

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2017～2019

課題番号：17KT0112

研究課題名(和文) 体節細胞の速い同調を構成する細胞モデルと検証

研究課題名(英文) Mathematical Model for Fast Synchronization of Gene Expression in Somite Segmentation

研究代表者

作村 諭一 (Sakumura, Yuichi)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授

研究者番号：50324968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子発現の過程を非定常確率過程を用いた乱雑発現モデルとして表現し、1個の体節レベルの細胞集団が速い同調を示すことを確認した。原理抽出のためのモデルの簡略化を行った。遺伝子発現が多細胞集団を伝搬することを実現するためには、Delta-Notch結合が鍵であることが分かった。実験事実に基づき数理モデルを構成したところ、尾から頭に向けて発現の波が伝搬するような同調現象が再現され、摂動に対して簡単に同調が崩壊するが速く同調を実現することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞が体節を構成するとき、遺伝子発現を振動させることが重要であるが、その原理は未だ正確に分かっていなかった。近年の研究は、遺伝子発現の自己抑制の原理が間違っており、興奮性システムであることを示唆している。しかし、興奮性システムを実現する実体も未だ未解明のままである。本研究課題は、既知の分子のみで興奮性システムの構成に成功しており、本分野の重要な問題を解決する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We expressed the process of gene expression as an expression model using unsteady stochastic processes and confirmed that the cell population shows fast synchronization. The model was simplified for principle extraction. Delta-Notch binding was found to be the key to the realization that gene expression can propagate through multicellular populations. A mathematical model based on experimental facts reproduced a synchronization phenomenon in which a wave of expression propagates from the tail to the head, and the synchronization was easily broken in response to perturbations, but quickly recovered.

研究分野：システム生物学

キーワード：体節形成 発現同調 集団検知

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

発生中期の脊椎動物胚は、体節と呼ばれる周期的な空間構造を形成する。体節は、将来の身体構造(脊椎骨や肋骨等)を決定する重要な構造である。体節形成のために、胚の最尾部の細胞群では Hes7 遺伝子の発現が同調して ON と OFF を繰り返している(マウス胚では 2 時間周期)。そのため、これまでの研究では、時間遺伝子の正確で頑健な周期情報が、空間パターンへ変換されているという仮説のもと、体節形成の原理解明が試みられてきた。申請者のグループにおいても、Hes7 遺伝子の発現周期性に着目した研究を行ってきた。

体節形成時の速い細胞群同調は、生体の「頑健性」を示し、重要な機能である。申請者は分担者の別所とともに、細胞群の同調の速さについて研究を行ってきた。その中で、外乱によって Hes7 の同調発現は乱れるが、次に形成される体節部では、同調が復元していることを見出した。一方、他グループによる研究によれば、単離された細胞は、それほど頑健な周期性を見せない。これは、単一細胞の周期保持性が弱いということを示す。更に、Delta-Notch 結合による細胞間相互作用をモデル化し、強い周期性を持つ数理モデルで同調速度を調べると、その強い周期性が細胞群同調の障害になり、実験で見られるような速い同調の実現が困難であることがわかった。生物学的事実を考慮すれば、単一細胞が正確に遅延を生むことは考えられない。固定遅延付きの自己抑制モデルは既に発現同調した細胞集団の平均を表現するものと考えるのが妥当である。

2. 研究の目的

以上の研究背景から、本研究課題では体節細胞群の速い同調現象を説明する新規数理モデルを構成する。未分節中胚葉細胞の乱雑さが組織レベルで頑健性の要因であることを示す。具体的には、Hes7 遺伝子の確率的な転写事象が、細胞間コミュニケーションによって速い周期的同調現象を構成するという作業仮説を立証する。そのために、本研究課題では確率的転写の数理モデルを構築し、細胞間相互作用によって同調の効果が生まれることを示す。数理モデルの構造と計算結果が正しいことを検証するために、実験データを定量化し、数理モデルと比較・検証する。これにより速い同調を構成するシステム要素の同定を行う。

これまでの細胞内分子システムの多くは決定論的な数理(遅延付き微分方程式)で記述されてきた。体節形成の頑健性のための速い同調機能を構成するために、決定論的過程から脱却する必要性を見出したことに本研究の特色がある。Hes7 発現の ON/OFF の二値表現は、計算論的神経科学における(スパイク統計等の)統計的解析技術を適用する。

3. 研究の方法

従来の時間遅延による Hes7 振動モデルについて評価する。Hes7 発現を開始する Notch シグナルにノイズを与え、Hes7 発現時系列と実際の細胞のそれとを比較する。次に、この従来モデルの細胞を相互作用させ、細胞群の同調速度について定量的に評価する。

マウス胚にバルプロ酸刺激を行うことで細胞間の同調を破壊し、破壊後の幾つかのタイミングで胚を固定し、各細胞の Hes7 遺伝子の転写状態を観察する。平均的な同調回復速度を定量化するとともに、体節レベルの細胞集団の中での同調レベル(割合)を定量化し、振動モデルによる同調限界を評価する。

Hes7 遺伝子の発現の ON/OFF 過程を、確率過程を用いてモデル化する。2つのアリルの場合と1つのアリルの場合では、ON と OFF の比が異なり、この比の違いは発現のタイミングに関する統計量に表れると予想される。これを実験で確認するために、1個の体節における細胞の Hes7 発現無し、1アリル、2アリルの統計データをとる。マウス胚の Hes7 ヘテロとホモを用いた実験を行い、Hes7 発現のデータから関連する統計量を推定する。同様の特徴が得られれば、単一細胞レベルの乱雑さのモデル化の正当性の1つの証拠となり得る。

確率的発現モデルを多細胞でモデル化し、多細胞の Hes7 発現の同調速度が従来の固定遅延モデルに比べて速く、かつ同調が崩壊せず持続することを示す。Hes7 タンパクによって発現抑制される Lfng と、Lfng の制御を受ける Notch を導入する。Notch シグナル強度が変化するため非定常の確率過程を導入する。様々な条件(ヘテロ・ホモ・バルプロ酸刺激等)でマウス胚の体節形成過程を計測し、細胞集団における ON 細胞/OFF 細胞の割合を定量化する。それまでの実験データを含めてモデルパラメータの考察を行い、本モデルによる細胞群の同調速度の期待値を計算し、実験で観察されるレベルの速い同調が数理モデルで実現できることを示す。

4. 研究成果

(1) 非定常過程としてのモデル化

遺伝子発現を促進する因子(Notch シグナル)がわずかに2個の遺伝子と確率的に結合することを確率過程で数理モデル化した。具体的には、分子間の結合イベントを確率過程として表現し、遺伝子発現を確率的なものとした。これは、分子が少数の場合に適用される確率的生化学反応のアルゴリズム(Gillespie アルゴリズム)に相当する。当然ながら単細胞では乱雑な Hes7 発現を実現した。次に、このモデル細胞が細胞間コミュニケーションを通じて同調することを確認した。コミュニケーションの方法が同調における最大の要素である。本研究では、Delta-Notch 結合のタイプ(cis型/trans型)および実験で観察される Notch シグナルの All or None(1または0)の応答を導入した。その結果、モデル細胞の集団が発現に対する摂動後に素早い発現同調を

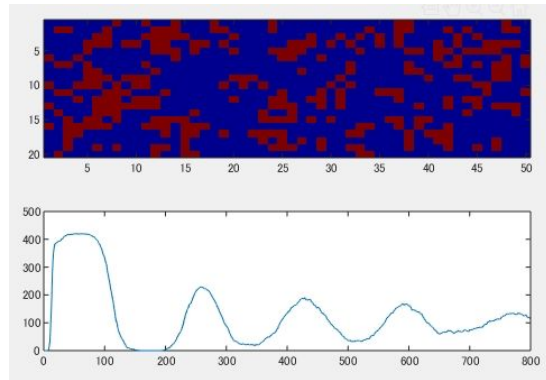
することを確認した。この研究を通じて、Hes7 の発現ピークが同調するのではなく、発現開始時刻が最初に同調すべきという必要条件が抽出された。

(2) マルコフ連鎖によるモデルの簡略化

分子レベルのイベント時刻を全て陽に表現した前モデルは複雑であるため原理が不明瞭であった。また、1つの体節レベルの同調を確認できたが未分節中胚葉全体での同調と空間的な遺伝子発現が伝搬されるか不明であった。そこで、マルコフ連鎖によるモデルの簡略化、および未分節中胚葉を含めた空間のモデル構築と計算を行った。

現状で未分節中胚葉全体の振動は確認された(図)。図の上図は格子状に整列された細胞の Hes7 発現(赤)パターンを表す。横方向に頭と尾があると想定し、横方向に長く並べられている。

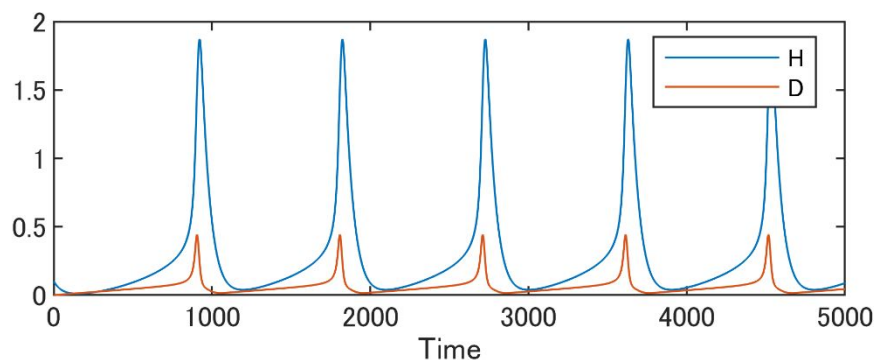
下図は発現した細胞集団(横方向のインデックス 10~30)の個数変化を表す。発現初期値を0から開始すると適当なパラメータでありながら、減衰振動を行う。モデル構造とパラメータを再調整することで、同調発現自体は再現可能であると考えられる。未分節中胚葉で観察されるような Hes7 発現の波(空間的な伝搬)は再現せず、全体的にはランダムに発現している。伝搬のための細胞間コミュニケーションを再考する必要がある。



(3) Notch シグナルのモデル化

ゼブラフィッシュとは異なり、哺乳類における Hes7 の発現は自身と隣接細胞の Notch シグナルを抑制する。つまり、Hes7 発現の伝搬を活性系伝搬として表現できない。初期のモデルにおける「発現開始時刻が最初に同調すべき」という必要条件を考慮すると、伝搬あるいは同調の主役が Hes7 ではなく Notch シグナルである可能性に行き着いた。ある細胞の Notch シグナルが高まれば、隣接細胞の Notch シグナルも上昇することは数理的に見出している。Notch シグナルの上昇のタイミングが揃えば、各細胞が自律的に Hes7 発現まで至るため、その発現タイミングが揃う可能性が高い。

そこで、Delta および Notch の型の違いに注目し、Hes7 発現の伝搬モデルを構築した。Notch シグナルによって発現する Lfng は、Delta および Notch を糖鎖修飾することによりこれらの機能を不活性化する。このシグナル伝達の過程を確率的ではなく決定論的なモデルで表現した。まず、2細胞が Delta-Notch 結合をしているモデルで計算したところ、細胞は下図のように興奮性システム(excitable system)としての挙動を示した。青線は Hes7 の発現量であり、赤線は Delta 刺激である。近年の研究によれば、体節細胞の遺伝子の発現振動は自己抑制によるものではなく、興奮性システムであることが示唆されている。本研究課題で構成された数理モデルは興奮性システムを表現できた初めてのモデルである。2D で配置された細胞群を用いた数理モデルでは、尾から頭に向けて進行する遺伝子発現の流れが再現できている。現在この結果について論文にまとめている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hikaru Nozoe, Tatsuya Yamada, Yuichi Sakumura, Yasumasa Bessho, Kazushi Ikeda
2. 発表標題 Stochasticity Promotes Synchronized Gene Expression between Cells in Somite Segmentation
3. 学会等名 Biophysical Society 62nd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野添光
2. 発表標題 体節形成における遺伝子発現の同調の確率性による促進
3. 学会等名 第27回日本数理生物学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	別所 康全 (Bessho Yasumasa) (70261253)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授 (14603)	
連携研究者	池田 和司 (Ikeda Kazushi) (10262552)	奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授 (14603)	