川崎医会誌一般教，26号：67—72(2000)

医学における数理科学的諸問題２・多項分布揺動法「エンドソームにおける受容体数推定」のための理論とシミュレーション

川崎医科大学　情報科学教室*，微生物学教室**

近藤芳朗*・堺立也**

（平成12年11月９日受理）

Mathematical Problems in Medical Science 2 Theory and Simulation for the Number Estimation of Endocytosed Transferrin

Yoshiro KONDO* and Tatsuya Sakai**

**Department of Information Sciences,*
***Department of Microbiology,*
Kawasaki Medical School,
Kurashiki, Okayama, 701-0192, Japan

(Received on November 9, 2000)

概　　要

エンドソーム内の受容体個数を推定するための２項分布揺動法の確率論的基礎付けを行った。これをランダムウォーク・シミュレーションによって確かめた。

Abstract

The stochastic foundation of binomial fluctuation method for estimating the number of endocytosed acceptor of transferrin is developped. The validity of this new method is supported by the computor simulation of random walk model.

§1．２項分布揺動法

著者の一人（堺）はエンドソーム内の受容体個数を推定するためエンドソームを８個のサイトに分割して，各サイト内の受容体の個数とその標準偏差の比の値から総受容体数Nを推定する方法を発案した。受容体の個数は直接測れないので，受容体に蛍光を取り付けてこの蛍光強度を測ることで受容体の個数を推定しようとした。受容体１個の蛍光強度をaとし，特定サイトの受容体個数nと蛍光強度Iとの間に

$$I = an \tag{1}$$

の関係がある。ここで，a は未知である。いま，I，n の標準偏差をそれぞれ σ_I，σ_n とすると

$$\sigma_I = a\sigma_n \tag{2}$$

であるから

$$\frac{I}{\sigma_I} = \frac{n}{\sigma_n} \tag{3}$$

となり，この関係は a に関係なく成立する。つまり，蛍光強度はどんな単位で測ってもよいのである。

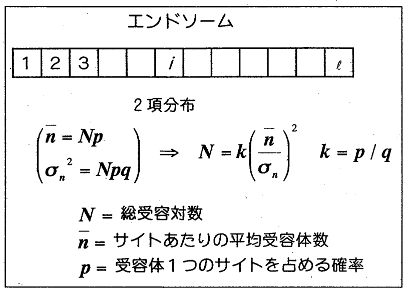

図1

総数Nの受容体を8個のサイトにランダムに分配するとき，特定のサイトを占める受容体数の期待値 n とその分散 σ_n^2 は2項分布の関係式より

$$n = Np \tag{4}$$

$$\sigma_n^2 = Npq \quad (q = 1 - p) \tag{5}$$

となる。ここに，p は考えているサイトを受容体が占める確率である。以上より

$$N = k\left(\frac{I}{\sigma_I}\right)^2 \tag{6}$$

$$k = \frac{p}{q} \tag{7}$$

が得られる。この関係式を用いて，エンドソームにおける受容体数を決定しようというのが2項分布揺動法である。以上の推論は第0次近似のものであって，確率論的に精密化する必要がある。本研究は数理科学的視点のみにたち，2項分布揺動法を多項分布揺動法に発展させ，その確率論的基礎付けを行う。

§2．受容体のランダムウォーク・モデル

図のように，エンドソームを l 個のサイトに分割し，この中をN個の受容体がランダムに運動する。それぞれの受容体は等価で τ の時間の間に右隣りのサイトに移る確率を p，左隣りのサイトに移る確率を q，また，同じサイトに留まる確率を r とする。

$$p + q + r = 1 \tag{8}$$

である。一定の時間が経過すると受容体の分布は定常的になる。この定常状態での i 番目のサ

イトの受容体数を $n_i(i=1,\ 2,\ \cdots,\ l)$ とすれば

$$\left.\begin{aligned} &n_1=qn_2+rn_1\\ &n_2=(p+q)n_1+rn_2+qn_3\\ &n_i=pn_{i-1}+rn_i+qn_{i+1}\quad(3\leqq i\leqq l-2)\\ &n_{l-1}=(p+q)n_l+pn_{l-2}+rn_{l-1}\\ &n_l=pn_{l-1}+rn_l \end{aligned}\right\}\tag{9}$$

などが成り立つ。また，

$$n_1+n_2+\cdots+n_l=N\tag{10}$$

である。実際問題として，対称性から

$$p=q\tag{11}$$

であるから，これと式(9)，(10)とから

$$n_1=n_l=\frac{N}{2(l-1)}\tag{12}$$

$$n_i=\frac{N}{l-1}\quad(2\leqq i\leqq l-1)\tag{13}$$

が得られる。

§3．多項分布による受容体数の平均値と分散

N個の受容体を l 個のサイトにランダムに配置し，i 番目のサイトに n_i 個の受容体が占められているものとする。このような配置を得る確率 $f(n_1,\ n_2,\ \cdots,\ n_l)$ は多項分布で与えられる。

$$f(n_1,\ n_2,\ \cdots,\ n_l)=\frac{N!}{n_1!\,n_2!\cdots n_l!}p_1{}^{n_1}p_2{}^{n_2}\cdots p_l{}^{n_l}\tag{14}$$

ここに，p_i は受容体が i サイトを占める確率であり

$$p_1+p_2+\cdots+p_l=1\tag{15}$$

を満たす。この場合，Q の期待値 $\overline{Q}$ は

$$\overline{Q}=\sum Qf(n_1,n_2,\cdots,n_l)\tag{16}$$

で定義され，以下の諸式が(14)，(15)より導出される。

$$\overline{n_i}=Np_i\tag{17}$$

$$\overline{n_i{}^2}-(\overline{n_i})^2=Np_iq_i\qquad(q_i=1-p_i)\tag{18}$$

$$\overline{n_in_j}=N(N-1)p_ip_j\qquad(i\neq j)\tag{19}$$

定常状態の場合

$$p_i=\frac{n_i}{N}\tag{20}$$

であるから

$$p=\frac{1}{l-1} \tag{21}$$

とすると，(12)，(13)から

$$p_1=p_l=\frac{1}{2}p \tag{22}$$

$$p_i=p \qquad (2\leqq i\leqq l-1) \tag{23}$$

が得られ以下の諸式が成り立つ。

1．サイト平均とその分散

サイト平均 $\overline{n}$ を次式

$$\overline{n}=\frac{1}{l-2}\sum_{i=2}^{l-1}n_i \tag{24}$$

で定義すると

$$\mathrm{E}(\overline{n})=Np \tag{25}$$

$$\mathrm{V}(\overline{n})=Np\left(\frac{1}{l-2}-p\right) \tag{26}$$

が成り立つ。

2．標本分散と不偏分散

標本分散 S^2 および不偏分散 U^2 の定義とその期待値は

$$S^2=\frac{1}{l-2}\sum_{i=2}^{l-1}(n_i-\overline{n})^2=\overline{n^2}-(\overline{n})^2 \tag{27}$$

$$\mathrm{E}(S^2)=Np\left(1-\frac{1}{l-2}\right) \tag{28}$$

$$U^2=\frac{1}{l-3}\sum_{i=2}^{l-1}(n_i-\overline{n})^2=\frac{l-2}{l-3}S^2 \tag{29}$$

$$\mathrm{E}(U^2)=Np \tag{30}$$

以上の関係式を用いると総受容体数Nについての種々の推定ができる。

§4．総受容体数の多項分布揺動法

時刻 t における i サイトの受容体数を $n_i(t)$　$(i=1,2,\cdots,l;t=1,2,\cdots,T)$ とする。

1．推定法1

特定の番号のサイトに着目して統計をとる。受容体数 $n_i(t)$ は独立した2項分布に従うので

$$\overline{n_i}=\frac{1}{T}\sum_{i=1}^{T}n_i(t) \qquad (2\leqq i\leqq l-1) \tag{31}$$

$$U_i^2=\frac{1}{T-1}\sum_{i=1}^{T}(n_i(t)-\overline{n_i})^2 \tag{32}$$

とおくと

$$\mathrm{E}(\overline{n_i})=Np \tag{33}$$

$$\mathrm{E}(u_i{}^2)=Npq \tag{34}$$

であるから

$$N=k\left\{\frac{\mathrm{E}(\overline{n_i})^2}{\mathrm{E}(u^2)}\right\} \tag{35}$$

$$k=l-2 \tag{36}$$

が成り立つ。したがって，実データ $n_i(t)$ に対しては

$$N=k\left(\frac{\overline{n_i}}{U_i}\right)^2 \tag{37}$$

でNを推定する。

２．推定法２

特定の時間に着目して統計をとる。同等のサイト$(i=2,3,\cdots,l-1)$に着目する。

$$\overline{n(t)}=\frac{1}{l-2}\sum_{i=2}^{l-1}n_i(t) \tag{38}$$

$$U^2(t)=\frac{1}{l-3}\sum_{i=2}^{l-1}\{n_i(t)-\overline{n(t)}\}^2 \tag{39}$$

とおくと

$$\mathrm{E}=(\overline{n}(t))=Np \tag{40}$$

$$\mathrm{E}(U^2(t))=Np \tag{41}$$

であるから

$$N=k\left\{\frac{\mathrm{E}(\overline{n}(t))^2}{\mathrm{E}(U^2(t))}\right\} \tag{42}$$

$$k=l-1 \tag{43}$$

が成り立つ。実データに対しては

$$N=k\frac{\langle\overline{n(t)}^2\rangle}{\langle U^2(t)\rangle} \tag{44}$$

でNを推定する。ただし，$\langle\cdots\rangle$は

$$\langle Q(t)\rangle=\frac{1}{T}\sum_{t=1}^{T}Q(t) \tag{45}$$

を意味する。

§５．ランダムウォーク・シミュレーションとその結果

受容体N個を各サイトに適当に配置させ，各受容体を一斉に乱数によって一歩進めたり後退させたりする。与えられた遷移確率に従って受容体がランダムウォークするようにシミュレーションを行った。受容体の初期配置は定常常態のときにとる配置とした。また，推定方法は前

節の推定2の方法によって処理した。シミュレーションの回数は2000回とし，総受容体個数Nは　$N=2^m(l-1)$　$(1\leqq m\leqq 7)$　としてそれぞれ比例係数kを算出し平均したものが表1の値である。

表1　シミュレーションと理論によるkの値

l \ r	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75	0.9	平均値	理論値
5	3.973	4.000	3.970	4.010	4.020	3.975	3.991	4
6	5.001	4.997	5.038	5.064	5.033	4.854	4.998	5
7	5.899	5.961	6.062	5.962	6.090	5.850	5.971	6
8	7.026	6.992	7.075	6.898	6.957	6.825	6.967	7
9	7.956	8.012	7.828	7.924	7.915	7.931	7.928	8
10	8.843	8.980	9.084	8.990	9.295	9.047	9.040	9

以上の結果から明らかなようにランダムウォーク・シミュレーションの結果と理論的結果はよく一致し，実際のエンドソーム内の受容体の運動がこのシミュレーションのようにランダムウォークであれば，本研究で展開した理論が適用できると考えてよい。ランダムウォーク・シミュレーション結果についてはまだ，多くの報告すべき結果が得られているのでいずれ発表したいと考えている。

参考文献

1) 堺立也：エンドソーム内のトランスフェリン分子数の測定一密度ゆらぎを利用した分子の計数法一．生物物理 39：S96, 1999
2) 堺立也，近藤芳朗：ランダムウォークシミュレーションによるエンドソーム内のトランスフェリン分子数の推定．生物物理 40：S152, 2000
3) 堺立也：エンドソームにおける受容体分子数の決定．両備てい園試験研究論叢（印刷中）