

# 研究報告書

## 「増殖系に内在する変分構造とその増殖制御問題への応用」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成27年10月～平成31年3月

研究者: 小林 徹也

### 1. 研究のねらい

進化とは、千変万化する環境の中で生物が巧みに適応することを可能としてきた原動力である。その正の側面を見れば、進化は多種多様な生物を我々の住む地球上に生み出し、その負の側面を見れば、我々の免疫や既存の薬に耐性のある新たなウイルスや悪性細菌が出現することも進化の帰結である。生物の進化をより正確にそして定量的に予測し制御することは、環境・農業・医療など様々な問題に関連する。

本研究は、細胞の増殖・死滅過程を追跡することで得られる細胞系譜データや、イメージングおよび次世代シーケンスを用いて得られる細胞集団内の表現型・遺伝型多様性データなどの、近年の計測技術の発展で取得可能となったデータを活用し、増殖・死滅を繰り返して変化してゆく細胞集団の性質や応答を解析・推定・予測する数理技術を構築することを目指した。

増殖・死滅を伴う集団(増殖系)の動態の数理研究は、古くは人口学の研究から始まり、微分方程式論・確率論を用いた長い歴史がある。対して本研究は、我々が最近報告した、増殖系に内在する経路分布表現を介した変分構造を応用する。この変分構造は、統計学、統計物理、最適制御、大偏差理論などに現れる変分構造と数理的に等価なものである。この関連を用いて数理諸分野の知見を自然に細胞増殖系の解析や予測、制御の問題に接続することで、それらを応用した革新的かつ定量的な理論を構築することを狙いとした。またその理論を、バクテリアの1細胞計測による細胞系譜のデータなどに適用することで、理論の有効性や課題を実験データから検証・検討するとともに、数理手法の概念実証(Proof of concept)を目指した。

現在、ウイルスや癌などを対象に、その極めて複雑な増殖・進化動態や、細胞の膨大な多様性を定量化する計測技術の開発が生命医科学分野で進んでいる。本研究により、増殖系が内在する変分構造という高い抽象性と一般性を持つ数理構造を介して、統計推定、統計物理、最適制御のみならず力学系、大偏差や情報理論、ポートフォリオ理論などの、広いスペクトルの数理をこの進化の問題に集約する道筋が開かれる。これにより、進化の解析・予測・制御という具体的課題に数理研究者が実験研究者らと協働できる足がかりが開拓されると期待される。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

本研究では、増殖・死滅を伴う集団(増殖系)の動態や応答を解析・推定・予測する数理技術を構築し、その実験データを用いた概念実証(Proof of concept)を行なった。増殖系の変分構造に基づく一般理論の構築をまず行い、その後その結果に実際の問題の持つ詳細を取り入れることで応用可能な理論を構成した。具体的には、

課題①: 増殖系の動態が内在的に満たす性質や、増殖系の摂動応答が満たす性質の理解

課題②: 外部摂動に対する増殖系の応答予測や制御限界の解明

課題③: 実験的に計測可能な情報に基づく増殖系の予測や制御方法の設計

課題④: 実データを用いた理論の概念実証と検証

などの問題に取り組んだ。

課題①では増殖系と確率熱力学・情報熱力学の対応関係を利用することで、増殖集団の適応度(集団増殖率)が不可避に満たす性質をゆらぎ定理として導いた(論文[1],[3])。課題②では、定常状態熱力学の技術を増殖系に援用し、任意の摂動で誘導できる集団適応度の変動の限界を明らかにした(論文[2])。課題③では、時間離散の定式化で導出してきた①、②の結果を、時間連続の多状態連続時間分岐過程に拡張し、分岐過程理論の「多対一」理論を応用して、実際の細胞系譜の実験データから計測できる量と集団増殖率の応答との関係を明らかにした(論文[4], [5])。課題④では課題③の理論を適用する際に必要となる細胞表現型の情報を、細胞系譜データから推定するアルゴリズムを新たに構成し、実際の大腸菌細胞系譜データに適用してその有効性を検証した。この手法により見た目からは判断がつかない細胞ごとの個性や生きの良さを、細胞系譜上の分裂パターンのデータから推定し、それに基づき集団の応答を予測する方法論が築かれた。

## (2) 詳細

**【研究課題①: 増殖系の動態が満たす性質や、増殖系の摂動応答が満たす性質の理解】**

増殖する細胞集団が有する性質を理解することは、その予測や制御に不可欠である。本課題では、外的な摂動に曝された増殖する細胞集団が不可避に満たす新たな性質を、増殖系の有する変分構造と確率熱力学・情報熱力学の対応関係を活用することで解明した(論文[1],[3] および 1 件投稿中: arXiv:1712.09462 )。

増殖集団の適応度(集団増殖率)は、集団を制御する際に対象となる最も重要な量である。様々な摂動に曝されることで適応度は変動する。本研究では、この適応度の変動が不可避に満たす性質を、「適応度のゆらぎ定理」として初めて明らかにした。このゆらぎ定理は、確率熱力学において微視的な熱系に成り立つ「エントロピー生成のゆらぎ定理」と数的には同様なものであり、適応度の典型的な応答と稀な応答との間に成り立つ制約関係を表している。この結果は、生物学的には進化ゲーム理論における進化的安定戦略の概念を変動環境下へ拡張したものとなっており、安定戦略の有限時間での破れが満たす性質を規定していると言い換えることもできる。またこの結果は、証明に用いた増殖系の時間離散モデルに限定されない、極めて一般的の高いものであることが、分岐過程などの解析からも示唆されている(未発表)。

**【研究課題②: 外部摂動に対する増殖系の応答の予測や制御限界の解明】**

増殖系の適応度が、特定の外部摂動に対してどのように応答するかを予測することは、増殖系を制御する上で不可欠である。我々はすでに Sughiyama Y *et al*, 2015, PRE において、適応度の摂動応答が遡及的に遡って得られる細胞系譜の情報から導かれることを明らかにしていた。この理論を時間変動する任意の外部摂動に拡張し、摂動と集団適応度の関係を解析した。定常状態熱力学における手法を援用し、集団適応度の時間変動を、定常増殖率から予測可能なハウスキーピング項と、それ以外の余剰項に分離し、余剰項の変動に成り立つ不等式を導出した(論文[2])。余剰項は摂動を時間変動させることによって初めて得られる集団増殖率

の変化分であり、制御の限界を定める。特に細胞の表現型のダイナミクスが詳細釣り合いを満たす場合、不等式は、余剰集団適応度が摂動の初期状態と終状態でのポテンシャル差でバウンドされるクラウジウス型の不等式に帰着できることも明らかにした。この結果は、表現型ダイナミクスが詳細釣り合いを満たす場合、周期的な外部摂動では余剰な摂動ゲインを得られないこと、したがって表現型ダイナミクスが非平衡性を持つことが制御において重要であることを明らかにしている。

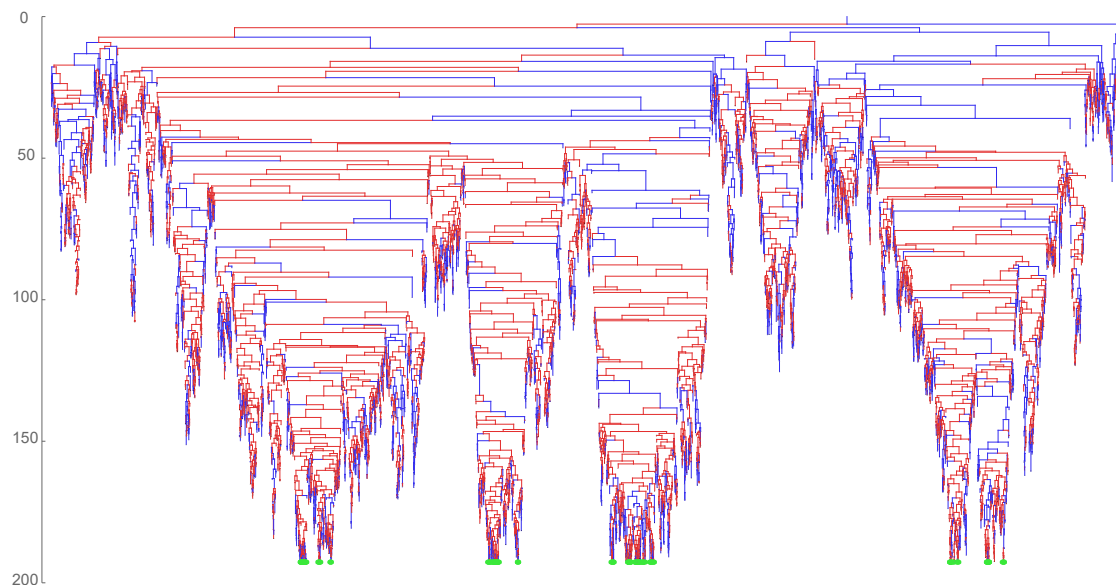
### 【研究課題③:実験的に計測可能な情報に基づく増殖系の予測や制御方法の設計】

課題①、②の結果は、主に時間を離散化して簡略化した増殖系のモデルを基盤として導出されている。しかし実際の細胞系譜のデータは、各細胞が異なる時間で分裂する時間連続分岐過程になっている。特に細胞分裂の待ち時間は重要な実験観測可能な量であるが、時間離散の簡略化モデルでは直接扱い得ない。そこで理論を実験と接続するために、これまでに得られていた集団増殖率の摂動応答理論を、時間連続分岐過程に拡張した。

摂動応答理論は、増殖系を経路積分表現で捉え、その変分構造と大偏差理論の対応関係を活用して導かれる。課題③ではまず、増殖を伴わない多状態リセット過程の経路積分表現と大偏差関数を新たに導出した(論文[4])。その後、増殖系の大偏差関数をリセット過程の大偏差過程のバイアスとして導き、最終的に分岐過程における摂動応答理論を構成した(論文[5])。実験を模したシミュレーションによって(下図)、理論の正当性も検証された。

また連続分岐過程の経路積分表現から、①で得られた「適応度のゆらぎ定理」も時間連続分岐過程へと拡張されることを確認した(未発表)。一方、課題②の時変摂動に関する結果を分岐過程へと拡張することは今後の検討課題として残された。

これらの解析から、増殖系を経路積分表現と変分構造は、対象とする増殖系のモデルの詳細によらない極めて一般的な構造であり、この構造を介して問題を俯瞰し、そして具体的なモデルへと縮約してゆくという本研究課題の方針の有効性が立証された。



#### 【研究課題④:実データを用いた理論の概念実証と検証】

①～③における理論は、増殖に関わる表現型・遺伝型の集団内における多様性が、実験計測で得られていることを仮定して構成されている。しかし、実際の実験で増殖に関わる表現型・遺伝型を計測することや、そもそもどんな表現型・遺伝型が増殖に関わるかを事前に知ることは簡単ではない。この問題を解決するため、実験計測された細胞系譜木の持つ各細胞の分裂待ち時間や親子関係だけをもとに、増殖に関わる細胞の実効的な表現型をデータから推定する方法を構築した(論文投稿中:bioRxiv 488981)。

データから実効的な表現型を推定するには、より早く分裂した細胞のデータがサンプル内に過剰表現される生存者バイアスの問題と、具体的なアルゴリズムを構成することの2つの課題を解決する必要がある。前者に対して、分岐過程理論の「多対一」定理を援用してバイアスの影響を陽に求めることで、適切なバイアの補正方法を構成した。後者に対しては、隠れマルコフモデルの Baum-Welch (BW)アルゴリズムを木構造の隠れ状態へと拡張してアルゴリズムを構成した。これらを統合して、Lineage EM (LEM) アルゴリズムを提案した。手法の有効性はシミュレーションで生成したデータで確認した。この手法を、大腸菌を用いて計測された細胞系譜木の実データに適用することで、3次元空間で表現される実効的な表現型をデータから発見することができた(下図)。この手法は、大腸菌だけでなく他の哺乳類細胞や発生胚などの個々の細胞の潜在的な差異をデータから同定する重要な技術となると期待される。一方、応答理論の検証については、摂動への応答を実測したデータが手に入らなかったため、今後の課題となっている。



### 3. 今後の展開

本研究によって、増殖系の性質や応答を解析・予測・制御するための数理的な基盤が構築されたと考えている。今後、最重要となる課題はこの理論に基づいた摂動実験を設計し、理論的な予測と実験的な結果を比較し、予測の正確性を検証することである。現在、共同研究者らとともに検証に向けた新たな合同プロジェクトを計画することで、検証に向けた準備を進めている。また本研究の結果、特に課題④の推定理論は、大腸菌のみならず他の細胞、例えば酵母などの真核細胞から、癌細胞・免疫細胞、そして発生胚などでも重要な役割を果たす。具体的には、集団内に潜在する表現型の多様性をデータから予測できることで、薬剤耐性の可能性を予測した



り、細胞や胚の成長状態を評価したりすることも可能になると期待される。この方向への研究の発展も計画している。さらに理学的な展開として、推定された実効的表現型が実際の細胞のどんな物理化学的性質と関連しているかを明らかにすることも極めて重要である。近年 1 細胞での遺伝子発現を 1 細胞 RNA シーケンスなどで網羅的に取得することが可能になっている。この高次元の遺伝子発現データの中で、一体どのような低次元部分が細胞の増殖性質を決定しているのか？を我々の推定理論と組み合わせて解明できれば、増殖という生物固有の性質がどのように物理的に決定・拘束されているかを理解することにつながり、またより正確に細胞集団の増殖を予測することも可能にする。この方向への理論の展開は中期的な課題である。

一方、生物への応用を離れた部分でも、本研究の成果を展開する可能性は存在する。現在、機械学習技術の発展が世界的な課題となっているが、その中で進化的アルゴリズムなど、進化理論に基づいた最適化手法などの重要性が再評価されつつある。その際に、統計学などに基づく従来の機械学習理論と、進化に動機づけられた進化的最適化の間の関係を捉えることが重要になる。本研究で明らかにした増殖系の変分構造は、統計学の変分構造と数理的に等価なものであり、したがってこの構造をもとに 2 つの異なる分野の数理を俯瞰的に理解することが可能になる。今後は本研究で深化させた理論を、機械学習などの分野へと応用してゆくことも発展性の高い課題になると考えている。

#### 4. 自己評価

本研究の達成状況を当初研究計画と総合的に比較した時、計画時に達成への目算が立っていた課題はほぼ当初想定どおりに達成ができていると評価できる。一方で、計画時に達成の目算が不確定であった課題の達成率はおおよそ 50%程度であり、その他に計画時に想定していなかった部分での成果が一部得られた。具体的には、目算の立っていた課題①、②に関してはおおよそ計画通り達成できたと評価できる。唯一、課題①、②の結果を更に発展させ最適制御理論を用いて最適な時間変動摂動を設計するという部分については検討を進めたものの、研究期間内では十分な結果には至らなかった。課題③に関しては計画時よりも成果が見込めた部分であり、課題①、②などで構築した理論がより複雑な分岐過程に当初想定以上に拡張することができた。また、課題④であつかった細胞表現型のデータからの推定は計画時に明確に想定していなかったものであるが、課題③で援用した理論の応用問題として極めて良い予定外の成果を得ることができたと考えている。一方で、計画をしていた系譜データと 1 細胞シーケンスデータとの連携部分については、当初の期待よりも両者の関係を理論的に捉える部分で明確で有用な関係が得られず、今後の課題となっている。そしてアドバイザーからも指摘されたことではあるが、本研究課題で残念であったことは、全く想定外の革新的な結果が本研究期間で得られることはなかったことである。今後はより挑戦的な課題も計画に含めて行きたいと考えている。

研究費執行については当初想定どおりかそれ以上の遂行できたと評価できる。特に、2017 年度に大学のサバティカルプロジェクトでロンドンに長期滞在してそこでさきがけ研究を遂行できたことにより、ヨーロッパ圏において本研究の成果を頻度的にも費用的にも当初計画以上に効果的に広める機会に恵まれた。一方で、実験の外注の部分では、結果のクオリティーチェックなどの関連で再実験が必要になったため研究遂行の遅れが生じたが、さきがけの柔軟な研究費利用の仕組みの恩恵で無事に完遂することができた。

本研究を生命医科学のコンテキストで直接社会に還元するには、実験との協働による理論の検証など、個人研究の枠では扱えない課題が多数残っている。すでに実験研究者とのチームを作り新たなプロジェクトを進めようとしている。一方で、細胞などの系譜計測やその解析を薬剤耐性や癌などの問題に応用する研究は国際的にも活性化している。本研究の理論は極めて一般的な性質を持つので、本理論が海外での研究活動や細菌や癌などの医療の問題以外にも応用されることで、間接的な社会還元にかかる期間は短縮されると期待される。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1) 論文(原著論文)発表

- |  |
|--|
| 1. Tetsuya J. Kobayashi & Yuki Sughiyama. Fluctuation relations of fitness and information in population dynamics. <i>Physical Review Letters</i> . 2015, 115(23), 238102.                         |
| 2. Yuki Sughiyama & Tetsuya J. Kobayashi. Steady-state thermodynamics for population growth in fluctuating environments. <i>Physical Review E</i> . 2017, 95(1), 012131.                           |
| 3. Tetsuya J. Kobayashi & Yuki Sughiyama. Stochastic and information-thermodynamic structures of population dynamics in a fluctuating environment. <i>Physical Review E</i> . 2017, 96(1), 012402. |
| 4. Yuki Sughiyama & Tetsuya J. Kobayashi. The explicit form of the rate function for semi-Markov processes and its contractions. <i>Journal of Physics A</i> . 2018, 51(12), 125001.               |
| 5. Yuki Sughiyama, So Nakashima, & Tetsuya J. Kobayashi. Fitness response relation of a multitype age-structured population dynamics. <i>Physical Review E</i> . 2019, 99(1), 012413.              |

### (2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件(公開前の出願件名については件数のみ記載)

### (2) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

- ・ 招待講演: "Ancestral lines in populations under selection", Institute of Mathematics, Frankfurt University. 2017, Nov/3-5.
- ・ 招待講演: "Evolution of Diversity", The Les Houches Physics School, France. 2018, Feb/25-Mar/3.
- ・ 招待講演: "Current and Future Trends in Stochastic Thermodynamics", Nordita, Stockholm, Sweden., 2017, Sep/20-28.
- ・ 招待講演: "Workshop on Operations Research of Biological Systems", International Center for Theoretical Physics, Trieste, Italy. 2018, July/9-14.
- ・ 招待講演: "2018 Quantitative Life Science Workshop", KIAS, Seoul, Korea. 2018, Oct/15-18