

アルツハイマー病における海馬シグナル伝達経路のネットワーク解析 Network Analyses of hippocampal signal transduction in Alzheimer's disease

築島亮次(PY)[†], 北川統之[†], 菊地進一[†], 石崎俊[†]

Ryoji Yanashima (PY), Noriyuki Kitagawa, Shinichi Kikuchi and Shun Ishizaki

[†]慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科

yanasima@sfc.keio.ac.jp

Abstract — The properties of scale-free and small-world networks are believed to reflect the functional units of a network. For the signaling networks, we focus analysis on those structures which best reflect cellular functions. The analysis therefore starts from a ligand and progresses to transcription factors and cytoskeletal proteins. This involves comparing the original and restricted signaling cascades using microarray gene expression profiles of pre-critical and post-critical stages of human Alzheimer's disease. The commonly used method of shortest-path analysis neglects to consider the influences of alternative pathways that can effect the activation of transcription factors or cytoskeletal. As a result, we found the significant difference between AD related and other genes in analysis of degree and betweenness, although the k -cycle structure of network properties in the Alzheimer's disease network resembled those in the network, the robustness changes depending on the specific input and output sets in the k -shortest path analysis. This technique reflects those results found *in vivo*, and discovers pathways not found when other structural analysis or degree analysis techniques were applied.

Keywords — Signal Transduction, Alzheimer's Disease, Network Analysis, k -Shortest Path

1 はじめに

タンパク質ネットワークが疾患から受ける様々な構造的な変化がネットワーク解析により解明されつつある [1]. これらの研究結果から, ある状態に対するネットワークの構造は機能的な必然性を兼ね備えているということが考えられる. そのため, 疾患によって引き起こされる現象をネットワーク解析により理解することは有効である.

これらの先行研究はタンパク質ネットワーク上に存在しているタンパク質がすべて機能しているということ仮定した解析である. ネットワークを構成しているタンパク質は遺伝子発現によって調節され, 機能するタンパク質群が外部環境に応じて変化していることが知られている [2]. そのため, 単一の構成要素, または構造上の特徴解析だけでは疾患がタンパク質ネットワークに与えるダイナミクスを捉えるには不十分であると考えられる.

本研究は, アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) によって発現が制御されたシグナル分子のネッ

トワーク上での特徴解析, およびAD関連シグナル分子をネットワーク上から除去したAD患者の海馬シグナル伝達経路 (以下, ADN) を生成し, 構成要素と構造の双方を考慮した解析を行った.

2 対象と方法

本研究では, ヒト海馬部位のシグナル伝達経路を有向グラフで表現したネットワーク (以下, CN) を用いた [3]. 本ネットワークは570のノードと1,333のエッジを持っている. ノードは, シグナル分子に対応しており, エッジは化学反応に対応している. AD患者と健常者のヒト海馬における遺伝子発現データ [4] を比較し, AD関連遺伝子を抽出した. 比較に当たり, distribution free summarization法 [5] で正規化したデータに対して経験ベイズによる順位付け検定 [6] を用いて得られた結果の中から, 信頼区間上位99.9%に含まれていない遺伝子をAD関連遺伝子とした. 遺伝子と遺伝子がコードしているシグナル分子をNCBI Gene IDとSwiss-Prot IDを用いて対応付けを行い, AD関連遺伝子によってコードされているシグナル分子をAD関連シグナル分子とした. ここで得られたAD関連シグナル分子の次数と媒介中心性の解析を用い, それらのネットワーク上での特徴解析を行った.

次に, AD関連シグナル分子をCN上から除去してADNを作成し, ネットワークの構造解析を行った. シグナル伝達経路上に存在している構造は, 代替経路が多く存在していることが知られている [6]. そのため, 本研究ではネットワークの構造を最短経路だけではなく, 特定ステップ以内で到達可能なループ構造 (k サイクル構造) と経路 (k 最短経路) により解析した. ネットワーク構造はノードとエッジの数に依存するため, ADNのノード数と同数になるようにCNからノードをランダムで除去し, CNと比べてネットワーク密度の変化が上下1%以内に含まれる100個のランダムネットワーク (以下, RN) を生成した. k 最短経路の入力を細胞外のリガンド (30種), 出力を細胞骨格および転写因子 (あわせて60種) として, 1,800経路を規定した. 特にその中からGlutamateからCREBに至る経路を神経可塑性, ACh, IGF1, NGF, EphrinからTubulinに至る経路を突起進展, FasLからICADに至る経路を神経細胞死として解析を行った. シグナル伝達経路内における経路の頑健性を全入出力の組み合わせにおける各経路のZ-scoreを用いた. また, k サイクル構造と k 最短経路解析のステップ数 k はZ-scoreの分布が変化しなくなるステップ数 ($k=9$) として解析を行った.

3 結果

AD関連遺伝子の抽出を行ったところ,36個のAD関連遺伝子を抽出することができた.36個には,Histone H3などの生化学実験で得られたAD関連シグナル分子が経験ベイズを用いた解析結果のスコアの上位に含まれていた.ここで得られたAD関連遺伝子に対応したシグナル分子とそれ以外のシグナル分子と次数と媒介中心性の解析を行った.その結果,次数についてみるとAD関連シグナル分子 (7.11 ± 0.93)は,それ以外のシグナル分子 (4.56 ± 0.26)と比較して, $p < 0.01$ (Student-T検定)で有意差が観測された.また,媒介中心性についても同様にシグナル分子 (0.0066 ± 0.0015)とそれ以外のシグナル分子 (0.0034 ± 0.0004)の比較を行ったところ,次数と同様に有意差 $p < 0.01$ (Student-T検定)が観測された.

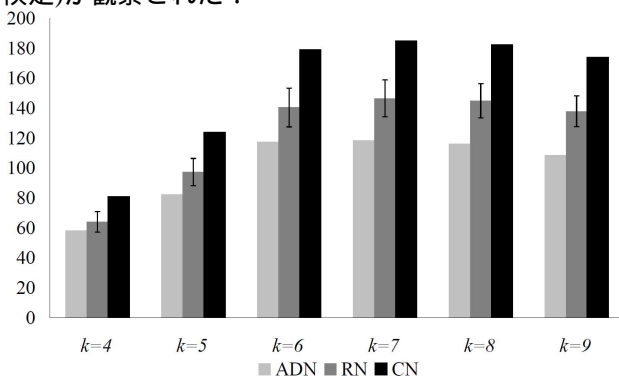


図1: k サイクル構造の数のステップごとの変化
縦軸はサイクル数,横軸はステップ k に対応している.

ネットワーク構造の解析を行った結果, k サイクル構造 ($k=4,5,6,7,8,9$)の数はすべてのステップ k においてRNとCNと比べ,減少することが示された(図1).しかし,各ステップ数に対するサイクル構造数のグラフの形状が類似しており,ADはサイクルの規模にかかわらずネットワーク全体のサイクル構造に対して影響を与えるということが示された.

表1: 特定機能に対応した経路の頑健性の変化

機能	入力物質	出力物質	ADN-CN	ADN-RN	RN-CN
神経可塑性	Glutamate	CREB	-7.50	-7.45	-0.05
	ACh		-2.42	-2.47	0.05
突起進展	IGF1	Tubulin	-1.50	-1.72	0.22
	NGF		-3.43	-4.13	0.70
	Ephrin		-0.27	-0.31	0.04
神経細胞死	FasL	ICAD	0.07	0.15	-0.08

k 最短経路解析 ($k=9$)の結果では,神経可塑性に対応した経路の頑健性の変化が最も大きいということが判明した(表1).突起進展の中でも神経細胞の維持作用を持つNGF [8]と,アミロイド β の蓄積により減少するACh [9]に関連した経路で頑健性の減少量が大きかった.神経細胞死に関しては,顕著な差は見られなかった.また,神経可塑性,NGF,AChの頑健性は減少量上位5%に含まれていた.ADNとRNを比較した解析に関してもCNと比較した際と同様の変化が得られたため,ここで得られた変化はシグナル分子数や密度による変化ではないことが示された.また,RNとCNを比較した解析では,頑健性が大きく変化をした組み

合わせはなかった.このことから,AD関連シグナル分子はランダムに選択したシグナル分子と比べて,次数や媒介中心性が高いだけではなく神経可塑性や一部の突起伸展の入出力に対して選択的に影響を与えているという結果が得られた.

4 考察と結論

本研究では,AD関連シグナル分子のネットワーク上での特徴解析とネットワークの構造的な変化の解析を行った.シグナル分子のネットワーク上での特徴解析においては,AD関連シグナル分子は次数や媒介中心性が有意に高いということが判明した.これは,先行研究で得られている疾患関連遺伝子の特徴と同様の結果であった [1]. k サイクル構造の解析では,すべてのステップにおいて k サイクル数が減少していることがわかった.しかし,特定規模のサイクルではなくネットワーク全体のサイクル構造に影響を与えていると考えられる.また, k 最短経路解析の結果では,神経可塑性とNGF,AChに関する突起進展の頑健性が著しく減少するということが示された.これはADによって起こる疾患メカニズムと合致した結果であった.AD関連シグナル分子の組み合わせはランダムと比べ,特定経路に対して選択的に影響を与える組み合わせであることも示された.本研究によって,シグナル分子の特徴解析とネットワーク構造の解析により,ADが引き起こすシグナル伝達経路の変化を示すことに成功した.

参考文献

- [1] T. Ideker and R. Sharan. (2008) "Protein networks in disease" *Genome Res.*, **18**, 644-652
- [2] N.M. Luscombe, *et al.* (2004) "Genomic analysis of regulatory network dynamics reveals large topological changes" *Nature*, **431**, 308-312.
- [3] A. Ma'ayan, *et al.* (2005) "Formation of regulatory patterns during signal propagation in a Mammalian cellular network" *Science*, **309**, 1078-1083.
- [4] W.S. Liang, *et al.* (2007) "Gene expression profiles in anatomically and functionally distinct regions of the normal aged human brain" *Physiol.Genomics*, **28**, 311-322.
- [5] Z. Chen, *et al.* (2007) "A distribution free summarization method for Affymetrix GeneChip arrays" *Bioinformatics*, **23**, 321-327.
- [6] E.J. Coulson. (2006) "Does the p75 neurotrophin receptor mediate Abeta-induced toxicity in Alzheimer's disease?" *J.Neurochem.*, **98**, 654-660.
- [7] I.B. Jeffery, *et al.* (2006) "Comparison and evaluation of methods for generating differentially expressed gene lists from microarray data" *BMC Bioinformatics*, **7**, 359.
- [8] M.H. Tuszynski, *et al.* (2005) "A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease" *Nat.Med.*, **11**, 551-555.
- [9] M. Hoshi, *et al.* (1997) "Nontoxic amyloid beta peptide 1-42 suppresses acetylcholine synthesis. Possible role in cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease" *J.Biol.Chem.*, **272**, 2038-2041.