

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：12701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2015

課題番号：15K13897

研究課題名(和文)細胞シグナル伝達網を模擬した新たな適応的振動制御システム

研究課題名(英文)Adaptive Vibration Control System based on Signaling Pathway in Living Cells

研究代表者

森下 信(Morishita, Shin)

横浜国立大学・環境情報研究科(研究院)・教授

研究者番号：80166404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：生物を構成する細胞は、メカノセンサーと名付けられたタンパク質によって周囲の状況を把握して、それを細胞内部に生化学反応として伝えている。機械工学の観点から細胞が自律系とすれば学習機能を備えた制御系が必要となる。そこで、細胞はシグナル伝達網そのものが制御系であるとする仮説をたて、シグナル伝達網をモデル化し、学習機能のある制御系を構築することを試みた。その結果、文字認識については学習機能のあるネットワークであることを数値計算により確認した。

研究成果の概要(英文)：Cells consisting a living body may sense its surroundings by various kinds of protein on the cell membrane called as mechano-sensors. It is now being known that the information collected by mechano-sensors is transferred into the inside of cell membrane through signaling pathway as biochemical reaction. There has been found numerous pathways from one protein to cell nucleus. From the viewpoint of mechanical engineering, a cell may possess learning ability to utilize various information from its environment as autonomous system. In reference to artificial neural networks developed in the field of information science, the connection of signaling pathways can be modeled as a network having the similar learning ability as an artificial neural network. The modeled network of signaling pathway has been adopted to a character recognition problem and its performance is discussed.

研究分野：機械力学

キーワード：振動制御 細胞 シグナル伝達網 学習システム 人工的ニューラルネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

過去 10 年間の科学技術政策として、バイオ分野およびナノテクノロジー分野が重要視されてきた。平成 18 年に策定した第 3 期科学技術基本計画の重点推進 4 分野の中にもライフサイエンス、ナノテクノロジー・材料があり、平成 23 年に設定した第 4 期基本計画でもライフイノベーションの推進があげられている。本申請は、細胞内シグナル伝達としてはバイオ分野に属し、それをコントローラとして利用するという意味では機械力学に位置づけられる。生体細胞のシグナル伝達過程にシステムとしての学習機能を見いだし、機械力学への利用を目指す挑戦的研究である。

研究代表者は振動下での細胞培養研究を進めているが、細胞が振動を感知するセンサは膜タンパク質であり、アクチュエータは細胞内部に張り巡らされたアクチンフィラメントであることはある程度解明されたと考えている。これらに制御系が加われば適応的制御系として機能するが、制御系については全く知られていない。膜タンパク質からの信号は化学物質を介したシグナル伝達網として報告されているが、研究代表者はこのシグナル伝達そのものが人工的ニューラルネットワークと類似性があることに気がつき、これをモデル化して性能評価を行うことを考えた。これまで振動下での骨関連細胞を用いた培養実験を行い、特定の周波数の振動を加えることで増殖時に細胞密度が高くなり、膜タンパク質がセンサの機能を持っている可能性を示した。また一方で、人工的ニューラルネットワークによる知的制御系の研究も進めている。本申請は、これらの異分野研究を統合した研究提案であると位置づけている。

## 2. 研究の目的

生物を構成する細胞は、周囲の環境をメカノセンサにより把握して、各種化学物質を利用したシグナル伝達により情報を細胞内部に伝えている。本研究では、その細胞内部のシグナル伝達網をモデル化し、人工的ニューラルネットワークとの類似性を考慮して、学習機能のある、新たな制御系の開発を行うことを目的としている。適応的制御系には、センサ、アクチュエータ、コントローラの 3 要素が不可欠である。従来の研究で、センサは膜タンパク質、アクチュエータは細胞内部のアクチンフィラメントであることは理解されているが、制御機能および記憶機能については全く知られていない。そこで、研究代表者による細胞関連の実験的事実を背景として、適応的で、しかも学習能力のある新たな振動制御系の提案を行い、基本的性能を検討する。

バイオ関連分野では力学的概念の下で研究を進めることは前例が少なく、特に動力学

については当該分野ではほとんど理解されていない。研究代表者は細胞をマイクロマシンの原型として捉えており、細胞内部のシグナル伝達を利用して細胞が学習機能をもった適応制御系を有することが明らかになれば、分子細胞生物学で細胞の新たな機能が明らかになるばかりではなく、機械工学、特にマイクロマシン分野において、これまでとは全く異なる制御系構築の具体例を提示するという画期的な研究成果を示すことができる。

## 3. 研究の方法

### 3.1 振動刺激に対するシグナル伝達系の同定とタンパク質の定量化

研究代表者のこれまでの研究成果として、骨関連細胞では膜タンパク質の一つであるインテグリンが細胞の振動刺激に対するセンサとして機能していることが明らかになっている。タンパク質は生物体を構成する有機化合物の中で最も量が多く、また細胞機能のほとんどを担っている。20 種類からなるアミノ酸が連なってタンパク質を構成しており、分子量は数十万にも及ぶものもある。細胞膜上および細胞内部には様々なタンパク質が分布しているが、細胞周囲の環境を感知するのは細胞膜上にあるインテグリンとカドヘリンとよばれるタンパク質が有力な候補として知られている。インテグリンは細胞外マトリックスへの接着タンパク質として知られ、カドヘリンは細胞間の接着に寄与していることがわかっている。またこれらのタンパク質は接着だけではなく情報伝達分子としての役割も備えている。研究代表者はインテグリンの固有振動解析を行い、その振動特性の一部を明らかにした。固有値解析に用いるタンパク質の立体構造は、国際タンパク質構造データバンク (PDB: Protein Data Bank) でインターネット上に公開されている。これを用いることで構造としての節点座標を決定することができる。また質量は分子量が特定されているので集中質量系とした。計算に用いたモデルの一例を図 1 に示している。インテグリン 5 1 とよばれ、分子量は



図 1 インテグリンの構造

340,000, 原子数は約 22,500 である。

振動刺激は膜タンパク質のインテグリンを起点として、様々な経路を経て核に伝達されると考えられる。そのシグナル伝達経路を同定するためには、これまで静的な力学刺激でシグナル伝達を担っていると考えられているフォークアルドヒドージェンキナーゼ (FAK) や Rho ファミリー-G タンパクといったタンパク質の定量化を、振動を加える前後で比較する必要がある。その方法としてはウェスタンプロティングやフローサイトメトリ等があり、これらを組み合わせて多面的に定量化することを試みる。またシグナル伝達経路を同定する基本的方法として、経路するタンパク質を一つずつ欠損させて同様な実験を行い、両者を比較することが必要不可欠である。各種のタンパク質を欠損した細胞については、後述する研究協力者と位置づけている英国リバプール大学の酒井教授からの提供を受けることができる。

### 3.2 学習機能のシミュレーションによる確認

分子細胞生物学においては、これまで様々な刺激に対するシグナル伝達経路が同定されている。その中で力学的な刺激に対する伝達経路について文献調査する。これまでの研究では、静的な力学刺激に対する応答について検討されている文献が数多くあり、まずこれらの経路を用いて、力学的刺激を学習できるネットワークの構築を行い、数値シミュレーションによりその学習性能の把握を行う。ここで学習に用いるパラメータは、シグナル伝達経路で分泌・拡散するタンパク質の量に相当していることが重要である。次に、前項で同定した振動刺激に対するシグナル伝達経路のいくつかを用いて、振動刺激に対する応答を表す写像を作成する目的で人工的ネットワークを構築し、振動刺激に対する応答のシミュレーションを行う。その際に、前項で実験的に測定したシグナル伝達を担うタンパク質の量と、シミュレーションにおける信号伝達に導入した重み係数の関係を明らかにする。

## 4. 研究成果

### 4.1 モデル化

図 2 は、細胞内のシグナル伝達経路の一例を表したものである。図中の矢印は反応の経路を示しており、様々な種類のタンパク質が関わってシグナルの伝達を行っている。例えば、cAMP は Adenylate cyclase によって活性化され、PKA を活性化する。このように細胞内ではタンパク質分子が化学反応のネットワークを形成している。分子同士が化学反応を起こすには接近する必要があるが、本研究では分子の位置関係と運動の様子に注目している。

シグナル伝達をモデル化するにあたり、1 つのタンパク質分子が 1 つのユニットを表すとした。各ユニットには位置情報や活性状態等をパラメータとして与え、異なる種類のユ

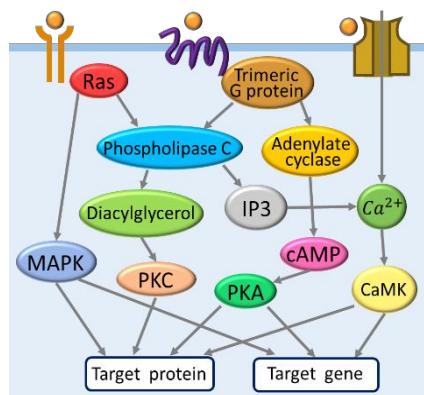


図 2 シグナル伝達経路の一例

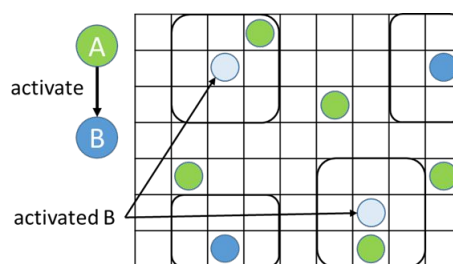


図 3 シグナル伝達のモデル化

ニット間においては化学反応を模した相互作用を規定する。分子の運動など、シグナル伝達を特徴づけていると考えられる振る舞いを規定し、シグナルが伝達していく様子をシミュレーションする。

図 3 に示すように、細胞内を整数座標のみを持つ 2 次元空間とし、そこにユニット (分子) を配置するというモデルを考案した。図 3 では A, B の 2 種類の分子があると想定している。相互作用として、B の周囲 1 マスに A が存在すると B は活性化するものとする。B が配置されている空間に A が配置されると、A と B の位置関係によって B のいくつかは活性化される。このようにして、分子 A から分子 B へシグナルが伝わる様子を表現する。学習する仕組みとして、分子の運動に注目した分子の運動は活性化反応によって制限を受けると考え、活性化したユニットはその場に留まり、活性化しなかったユニットは周辺にランダムに移動する、という状態遷移則を考案した。B が配置されている空間に A を複数配置し、規則に従って B の活性化と移動を行う。新たに得られた B の配置に対し、また A を配置する。以上を繰り返していくことで、B の配置は変わっていく。A の配置に毎回共通の特徴がある場合、A が高濃度の領域では B の大半が活性化され、A が低濃度の領域では多くの B が移動するため、繰り返しにより A の高濃度領域に B が集まると予想される。つまり、似た刺激の繰り返しによって細胞内部の様子に変化が生まれる。この状態遷移則により、繰り返し与えた A の分布の特徴を、B の最終的な配置という形で取り出すことができることをシミュレーションにより確認した。以後、A を入力分子、B を出力分子と

呼ぶ。

#### 4.2 シミュレーション方法とその結果

##### (1) 特徴抽出

考案したモデルを用いてシミュレーションを行った。入力分子の配置を2値画像と捉え、画像群において共通の特徴となる領域を抽出できると予想される。そこで、実際に画像データを用いてその特徴抽出を試みる。画像群としてインターネット上に公開されているデータセット「MNIST」を用いる。(http://yann.lecun.com/exdb/mnist/) MNISTは手書き数字画像のデータセットであり、画像認識アルゴリズムを比較する際のベンチマークとして用いられている。0から9までの10種類の画像が計70,000サンプル用意されており、うち60,000枚は学習用画像、10,000枚は判別用画像である。各画像には、その数字を表すラベルが付いている。1つの画像は28×28ピクセルで、各ピクセルは0(白)から255(黒)の値を取る。

シミュレーションでは、画像データを入力分子の配置として用いる。0から255まで値を持つが、値が0でないピクセルはユニットを1つ持ち、0のピクセルはユニットを持たないとする。空間は、画像データに合わせて28×28とする。図4に画像の例を示す。値が0のピクセルを白色、値が0でないピクセルを黒色で示す。入力分子の配置として見ると、ユニットのないマスが白色、ユニットのあるマスが黒色である。画像を入力分子の配置として用い、上記の状態遷移則に従い出力分子の活性化と移動を行う。MNISTの中から0を表す画像のみを取り出し、入力分子の配置として用いる。出力分子500個がランダムに配置された空間(図5)に0を表す画像を繰り返し1000枚与えた結果、出力分子の配置は最終的に図6のようになった。色の濃淡はその区画におけるユニットの個数の多さを表している。0の形状を見て取ることができる。また、活性化した出力分子の個数は画像

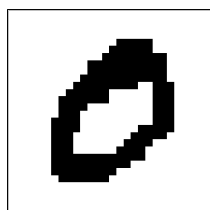


図4 「0」の画像例

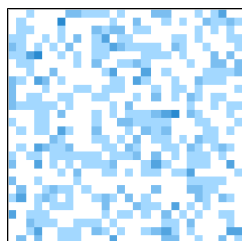


図5 初期状態

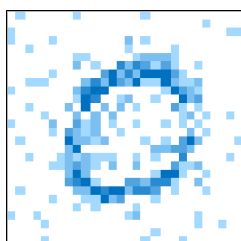


図6 最終状態

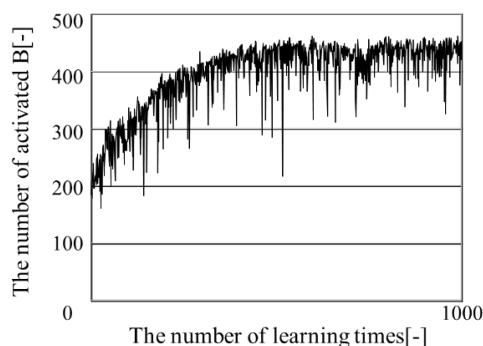


図7 分子Bの活性化された数

を繰り返し与えることで、図7のグラフのように増加した。出力分子の配置が0の形に近づいていることが確認できる。

##### (2) 画像認識

前項の(1)より、考案したモデルを用いて2値画像の特徴を抽出できることを確認した。これを用いて画像認識を試みる。0~9まで、10パターンの画像を識別する。学習用画像を入力分子の配置として用い、出力分子の活性化と移動を行う。パターンごとに学習させるため、画像と同じ0から9までのラベルを持った出力分子群を用意する。同じラベルを持つ出力分子に対してのみ、入力分子を作用させる。同じ数字を表す画像データを1000枚与えることで、それぞれの数字の形状が表現された出力分子の配置を得る。出力分子は数字ごとに500個ずつ用意し、28×28の空間全体にランダムに初期配置を与えた。学習後の配置を、1から9までそれぞれ図8に示す。色の濃淡はユニットの個数を表す。各数字において、その数字に似た形を見て取ることができる。5や8のように形状が比較的複雑になると、得られた形はやや曖昧なものになっている。

続いて、得られた出力分子の配置を用いて判別を行う。判別用画像を入力分子の配置として用いる。学習後の出力分子の配置に入力分子を作用させるが、同じ判別用画像を全ての出力分子に作用させる。パターンごとに活性化したユニットの個数を数え、比較する。出力分子は学習によって、各数字の形状を表した配置を得ているはずであるので、判別用画像と同じラベルを持った出力分子が最も

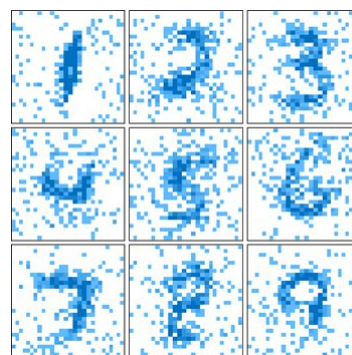


図8 分子Bの最終位置(1-9に対応)

表 1 認識率

Number	rate
0	88.0
1	98.6
2	38.6
3	80.5
4	71.1
5	5.0
6	70.7
7	57.1
8	29.5
9	78.5
total	63.1

多く活性化すると予想される．活性化した数が最も多いラベルと，画像のラベルが同じであれば正しく判別できたとする．1000 個の判別用画像を用いた．用いた判別用画像のうち，正しく判別できたものの割合を認識率として算出する．判別結果として表 1 に示す認識率が得られた．これは 10 回の試行の平均値である．全体としては，63.1%という認識率を得られた．

ラベルごとに見ると，0，1，3 は 80%を超える高い認識率を示しているのに対し，2，5，8 は 40%を下回っている．低い認識率になった数字は，比較的複雑な形状をしており，文字としての全長も長い．そのため，ユニットが疎らに広がっており，安定して多い活性化数を得るのは，1 や 0 のような単純な数字に比べて難しい．また，際立って単純な形状をした数字である 1 のユニットは，空間の中心付近に集中しているため，入力されたのが中心部を通る画像であれば大半が活性化してしまう．従って，他の数字が入力されたときでも，1 の活性化数が他より多くなる場合がある．

以上のように，シグナル伝達における分子の位置関係と運動の様子に注目し，モデル化を行った．考案した状態遷移則により，画像の特徴抽出が可能であることをシミュレーションにより確認した．またその応用として画像認識を試みた．実際の細胞内では，化学反応による分子の運動の制限によって分子の濃度に偏りが生まれ，同様の刺激が繰り返されたときに応答に変化が現れると予想している．

## 5．主要な論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

(1)早川翔太、森下信：日本機械学会関東支部第 22 期総会講演会, (2016-3) #518

## 6．研究組織

(1)研究代表者

森下 信 (Morishita Shin)

横浜国立大学・環境情報研究院・教授

研究者番号：80166404

(2)研究分担者

白石俊彦 (Shiraishi Toshihiko)