

平成 21 年 10 月 30 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20700272

研究課題名（和文） 神経細胞内シグナル伝達の静的解析法の開発

研究課題名（英文） Development of static analysis methods for neuronal signal transduction

研究代表者

菊地 進一（KIKUCHI SHINICHI）

慶應義塾大学・環境情報学部・専任講師

研究者番号：50348851

研究成果の概要（和文）：

本研究は神経細胞のシグナル伝達をモデル化するための方法論、特に代数的、離散的な解析法の開発である。微分方程式による定式化には修飾状態の違いから組み合わせ爆発の問題点がある。そこで化学量論行列の核空間ベクトルに基づく解析結果から主経路の意味付けを行った。また重み付き有向グラフの k 最短経路解析により静的特性を検出した。これらより、シグナル伝達の新しい静的解析法の提案およびその有効性の検証を行った。

研究成果の概要（英文）：

Dynamic models of signal transduction involve a combinatorial explosion problem in their kinetic parameters modeled. A methodology proposed was a kind of static modeling. An algebraic method showed a reaction participation and pathway length of extreme pathways which span the kernel of the stoichiometric matrix. Also, a discrete analysis revealed the distribution of k-shortest pathways of a weighted, directed graph. These calculations were possible alternatives for a schematic representation of signal transduction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：生体生命システム情報学

1. 研究開始当初の背景

シグナル伝達に関するモデリングの諸問題を解決することを目的として、システム生

物学という学問分野とともに様々なレベルの研究が行われるようになった。その技術分野の中に微分方程式、代数方程式、離散表現

の3つの方法論がある。微分方程式システムにおいては、双安定性、分岐解析、ヤコビアン行列による感受性解析などが実用化されている。一方で、代数方程式および離散表現システムでは、解析できる対象の大規模化が期待されているものの、その方法論の提案がここ数年によるもので、数学的にどのような解析方法が考えられるのか、および生物学的に何を明らかにできるのかが定まっておらず、実用化は限定的な範囲に留まっている。

我々はこれまで神経細胞のシグナル伝達解析の研究に取り組み、数百分子程度のシグナル伝達系の微分方程式表現におけるヤコビアン解析から、PP2Aを中心とするCaNおよびPP1のホスファターゼ協調仮説の検証を進めてきた。これらの研究を進めてきた結果、微分方程式によるシグナル伝達の計算困難性(NP困難)の問題に辿り着き、直接表現ではなく拘束条件による表現・解析方法の有効性を確かめる研究に至っている。

現在は、代数方程式および離散表現によりシグナル伝達の静的解析の研究を行っている。もちろん、双安定性や周波数の違いを検出するような動的特性を直接的に検出することはできない。しかしシグナル伝達系をリガンド

受容体結合反応から転写因子活性化へと至る反応系と考えるのであれば、静的解析であっても主要経路の検出の条件として適用することができる。ただし主要経路がどのような動的特性をもちうるのか推察するためには、動的・静的両面からみて主要経路が類似していることが望ましい。この実現のためには、

- ・代数的特性である核空間ベクトルと動的特性であるヤコビアンベクトルとを比較するために、比較可能な抽象度の情報量に縮約する
- ・受容体から転写因子・細胞骨格へのk最短経路および制御構造の離散的特性の抽出を行い、濃度変化から動的特性との対応付けを考慮する

の2つの考え方がある。申請者はこれらの考え方に着目し、シグナル伝達系の静的解析の検証が計算困難性の解決に有効であると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、シグナル伝達の静的解析について、代数方程式・離散方程式という方法論や抽象度の違いが解析結果に及ぼす影響を検証し、微分方程式を代替する解析方法としての有効性を明確にすることを目的とする。

この目的の達成のために、第一段階として、以下のことを評価する。

- ・化学量論行列の核空間ベクトルの解釈として主成分分析による情報の縮約を行い、ヤコビアン行列による主要経路との違いを評価する

- ・海馬CA1神経細胞の神経可塑性に関する生物学的知見、特に遺伝子欠損マウスおよび薬理阻害実験との比較を行い、手法の有効性を検証する

上記により、代数方程式による静的解析が、シグナル伝達系の特徴をどのように捉えるかを明らかにする。

第二段階として、以下のことを評価した。

- ・シグナル伝達の重み付き有向グラフ表現に対して、受容体から転写因子・細胞骨格までのk最短経路解析、および制御構造解析を行い、各経路の特徴を評価する
- ・マウス海馬CA1神経細胞の長期増強における遺伝子発現の時系列およびmRNA分解速度の情報により、タンパク質濃度の経時変化をk最短経路の経時変化に写像し、その特徴を評価する

上記により、離散表現における静的解析が、シグナル伝達系の特徴をどのように捉えるかを明らかにする。

これらのモデル化に基づき、神経細胞内シグナル伝達の情報伝達経路、すなわち受容体で情報を受け取ってから細胞イベントへと情報が受け渡される経路を構築する。

代数方程式や離散表現による静的解析により、主要経路の同定・比較、情報の縮約、生物学実験からの知見などを評価し、提案した手法の有効性を明らかにする。さらに、動的特徴との相同性を表現するためにヤコビアン行列との比較を行い、シグナル伝達の静的解析の有効性を明らかにする。

3. 研究の方法

平成20年度

初年度は、代数方程式による解析が動的特性とどのように異なるかを評価し、静的解析が図1のようなシグナル伝達経路の特徴をどのように抽出するかを評価した。具体的には、以下の手順で研究を遂行した。

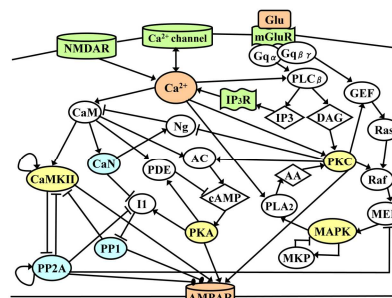


図1：神経可塑性のシグナル伝達モジュール

(1)核空間ベクトルの構築

海馬 CA1 野神経細胞の神経可塑性に関する双安定シグナル伝達の数理モデルを構築する。モデリング技法として、拘束条件に基づく表現方法である代数的解析法を用いる。分子レベルでの化学素反応を化学量論係数行列に変換し、情報伝達流束に関する定常状態を拘束条件として核空間ベクトルを計算する。これらの基底ベクトルを組み合わせ、図2のような神経可塑性に関する情報伝達空間を構築する。

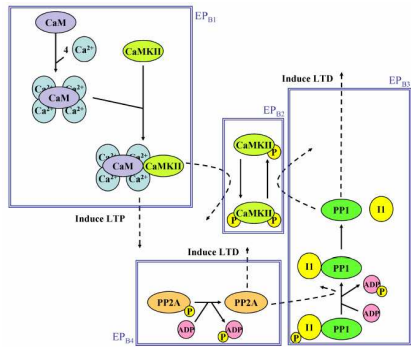


図2：代数解析時の核空間ベクトル

また、得られた情報伝達空間の部分空間を具体的な生物学的な頑健性の知見に照らして評価する。遺伝子欠損実験および薬理阻害実験との比較を行うために、任意の核空間ベクトル(群)の縮退した系を構築する。具体的には、縮退ベクトルによる情報伝達空間の変化を計算し、その値に基づいて野生型と変異型とを制御する核空間と、それを解析するためのシステムを構築する。

(2)代数解析評価1 - 情報縮約の評価 -

解析によって得られる約1万近くの生データを解釈するために、解析結果の次元縮約(Barret CL *et al.* BMC Bioinformatics, 2006)を行う。解析結果は基底ベクトルとして得られるので、主成分分析により10次元程度に情報圧縮が可能である。生物学的解釈の難しいとされる主成分ベクトルに対して頑健性解析を適用して評価する。計算機実験は神経可塑性のシグナル伝達を用いて行う。各条件での代表ベクトルの情報を動的特性と比較することで、情報縮約の条件が静的特性・動的特性と比較してどのような違いを生じさせるか解析する。

平成21年度

最終年度は、前年度の代数的特性の評価結果に基づき、図3のような離散表現における受容体から転写因子・細胞骨格までのk最短経路をモデル化し、もう一つの静的特性の構築を行った。また静的特性の経時変化から疑

似動的特性を捉えるために、濃度変化依存的なk最短経路の解析結果を明らかにした。具体的には、以下の手順で研究を遂行した。

図3：離散表現時のk最短経路とその制御

(1)神経可塑性シグナル伝達の重み付き有向グラフによるモデル化

前年度と同じく、海馬CA1野神経細胞の神経可塑性に関する双安定シグナル伝達の数理モデルを構築する。最終年度はシグナル伝達を重み付き有向グラフとして表現することで、もう一つの静的解析を行う。

グラフ表現による抽象度の上昇に伴い代数解析時とは異なるモデルとなることが予想できる。ここでk最短経路の頑健性は細胞外からの情報伝達を細胞イベントへと変換する経路を検出するための方法を規定する。解析するネットワークは、離散表現のため比較的大規模であり、細胞外からの入力約30種類のリガンド・受容体結合反応、出力となる細胞イベントは合計約70種類の転写因子や細胞骨格因子の活性化である。約1,800種類の活性化反応から構成される(Ma'ayan *et al.*, Science, 2005)。代数解析と同じく、頑健な双安定性を達成する経路特性について、離散解析による評価結果から定式化を行う。

(2)シグナル伝達による情報伝播を安定化させる制御系の構築

安定な振る舞いを実現するためのシグナル制御系を構築する。ここではネットワークモチーフの数に着目するのではなく、具体的にはk数の増加に伴う制御構造の多様性をモデル化する。また数ステップ内のフィードフォワード経路・フィードバック経路構造の多様性が経路の頑健性にもたらす影響を定式化する。迅速な情報伝播のためのk最短経路の種類数とそれを継続的に持続させるための制御構造の多様性を評価することで、グラフにおける静的特性の向上を実現させる系を導出する。

4. 研究成果

本研究の概念的な特色は、シグナル伝達の解析を静的手法によって行う点である。従来、シグナル伝達は動的システムの最上位のもの

として位置付けられ、微分方程式を用いなければ理解できないものと考えられてきた。しかしこの考え方に従う限り、頑健なシグナル伝達系を解析するためには、系へ大きな変動を伴う解析が必要であり、ヤコビアンのような微小摂動で実現することは難しい。すなわち動的表現に対するNP困難の計算複雑性を解決するためには、静的な解析の重要要因である要素の削減などが要求されている。

そこで本研究では、シグナル伝達系を情報伝達経路として位置付けることで、代数表現や離散表現を用いて表現することを可能とし、シグナルの頑健性を解析する方法論の提案を可能とした。本研究は静的特性を動的特性と区別して追及するのではなく、静的特性の時間変化を疑似動的特性と捉えて検証することで、静的解析という考え方が有効であるという着想の実証において独創性を持つ。

本研究の方法論としての特色を述べる。本研究は、代数方程式および離散表現によりシグナル伝達経路の新しい解析法を提案するものであった。

化学量論行列の核空間ベクトルを解析する手法は代謝経路の解析においては確立されつつある方法論である。これを情報流の量論行列に着目した核空間ベクトルとして定義することによって、シグナル伝達への適用を可能とすることに特色がある。分岐解析のような動的特性は検出できないが、モデルパラメータが少ないため現実的な規模で解析を行えるところに特長がある。もう一つの離散表現を用いた方法においては、次数や媒介性といったネットワーク変数が知られている。

本研究では情報伝達経路の頑健性を知るためにk最短経路を計算した。k最短経路は最短経路からkステップまで遠回りを許容した経路群である。この静的特性を経時変化から捉えることで、動的特性の抽出を試みるという特色を持つ。

本研究の研究対象としてのもう一つの特色は、シミュレーションだけでなく、実験科学での実証実験を志向していることである。従来、シミュレーション分野で行うシグナル伝達の研究は、その数理的特徴から安定性解析など専ら理論研究が中心であった。静的モデルでは定量的・経時的な誤差評価が困難な実時系列の影響、欠損などの定性的な変化、制御構造の特徴などを確認することも可能となる。特に神経可塑性において双定常システムは定性的な記憶のビット(0/1)を表現していることから、動的特性と静的な経路特性の比較対象として適しているという特徴がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- [1] R. Yanashima, N. Kitagawa, Y. Matsubara, R. Weatheritt, K. Oka, S. Kikuchi, M. Tomita, S. Ishizaki. "Network features and pathway analyses in signal transduction cascade", 3, 13.1-13.10, 2009, 査読有.
- [2] Y. Matsubara, S. Kikuchi, M. Sugimoto, K. Oka, M. Tomita. "Algebraic method for the analysis of signaling crosstalk", Artificial Life, 14(1), 81-94, 2008, 査読有.
- [3] K. Ishii, S. Nakamura, M. Morohashi, M. Sugimoto, Y. Ohashi, S. Kikuchi, M. Tomita. "Comparison of metabolite production capability indices generated by network analysis methods", Biosystems, 91(1), 166-170, 2008, 査読有.

[学会発表] (計 6 件)

- [1] 築島亮次, 菊地進一, 石崎俊, "哺乳類海馬CA1部位シグナル伝達経路の主経路抽出法", 日本神経回路学会全国大会, P2-7, 2009.8.15, 東北大学.
- [2] S. Kikuchi, "Robustness and differentiation of signal transduction networks", Intl Workshop on Logical Aspects of Fault Tolerance (LAFT), UCLA(サンフランシスコ), (Invited talk).
- [3] S. Kikuchi, Y. Matsubara, K. Ishii, M. Sugimoto, K. Oka, M. Tomita, "Temporal-specific optimization of k-shortest paths and network motifs in neuronal signaling cascades", INCF Congress of Neuroinformatics, 2009.9.7 ~ 2009.9.9, Stockholm.
- [4] 築島亮次, 北川統之, 菊地進一, 石崎俊, "アルツハイマー病における海馬シグナル伝達経路のネットワーク解析", 日本神経回路学会大会, P1-15, Stockholm 2008.9.24 ~ 2008.9.26, 産業技術総合研究所(つくば市).
- [5] T. Samura, M. Hattori, S. Kikuchi, S. Ishizaki. "Significance for hippocampal memory of context-like information generated in hippocampal CA3c", Proc. Intl Conf on Neural Information Processing (ICONIP), 206-207, 2008.11.25~2008.11.28, Auckland.
- [6] 佐村俊和, 服部元信, 菊地進一, 石崎俊, "海馬CA3の空間・時間選択性の相互作用によるT字迷路課題を想定したループ時系列の曖昧性解消", 情報科学技術フォーラム(FIT), 481-482, G-017, 2008.9.2 ~ 2008.9.4, 慶應義塾大学(藤沢市).

6 . 研究組織

(1)研究代表者

菊地 進一 (KIKUCHI SHINICHI)

慶應義塾大学・環境情報学部・専任講師

研究者番号：5 0 3 4 8 8 5 1

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：