

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 18 日現在

機関番号：23901

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500279

研究課題名（和文） 神経形態の定量数理モデル

研究課題名（英文） Quantitative Mathematical Model of Neuronal Morphogenesis

研究代表者

作村 諭一（SAKUMURA YUICHI）

愛知県立大学情報科学部

研究者番号：50324968

研究成果の概要（和文）：(1) 神経細胞の形態の極性形成は、神経突起先端における力学的牽引力によってなされる。共同研究者が観測した実験画像の解析を行い、神経細胞が生成する力を定量化した。その結果、細胞が外部の誘導因子濃度に関する情報を駆動力の大きさに変換していることを世界で初めて示した。関連の解析アルゴリズムについて論文投稿中である。(2) 神経細胞の発達中における不規則現象の意義について、神経極性の定量数理モデルを用いた研究を行った。神経突起への分子輸送の不規則性が極性形成にとって重要であることが分かった。(3) 細胞内の Rho ファミリーG タンパク質（Cdc42/Rac1/RhoA）の活性分布データと細胞運動に関する定量数理モデルを構築した。形状の変化量を用いて物理的力を逐次ベイズ法により推定した。

研究成果の概要（英文）：(1) Neuronal polarization is achieved by the traction force generated at the neurite tip. We analyzed microscopic images given by our collaborators to estimate the traction force generated by neurons. By this collaborative research, we showed the signal conversion from extracellular molecule to traction force for the first time in the world. The manuscript about the algorithm to estimate cellular traction force is under submission. (2) Using quantitative mathematical model of neuronal polarization, which we developed in the previous work, we study the significance of irregular events observed during neuronal development. We showed that irregular transport from soma to neurite tip is necessary for neuronal polarization. (3) We developed the quantitative mathematical model of cell motility driven by Rho family GTPases (Cdc42/Rac1/RhoA). Mechanical force was estimated from morphological change by incremental Bayes method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学、生体生命情報学

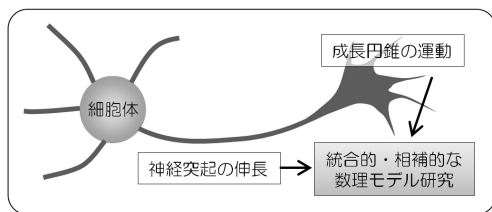
キーワード：システム生物学、細胞形態、数理生物、統計解析

1. 研究開始当初の背景

脳機能、特に記憶や学習を実現しているのは、神経間結合の強度調節（シナプス可塑性）であることは言うまでもない。しかし近年、ハードである神経回路や神経の微小空間（スパイン等）が、成体脳においても柔軟に変化することが分かっている。シナプス結合がなされる樹状突起スパインは、その形態や体積が伝達効率と関係があることも報告されている。つまり、シナプス強度というソフトのみならず、神経形態の構造可塑性機能も記憶や学習に重要である。一方、現在のライフサイエンス分野は、知識・データの激増により、ケプラーの時代の天文学に例えられることが多い。つまり、ブラーエの膨大な天体観測データからケプラーが法則を導き出したように、生物学データから法則が導き出されると期待されている。ゲノム情報学においては数理工学技術が威力を発揮し分野の進展に貢献した。しかし、複数の分子が絡む複雑な生物機能レベルの数理解析においては、生物学における定量的知見と数理解析技術をかみ合わせることは困難である。したがって、神経形態に関する定量的モデル研究はほとんど進展していないのが現状である。

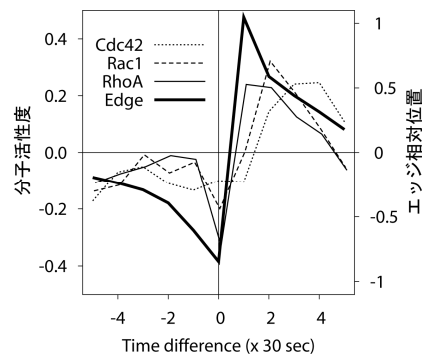
申請者はこれまで、神経発生過程における軸索形成・成長円錐の形態形成について実験研究者とともに共同研究を行ってきた。これらの研究は、「神経軸索の発達」というキーワードが共通するだけでなく、機能的にも互いに関係する部分がある。例えば、神経突起の伸長は突起先端の成長円錐の運動に依存し、成長円錐の運動は突起上の輸送系に依存する。つまり、それぞれの機能のメカニズム解明のためには、神経形態に関する大小のスケールについて行ってきた研究を、統合的、あるいは相補的に扱ったモデル研究が必要である。

また、申請者はかつて膜電位の定量モデルである Hodgkin-Huxley 方程式を扱う研究も行ってきた。実験技術に限られていた 50 年以上も前に Hodgkin-Huxley モデルのような定量的モデル研究が可能であったならば、実験技術が発展した現代において定量的モデル研究は更に行われてしかるべきであると考える。



2. 研究の目的

神経突起先端の成長円錐は非常に複雑な形状変化を見せる。申請者は複雑な形状変化を定量化するための方法論を開発したが (Tsukada et al., PLoS. Comput. Biol. 2008)、形状変化の分子メカニズムのモデル構築までは至っていない。神経に見立てた PC12 細胞の突起先端における細胞内制御分子 (Rho ファミリー低分子量 G タンパク質; Cdc42/Rac1/RhoA) の活性度、およびその形態変化を逆相関解析すると (データは連携研究者の東京理科大学・中村岳史氏提供)、活性度上昇より形態変化が時間的に先行す



細胞形状変化の時系列(太線)と分子活性度の時系列(Cdc42/Rac1/RhoA)

るという結果が得られている。これは、別の細胞を用いた他のグループによる最近の報告 (Machacek et al., Nature, 461, 2009) と類似した結果である。本研究課題では、細胞形態変化と分子活性レベルの因果関係を説明する定量的な数理モデルを構築する。これにより、誘導因子に応答した偏向的な形態変化 (走化性) における注目分子の役割とその挙動を解明する。また、成長円錐は細胞体から離散的かつ確率的に輸送される材料によって形成される。本研究課題では、確率的能動輸送の定量モデルを構築し、確率性の意義を明らかにする。また、成長円錐は内部の細胞骨格が外部基質と接着することで牽引力を生むと考えられている。実験データより牽引力を推定し、細胞の形態形成における力の効果を定量的に評価する。

3. 研究の方法

一般的に、生命機能においては生体分子が上位(または入力)であり制御対象が下位 (または出力) の関係性を前提とする。しかし、現在判明している結果はこの前提が成立せず、何らかのフィードバック



ク系か、あるいは未発見のメカニズムが存在する。これを明らかにするには、現在観測できている数値が複雑過ぎる。したがって、観測できる変数（形状変化と分子活性の時系列）だけではなく、観測できない隠れ変数の推定を行い、システム同定のためのヒントを獲得し、実験に反映させなくてはならない。

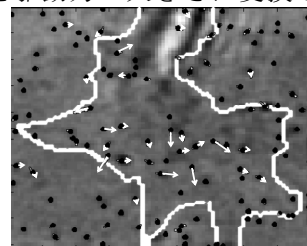
形態制御の複雑な問題を説明するモデルはいくつか考えられるが、本研究課題では、あくまで生物実験のデータから法則性を導出するために、連携研究者の中村岳史氏（東京理科大学・生命科学研究所）によって計測された顕微鏡画像の定量化を22年度の中心課題とする。これまでは、形状のエッジの動きとエッジ周辺の分子活性値を集計していたが、様々な側面からの定量化を進める。定量化は、実験画像からの単なる数値化だけではなく、学習理論や時系列解析の手法を導入し、隠れ変数の推定も行う。そして、観測値・推定値を総合的に評価しながら各々の変数間の関係性発見を行う。

申請者は、神経細胞の形態上の極性形成に関する定量的モデル研究を行ってきた（Toriyama et al., Mol. Syst. Biol. 2010）。このモデルにおいて、「観測できる変数」として採用しているのは、神経突起先端における shootin1 分子の濃度と突起の長さである。「隠れ変数」として、突起の長さを変化させる物理的な「力場」や shootin1 の能動輸送の「確率性」を導入しており、定量モデルの解析からこれら隠れ変数に関する特性を予測している。この能動輸送は、形態的には成長円錐状の構造体で、神経突起の根元付近（細胞体近く）で確率的に発生する。本研究課題では、これら力場と確率性に関する実験データの定量化を行う。

22年度において得られた定量化データに基づき、23年度以降は数理モデルの構築を行う。細胞形態は、様々な生体分子とそれら分子による複雑な過程が背後に存在する。「研究目的」で述べたように、本研究課題では、細胞形態に関わる生体分子を全て導入し、それらの相互作用をつなぎ合わせる形でモデル化を行わない。定量化データ（観測値と隠れ変数の推定値）は時系列で得られるので、時系列を説明する変数間の関係性を近似式で定式化し、パラメータを実験データより求める。この方法論により、Rho ファミリーGタンパク質と細胞形態のモデル化に持ち込む。

4. 研究成果

神経細胞の形態の極性形成は、神経突起先端における力学的牽引力によってなされる。神経細胞が生成する力を推定するために、共同研究者が観測した実験画像の解析を行った。生物実験では、微小なビーズが埋め込まれた培地を用いており、細胞が培地に力を加えるとビーズの位置が変化する。このビーズの変移から力を推定するアルゴリズムが完成し、細胞外環境と力の関係を定量的に調査した。その結果、細胞が外部の誘導因子 (netrin) 濃度に関する情報を駆動力の大きさに変換していることを世界で初めて示した (Toriyama et al., Curr Biol. 2012)。関連の解析アルゴリズムについては論文投稿中である。



神経細胞の発達中における不規則現象の意義について、神経極性の定量数理モデルを用いた研究を行った。生物において周期的な現象は多々存在し、その役割も解明されてきたが、神経極性形成においては規則性が悪影響を及ぼす可能性を示した。具体的には、神経突起への分子輸送の不規則性が極性形成にとって重要であることが分かった。それまでの結果に加えて当該年度はこれらの大幅な展開を加えることができた。現在、論文準備中である。細胞内の Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 (Cdc42/Rac1/RhoA) の活性分布データと細胞運動に関する定量数理モデルを進めた。当該年度では、分子活性から力学過程を経て細胞形状の変化に至る力学的なモデルを立て、実験データ、すなわち Cdc42/Rac1/RhoA それぞれの分子活性度と実際の形状変化に関する数値を導入した。その際、形態変化によって生まれる物理的力が必要であるが、G タンパク質活性と同時計測は困難である。そのため、形状変化データを利用して物理的力の逐次ベイズ推定を行った。その結果、G タンパク質活性と細胞運動の定量的関係を比較的簡素に示すことができた。現在、論文準備中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

Toriyama M, Kozawa S, Sakumura Y, Inagaki N, Conversion of a Signal into Forces for Axon Outgrowth through Pak1-mediated Shootin1 Phosphorylation, Curr. Biol. 23, 529–534, 2013.

[学会発表] (計5件)

1. 作村諭一, 分子輸送の不規則性が神経形態を極性化する, 第65回日本細胞生物

- 学会大会（招待講演），2013年06月20日，愛知県産業労働センター
2. Yuichi Sakumura, RhoファミリーGタンパク質による細胞形態形成の定量数理モデル, Neuro2013, 2013年06月21日, 京都国際会館
 3. Kozawa S, Sakumura Y, Toriyama M, Inagaki N, Ikeda K, An Estimation of Cell Forces with Hierarchical Bayes Approach Considering Cell Morphology, 19th International Conference on Neural Information Processing (ICONIP 2012), Doha, 501-508, 2012
 4. Sakumura Y, Quantitative modeling of cell morphogenesis by Rho family small GTPases, US-Japan Brain Research Cooperative Program, New Orleans (招待講演), 2012.
 5. 作村諭一, 田中大河, 池田和司, 中村岳史, Rho GTPasesによる細胞形態制御の数理モデル, 日本植物学会第76回大会シンポジウム, 兵庫県立大学, 2012.

〔図書〕（計1件）

Sakumura Y, Inagaki N, Quantitative Modeling of Neuronal Polarization, Technological Advancements in Biomedicine for Healthcare Application, 354-361, IGI global, 2012.

〔その他〕

ホームページ等

神経細胞の軸索を正しい場所へ伸ばすナビゲーションの仕組みを発見（奈良先端大）

http://www.naist.jp/pressrelease/detail_j/topics/1473/

研究代表者ホームページ

<http://www.ist.aichi-pu.ac.jp/lab/sakulab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

作村 諭一 (SAKUMURA YUICHI)

愛知県立大学情報科学部

研究者番号：50324968

(2) 連携研究者

中村 岳史 (NAKAMURA TAKESHI)

東京理科大学生命科学研究科

研究者番号：60362604

稲垣 直之 (INAGAKI NAOYUKI)

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科

研究者番号：20223216