレベルの階層から生物の表現型のようなマクロレベルの階層への、一方向的なプロセスとして捉えられるものではない。ゲノムの構造や遺伝情報は、生物個体の表現型に作用する自然淘汰で進化的に形作られてきたものであり、そこでは、マイクロからマクロへの作用と同時にマクロからマイクロへの作用するプロセスが機能している。本研究課題では、生物の性質を総合的に理解する方法論の構築を目指し、様々な現象をターゲットにして、生物のマイクロレベルの情報とマクロレベルの性質を双方向的につなぐアプローチを理論的に追求した。

2. 研究成果

個別の研究テーマとしては多様な問題を扱ってきたが、そのいずれにおいても上記の研究目的を踏まえ、生命現象の階層性に立脚しながら生物の進化過程を理論的に解明することに取り組んできた。そして、それらの取り組みを通じて、生物の遺伝的・生態的多様性を創出・維持するメカニズムに迫ることを目指した。

(1)細胞内共生体の2つの戦略の共存機構の解明

真核生物の細胞に含まれるミトコンドリアや葉緑体といった細胞内小器官は、元来バクテリアに由来すると考えられている。また、多くの無脊椎動物の細胞が、その内部にバクテリアを共生させている場合があることが知られている。こうした「細胞内共生体」は様々な性質をもつが、2つの顕著な性質として、動物のミトコンドリアで見られる「ゲノムサイズの小型化」と、無脊椎動物に共生するボルバキアで見られる「寄主の性の操作(例えばオスをメス化する)」があげられる。「ゲノムサイズの小型化」は、細胞質が父親と母親の両方から子供に伝えられる場合(両性遺伝)に、共生体が細胞内での増加速度を高め競争に打ち勝つ上で有利であろう。一方「寄主の性の操作」は、現生の多くの生物で見られるような細胞質が母親からのみ遺伝する状況(母性遺伝)で、共生体の存続確率を高めると考えられる。ここで鍵となるのは、「細胞質の遺伝様式」が共生体に見られる2つの性質に相反する作用をもたらすということである。この点に注目しながら、「ゲノムサイズの小型化」と「寄主の性の操作」という性質が進化するメカニズムと条件を理論的に解明した。さらに、近縁な系統関係にあるミトコンドリアとボルバキアが、異なる性質を進化させつつ昆虫の細胞内で共存するメカニズムを明らかにした。

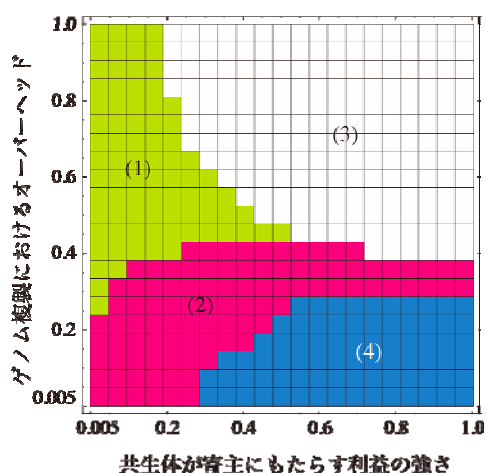


図1 共生体の性質と進化の結果の関係。

細胞質の両性遺伝と母性遺伝における進化の結果を比較している。(1)のパラメータ領域では、両性遺伝で「小型化」が、母性遺伝で「性の操作」が進化する。(2)の領域では、両性遺伝で「小型化」が進化する一方、母性遺伝において2つの状態がともに安定となり2つの異なる性質を持つ共生体が共存できる。

(2) 父親からの垂直伝搬が存在する共生体の性比操作の進化に関する理論的解析

細胞質経路で母性遺伝をする細胞内共生体にとって、オスに入ることは「行き止まり」を意味する。それを避けるため、細胞内共生体はホストの性発現をコントロールする能力を進化させる場合がある。それに対して近年、母性遺伝に加えて父親からの感染によって子供に伝搬する経路を持つ細胞内共生体が存在することがわかってきた。それらの共生体では寄主の性比の操作は知られていないが、性比操作を行う共生体にも潜在的にそのような父親からの遺伝経路が存在する可能性がある。実際、実験室系統のショウジョウバエで、低い頻度でのボルバキアの父性感染が報告されている(ただし野外では否定されている)。そこで、前述の細胞内共生体の特性の進化に関する研究をふまえて、共生体による寄主の性比の操作に焦点を絞ってその進化を解析した。理論的な解析の結果、共生体が母性遺伝のみをする場合には共生体は寄主の性比をできるだけメスに偏らせるように進化するのに対し、父親からの垂直伝搬が存在する場合には一定のオスを残すように進化する。さらに、細胞質内での共生体の競争能力が性比の操作能力に伴って低下してしまう場合には、寄主をメスのみにする共生体と性比を全く操作しない共生体の2つの系統が、集団内で共存する場合があります(図2)。(J. theor. Biol. に掲載)。

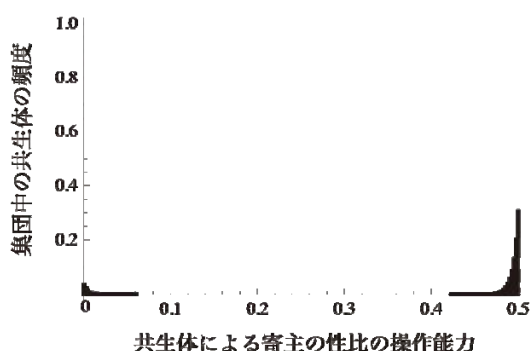


図2 寄主の集団における様々な性比操作能力を持つ共生体の頻度分布の例。

共生体が、寄主をほとんどメスにしてしまうグループ(横軸 0.5 周辺)と性比に影響を与えないグループ(横軸 0 周辺)に二極化し、それらが集団内で共存することが起こりうる。

(3) 近交弱勢をとまなう局所的配偶競争における性比の進化に関する理論的解析

少数のメス個体が共に繁殖し、それらの子供のあいだで交配がなされる状況を局所的配偶競争といい、その状況では出生性比がよりメスに偏ることが実証と理論の両面から示されている。通常、局所的配偶者競争の理論では繁殖集団に参加するメスの数はパラメータとして与えられているが、これを生物自身が戦略として決定するような状況も考えられるだろう。特に、近親交配の子供の成功度が近交弱勢により低下する場合には、より多くのメスの参加を受け入れ繁殖集団を大きくすることによって近親交配を避ける方が有利かもしれない。しかし繁殖集団サイズの変化は配偶者競争の程度を変化させ、それを通じて性比の進化にも影響すると考えられる。そこで、性比と繁殖集団サイズが同時に進化する場合の進化過程を理論的に解析した。理論モデルの解析から、性比を繁殖集団サイズに応じて柔軟に変えることが全くできない場合には、少しでも近交弱勢が存在すると繁殖集団の大きさは無限大に発散して任意交配となることが示された。しかし、生物が繁殖集団サイズの変化に応じて性比をある程度可塑的に調整できる場合には、繁殖集団の大きさは必ずしも発散しないことが明らかになった。また、繁殖集団の大きさと実際に実現される性比との間には正の相関があり、結果として、性比の可塑性の強さは実現される性比そのものに影響を与えることも分かった。(J. theor. Biol. に掲載)。

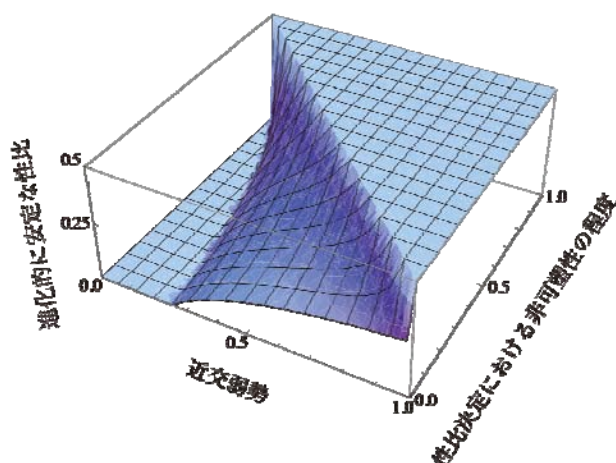


図 3 性比(オスの割合)の進化と近交弱勢および性比決定の可塑性との関係。

近交弱勢が強く、また性比決定が非可塑的になるほど、性比は高まり 0.5 に近づく。性比決定の可塑性が大きい場合(非可塑性の程度が 0 の時)には、性比は最大でも 0.25(近交弱勢が 1 の時)にしかない。

(4) 変動環境におけるニッチ空間上での多種共存と遺伝的多様性との関係に関する理論的研究

変化に富む環境の中で、各々の生物種はそれぞれに最も適したニッチ(生態的地位)を占めて生存している。しかし、各生物種が利用可能なニッチは厳密に一意に決まっているわけではなく、種内の遺伝的な多様性に基づく一定の幅があるであろう。こうしたニッチ利用における遺伝的な多様性がニッチ空間上での多種共存にどのような影響を及ぼすのかを、一次元のニッチ空間を想定した理論モデルによって調べた。各個体が利用するニッチは遺伝的に決まっているとし、それは有性生殖を通じて次世代に引き継がれると考えた。また、生物の増殖速度は環境変動の影響を受けるが、変動には空間上の全てのニッチの状態が同調して変化する「ニッチ非依存的変動」と、各ニッチの状態が独立に変化する「ニッチ依存的変動」があるとし、加えて、「ニッチ依存的変動」については近接するニッチ(似ているニッチ)の変動に相関がある可能性も考慮した。シミュレーションによる解析から、ニッチ利用の遺伝的多様性は、変動環境において 2 つの効果を通じて多種の共存を促進することが分かった。一つは、遺伝的多様性の存在が環境変動によってもたらされる絶滅のリスクを直接的に低減する効果、もう一つは、ニッチごとに環境が変動する場合に利用するニッチを分散することで特定のニッチでの悪条件を回避する効果である。特に、ニッチ全体の環境変動と個々のニッチの環境変動が組み合わさり、さらに似ているニッチでの変動パターンが相関している場合に、ニッチ利用の多様性が多種共存に大きく貢献することが示された。(Oikos に掲載)。

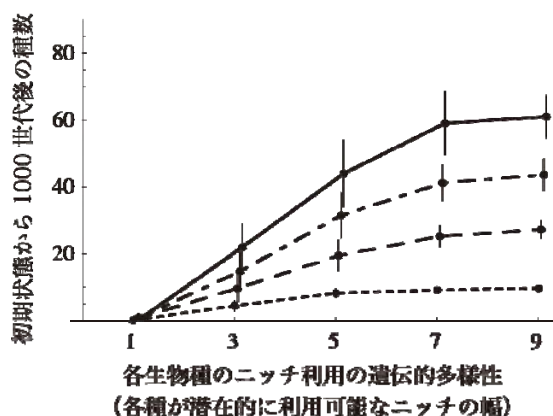


図 3 ニッチ利用の多様性と共存種数の関係。

100 の幅を持つ一次元のニッチ空間上での、50 回のシミュレーションの平均値を示す。各グラフはそれぞれ異なる初期種数に対応している(上から 70、50、30、10 種)。環境に「ニッチ非依存的変動」と「ニッチ依存的変動」があり、近接するニッチの環境に相関がある場合、共存種数とニッチ利用の多様性には強い正の相関が生じる。

3. 今後の展開

本研究課題では、生物の遺伝情報を踏まえたミクロな視点と生物間の相互作用を軸としたマクロな視点とを融合して、生命現象をダイナミックに理解することを目指して研究を進めてきた。そこでは、スケールの階層を越えた解析によって、多様な生命現象の性質を明らかにすることができた。この取り組みは一定の成果をあげたと考えるが、その方法論にはいくつかの課題が残されてしまった。最も大きな課題は、個別のトピックの研究は進展したが、それらの視点・アプローチをつなげて統合理論として十分にまとめあげるまでには至らなかったことである。今後、それを実現する一つの方向性として、生命現象における「プロセス」に着目することが有効かもしれないと考えている。

本研究課題の一連の取り組みは、ミクロな側面とマクロな側面の相互作用を取り入れその関係性を縦断的に扱うことに成功しているものの、階層間をつなぐ具体的な「プロセス」(例えば、遺伝子の発現プロセスなど)を十分に考慮してこなかった。現象によっては、こうした「プロセス」そのものの存在や「プロセス」上の制約が、生物の進化や系の動態に大きな影響を及ぼしている場合もあるだろう。こうしたミクロとマクロをつなぐ「プロセス」を明示的に組み入れることが、生命現象を統合的に扱う理論的フレームワークを構築する上での鍵となるかもしれない。

今後、マクロとミクロをつなぐ「プロセス」を組み込んだ理論の構築が、課題として残されている。本研究課題の成果を発展させながら様々な生命現象の理論的理解を深める一方、その取り組みの中で「プロセス」を組み込んだより発展的な統合理論を構築することを目指して展開してゆく。

4. 自己評価

上記の「今後の展開」でも触れたように、当初掲げた「統合理論の構築」という大きな目標に関しては十分に達成することができなかったというのが正直なところである。しかしながら、個別のテーマに関する取り組みは、その目標へとつながりうる一定の成果をあげることができたと考える。本領域に参画し幅広い分野の理論モデリングの考え方と方法論を学んだことで、それらの成果を本来の目標につなげるための新たな方向性と展望を得ることができたことは大きな成果である。

本研究課題の成果の中には、研究期間の間に論文公表に至らず積み残したものもあり、その点も力不足であったと感じている。今後、それらを速やかに公表し、さきがけの研究成果をアピールしてゆく必要がある。

5. 研究総括の見解

遺伝子、個体から生物集団までの様々な生命現象の階層性に立脚しながら、生物の進化過程を理論的に解明することにより、生物多様性の統合理論を構築するという意欲的でスケールの大きな研究課題に取り組んだ。具体的には、ミクロとマクロを双方向的につなぐアプローチとして、真核生物の細胞に含まれるミトコンドリアなどの細胞内共生体の存立条件を明らかにした。また、遺伝的多様性を持つ様々な生物種からなる集団が環境変動によって受ける共存への影響について詳細な分析を行った。こうした個別の現象についてそれぞれ大きく理解が深まったことは評価できるが、今後は、最終目標の統合理論構築に向けた更なる追究を期待したい。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1.	Saito, Y., A. R. Chittenden, K. Mori, K. Ito and A. Yamauchi. "An overlooked side effect of nest scattering behavior to decrease predation risk (Acari; Tetranychidae, Stigmaeidae)" <i>Behavioral Ecology and Sociobiology</i> , 63 , 33–42, (2008).
2.	Yamauchi, A. and T. Miki. "Intraspecific niche flexibility facilitates species coexistence in a competitive community with a fluctuating environment" <i>Oikos</i> , 118 , 55–66, (2009).

3.	<u>Yamauchi, A.</u> , T. Nishida and T. Ohgushi. "Stochastic tunneling in the colonization of mutualistic organisms: Primary succession by mycorrhizal plants" <i>Journal of Theoretical Biology</i> , 261 , 74–82, (2009).
4.	Hsieh, C.-H., <u>A. Yamauchi</u> , T. Nakazawa and W.-F. Wang. "Fishing effects on age and spatial structures undermine population stability of fishes" <i>Aquatic Sciences</i> , 72 , 165–178, (2010).
5.	Takahashi, D. and <u>A. Yamauchi</u> . "Optimal defense schedule of annual plants against seasonal herbivores" <i>The American Naturalist</i> , 175 , 538–550, (2010).
6.	<u>Yamauchi, A.</u> , A. Telschow and Y. Kobayashi. "Evolution of cytoplasmic sex ratio distorters: effect of paternal transmission" <i>Journal of Theoretical Biology</i> , 266 , 79–87, (2010).
7.	<u>Yamauchi, A.</u> and Y. Kobayashi. "Joint evolution of sex ratio and reproductive group size under local mate competition with inbreeding depression" <i>Journal of Theoretical Biology</i> , 270 , 127–133, (2011).
8.	<u>Yamauchi, A.</u> , T. Nishida and T. Ohgushi. "Mathematical model of colonization process of mycorrhizal plants: Effect of interaction between plants with fungi" <i>Journal of Plant Interactions</i> , in press, (2011).

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

国際シンポジウム・ワークショップ(口頭発表)

Yamauchi, A. "Intraspecific niche flexibility facilitates species coexistence in a competitive community with a fluctuating environment" *Taiwan–Japan Ecology Workshop*, 2008.12.12–13, Taipei.

Yamauchi, A., T. Nishida and T. Ohgushi. "Stochastic tunneling in the colonization of plant with mycorrhiza" *Ecological interaction networks that promote biodiversity: From gene to ecosystem*, 2010.10.12, Kyoto.

著作

山内 淳. "個体群生態学" *In:数理科学事典*(広中平祐ほか編), 233–238, 丸善, (2009).