別紙7

「生命現象の革新モデルと展開」研究領域 領域活動・評価報告書
－平成23年度終了研究課題－

研究総括　重定　南奈子

1．研究領域の概要

本研究領域は、多様な生命現象に潜むメカニズムの解明に資する斬新なモデルの構築を目指す研究であって、治療、防疫、環境保全などに貢献できる予測力や発展性に富む研究を対象とする。

具体的には、環境へ適応しつつ合目的的に機能していると見られる生命システムの、遺伝子発現、細胞の機能と動き、発生・形態生成、免疫、脳の高次機能、生物社会の形成、生態系などの制御機構や、老化や疾病などのメカニズムに対して統合的かつ数理科学的な理解を可能にするモデルの構築を通じて、課題解決への手がかりを与える革新的で基盤的な研究を対象とする。

2．研究課題・研究者名

別紙一覧表参照

3．選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

1）選考は「生命現象の革新モデルと展開」領域に設けた選考委員10名と研究総括で行う。

2）選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とする。

3）選考にあたっては、募集要領に示された共通の選考基準（戦略目標、領域趣旨に合致、本人の着想、独創性、手掛かり、インパクト、適切な規模）に加えて、当領域として次の点を重視する。

①査読選考にあたっては、独創的な数理モデルの提案であること、どのような数理モデルを用いて何をどこまでしようとしているかが明確に提案されているか。

②書類および面接選考にあたっては、ミクロからマクロまでの様々なレベルの生命現象に対する研究課題を可能な範囲でバランスよく選考し、同レベルの評価を得た提案については、若い人や女性のピックアップと、研究機関・地域のバランスに配慮する。

4．選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー3名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補課題を選定した。

選　考	書類選考	面接選考	採択数
対象数	101 件	25 件	10 件

備考:

1）平成 20 年度採択課題のうち、以下は今年度事後評価を実施しない。

・野々村真規子研究者

ライフイベントにより研究を一時中断し、終了年度がずれるため。

2）平成 19 年度採択課題のうち、菅原路子研究者は、ライフイベントによる研究一時中断のため、今年度の評価対象とする。

5．研究実施期間

平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月

6．領域の活動状況

1）領域会議:9 回

2）研究報告会（公開）:2 回

3）研究総括（または技術参事・事務参事）の研究実施場所訪問:

研究開始時に、研究総括と技術参事、事務参事が研究現場を訪問し、研究状況の把握と研究環境、設備等の確認、並びに研究者の上司への協力依頼を行った。本人からは、研究内容、設備、施設の状況の説明

を受け、研究総括からは研究の方向づけや進め方についてアドバイスした。
その後は、研究進捗状況のフォローアップ、研究実施場所移動時の研究環境確認、物品確認、特許出願や個別相談などで、技術参事、事務参事が適宜訪問し、各研究者の個別問題把握とそれに対する支援を行った。

7. 評価の手続き

各研究者からの報告・自己評価をもとに、領域会議での研究進捗状況発表や外部発表の内容、領域アドバイザーの意見、さらには、成果報告会での評価を参考に研究総括が総合評価を行った。

（評価の流れ）
平成 20 年 10 月～
平成 23 年 3 月　研究期間終了
平成 23 年 2 月　研究報告会開催
平成 23 年 3 月　研究報告書提出
平成 23 年 3 月　研究総括による評価

8. 評価項目

（1） 研究計画提案書の目標に対する研究課題の達成度
（2） 外部発表(学術論文、口頭発表など)、特許など研究成果の発信状況
（3） 学術賞、学会招待講演、新聞記事発表など外部からの評価状況
（4） 得られた研究成果の科学技術への貢献度

9. 研究結果

平成 20 年度に採択した第 2 期生 9 名（ライフイベントによる研究期間延長者 1 名を除く）、および平成 19 年度に採択したがライフイベントで研究期間を延長した研究者 1 名（菅原路子）の計 10 名が今年度で研究を修了した。10 名の研究分野は、遺伝子発現や細胞の機能と働きに関するミクロな階層を対象とする研究が 3 名、発生・形態形成や脳の高次機能を対象とする中間的階層の研究が 3 名、生物社会・生態・進化などマクロな階層の研究が 4 名であった。このように研究対象はミクロからマクロまで多岐にわたっているが、数理モデルという共通のツールを使用することで相互の理解が生まれ、領域会議をきっかけとして分野横断型の研究者交流が積極的に行われた。

平成 24 年 2 月に実施した今年度修了者の研究報告会には、領域の関係者以外に外部から 63 名の参加者があった。当日行われたアンケート調査から、“若手研究者のチャレンジングな研究内容に興味をもった”、“研究対象が広い範囲にわたっていて色々な問題提起をしている”等の感想が寄せられ、革新的な数理モデル構築を軸にして広い範囲の若手研究者からなる研究領域にしたいとの当初の狙いが、外部の方にもある程度理解して頂けたと受けとめている。

本研究の開始当初は、分野もバックグラウンドも様々に違う10名の研究者の間で、当然のことながら科学的な成熟度に温度差がみられたが、それぞれが自ら掲げた高い研究目標に向かって切磋琢磨した3年半の努力とアドバイザーの先生方の熱心なご指導が相まって、修了時には全員がそれぞれに大きな飛躍を遂げたことは、研究総括として特に喜ばしいことであった。

以下に、分野ごとに各研究者が行った研究結果を要約する。なお、評価については各研究者ごとの研究報告の中の「研究総括の見解」で付記する。

＜遺伝子発現・細胞機能＞

〇佐竹　暁子研究者

「花芽形成の遺伝子制御ネットワーク：一斉開花結実現象を分子レベルから解明する」

植物の一斉開花結実現象に注目し、開花遺伝子に関する実験的知見と同調開花に関する生態学的知見を数理モデルを介して統合し，栄養塩、気温、光などの環境要因が開花や結実時期に及ぼす影響を理論的に予測した。

〇木賀　大介　研究者

「細胞間相互作用により双安定状態を維持する人工遺伝子回路の解析」

細胞分化は細胞集団の状態が多様化する事であると捉え，細胞を人工的に多様化させる人工遺伝子ネッ

トワークを数理モデルを介してデザインし細胞内に実装した結果、双安定な異なる二つの集団に分岐することが示された。

〇菅原　路子　研究者
「細胞運動解析のためのマルチレイヤーモデル構築」
　細胞運動を駆動する細胞突出過程に狙いを絞り、突出過程の高精細動的細胞運動制御システムを開発する傍ら、2次元アクチンネットワークモデルのシミュレーションを行い、細胞内の動的アクチン構造変化のメカニズムにおいて端緒を得た。

＜発生・形態形成・脳の高次機能＞
〇石原　秀至　研究者
「形態形成を引き起こす力学過程の解明：分子・細胞・組織をつなぐ」
　形態形成を促進する機械的力についての理解が欠けているという問題意識のもとに、画像データから各細胞内の圧力と細胞接着面で働く張力を力学的に推定するというユニークな手法を開発した。これを、ショウジョウバエの翅形態形成過程に適用し、力の場の時空間分布を実験研究者と共同で導出した。

〇昌子　浩登　研究者
「生体3次元特有の形態の解明手法の構築」
　肝臓の基本単位である肝小葉の3次元ネットワーク構造を、共焦点顕微鏡を用いて画像化し、これに、細胞の極性を表す数学的な指標を導入する事によって、肝小葉を構成する類洞や毛細胆管の 3 次元上での相対的な配置や肝炎などの疾患による形態変化を明らかにした。

〇山野辺　貴信　研究者
「神経系の過渡応答特性から神経系における情報キャリアを解明する」
　神経系の情報キャリアを解明するために、視覚情報のスパイク列への変換過程に着目し、実際のイカ巨大軸索を用いて過渡的パルス入力に対する応答を調べた。これに、新しく開発したノイズを持つ非線形システムの過渡応答解析法を適用して情報キャリアの端緒を得た。

＜生物社会・生態・進化＞
〇大槻　久　研究者
「生物社会における協力的提携パターンの理論的解明」
　動物社会でみられる、複数の個体が共通の資源を求めて協力する提携行動において、提携相手の選択、提携者間の資源分配、順位制等が示す様々なパターンとその成立機構を理論的に説明する新規な数理モデルを、協力ゲーム理論と進化ダイナミクスを融合することにより構築した。

〇増田　直紀　研究者
「グループ構造をもつネットワーク上の感染症伝播モデル」
　人間関係ネットワークにおいてしばしば見られる、モジュラーネットワークに注目し、その上で広がる感染症とその防止対策に関する数理モデルを構築し、その解析手法を提案した。とくに、誰から先にワクチンを投与するのが効率的かを判定する最適予防接種アルゴリズムを多角的に考案し、その有効性について比較検討を行った。

〇間野　修平　研究者
「ランダムグラフによるゲノム進化の確率モデリング」
　遺伝情報のセットであるゲノム情報が急速に蓄積していることから、遺伝的浮動、突然変異、自然選択、遺伝子変換等の進化事象を組み入れた拡散過程の双対として、ゲノム標本の系統関係を表すランダムグラフを導出し、ゲノム進化を統計学的に推測する新規な手法を開発した。

〇近藤　倫生　研究者
「栄養モジュール間相互作用に着目した食物網維持機構の解明」
　複雑な自然の食物網を複数の栄養モジュールの相互作用系と捉え、その構造と動態を様々な角度から理論的に説明することを試みた。たとえば、208種からなるカリブ海食物網は、その内部に埋め込まれたギルド内

捕食モジュールとそれを取り囲むモジュール外構造との相補的相互作用によって安定に維持されている事を明らかにした。

１０． 評価者

研究総括 重定 南奈子 同志社大学 文化情報学部 特別客員教授

領域アドバイザー（五十音順。所属、役職は平成 24 年 3 月末現在）

合原 一幸 東京大学 生産技術研究所 教授
有田 正規 東京大学大学院 理学系研究科 准教授
巌佐 庸 九州大学大学院 理学研究院 教授
岡田 清孝 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 所長
岸野 洋久 東京大学大学院 農学生命科学研究科 教授
郷 信広 京都大学 名誉教授
嶋田 正和 東京大学大学院 総合文化研究科 教授
本多 久夫 兵庫大学 健康科学部 教授
三村 昌泰 明治大学 理工学部教授・先端数理科学インスティテュート所長
山口 陽子 理化学研究所 脳科学総合研究センター チームリーダー

（参考）

（1）外部発表件数

	国 内	国 際	計
論 文	4	64	68
口 頭	111	47	158
その他	18	0	18
合 計	133	111	244

※平成 24 年 3 月現在

（2）特許出願件数

国 内	国 際	計
0	0	0

（3）受賞等

・菅原 路子
平成 21 年度電気学会優秀論文発表 A 賞 （H22.9）

・近藤 倫生
2009 年度日本数理生物学会 研究奨励賞 （H.21.9）
2011Akira Okubo Prize [大久保賞]（日本数理生物学会・米国 The Society of Mathematical Biology）（H23.9）

特記事項：Faculty of 1000 に選定
・近藤 倫生 米国アカデミー紀要（PNAS）誌論文 （H20.11）
・大槻 久 Evolution誌論文 （H23.2）

（4）招待講演
国際 14 件
国内 20 件

別紙

「生命現象の革新モデルと展開」領域　終了評価実施　研究課題名および研究者氏名

研究者氏名 （参加形態）	研　究　課　題　名 （研究実施場所）	現　職（平成 24 年 3 月末現在） （応募時所属）	研究費 （百万円）
菅原　路子 （　兼任　）	細胞運動解析のためのマルチレイヤーモデル構築 （千葉大学大学院　工学研究科）	千葉大学大学院 工学研究科　特任准教授 （東京工業大学大学院 情報理工学研究科　助教）	40
石原　秀至 （　兼任　）	形態形成を引き起こす力学過程の解明：分子・細胞・組織をつなぐ （東京大学大学院　総合文化研究科）	東京大学大学院 総合文化研究科　助教 （同上）	20
大槻　久 （　兼任　）	生物社会における協力的提携パターンの理論的解明 （総合研究大学院大学 先導科学研究科）	総合研究大学院大学 先導科学研究科　助教 （東京工業大学 日本学術振興会特別研究員）	24
木賀　大介 （　兼任　）	細胞間相互作用により双安定状態を維持する人工遺伝子回路の解析 （東京工業大学大学院 総合理工学研究科）	東京工業大学大学院 総合理工学研究科　准教授 （同上）	40
近藤　倫生 （　兼任　）	栄養モジュール間相互作用に着目した食物網維持機構の解明 （龍谷大学　理工学部）	龍谷大学　理工学部　准教授 （同上）	40
佐竹　暁子 （　兼任　）	花芽形成の遺伝子制御ネットワーク：一斉開花結実現象を分子レベルから解明する （北海道大学大学院 地球環境科学研究院	北海道大学大学院 地球環境科学研究院　准教授 （北海道大学 創成科学共同研究機構　特任助教）	37
昌子　浩登 （　兼任　）	生体3次元特有の形態の解明手法の構築 （京都府立医科大学大学院 医学研究科）	京都府立医科大学大学院 医学研究科　助教 （同上）	38
増田　直紀 （　兼任　）	グループ構造をもつネットワーク上の感染症伝播モデル （東京大学大学院 情報理工学系研究科）	東京大学大学院 情報理工学系研究科　准教授 （同上　講師）	38
間野　修平 （　兼任　）	ランダムグラフによるゲノム進化の確率モデリング （統計数理研究所　数理・推論研究系）	統計数理研究所 数理・推論研究系　准教授 （名古屋市立大学大学院 システム自然科学研究科　准教授）	28
山野辺　貴信 （　兼任　）	神経系の過渡応答特性から神経系における情報キャリアを解明する （北海道大学大学院　医学研究科）	北海道大学大学院 医学研究科　助教 （同上）	42

研 究 報 告 書

「細胞運動解析のためのマルチレイヤーモデル構築」

研究期間: 平成 19 年 10 月～平成 24 年 2 月
研 究 者: 菅原 路子

1，研究のねらい

非筋細胞の運動は，例えば免疫作用における白血球の貪食活動，創傷治癒過程における線維芽細胞の移動，神経ネットワーク形成における神経細胞の伸展，癌の転移における癌細胞の移動など，生体内の様々な場面で見られる普遍的な現象の一つである．細胞運動の多くは，アクチンフィラメントを主とする細胞骨格の再構築により生じ，各種アクチン関連タンパク質がその再構築に影響を及ぼすと考えられ，ミクロな視点からこれらの細胞内シグナル伝達メカニズムが明らかになりつつある．一方細胞をマクロに捉えると，細胞膜，細胞質および細胞周囲の流体の相互作用により細胞が運動すると考えられる．従って，細胞運動を包括的に理解するためには，タンパク質個々のレベルで解明するだけでは十分ではなく，それをマクロな運動メカニズムと結びつけ，細胞全体を一つのシステムとして理解することが重要である．そこで本研究では，細胞のマクロモデルと細胞運動を制御するミクロなタンパク質レベルのシグナル伝達機構を関連付けて解析する手法を考案し，細胞運動に関するマルチスケールな数理モデルを開発することを目的とする．

2，研究成果

（1）マクロな細胞運動メカニズムの理解

まず初めに，アクチンダイナミクスに基づく細胞運動の典型パターンの把握と，それに伴う細胞形状パラメータを解析することを目的に，マウス線維芽細胞由来の培養細胞株である Swiss 3T3 Albino を用い，細胞運動計測を行った．細胞を培養する環境を構築するとともに，細胞運動の微分干渉顕微鏡画像を取得する環境を整備した．この手法の利点は，何も操作されていない細胞の運動の様子をそのままに観察できることである．しかし一方で，運動に伴う細胞の形状パラメータを，画像解析手法に基づき求めることが困難であった．そこで，共焦点レーザ顕微鏡を導入し，GFP-actin を発現させた細胞の運動を詳細に観察する環境を整備した．なお最終年度より研究環境が変わったことに伴い，これまでと同様の実験環境の整備・構築を再度行ったことを申し添える．

環境整備とともに，細胞運動に伴う形状パラメータの変化を解析する手法の構築を進めた．本研究において実験に用いた，マウス由来の線維芽細胞である Swiss 3T3 Albino の場合，運動速度が遅く，細胞前方の突出から後方の収縮までの一連の過程を 1 サンプルから得ることは困難であった．しかしながら，細胞運動過程を部分的に捉えることにより，運動に伴う局所変形に対する形状パラメータの違いを求めるとともに，細胞内部のアクチンタンパク質と変形の関係を定量できつつある．

一方この研究課題の実施を通し，当初考えていたマクロな細胞のモデル化を既存の弾性力学および流体力学に基づいて構築することに対し，疑問を抱くこととなった．特に細胞内部は微細構造に満ちており，細胞膜は弾性のみならず粘弾性要素が大きく，運動に伴う変形は非

常に大きい．単一細胞レベルにおける細胞の構成方程式を実験的に検証する必要性を感じている．

（2）ミクロな細胞運動メカニズムの理解に向けた実験系構築

（1）の結果を受けて，細胞運動の突出過程に着目し，それに伴うミクロなアクチンモデル構築（後述）に焦点を絞って研究を進めることとした．（1）の観察によると，特に操作しない細胞の運動の場合，細胞膜全体において極めてランダムに filopodia 様突出が繰り返され，そのうちに細胞前方のある範囲において lamellipodia 様突出が見られ，細胞が前方に運動する．その様子は極めて不規則であることから，ミクロなアクチンモデルを構築した場合，通常の細胞運動との比較は困難であり，構築モデルの検証がもっとも大きな課題になると考えた．そこで，(独)物質・材料機構　中西淳独立研究者に協力を依頼し，中西研究者が開発のケージド培養基板を用いた，高精細な動的細胞運動制御および観察システムを構築した．その結果，細胞を第一段階として 20 ・m 四方に形状制御したうえで，そこから 20 ・m および 5 ・m の幅に細胞を伸張させ（図 1(a)，(b)），その過程を高精度かつ連続的に観察することが可能となった．これにより，任意の幅を持った lamellipodia 様突出過程に対するミクロなアクチンモデル解析に対し，モデル検証するための実験基盤を確立した．

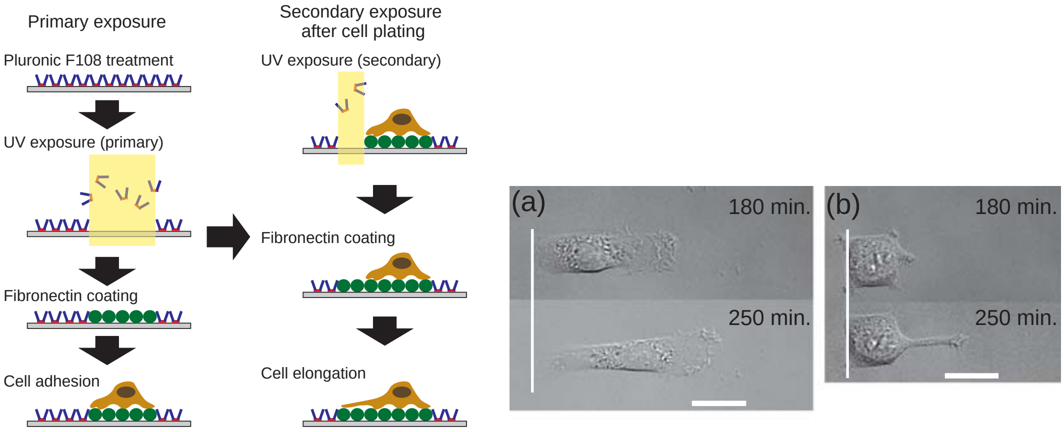

図1　動的細胞運動制御の概念図（左）および細胞への適用結果（右(a)および(b)）

（3）ミクロな細胞運動メカニズムの理解に向けた数値解析モデル構築

細胞運動の第一段階と考えられる前方部の突出においては，細胞内でアクチンタンパクおよびその関連タンパク質が様々な反応を伴い動的にアクチン構造を変化させているといわれ，”dendritic nucleation model”が提唱されている（図２）．ここで提唱されている種々の反応に対し，*in vitro* 実験から反応速度定数やタンパク質の濃度依存性などが求められているものの，実際の細胞が運動している状況においてそれらを計測することは困難である．そのため，突出における細胞内の動的アクチン構造変化の詳細なメカニズムは不明である．そこで本研究では，提唱されているモデルに基づく複数の反応速度方程式に対し，Gillespie 法を用い，反応が時間とともに進行する様子を解析するとともに，それに伴うアクチンネットワークの構造変化を求めた．

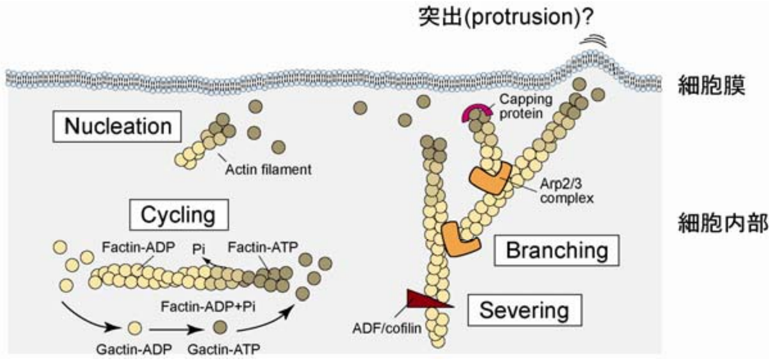

図2　細胞の突出過程において生じるアクチンネットワークに関する反応の模式図

はじめに，*in vitro* 実験が多く報告されているアクチンフィラメントの切断過程について，フィラメントの cycling も考慮してモデル解析を行った．時間経過に伴う反応場のアクチンフィラメント本数およびフィラメント長さのヒストグラムの変化を実験結果と比較したところ，よく一致した．そこでこのモデルを用いて，反応場の一端を細胞膜とみなし，その方向にのみフィラメントが伸張し得る条件のもと，アクチンフィラメント場の動的変化を解析した．その結果，ADF/cofilin によるアクチンフィラメントの切断に加え，アクチンフィラメントへの重合を阻害する capping protein も考慮に入れ解析を行ったところ，考慮しない場合に比較し，一時的に単量体アクチンが反応場に多く存在し，アクチンフィラメントもより伸張する結果となった（図3）．従って，アクチンネットワークの切断に関わる ADF/cofilin と，アクチンフィラメントへの重合を阻害する capping protein が協調的に働くことにより，反応場に余剰な単量体アクチンが発生し，重合阻害されていないフィラメントの伸張が促進されることが示唆された．

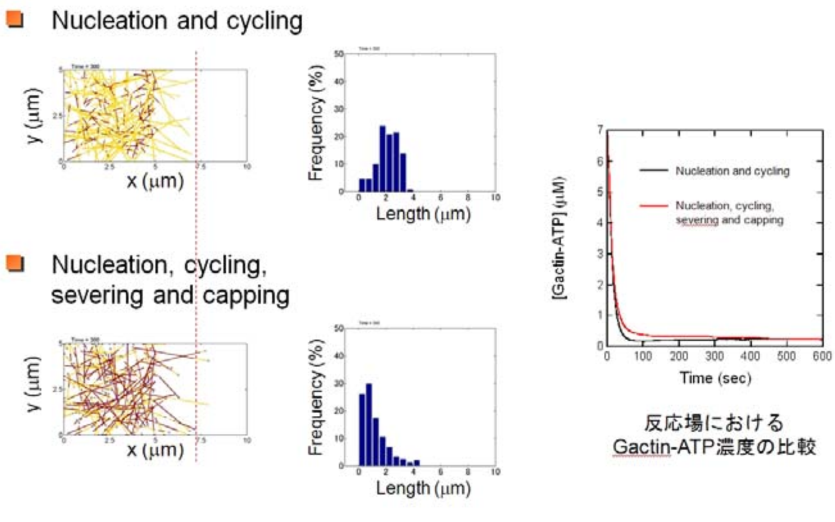

図3　アクチンフィラメント場および反応場における数値解析結果

3，今後の展開

細胞突出過程におけるアクチンダイナミクス解析モデルについては，今後は，細胞内部のタンパク質濃度勾配を考慮できるようモデルを拡張する（現在進行中）とともに，実験との比較から，モデルの妥当性を検証する．そして，細胞運動の突出過程における動的アクチンダイナミクスの特性を明らかにする．また一方で，細胞運動全体に対しては，アクチンとの関連を詳細

に定量解析し，今後の運動モデル構築へと展開することを目指す．このように，タンパク質スケールに基づくモデルと細胞全体の運動モデルの双方からアプローチすることにより，最終的に細胞内の分子メカニズムを考慮した細胞運動モデルを構築し，細胞運動メカニズム解明につなげたい．

4，自己評価

本研究課題では当初，細胞運動全体において，細胞膜・細胞質における力学，細胞内タンパク質の濃度勾配，および細胞骨格のダイナミクスを関連付けて細胞運動モデルを構築することを狙った．しかし，細胞膜・細胞質における力学を既存の構成方程式により記述することに違和感を感じたこともあり，狙いを細胞突出過程にしぼり，細胞内タンパク質の濃度勾配と細胞骨格のダイナミクスを関連付けた解析を進めた．2次元アクチンネットワーク解析モデルまでは構築したものの，細胞内の不均一性を考慮すると，現況の一様場を仮定したモデルには限界がある．今後は，細胞内部のタンパク質濃度勾配を考慮できるようモデルを拡張する（現在進行中）とともに，実験との比較から，モデルの妥当性を検証する．そしてさらには，細胞運動の突出過程における動的アクチンダイナミクスの特性を明らかにしていきたい．

一方，時間はかかったものの，現在の研究環境に移り細胞運動計測の実験系を立ち上げ終えたことの意義は大きい．この実験系を用いることにより，現在マクロに見た細胞運動の定量化を進めつつある．この結果を，今後の細胞全体を考慮した運動モデル構築に生かしたい．

本研究期間中，ライフイベントに伴う研究期間延長に際し，重定先生はじめ領域関係の皆様にアドバイスを賜りました．ここに御礼申し上げます．

5，研究総括の見解

本人記載の通り、当初は、細胞をマクロな弾性体としてとらえ、これにタンパク質レベルのミクロな情報を組み入れた細胞運動のマルチレイヤーモデルを構築するという意欲的な課題に取り組んだが、中途より、細胞運動を駆動する細胞突出過程に狙いを絞り、実験と理論面からアプローチするという転換をはかった。突出過程の高精細動的細胞運動制御システムを開発する傍ら、2次元アクチンネットワークモデルのシミュレーションを行い、細胞内の動的アクチン構造変化のメカニズムにおいて端緒を得たことは評価できる。細胞運動に真正面から取り組むという当初の課題はやはり難しかったが、試行錯誤しながら地道に研究を進めており今後の展開を期待したい。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. 菅原路子，崔源埈，中西淳，山口和夫，横田秀夫，八木透，“高精細な細胞運動制御および観察に向けた培養基板へのマイクロパターン形成手法の確立”，電気学会誌 IEE Japan Transactions on Electronics, Information and Systems, Sec. C, 131(4), 833-839, (2011)

（2）特許出願

研究期間累積件数：0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

主要な学会発表:

国際

- M. Sugawara, Numerical analysis of formation of dendritic actin networks related on cell movements, The 2011 ASCB (The American Society for Cell Biology) Annual Meeting, Denver, USA, 2011.12.

国内

- 菅原路子, “アクチンネットワークの樹状構造形成に関する数値解析”, 第 24 回バイオエンジニアリング講演会, 大阪, 2012.1.
- 菅原路子, 横田秀夫, “アクチンネットワークモデルに基づく局所細胞運動解析”, 第 22 回バイオエンジニアリング講演会, 岡山, 2010.1.
- 菅原路子, 横田秀夫, “細胞運動の理論的研究に向けたアクチンダイナミクスの動態解析”, 第 47 回日本生物物理学会年会, 徳島, 2009.10.
- 菅原路子, 横田秀夫, “細胞内アクチンネットワーク形成に関する分子動態解析”, 第 22 回計算力学講演会, 金沢, 2009.10.
- 菅原路子, 石井良和, 八木透, 横田秀夫, “細胞運動に伴うアクチンダイナミクスに関する研究”, 電気学会医用生体工学研究会, 東京, 2009.4.
- 菅原路子, 横田秀夫, “Gillespie 法を応用した細胞内アクチンダイナミクス解析”, 第 21 回バイオエンジニアリング講演会, 札幌, 2009.1.

招待公演

- 菅原路子, “細胞運動の計算バイオメカニクス / 子育て中の研究者の日常“, 東京工業大学情報環境学専攻女性研究者招へい講演会, 東京工業大学, 東京, 2009.2.17

受賞

- 平成 21 年度電気学会優秀論文発表 A 賞
  受賞発表論文「細胞運動に伴うアクチンダイナミクスに関する研究」

研 究 報 告 書

「形態形成を引き起こす力学過程の解明：分子・細胞・組織をつなぐ」

研究期間： 平成20年10月～平成24年3月
研 究 者： 石原 秀至

1, 研究のねらい

多細胞生物の発生過程では、単純な形態の胚から、複雑な形をもった生体組織へと動的な変形が起こります。この変形は、組織を構成する細胞が「押しあいへしあい」を行うことで進みます。1980 年代頃から、発生生物学が分子生物学的手法を取り込むことで、個体発生を支える分子のネットワークの理解が急速に深まってきました。一方で、組織の変形の背後にある「力」の理解は乏しく、形態形成が適切に進むための力学的制御がどのような原理で働いているのかについて多くのことがわかっていません。特に、発生過程のような多階層にまたがる現象を理解するためには、「分子の動態がどのように細胞の機械的性質を規定するのか？」「個々の細胞の機械的性質がどのように組織の変形を促すのか？」という分子･細胞･組織という異なる階層間の関係をふまえながら力学的制御を明らかにする必要があります。本研究では、ショウジョウバエ上皮組織をモデル系として、分子活性や細胞特性、組織の力学的物性といった異なる階層間の関係を結びつけ、生物の「かたちづくり」にある力学制御の原理を明らかにすることを目指しました。

2, 研究成果

（1）画像データからの力推定手法の開発

上皮細胞の細胞集団では、(i)個々の細胞がもつ圧力(ii)細胞接着面ではたらく張力が重要だと考えられており（図1）、特に後者は細胞中を細胞膜に沿って走るアクトミオシンケーブルが大きな寄与をしている。発生過程中の力の動態の理解がこれまで進んでこなかった理由として、これら力の直接測定が困難であることがあげられる。現在もっとも使用されている手法は、アクトミオシンケーブルをレーザーで切断して応答を見る（レーザー切断法）ものだが、この手法は侵襲的であり、また一つの接着面での張力のみが計られる。広範囲の張力を非侵襲に計測する手法は確立していない。そこで我々は、画像データから細胞集団中の力を推定する手法を開発した（図２）。細胞の形態を多角形で表し、各結節点に対し働く力について、P_i (i番目の細胞目の圧力)、T_j (j番目の細胞接着面の張力)と抗力の釣り合い方程式を考える（図2B）。この方程式で、一般に未知変数の数に対して条件式が足りず、解を一意的に決めることができない。そこで、レーザー切断法から示唆されているように、張力T_jが正であることを期待し、これを事前分布としてベイズ統計に基づいて逆問題を定式化した（図2D）。この手法を数値計算で得られた人工データに適用した結果、精度よく推定できることを確かめた。また、*in vivo*データに対しての有効性を検証するために、レーザー切断法の結果と比較し、切断に対しての応答の強さと推定値は高い相関を示しており、開発した推定方法が妥当であることを確かめた。さらに、推定した個々の細胞の圧力や接着面の張力から、それらを足し合わせてよりマクロなスケールでの応力テンソルを計算する式を導出した。釣り合いを考えることで、この手法から系にはたらく外力の方向を見積もることができるようになった（図3Bの楕円）。

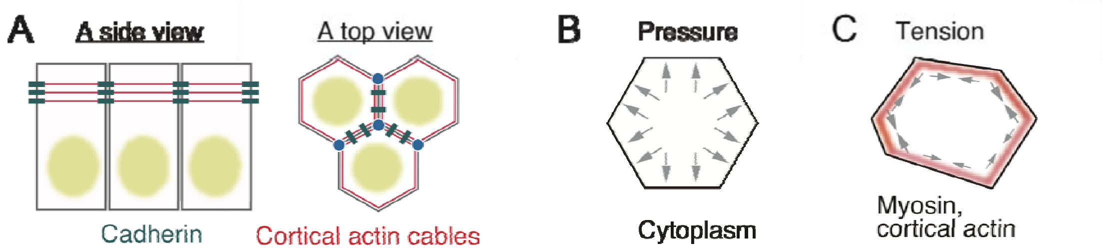

図1　A　翅上皮組織の模式図。アクチンケーブルが細胞内を膜にそって走っている　B,C　細上皮細胞組織に働く力。個々の細胞の圧力(B)と細胞接着面の張力（C）の釣り合いによって細胞の形態が決まる。

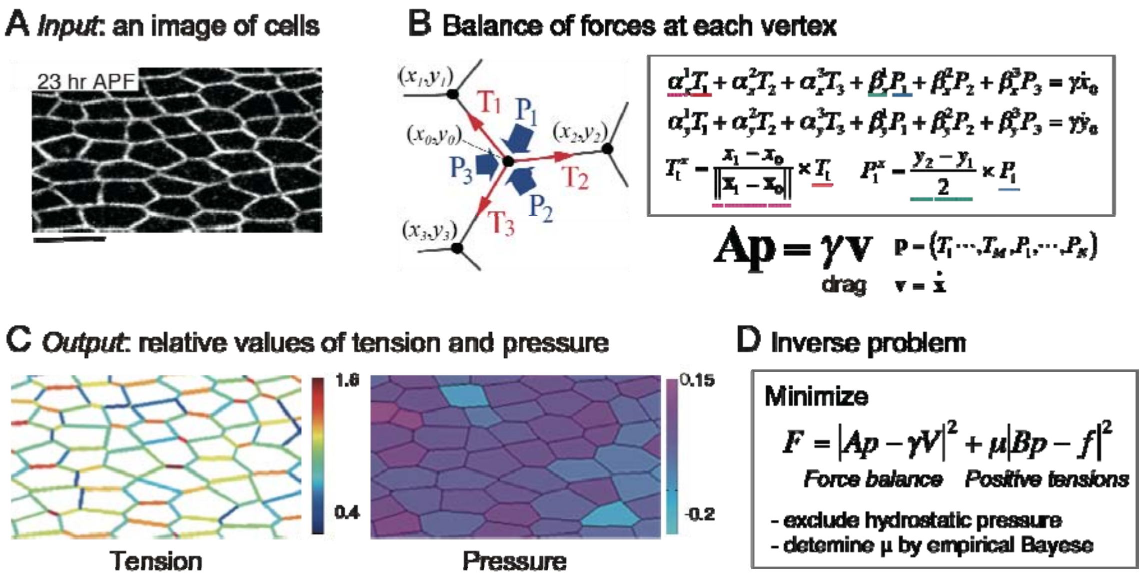

図2　画像からの力推定手法。A細胞の画像（入力）　B圧力(P_i)、張力(T_j)に関しての釣り合い方程式。未知数に関して線形であり、係数は結節点の相対位置から決まる。C推定された張力と圧力の相対値。D実際にはBの式のみからでは決定せず、張力が正であるという事前分布を用いて逆問題を定式化した。

（2）ショウジョウバエ翅形態形成の力場の異方性と外力

開発した手法を用いて、ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の翅が形態形成中でどのような力場を示すのかを調べた（杉村薫京都大学助教との共同研究）。ショウジョウバエ翅では、形態形成を通して細胞の形態が一度遠近軸（PD 軸）方向に伸長し、再び等方的になることが観察される。図3に発生ステージ 16.5-18.5hr APF での張力推定結果を示す。推定結果は、張力が PD 軸にそって強いこと、すなわち力の場が異方的であることを示唆していた。この結果は、ミオシン分布やレーザー切断実験の結果とも整合的である。一方で、「張力が強い（ミオシン量が多い）接着面が収縮し、周りを引っぱる」という描像からは、PD 軸に細胞が長くなることを説明できない。これを明らかにするため、注目領域全体の応力場を見積もったところ（図3B 楕円）、翅は PD 軸に沿った引っ張り力を受けていることを示唆する結果を得た。これを確かめるために、レーザーによって矩形の穴をあけた所、PD 軸にそって穴が広がっていくことを確認した。また、PD 方向への張力を緩和するために、前後軸（AP 軸）にそって切れ込みをいれた結果、細胞形態の異

方性が緩和された。つまり、細胞形態は外力によって強く規定されている。また、PD 軸に沿っての強い張力分布は、この外力に釣り合うためだと考えられる。さらに、応力緩和にともなってミオシンの分布が異方性を失うことを見出した。この結果は、ミオシンが力を生み出すだけではなく、力の場を感知して応答していることを意味し、発生過程の変形制御において力(形態) とミオシンの間のフィードバックがあり得ることを示唆している。潜在的に重要な寄与を果たしうる知見だと考えている。

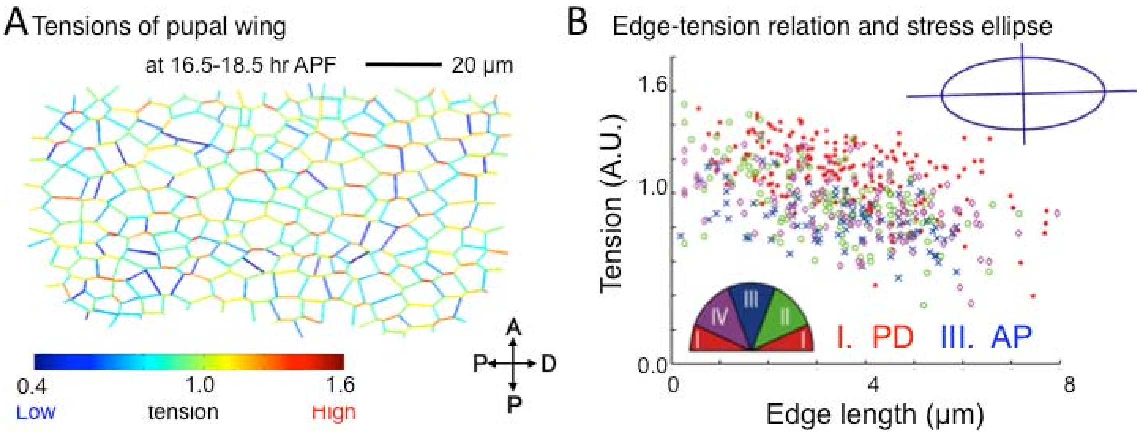

図3 ショウジョウバエ翅の推定結果。A16.5hr APF での細胞接着面張力の推定値。B 推定張力値の長さ依存性。角度クラスで色分けした。PD 軸にそったもの（赤点）が高い張力を示している。また、同じ角度クラスでは、張力が大きな接着面ほど長さが短くなる。

（3）細胞配置を制御する新規メカニズム

上の結果は、ミオシンに注目した他の系での知見（Bertet *et al.* *Nature* 2004, Fernandez-Gonzalez *et al.* *Dev Cell* 2009）と異なっており、ショウジョウバエ翅系で細胞形態を制御する新規メカニズムを示唆する。翅系では、発生とともに細胞の配置が六角格子状に整列していく hexagonal cell packing（HCP）が報告されているが（Classen *et al.*, *Dev Cell* 2005）、張力推定手法の適用結果、この過程で細胞配置替え中の張力は、収縮する細胞接着面で強いわけではなく、むしろ PD 軸へ向いた時に強い張力を持つことを見出した（図4A）。我々は、HCP 中の細胞配置替えに異方的な外場が寄与している可能性を検証した。外場を考慮した数値シミュレーションを行った所、異方的な張力場で最も顕著に HCP が進むことがわかった（図4B）。さらに、切断による異方的な張力緩和、六角形細胞のもつ方向の解析等を通して、以下のメカニズムを見出した。六角格子は「エネルギー的に」最小状態なので、細胞は基本的に六角形になりやすい。しかしながら、六角格子には決まった方向性はなく（基底状態が縮退している）、それが格子のミスマッチを生みやすい。異方的な外力場があることで個々の細胞に方向を教え、それによって六角化がスムーズにすすむ。以上の研究を通じ、①これまで考慮されてこなかった外力が重要となる新規メカニズム②方向情報が力を通じて個々の細胞に伝えられていること、を明らかにした。

以上の結果はK. Sugimura*, T. Uemura, A. Miyawaki, K. Kaneko, and S. Ishihara*#として論文改訂中である。

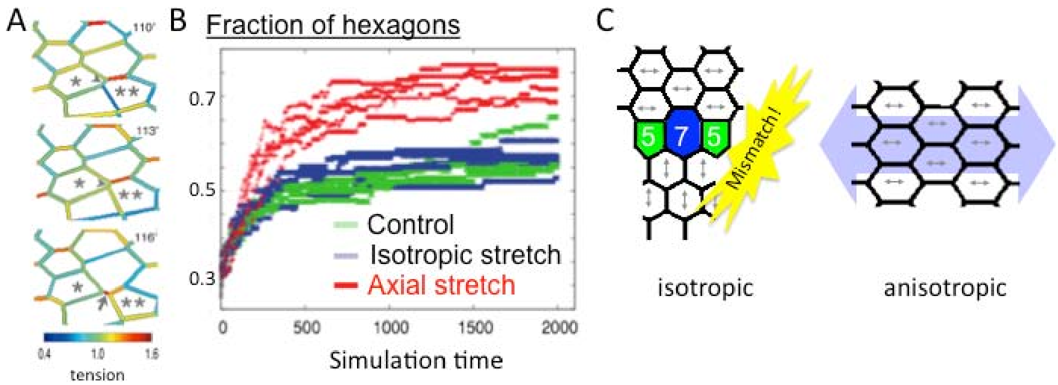

図4　細胞六角化過程。A 細胞の配置換えで、収縮する接着面の張力が高いわけではない(矢頭)。B 細胞配置換えの数値計算。異方向な外場のもとで細胞六角格子化がもっとも進む。C 等方的な外力の場では、格子間のミスマッチを生みやすい。異方的な引っ張りの下では、細胞の向きが方向付けられることで、細胞の整列がスムーズに進む。

3, 今後の展開

理論−実験の共同研究を通し、実験手法･データ処理に関して独自手法を開発してきた。特に力の推定手法は広く応用可能であり、今後の研究にも活用していく。

①ミオシンと力のフィードバックが生み出す効果を定量的に評価し、発生過程への意義(安定性や形態形成の新規メカニズムの可能性)を探る

②細胞分裂や細胞死の力場への効果。特に単細胞で細胞分裂方向が力場によって影響をうけることが示されている。これらの効果が発生に与える影響を調べる。

③細胞形態を内部自由度にとりこんだ連続体モデルの構築。

4, 自己評価

本研究をとおして、いくつかの大きな結果を得たと考えている。画像からの張力･圧力推定手法は、適用手法も広く、発生学における古くて新しい問題である変形の背後にある力学を明らかにする上で、有用な手法になると期待される。また、これまでの知見とは異なる力学制御メカニズムを明らかにしたことは、この分野での力学制御パラダイムに新しい視点を与えると思われる。

一方で、当初計画していた細胞分裂や細胞内分子挙動と力学過程の関連については解析しきれなかった。単細胞培養系で示唆されたように細胞分裂の方向は細胞がおかれた力学場に依存することから、細胞集団中では逆に周囲に影響を及ぼす可能性がある。この関係からどのように組織の形態が決まっているのだろうか？これについてはデータ取得やシミュレーションもある程度行っていたのだが、解析しきれずにいる。また、分子と力学場のフィードバックは興味深い問題であり、その理論的取り扱いかたも含めて多くの課題が残っている。今後とも進めていきたい。

5, 研究総括の見解

多細胞生物の発生過程の研究は、分子レベルでの理解は進んできたが、組織の変形を促す物理的力についての理解が抜けているという問題意識の下で、画像データから非侵襲的に各細

胞内の圧力と細胞接着面で働く張力を推定するというユニークで有用な手法を開発した。さらにこの手法をショウジョウバエの翅形態形成過程に適用した結果、翅が遠近軸に沿って引っ張られている事，また，この異方的な外力場が細胞再配置に重要な役割を果たしている事など，細胞形態を制御する新規なメカニズムを明らかにしたことは極めて興味深く高く評価できる。物理学に根ざした洞察力が発生過程の力学的動態に新しい切口をもたらしたと言える成果である。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Akihiko Nakajima, Takako Isshiki, Kunihiko Kaneko and Shuji Ishihara, "Robustness under Functional Constraint: The Genetic Network for Temporal Expression in Drosophila Neurogenesis" *PLoS Compt. Biol.* 6(4):e1000760 (2010)
2. Mikiya Otsuji, Yuya Terashima, Shuji Ishihara, Shinya Kuroda and Kouji Matsushima, "A Conceptual Molecular Network for Chemotactic Bahaviors Characterized by Feedback of Molecules Cyclying Between the Membrane and the Cytosol" *Sci. Signal.* 3 ra89 (2010)
3. Akihiko Nakajima and Shuji Ishihara, "Kinetics of the Cellular Potts model revisited" New Jour. Phys. 3, 033035 (2011)

（2）特許出願

研究期間累積件数：0件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

【著書·総説】

1. 石原 秀至，杉村 薫「理論生物学の眺め方」理論生物学—生命科学の新しい潮流 望月敦史編 第1章第2節 共立出版 (2011)

2. 藤本仰一、石原 秀至、金子邦彦「空間パタン形成の遺伝子ネットワーク進化理論—ネットワーク構造と機能の対応づけ」生物物理 Vol. 50 (2010) No. 1 pp. 018

3. 石原 秀至，杉村 薫「理論生物学研究の眺め方 A practical guide of theoretical biology for molecular biologists」蛋白質核酸酵素，54 (12 月号): 1993-1999 (2009)

【主な学会発表等】(招待講演,国際学会での口頭発表)

1. 明治大学 GCOE MAS セミナー(2011/12/8 明治大学)
細胞のおしあいへしあいによる生物のかたちづくり

2. Regional Bio-Soft Matter Workshop (11/10/27,Taipei)
Mechanical control of hexagonal cell packing in *Drosophila* wing

3. International Conference of Systems Biology 2011 (11/8/29 Menheim)
Estimating the dynamics of forces during morphogenesis

4. 東京大学駒場物性セミナー（2011/10/21 東京大学）
細胞のおしあいへしあいによる生き物の形づくり

5.RIKEN CDB セミナー (2011/4/14, RIKEN CDB)

Estimating the dynamics of forces during morphogenesis

6.神戸大学古瀬研セミナー（11/2/24 神戸大学）
上皮形態形成の力学的制御
7.生命現象の数理:ミクロの世界の仕組み(2011/1/21 東京大学)
Mechanical control of cell configuration in a growing epithelial tissue

8. 理研 ASI 細胞システムコロキウム理論生物学(2011/2/10 理研 ASI)
形 態 形 成を支 える応 力 場 のダイナミクス

9. 第 19 回 日本バイオイメージング学会学術集会（2010/9/10 慶応大学）
Estimating force distribution in the growing tissue

10. RIKEN Mathematical Science Workshop (2010/10/1Kami-suwa)
Analyzing mechanics in the growing tissue

11. New Trends On Growth and form (2010/6/15 Agay, France)
Estimating stress field in growing tissue

12. RIKEN ASI 佐甲研セミナー（2010/2/17 RIKEN ASI)
成長する上皮組織に働く力学過程の解析

13. 定量生物学の会第 2 回年会（2010/1/11 大阪大学）
上皮組織の応力場のパターンと成長のダイナミクス

14. 第5回生物数学の理論とその応用（2009/1/14 京都大学）
保存量がある反応拡散系の性質と細胞運動のモデル化

研　究　報　告　書

「生物社会における協力的提携パターンの理論的解明」

研究期間：　平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月
研　究　者：　大槻　久

1，研究のねらい

　霊長類をはじめとする生物社会においては、複数の個体が協力的なグループを形成し共通の利益を目指して行動する現象がある。このような連携を提携(coalition)と呼ぶ。個体毎に強さや地位が異なる場合、（1）得られた資源を提携内でどのように分配するか、および（2）誰と誰が提携するか、という問題が生じるが、その一般的な法則は未解明のままである。本研究ではこれら二つの問題に理論的に取り組むとともに、種々の具体例に対し、協力的提携の維持機構を解明する。

2，研究成果

（1）二個体間における進化的に安定な資源配分パターンの導出

対等な二個体間の資源分配パターンを探るため、Nash Demand Game に自然選択と突然変異を組み込んだ進化ゲームモデルを構築し解析した。その結果、戦略に突然変異が少しでも起きる場合には平等解である 1:1 の分配量が進化することを明らかになった（図1左）。

　RHP(Resource Holding Potential)が異なる二個体間の資源分配についても同じモデルで解析した。その結果、自己の繁殖・生存がゲームの結果からより大きな影響を受ける側の取り分が小さくなるような配分が安定となることが分かった（図1右）。

　次に、安定な資源分配量を調べるため、近年開発された有限集団進化ゲーム理論を非対称なニプレーヤー間のゲームに拡張し、Nash 交渉ゲームを解析した。その結果、進化ダイナミクスが選択する二個体間の資源分配量は、まず両者が自分のみが活動したときに得られる資源を獲得し、余った剰余分、すなわち二個体の協力によって初めて生じた新たな利益、を均等に配分するようなものであることが分かった。これはゲーム理論において均等解(egalitarian solution)として知られているものである。

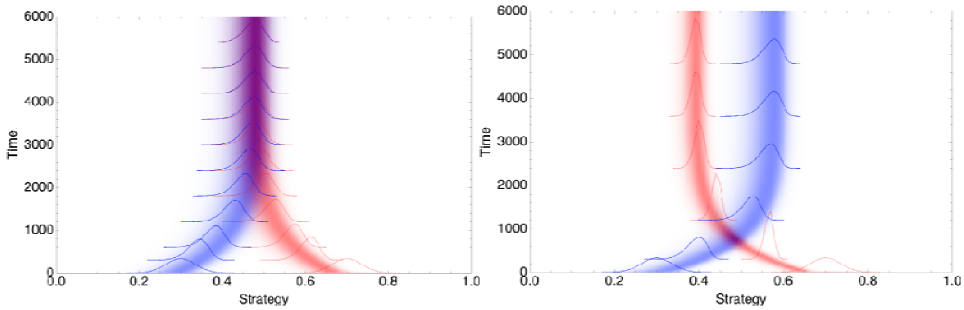

図1　対称な2個体間の資源分配（左）と非対称な2個体間の資源分配（右）

（2）血縁度が二者間の協調関係におよぼす影響について

血縁関係は一般に協力を促進するが、同時に血縁者同士が繁殖を巡る競争の位置にある場合は、その進化的帰結は自明ではない。このような状況は主に囚人のジレンマゲームを中心

に分析がなされてきたが、より一般の協調関係を分析する手法は存在しなかった。

そこで Wright の島モデルにおける進化ゲームの一般論を構築した。一般の利得行列ゲームに対して、各戦略の頻度の時間変化を記述する式を解析的に導出することに成功した。この一般式は通常の血縁度だけでなく、三者間の血縁関係を表す項を含んでおり、これを高次血縁度として世界ではじめて提唱した。

この手法を用いて繰り返し囚人のジレンマゲームを分析した。その結果、協力の効率 b/c と割引率 w が高い時には血縁は協力関係を促進するが、逆にそれらの値が低いと協力は阻害されることが分かった。すなわち血縁と協力性は必ずしも単調な関係にないという新しい予測を生み出すことに成功した。

(3)三者間の提携形成ダイナミクスの分析

攻撃的提携(coalitional aggression)におけるパートナー選択を分析するため、二つの異なる三者間闘争モデルを構築した。特に dominance の影響を考慮するため、闘争能力=RHP(Resource Holding Potential)の異なる三者 α、β、γ によるゲームを分析した。

第一のモデルでは、ゲームは二つのステージから成る。第一ステージでは各プレーヤーは他の誰かを攻撃し、その被攻撃量に応じて一人が敗退する。第二ステージでは残った二人がお互いを攻撃し合い、最終的な勝者が決定する。解析の結果、第一ステージでは α が β を攻撃し、β と γ が共に α を攻撃するパターンがそれぞれの最適行動であることが分かった。

第二のモデルでは、可能な提携パターンを状態空間とする Markov 連鎖モデルを考えた。各プレーヤーは自己の利得をできるだけ大きくするように提携を形成・解消する。解析の結果、β と γ による劣位間提携が予測された。

これらの結果は、互いの RHP に関する情報が完全に手に入る場合、biological market の帰結として β が非常に優位な立場に立つことを意味する(図2)。

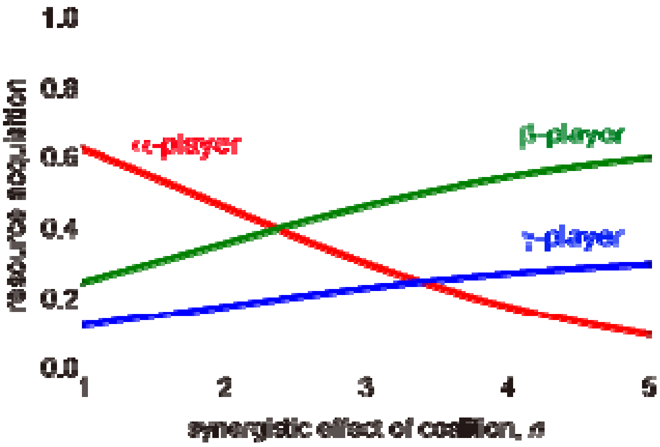

図2　第二のモデルにおける資源獲得確率の予測

(4)マイコドリの協力的求愛ディスプレイの起源の解明

オナガセアオマイコドリ *Chiroxiphia linearis* はレック型配偶システムをとり、雄間には直線的な順位制が存在する。優位雄 α と β はアリーナと呼ばれる場所で調和の取れた求愛ディスプレイを披露し雌を引きつけるが、交尾権は α 雄が独占する。

この奇妙な協力的提携を説明する一つの理論として、アリーナ評判仮説が存在する。この

仮説によれば、βが求愛ディスプレイに莫大な投資をするのは、自己のアリーナの評判を高め、自分がα雄になった際にその良い評判を通して繁殖成功をあげる為であると説明される。

この仮説を検証するため、α及びβ雄である時の求愛ディスプレイへの投資量をそれぞれ x, y とおき、この二次元形質の進化を進化的安定性および収束安定性解析を用いて分析した。その結果、雌がどのような学習戦略を取ろうとも、βの投資量は一般にαのそれに比べて小さいという予測を得た（図3）。すなわちアリーナ評判仮説ではβ雄による協力は十分に説明できない。実際に近縁種において(i)βはαから求愛ディスプレイの仕方を学んでいること、(ii)βはαになっても自己のアリーナを引き継ぐとは限らないこと、が示唆されており、これらの結果は本モデルの予測を支持するものである。

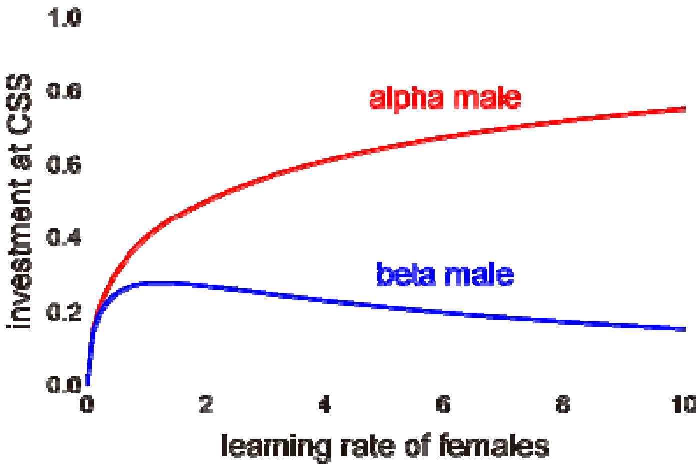

図3　CSS におけるα雄とβ雄のディスプレイ投資量

（5）直線順位制の成立機構の解明。

自然界で見られる個体間の優劣関係はしばしば推移的であり、多くの動物社会において直線的な順位が存在する。順位が直線的になる至近要因を探った。この点に関して Chase et al. (2002)による実験は示唆に富んでいる。第一の実験では 4,5 匹のカワスズメから考えうる全ての 2 個体の組み合わせを考え、それぞれのペアに対して順位行動を独立の水槽で観察した。第二の実験では全ての個体を単一の水槽に入れ、彼らの順位行動を観察した。その結果、直線順位は後者の実験において有意に多く現れることが分かった。

そこで個体学習が直線順位生成の鍵ではないかと考え、ベイジアン学習をする個体間の相互作用をタカーハトゲームを用いてモデル化し分析した。その結果、他者間の順位行動を観察する機会が増えれば増えるほど、直線順位は成立し易いことが分かった。さらに、この順位は必ずしも個体の闘争能力を反映しておらず、また個体間に全く闘争能力の差がない場合でも直線順位が高頻度で出現することが分かった。逆に、個体間に存在する闘争能力の差は、直線順位の成立にそれほど関与していないことも判明した。この発見は、順位制の成立機構に関して新しい知見を与えるものである。

3，今後の展開

資源分配量の予測を与える枠組みとして、partition function form game という分析手法がゲーム理論に存在している。自然界における実際の資源分配パターンがこの枠組みでどの程度

説明されるかを調べたい。

本研究では、攻撃的提携形成において誰と組むかという問題に対し、闘争で得られる利益の最大化という視点から分析を行ったが、これは多くの単純化を含んでいる。実際の提携形成を考えるにあたっては、血縁や順位制という生態学的文脈や、ボンド（絆）の形成や互恵性という社会生物学的な文脈が必要となる。より現実的な提携形成モデルの構築と分析を進めたい。

4，自己評価

安定な資源分配量の進化ゲーム理論を用いる予測は、定性的には成功をみせたものの、定量的な分析は限定された場合（選択圧が非常に弱い場合の近似モデル）に限られた。

提携パターンの分析は、三個体間の攻撃的提携形成に関し、劣位二個体であるβ、γの提携が起きやすいという簡潔な結果を得られた。四個体以上への拡張を試みたものの、多くの複雑な提携パターンが予測として現れ、簡潔な結果を得られることはできなかった。今後の課題としたい。

具体的な協力的提携パターンの分析として、マイコドリの協力とレック型配偶システムの進化、およびシクリッドを例とした学習と直線順位形成の二つの課題に取り組んだ。これら具体例の分析は順調に研究が進行し、満足のいく成果を挙げることができた。

5，研究総括の見解

動物社会における資源をめぐる闘争で，複数の個体が協調して行動する提携において、提携相手の選択、提携者間の資源分配、順位制等が示す様々なパターンとその成立機構を理論的に説明する数理モデルを、協力ゲーム理論と進化ダイナミクスを融合することにより構築したもので、極めて斬新で独創的な研究である。具体例として，オスに直線的な順位制が存在するマイコドリにおいて，βオスが示す求愛ディスプレイは従来のアリーナ評判仮説では説明できないこと、また，シクリッドに見られる直線順位制は，個体の闘争能力を反映しておらず，むしろ個体間学習がもたらすものである事を示した点は，実証研究としても高く評価できる。協力の進化に関わる研究では，既に Nature 誌に論文を発表するなど世界的に第一級の成果を上げており、今後の更なる研究進展が期待される。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Ohtsuki, H. ″Stochastic evolutionary dynamics of bimatrix games.″ *Journal of Theoretical Biology* **264(1)**, 136-142, (2010)
2. Ohtsuki, H. ″Evolutionary games in Wright's island model: kin selection meets evolutionary game theory.″ *Evolution* **64(12)**, 3344-3353, (2010)
3. Ohtsuki, H. ″Evolutionary dynamics of the Nash demand game: a diffusion approach.″ *Dynamic Games and Applications* **1(3)**, 449-461, (2011)
4. Ohtsuki, H., Iwasa, Y. & Nowak, M. A. ″Indirect reciprocity provides only a narrow margin of efficiency for costly punishment.″ *Nature* **457**, 79-82, (2009)
5. Ohtsuki, H. & Tsuji, K. ″Adaptive reproduction schedule as a cause of worker policing in

social Hymenoptera: a dynamic game analysis." *The American Naturalist* **173(6)**, 747-758, (2009)

（2）特許出願

研究期間累積件数：0 件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

1. 大槻　久 "Evolution of dual-male courtship dance by manakins: a theoretical study."（マイコドリのペア求愛ダンスの進化：その理論的検討） 日本進化学会第13回大会 京都大学百周年時計台記念館 2011.7.31
2. 大槻　久 "グループ形成と資源獲得モデル" ゲーム理論ワークショップ2011 名古屋大学文系総合館7階カンファレンスホール 2011.3.5
3. Ohtsuki, H. "Evolutionary games in island model." BIRS workshop 10w5020: Evolutionary Games, Banff Center, Alberta, Canada 2010.6.15
4. Ohtsuki, H. "Evolutionary games in Wright's island model: kin selection meets evolutionary game theory." (invited) Sixth Pan-Pacific Conference on Game Theory Tokyo Institute of Technology, O-okayama Campus, Tokyo, Japan 2011.3.1
5. 大槻　久 "罰が恐いから協力する？―利他の起源と進化シミュレーション （Threatened to cooperate?: The origin of altruism and evolutionary simulations)" 雑誌「科学」2011年1月号・特集「〈利他〉の心と脳・社会・進化」pp. 76-77 岩波書店

研 究 報 告 書

「細胞間相互作用により双安定状態を維持する人工遺伝子回路の解析」

研究期間: 平成20年10月～平成24年3月
研 究 者: 木賀 大介

1，研究のねらい

細胞間シグナルに依存した細胞の分化など、動的で複雑な生命現象の本質を知るためには、モデル化が重要となる局面があります。本研究では、数理的なモデル化を進めるとともに、モデルに基づいた遺伝子人工ネットワークを生きた細胞の中に構築して、細胞を人工的に多様化させる「分化」過程を解析する、合成生物学アプローチを推進します。このようなドライとウェット両面の実験的検証を通じて、多様化の基本原理の追及を目指しました。とくに、発生の過程をモデル化した、「地形」上でボールが転がっていく過程を規定する遺伝子ネットワークを題材として、細胞の数に依存した多様化の変化を明らかにしました。

2，研究成果

生命の発生や再生プロセスにおいて重要な、細胞内・細胞間の遺伝子相互作用によって生じる細胞種の多様化は、下に行くほど溝の数が増えていく坂道を玉が転がる様子で抽象的に解釈されている。この坂道は「ワディントン地形」(Waddington's landscape)と呼ばれ、最上部が受精卵、最下部のそれぞれの溝が、筋肉や神経など安定な細胞状態に対応している(図1)。京都大学の山中伸弥教授は iPS 細胞の概念を説明するために、この地形上を玉が登っていく図を示している。

地形モデルは、複雑な生命現象を把握するために有用であるが、実態は解明されていなかった。「地形」の単純な概念に対して、天然の細胞種の多様化に関わる遺伝子数は膨大で、細胞種の多様化に関わる遺伝子ネットワークのうちどこがコアな部分なのかを調べるのは困難である。このため、細胞の状態変化をデザインすることも難しかった。

近年進展している合成生物学という研究手法は、自然現象を司る遺伝子ネットワークのコアな相互作用を調べるための有力な手法であり、その研究過程で、自然現象における相互作用を再構成した規模の小さいシステムである人工遺伝子ネットワークが構築される。本研究では、細胞間の相互作用を変化させる実験操作が「地形」に与える影響を考慮することで、細胞集団の運命をデザインどおりに変化させることができた。

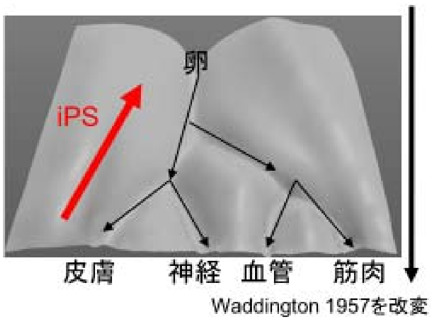

図1　Waddington's landscape。1つの細胞から、神経細胞、筋細胞など多様な安定状態へと細胞が分化する過程を示す。細胞の分化は、下るほど溝の数が増えてゆく地形の上を玉が転がることで表現されてきた。この図において、細胞の iPS 化とは、山を下りきった(分化しきった)細胞がもう一度上に登ることに相当する。

今回の研究では、均一な細胞集団が「ワディントン地形」上を転がる玉のように2つの細胞種に多様化する機能を、4つの遺伝子からなるシンプルな人工遺伝子ネットワークを設計し、これを生きた細胞に導入することで実装した(図 2)。転がる過程で、細胞同士は自らが生産する細胞間通信分子(AHL)によって相互作用を行うように設計した。この人工ネットワークの機能は、図 3 で表わされるように、2つの遺伝子を利用した細胞間通信と、さらに別の2種類の遺伝子(LacI、CIts)による細胞内での相互抑制とからなる。

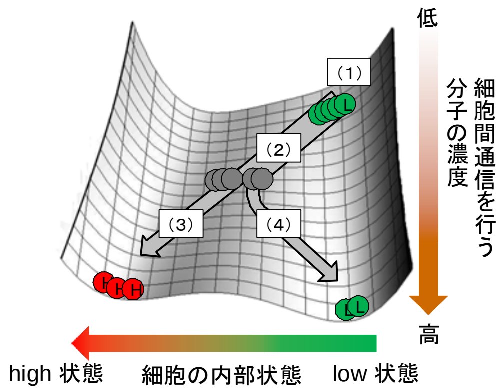

図 2 Waddington's landscape 上を転がる玉のように、同一の細胞集団が2つの安定状態に多様化する挙動の概念図。開発した人工遺伝子ネットワークを持った大腸菌を、(1)通信分子が少ない環境で low 状態のみにすると、(2)わずかに細胞間通信分子を生産しながら high 状態に近づく。じゅうぶんに細胞間通信分子の濃度が高まると、両方の状態が安定となるので、(3)細胞集団の分布の一部が high 状態に向かい、(4)残りが low 状態に戻る。そして、最終的に2つの細胞種が混ざった状態として安定する。

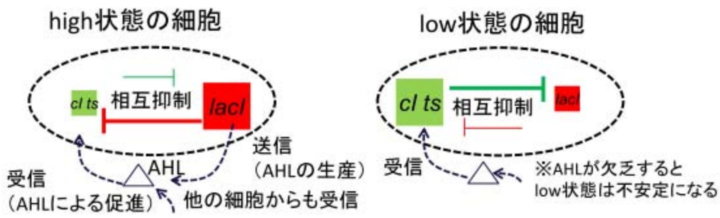

図 3 high 状態、low 状態の細胞における遺伝子の相互作用の様子。今回開発された人工遺伝子ネットワークは、LacI と CIts の細胞内相互抑制と、通信分子 AHL による細胞間相互作用からなる。AHL がじゅうぶん存在すると LacI と CIts の細胞内相互抑制の効果によりどちらの状態も安定であるが、AHL が欠乏すると low 状態は不安定になる。(左)high 状態の細胞内では、LacI 生産が優勢になっている。また、この

状態の細胞は AHL を多く生産する。（右）low 状態の細胞内では、CIts 生産が優勢となっている。CIts は、LacI と同時に AHL を生産するための酵素をコードする遺伝子も抑制するため、この状態では AHL の生産はわずかである。

この結果、同一の遺伝子セットを持つ細胞が、細胞間通信分子を生産する「high 状態」と、わずかしか生産しない「low 状態」の2つの細胞種に多様化できる。今回は、各細胞種の認識のために、low 状態の細胞が緑色蛍光タンパク質（GFP）を生産するように人工遺伝子ネットワークを設計した。本細胞集団について、low 状態だけであったのが、high 状態と low 状態という2つの細胞種を含む集団へ変化することを実験で確認した（図 4）。

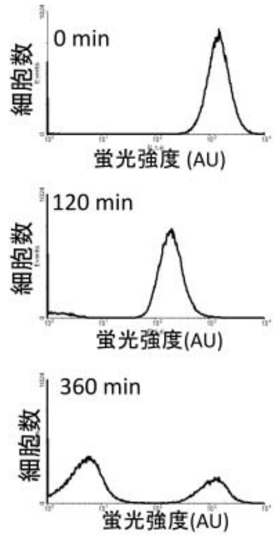

図 4 実験による多様化の確認。今回開発された人工遺伝子ネットワークは low 状態の細胞が GFP を生産するように設計されている。low 状態にリセットされた細胞集団は設計通り GFP を多く生産した。その後、中間状態を経て、low 状態と、GFP をほとんど生産しない high 状態とに多様化した。

また、同様の相互抑制回路を用いることで、遺伝子大量発現が iPS 細胞の確立に及ぼす影響を考察することができた。

本研究で構築した人工遺伝子ネットワークを持つ細胞でみられた、多様化後の細胞種の比率が細胞数に依存するという相関は、発生中の胚におけるコミュニティー・エフェクト（Community effect）でもみられる。近年では、ES 細胞の分化比率も、細胞数に依存してしまうことが発見されている。本研究の人工遺伝子ネットワークは4つという少ない数の遺伝子からなるので、同じネットワーク構造を、発生や再生過程で働いている遺伝子群の中から見つけだすことができるだろう。その結果、発生や再生過程での細胞数に依存した現象に関する新たな知見を得ることと、この知見を活用して細胞の分化比率の操作が可能になることが期待される。

3．今後の展開

合成生物学での人工遺伝子ネットワークの構築によって、細胞内・細胞間の相互作用をプログラミングすることにより、微生物を用いた有用物質生産や、再生医療や iPS 細胞の活用に向けた幹細胞の分化誘導などが可能になると期待されている。本研究で開発した人工遺伝子ネットワークでは、遺伝子型が同一な細胞集団における細胞種の比率を制御することができる。このような集団レベルでの挙動制御を伴う分業システムを実現することで、産業・医療応用における重要な役割を果たすことが予想される。例えば、薬剤や燃料などを微生物で作成するには、複

数段階の反応が必要となる。このような場合、1つの細胞で全ての反応を行うよりも、複数種類の細胞で分業を行うことが望ましいと考えられている。また、薬物動態予測のために、iPS 細胞から試験管内で微小肝組織を作成する際にも、細胞種の比率制御が重要になってくる。さらに、「地形」に基づいたプログラミングの考え方を、ES 細胞や iPS 細胞を助ける細胞のデザインに活かすことで、再生医療に貢献すると期待される。

4，自己評価

本研究では、当初想定した、細胞間相互作用により双安定状態を維持する人工遺伝子回路を、数理モデルに基づいて作製し、研究期間内に論文を公表することができた。この論文で用いた成果の説明方法は、領域会議などで、研究総括、アドバイザー、同僚研究者の助言によって改善されたものである。その結果、新聞全国紙などでも紹介される論文となったことは、若手研究者を育成するさきがけ制度の恩恵を私が受けたことによる。

現在論文執筆中であり、公表することができないもうひとつの成果は、数理モデルに基づいて生きた細胞を操作するという方針をさらに展開したものであり、想定以上の成果であるといえる。この研究についても、実験の結果を一般化して説明する過程で、領域の皆様からいただいた助言、ディスカッションが極めて重要であった。

一方、計画書に記した、ゆらぎの大きさを変化させる実験によってゆらぎの意義を追及することについては、細胞への実装が中途段階にとどまってしまった。現時点でも、このテーマの重要性は明らかであるので、研究を継続していきたい。

予期しなかった私に関する変化として、直接の研究の進展ではないものの、モデルに基づいて遺伝子ネットワークを構築することの意義が、工学一般や異分野で注目されようになったことを挙げたい。この原因には、さきがけ制度のネームバリューによる寄与も大きいと思われる。結果として、私が学際的なシンポジウムに招かれることが増えた。また、優秀な学生がこの分野に集まることとなり、合成生物学の学部生国際コンテストで私が監督するチームが、Best Information processing 賞や Best Modeling 賞を獲得し、これらに基づいて審査教員による投票で総合 top10%や、学生投票世界一を獲得することとなった。

5，研究総括の見解

細胞分化は細胞集団の状態が多様化する事であると捉え，細胞を人工的に多様化させる人工遺伝子ネットワークを，数理モデルを介してデザインするという，ユニークな課題に取り組んだ。具体的には，Hybrid toggle switch を構成する4つの遺伝子を挿入した均一なバクテリア集団が，自らが生産する通信分子を介して細胞内・細胞間相互作用する結果，双安定な異なる二つの集団に分岐する可能性を理論的および実証的に明らかにした。これは，Waddington の隠喩として知られる epigenetic landscape を彷彿させるもので独創的かつ興味深い成果である。今後は，実際の多細胞生物の複雑な遺伝子ネットワークにおいて，本研究で示唆された多様化のメカニズムがどのように具現化しているかが明らかにされる事を期待する。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Ryoji Sekine, Masayuki Yamamura, Shotaro Ayukawa, Kana Ishimatsu, Satoru Akama, Masahiro Takinoue, Masami Hagiya, Daisuke Kiga, "Tunable synthetic phenotypic diversification on Waddington's landscape through autonomous signaling" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* **108**, 17969-17973, (2011)
2. Shotaro Ayukawa, Akio Kobayashi, Yusaku Nakashima, Hidemasa Takagi, Shogo Hamada, Masahiko Uchiyama, Katsuyuki Yugi, Satoshi Murata, Yasubumi Sakakibara, Masami Hagiya, Masayuki Yamamura, and Daisuke Kiga. "Construction of a genetic AND gate under a new standard for assembly of genetic parts" BMC Genomics, 2010; vol 11 Suppl 4:S16

（2）特許出願

研究期間累積件数：0件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

英文総説（査読つき）

Shotaro Ayukawa, Masahiro Takinoue, and Daisuke Kiga, "RTRACS: A Modularized RNA-Dependent RNA Transcription System with High Programmability", ACS Acc. Chem. Res., 2011, 44 (12), pp 1369-1379

日本語総説

「人工遺伝子回路を設計する」 実験医学増刊 2011 vol29 細胞を創る・生命システムを創る p 1134-1139

CMC 合成生物工学の隆起 植田充美編、「細胞内に人工遺伝子回路をつくる」 木賀大介 印刷中

学会セッションオーガナイズ

Constructive studies on gene networks and their fundamental technologies towards synthesis of cells

第 33 回日本分子生物学会年会 指定シンポジウム パシフィコ横浜メインホール 2011年12月14日

国際シンポジウム発表

Japanse-French Frontier Science Symposium（日仏先端科学シンポジウム）、ニース "Synthetic Biology" Chair 2012 年1月21日（招待）

学際的な研究会での発表（招待講演）

講演「合成生物学でできること、目指されていること」およびパネルディスカッション
2011 年 3 月 8 日
公開シンポジウム「合成生物学と社会－先端科学研究の進め方を考える－」
京都大学人文科学研究所 京都大学東京オフィス

講演「合成生物学と機微技術管理」
2010 年 12 月 18 日
慶應義塾大学グローバルセキュリティ研究所 バイオセキュリティワークショップ
科学・技術の倫理と機微技術のリスク管理

科学コミュニケーション

東工大サイエンスカフェ「夢をかなえるサイキン」木賀大介 2012 年 2 月 25 日
サイエンスアゴラ 2011: ワークショップ「世界を救う?救わない?新しい生き物を創るということ」2011 年 11 月 19 日 岩崎秀雄、木賀大介、瀧ノ上正浩、橋本裕子（前3者は全てさきがけ研究者）
サイエンスカフェ 「人工生命・人工細胞 ～合成生物学が拓く未来～」AAAS_Science/日本科学未来館 木賀大介 2010 年 10 月 11 日
サイエンスカフェ 「異端児の見る生命・生命合成」主催 武田先端知財団、大島泰郎 木賀大介 2010 年 8 月 30 日

研 究 報 告 書

「栄養モジュール間相互作用に着目した食物網維持機構の解明」

研究期間： 平成２０年９月～平成２４年３月
研 究 者： 近藤　倫生

１，研究のねらい

生物群集は種間相互作用のネットワークとして捉えられる。種間相互作用ネットワークの構造は、生物個体群の個体数変動やその安定性、多種共存のおこりやすさ、生態系過程に大きな影響を及ぼしうると考えられている。しかし、複雑なネットワーク全体の構造把握には、しばしばおおきな困難が伴う。その結果、複雑ネットワークの静的構造を巨視的な変量で特徴付けしようとしてきた実証研究と、単純な栄養モジュールの動的特徴を相互作用の強さ等の微視的な特徴によって説明しようとしてきた理論研究の間にギャップが生じている。本研究は、複雑食物網の構造や動態を栄養モジュール理論に基づいて理解するための理論的手法を構築し、そこから得られる生態学的予測を実証的にテストすることを目的とする。

２，研究成果

（１）ギルド内捕食モジュール分析に基づく複雑食物網維持機構の研究

多くの部品からなる安定なシステムを構築するには２つの方法がある。①安定な部品を組み合わせてシステムを構成することと、②不安定な部品を互いに支え合うように組み合わせることである。本研究では、数理モデリングと自然食物網のネットワーク構造解析を組み合わせることによって、食物網がこれら両方の機構によって維持されていることをしめした。種 1 と種 2 がともに種 3 を捕食し、さらに種 1 が種 2 を捕食するような、三種からなる食物網の「部品」を、ギルド内捕食（IGP）モジュールとよぶ。このモジュールにおける個体群動態を模した単純な数理モデルを解析すると、3種が共存する条件には、モジュールそれ自体の構造に関するもの（内的条件）と、モジュール外の食物網構造に関するもの（外的条件）があることがわかった。208 種類の魚からなるカリブ海食物網データからすべての IGP モジュールを抽出し、数理モデルより得られた予測にしたがって、個々のモジュールの安定性とその安定化メカニズムを特定した（図１）。さらに、ここから得られたパターンが偶然に得られる可能性を帰無モデル解析によって評価した。その結果、以下の４つのパターンが発見された。（１）カリブ海食物網において、存続不可能と予測される IGP モジュールは有意に少ない。（２）内部安定な構造をもつ IGP モジュールは有意に多いが、外部安定な構造をもつ IGP モジュールは有意に少ない。（３）内部不安定な IGP モジュールにのみ着目すると、外部安定な IGP モジュールの割合は、それが全体に占める割合よりも有意に多い。（４）外部構造のみによって安定化されている IGP モジュールは、有意に高い確率で内的に安定な IGP モジュールと相互作用している。栄養モジュールの内的構造と外的構造が相補的に働いて自然食物網を維持していることを初めて示した上記報告は、PNAS 誌において発表した（Kondoh 2008）。また、本論文は Faculty1000 において、MUST READ（必読論文）として推薦された。

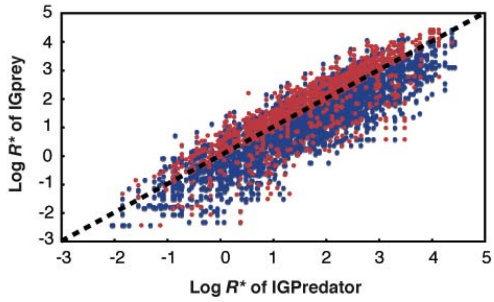

図1. カリブ海食物網におけるIGPモジュールの安定性とその安定化機構　内部安定なモジュール（破線より右下の領域）は有意に多い。外部安定なモジュール（赤色）は有意に少ないものの、内部不安定なモジュール（破線より左上）に占める割合は有意に高い。青色は外部不安定なモジュール。

（2） 食物網に埋め込まれたネスト構造の発見

食物網に埋め込まれた栄養モジュールの構造的パターンに関する研究を行った。ネスト構造は、当初、陸域に特有な「送粉・種子散布系」ネットワークにおいて発見されたネットワーク構造である（Bascompte et al. 2003）。この構造はその後、陸上における「アリ-花外蜜腺保有植物」系や、海域における「掃除魚群集」、「イソギンチャク共生系」等でも発見されることで、相利系一般に特有の構造と考えられるようになった。これを受けて、ネスト構造が相利系で生じるメカニズムに関する仮説や、ネスト構造が相利系の動態に及ぼす影響に関する研究が熱心に行われた。さらには、捕食-被食関係においては、ネスト構造が生じにくい理由が「説明」されるようになった。これらの議論はすべて「食物網においてはネスト構造がまれにしかみられないこと」を前提に進められており、食物網におけるネスト構造の多寡に関する情報がこの知見に及ぼす影響は非常に大きい。しかし、それにも関わらず、食物網におけるネスト構造の研究例は数編に限られているし、またこれらの過去の報告には手法上の問題がある。本研究では、過去に報告された陸域・水域の31の食物網データを解析し、食物網におけるネスト構造について再検討をおこなった。その結果、食物網は相利系と同程度のネスト構造をもった栄養モジュールの集合であることが初めてあきらかになった（図2）。この発見は、相利系が食物網よりも強いネスト構造を持っている事を前提に発展してきたこれまでの議論に見直しを迫るものである。また、ネスト構造は食物網における多種共存を抑制する効果があることがわかっており、本研究は生物群集ネットワークにおける主要なパラダイムの見直しを迫ることになるかもしれない。上記研究は Ecology 誌において報告した（Kondoh et al. 2010）。

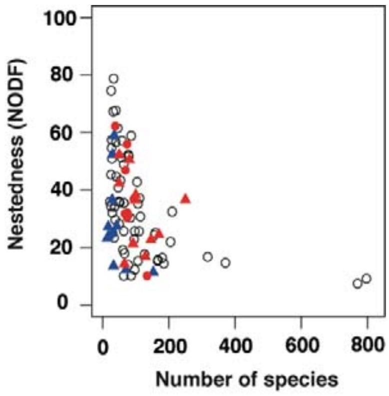

図2. 生態系ネットワークにおけるネスト構造　31の食物網と59 の相利ネットワークのネスト度（NODF）　色付きの丸型と三角形はそれぞれ、2層食物網と複雑食物網からランダムに抜き出した食物網に対応する。赤色は有意なネスト構造のある食物網、青色はネスト構造が有意でない食物網。白抜きの丸は相利系ネットワーク。

（3） 適応に基づく食物網構造と動態の理解

生物の適応的な行動が食物網の構造や動態におよぼす影響についての研究は、主に数種

からなる栄養モジュールを題材に進められてきた。本課題では、生物が適応的に餌を選択する場合における、より多くの種からなる複雑な食物網の大域的構造やその環境への反応、共存可能性に生じるパターンを理論的に研究した。これによって栄養モジュールにおいて展開してきた適応的生物群集に関する研究を、より複雑な生物群集において展開する事を目指した。

このテーマに関連する主要な研究として、適応的餌選択の存在下における食物連鎖長決定機構の理論的解明に取り組んだ。食物連鎖長とは、食物網において基底種から最上位捕食者に至る食物連鎖に含まれる捕食・植食者の数であり、トロフィックカスケードや生物濃縮に直接に影響する重要な食物網構造指標である。生態学の理論は、生態系の生産性が高まると食物連鎖長が長くなる事を予測してきた。しかし、現実の生態系ではこの予測が支持される事はまれであり、また、正の「生産性−食物連鎖長」関係が実際に観察されるのはマイクロコズムやファイトテルマータ等の単純な構造を持った生物群集に限られる。本研究では、この理論−実証間のギャップを埋めるために、適応的餌選択の存在下での食物網動態モデルを解析し、生産性、種数、結合度が食物連鎖長に及ぼす影響を調べた。このモデルから、（1）捕食者が適応的に餌を選択する複雑食物網では、生産性は食物連鎖長にほとんど影響を及ぼさないか、もしくは連鎖長を短くする可能性があること、（2）正の「生産性−食物連鎖長」関係が生じるには捕食者の適応性が低いか、食物網が単純で無くてはならないことが予測された（図3）。これらの結果は、実証研究から得られた「生産性−食物連鎖長」に関するパターンが適応的餌選択から生じている可能性のみならず、単純な栄養モジュールを題材に発展してきた「適応を考慮した群集生態学」がより複雑な生物群集でも重要な役割を果たしている可能性を示唆している。上記研究は *Proceedings of the Royal Society of London. Series B* において報告した（Kondoh & Ninomiya 2009）。

この他にも進化過程を明示的に仮定した適応的食物網モデルを利用した「複雑性−安定性」関係に関する研究や（*Population Ecology* にて報告；Yamaguchi et al. 2010）、分解者における「適応」が物質循環への影響を通じて多種共存を促進する機構に関する理論研究（PNAS にて報告；Miki et al. 2010）をおこなった。

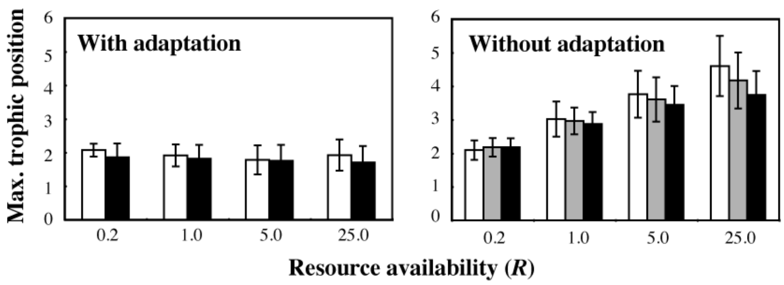

図3. 適応的餌選択が 10 種からなる食物網の「生産性−食物連鎖長」関係に及ぼす影響　適応的餌選択の存在下（左パネル）では、移入のなし（白色）あり（黒色）に関わらず、食物連鎖長（Max. trophic position）は生産性（Resource availability）の変化にほとんど反応しない。それに対して、適応的餌選択のない場合（右パネル）には、リンク数（9[白色]、13[灰色]、17[黒色]）に関わらず、正の「生産性−食物連鎖長」関係が生じる。

また、適応的行動と食物網構造との間の関係を探るために、捕食者と被食者の脳サイズに関する研究を行なった。脳サイズは、生物の学習能力のよい指標になることが知られている。本研究では、277 種の魚種からなる 623 ペアの捕食者-被食者について、体サイズや脳サイズに関わるパターンを解析した。その結果、以下の三つのパターンを発見した。(1)体サイズに比して脳サイズの大きい捕食者は、同様に脳サイズの大きい被食者を利用している;(2)脳サイズは被食者のほうが捕食者よりも体サイズに比して大きい;(3)脳サイズが大きい被食者を利用している捕食者は脳サイズが小さいときには体サイズが大きい傾向があり、脳サイズに関する情報を得る事で捕食者-被食者ペアをよりよく説明できる。これらの結果から、個体レベルの適応を支える学習能力が食物網構造とたしかに関わりを持っている事が示唆される。本研究は *Functional Ecology* において報告した(Kondoh 2010)。ただし、本研究では種レベルでの平均サイズをもとにしており、個体レベルのサイズ関係を利用した場合には異なる関係が得られる可能性があることに注意が必要である。捕食者-被食者のサイズ関係研究における、この解像度依存性については *Advances in Ecological Research* において報告した(Nakazawa et al. 2011)。

3，今後の展開

群集生態学と生態系生態学の間のギャップを埋めるような研究を展開していきたい。生物群集の種組成を研究対象とする群集生態学は、生物個体の数とその変動を研究対象とする個体群生態学と密接な関わりをもって推進されてきた。他方、生態系における物質循環やエネルギー流を対象とする生態系生態学は、個々の生物個体群の動態を考慮に入れない単純化を行うことで発展してきた。そのため、生態系過程は、生物の増殖や成長、代謝、捕食-被食関係といった群集生態学が取り込んできた過程がその基礎にあるにもかかわらず、群集生態学とは乖離した状態にある。今後は、群集生態学における食物網理論を出発点とし、本さきがけ研究において発展させてきた数理モデルと実証的食物網データ、その解析法を利用して、群集構造の複雑性と生態系過程の効率・安定性の間の関係を明らかにしていきたい。

4，自己評価

当初は、複雑食物網を単純な栄養モジュールの集合ととらえることにより、食物網の構造-動態研究の新しい展開をおこなうことを目指した。栄養モジュール研究と複雑食物網の間のギャップを埋めようとするこの試みは Ecology や PNAS といった生態学分野のトップジャーナルでの学術論文報告や国際的学術賞の受賞に結びついたものの、研究途中で他の研究者との競合状態にあることが明らかになり軌道修正を行うことになった。新しい課題として、群集構造と生態系過程の間の関係に関する問題に取り組んだ。このアイデアは、極めて新規性の高い課題であり論文出版等の具体的な成果を得ることは容易ではなかったが、いくつかの発見が既になされており、着実に進展している。私にとって、向こう数年間取り組むべき非常に面白い研究課題を得られたことは、すでに発表した研究成果と同等、あるいはそれ以上に価値のあるものであると考える。

5，研究総括の見解

複雑な自然の食物網を複数の栄養モジュールの相互作用系と捉え、その構造と動態を新規な理論的手法を開発する事により理解しようとする極めて意欲的な提案であった。先ず，208種

からなるカリブ海食物網内に埋め込まれているギルド内捕食モジュールに注目し，系全体の安定性が各モジュールとそれを取り囲むモジュール外構造との相補的相互作用によって維持されている事を明らかにした。次いで，食物網に埋め込まれたネスト構造が予想以上に多いことを発見し、さらに、食物網が示す食物連鎖長の特性を適応的な食物網動態モデルを用いて説明するなど，新しい着想を得て興味深い成果を次々と有力ジャーナルに発表したことは高く評価される。期間中にOkubo Prizeを受賞するなど，この分野では世界をリードする研究者であり，今後のさらなる進展を期待する。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. M. Kondoh, "Building trophic modules into a persistent food web" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 16631–16635. (2008)
2. M. Kondoh and K. Ninomiya, "Food-chain length and adaptive foraging" *Proceedings of the Royal Society of London. Series B.*, **276**, 3113–3121. (2009)
3. T. Miki, M. Ushio, S. Fukui and M. Kondoh, "Functional diversity of microbial decomposers facilitates plant coexistence in a plant-microbe-soil feedback model" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 14251–14256. (2010)
4. M. Kondoh, S. Kato and Y. Sakato, "Food webs are built up with nested subwebs" *Ecology*, **91**, 3123–3130. (2010)
5. M. Kondoh, "Linking learning adaptation to trophic interactions: a brain size-based approach" *Functional Ecology*, **24**, 35–43. (2010)

（2）特許出願

研究期間累積件数：0 件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

＜主な学会発表・招待講演等＞

1. 近藤 倫生　陸域相利系における発見が水域群集に適用されるとき：群集ネスト構造をめぐる発見と迷走．第 58 回日本生態学会大会　企画集会「生態学における陸域・水域研究のギャップを考える（企画：深谷 肇一，奥田 武弘，熊谷 直喜，堀 正和）」．（札幌，2011 年 3 月）
2. 近藤 倫生　食物網構造から適応の痕跡を読み取る．第 26 回個体群生態学会　企画シンポジウム「適応と個体群動態（企画：舞木 昭彦）」．（横浜，2010 年 9 月）
3. Kondoh, M. A consideration of the scale at which food-web structure constrains population dynamics. British Ecological Society Annual Meeting 2010, "Ecological Networks: Community Robustness and Persistence" （Leeds, UK, 2010 年 9 月，招待講演）
4. 近藤 倫生　メタボリズム理論を個体群・群集・生態系の理解に活かす．第 57 回日本生態学会　企画集会「捕食・被食系の新しい展開（企画：奥田 昇，岩田 智也）」．（東京；2010 年 3 月）
5. Kondoh, M.: Food-web structure, community dynamics and population level adaptation. International Forum for Ecosystem Management Applying to Ecosystem Adaptability Science

"Robustness and Stability of Organisms and Ecosytems"（仙台, 2010 年 2 月, 招待講演）
6. 近藤 倫生 研究奨励賞受賞記念講演 食物網の維持機構：栄養モジュール研究からわかることわからないこと. 第 19 回日本数理生物学会大会.（東京, 2009 年 9 月）
7. 近藤 倫生 栄養モジュールを組み立てて安定な食物網をつくる. 第 56 回日本生態学会 企画集会「捕食・被食系の新しい展開（企画：舞木 昭彦）」（盛岡, 2009 年 3 月).
8. 近藤 倫生 適応的捕食と食物連鎖長. 第 24 回個体群生態学会 年次大会（東京, 2008 年 10 月).

＜受賞＞

1. 研究奨励賞（日本数理生物学会） 受賞（2009）
2. Akira Okubo Prize [大久保賞]（日本数理生物学会・The Society of Mathematical Biology [米国]） 受賞（2011）

＜著作物＞

1. M. Kondoh "Stability and Resilience" Encyclopedia of Theoretical Ecology (A. Hasting, L. Gross編) University of California Press. (in press)
2. 大串隆之、**近藤倫生**、吉田丈人 シリーズ群集生態学2「進化生物学からせまる」京都大学学術出版会. (2008)
3. 大串 隆之, **近藤 倫生**, 難波 利幸 シリーズ群集生態学3「生物間ネットワークを紐とく」京都大学学術出版会. (2009)
4. 大串隆之、**近藤倫生**、仲岡雅裕 シリーズ群集生態学4「生態系と群集をむすぶ」京都大学学術出版会. (2008)
5. 大串隆之、**近藤倫生**、野田隆史 シリーズ群集生態学5「メタ群集と空間スケール」京都大学学術出版会. (2008)
6. 大串 隆之, **近藤 倫生**, 椿 宜高 シリーズ群集生態学6「新たな保全と管理を考える」京都大学学術出版会. (2009)

研 究 報 告 書

「花芽形成の遺伝子制御ネットワーク：一斉開花結実現象を分子レベルから解明する」
研究期間： 平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月
研 究 者： 佐竹 暁子

1，研究のねらい

多くの植物種では、開花量や種子量が著しく年変動し、個体間（ときには植物種間）で同調することが知られています。これは一斉開花結実現象とよばれ、古くから生態学者の興味を惹いてきました。現在、地球規模の環境変化によって一斉開花結実様式が変化し、その変化が動物との相互作用や植物間の競争を介して、森林生態系の維持に大きな影響を及ぼす可能性が指摘されています。こうしたマクロスケールの現象が注目される一方で、近年、シロイヌナズナやイネをモデル植物として、開花時期制御機構の分子レベルでの解明が飛躍的に進んできました。その結果、気温・乾燥ストレス・光などの環境要因が、開花遺伝子の発現を制御し開花時期を左右する仕組みが次々と明らかになってきています。

本研究では、複雑な開花遺伝子ネットワークの本質を抽出した数理モデルを構築し、一斉開花結実現象を対象にして、環境変化－開花遺伝子制御様式の変化－開花・結実フェノロジーの変化、という一連のプロセスを予測し、環境変化への生態系の応答を理論的に理解する基盤を与えることをねらいとしています。

2，研究成果

（1）ブナにおける豊凶現象： 窒素資源による花芽分化制御

ブナは顕著な豊凶を示す典型的な一斉開花種であり、豊凶現象のメカニズムを明らかにするにあたり絶好の材料です。以前より養分量の変動によって開花や種子量の豊凶が生み出されることが理論的に指摘されてきましたが、花芽分化に養分量が影響していることを示した報告はこれまでありません。そこで本テーマではブナにおいて花芽分化と養分量の関係を、花芽分裂組織決定遺伝子の一つである *LEAFY*(*LFY*)の発現量で調べることで明らかにしました。シロイヌナズナでは、*LFY* 遺伝子を強制発現させることで、本来は花序（側枝）に分化するはずの分裂組織を花芽に分化させることができるため、*LFY* 遺伝子は「花芽分化のスイッチ」と呼ばれています。ブナにおいて *LFY* 相同遺伝子を同定したところ、シロイヌナズナ *LFY* とアミノ酸レベルで約 90%の相同性があり非常に良く保存されていることがわかりました。私達はこれを *FcLFY* と名付けました。

北海道羊ヶ丘と黒松内にある 2 調査地において、芽における *FcLFY* 相対発現量を 2009～2010 年の二年間（冬期を除く）にわたりリアルタイム定量 PCR によってモニタリングし、翌年春の開花量と照らし合わせたところ、非常に強い正の相関があることが明らかになりました。当年枝における窒素濃度および非構造体糖類濃度と *FcLFY* 相対発現量の関係を調べたところ、窒素濃度とは顕著な正の相関があるものの、非構造体糖類濃度とはいかなる関係性も見いだす事ができませんでした。このことは、ブナにおいて窒素資源が花芽分化に影響を及ぼす可能性を示唆しています。

そこで私達は、遺伝的背景が同一の接木ブナを用いて窒素肥料の施肥実験を実施した結果、

*FcLFY*の発現が著しく高まることが示されました（図 1：未発表）。*LFY*と正のフィードバック関係にあり、花弁やがくの正常な発生に関与することで知られる *APETALA1*（*AP1*）のブナ相同遺伝子（*FcAP1*）も顕著な発現量上昇を示しました。芽の形態観察を行うと、施肥処理された個体からは多くの花器官が観察されたのに対し、コントロールではいっさい花器官は見つかりませんでした。以上のことから、窒素資源によって花芽分化が制御されることが明らかになりました。

これらの結果は、従来理論的に指摘されてきた養分量の花芽分化への影響を裏付ける貴重なデータを提供するものであります。

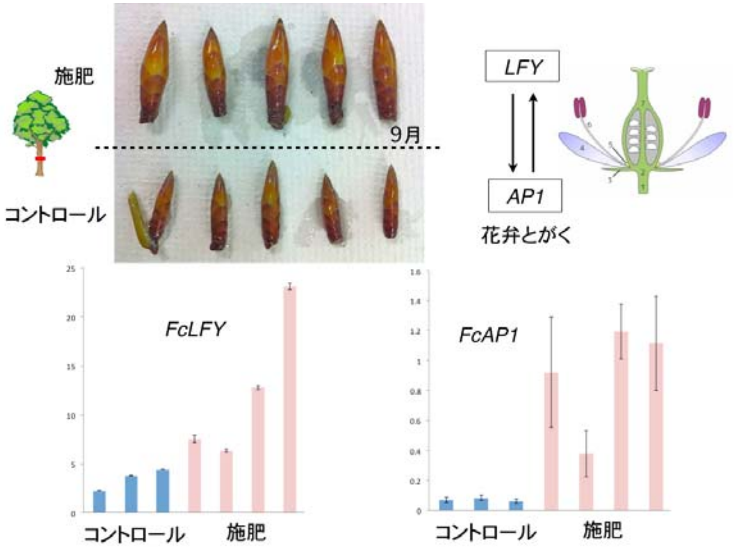

図 1: 施肥実験結果

（2）冬の記憶：花成抑制遺伝子 *FLOWERING LOCUS C* のエピジェネティックな制御

植物は、日照時間や温度などの環境変化に応答することで適した季節に花を咲かせます。シロイヌナズナにおいて *FLC* は、低温シグナルへの応答において中心的役割を果たしています。一般に、花成抑制遺伝子である *FLC* の発現量は、夏期の高温状態では高く開花が抑制されていますが、冬期に長期間の低温を経験することによって緩やかに低下し、春先に花成が誘導されます。*FLC* の発現は、ヒストンのメチル化やアセチル化などのエピジェネティックなメカニズムによって制御されていますが、この仕組みによって春の気温上昇後にも発現量を低く維持し、冬期の長期記憶として細胞分裂後も安定に引き継ぐことを可能にすると考えられています。しかし、この安定的な発現抑制を可能にするヒストン修飾ダイナミクスは未だによくわかっていません。

本テーマでは、*FLC* 遺伝子座におけるヒストン修飾ダイナミクスを捉えた数理モデルによって、各細胞レベルで *FLC* 転写の抑制状態と活性化状態が力学的に双安定となることが、細胞集団レベルでの安定的な発現抑制に必須であることを示しました（Satake and Iwasa 2012）。低温シグナルの受容に伴い活性的修飾から抑制的修飾状態への遷移が始まると仮定すると、低温条件のもとで細胞レベルでは短期間で発現量の低下が生じますが、タイミングが細胞間で異なるため、細胞集団では長期にわたり緩やかに低下することが明らかになりました。さらに、抑制的修飾を行う酵素活性が高まると、低温処理後、気温が上昇した環境においても発現抑制は安定的に維持されました。このことは、抑制的修飾を行う酵素活性に応じて、冬の記憶の持続期間が変化することを意味しており、安定して *FLC* が抑制される一年草と一過的な *FLC* 抑制をみせる多年草と

をわける鍵となることを示唆しています。
(3)植物における生活史の多様性: 春化経路制御の視点から

一年草と多年草の適応的意義については、古くから最適制御理論などの数理モデルによって研究されてきました。本テーマでは特に、春化応答において中心的役割を果たす花成抑制遺伝子 *FLOWERING LOCUS C*（*FLC*)の発現制御ダイナミクスと、光合成による炭水化物資源の蓄積と繁殖への配分の両者を考慮した数理モデルを用いて、植物における生活史の多様性について理論的考察を行いました。長期低温によって *FLC* の発現が抑制されることで、花成誘導因子である *FLOWERING LOCUS T*(*FT*)の発現が促され花芽形成が始まるプロセスを定式化しました。そして花芽形成が始まると、貯蔵資源の配分によって繁殖器官が生産され、貯蔵資源を使い切った時点で植物は枯死すると仮定しました。

FLC の発現制御の調節によって 4 通りの開花様式が予測されました。1) *FLC* の発現が一度抑制されると回復しない場合には、一年草; 2)発現が回復せずかつ緩やかに抑制される場合には、一回繁殖型多年草; 3)発現が回復可能な場合には、毎年繁殖型多年草; 4)発現が回復可能かつ緩やかに抑制される場合には、間欠的繁殖型多年草の挙動が示されました。生涯繁殖成功度に基づき進化的に有利な開花様式を推定すると、死亡率の増加に伴い間欠的繁殖型多年草、毎年繁殖型多年草、一年草へ連続的に遷移することがわかりました（Satake 2010）。これらの結果は、*FLC* 発現制御の相違が、開花様式の多様性を生じる可能性を示唆するものです。
(4) 多年生草本ハクサンハタザオにおける開花時期制御メカニズム:

多年生草本ハクサンハタザオは、シロイヌナズナと近縁種であるためモデル植物で蓄積されたゲノム情報を容易に応用可能であり、植物システム全体をモデル化するにあたり理想的な材料です。また、北海道から西日本まで幅広い分布を示すことから、本植物を対象にすることで、異なる環境への進化適応メカニズムも明らかにすることが可能となります。本テーマでは多年生草本ハクサンハタザオを対象に、異なる温度環境に対する開花時期調節メカニズムを、温度操作実験、開花遺伝子発現量の時系列データ解析、および数理モデルにより明らかにしました。

北海道と兵庫個体群から採取した植物体を対象に、複数の開花遺伝子の発現パターンを異なる温度制御条件（5, 10, 20°C）で約1年間モニタリングした結果、北海道と兵庫個体群の間には*FLC*と花成ホルモンをコードする*FLOWERING LOCUS T*（*FT*)の温度応答に顕著な相違があることがわかりました。低温処理後の*FLC*発現量の上昇速度は函館個体群のほうが遅く、冬の記憶が長期間維持されることがわかりました。また、低温になるほど*FT*発現タイミングが遅れ、そのことは開花時期の遅延と強い相関を持つことが示されました（図2:未発表）。兵庫個体群はどの温度条件においても、北海道個体群より遅く開花し、5℃条件では6週間以上の開花遅延が観察されました。このことは、*FT*発現量ピークの遅延によって非常に良く説明できます。

FLC、 *FT*、および日長応答で主要な役割を果たすCONSTANS（CO）の挙動を微分方程式モデルによって記述し、室内実験で得られたデータより推定された温度応答関数をあてはめることから、自然条件における開花時期予測を行いました。種子数で評価される生涯繁殖成功度を最大にする日長応答関数も同時に予測した結果、兵庫個体群は北海道個体群より1時間程度長い限界日長に応答することが予測されました。また、同じ温度環境であれば兵庫個体群の開花時期は北海道個体群と同様であるが、開花終了時期が顕著に早まるという予測を得ました。

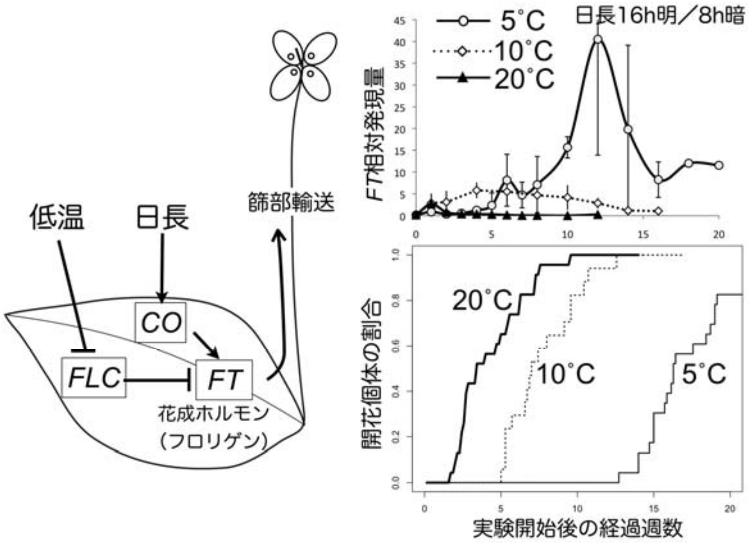

図 2 ハクサンハタザオにおける花成：温度と日長応答

3，今後の展開

今後は、これまでの成果をもとに以下の研究を進めていきます。ブナにおいては、いかなる形態の窒素分が開花遺伝子を制御しているのか更なる分析を進めるとともに、外的環境要因として非常に重要な役割を果たす温度が花芽分化に与える影響を、野外温度操作実験によって明らかにします。また、窒素濃度がどのような年変動を示すのかを明らかにするために、長期間のモニタリングを継続的に行います。施肥によって*FcLFY*、*FcAP1*以外の遺伝子がどのように変化するかを調べるために、網羅的遺伝子発現解析も予定しています。ハクサンハタザオにおいては、温度応答に加え日長応答も明らかにし、本研究で得られた理論的予測の妥当性を実験によって検証します。理論的予測を相互移植実験によって確かめる試みも実施しています。

4，自己評価

当初計画していた通りに研究が進まず目標の 50%も達成できませんでしたが、さきがけがなければ挑戦できない課題に取り組むことができたことは、今後の私の研究人生にとって大変貴重な経験となりました。さきがけで取り組んだ研究が将来実を結ぶよう、そして研究面において豊作を実現できるよう、今後一層精進してまいります。

5，研究総括の見解

植物の一斉開花結実現象に焦点を当て、ブナ科・アブラナ科植物から得られた遺伝子レベルの実験的知見と種内・種間の同調開花に関する生態学的知見を、数理モデルを介して統合し，栄養塩，気温・光などの環境要因が開花や結実時期に及ぼす影響を明らかにするという壮大で意欲的な課題に取組んだ。研究者が自らデザインした実験を基に，冬の記憶を持続させる開花抑制遺伝子*FLC*のエピジェネティックな制御モデル，一年生か多年生かの開花様式を説明する最適制御モデル，開花時期の日長と温度に対する応答関数の導出などで優れた成果を上げた。

当初の目的に向かって地道に粘り強く研究を突き進める態度には圧倒されるものがある。この分野でリーダーを目指せる研究者であり、一層の進展を期待したい。

6．主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Satake A, Iwasa Y (2012) A stochastic model of chromatin modification: Cell population coding of winter memory in plants. Journal of Theoretical Biology (in press).
2. Tachiki, Y, Iwasa Y, Satake A (2010) Pollinator coupling can induce synchronized flowering in different plant species. Journal of Theoretical Biology 267, 153-163.
3. Satake, A (2010) Diversity of plant life cycles is generated by dynamic epigenetic regulation in response to vernalization. Journal of Theoretical Biology 226, 595-605.
4. Aikawa, S, Kobayashi MJ, Satake A, Shimizu KK, Kudoh H (2010) Robust control of the seasonal expression of the *Arabidopsis FLC* gene in a fluctuating environment. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 11632-11637.
5.

（2）特許出願

研究期間累積件数：0 件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

(1) 2011 年 6 月 European Conference on Mathematical and Theoretical Biology; "A computational model of plant life cycle: Genetic mechanism of local adapation in flowering time"; Krakow, Poland.

(2) 2010 年 9 月 Temasek Life Sciences Laboratory seminar; "Reversible or Irreversible?: Modelling epigenetic regulation of *FLOWERING LOCUS C*"; National University of Singapore, Singapore.

(3) 2009 年 11 月 University of Zürich Plant Science seminar; "A computational model of plant life cycle: Chromatin modification at *FLOWERING LOCUS C* and regulation of resource allocation contribute to control annual and perennial traits"; University of Zürich, Switzerland.

(4) 2009 年 9 月 Systems Biology Conference; "A computational model of plant life cycle: Chromatin modification at *FLOWERING LOCUS C* and regulation of resource allocation contribute to control annual and perennial traits"; Stanford University, USA.

研　究　報　告　書

「生体3次元特有の形態の解明手法の構築」

研究期間：　平成20年10月～平成24年3月
研　究　者：　昌子　浩登

1，研究のねらい

肝臓は、基本単位である肝小葉が無数に連結し構成される。肝小葉の内部構造をみると、どの隣り合う肝細胞をみても、血管系である類洞と外分泌系の毛細胆管の2種類の管にそれぞれ2カ所以上ずつ接しながら、見事な3次元特有の周期ネットワーク構造を自己組織的に作り上げている。しかも、上皮である肝細胞はその方向性を含んでいる。このような3次元の形態を理解するには数理の言葉を用いるのが有用であると考えられる。この研究では、共焦点顕微鏡を用いた観察をもとに、肝細胞の3次元上の方向性について数理的な指標化を行う。そして，2種の管の形作りや疾患による肝小葉内の3次元構造配置の転移について、観察をもとに、数理モデルを用いた解析により構造制御の性質や形態形成の仕組みを解明することを目指した。

2，研究成果

(1) 肝細胞－類洞－胆管の方向性の計測

肝小葉の3次元形態を観察するために、動物から摘出した肝臓サンプルを多重免疫染色し、共焦点顕微鏡により観察し、2次元画像の重ね合わせとして3次元像を取得する。自作したアプリケーションを用い、コンピュータ上での種々の画像処理を通して、コンピュータ内に類洞，毛細胆管、肝細胞などの3次元再構築する。例えば、類洞と毛細胆管と肝細胞1つを3次元プロットすると、図1(b)のように表される。太さの異なる類洞と胆管は、互いに交わらない3次元配置が見ることができる。

極性を持つ上皮細胞のうち、2次元シート的に配列する細胞では、その裏表の関係により明確にその極性が理解できる。しかし、肝細胞の極性、つまりタイトジャンクションで裏打ちされる毛細胆管側の表側と、血管系である類洞の裏側が3次元的にどのように配置されているは複雑である。この問題に対し、観察をもとにその数理的指標化を行ってきた。図 1(c)の球面は、(b)で示した肝細胞の重心からいろいろな方向に対して距離を離していき、最初にあてはまる別の構造を球面上に表したものである（赤：類洞、緑：胆管、青：他の肝細胞）。この球面を、量子力学で用いられる球面調和関数の分布の球面上分布（図1(d)の(m,l)で決められる球面上の分布）の重ね合わせで表す。3次元空間の基本軸の設定については、肝細胞ごとに、さまざまな方向を基軸にとり、相関のよいものをその基軸として選んだ。このようにして得られた類洞、胆管、隣の肝細胞のそれぞれの球面調和関数の係数ベクトルを平均したものが図1(d)である。この結果を、球面調和関数を用いて表してみると、類洞は直線的な方向と共にその垂直方向に存在しやすい。また、胆管は類洞の存在しやすい方向の隙間方向に存在しやすいという傾向がわかった（投稿準備中）。

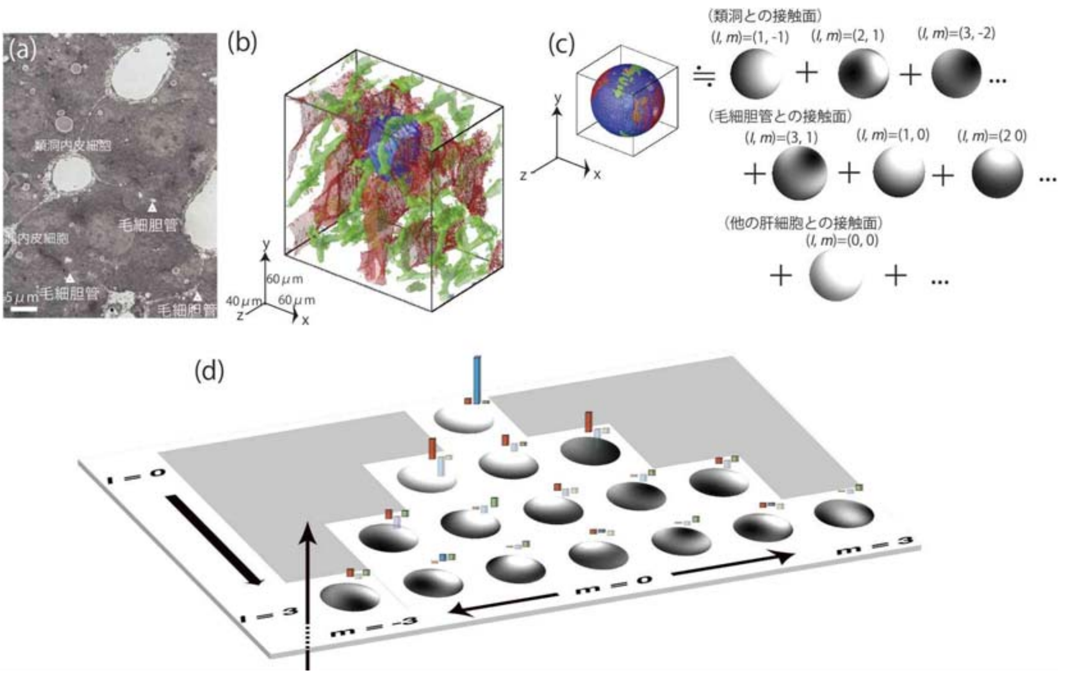

図1 (a) マウス肝細胞の TEM 像 (b)類洞(赤)と毛細胆管(緑)の3次元立体構築像。1つの肝細胞(青)も表示。(c) (b)で示した肝細胞を球形として、表面上のどの方向に他の構造が接触しているかを図示する(左)。緑の方向に胆管、赤の方向には類洞、青の方向には他の肝細胞が接していた。これを、球面調和関数を用い、類洞、毛細胆管、他の肝細胞と接触する面を用いて表す。メインの正の要素のみを表示した。(d) 肝小葉内の中心静脈と門脈の中間領域の肝細胞の画像解析結果をまとめたもの。係数の平均を球面調和関数の係数(m,l)ごとに示した(赤棒:類洞、緑棒:胆管、青棒:他の肝細胞)。

(2) 疾患による3次元形態変化

肝がんの原因として現在その割合が増加している非アルコール性脂肪肝炎(Non alcoholic steatohepatitis : NASH) について、疾患による肝小葉の3次元形態変化を解析した。ヒトの NASH 症状に類似した状況を作成できるように調整された飼料を与え続け、疾患モデルラットを作成し、4週ごとに肝臓サンプルを採取した。図2(b) は調整された飼料を与えて続けて 12 週後の個体から得た肝細胞の TEM 像である。肝細胞に脂肪沈着し、肥大化した脂肪滴が見られる。また、図2(a)のコントロール像に比べて肝細胞が大きくなっていることがわかる。サンプルの共焦点画像を取得し、3次元再構築像を作成し、3次元形態特徴量を計測した。図2(c)-(f)はそれぞれの時間のサンプルの3次元構築例である。時間とともに、脂肪滴が大きくなり、押しだされるように類洞が細くなっていくのがわかる。12 週や 16 週のサンプルについて、図1(c)で見たように肝細胞の他の構造の接触面を見ると、傾向が変わっていた。また、脂肪滴の配置をフーリエ変換してその配置を調べると、球の最適な配置の一つである体心立方構造のピークがしばしば見られるようになった。

この立体構造の転移点の解析、ならびにケアーを行い脂肪滴の拡大を止めたときなどの仮想的な状況を考察するため、これまで提案されているポッツモデルをもとに、各格子点上にベクトルを与え、そして(1)で得た細胞接着力に対する方向性を導入したモデルを用いて考察した。肝細胞内に脂肪滴を成長させていくと、ある点から肝細胞の極性などによる立体配置性から脂肪滴

の球としての立体配置性へとシフトしていくことが見られる。そして、こうした配置になった状態から今度は脂肪滴の体積を減らす操作を行ってみると、先ほどの転移点を大きく超えても、なかなか肝細胞の極性が制御する配置に戻ることができない。この現象は、脂肪性肝疾患が進み、あるステージまで達してしまうと、いくらケアーを行っても、予後不良になり重症化は免れ得ない現象と対応しているのではと考えられる。これまで分子的なメカニズムの解析が行われてきているが、肝小葉内の3次元形態も解析も必要ではないかと思われる。

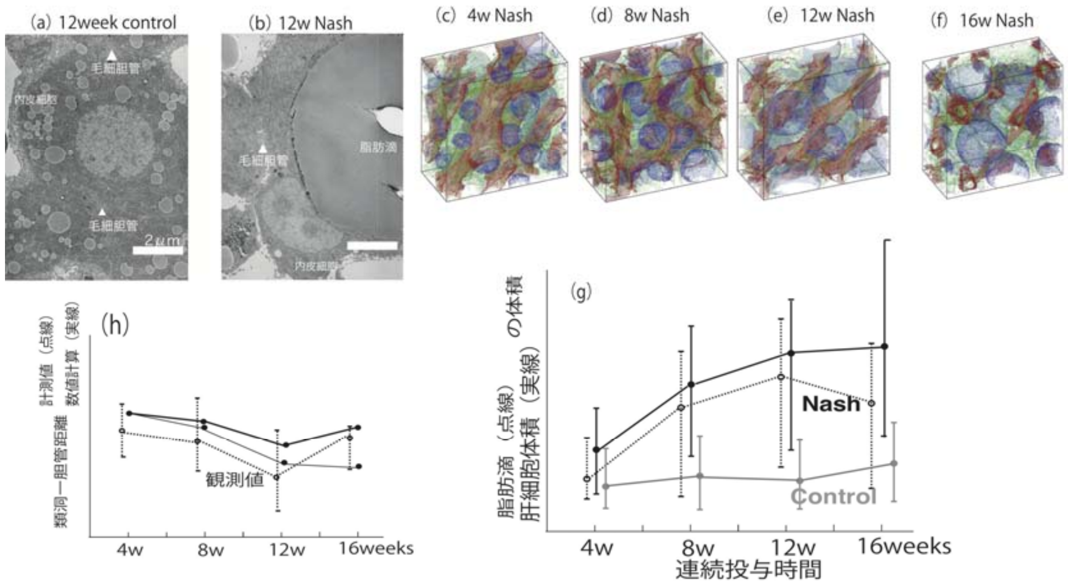

図 2 (a), (b) 連続投与 12 週後のサンプルの肝細胞（TEM）像。(c)–(f) 各週のサンプルの3次元構築の例。類洞（赤）、脂肪滴（青）、細胞膜（緑）で示す。(g) 脂肪滴、肝細胞の体積の変化。(h) 類洞と胆管の最小距離の推移（点線：計測値、実線：モデルより得た値）。

（3）太さの異なる2管の形態形成

（1）で見たように、1〜十数μｍ のオーダーの直径の、太さのことなる2種類の管ネットワークが見事に3次元独特の周期的な構造を作り出している。この形成過程のメカニズムの理解のため、観察をもとに、(2)で用いた Potts モデルを用いて解析を行ってきている。

生後5日から5日ごとにうさぎ肝臓を取り出し、肝小葉内の相対位置ごとに立体構築を作製した。図 3(a)–(i)の5、10、30日の毛細胆管、類洞の配置を表す。類洞が門脈域から中心静脈に向けて徐々に形成される。一方で、胆管は隣り合う肝細胞が形成されると形成されるが、管自体がつながっていくのは、中心静脈付近から徐々に形成されていくのがわかる。この形成を(2)で用いた改訂 Potts モデルにより作成することを試みている。現在、観察で見られた事実を、画像解析により得られた3次元パターンの特徴量を比較することでモデルのパラメータ推定を行った。現在、サンプルデータの充実させること、そして数値解析をより広げ、このモデルでの形成されるパターンの多様性などを検討している。

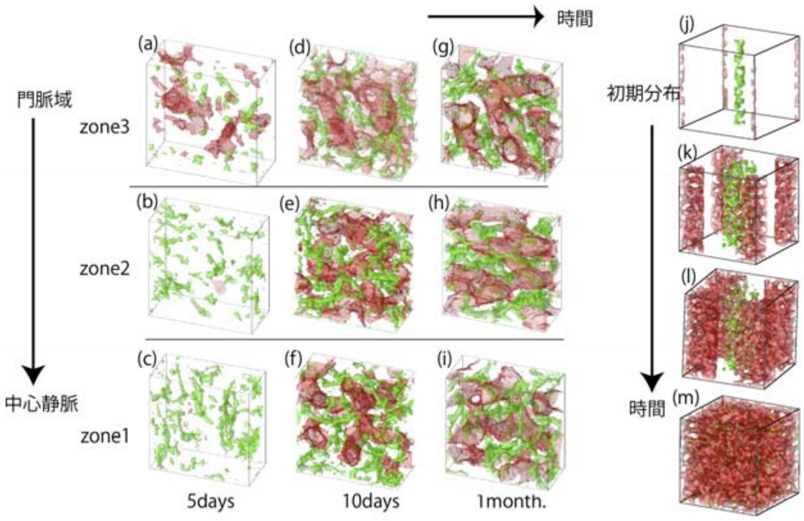

図 3 (a)-(i) 類洞と胆管の立体構築図（赤：類洞、緑：毛細胆管）。肝小葉内の相対的位置（縦）とサンプル取得の生後の時間（横）とに分けて表示。(j)-(l) 改訂 Potts モデルを用いたシミュレーション結果。最初、正方領域内の四隅に成熟した類洞内皮細胞が、中心部分に胆管が形成されているとして数値計算を始めた。

3．今後の展開

肝小葉3次元周期構造を、画像解析、数理的手法を用いて構造の認識、ならびに数理モデルを用いた現象の理解という枠組みで肝小葉の形態理解を試みてきた。現在は部域に分けて観察計測してきたが、１つの肝小葉でさえ1ミリ立方程度の大きさで、このスケールのギャップに心配が残る。そのため、我々はマクロな構造理解のために、我々は血管鋳型法を用いて3次元構造を観察する方法を構築してきている。今後、この手法により得られるデータと比較して、不備がないかどうかということを検証したい。

また、さきがけ期間に構築してきた方法により、さまざまな課題に挑戦できるようになったと思う。例えば、さまざまな動物の肝臓の方向性比較をぜひ近いうちに行いたい。また、臨床に役立つよう疾患進行と3次元形態の進行との関係をより詳細に調べたい。臨床の先生方に我々の推論をきいてもらい、可能なら患者様の肝マーカや血液検査の各種データと生検サンプルによる推論の検証、予後の状態の違いの理解など具体的に取り組んでいきたい。

4．自己評価

上皮細胞である肝細胞の 3 次元上の方向性を、球面調和関数を用いて指標化することで、複雑な3次元の方向性を数理的に表現する方法を構築できた。この手法を足がかりに、肝小葉内の立体構造の形態形成と動的な形態制御について観察、評価を行ってきた。また、この手法による表示により細胞の細胞接着方向性を自然に導入した Potts モデルが作製でき、3次元形態配置変化の解析を行ってきた。これらを通して、肝細胞―類洞の3次元配置と疾患の動態の関係性を示唆してきた。しかしながら、類洞と毛細胆管の3次元周期ネットワーク構造形成過程の観察も含め、3次元立体構築像を得るための設定構築は予想された以上に難航した。数理的な画像解析手法、数理モデルを構築も含め、ようやくすべての面で道具立てが完了した段階である。今後、この3年半の研究期間の間に獲得できた多くの技術的、数理的なノウハウを生かし、現在

取り組んでいる胆管、類洞の形態形成のメカニズム解明を含め、生体に見られる3次元形態の形成機構とその動的な形態制御機構メカニズムの理解を深めていきたい。

5, 研究総括の見解

肝臓の基本単位である肝小葉の 3 次元ネットワーク構造を、共焦点顕微鏡を用いて画像化し、肝小葉を構成する類洞や毛細胆管の形態形成、肝炎などの疾患による 3 次元構造の形態変化等を，数理モデルを用いて明らかにするという意欲的な提案であった。実際の研究においては、数理解析が可能な鮮明な画像取得が中々進まず大変苦労をしたが、期間後半になって要求レベルの画像が得られるようになり、複雑な 3 次元構造の特徴を表現する数学的な指標を提案して形態変化の数量化に成功したことは評価できる。さきがけ研究者らしく，本人が一人で粘り強く取り組んで獲得した技術的、数理的ノウハウが今後の展開に生かされることを期待したい。

6, 主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Hiroto Shoji and Keitaro Saitoh, "Pattern Formation in Chemotaxic Reaction-diffusion Systems" *Int. J. Biomath.*, .5. 1260013 (9pages) (2012).
2. Hiroto Shoji, Makiko Nonomura and Kohtaro Yamada, "Three-dimensional specific patterns based on the Keller-Segel model" *Forma,* in press.
3. Hiroto Shoji, Makiko Nonomura and Kohtaro Yamada, "Three-dimensional aggregation patterns in Keller-Segel models" *Pion. J. Adv. in Appl. Math,* 3, 59-72 (2011).
4. Fumio Matsui *et. al.*"Effects of Stress of postnatal development on corticosterone, serotonin and behavioral changes" *Brain & Development*, 32, 517-523 (2010).
5. Hiroto Shoji,"Entrainment and Modulation of Turing Patterns under Spatiotemporal Forcing" *Forma*, 24, 23-27 (2009).

（2）特許出願

研究期間累積件数:0 件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

学会発表

･「不可抗力をかけた系の観察･測定から生体システムを考える」 第1回複雑系科学シンポジウム 主催：日本科学者会議複雑系科学研究会, 2011/9/20, 大阪大学豊中キャンパス.

･「3D Aggregation Patterns in Keller-Segel Models」The 3rd China-Japan Colloquium of Mathematical Biology 2010/10/18-21, Beijin, China.

著作物

1. 昌子浩登 「3 次元チューリングパターン」 自己組織化ハンドブック，NTS 出版，p338-341 (2009).

2. 昌子浩登「Cellular Potts モデルを用いた肝小葉3次元周期構造の解析」 **再生医療製品の許認可と組織工学の新しい試み**, CMC 出版，印刷中.

研　究　報　告　書

「グループ構造をもつネットワーク上の感染症伝播モデル」

研究期間:　平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月
研 究 者:　増田　直紀

1、 研究のねらい

新興感染症やバイオテロの脅威が示唆するように、感染症の大規模流行への対策は急務である。感染を媒介する個体のつながりが成すネットワークは複雑である。その中で、家庭や学級のように小さくて密なグループどうしが比較的疎に結合している、というグループ構造（ネットワーク研究では、コミュニティ構造、モジュラー構造とも呼ばれる）は、特に人間社会において普遍的に見られる。しかし、このようなグループ構造をもつネットワーク上での伝播現象については、有効な数理モデルがほとんどなかった。本研究では、そのようなネットワーク上の感染症の伝播や防御対策の数理解析手法を確立することを目的とした。

2、 研究成果

（1）グループ構造をもつネットワークにおける予防接種アルゴリズム

ネットワークに対して事前に免疫を行うという作業は、全員の中から優先的に予防接種する人を決める、ということである。その選び方の良し悪しによって、実際に感染症が勃発してしまった場合の流行の大きさが異なってくる。選び方の良し悪しにはいくつかの基準がありうるが、わかりやすい基準のひとつは、与えられた予防接種人数のもとで、なるべく効率的にネットワークを小部分（サブネットワーク）に分断することである。これが実現されれば、1 箇所で発生した感染症を、一つのサブネットワークの中でおさえこむことができる。ネットワークに特段の構造が仮定されない場合は、ハブ（隣人が多い人）を優先するという順番決めが高性能を発揮する。しかし、ネットワークにグループ構造がある場合には、有効な予防接種アルゴリズムは特に知られていなかった。本研究では、グループ構造を持つネットワークに対して有効な予防接種アルゴリズムを構成した。提案手法では、元のネットワークを、グループとグループのつながりのネットワークに粗視化する（図 1）。その上で、各頂点（人）が、グループ間のつながり（頂点間の細かいつながりではない）に貢献する度合いを理論的に評価した。評価は、線形代数に基づく固有値中心性という各頂点（ここでの頂点とは、グループ間ネットワークにおける各グループ） の重要性指標に基づいて行った。提案手法は、代表的な人工的に生成されたネットワークや、いくつかの実ネットワークに対して従来手法よりも有効であった（Masuda, New J. Phys. 2009 に掲載）。

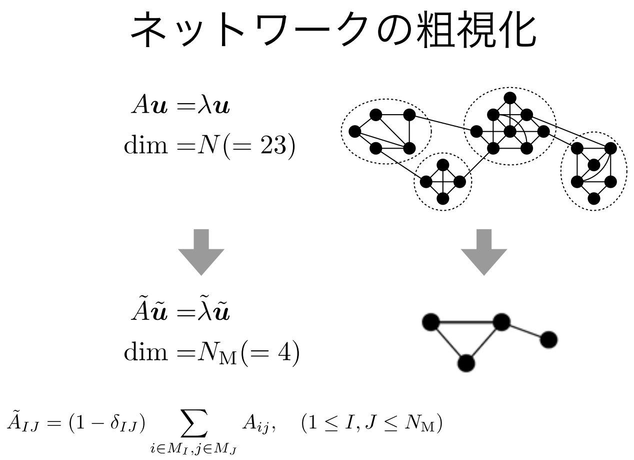

図1　グループ構造を持つネットワークの粗視化

（2）ネットワーク上のダイナミクスの数理計画法を用いた最適化

グループ構造を持つネットワークに限らないことではあるが、ネットワーク上のダイナミクスの多くの問題は、与えられたネットワークに一対一対応する隣接行列やラプラシアン行列などの行列の固有値問題に帰着される。感染症のダイナミクスについてもこのことはあてはまる。したがって、ネットワーク上の感染症を抑えるという問題をネットワークの固有値問題として定式化して求解するという問題解決の道筋が考えられる。本研究では、感染症ダイナミクスよりは扱いやすい、同期現象やランダム・ウォークの場合のダイナミクス最適化問題を、ネットワークのラプラシアンの固有値最適化問題として解析した。与えられた制約下のもとで同期が起こりやすい、または、ランダム・ウォークが速く定常状態に行き着きやすいことを最適化の目的とした（これらは、同じ固有値問題に帰結する）。これらは直接感染症の問題であるわけではないが、私がより知見を持っているこの場合を把握することは、より難しいと思われる感染症の問題を解くために必要なステップであると判断した。一定数の頂点を除去することにより、ラプラシアンの最小の正固有値を最適化する問題を定式化した。特に、頂点除去により固有値が変動する量を一次近似で求める手法を定式化し、それを逐次適用するスキームを開発した。いくつかのモデルネットワークと実在ネットワークで、開発されたスキームを既存の他のものと比較した結果、大半の場合に開発されたスキームの方が高いパフォーマンスを示した（Watanabe and Masuda, Phys. Rev. E 2010 に掲載）。次に、逐次適用して求められた結果は、一段一段では最適解を出すかもしれないが、最終的には最適解を出すとは限らない。そこで、同じ問題を、半正定値計画という数理計画法の枠組みを用いて定式化した。その結果を実ネットワークに適用したところ、Watanabe-Masuda の手法には及ばなかった。本手法は緩和問題なので何ら矛盾はないが、その原因を探索中である。ただし、数理的には新奇性が認められるのでプレプリントとしてまずは公開した(Masuda, Fujie and Murota, METR 2011 に掲載）。

（3）メタポピュレーションの構造をもつネットワーク上の感染症数理モデルの解析

感染症を媒介する人と人のつながりは、例えば性感染症の場合は、ある時間範囲では

変わらないネットワークであると見なすことが正当化される。しかし、インフルエンザのような感染症の場合では、実際のところあまり正当化されない。むしろ、人は短いタイムスケールで動き、行った場所で接した人との間に感染が起こる、と見なす方が現実的である。この場合は、メタポピュレーションというグループがネットワークをなしていて、人はメタポピュレーションからメタポピュレーションへと移動し、かつ、感染症伝搬のダイナミクスが同時に起こる、というモデル化（図 2 のネットワーク構造）で解析することがある。このようなモデリングは数理疫学や生態学などで以前から知られていたが、近年の計測技術の発展や、航空網や病院内の人間関係のような新しいデータが取得可能になってきたこと、また、複雑ネットワーク研究の知見が応用されてきたことから、2007 年くらいから注目を浴びている。そのようなネットワークは、本研究課題の対象であるグループ構造をもつネットワークの数理モデルのまさに一例である。本研究では、メタポピュレーション構造をもつ任意のネットワークの SIS モデルに対して感染が大きく広がる閾値（基本再生産率が 1 となる感染率に相応）を求める効率的なアルゴリズムを開発し、いくつかのネットワークに適用した。その結果、個体が拡散的に移動する効果は、むしろ感染閾値を高める（感染を起こしにくくする）ことがわかった。ただし、閾値より高い感染率においては、拡散が大きい方が感染人数が大きい。このようなトレードオフがある。 SIR モデルの数値計算においても、定性的に同じ結果が観察された（Masuda, New J. Phys. 2010 に掲載）。

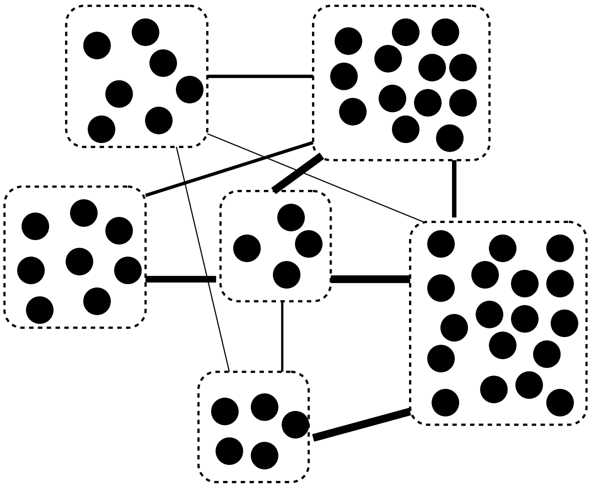

図 2 メタポピュレーション構造を持つネットワーク。黒丸は個体、点線の四角はメタポピュレーションを表す。

（4）母関数を用いた伝搬的な予防の効果の解析

ネットワーク上における伝搬的な予防の効果を理論的に検証した。伝搬的な予防とは、あたかもウイルスが広がっていくように（バイラルな様式で）予防を行うことである。クチコミを通じて、感染予防の知識が人から人へと伝わる場合はその例である。接触人数が人により異なりその分布はわかっている場合について、母関数を用いることにより、伝搬的な予防の効果を定量化する手法を開発した（Hasegawa and Masuda, J. Stat. Mech. 2011 に掲載）。

3、今後の展開

本研究遂行中に、メタポピュレーションからなるネットワーク上の感染症の解析（研究成果の(3)） が盛んになり、また、人と人の相互作用が詳細な時刻つきでわかるテンポラル・ネットワー

クについての研究が活発に行われ始めた。私も、後者について、そのようなデータの解析を感染症動態の基礎を与える人と人の相互作用の順番について、研究成果を発表した(Takaguchi, Nakamura, Sato, Yano and Masuda, Phys. Rev. X 2011 に掲載)。これらの 2 つの事柄は、ネットワーク（グループ構造をもつものも、もたないものも含む）上の感染症の数理モデル、さらには、その実用化を目指すにあたって、これから数年における研究のフロンティアであると思われる。私は、特に後者のテンポラル・ネットワークに着目して、この方向での研究をさらに発展させる予定である。

数理計画法と感染症制御との関係は、古いようで新しい分野である。というのは、ネットワーク構造を真面目に考えに入れた上での感染症制御の数理的研究は、ヒューリスティックな方法に基づくものがほとんどであると思われるからである。数理計画法（特に最適化）の手法はまだこの分野に十分に適用されていないと感じられる。この観点からは、研究成果の (2) の研究を発展させることを目指す。

4、 自己評価

感染症伝播ダイナミクスよりは予防戦略に重点がシフトしたものの、研究成果 (1)、(3)によって、当初の目標はクリアできたと考えている。また、研究成果 (2) は性能が低いという意味でプレプリントの形では既発表ながらもまだ完成度が低いと判断している。また、研究成果 (3) で述べたメタポピュレーションのネットワークと今後の展開で述べたテンポラル・ネットワーク、特に後者は、本課題遂行中に世界中で新しく研究が発展した分野である。これらは、現在において、感染症動態を含む、ネットワークにおける諸現象の現在の大きな研究パラダイムの 2 つであると思っている。人のソーシャル・ネットワークの多くがグループ構造を持つことを鑑みると、メタポピュレーションやテンポラル・ネットワークの研究は、グループ構造をもつネットワークの研究と自然に融合することが予想される。したがって、これらの研究に対して論文を出すことができたことを自分ではポジティブに判断している。

5、 研究総括の見解

人間関係ネットワークにおいてしばしば見られる、モジュラーネットワークに注目し、その上で広がる感染症とその防止対策に関する数理モデルを構築し、解析手法を確立するという、斬新かつ先見性の高い課題に世界に先駆けて取り組んだ。具体的には、モジュラーネットワークを小部分に分断することにより、予防接種を効率的に行うアルゴリズムを構築した。また、モジュラーネットワークをメタ個体群と見なすことにより、個体の移動が感染症の流行に及ぼす効果を評価するなど、数多くの優れた論文成果に結びついた。最近では、人と人との対面相互作用を取り入れたテンポラルネットワークに取り組むなど、常に最新の研究動向に目を配り、新しい着想を生み出す、日本では突出した存在であり、今後の進展が大いに期待される。

6、 主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Naoki Masuda, "Immunization of networks with community structure" New Journal of Physics 11, 123018 (2009)

2. Takamitsu Watanabe and Naoki Masuda, "Enhancing the spectral gap of networks by node removal" Physical Review E 82, 046102 (2010)
3. Naoki Masuda, Tetsuya Fujie and Kazuo Murota, "Application of semidefinite programming to maximize the spectral gap produced by node removal" METR2011-37, October (2011) http://www.keisu.t.u-tokyo.ac.jp/research/techrep/2011.html
4. Naoki Masuda, "Effects of diffusion rates on epidemic spreads in metapopulation networks" New Journal of Physics 12, 093009 (2010)
5. Takehisa Hasegawa and Naoki Masuda, Robustness of networks against propagating attacks under vaccination strategies. Journal of Statistical Mechanics, P09014 (2011) 6. Taro Takaguchi, Mitsuhiro Nakamura, Nobuo Sato, Kazuo Yano and Naoki Masuda, "Predictability of conversation partners" Physical Review X 1, 011008 (2011)

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

増田直紀, 今野紀雄. 複雑ネットワーク. 近代科学社 (2010)

増田直紀. なぜ 3 人いると噂が広まるのか. 日本経済新聞出版社 (2012)

研 究 報 告 書

「ランダムグラフによるゲノム進化の確率モデリング」

研究期間: 平成 20 年 10 月～平成 24 年3月
研 究 者: 間野 修平

1, 研究のねらい

ゲノムとは、個体の構成に必要最低限な遺伝情報の集合です。本研究が対象とした生命現象は、その進化、すなわち遺伝的浮動、突然変異、自然淘汰などの事象によるゲノムの時間発展です。進化研究においては再現性により仮説を実証することは困難ですから、現在の標本から過去の現象を統計学的に推測します。統計学的推測にはモデルが必要ですが、ゲノム進化には確率過程が適しています。本研究では、標本が従うランダムグラフを導出し、統計的推測における計算手法を開発しました。

2, 研究成果

ゲノムは1次元に配置された点の集合ですが、各点は異なる状態をとりえます。状態とは、点が遺伝子座を指す場合には対立遺伝子、点が塩基サイトを指す場合は一塩基多型を指します。有限母集団の各点の状態を相対頻度分布により指定し、進化的事象による頻度の時間発展について、集団サイズで時間をスケールし、拡散極限をとります。これが母集団のモデルです。

統計学的推測においては、標本が従う統計モデルが必要です。尤度は頻度の函数ですが、頻度は上の拡散過程に従う確率変数ですので、階層モデルとみなします。進化研究において興味があるのは進化的事象を特徴づける超母数ですから、相対頻度を上の拡散過程が定める測度で積分して得られる周辺尤度を求めます。本研究で扱った統計学的推測は、周辺尤度を最大化する進化的事象の超母数を選ぶこと、すなわち経験ベイズです。拡散過程により定まる測度が陽に与えられている場合には容易です。無限対立遺伝子モデル（突然変異が常に新しいタイプの対立遺伝子を生じる）の抽出公式として導出された Ewens 分布でいえば、母集団のモデルは線分上の測度値拡散過程、その定常分布はPoisson-Dirichlet 分布、多項抽出により得られる周辺尤度はEwens 分布です。しかし、これらの分布が陽に与えられる進化モデルは例外であり、ほとんどの場合は拡散過程が定める測度や周辺尤度を閉じた形で得ることはできません。そのようなときにどのように周辺尤度を求めるかということが問題になります。

一つの遺伝子座に遺伝的浮動が働く進化モデルを考えます。母集団のモデルとしてWright-Fisher拡散X_t,$(X_0=x)$、標本のモデルとして標本の系図における系統の数Y_t,$(Y_0=y)$をとります。Y_tは死滅過程であり、これらのマルコフ過程は双対になります。ここで、双対とは、2つのマルコフ過程X_t， Y_tが函数$f(x,y)$について$\boldsymbol{E}_x[f(X_t,y)]=\boldsymbol{E}_y[f(x,Y_t)]$を満たすことをいいます。$f(x,y)=x^y$としますと、左辺はすべて同じ対立遺伝子が抽出される周辺尤度ですが、これは右辺の死滅過程により定まりますので、死滅過程の分布さえ得られれば、拡散過程が定める分布を求める必要はありません。このような単純な進化モデルであれば標本のモデルが系図であることは自明ですが、複雑な進化モデルについては、標本のモデルとして系図をどのようなランダムグラフに拡張するべきかがわかりません。しかし、複雑な進化モデルであっても、拡散過程の生成作用素の導出は容易です。そこで、拡散過程の生成作用素を導出し、その作用素の考察から双対として標

本のモデルを導出できると考えられます。申請当時、このようにして複雑な進化モデルの周辺尤度を求める手続きを着想しました。本研究では、この手続きをいくつかの進化モデルに適用し、標本のモデルとしてのランダムグラフを導出するとともに、統計学的推測のための計算手法を考案しました。

（1）母集団のモデリングとランダムグラフの導出

① Ancestral Bias Graph：ゲノムのある部分が別の部分に複写される現象を遺伝子変換とよびます。A,T から G,C の塩基への変換が逆よりも多いことが明らかになっています。母集団のモデルとして、複数の完全グラフからなり、各グラフが一定数のサイトからなる投票者モデルを考えました。各サイトは他のサイトの意見（A,T/G,C）をランダムに継承しますが、他のグラフのサイトから継承するときには G,C を継承することが多いとします。この拡散極限の双対として標本のモデルとしてのランダムグラフを導出し、Ancestral Bias Graph (ABG)と命名しました。ABG を生成するマルコフ過程は標本を過去に遡る相互作用する粒子系の確率モデルで、祖先の合流（coalescent）、遺伝子変換、分岐の3つの進化的事象を伴います。遺伝子変換の頻度が大きいとき、ABG は Ancestral Selection Graph (ASG)とよばれる遺伝的浮動と自然淘汰を考慮した一つの遺伝子座の進化モデルにおける標本のモデルに近づきます。この投票者モデルは分集団化した母集団において移住率が対立遺伝子のタイプに依存するモデルともみなせるので、進化的事象の偏りは自然淘汰と区別しにくいという進化学的示唆が得られました。

②Ancestral Collision Graph：グラフに値をとる粒子系と衝突：進化モデルとして、状態がグラフのノードで表される関係をもつ相互作用する粒子系を考えました。無作為に2つの粒子を選び、それらがグラフの隣り合う状態である場合に限り一方の粒子の状態を他方の粒子の状態に移します。このマルコフ過程は、粒子が存在するノードが独立集合をなすときに停止します。状態を対立遺伝子と考えれば遺伝子の組み合わせによる生殖隔離のモデル、状態を分集団と考えれば分集団化した母集団における移住のモデルとみなせます。このモデルの拡散極限の双対として標本のモデルとしてのランダムグラフを導出し、Ancestral Collision Graph (ACG)と命名しました。ACG を生成するマルコフ過程は標本を過去に遡る相互作用する粒子系の確率モデルで、衝突のみを生じます。ここで、同じ状態をもつ2つの粒子が出会い、その状態の粒子と隣接した他の状態の粒子となって分かれる事象を衝突と定義します。粒子数は一定ですので、ACG は従来考察されてきた branching coalescent 過程（①の ASG, ABG のような分岐と祖先の合流を生じる確率過程）とは本質的に異なるランダムグラフです。状態が完全グラフをなすとき、辺の有無によらない稀な状態推移を考慮しますと、周辺尤度は Ewens 分布で与えられます。任意のグラフの周辺尤度を計算することで、標本について赤池ベイズ情報量基準の意味で最もよいグラフを選択することができます。

③既に提案されていた ASG, ancestral recombination graph (ARG; 組み換えを考慮したランダムグラフ）の性質についても考察しました。ARG において、双対をなす拡散過程が定める分布のモーメントを求めることは難しいのですが、ARG の構造に着目することで閉じた形を得る手続きを与えるとともに、マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) による数値計算法を考案しました。

（2）正確検定、尤度、事後分布の計算手法の開発

①正確検定における代数的手法：ゲノムのある部分の標本を並べたとき、配列のタイプの分布

は確率分割の実現です。確率分割は生命現象に限らない様々な現象に現われます。Ewens 分布は確率分割の基本的分布であり、ノンパラメトリックベイズにおける事前分布としても用いられています。最大数の大きさの分布は極値分布として興味深いので、Ewens 分布の一般化であるPitman 分布について最大数の大きさの分布の閉じた形を組み合わせ論的に導出しました。正確検定においてすべての分割を生成することは現実的ではありません。そこで、条件付き分布からの標本抽出を MCMC によりシミュレートし、数値計算しますが、分割をくまなく推移する規則が必要になります。そこで、各分割を単項式に対応させて多項式環を定義し、トーリックイデアルのGröbner 基底に対応する推移規則を導出しました。
②周辺尤度の確率的計算手法:本研究におけるランダムグラフの構成から、周辺尤度は標本を過去に遡る相互作用する粒子系の確率モデルの母関数になりますので、各状態の周辺尤度が満たす線形微分方程式系が得られます。ただし、状態の数が非常に大きいので代数的に解くことは現実的ではありません。そこで、係数を推移確率とみなして MCMC を用います。標本を初期状態としてランダムグラフを過去に遡る向きにシミュレートし、importance sampling により推移確率を補正し、粒子数が1になったときの境界条件を perfect simulation により定めます。この手続きを ABG に適用しました。

3, 今後の展開

確率分割のような様々な現象に適用できるモデリングと、それに伴う実用的計算手法を追求したいと考えています。また、喫緊の多くの課題に共通して必要とされていることですが、複雑なモデル、大規模なデータを扱えるモデリングと計算手法も追求したいと考えています。本研究とは方向性が異なり、捨象と近似が重要になりますので、本研究とは別に、すでに考察を進めています。これらのモデリング、手法をデータに適用し、様々な課題の解決に貢献していくことができればと考えています。

4, 自己評価

個人型研究さきがけ「生命現象の革新モデルと展開」という数理モデルを共通言語とする領域に参加させて頂きましたので、ゲノム進化の統計的推測に必要になるモデリングと計算手法に可能な限り数理的手法を導入することを目指しました。申請時の目標は具体的で、複雑な進化モデルについて、母集団のモデルとしての拡散過程が定める分布を求めることなく周辺尤度を求める手続きを実行するというものでした。計算サーバを購入させて頂きましたので、大規模な計算を素早く行うことができ、研究を効率的に推進することができました。目標が具体的でしたので、一応達成できたと考えています。しかし、数理の深みを追求できなかったこと、幾何的手法など試したかったにもかかわらず試すことなく終了を迎えた方向性が多く残っていることは残念です。今後の展開の中で努力したいと考えています。

5, 研究総括の見解

集団遺伝学において、従来のモデルのほとんどは個々の遺伝子の進化を対象としてきたが、今後は遺伝情報のセットであるゲノムの進化にも適用できる新しい数理モデルが必要になるとの問題意識のもとに、遺伝的浮動、突然変異、自然選択、遺伝子変換等の進化事象を組み入れた拡散過程の双対として、ゲノム標本の系統関係を表すランダムグラフを導出し、ゲノム進化

を統計学的に推測するという、独創的な課題に取組んだ。本人が保有する高度な統計学の知識や集団遺伝学の知識を駆使して、Ancestral Bias Graph や Ancestral Collision Graph と名付けたランダムグラフを導くなど、ゲノム時代にふさわしい新規な発想を導入したという点で高く評価できる。さらに本モデルのシミュレーションを効率的に実行するアルゴリズムの研究も同時に進められている所であり、今後は具体的な系への応用でも成果を上げてほしい。

6. 主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Shuhei Mano, “Duality, ancestral and diffusion processes in models with selection”. Theor. Popul. Biol. 75, 164-175, (2009).
2. Shuhei Mano, “Ancestral graph with bias in gene conversion”. arXiv: 0907.1127.
3. Shuhei Mano, “Duality between the two-locus Wright-Fisher Diffusion Model and the Ancestral Process with Recombination”, arXiv:1201.5557.

（2）特許出願

研究期間累積件数：0 件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

Shuhei Mano, “Duality between population and sample in interacting particle systems on graphs”, *ISM Symposium on Stochastic Models and Discrete Geometry*, October 7, 2011. Tokyo.

Shuhei Mano, “Ancestral Graph with Bias in Gene Conversion”, *Molecular Evolutionary Studies in Post-Genomic Era: Workshop on Evolutionary Analyses and Applications*, June 9, 2011. Xian, China.

Shuhei Mano, “Ancestral Process with bias in ectopic gene conversion or migration”, *International Center for Mathematical Sciences Workshop: Stochastic Population Dynamics and Application in Spatial Ecology,* June 18, 2009. Edinburgh, U.K.

研 究 報 告 書

「神経系の過渡応答特性から神経系における情報キャリアを解明する」

研究期間： 平成２０年１０月～平成２４年３月
研 究 者： 山野辺 貴信

1，研究のねらい

神経系において、スパイクと呼ばれる電位変化の列が情報を伝えるために用いられるが、そのどの統計量により情報が伝えられているかは、未だに解決されていない問題である。デジタル回路では high と low のパターンによって情報が伝えられるが、そのためには high と low が過去のデバイスの状態とは独立に生成されなければならない。このためデジタル回路では立ち上がり時間、立ち下がり時間と呼ばれる過渡応答状態を十分に短くしてある。これと同様に考えれば、神経細胞がスパイクを生成するとき、神経回路の情報処理にかかる時間よりも十分に短い過渡応答状態でスパイクを生成するのであれば、デジタル回路のようにスパイクパターンで情報を運ぶ可能性がある。そうでない場合、連続するいくつかのスパイクが神経細胞のハードとしての特性が原因で互いに相関を持った形で発生し、情報が運ばれるのではないかと考えられる。そこで、神経細胞の過渡応答を調べることが重要になる。しかし、神経細胞は非線形かつイオンチャネルなどの確率的挙動によるノイズを持つ素子であり、その過渡応答の解析方法は整備されていない。本研究では、まず、イカ巨大軸索を用いた実験を行い、神経細胞の過渡応答特性を調べ、さらに神経細胞モデルのようなノイズを持つ非線形システムの過渡応答解析法を開発することを目指した。これらを元に神経細胞モデルの過渡応答の解析を行い、神経細胞の過渡応答特性がどのようにスパイク列による情報伝達と関わるのか調べることをねらいとした。

2，研究成果

(1)イカのパック輸送

イカ巨大軸索は活動電位を生成するのに必要な膜電位依存性ナトリウムチャネルと膜電位依存性カリウムチャネルをもち、また、その形状がほぼ円筒状の構造を持つため精密計測が行える。我々はこのイカ巨大軸索を用い、時間変化するパルス列入力に対する過渡応答特性を調べることを目指した。日本近海で実験に適した巨大軸索を持つイカは、ヤリイカ、ケンサキイカ、アオリイカである。これらのイカがとれる時期はそれぞれ限られており、一年中実験を途切れなく行うためには、イカを人工海水が入ったパックに入れ、航空便で輸送する必要があった。イカのパック輸送にはいくつかの方法があり、商業ベースに乗るためいくつかの業者が存在する。しかし、輸送時間、輸送時の気温によりパック中の海水温度と pH が変化するため、輸送中に死んでしまうイカや、イカを水槽に放したとき、水槽の環境に適応できなく、死んでしまう場合が多くあった。そこでイカの輸送に必要な条件を調べた。重要なのはパック内の人工海水の温度と pH であるが、例えば、ケンサキイカの場合、到着時のパック内の人工海水の温度がおよそ 15℃以上、19℃以下、pH が約 6.9 以上であれば、イカを比較的良好な状態に保てる確率が高いことが分かった。

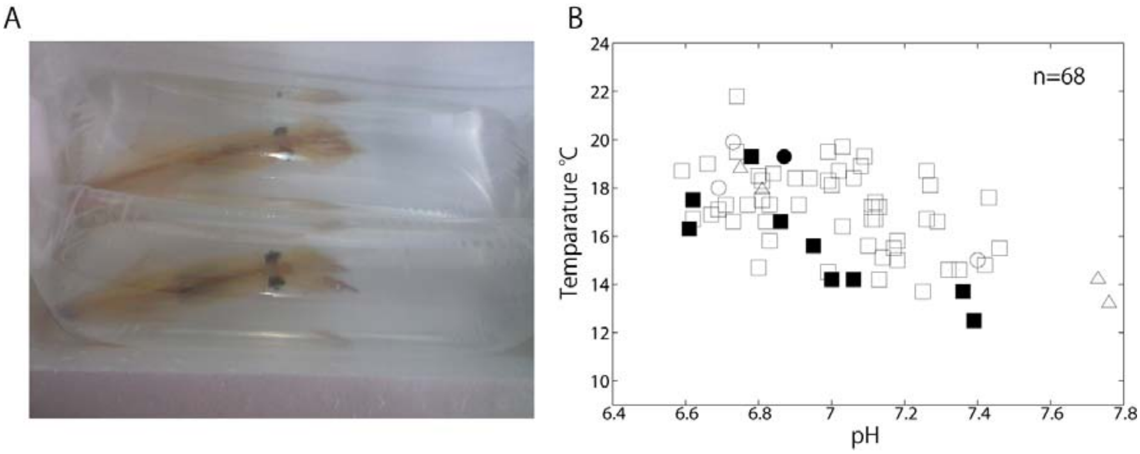

図1　A. 九州から到着したケンサキイカ。B. 到着時の人工海水の温度と pH。午前11時ごろにパック輸送が開始され翌日午前5～6時台に水槽室に到着したケンサキイカに関するデータ。□：生存、■：反転しているが生存、○：墨を吐き死亡、●：パックに穴をあけ死亡、△：その他の原因で死亡。

(2)イカ巨大軸索の過渡的パルス列入力に対する応答

　神経回路を構成する神経細胞は他の神経細胞から時間変化するシナプス入力を受ける。この入力の変化が、神経細胞が定常状態へ収束するスピードより速ければ、神経細胞は過渡状態で動作する。そこで、神経細胞の過渡応答特性を調べるため、イカ巨大軸索を用い実験を行った。まず、イカ巨大軸索が自発的にスパイクを発生する状態にし、そこに振幅が一定、瞬時周波数（パルス間隔の逆数）が、ある固定された範囲で、一定の割合で単調増加または単調減少するパルス列入力を加えたときのイカ巨大軸索の応答を調べた。図2に示す結果は、入力瞬時周波数が単調増加するか、単調減少するかで、巨大軸索の膜電位応答が異なった。すなわち、神経細胞の応答は過去の神経活動に依存した。また、巨大軸索の内部状態の違いにより、同じ入力を加えても異なる膜電位変化がみられた（図2の太線と細線）。さらには入力と出力が入力瞬時周波数の変化とともに緩く同期する応答が見られた。このような応答特性がどのようにして生じるのかを調べるため、以下に述べるような理論的解析を行った。

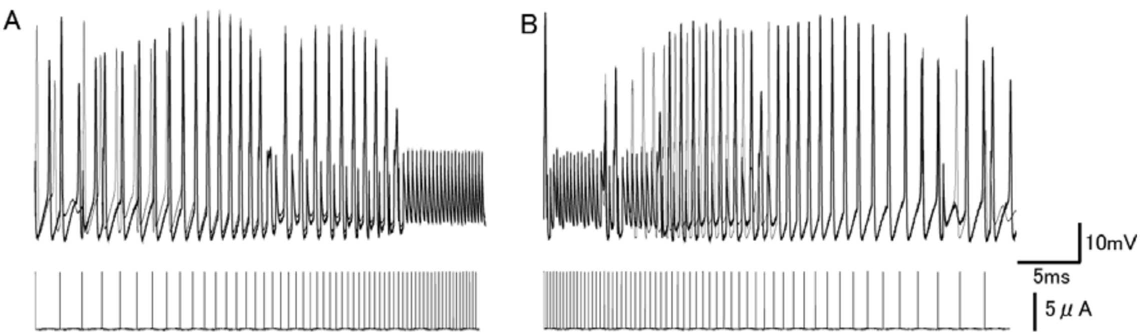

図2　パルス列入力の瞬時周波数が単調増加する場合（A）と単調減少する場合（B）のイカ巨大軸索の応答。

(3)ノイズを持つ非線形システムの過渡応答解析法の開発

　神経細胞はイオンチャネル、シナプスなど様々なノイズ源をもつ非線形システムである。こ

のようなシステムの過渡応答特性を調べる方法は整備されていなかった。そこで我々は確率微分方程式で表される内在性ノイズ項を含む神経細胞モデルを用い、このモデルがパルス入力を受けるとき、相空間全体で状態点の密度関数がどのように発展するかを示す、Markov 作用素を構築した（Phys. Rev. E に掲載）。Markov 作用素を構築するには、積分核として、神経細胞モデルのある初期点からの推移確率密度関数を求める必要があるが、これが困難だった。この困難を克服するため金融派生商品の理論価格を計算するために用いられる理論を用いた。この理論は、現時点からT時間だけ経過したときの金融派生商品の期待値を計算するために用いる方法である。Markov 作用素は線型作用素なので、その振る舞いはスペクトルを調べることで解析が可能である。実際、スペクトルの特性から Markov 作用素を定常状態成分と過渡状態成分に分解し、神経細胞モデルの相空間全体のダイナミクスを調べた。

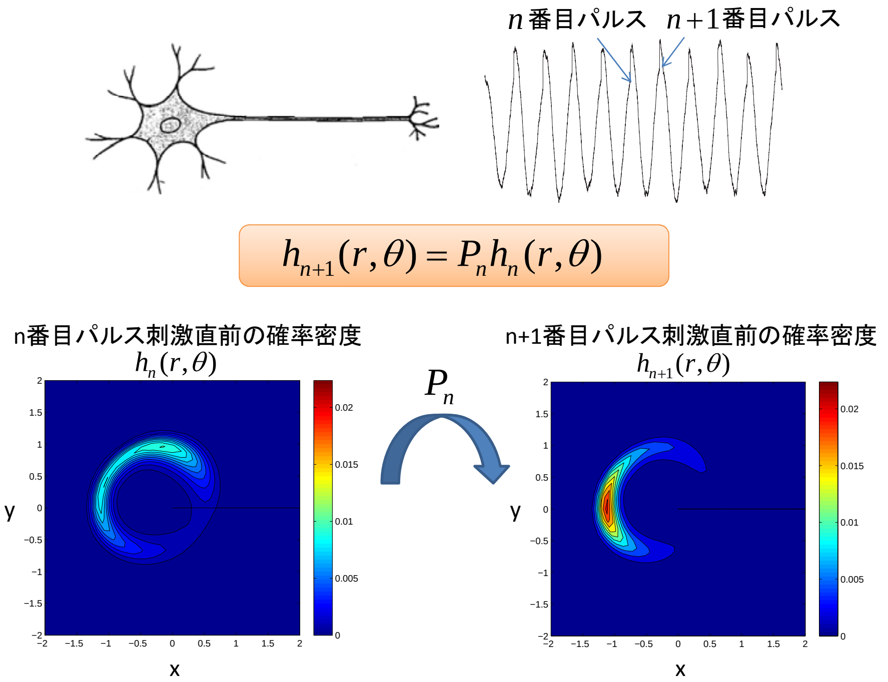

図3　ノイズを持つ非線形システムの解析法。n+1 番目のパルス直前の神経細胞モデルの状態（確率密度）が、n 番目のパルス直前の確率密度に、n 番目のパルスの入力に対応する Markov 作用素を作用させせることにより計算される。ここで、Markov 作用素は入力パルス振幅およびパルス間隔に依存する。

3，今後の展開

まず、3年半の研究期間で多くの成果およびその萌芽を得ることができた。これらを順次論文にする作業を進めていきたい。さらに、さきがけの研究を通して本研究で導入した Markov 作用素をパルス列入力だけでなく連続な入力が入る場合の神経細胞モデルの応答についても拡張し、解析を進めていきたいと考えている。このような拡張された Markov 作用素の性質をもとに、スパイク頻度などの生理学的に重要な統計量が、神経細胞モデルや入力のどのパラメータに依存して決まるのか解析し、神経系における情報キャリアとして適当なのはスパイク列のどの統計量な

のか明らかにしていきたいと考えている。

4，自己評価

イカ巨大軸索を用いた実験では、イカ輸送の改良に多くの時間を費やした。最近のアオリイカを用いた輸送ではさらに到着時生存率が改善しているため、イカ巨大軸索を用いた実験を安定させることができたと考えている。理論研究においては、内在性ノイズを持つ神経細胞モデルで、相平面全体のダイナミクスを表す Markov 作用素を構築することが可能であることに気付いたことが当初の予想外の成果であった。また、Markov 作用素の特徴を用い、過渡状態成分を定量化することが可能であることを示すことができた。これにより、神経細胞の過渡応答特性がどのように情報キャリアと関わるのか論ずるための基礎ができたのではないかと考えている。

5，研究総括の見解

神経系においては情報がスパイク列に変換されるが、スパイク列のパターンや生起頻度など、スパイク列のどの統計量が情報キャリアを担うのかといういまだ未解決の重要問題に対して、神経系の過渡応答特性を実験と理論の両面から解析する事により明らかにするというチャレンジングな課題に取組んだ。実験ではイカ巨大軸索に加えたパルス入力に対する応答が過去の神経活動に依存する事を見いだした。これに対し、ノイズを持つ非線形システムの過渡応答解析法を開発し、過渡状態成分の定量化を行った事は高く評価できる。今後は、情報キャリアを担うスパイク列のさらなる特定を目指して研究を進展させて欲しい。

6，主な研究成果リスト

（1）論文（原著論文）発表

1. Yamanobe T. Stochastic Phase Transition Operator, Phys. Rev. E, 84, 011924 (2011)

（2）特許出願

研究期間累積件数：0件

（3）その他の成果（主要な学会発表、受賞、著作物等）

学会発表（国内）

・山野辺貴信、神経細胞のスパイク履歴を解析するための新しい方法、第 46 回日本生物物理学会年会、2008年12月5日、福岡国際会議場、福岡

・山野辺貴信、内在性ノイズを持つ神経細胞モデルのパルス刺激に対する応答、第47回日本生物物理学会年会、2009年11月1日、アスティ徳島、徳島

・Yamanobe, T., A method to analyze the global dynamics of a biological oscillator, 第49回生物物理学会年会、2011年9月16日～9月18日、兵庫県立大学、姫路

学会発表（国際）

・Yamanobe, T., Phase reduction of neuronal oscillators perturbed by Ito process, Neuroscience 2010, 15, Nov., 2010

・Yamanobe, T., A new method to analyze hysteresis of neuronal response, Biophysical Society 55^{th} annual meeting, 9, Mar., 2011

・Yamanobe, T., Global dynamics of an impulse-driven neuronal oscillator, Neuroscience 2011, 12-16, Nov., 2011

・Yamanobe, T. Relation between information carrier in nervous systems and the dependence of a neuron model on the past activity, Biophysical Society 56^{th} annual meeting, 28, Feb., 2012