

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03196

研究課題名(和文) ネットワーク構造に基づく生命システムの恒常性創出原理の数理的解明

研究課題名(英文) Mathematical study for homeostasis in living systems based on network structure

研究代表者

望月 敦史 (Mochizuki, Atsushi)

京都大学・医生物学研究所・教授

研究者番号：10304726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：多数の化学反応からなる複雑なネットワークのダイナミクスから、細胞の生理機能が生まれ、酵素の量や活性が制御されることで、恒常性などの生体調節機能が実現されると考えられる。複雑なシステムの理論解析の難しさから、生理機能や調節機能が生まれる機構はこれまで十分に理解されてこなかった。本研究では申請者らが開発した新しい数理理論によりこれらの問題を解決し、実際の生命システムにおいて恒常性が生まれる原理や破たんする機構の解明を目指す。我々が開発した理論により、恒常性やその破綻が起こる条件をネットワークレベルで決定し予測を導く。実験生物学者と共同研究し、予測検証的に生命システムの恒常性の原理を解明する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ネットワーク構造だけからダイナミクスの振る舞いの解析を可能とする新しい理論を用いて、具体的な生命システムを数理的に解析し、恒常性が生まれる原理やそれが破たんする機構を解明する。これらの理論は以下の特徴を備えている。(i) 反応速度関数の形を仮定する必要がある。(ii) 解を具体的に解く必要がない。本研究は、実験的に得られたネットワーク構造だけから、直接帰結を導けることが特徴であり、得られる結果は実験生物学的にも強力な情報となる。このような理論は他には無く、極めて独自性の高い研究となる。また、恒常性と破綻に注目することで、生命機能の維持や疾患の理解につながられる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：It is thought that physiological functions of cells emerge from the dynamics of complex networks consisting of numerous chemical reactions, and that biological regulatory functions such as homeostasis are realized by regulation of the amount and activity of enzymes. Due to the difficulty of theoretical analysis of complex systems, the mechanisms that give rise to physiological and regulatory functions have not been fully understood. In this study, we aim to solve these problems using a new mathematical theory developed by our group, and to elucidate the principle of homeostasis and the mechanism of its breakdown in actual living systems. The theory we have developed will help to determine and predict the conditions under which homeostasis and its breakdown occur at the network level. We will collaborate with experimental biologists to study the principles of homeostasis in living systems through prediction and validation.

研究分野：理論生物学

キーワード：反応ネットワーク 制御ネットワーク 数理理論 構造感度解析 構造分岐解析 細胞周期

1 . 研究開始当初の背景

生命科学の発達により、恒常性などの高次生命機能さえも、生体分子システムの動的振る舞いとしてその原理を解明できる可能性が現れてきた。生体内では数多くの化学反応が働き、それらの反応は生成物と反応物を共有することで連鎖的につながり、ネットワークを形成する。複雑なシステム全体のダイナミクスから細胞の生理機能が生まれ、さらに反応を司る酵素の量や活性が変化することで生理機能の調節が行われるのだ、と考えられている。すなわち、生物が環境や外部刺激に適応し恒常性を保つのは、酵素の活性や量を調節することで、ダイナミクスの解の環境変動に対する応答を小さく抑えているのであり、またこの恒常性維持機構が限界を超え破たんすることで、疾患などの異常が起こるのだと考えられる。したがって生体系の恒常性はダイナミクスの解の環境パラメータに対する感度 (Sensitivity) により理解でき、その破綻は解のパラメータに対する不連続な変化である分岐により理解できると期待できる。単純な生命システムであれば、既にそのような理解が得られている例もある (図 1)。

一方で、多くの生命機能は、多数の化学反応が連結したネットワークシステムから生まれる。このような複雑なシステムのダイナミクスについては、ほとんど理解されてこなかった。理由は大きく二つあり、一つは、化学反応ネットワークはあくまで反応を状態変化として記述した情報の集積であり、ダイナミクスを決定するために必要な反応関数やパラメータの情報を与えていないことである。化学反応ネットワークに基づきダイナミクスを議論するためには、関数の形やパラメータを特定のものに仮定した数理モデルを構築することが通常であった。第二の理由は、高次元力学系の解析の困難さである。通常生体系の化学反応ネットワークは大変複雑になるため、この数理モデルを解析的に解くことはできず、数値計算に頼るほかは無かった。生体システムの振る舞いに対するほとんどの理論研究が、特定の関数やパラメータを仮定した限られた条件のみを扱い、かつ大規模な数値計算に頼るもの、或いは少数の変数を抽出した近似的なシステムのみを議論するものであった。

これに対して、我々は化学反応系のネットワーク構造だけから、ダイナミクスの解の性質を決定できることを発見し、二つの構造理論としてまとめた。第一に、**構造感度解析** (Structural Sensitivity Analysis) により、酵素の活性や濃度 (に相当するパラメータ) が変化したときのシステムに含まれる各化学物質の濃度の定性的応答を、ネットワークの構造だけから決定できる (Mochizuki & Fiedler, 2015)。また酵素変化に対する化学反応系の応答が、ネットワーク上の一部の分子の濃度変化に留まることを発見し、この応答範囲をネットワークのトポロジーだけから説明する、新規の数理法則 “**限局則**” を発見した (Okada & Mochizuki, 2016)。この法則により、適応や恒常性と呼ばれる生命現象の多くが、統一的に理解できると考えられる。第二に、**構造分岐解析** (Structural Bifurcation Analysis) においては、ネットワークの構造情報だけから、化学反応システムの定常解の分岐の基本性質を決定できる。外的環境の変化に対して細胞挙動

が質的に不連続に変化する現象は分岐と捉えられるが、分岐が起こり得るか否かをネットワークの形だけから決定可能であることを初めて示した (Okada et al., 2018)。これら理論を駆逐することで、複雑なネットワークシステムであっても、直接その振る舞いを理論的に解析できると考え、本申請に至った。

2 . 研究の目的

本研究では、ネットワーク構造だけからダイナ

ミクスの振る舞いの解析を可能とする新しい理論を用いて、具体的な生命システムを数理的に解析し、恒常性が生まれる原理やそれが破たんする機構を解明する。手法として、我々が最近開発した二つの方法、構造感度解析と構造分岐解析を用いる。

これらの理論は以下の特筆すべき特徴を備えている。ネットワーク構造だけから振る舞いの数理解析を可能とするものであり、(i) 反応速度関数の形を仮定する必要がない。 (ii) 解を具体的に解く必要がない。これによって、生命システムの振る舞いを研究する上での二つの困難、すなわち関数が当たられていない困難さと複雑システムの解を解くことの困難さのいずれも解決される。

本研究では、これら二つの理論を用い、適応、恒常性といった性質を示す生命システムを解析

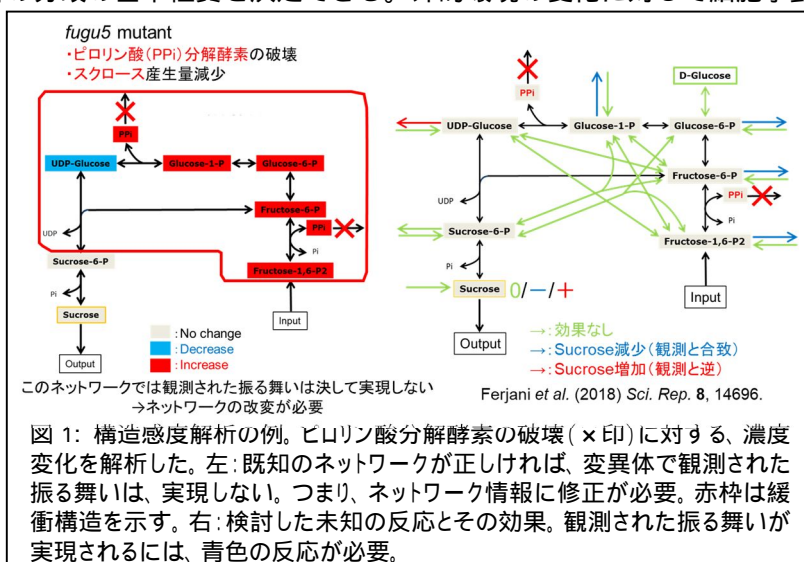


図 1: 構造感度解析の例。ピロリン酸分解酵素の破壊 (× 印) に対する、濃度変化を解析した。左: 既知のネットワークが正しければ、変異体で観測された振る舞いは、実現しない。つまり、ネットワーク情報に修正が必要。赤枠は緩衝構造を示す。右: 検討した未知の反応とその効果。観測された振る舞いが実現されるには、青色の反応が必要。

し、その本質的な原理をネットワークレベルで決定する。得られた結果を実験生物学者との共同研究により実験的に検証する。これにより恒常性やその破綻が起こる条件をネットワークレベルで決定し、未知の反応の存在などの予測を導く。実験生物学者と共同研究し、予測検証的に生命システムの恒常性の原理を解明する。

これまで複雑な生命システムの理論解析は不可能で、数値的に計算するほかは無いと考えられてきた。この研究では、恒常性とその破綻という、生命機能において最も重要な二つの性質を、理論解析によって解くことを初めて可能とする。本研究は、実験的に得られたネットワーク構造だけから、モデルを仮定することなく、これらの帰結を導けることが特徴である。これにより得られる結果は実験生物学的にも強力な情報となる。このような理論は他には無く、極めて独自性の高い研究となるだろう。

3. 研究の方法

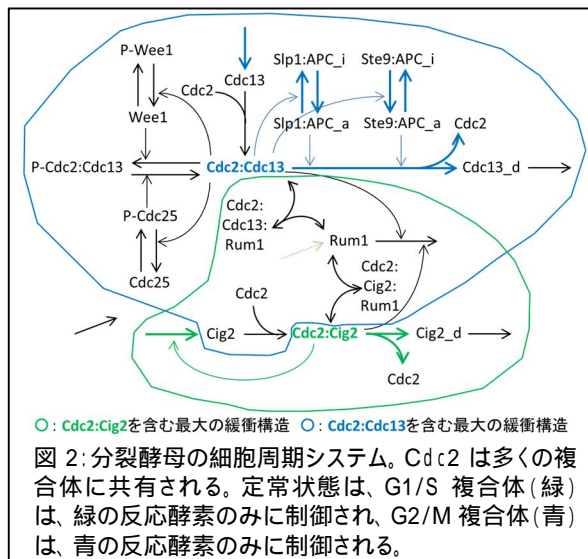
恒常性は外部環境のパラメータの変化に対し、システムの動態の定常解の応答が小さいこと、すなわち感度解析における頑健性と理解できる。また恒常性の破たんは、外部環境に相当するパラメータが大きく変化した時、解が質的に振る舞いを変えること、すなわち定常解の分岐として理解できる。この考え方に基づき、複数の生命システム生命システムを解析し、恒常性が生まれる原理とそれが破綻する機構をネットワーク構造から解析する。

対象となる生命システムとして、細胞周期システムを解析する。細胞分裂は、生命の最も基本的な機能である。一つの分裂から次の分裂までには、G1期、S期、G2期、M期の4つの段階を経る必要があり、これらを総称して細胞周期と呼ぶ。細胞周期は複数種のCdkやサイクリンといったタンパク質の活性によって調節されており、これらの中に多くの正や負のフィードバックを含む複雑なシステムであることが、遺伝学や分子生物学によって明らかにされてきた。G1期からS期、あるいはG2期からM期へ移行するためには、それぞれ異なるCdk/サイクリン複合体のスイッチ様の活性化が必要だと分かっている。細胞周期のダイナミクスの本質は、周期振動ではなく、システムが持つ複数の定常状態を不可逆的に遷移することだ、とする仮説がある。時間とともに変化するサイクリンの量が、分岐定数の役割を果たしており、細胞周期のチェックポイントの通過は、分岐点における定常状態の遷移に相当すると考えられる。基礎生物学研究所の青木一洋教授との共同研究により、酵母における細胞周期システムを対象とし、適切にチェックポイントの通過が起きる条件を、ネットワーク構造に基づき解析する。具体的な理論解析として、それぞれの対象システムに対し、恒常性の原理の解明と破綻機構の解明を行う。恒常性は外部環境のパラメータの変化に対し、システムの動態の定常解の応答が小さいこと、すなわち感度解析における頑健性と理解できる。化学反応系を感度解析することで、そのシステムが恒常性を示しうる否か、恒常性を示す場合、環境シグナルの入力となるのはどの反応か、どの化学物質が恒常性の振る舞いを示すか、を決定する。恒常性の破たんは、外部環境に相当するパラメータが大きく変化した時、解が質的に振る舞いを変えること、すなわち定常解の分岐として理解できる。化学反応系を分岐解析することで、そのシステムが分岐を起こしうるか否か、分岐を起こす場合どの化学反応が分岐誘導パラメータになり得るか、そのパラメータによって分岐が起きたときどの化学物質が分岐の振る舞いを示すか、を決定する。実験的な計測と操作により仮説の検証を進める。

また国立遺伝学研究所（現在、名古屋大学）の小田祥久教授との共同研究により、植物細胞壁形成におけるROP GTPase 反応系を対象とした。このシステムは導管細胞において、水輸送を担う壁孔の周期パターンが形成される際に働くシステムであり、ダイナミクスとしても興味深い。自己組織的周期パターンが安定に形成されるための分子間相互作用構造の条件について解析を進めた。

4. 研究成果

構造感度解析によれば、化学反応ネットワークのような状態遷移システムについて、酵素の量や活性などの反応パラメータが変化したときのシステムの応答、つまり各物質の濃度変化の有無や増減を、ネットワーク情報のみから決定できる。また、各反応パラメータの変化に対するシステムの応答の範囲は、従来の直感とは異なり、ネットワーク上の限られた部分にとどまり、その範囲はネットワークの構造だけで決まる。すなわち、ネットワークの任意の部分構造が、数式： $(\text{分子種の数}) - (\text{反応の数}) + (\text{ループ構造の数}) = 0$ を満たすとき、この部分構造は「緩衝構造」となり、構造内の反応パラメータに与えられた変動の影響は、定常状態では内部のみにとどまり、外部の分子の濃



度や反応には影響を与えない。この結果は、反応システムの調節単位がネットワーク構造から自然に定まること、つまりネットワーク構造が作り出す調節モジュールという新しい概念を意味している。

細胞周期が正常に進行するためには、G1/S 期、G2/M 期のそれぞれにおいて、異なるサイクリン/CDK 複合体のスイッチ様の活性化が必要である。しかし分裂酵母において、これら 2 種の複合体は、ネットワーク中で反応やフィードバック制御を介してつながっている。また 2 種の複合体は Cdc2 (= CDK) という共通のタンパク質を含んでおり、その総量は細胞周期を通じて保存されている。このようなシステムで、ステージ特異的なチェックポイントの通過がなぜ可能なのか、謎であった。このシステムを解析したところ、2 種の複合体の活性は、それぞれ数個の反応によってのみ制御され、互いに全く独立に振る舞う可能性が示された (図 2)。従来の直感的な理解では、2 種のサイクリンの中で CDK の奪い合いがあると考えられており、この予測は大きな驚きである。さらに 2 種の複合体は異なる緩衝構造に含まれる。つまり異なる複合体が異なる制御モジュールに含まれることで、複数のチェックポイントの独立制御が実現されている可能性が示された。

具体的には、G1/S 期のサイクリン (Cig2) を過剰発現させた場合、G1/S 期の複合体が増加する一方で、G2/M 期の複合体は全く変化しない、G2/M 期のサイクリン (Cdc13) を過剰発現させた場合、G2/M 期の複合体が増加する一方で、G1/S 期の複合体は全く変化しないことが、理論予測されている。この予測を基礎生物学研究所の青木教授らが開発した発現量操作技術と定量計測技術を組み合わせることで検証した。サイクリンや CDK の発現量を操作し、それぞれのサイクリン/CDK 複合体の量を定量的に計測することにより、検証した。細胞内におけるサイクリン/CDK 複合体濃度を精密に計測するために、内在性の CDK とサイクリンに、それぞれ異なる蛍光タンパク質を付加し、蛍光相関分光法 (FCS)、及び蛍光相互相関分光法 (FCCS) を用いた。その結果、理論予測通り緩衝構造外の分子を摂動しても緩衝構造内には影響を及ぼさないことが分かった。現在、この研究を論文としてまとめている。

また植物導管細胞における自己組織的形態形成について研究を進めた。植物導管細胞の表層において壁孔の位置を決定する活性型 ROP が、再構成系においてはドット、ストライプ、逆ドットの 3 パターンを形成し、それらが時間とともに遷移することが、名古屋大学の小田教授らにより報告されている。この現象の背後にある原理を数理的に理解するために、ROP-GEF-GAP 系の反応拡散方程式モデルを構築し、解析を進めた。反応速度係数、拡散係数、ROP 総量などの条件を様々に変えて計算し、パターンの遷移を引き起こすパラメータ条件を明らかにした。例えば、ROP の総量を変化させたとき、ドット、ストライプ、逆ドットが順に現れるが、これは実験において ROP の発現量の増加に従ってパターンが遷移したことに対応する可能性がある。現在、野生型や変異体での振る舞いと比較することで、実際の系で 3 パターンの遷移を引き起こした要因を特定を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kobayashi Kenji, Maeda Kazuki, Tokuoka Miki, Mochizuki Atsushi, Satou Yutaka	4. 巻 11
2. 論文標題 Using linkage logic theory to control dynamics of a gene regulatory network of a chordate embryo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83045-y	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tokuoka Miki, Maeda Kazuki, Kobayashi Kenji, Mochizuki Atsushi, Satou Yutaka	4. 巻 7
2. 論文標題 The gene regulatory system for specifying germ layers in early embryos of the simple chordate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abf8210	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mii Yusuke, Nakazato Kenichi, Pack Chan-Gi, Ikeda Takafumi, Sako Yasushi, Mochizuki Atsushi, Taira Masanori, Takada Shinji	4. 巻 10
2. 論文標題 Quantitative analyses reveal extracellular dynamics of Wnt ligands in Xenopus embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.55108	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okada Takashi, Mochizuki Atsushi, Furuta Mikio, Tsai Je-Chiang	4. 巻 103
2. 論文標題 Flux-augmented bifurcation analysis in chemical reaction network systems	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevE.103.062212	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akaki Kotaro, Ogata Kosuke, Yamauchi Yuhei, Iwai Noriki, Tse Ka Man, Hia Fabian, Mochizuki Atsushi, Ishihama Yasushi, Mino Takashi, Takeuchi Osamu	4. 巻 10
2. 論文標題 IRAK1-dependent Regnase-1-14-3-3 complex formation controls Regnase-1-mediated mRNA decay	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.71966	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada Takashi, Miyagi Hiraku, Sako Yasushi, Hiroshima Michio, Mochizuki Atsushi	4. 巻 121
2. 論文標題 Origin of diverse phosphorylation patterns in the ERBB system	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 470 ~ 480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2021.12.031	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mochizuki Atsushi	4. 巻 479
2. 論文標題 A structural approach to understanding enzymatic regulation of chemical reaction networks	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical Journal	6. 最初と最後の頁 1265 ~ 1283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20210545	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita Ayaka, Naito Makiko, Wang Zining, Inoue Yasuhiro, Mochizuki Atsushi, Tsukaya Hirokazu	4. 巻 149
2. 論文標題 Position of meristems and the angles of the cell division plane regulate the uniqueness of lateral organ shape	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199773	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mochizuki Atsushi	4. 巻 20
2. 論文標題 Controlling complex dynamical systems based on the structure of the networks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v20.0019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 望月 敦史	4. 発行年 2021年
2. 出版社 共立出版	5. 総ページ数 328
3. 書名 理論生物学概論	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	青木 一洋 (Aoki Kazuhiro) (80511427)	大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター・教授) (82675)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------