

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03979

研究課題名（和文）1細胞レベルでのシグナル伝達の時間情報コードの解析

研究課題名（英文）Temporal coding of single cell signal transduction

研究代表者

黒田 真也（Kuroda, Shinya）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授

研究者番号：50273850

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、1細胞ごとに刺激に対する応答を情報理論解析することにより、細胞ごとの応答のばらつきが存在することによって、細胞の集まりである組織の応答をより正確に制御することが可能となることを明らかにした。従来、細胞ごとに応答がばらつくことは正確な情報伝達を阻害するノイズであると考えられてきたが、本研究により、細胞ごとに応答特性が異なることが組織として刺激を区別できる範囲を拡げることに繋がり、正確な応答制御を可能にすることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究では骨格筋の実験系を用いて細胞間変動の影響を明らかにしましたが、得られた知見は組織としての応答が各細胞の応答の合計であると考えられる系であれば当てはまると考えられ、例えばホルモン分泌制御などにも適用可能であると考えられる。細胞ごとの応答のばらつきによる正確な応答制御機構が明らかになったことで、臓器レベルの応答制御がより明らかになっていくものと考えられ、疾病などによる臓器の応答制御異常のメカニズム解明にも役立っていくものと期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, information-theoretic analysis of the response to stimuli on a per-cell basis revealed that the existence of cell-by-cell response variability enables more precise control of the response of tissues, which are collections of cells. The present study reveals that the existence of cell-by-cell variability in response characteristics leads to an increase in the range in which stimuli can be distinguished as a tissue, and thus enables accurate response control.

研究分野：システム生物学

キーワード：シグナル伝達

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

さまざまな細胞機能や疾患発症に関わるシグナル伝達は、細胞機能の情報を一過性や持続性、周期性などの時間パターンにコードすることにより多彩な生理機能を制御する。例えばインスリンは、食後に一過性に分泌される追加分泌（時間単位）、空腹時であっても持続的に低濃度に分泌される基礎分泌（日単位）、さらに 15 分程度の周期を持った振動などさまざまな時間パターンを示す。インスリンによる肝臓からの糖放出抑制は、持続性刺激よりも 15 分周期の刺激の方が効果的である。また、糖尿病の初期では追加分泌が減少する一方で基礎分泌が増加することや、糖尿病患者では 15 分周期の振動が欠失していることが報告されている。これらは、インスリンは時間パターンによって代謝を選択的に制御していることを示している。実際に申請者らは、インスリンシグナリングでは AKT 経路がインスリンの一過性、持続性、周期性の時間パターンを多重にコードすることを見出した。さらに、下流のシグナル分子である S6K、GSK3、G6Pase が、ネットワーク構造の動的特性を利用して AKT の時間変化率や終濃度などに特異的に応答することにより、インスリンの時間パターンを選別することを明らかにしている（久保田ら、Mol. Cell, 2012、野口ら、Mol. Sys. Biol., 2013）。S6K 活性の制御ネットワーク構造は iFFL (incoherent FeedForward Loop) と呼ばれ、刺激の濃度の変化速度を捉える微分回路として、GSK3 活性や G6Pase 活性の制御ネットワーク構造は FF (FeedForward) と呼ばれ、刺激の濃度を捉えるもれ積分回路として機能する。また AKT 活性の制御ネットワーク構造はフィードバック回路と呼ばれ、刺激の周波数を捉えて応答する。このように刺激の時間パターンの情報を、シグナル伝達ネットワークがそれぞれのネットワーク構造の特性を利用して一過性や持続性、周期的パターンを選択的に伝達する。申請者はこの時間パターンを利用した情報伝達を、シグナル伝達の時間情報コードとして提唱している。さらに、細胞集団レベルでの ERK 経路の応答性をシャノンの情報理論を用いて解析して、シグナル伝達経路のロバスト性を明らかにしている（宇田ら、Science, 2013）。このようにインスリンシグナリングは時間パターンをコードしていることが明らかになりつつあるものの、これらは細胞集団の平均値での解析であり、1 細胞レベルでの解析でない。

一方、細胞集団の応答の平均値は必ずしも 1 細胞レベルの応答を代表しているわけではない。刺激の変化に対して 1 細胞レベルで連続的に応答する場合もあれば、1 細胞では二値的に応答して、細胞集団で見ると連続的に応答している場合もある。したがって、1 細胞レベルで解析しないと、真のシグナル伝達の時間情報コードは明らかにすることはできない。また、細胞ごとに分子の発現レベルがばらつくため、同じ刺激に対して細胞毎にシグナル分子の応答は異なるが、それぞれの細胞では常にシグナル分子は正確に同じ応答をすることを見出している（Fillipi ら、Cell Rep., 2016）。このようなばらつきのある環境でも、1 細胞レベルでの正確なシグナル伝達はどのように達成できるのだろうか。また、それを可能にしているのは、どのようなシグナル伝達のネットワークの構造や動的特性であろうか。これが本研究の「問い」である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、上記の「問い」に対して、刺激のさまざまな刺激強度を段階的に加えて、1 細胞のシグナル分子の応答をライブセルイメージングにより取得して、情報理論を用いた数理解析により、刺激の時間パターンとシグナル分子の応答特性を解析して、1 細胞レベルでのシグナル伝達の時間情報コードを明らかにすることである。

申請者らは、1 細胞レベルの解像度を用いたシグナル伝達の計測とシャノンの情報理論を組み合わせた解析により、シグナル伝達経路の一般的な特性として、阻害剤などの外乱に対して、シグナル分子の応答の強度（濃度）自体は減少するものの、情報量は低下せずロバストに伝達されることを見出している（宇田ら、Science, 2013）。また、最近ライブイメージングを用いた 1 細胞の時系列データの解析から、細胞ごとのシグナル強度は大きくことなりばらつきが大きいものの、ひとつの細胞では同じ刺激に対して毎回正確に同じ応答をすることを見出している。このことは、シグナル分子の単純な濃度自体に情報がコードされているのではなく、刺激の時間パターンの情報が、シグナル分子ネットワークの微分回路、積分回路や周波数応答などの特性にコードされており、この時間情報コードによって、細胞ごとでシグナル分子の強度自体がばらついていてもロバストな情報伝達を可能にしていると考えられる。逆に言えば、細胞は分子の発現量を厳密に制御しなくても正確に情報を伝達できることを意味している。これがシグナル伝達もつロバスト性の本体であると考えられる。

3. 研究の方法

1. マウス骨格筋系培養細胞 C2C12 や単離筋線維における計測と情報理論解析

マウス骨格筋系培養細胞 C2C12 や単離筋線維に対してさまざまな強度の電気刺激を反復して刺激を加え、細胞内 Ca²⁺濃度や筋収縮を定量的に計測して、刺激と応答の相互情報量を計測した。

2. ヒトの表情筋における計測と情報理論解析

ヒト生体内において、顔面神経への電気刺激による表情筋の筋電図計測により、生体内の筋肉の応答の相互情報量も計測した。

4. 研究成果

1. 反復刺激によって示された、大きな細胞間変動と小さな細胞内変動

細胞内変動と細胞間変動を分けて解析を行ううえで、応答のばらつきを同じ細胞への反復刺激によって計測する必要がある。しかし、多くの実験系では反復刺激を行うと細胞の状態を変えてしまうために反復刺激を行うことが困難であり細胞内変動と細胞間変動を区別することができない。そこで、C2C12 や単離筋線維に対する電気刺激によるカルシウム応答や筋収縮応答に着目した。これらの系では生理的にも反復して刺激が可能で、実際に反復刺激に対しても応答が安定していることが明らかになった。この実験系を用いて、細胞内変動と細胞間変動を分けて計測し、情報理論解析を行った。その結果、細胞間変動が細胞内変動に比べて大きく、細胞ごとに応答性は大きく異なっているものの、各細胞では正確に応答できることが示された。

2. 細胞間変動は組織の正確な応答制御を可能にしている

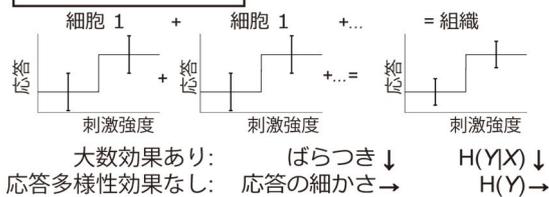
細胞内変動が小さく各細胞の応答が正確であることは示されたが、細胞間変動が大きいことの意義について明らかになっていない。そこで、多細胞の応答の足し合わせとしての組織としての応答に着目した。細胞間変動がありさまざまな細胞がいる中での合計応答と、細胞間変動がなく同じ細胞ばかりがいる中での合計応答を考えて情報理論解析を行ったところ、細胞間変動が存在しているほうが相互情報量は大きいことがわかった。つまり、細胞間変動はノイズとして作用するどころか応答を正確に制御することに寄与していることが明らかになった。さらに、合計応答の変化を詳細に解析することによって、細胞間変動が存在する場合に限り、組織は刺激強度の違いを細かく区別して応答することができるようになっており、そのことによってより正確な応答制御が可能になっていることが明らかになった(図)。さらに、ヒト生体内において、顔面神経への電気刺激による表情筋の筋電図計測により、生体内の筋肉は各細胞よりも正確に応答していることも示した。

相互情報量は以下の式によっても表現できる。

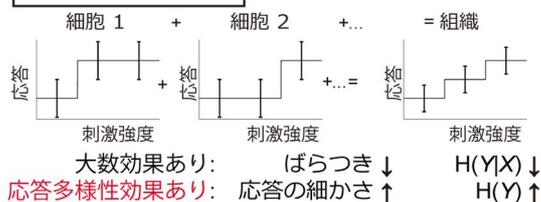
$$I(X;Y) = H(Y) - H(Y|X)$$

ここで、 $H(Y)$ は応答全体のエントロピーを表し、 $H(Y|X)$ は刺激を与えた際の応答のばらつき、すなわちノイズのエントロピーを表す。つまり第1項 $H(Y)$ が応答多様性効果、第2項 $-H(Y|X)$ が大数効果に対応する。細胞間変動が存在しており応答多様性効果が生じた場合のみ $H(Y)$ が増加する。一方、大数効果でばらつきが小さくなると $H(Y|X)$ が減少する。相互情報量は $H(Y)$ と $H(Y|X)$ によって決まるので、相互情報量変化は応答多様性効果と大数効果のみによって決まる。そして細胞間変動を含む場合においてのみ $H(Y)$ が増加し、応答多様性効果が生じたことが示された。

細胞間変動がない場合



細胞間変動がある場合



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Kawamura, G., Kokaji, T., Kawata, K., Sekine, Y., Suzuki, Y., Soga, T., Ueda, Y., Endo, M., Kuroda, S., Ozawa, T.	4. 巻 16
2. 論文標題 Optogenetic decoding of Akt2-regulated metabolic signaling pathways in skeletal muscle cells using transomics analysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci. Signal.	6. 最初と最後の頁 773
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/scisignal.abn0782	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fujita, S., Karasawa, Y., Hironaka, K., Taguchi, Y-h., Kuroda, S.	4. 巻 18
2. 論文標題 Features extracted using tensor decomposition reflect the biological features of the temporal patterns of human blood multimodal metabolome.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLoS ONE.	6. 最初と最後の頁 e0281594
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0281594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kokaji, T., Eto, M., Hatano, A., Yugi, K., Morita, K., Ohno, S., Fujii, M., Hironaka, K., Ito, Y., Egami, R., Uematsu, S., Terakawa, A., Pan, Y., Maehara, H., Li, D., Bai, Y., Tsuchiya, T., Ozaki, H., Inoue, H., Kubota, H., Suzuki, Y., Hirayama, A., Soga, T., Kuroda, S.	4. 巻 12
2. 論文標題 In vivo transomic analyses of glucose-responsive metabolism in skeletal muscle reveal core differences between the healthy and obese states.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports.	6. 最初と最後の頁 13719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-17964-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Terakawa, A., Hu, Y., Kokaji, T., Yugi, K., Morita, K., Ohno, S., Pan, Y., Bai, Y., Parkhitko, A.A., Ni, X., Asara, J.M., Bulyk, M.L., Perrimon, N., Kuroda, S.	4. 巻 25
2. 論文標題 Trans-omics analysis of insulin action reveals a cell growth sub-network which co-regulates anabolic processes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104231
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2022.104231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohno, S., Uematsu, S., Kuroda, S.	4. 巻 479
2. 論文標題 Quantitative metabolic fluxes regulated by trans-omic networks.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 787-804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20210596	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uematsu, S., Ohno, S., Tanaka, K. Y., Hatano, A., Kokaji, T., Ito, Y., Kubota, H., Hironaka, K., Suzuki, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Hirayama, A., Soga, T., and Kuroda, S.	4. 巻 25
2. 論文標題 Multi-omics-based label-free metabolic flux inference reveals obesity-associated dysregulatory mechanisms in liver glucose metabolism.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.103787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujita, S., Karasawa, Y., Fujii, M., Hironaka, K., Uda, S., Kubota, H., Inoue, H., Sumitomo, Y., Hirayama, A., Soga, T., & Kuroda, S.	4. 巻 8(6)
2. 論文標題 Four features of temporal patterns characterize similarity among individuals and molecules by glucose ingestion in humans.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Npj Systems Biology and Applications	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41540-022-00213-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Broadfield, L. A., Goncalves Duarte, J. A., Schmieler, R., Broekaert, D., Veys, K., Planque, M., Vriens, K., Karasawa, Y., Napolitano, F., Fujita, S., Fujii, M., Eto, M., et al.	4. 巻 81
2. 論文標題 Fat Induces Glucose Metabolism in Nontransformed Liver Cells and Promotes Liver Tumorigenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 1988-2001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-1954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Egami, R., Kokaji, T., Hatano, A., Yugi, K., Eto, M., Morita, K., Ohno, S., Fujii, M., Hironaka, K., Uematsu, S., Terakawa, A., Bai, Y., Pan, Y., Tsuchiya, T., Ozaki, H., Inoue, H., Uda, S., Kubota, H., Suzuki, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K., Hirayama, A., Soga, T., Kuroda, S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Trans-Omic Analysis Reveals Obesity-Associated Dysregulation of Inter-Organ Metabolic Cycles between the Liver and Skeletal Muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kokaji, T., Hatano, A., Ito, Y., Yugi, K., Eto, M., Morita, K., Ohno, S., Fujii, M., Hironaka, K., Egami, R., Terakawa, A., Tsuchiya, T., Ozaki, H., Inoue, H., Uda, S., Kubota, H., Suzuki, Y., Ikeda, K., Arita, M., Matsumoto, M., Nakayama, I. K., Hiroshima, A., Soga, T., & Kuroda, S.	4. 巻 13(660)
2. 論文標題 Transomics analysis reveals allosteric and gene regulation axes for altered hepatic glucose-responsive metabolism in obesity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaaz1236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aaz1236	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wada, T., Hironaka, K., Wataya, M., Fujii, M., Eto, M., Uda, S., Hoshino, D., Kunida, K., Inoue, H., Kubota, H., Takizawa, T., Karasawa, Y., Nakatomi H., Saito N., Hamaguchi, H., Furuichi, Y., Manabe, Y., Fujii, N.L., & Kuroda, S.	4. 巻 32(9)
2. 論文標題 Single-Cell Information Analysis Reveals That Skeletal Muscles Incorporate Cell-to-Cell Variability as Information Not Noise	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuda, N., Hironaka, K. ichi, Fujii, M., Wada, T., Kunida, K., Inoue, H., Eto, M., Hoshino, D., Furuichi, Y., Manabe, Y., Fujii, N.L., Noji, H., Imamura, I., & Kuroda, S.	4. 巻 8(3)
2. 論文標題 Monitoring and mathematical modeling of mitochondrial ATP in myotubes at single-cell level reveals two distinct population with different kinetics.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Quantitative Biology	6. 最初と最後の頁 228-237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40484-020-0211-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohno, S., Quek, L.-E., Krycer, J. R., Yugi, K., Hirayama, A., Ikeda, S., Shoji, F., Suzuki, K., Soga, T., James, D.E., & Kuroda, S.	4. 巻 23(9)
2. 論文標題 Kinetic trans-omic analysis reveals key regulatory mechanisms for insulin-regulated glucose metabolism in adipocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101479	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tottori, T., Fujii, M., Kuroda, S.	4. 巻 100(4)
2. 論文標題 Robustness against additional noise in cellular information transmission.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 4240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.100.042403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tottori Takehiro, Fujii Masashi, Kuroda Shinya	4. 巻 116(9)
2. 論文標題 NMDAR-Mediated Ca ²⁺ Increase Shows Robust Information Tran	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophys. J.	6. 最初と最後の頁 1748 ~ 1758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.03.030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Haruki, Kunida Katsuyuki, Matsuda Naoki, Hoshino Daisuke, Wada Takumi, Imamura Hiromi, Noji Hiroyuki, Kuroda Shinya	4. 巻 43
2. 論文標題 Automatic Quantitative Segmentation of Myotubes Reveals Single-cell Dynamics of S6 Kinase Activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 153 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.18012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shinya Kuroda
2. 発表標題 Transomic network analysis of glucose metabolism and its dysfunction associated with obesity
3. 学会等名 The 21th International Conference on Systems Biology (ICSB) 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinya Kuroda
2. 発表標題 The roles of inter- and intra-cellular variations in cellular information transfer
3. 学会等名 Workshop on Non-equilibrium Phenomena in Physics and Biology (NE-PB2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinya Kuroda
2. 発表標題 Systems Biology of Insulin Action
3. 学会等名 Biomedical Mathematics Online Colloquium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田 真也
2. 発表標題 ストラクチャオーム/ structurome オミクスワイドのタンパク質立体構造(ストラクチャオーム)に向けて Toward an omics-wide protein structure (structurome)
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田 真也
2. 発表標題 骨格筋のシステムバイオロジー：代謝トランスオミクスと情報誌論解析
3. 学会等名 第9回骨格筋生物学研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒田 真也
2. 発表標題 インスリン作用のトランスオミクスネットワーク
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会The 64th Annual Meeting of the Japan Diabetes Society（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒田 真也
2. 発表標題 トランスオミクスによる肝臓での糖応答システムの解析
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術集会The 94th Annual Congress of the Japan Endocrine Society（招待講演）
4. 発表年 2021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	眞鍋 康子 (Manabe Yasuko) (60467412)	首都大学東京・人間健康科学研究科・准教授 (22604)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------