

平成 22 年 6 月 5 日現在

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2007～2009

課題番号：19680014

研究課題名(和文) 生物形態の自律的な対称性破壊のメカニズム

研究課題名(英文) Spontaneous Symmetry Breaking Mechanism in Biological Morphology

研究代表者

作村 諭一 (SAKUMURA YUICHI)

奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科・特任准教授

研究者番号：50324968

研究成果の概要(和文)：神経細胞の発達初期では、長さの似た複数の神経突起のうち1本のみが伸長し軸索となる。脊椎動物の発達では、均一な細胞集団の中に体節と呼ばれる節が等間隔に形成される。この2つの現象に見られる形態上の対称性の破れに関して、実験研究者との共同研究のもと数理モデルを構築し、新しい原理の発見を行った。それぞれの研究において、モデルからの知見の提供と実験による検証が行われ、メカニズムの理解が進んだ。

研究成果の概要(英文)：Developing neuron has several immature neurites with similar length and elongates one of neurites which becomes axon. In the development of vertebrates, the epithelized cell group called as somite is formed in uniformly distributed cell group. These symmetry breaking phenomena were studied with collaborators in experimental field by constructing mathematical model. In each study, novel mechanism was discovered and predictions from mathematical model were validated by experiments.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
総計	7,500,000	2,250,000	9,750,000

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、分子生物学、形態形成、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

卵細胞は次々と分割して体節を作り出し、個体の構成要素である細胞自身も特殊な形態を作り出す。特に神経細胞が持つ形態は高度に非対称化している。このように、生物は、エネルギーを使って均一・対称状態から不均

一・非対称な状態への変遷、すなわち、「対称性の破れ」を引き起こし、その状態を維持するシステムを有している。

生物の形態形成に関する研究には長い歴史がある。細胞レベルの研究は近年盛んに行われており、個別に多くのデータを産出している段階である。理論分野では、1952年に

Turing が生物の形態形成を非線形拡散方程式で表現し、1970 年代より Meinhardt らによって理論発展がなされ、生物のマクロな形態形成に関する多くの研究が発表されている。

しかし、生物が対称性を破って形態形成を行うための具体的な分子を導入した研究は、分子計測が可能になりつつある近年になってようやく行われ始めた段階である。したがって、生物がどのようにして自律的に対称性を崩壊させようという意思を持つに至り、どのような分子システムがどのような法則のもとで各自の形態を複雑化させ、そしてどのようにその複雑な形態を安定化させるか、ほとんど未解明と言ってよい。

研究代表者はこれまで、神経細胞の軸索誘導に関するモデル研究、及びシナプス可塑性に関わるカルシウムシグナルに関するモデル研究を行ってきた。また、実験生物学の研究者との共同研究において、神経細胞が極性のある形態(非対称化)を作り出すには、関連生体分子の空間分布が細胞自律的に変化する必要があることが分かった。以上の研究経歴から、研究代表者は、そもそも生物の形態形成において不均一性や非対称性がどのようにして獲得されるのかという問題を解く必要があると考えるに至った。つまり、生物が形態のエントロピーを減少させる方向に状態遷移するメカニズムとはどのようなものかという問いである。生物が不均一性と非対称性を獲得するための自律性は、生体分子の確率的な応答によって発生する揺らぎ、またはノイズにあると考えている。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、単細胞と多細胞に関する以下の2つに分けられる。

(1) 神経細胞の極性形成(単細胞のモデル系)
近年、細胞内の非対称なシグナルが神経形態の極性を引き起こすことが分かってきたが、極性形成過程で非対称性シグナルを細胞内に生じさせるシステムは未だ謎である。そこで、①神経細胞が自主的に非対称性シグナルを生み出して対称性を破壊するメカニズム、②神経細胞が非対称性を維持するメカニズム、③細胞内分子の時空間活性制御が突起伸展を誘導するメカニズムについて、共同研究者(稲垣直之: 奈良先端大)から提供を受けた分子計測データを用いた理論研究により解明する。

(2) 生物個体の体節形成(多細胞のモデル系)
均一な組織である体節原基から、分節境界という不均一な構造の形成によって、体節という不連続な組織がつくられる。その過程で、

分節境界は遺伝子発現の振動を利用して等間隔パターンを形成する。遺伝子発現の振動は転写因子のネガティブフィードバックループによって細胞内で生み出されることがこれまでに明らかになっているが、多細胞組織として振動が維持され、それが等間隔パターンに変換される分子基盤は明らかでない。共同研究者(別所康全: 奈良先端大)から提供を受けたデータを解析し、理論モデルの構築を行うことで以上の問題を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 神経細胞の極性形成(単細胞のモデル系)

- ① 実験計測による物理的データ(突起の長さ、伸長速度等)、及び生化学的データ(Shootin1 を含む関連分子の時空間分布等)からの生物パラメータの推定とモデルへ適用する。
- ② 極性形成の過程を力学系非線形システムと見なし、各物理変数を非線形微分方程式で表現する。空間表現を要するので、細胞をコンパートメントに分割し、分子拡散・能動輸送を考慮する。
- ③ 極性形成の本質を解明するために、極性形成という機能を発現し得る最小限のモデル(可能な限り簡略化したモデル)を計算機による数値解析と解析的研究を行う。極性形成を生み出す仕組みを非線形力学系として理解する。
- ④ 細胞体から突起先端に向かって確率的な分子輸送が行われる。この確率的輸送によって発生する分子濃度の揺らぎと対称性の破れとの関連を明確にする。突起形成に関する確率要素のない過去のモデル研究(Samuels et al., Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 351, 1147, 1996)とは、この確率性に決定的な違いが存在すること、生物の自律性がこの確率的揺らぎに起因することを示す。
- ⑤ 極性形成に関する他の新規分子(同定済み)のモデルへの導入し、定量的比較を行う。
- ⑥ 最終的な統合モデルと実験データから、極性形成の力学的特性を解明する。

(2) 生物個体の体節形成(多細胞のモデル系)
マウス体節原基には振動する転写因子 Hes7 が存在し(Bessho et al., Genes Cells, 2001; Bessho et al., Genes Dev., 2001)、振動の駆動力は、個々の細胞内における転写因子のネガティブフィードバックループである(Bessho et al., Genes Dev., 2003)。

- ① 周期的な遺伝子発現については、これまで Lewis によって理論研究がなされており、本研究でも Lewis のモデルを拡張する。Lewis のモデルは、微分方程式で表現され

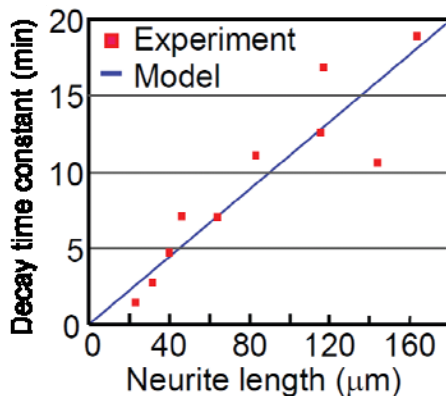
た遺伝子発現モデルに時間的な遅延を加えたもので、非常に強い周期性を見せる。しかし、安定性と頑強性は相反する特性であり、体節形成の安定性のためには、遺伝子発現におけるある程度の柔軟特性を調べる。

- ② 個体の発生過程における実験データの提供を受け、*in vivo* 細胞集団のデータを収集する。
- ③ 単一細胞内における転写因子 Hes7 の周期性について、その周辺分子との関係を力学モデルで表現する。
- ④ 数理モデルによる単一細胞内における振動の安定性解析を行う。
- ⑤ 数理モデルで記述された複数の細胞間のコミュニケーションをモデルに導入し、細胞集団における振動の安定性解析と同調性解析を行う。
- ⑥ 遺伝子発現振動から体節の空間的周期性変換のモデルによる数理的な記述と、非線形力学系としての解釈を行う。

4. 研究成果

(1) 神経細胞の極性形成

まず、分化直後の神経が複数の突起の中で 1 本のみを伸ばす過程(極性形成)の原理を定量的な数理解析を行った。その際、各突起先端における shootin1 分子の相対濃度のダイナミクスは分子拡散モデルを適用し、突起先端の分子濃度の減衰定数が長さとの線形関係にあることを示した(下図)。また、この解析により、濃度に関する微分方程式のパラメータも同定した。

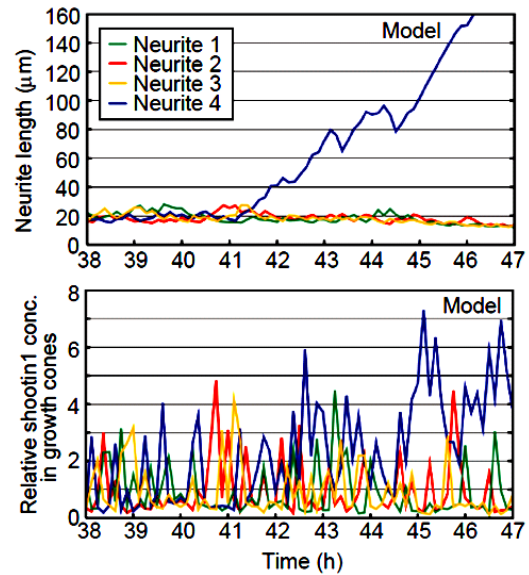


理論式による線型予測と実験データの比較

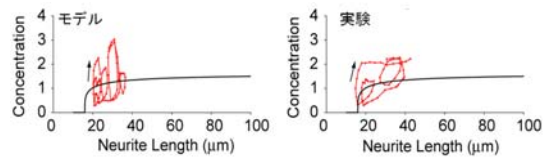
次に、神経突起伸長のための微分方程式を構築するために、細胞に発生する力に関する変数を導入し、現象論的な近似モデルで突起長に関する微分方程式を記述した。この際も、モデルパラメータは実験データから同定した。

濃度と長さに関する微分方程式を人為的な調整なしに統合した結果、下図のように 1 つの突起のみが長くなる神経極性形成を示

した。上段図は、4 本の神経突起の長さの時系列を示し、下段図は対応する shootin1 濃度である。



このモデルによって、神経の極性形成過程を定量的でありながら数理解析に乗せることが可能となり、その原理を数理構造として表現することができた。下図は、長さとの濃度の位相空間であり、長さに関する null-cline と状態遷移を表す。モデルシミュレーションが実験データと同様の軌道を示していることから、力場特性のモデルが近似ながらも現象を良く捉えていることが分かるとともに、極性形成のメカニズムを数理的に理解可能となった。また、定量性を維持しながら数理解析を可能とするこのような手法は、他の神経形態形成のモデルについても適用できる。

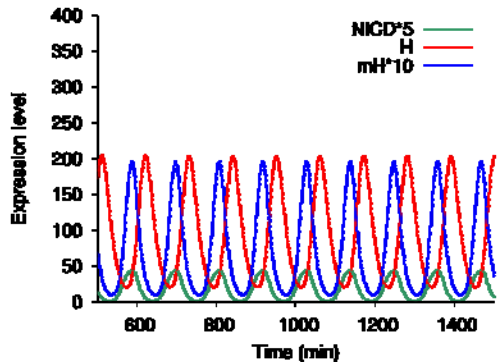


(2) 脊椎動物の体節形成

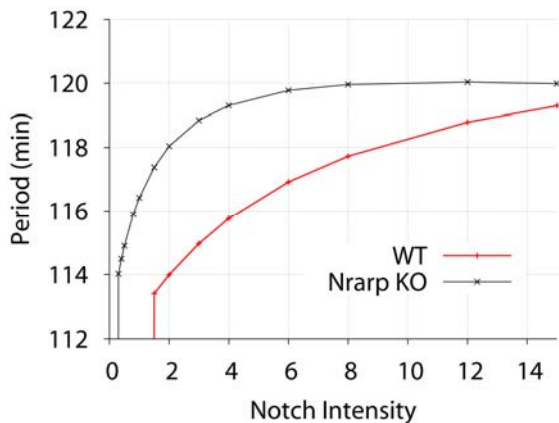
体節形成を実現する分子制御システムに関しては、特に哺乳類動物において未だ不明な点が多い。マウスでは Hes7 が重要な役割を担うことがわかっているが、周辺分子(Lfng や Nrarp)との関係や細胞外からの刺激入力(Notch シグナル)に対する応答特性は不明である。本研究開発では、Hes7 の発現周期の変化を予測対象として、周辺分子と刺激入力を包含したシステムの同定を目指した。

Lfng と Nrarp の発現は Hes7 によって抑制されるため、これらのタンパク質が発現可能な時間的位相は Hes7 と等しい。したがって、これらの分子を Hes7 そのものに置き換えることで変数削減を行うと、入力である

NICD、Hes7 の mRNA、出力である Hes7 タンパク質の 3 変数からなるモデルとして近似できる。Lfng による NICD 抑制、および Nrarp による NICD 分解は、Hill 型の容量応答曲線で近似した。Lfng と Nrarp を Hes7 で置換することは、各分子に対する Hill 式の Kd 値に修正を加えることで対処することができ、最終的に 4 つの Kd 値 (NICD→Hes7 mRNA 生成、Hes7→Hes7 mRNA 抑制、Hes7→Notch 抑制、Hes7→NICD 分解) が主にこの分子制御システムの挙動を決定する。



以上の近似によるミニマムモデルは、広いパラメータ空間 (生成速度係数、分解速度係数、遅延時間、Kd 値) で、周期的な Hes7 発現を再現する (上図)。もともと遅延付きフィードバック抑制制御であった Hes7 タンパク質と mRNA が振動現象を示し得ることは先行研究 (Lewis, 2003) で明らかになっていたが、ここでの問題は、それ以外の周辺分子 (Lfng と Nrarp) のフィードバックが何を行っているかである。このうち Lfng によるものは、確率的ゆらぎが大きいと考えられる Notch シグナルを整流化し、NICD に Hes7 の周期情報を埋め込んでいることが、モデル解析により分かった。Nrarp は、NICD 分解を通じて Lfng と同様に Notch シグナルを整流化する効果を持つと考えられるが、一方で、NICD 分解はシステム全体の周期性に影響を与えることがモデル上で予見される。そこで、モデル上で、野生型と Nrarp ノックアウトとの比較を行っ



た結果、野生型は発現周期の Notch シグナル強度依存性を示すバンドが広く、Nrarp ノックアウトでは発現周期の変動効果が小さくなるのがわかった (上図)。つまり、Nrarp は、Notch シグナルという生化学的情報をシステム全体の周期特性という時間情報に変換する役割を持つことが示唆された。

これを確認するために、共同研究者のグループが Nrarp ノックアウト実験を行った結果、モデル予測を支持するデータが得られた。この結果は、Hes7 を中心とする周期振動システムが、その周期特性を変容させ得る「しなやかさ」を持ちつつロバスタな体節形成を行っていることを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 5 件)

- [1] Toriyama M, *Sakumura Y, Shimada T, Ishii S, *Inagaki N, A Diffusion-based neurite length sensing mechanism involved in neuronal symmetry-breaking, *Molecular Systems Biology*, (*corresponding authors; in press) (査読有)
- [2] 塚田 祐基, 作村 諭一: 細胞形態変化の定量と現象論的モデル, 細胞工学, 秀潤社, 339-343, 2010. (査読なし)
- [3] Hayashi S, Shimoda T, Nakajima M, Tsukada Y, Sakumura Y, Dale JK, Maroto M, Kohno K, Matsui T, Bessho Y. Sprouty4, an FGF inhibitor, displays cyclic gene expression under the control of the notch segmentation clock in the mouse PSM. *PLoS One*. 4(5):e5603, 2009. (査読有)
- [4] Tsukada Y, Aoki K, Nakamura T, Sakumura Y, Matsuda M, Ishii S. Quantification of local morphodynamics and local GTPase activity by edge evolution tracking. *PLoS Comput. Biol.*, 4(11): e1000223, 2008. (査読有)
- [5] Honda N, Sakumura Y, Ishii S. Stochastic Control of Spontaneous Signal Generation for Gradient Sensing in Chemotaxis. *J. Theor. Biol.*, 255, 259-266, 2008. (査読有)

〔学会発表〕 (計 12 件)

- [1] 青木孝剛, 五十嵐康伸, 木村壘, 今基織, 作村諭一, 石井信, 独立成分分析を用いた初期視覚野の二重反対色同心円型受容野の形成, NC2009-151, 373-378, 2010年3月. 玉川大学.
- [2] Sakumura Y, A quantitative modeling of neural morphological polarization,

- Asia Simulation Conference (JSST2009), 2009年10月. 同志社大学. (招待講演)
- [3] 内海将人, 作村諭一, 福西昭子, 山本亘彦, 石井信, 統計的手法を用いた神経軸索の形態予測, 電子情報通信学会技術研究報告, NC2008-108, 31-36, 2009年3月. 玉川大学.
- [4] 伊坂弥花子, 山尾将隆, 作村諭一, 金雄, 松井貴輝, 別所康全, 石井信, 脊椎動物の発達過程における分節時計の分子システム, NLP2008-163, 71-76, 2009年3月. 京都市.
- [5] Sakumura Y, Toriyama M, Inagaki N, Ishii S, A quantitative description of polarization in neural morphology, バイオスーパーコンピューティング・シンポジウム (BSCS) 2008年12月. 東京丸の内
- [6] Sakumura Y, A quantitative mathematical description of neural polarity, 第31回日本分子生物学会年会, 2008年12月. 神戸市 (シンポジウム) (招待講演).
- [7] 河野(金兒)貴子, 本田直樹, 塚田祐基, 山尾将隆, 作村諭一, 石井信, Rho/Rho-kinase によるミオシンの動的リン酸化制御システム, 第31回日本分子生物学会年会, 2008年12月. 神戸市.
- [8] Dauwels, J., Tsukada, Y., Sakumura, Y., Ishii, S., Aoki, K., Nakamura, T., Matsuda, M., Vialatte, F., Cichocki, A. On the synchrony of morphological and molecular signaling events in cell migration. International Conference on Neural Information Processing (ICONIP 2008), 2008年12月. オークランド ニューージーランド.
- [9] Tsukada, Y., Aoki, K., Sakumura, Y., Nakamura, T., Matsuda, M., and Ishii, S., Quantitative Morphodynamic Analysis of FRET time-lapse imaging. International Conference on Systems Biology (ICSB 2008), DS2-1-54 pp.104, 2008年8月. ヨーテボリ スウェーデン.
- [10] 作村諭一, シグナル伝達の拡散と局所性を利用したシナプス可塑性, 2007年度シナプス研究会, 2007年12月. 生理学研究所 (招待講演).
- [11] Tsukada, Y., Sakumura, Y., Ishii, S. Quantitative Morphodynamic Analysis of Time-Lapse Imaging by Edge Evolution Tracking. International Conference on Neural Information Processing (ICONIP 2007), 2007年11月. 北九州.
- [12] Naoki, H., Sakumura, Y., and Ishii, S.

Spontaneous signal generation induced by reaction noise for gradient sensing in chemotaxis. International Conference of Systems Biology (ICSB 2007), pp.46, 2007年10月. 米国カリフォルニア州.

[その他]

本研究課題と関係する国内外の研究者を招聘し、ワークショップ(システム神経生物学スプリングスクール)を開催した。

<http://nippon.naist.jp/SNSS2007>

<http://nippon.naist.jp/SNSS2008>

<http://nippon.naist.jp/SNSS2009>

<http://nippon.naist.jp/SNSS2010>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

作村 諭一 (SAKUMURA YUICHI)

奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科・特任准教授

研究者番号：50324968