

非線形科学と生命科学の接点

佐野 雅己

東京大学理学系研究科物理学専攻

1 はじめに

生命現象の動的側面を捉えようとするときあらゆる場面で非線形性があらわになってくることがわかる。生命現象には階層性があるように見えるのでこれを仮に、(1) 分子レベル、(2) 細胞レベル、(3) 多細胞レベルと分けてみよう。また (4) 物質やエネルギー的側面を議論するか (5) 情報的側面を議論するかという分け方も可能であり、最後の 2 つは最初の 3 つのどのレベルでも関わってくる。これらの全ての階層、あるいは物質的、情報的側面で非線形動力学やゆらぎが常に重要な鍵として関わってくる。¹

現在、分子レベルでは、分子モーターの運動や DNA とタンパクの相互作用などの直接計測が可能になりつつあり、これらの現象が強い非線形を持った問題であることが認識されつつある。細胞レベルでも遺伝子発現やシグナル伝達のダイナミクス、細胞運動などの時空間コントロールがどのようなメカニズムでなされているかが問題となっている。発生・形態形成は多細胞システムにおける遺伝子発現の時空間制御の問題であるし、異なる種の間で成り立つスケールリング (アロメトリー) 則もまた多細胞レベルの問題である。神経集団の力学から生まれる脳の情報処理メカニズムの解明は、生命の特に情報的側面に着目した問題である。これら全ての階層で新しい動きが始まっていることを紹介したい。その一つは実験の進展であり、他の一つは複雑な現象を説明する記述性の高いモデルが可能になりつつあることである。このサブゼミを通して訴えたいことは、このような非線形ダイナミクスに着目した実験の重要性とその理論化の可能性であり、実験と理論のサイクルを今までより緊密にまわし始めることの必要性である。講義では、時間の許す範囲で以下の話題から 2, 3 のトピックスを取り上げ説明と議論を行う。

2 分子レベルにおける非線形現象

Prigogine 等による非平衡熱力学は、局所平衡を出発点として熱力学を拡張する試みから始まり、当初は化学反応や流体系を始めとする物理系の理解がしいては生命の理解につながるものとの楽観的見通しを持っていたものと思われる。しかしその見通しは裏切られた。実際、生命現象は階層構造をなしており、その最も下位のレベルの分子レベルに目をやると実は分子 1 個のレベルで既に強い非平衡状態にあり、複雑な相互作用を行っている。そして当たり前のこととして非線形現象が出てくる。したがって局所平衡は成り立たないことは明らかである。そしてこの分子レベルの非線形非平衡現象を扱う物理の理論的な枠組みは殆ど未開拓の

¹ 階層を分けて議論することにはある場合は都合がよいが、しばしば階層の境目がはっきりしなくなるのも生物の特徴である。また、一つの現象に着目すると複数の階層を行き来しながら現象を追いつめていくことも必要になる。従って階層という分類はしばしば不確かで便宜的なものにならざるを得ないが、議論の都合上、どのレベルやスケールのことを問題としているのか見通しを得ることが必要である。

領域にある。例えば生命現象の問題の多くは遺伝子発現の問題といっても過言ではないが、遺伝子発現のダイナミクスを理解するには、DNA とタンパクの相互作用を理解する必要がある。DNA から mRNA に情報が転写され、RNA からタンパクに翻訳される。そしてタンパクは折りたたまれて機能を発揮する。これらの殆どの過程でタンパクや RNA が驚くべき巧妙な働きをしているからである。近年の一分子計測技術の進歩により、例えば RNA ポリメラーゼが DNA 二重らせんを開き、DNA を読み取りながら mRNA を合成する過程における一分子の力測定などが可能になってきている。また、筋肉の分子モーターについても熱ゆらぎの中で働き、ATP の化学エネルギーを小出しにしながら運動エネルギーに変換する不思議なモータータンパクの働きが観測されている。理論的には（分子）動力学からこれらの現象を理解するのは現在のところ困難であり、Langevin 方程式などの現象論的モデルのエネルギー論が議論され始めた段階である。しかし、観測データは今後急速に蓄積されていくものと思われる。一分子計測技術の進展により、これらの疑問に対する直接的な回答が得られる可能性も出てきている。

ここで、DNA の折りたたみや引き伸ばしに関連した話題を一つ紹介する。転写される DNA は真核生物では核の中に小さく折りたたまれており、必要に応じて一部がほどかれ転写が行われる。時には 2 m にも達する長い DNA を小さく折りたたむ機構は、物理的にはどう理解されるのだろうか？この問題に関連して我々が行っている DNA 一分子の分子内相転移の実験や他の実験も合わせて紹介する予定である。また、DNA から mRNA に転写が行われるためには、DNA 2 重らせんが開かれる必要があるが、このとき開いたために生じる余分なねじれは 1 秒間に 50 回転にも達すると言う。この twist の集中を解消できないとその後の全ての反応に支障をきたしてしまう。このねじれを解消するために 2 重らせんのつなぎ変えを行う酵素、トポイソメラーゼがあるが、DNA とトポイソメラーゼの相互作用時の一分子測定が最近行われた。これらの実験についても紹介する。

3 遺伝子発現と力学系

細胞内においては生体分子の相互作用ネットワークにより様々の機能が実現されている。これらの化学反応ネットワークがどのような設計原理でできているのかは全くといっていいほど分かっていない。以下に細胞内化学反応のプロトタイプともいえるいくつかの場合について考えて見よう。化学反応の最も単純なものとして、外からのシグナルの伝達の結果、遺伝子が発現する場合がある。これは一種のスイッチと考えることもできる。また、外部パラメータを変えたときに見られる非線形系の分岐現象とも見ることができる。この問題は、分子レベルの問題と深く関係しており、情報伝達のカスケードがどのように行われるのか？結合タンパクの働きの協同性がどのように行われ、その結果どのような非線形応答が現われるかという問題にもつながる。

もう少し複雑な動力学を使った現象として、体内時計のように遺伝子の発現とそれによって生成されるタンパクのフィードバックにより引き起こされるリミットサイクル現象もある。また、ある物質の濃度を一定に保つようなフィードバック反応もあるであろうし、環境の変化に対して状態を適応させる反応もあるだろう。発生や細胞運動などを引き起こすには細胞内の個々の場所で時間空間的に反応が制御される必要がある。この制御はどのような原理で行われているのだろうか？これに対する現在の生物学の理解は、遺伝子の発現が組み合わせ論理回路のように次々と機械的に引き続いて起こっていくというものである。生物は本当にそのような機械じかけの論理でできているのだろうか？実際、これらの反応は全てゆらぎの大きな環境の中で起こっている。このようなゆらぎの多い環境下で必要な時に必要な反応を確実に起こすにはどのような安定化のメカニズムが用いられているのだろうか？ その一方

で単細胞生物でも状況に応じて調整や適応を行うやわらかな融通性が見られることがある。この融通性は機械仕掛けのロジックとどう共存しているのだろうか。また、適応にはどのようなメカニズムが使われているのだろうか。このように疑問はつきないが、これらの問題にアプローチするための第 1 歩として、以下に 3 つの実験を提案する。

3.1 細胞の状態やレスポンスを定量化することは可能か？

生命現象には様々な側面があるが、一つの側面に限ってでも実験とモデルが定量的に良く一致する例はあるだろうか？ 筆者の知る限りではイカ巨大神経軸索の電氣的レスポンスの測定から導かれた Hodgkin-Huxley 方程式が非線形方程式として生命現象の（一側面の）解明と予測に最も成功した例の一つだと思われる。これは単純化が可能な幸運な例外に過ぎないのだろうか？ 通常の細胞において細胞の状態や分化などを決定付けているものは遺伝子の発現である。通常の細胞に対してシグナルに対するレスポンスとしての細胞内化学反応や遺伝子発現を神経の電気生理的レスポンスと同じように測定するということが可能だろうか？

現在進展がめざましい一分子測定技術が細胞内現象に適用され始め、このような測定が可能になりつつある。例えば、細胞の走化性メカニズムの解明を目指す実験について述べよう。原核生物の走化性については、バクテリアなどの実験とモデルの解析から、誘引物質によるべん毛の反転周期の調節を介して誘引物質の濃度勾配を登る運動が実現されうることの本質的メカニズムが分かってきている。一方、真核生物についてはまだ謎が多い。比較的単純と思われる粘菌アメーバの走化性についてもそのメカニズムは不明である。例えば、粘菌アメーバは cAMP を外部に分泌するとともに、自分自身も外部の cAMP の濃度の高い方に移動することができる。細胞は、濃度勾配をどのようにして判定しているのだろうか？ 例えば考えられる仮説としては、細胞の端と端で濃度の比較を行っているとするものや、細胞が移動後の濃度を移動前の濃度の記憶と比較しているとするものがある。しかし、細胞の大きさや濃度勾配に対する感度、また cAMP 分子数のゆらぎなどを考慮すると細胞の前後の単純な比較では不可能であるとする意見もある。また、記憶説には記憶のメカニズムが未知であるという欠陥がある。このような問題に対して、ごく最近、上田等により粘菌アメーバの細胞表面上で cAMP 分子がどのように分布し、細胞の動きとともにそれがどう変化するか観測する実験が始めて実現された。その結果は、約 20 秒周期で細胞表面のレセプターに付着している cAMP の分子数が変動しており、位相は異なるがそれと同周期で細胞の仮足の速度も振動しているという興味深いものであった。また、Devreotes 等は、外部から cAMP の勾配を与えることにより、細胞表面の cAMP レセプターの分布は変わらないが、レセプターと反応する内部の蛋白質 (CRAC) の分布の先端への局在が起こることを、やはり可視化の技術により明らかにしている。このようにダイナミックかつ能動的に細胞が濃度勾配を感知しながら極性を形成させていく過程が次々と明らかになることにより、本質的な意味での走化性のメカニズムやモデルが明らかになる日も近いものと思われる。真核生物の細胞の中でも神経細胞の軸索の伸展は、様々な誘引、忌避物質により制御されており、その先端の動きは極めて間欠的で興味深いものであることが知られている。軸索の伸展が、単調な一定速度の運動でなく間欠的な運動であることは粘菌アメーバのような振動的運動とも関連させて考えると、走化性機能に何らかの非線形ダイナミクスが関わっている可能性を感じさせる。今後の発展が期待される分野である。

また、遺伝子発現の問題に関して言えば、シグナルに対する発現の応答が測定可能になれば、現在しばしば用いられている Michaelis-Menten モデルや統計的モデルなど、どのモデルが妥当性であるかという検証や正しいモデルに基づく予測が可能となることが期待される。

3.2 「分化＝力学系の分岐」は正しいか？

分化の問題を力学系として理解しようとする「分化＝力学系の分岐」という構図が正しいかどうかという問題を避けて通ることはできない。幹細胞から分化が起こる際には側抑制が働くことが知られており、分化した神経細胞を取り除くと他の細胞が新たに神経細胞に変化する。これは、分化した細胞が抑制的相互作用を持っていることを意味している。このことは、細胞が化学物質を分泌しながら互いに抑制しあったり、励起しあったりしている力学系であることを予想させる。その予想を検証する実験的手段はあるだろうか？ 例えば、力学系では制御パラメータを変化させたときに、系の状態が大きく変化する分岐と呼ばれる現象があるが、細胞の分化とは相互作用をパラメータとする力学系の分岐現象ではないだろうか？ これは一見自明なことのように思えるが、分化が本当に分岐現象であることを検証した実験は筆者の知る限り未だ存在しない。

このことを検証するための有力な実験の候補として、細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) の分化に関連した実験を紹介したい。細胞性粘菌は、良く知られるように孢子からアメーバとなり、餌がなくなると cAMP を周期的に細胞外へ分泌し、cAMP の走化性によりアメーバ同士が集合し、マウンドと呼ばれる塊を形成する。その後、1 mm 程度の長さの移動体と呼ばれるナメクジ状の形をした集合体になり移動し、最終的に孢子と柄に分化するというライフサイクルを持っている。この過程で実は、マウンド形成時期や移動体の時期にすでに大きく分けて将来は孢子になる細胞 (prespore: 以下 psp と略記) と柄になる細胞 (prestalk: 以下 pst と略記) に分化が起こっていることが知られており、分化を調べるための最も簡単なモデル生物として多くの研究がなされてきた。粘菌移動体の興味深いところは、再分化が容易なことであり、しかも2種の細胞数の比率がかなり一定に保たれるという性質があることである。例えば、移動体の後部を占める prespore 細胞のかんりの部分を取り去っても、細胞集団は脱分化を起こし、再分化が起こったあとは2種の細胞の比率は再び前の値に近づくことが知られている。この比率制御のメカニズムを実験および理論から明らかにしたいというのがここでのねらいである。

個々の細胞の分化を制御しているに関しては、多くの研究がなされてきた。その中でも特に重要と思われる分化誘導因子 (Differential Inducing Factor) は、DIF と呼ばれるアルキルフェノンであり、脂溶性が高いため細胞膜を透過しやすい性質を持っている。この DIF は、psp 細胞によって生成され、DIF が増えると psp 細胞から pst 細胞への再分化が起こる。また、pst 細胞は DIF を分解することができることも知られている。(最初は、cAMP により psp 細胞が分化してくるが、この時ほぼ同時に pst 細胞も生じてくると考えられている。) DIF が分化に際して細胞に対してどう働くかを調べるためには、細胞1個1個の DIF に対する応答を見るのが最も理想的な実験である。このような実験が井上によって行われた (not published)。井上は非常に低密度で pst 細胞を培養し、外液の DIF の濃度を増加させることにより psp 細胞に変化する割合を調べた。また、DIF を現象させて pst 細胞が psp 細胞に変化する割合も調べた。これらの結果は、細胞1個ごとでも外液の DIF の濃度により分化が制御でき、しかもかなりの程度それが可逆で定常とみなすことができる系であることを示している。また、この応答曲線がヒステリシスを示していることは、大変興味深い。以下にこの実験事実を考慮した、分化における比率制御の数理モデルを紹介しよう。(水口、佐野 2000)

図のような応答曲線を仮定してモデルを構成する。簡単のために細胞は psp と pst の2状態以外の状態はとれず (双安定)、一つの変数 u の値の大小だけで2つの状態を表すことにする。また、DIF の濃度を v で表す。双安定性を示す最も単純なモデルは次のようなものである。(u を例えば、psp に対応する遺伝子発現の量と仮定し、Michaelis-Menten 型の反応モデルを書き下すこともできるが、ここでは簡単のため u を DIF を作る能力のように考

え、最も単純な形に書き下すことにする。)

$$\dot{u}_i = au_i - u_i^3 - v \quad (i = 1, \dots, N) \quad (1)$$

$$\dot{v} = b \sum_{i=1}^N u_i - v \quad (2)$$

ここで、 u_i は i 番目の細胞の状態を表す量で、正ならば psp 細胞、pst 細胞の状態を表すことにする。DIF は psp 細胞によって作られ、pst 細胞によって分解されるので v は近似的に u_i の和に比例する。 b は、生成・分解の能力を表す。また、 v は分解または拡散によりその量が減衰すると仮定した。また、 u, v の値は座標変換により原点を移動してあるものとする。

我々は、比率制御を説明するモデルとして以前、Turing Instability を大域結合 (平均場) 系で生じるモデルを提案したが (水口、佐野 1995)、当時は細胞 1 個の応答を表す実験データがなかったため、Turing Pattern とのアナロジーから細胞間の相互作用なしでは原点が安定 (未分化)、DIF の平均場相互作用を通して初めて分化した方が安定になるという構造になっていた。しかし、ここでは最初に a が負から正に変化することによりまず分化が起こり外液の DIF の量に依存して 2 状態のいずれかをとる双安定のシステムである点が異なっている。外液の濃度を制御して変化させると、安定性は (1) 式のヌルクライン ($\dot{u} = 0$) と、 $v = \text{const.}$ の交点で決まることになる。 v の値を変えることにより、ヒステリシスが再現される。また、細胞同士が相互作用して外液の DIF 濃度が決まる場合には、 b の大きさに安定性が決まり、ある値以上ならば psp と pst に分化することが容易に分かる。仮に全ての細胞が psp になったとすると (2) 式のヌルクラインは、 $v = bNu$ で与えられるが、 b の値が大きければ原点のみが安定となり細胞の状態はリセットされる。リセットされるとヌルクラインも消失するため原点は、不安定となり各 u_i は正または負の方向に分岐して行くことになる。定常状態では、psp 細胞の作り出した DIF の総和と pst 細胞の分解する量の差し引きで最終的な DIF の量が決まり、その時の v の値が双安定性の範囲にあるならば psp と pst は共存できることになる。このモデルは多重安定な解を持っており、安定な状態での比率には 1 : 1 を中心として一定の幅が存在する。また、psp と pst の比率は、モデルの対称性を壊すことにより 1 : 1 からずらすことができる。

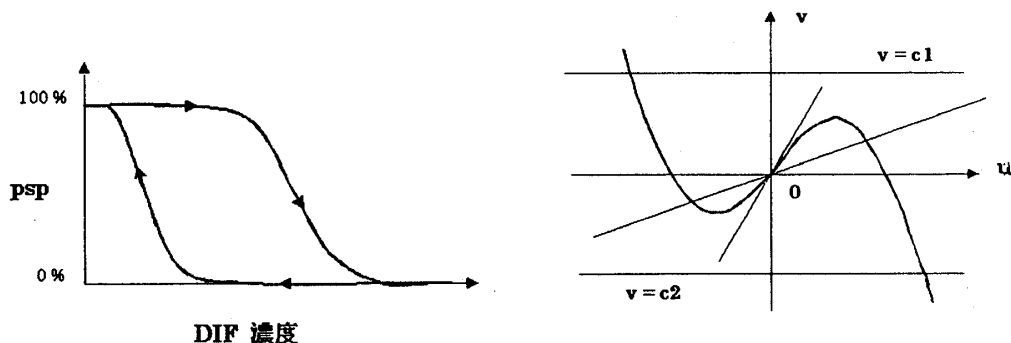


Figure 1: 左：解離細胞の DIF に対する応答を表す。右：相互抑制モデルとそのヌルクライン

このようなモデルは、実は全ての要素の初期条件をそろえた場合、適当なノイズがなけ

れば振動することがある。また、実験では psp や pst の比率の変化は連続的だが、このモデルでは閾値を越えると不連続に変化する。この違いは、現実の生物においては細胞ごとに化学物質の量や遺伝子の発現量などに存在する一定程度のばらつきを考えると、細胞毎に閾値が異なり、閾値が分布しているモデルの可能性も考慮する必要がある。そのようなモデルでは、DIF の量に応じて閾値の低いものから分化を起こしていくことになるため、同じパラメータで比率に幅が生じることはなくなるであろう。実際、社会性昆虫における分業についても比率制御のメカニズムが問題になることがあるが、これに関しては、多くの生物学の研究者は閾値の分布による分業のメカニズムを受け入れる傾向が強いようである。

3.3 構成的アプローチ

S. Leibler 達は、細胞にとっては本来何の意味も持たない機能（例えばリミットサイクルやスイッチ）を大腸菌を人工的に導入することにより、他の反応となるべく相互作用のない独立な反応を細胞内に実現し、その働きを観測し、モデルとの比較を行うことにより化学ネットワークの理解に迫ろうとしている。また、Cantor, Collins 等は大腸菌に遺伝子のトグルスイッチを導入し、その安定性を調べた。それらの研究の一端を紹介したい。Leibler 等は、3つの転写リプレッサーのネットワークを構成しリミットサイクル振動を発生させた。モデルとしては、次の化学反応式が用いられた。

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{(1 + p_i^n)} + \alpha_0 \quad (3)$$

$$\frac{dp_i}{dt} = -\beta(p_i - m_i) \quad i=1,2,3 \quad (4)$$

ここで、 m_i と p_i はそれぞれ i 番目の mRNA とその生成物であるリプレッサータンパクの濃度である。 n は、酵素反応の協同性に由来する非線形性の強さを特徴づけるもので、Hill 係数と呼ばれる。他のモデルとしては、細胞内での分子数が少ないことを考慮して、分子の離散性と確率性を直接シミュレーションするモデルが試されている。確率モデルにおいては、決定論的な連続モデルに比べて振動の振幅や周期のゆらぎが大きく、時系列の自己相関関数の減衰も早い。この確率モデルは、オペレーター-タンパクの結合定数や解離定数、mRNA からタンパクへの転写速度などを考慮しており一見リアリスティックなモデルに見えるが、リプレッサーの協同性を表現するには一つのプロモーターに2つのオペレーターサイトが存在するという大きな仮定を必要としている。その意味で、やはり DNA と結合タンパクの相互作用ダイナミクスにより詳しい実験と理論の進展が期待されていることは言うまでもない。また、例えば Collins 等のトグルスイッチの実験とモデル解析で明らかになったことは、トグルスイッチを安定化させるためには、化学反応の非線形性（Hill 係数が1以上で大きいほど安定）が本質的であることであり、その意味でもやはり結合タンパクの協同性が本質的であるとの主張がなされている。

4 神経情報における変分原理的解釈

神経ネットワークが行っている情報処理に着目する場合、個々の細胞の内部状態にはある程度目をつむり、入出力の相互情報量だけを問題にすることによって多くの知見が得られる場合がある。昆虫の視覚系の神経細胞などでは一つの細胞が重要な機能を受け持っていることが多い。例えば 視野に写った垂直なバーの水平方向の動きに感じて発火する H1 細胞などがその例である。実験室で固定されたハエの頭の前に設置されたテレビ画面に垂直なバーを写し出し、任意の時系列に従ってそのバーを水平方向に行き来させる。このとき H1 細胞

が出力するパルスの時系列を記録する。この神経回路は入力情報をどのようにコーディングしているだろうか？また、出力パルスの時系列から入力データを再構成することは可能だろうか？コーディングには、例えばパルスの平均発火率だけに情報を表現する平均発火率コーディングや、パルスの時間間隔にも情報を持たせるコーディングなどが考えられる。パルスの発火タイミングが正確に制御できるならば平均発火率に比べて極めて大量の情報を伝達することが可能になるが、神経の発火タイミングは膜電位のゆらぎなどにより一定程度のゆらぎを必ず有するため、伝達できる情報には限界が存在する。生物が与えられた環境とゆらぎの中で進化を遂げ、何らかの意味での最適化を実現していると考え、この H1 神経も与えられたゆらぎの条件下で入力と出力間の情報伝達を最大化していると考えすることはできないだろうか？Bialek 等は、このような考えから入力に対する最適なコーディングとして神経の出力を構成したり、その逆に出力から入力を再構成することができることを示した。このような情報論的アプローチの一つとして非線形フィルターによる信号の推定の方法が神経インパルスからの入力時系列データの再構成に極めて有効であることが示された。出力の神経スパイクをデルタ関数と仮定して $(F(t) = \sum_{i=1}^N \delta(t-t_i))$ 、各スパイク入力 $\delta(t-t_i)$ に対する応答を $K_1(t)$ 、二つのスパイク $\delta(t-t_i), \delta(t-t_j)$ に対する応答を $K_2(t-t_i, t-t_j)$ 、3つのスパイクに対する応答を $K_3(t-t_i, t-t_j, t-t_k)$ などと置き、それらの和で推定値 $S_{est}(t)$ を構成し、真の入力である $S(t)$ を二乗誤差が最小になるようにカーネル $K_1, K_2, \dots$ を決定する。(ただし、時間的には $S(t)$ が先に起こり神経パルスの発生までに時間遅れがあることを考慮する必要がある。)

$$S_{est}(t) = \sum_i K_1(t-t_i) + \frac{1}{2} \sum_2 K_2(t-t_i, t-t_j) + \dots \quad (5)$$

$$E = \langle \int dt |S(t) - S_{est}(t)|^2 \rangle \quad (6)$$

このようにして推定されたカーネルは、入力データである水平方向の角速度の時系列を良く表しており、1つのスパイクのみから構成されたものより2つのスパイクから構成されたものの方が良く、3つのスパイクの方がさらに良い結果を与えることが分かった。このことから、ハエの H1 細胞は sparse temporal coding を行っていることが明らかになった。現在、一つの出力細胞だけでなく複数の神経細胞が関与している場合への理論の拡張が目指されている。

References

- [1] T. Mizuguchi and M. Sano, Phys. Rev. Lett., 75 (1995) 966-969.
- [2] F. Rieke, D. Warland, W. Bialek, "Spikes: Exploring the Neural Code", (MIT press, 1997).
- [3] M. Elowitz, S. Leibler, Nature, 403, 335 (2000).
- [4] T. Gardner, C. Cantor, J. Collins, Nature, 403, 339 (2000).
- [5] G. West, J. Brown, B. Enquist, Science, 276, 122 (1997).