

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18679

研究課題名（和文）極値統計学を用いた神経細胞軸索輸送の研究

研究課題名（英文）Extreme-value analysis of neuronal cargo transport

研究代表者

林 久美子（Hayashi, Kumiko）

東京大学・物性研究所・教授

研究者番号：00585979

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：極値統計学は、観測データから数学の定理に基づき最大値や最小値を推定する統計学である。今回、私たちの研究グループは、モータータンパク質キネシンとダイニンによる神経細胞軸索輸送の輸送速度データ解析に極値統計学を利用した。あらゆる観測データの極値データ $\{X\}$ は一般極値分布に従い、形状パラメータの値に応じて、ゲンベル型、フレシェ型、ワイブル型に大別されるが、キネシンの輸送速度データは最大値（4  $\mu\text{m/s}$ ）が存在するワイブル型に属し、一方で、ダイニンは異なる振る舞いを示しことを発見した。シミュレーション結果から、この相違が輸送速度の負荷依存性の相違に帰着できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の手法を応用することで、モータータンパク質本来の環境である細胞内で物理的性質を明らかにすることが可能である。モータータンパク質のアミノ酸変異が輸送速度や輸送力などの物理量の変化に繋がり、物流障害からさまざまなヒト疾患を引き起こす。特に、長い軸索があり能動輸送が重要な神経細胞では、物流障害から神経細胞死を引き起こすこともある。アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症（ALS）などの神経変性疾患では、モータータンパク質の変異による物流障害が指摘されているため、今回開発した極値統計学による解析手法を用いることで、モータータンパク質の変異に起因する神経疾患の分子メカニズムの解明への寄与が期待される。

研究成果の概要（英文）：Extreme value analysis (EVA) estimates the maximum and minimum values based on mathematical theorems from observed data. We applied EVA to analyze the transport velocity data of motor proteins kinesin and dynein involved in axonal transport in neurons. The extreme value data  $\{X\}$  of any observed dataset follows a general extreme value distribution and, depending on the value of the shape parameter, can be classified into Gumbel, Frechet, or Weibull types. We found that the transport velocity data of kinesin, with a maximum value of 4  $\mu\text{m/s}$ , belongs to the Weibull type, while dynein exhibited a different behavior. Simulation results demonstrated that this difference can be attributed to the load-dependence of their transport velocities.

研究分野：生物物理学

キーワード：モーター蛋白質 キネシン ダイニン 軸索輸送 極値統計学

## 1. 研究開始当初の背景

真核細胞内では、中心の核付近で合成した物質を末端へ輸送するだけでなく、末端から取り入れた物質や不要な物質を中心に輸送する必要があり、双方向輸送が細胞機能にとって重要である。サイズの大きい真核細胞では受動的な物質拡散が遅いため、微小管ネットワークを張り巡らし、微小管に沿って物質を能動的に輸送する必要がある。この能動輸送を担うのがキネシンとダイニンと呼ばれるモータータンパク質である。これらのタンパク質はアデノシン三リン酸 (ATP) の加水分解で得た化学エネルギーを力学運動に変換して動くナノサイズのモーターであり、細胞中心から末端へ向かう順行性輸送をキネシンが担当し、末端から中心に向かう逆行性輸送をダイニンが担当している。図 1 に示すように両者の構造や化学-力学エネルギー変換の仕方も大きく異なっている。順行性輸送と逆行性輸送の相違を明らかにすることは重要である。

## 2. 研究の目的

これまでキネシンやダイニンの運動メカニズムや力学性質はガラスチャンバー内で行う 1 分子実験で調べられてきたが、本来の環境である細胞内では他の輸送関連タンパク質と協働して機能するため、細胞内でこれらのタンパク質機能を調べることが課題となっている。生きている細胞内は細胞骨格やタンパク質が混み合う複雑な非平衡環境であり、このような非平衡環境では多くの平衡統計力学法則が破綻するため、物性計測が困難である。ナノスケール生物系の力学操作においてしばしば使用される光ピンセットも細胞内のような非平衡環境で力を正確にキャリブレートすることが難しく、また、強いレーザーを用いるため生きている細胞への負荷が大きい。こうした要因から、細胞に対し低侵襲で、非平衡環境においても計測、解析できる新たな手法の開発が必要とされている。

## 3. 研究の方法

極値統計学は、観測データから数学の定理に基づき最大値や最小値を推定する統計学である。かつては土木系や品質工学などの応用が多かったが近年応用が広がっている。これまで極値統計学をナノバイオロジーの実験データ解析に応用する試みはあまり行われておらず、一般には生命科学分野では平均値解析が行われている。極値統計学をナノバイオロジーの実験データ解析に適用することで、これまでに計測できなかったタンパク質の性質を浮き彫りにすることが出来ると期待される。

今回、私たちの研究グループは、生きている線虫の神経細胞内で、蛍光イメージングという細胞に負荷を加えない低侵襲な手法により、キネシンとダイニンの輸送の様子を観察し、輸送速度データを収集した (図 2)。あらゆる観測データの極値データ (ブロック最大値データ)  $\{X\}$  は下記の一般極値分布に従う。

$$G(X) = \exp \left[ - \left\{ 1 + \xi \left( \frac{X - \mu}{\sigma} \right) \right\}^{-1/\xi} \right] \quad (1)$$

形状パラメータ  $\xi$  の値に応じて、グンベル型、フレシェ型、ワイブル型に大別される。

## 4. 研究成果

輸送速度データを一般化極値分布から調べ、キネシンの輸送速度データは最大値 ( $4\mu\text{m/s}$ )

が存在するワイブル型に属し、一方で、ダイニンは異なる振る舞いを示しことを発見した。

この相違の起源を明らかにするために、モータータンパク質の速度の負荷依存性 (図 3) に注目した。物質を輸送するモータータンパク質は、混み合った細胞内で粘性による負荷を受けるが、速度が負荷に対し鈍感だと速度-負荷関係は上に凸の関数になり、敏感だと下に凸の関数になる (図 3)。モータータンパク質輸送モデルのシミュレーション結果から、下に凸の速度-負荷関係を用いると速度が収束せず、ワイブル型にならないことが分かった。速度が負荷に敏感だと、稀に非常に大きい速度値を発生し、極値が存在しないデータの振る舞いを見せる。つまり、輸送速度の負荷依存性として、ワイブル型に分類されるキネシンは上に凸の関数、極値を持たないダイニンは下に凸の関数であると考えられる。平均値で見ると区別がつかないキネシンとダイニンの速度データだが、平均値からの外れ値に注目する極値統計解析により、キネシンとダイニンが異なる力学特性を持っていることが分かった。

これまで、モータータンパク質の速度の負荷依存性は光ピンセットを用いたガラスチャンパー内の 1 分子実験で調べられてきた。今回、初めて生きている個体内での力学性質を明らかにし、これまでの解析では知り得なかった速度上限の違いを、極値統計解析によって初めて得ることができた。今回の手法を応用することで、モータータンパク質本来の環境である細胞内で物理的性質を明らかにすることが可能である。モータータンパク質のアミノ酸変異が輸送速度や輸送力などの物理量の変化に繋がり、物流障害からさまざまなヒト疾患を引き起こす。特に、長い軸索があり能動輸送が重要な神経細胞では、物流障害から神経細胞死を引き起こすこともある。アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) (注 4) などの神経変性疾患では、モータータンパク質の変異による物流障害が指摘されているため、今回開発した極値統計学による解析手法を用いることで、モータータンパク質の変異に起因する神経疾患の分子メカニズムの解明への寄与が期待される。

(注 1) 蛍光イメージング :

観察対象に蛍光物質を付け、蛍光物質を光らせることで対象を観察する顕微鏡観察法。タンパク質や分子で混み合った細胞内で、観察対象のみを観察することに適している。

(注 2) ワイブル型 :

極値分布はワイブル型、フレシェ型、グンベル型の 3 タイプの形状があり、極値が存在する分布をワイブル型と言う。

(注 3) 軸索 :

神経細胞から伸びる長い突起。神経細胞のシグナルを他の細胞へ伝える働きをもつ。

(注 4) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) :

神経変性疾患の一つで、筋肉を動かし運動をつかさどる神経の障害。難病に指定されている。

参考文献 T. Naoi, Y. Kagawa, K. Nagino, S. Niwa, K. Hayashi. Extreme-Value Analysis of Intracellular Cargo Transport by Motor Proteins. *Communications Physics* **7**, Article number 50 (2024).

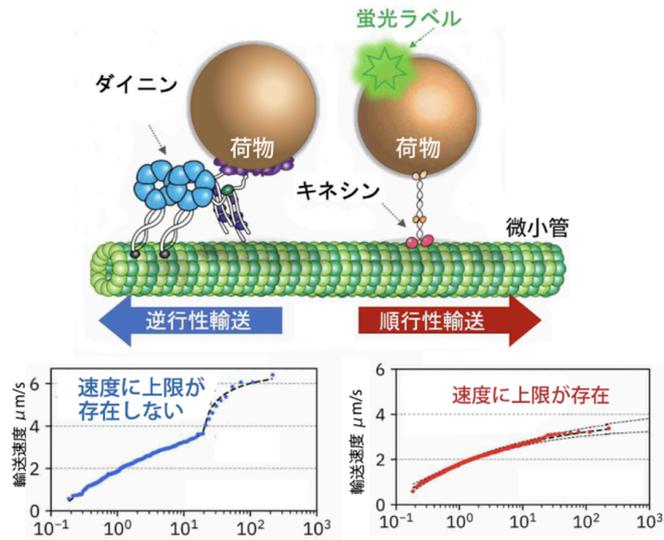


図1 モータータンパク質「ダイニン」と「キネシン」の蛍光イメージング模式図（上）および両タンパク質の輸送速度の極値統計解析結果（下）

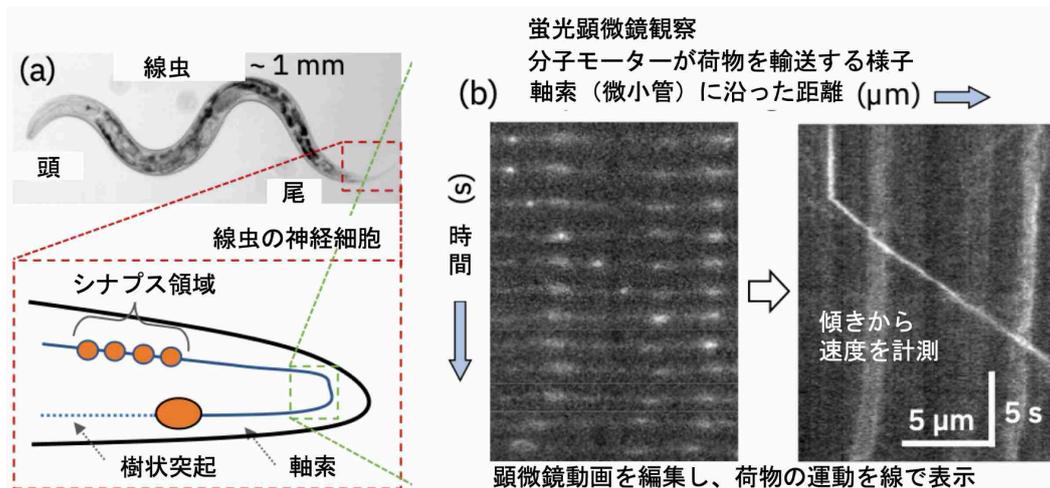


図2 生きている線虫の神経細胞内で、モータータンパク質の輸送速度を計測

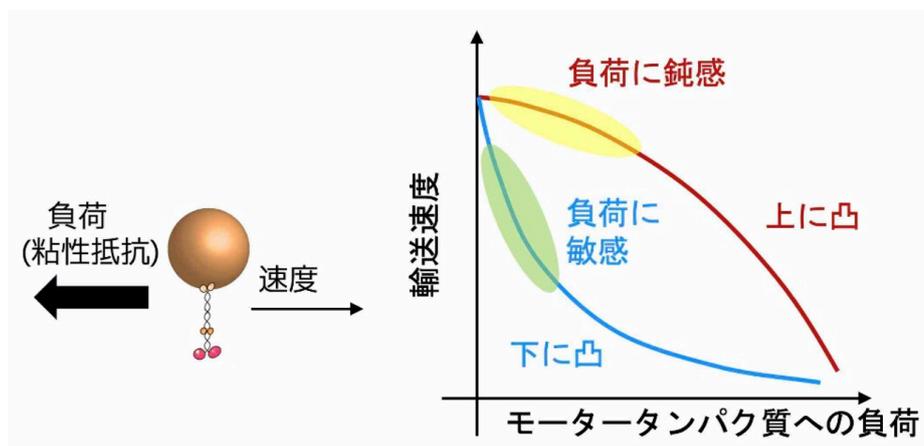


図3 モータータンパク質の速度の負荷依存性（力学性質の一例）

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Naoi Takuma, Kagawa Yuki, Nagino Kimiko, Niwa Shinsuke, Hayashi Kumiko	4. 巻 7
2. 論文標題 Extreme-value analysis of intracellular cargo transport by motor proteins	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Communications Physics	6. 最初と最後の頁 50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42005-024-01538-4	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 林久美子	4. 巻 20
2. 論文標題 極値統計解析を用いた神経細胞軸索輸送の研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 極値理論の工学への応用	6. 最初と最後の頁 34
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 林久美子
2. 発表標題 Extreme-Value Analysis of Intracellular Cargo Transport by Motor Proteins
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kumiko Hayashi
2. 発表標題 Extreme-Value Analysis of Intracellular Cargo Transport by Motor Proteins
3. 学会等名 Biophysical Society Annual Meeting 2024（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 林 久美子
2. 発表標題 神経疾患の理解に向けた軸索輸送データの極値統計解析
3. 学会等名 統計数理研究所 共同研究集会 極値理論の工学への応用
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林久美子
2. 発表標題 極値統計解析を用いた神経細胞軸索輸送の研究
3. 学会等名 極値理論の工学への応用
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kumiko Hayashi
2. 発表標題 Extreme Value Analysis of Intracellular Cargo Transport by Motor Proteins
3. 学会等名 Biophysical Society Annual Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林久美子
2. 発表標題 Extreme-Value Analysis of Intracellular Cargo Transport by Motor Proteins
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 林久美子
2. 発表標題 極値統計解析を用いた 神経細胞軸索輸送の研究
3. 学会等名 第11回分子モーター討論会（招待講演）
4. 発表年 2022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

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		
カナダ	サイモンフレーザー大学		