3

バイオイメージ・インフォマティクス研究事例

3-1

バイオイメージ・インフォマティクスが可能にする細胞、発生の数値モデル化

大 浪 修 一†

キーワード バイオイメージ・インフォマティクス, 画像情報処理, コンピュータシミュレーション, 発生, 数値モデル化, システム生物学

1 ま え が き

生命現象は3次元空間を時間変化する動的な現象である。多細胞生物の発生を例にとると、一つの細胞である受精卵が分裂を繰り返してさまざまな大きさや形、機能を持った細胞を生み出し、それらが3次的に移動し配置され、多数の細胞で構成される3次的な構造物である成体が作られる。このような動的な現象を理解するためには数値モデルが必要である。しかし、過去半世紀以上の間、生命科学分野では数値モデルが軽視されてきた。生命体を構成する物質の同定が生命科学研究の主役だったのである。今世紀に入りヒトのゲノム塩基配列情報の解析が完了し、生命体を構成する物質の同定に一つの終止符が打たれると、生命科学の興味を中心は、物質の同定から、それらの物質がシステムとしてどのように働いて動的な生命現象を発現しているかの理解へと移行した。システムとしての理解のためには数値モデルが必須なため、生命科学における数値モデルの重要性は近年急速に高まっている。

数値モデルの構築には、現象の計測が不可欠である。時空間的に動的な生命現象の計測技術として近年注目を集めているのが、バイオイメージ・インフォマティクスの技術である¹⁾。具体的には、細胞や個体を生きたまま撮影した動画像に画像認識技術を適用して、細胞や個体の動態を計測する技術である。この技術は、従来の手作業の計測と比べて、より正確で高スループットな生命現象の計測を可能にする。そのため、バイオイメージ・インフォマティクスは生命科学研究に従来の枠組みを超えた新しい可能性を与えてくれるものとして強く期待されている。

本稿では、バイオイメージ・インフォマティクスが可能にした生命科学研究の新しいアプローチの具体例として、物理ベースのモデル化とデータ駆動のモデル化の二つのア

プローチに関する研究事例を紹介する。

2 物理ベースのモデル化アプローチ

バイオイメージ・インフォマティクスが可能にした生命現象の物理ベースのモデル化の研究事例として、細胞核が細胞の中央に位置する機構の研究²⁾を紹介する。

核が細胞の中央に位置することは、多くの細胞で観察される細胞の一般的な特徴である。細胞分裂などにより形が変わっても核は細胞の中央に観察されることから、核を中央に配置する機構が細胞では働いていると考えられる。核に付着する二つの中心体から、微小管と呼ばれる細い管状の構造体が放射状に多数広がっている。微小管はチューブリンと呼ばれる小さな蛋白質の重合体であり、伸長と短縮を繰り返している。薬剤を用いて微小管を破壊すると細胞の中央への核の移動が阻害されることから、核は微小管を使って細胞の中央に移動していることがわかる。

この微小管を使った核の中央化の機構については、これまでに対照的な二つのモデルが提案されていた(図1)。まず20世紀前半に、核の移動の開始と伸長する微小管の先端が細胞膜の内側に到達するタイミングが一致することから、伸長する微小管が細胞膜の内側を押すことにより核が

図1 核の中央化の機構についての二つのモデル

核(濃灰色の円)に付着する二つの中心体(星)から放射状に広がる微小管(灰色線)により核が細胞の中央へと移動する。押しモデル(左)では伸長する微小管が細胞膜の内側を押す力(矢印)、引きモデル(右)ではその長さに比例した微小管を引く力(矢印)が移動の原動力である。細胞質に固定されたモーター蛋白質(灰色の小丸)が微小管を引く力を発生する。

† 理化学研究所 生命システム研究センター 発生动態研究チーム

"Study Examples of the Bioimage Informatics; Bioimage Informatics Enables Mathematical Modeling of Cell and Development" by Shuichi Onami (Laboratory for Developmental Dynamics, RIKEN Quantitative Biology Center, Osaka)

移動する「押しモデル」が提案された。しかし20世紀後半になると、紫外線を用いて微小管の阻害剤の活性を時空間的に制御した巧妙な実験により、微小管が細胞膜の内側に接触しなくても核が移動できることが示され、微小管がその長さに依存して核を引く「引きモデル」が提案された。それ以降、さまざまな試みが行われたが、これら二つのモデルのどちらが細胞内で実際に働いている機構なのかという問題を解決することができなかった。

この問題を解決するために、筆者は物理ベースの数理モデルを使ったアプローチを行った。モデル系としては分子生物学、遺伝学の研究が最も進んだ多細胞生物である線虫 *C. elegans* の受精卵を使用した。線虫の受精卵では雄性前核と呼ばれる核の細胞中央への移動が容易に観察できる。雄性前核は受精時に精子によって運ばれてきた父親由来の遺伝情報を保持する核であり、微小管の働きによって細胞の中央に移動する(図2)。

筆者は雄性前核の移動について、押しモデルと引きモデルそれぞれの数理モデルを、物理的な知識を基盤に構築した。押しモデルでは、伸長する微小管が細胞膜の内側を押すことによって核が細胞の中央へ移動する。ここでは、微小管の弾性体としての力学特性と、微小管の「重合速度と抗力の関係」を統合して、微小管が発生する力をモデル化した。一方、引きモデルでは、細胞質全体に微小管を引くモータ蛋白質が固定されており、これらのモータ蛋白質により微小管がその長さに比例した力で引かれることにより、微小管がより長く伸びることができる細胞中央方向に向かって核が移動する。ここでは、微小管の長さ、モータ蛋白質の「速度と負荷の関係」を統合して、微小管が発生する力をモデル化した。

コンピュータシミュレーション(図2)では、どちらのモデルでも核は細胞の中央へ移動した(図3(a))。しかし、筆者は二つのモデルの間で核の移動の途中経過が大きく異

図2 雄性前核の細胞の中央への移動(口絵カラー参照)

微分干渉顕微鏡像(上段: Mは雄性前核, Fは雌性前核). 画像処理による核の検出(中段). コンピュータシミュレーション(下段)

図3 雄性前核の移動の距離—時間グラフ

(a)押しモデルと引きモデルのコンピュータ・シミュレーションの結果、それぞれ、5種類の異なるパラメータ値での結果を表示、(b)受精卵での雄性前核の移動を画像認識プログラムを利用して計測した結果。

なることを発見した。縦軸と横軸にそれぞれ核の移動距離と経過時間を表したグラフ（距離—時間グラフ）を作成すると、グラフの形が押しモデルでは凸型、引きモデルではS字型となったのである。この性質は、シミュレーションに用いる微小管の本数などのパラメータ値などを変更しても常に観察されたため、それぞれのモデルに固有の性質であると結論付けられた。

押しモデルと引きモデルでは距離—時間グラフの形が異なることがわかったので、細胞内で実際に働いているモデルを知りたいければ、細胞内の本物の核の距離—時間グラフの形を調べればよい。筆者は生きたままの線虫受精卵を1秒間隔で顕微鏡撮影し、独自開発した画像認識プログラム³⁾を利用して核の位置を計測し（図2）、距離—時間グラフを作成した（図3（b））。結果は、細胞内の本物の核の距離—時間グラフの形はS字型であった。以上の結果から、筆者は細胞内での核の中央化の主要な機構は引きモデルであると結論付け、核が細胞の中央に位置する機構に関する長年の未解決な問題を解決した。

3 データ駆動のモデル化アプローチ

バイオイメージ・インフォマティクスが可能にした生命現象のデータ駆動のモデル化の研究事例として、細胞分裂

動態の大規模データを活用した研究を紹介する。

多細胞生物の発生は、遺伝情報にプログラムされた動的な現象である。受精卵は遺伝情報のプログラムに従い、細胞分裂を繰り返してさまざまな細胞を生み出し、3次元的に配置して複雑な3次元構造を持つ個体を作る。さまざまな遺伝子の機能を人工的に操作した場合に観察される発生動態の異常には、発生のプログラムを解明するための情報が豊富に含まれている。

発生動態に対して数理解析や情報解析の適用を可能にするために、筆者は発生中の線虫胚の細胞核の動態を4次元（3次元+時間）的に自動計測する装置を開発した⁴⁾（図4）。本装置は胚の4次元の顕微鏡画像に画像認識プログラムを適用し、胚の核の動態を計測する。受精卵（1細胞期）から24細胞期までの核の動態を、途中の核の分裂を含めて計測することができる。

筆者は、本装置を利用して線虫胚の発生動態についての包括的なデータベースを構築した⁵⁾。先ず正常な胚の核動態の計測を83個体分を行った。ゲノム塩基配列の解析から、線虫は約2万種類の蛋白質コード遺伝子を持つことがわかっており、各遺伝子の不活化実験の結果、そのうち351種が胚発生に必須の遺伝子であることがわかっている。そこで筆者は、これら351種の遺伝子の一つずつ不活化した胚

図4 線虫胚の細胞核動態の4次元計測装置

線虫胚の4次元微分干渉顕微鏡画像に画像処理を施して核を認識し、認識された核領域を物体追跡のアルゴリズムを利用して追跡し、核動態を計測する。核の輪郭の3次元座標とその時間変化が計測結果として出力される。

図6 発生プログラムの導出

発生動態の特徴の中から個体間のばらつきの相関が高い特徴の組を同定する。このような特徴の間には因果関係か共通の制御因子の存在が予想される。図では特徴Aと特徴Eの間に高い相関が存在している。

図5 核動態の計測データから算出可能な発生動態の特徴の例

を作製し、胚の核動態の計測を行った。

筆者の発生動態データベースを利用すれば、さまざまな数理解析や情報解析を発生動態に適用できる。筆者は初めに、遺伝子の機能を解析した。正常な胚で観察されるある特徴が、ある遺伝子の不活性化により変化した場合、その遺伝子はその特徴の発現に関与すると解釈できる。筆者は、核動態の計測データから算出可能な発生動態の特徴を437種類、数学的に定義し(図5)、データベースを利用して個々の胚の特徴の値を算出し、各特徴について、正常胚と遺伝子不活化胚との間の差異を統計的に検討した。その結果、遺伝子の不活化による発生動態の特徴の変化を約3,400種類、発見した。

次に筆者は、発生プログラムの解明を行った。線虫の発生は個体差がないと教科書には書かれているが、実際には正常胚の発生にも個体差が存在する。多数の正常胚で発生動態の特徴を計測すると、各特徴の計測値の個体間のばらつきは正規分布に従う。多くの場合、二つの特徴の間で個体間のばらつきに相関はないが、一部に強い相関を示す特徴の組が存在する。このような強い相関を示す特徴の組については、「二つの特徴の間に因果関係がある」あるいは「二つの特徴を発現させる共通の因子が存在する」と解釈

図7 線虫の発生プログラム(口絵カラー参照)

受精から8細胞期の間で定義した430種の表現型特徴(丸)と、相関の高い3372の発生動態の特徴の組(線)により構成される。発生過程でさまざまな特徴が生成されていく因果関係の連鎖を示す。

できる(図6)。筆者は正常胚のデータを使って437種の発生動態の特徴のすべての組合せについて個体間のばらつきを検討し、3,372種類の高い相関を示す特徴の組を同定した。これらの特徴の組をネットワーク様に連結すると、発生過程でさまざまな特徴が生成されて行く因果関係の連鎖、すなわち発生プログラムを構築できる(図7)。このようにして筆者は、発生動態の大規模データからの発生プログラムの導出に世界で初めて成功した。

さらに筆者は、発生プログラムを構成する因果関係を生み出す機構の解明を行った。ある二つの特徴の間の高い相関が、ある遺伝子の機能を使って生み出されている場合、その遺伝子を不活性化するとその相関は消失する。これを利用すると、正常胚で観察されるある二つの特徴の間の高い相関が、ある遺伝子の不活性化により消失する場合、その相関はその遺伝子の機能を使って生み出されていると解釈できる。筆者は、遺伝子を不活化した胚のデータを利用

して、その不活化により正常胚で観察される二つの特徴の間の高い相関が失われる遺伝子の探索を行った。その結果、線虫胚の発生プログラムに含まれる3372種の因果関係について、それらの生成に関与するのべ22,214種の遺伝子を同定した。

筆者が発生プログラムとして構築したネットワークは、発生の形態的な特徴の因果関係の連鎖のネットワークであり、力学反応のネットワークと解釈できる。一方、ゲノム科学や分子生物学研究のさまざまな技術を使って、遺伝子間や生体物質間の相互作用のネットワークがすでに構築されており、これは化学反応のネットワークである⁶⁾。さらに筆者は、発生プログラムを構成する個々の因果関係の生成に関与する遺伝子を同定しており、これを使えば、上記の二つのネットワークを統合することができる。本研究により、発生の力学反応と化学反応を統合的に捉えたネットワークモデルの構築が実現した。

4 む す び

本稿では、バイオイメージ・インフォマティクスが可能にした生命科学の新しいアプローチの具体例として、二つの研究事例を紹介した。一つめの物理ベースのモデル化の事例では、バイオイメージ・インフォマティクスは時空間解像度の高い生命現象の計測技術として活用されている。物理ベースのモデル化研究では、シミュレーションの結果と実際の現象の計測結果との比較の精度が、議論の説得力を決定する大きな要因となる。バイオイメージ・インフォマティクスを活用した時空間解像度の高い計測により、物理ベースのモデル化研究の議論の説得力が飛躍的に向上した。そのため、生命科学分野では現在、物理ベースのモデル化への期待が大きく高まっている。二つ目のデータ駆動のモデル化の事例では、バイオイメージ・インフォマティクスは時空間的に動的な生命現象の大規模計測の技術として活用されている。データ駆動のモデル化には大量かつ包括的なデータが不可欠であるが、これまでの生命現象の計測は手作業で行われていたため、そのようなデータの取得は不可能であった。バイオイメージ・インフォマティクスを利用した大規模で包括的な計測により、動的な生命現象についてのデータ駆動のモデル化がついに可能になった。

今後の技術開発により、さまざまな生物種のさまざまな現象についてデータ駆動のモデルが構築されていくことが期待されている。

バイオイメージ・インフォマティクスは、動的な生命現象のシステムとしての理解を目指す次世代の生命科学の中核となる技術分野である。システムとしての理解は生命現象の高精度の予測を可能にし、高精度の予測に基づく医療の実現や地球環境問題の解決などに発展することが期待される。このように魅力的な生命科学の新分野であるバイオイメージ・インフォマティクスに、情報科学分野から多くの研究者が参入することを強く期待している。

(2013年6月10日受付)

[文 献]

- 1) H. Peng: "Bioimage informatics: A new area of engineering biology", *Bioinformatics*, **24**, 17, pp.1827-1836 (2008)
- 2) A. Kimura and S. Onami: "Computer simulations and image processing reveal length-dependent pulling force as the primary mechanism for *C. elegans* male pronuclear migration", *Developmental Cell*, **8**, 5, pp.765-775 (2005)
- 3) S. Hamahashi, S. Onami and H. Kitano: "Detection of nuclei in 4D Nomarski DIC microscope images of early *Caenorhabditis elegans* embryos Using local image entropy and object tracking", *BMC Bioinformatics*, **6**, 125 (2005)
- 4) 濱橋秀互, 北野宏明, 大浪修一: "画像処理とオブジェクトトラッキングを用いた線虫の初期胚の細胞分裂パターン計測システム", *信学誌*, **J89-D**, pp.1248-1259 (2006)
- 5) K. Kyoda, E. Adachi, E. Masuda, Y. Nagai, Y. Suzuki, T. Oguro, M. Urai, R. Arai, M. Furukawa, K. Shimada, J. Kuramochi, E. Nagai and S. Onami: "WDDD: worm developmental dynamics database", *Nucleic Acids Research*, **41**, Database issue, pp.D732-737 (2013)
- 6) K.C. Gunsalus, H. Ge, A.J. Schetter, D.S. Goldberg, J.-D.J. Han, T. Hao, G.F. Barriz, N. Bertin, J. Huang, L.-S. Chuang, N. Li, R. Mani, A.A. Hyman, B. S_nnichsen, C.J. Echeverri, F.P. Roth, M. Vidal, F. Piano: "Predictive models of molecular machines involved in *Caenorhabditis elegans* early embryogenesis", *Nature*, **436**, 7052, pp.861-865 (2005)

おおなみ しゅういち
大浪 修一 1998年、総合研究大学院大学生命科学研究科博士後期課程修了。2001年、慶應義塾大学大学院理工学研究科助教授。2006年、理化学研究所ゲノム科学研究センター上級研究員。2008年、理化学研究所基幹研究所チームリーダー。2011年、理化学研究所生命システム研究センターチームリーダー。発生のシステム生物学研究に従事。博士(理学)。