

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：17104

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24800050

研究課題名(和文) 生体分子ネットワークのシステム的理解に基づく抗がん剤投薬スケジューリング法の開発

研究課題名(英文) Development of anti-cancer drug medication scheduling method based on the systematic understanding of biochemical networks

研究代表者

前田 和勲 (Maeda, Kazuhiro)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・研究員

研究者番号：50631230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：概日リズム-細胞周期モデルを用いて、正常細胞とがん細胞の細胞周期の違いを利用した効果的な投薬タイミングを決定した。シミュレーションモデルを作成するためには、その挙動が実験データと一致するように動力学パラメータを推定しなければならない。本研究では、動力学パラメータのin vitro測定値を利用する新規の動力学パラメータ推定法を開発した。また、概日リズムの解析を進める中で、正確な周期を維持する上で長いフィードバックループが重要であることを明らかにし、それを数学的に証明した。

研究成果の概要(英文)：By using a circadian rhythm-cell cycle model, we identified differences in cell cycles between normal and cancer cells, and proposed an efficient drug administration strategy. In order to construct simulation models, the values of kinetic parameters need to be estimated so that the models fit to experimental data. Generally, the parameter values measured in vitro are different from those in vivo. However, the in vitro measurements can be clues to in vivo values. In this study, we developed a novel parameter estimation method that uses in vitro measurements. We revealed and mathematically proved that the long negative feedback loops make oscillations robust to fluctuations in kinetic parameters.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：生体生命情報学

キーワード：システム生物学 概日リズム 細胞周期 シミュレーション

## 1. 研究開始当初の背景

医薬品開発において、従来からの膨大なスクリーニング実験に代って、生体分子ネットワークの合理的知見に基づいて、効率的に医薬品投薬戦略を探索する新しい技術開発が求められる。実験と理論(シミュレーション)を用いた合成的アプローチを用いて、がん細胞と正常細胞における分子や遺伝子レベルでのダイナミクスの相違を同定し、がん細胞の増殖を制御することが重要である。

細胞分裂のタイミングは概日制御されており、多くの正常細胞は朝方に分裂するので、適切な時間帯に抗がん剤を投与することで副作用を抑えて薬効を最大化できる。しかし、現状では、薬効や薬物動態の日周リズムの制御機構が不明であるため、このような時間治療戦略は試験的に行われるにとどまっている。概日リズムと細胞周期のダイナミックモデルを統合し、薬効の日周リズムの制御機構を明らかにすることが必要である。そして、その制御機構の理解に基づいて、最適な抗がん剤投薬スケジュールを決定する方法論の開発が求められている。

## 2. 研究の目的

本研究は、がんの生体分子ネットワークの理解に基づいて合理的投薬戦略を提案するものである。がん細胞は正常細胞とは異なる時間に分裂するので、適切な時間帯に抗がん剤を投与することで副作用を抑えて薬効を最大化できる。しかし、薬効の日内変動の仕組みが不明であるために、そのような時間治療は一般的ではない。本研究では、細胞周期と概日リズムの統合的数学モデルを構築し、そのシステムの理解に基づいた、がんの時間治療投薬戦略を提案する。

本研究では、Gerard の概日リズム-細胞周期モデルを採用した(Gerard and Goldbeter, *PLoS Comput Biol*, 2012)。この解析に関しては(1)で述べる。モデルの作成には動力学パラメータ推定が必要である。問題はモデルが大きい場合に推定が難しいこと、既知の動力学パラメータ値の情報をうまく取り入れる方法がないことである。パラメータ推定法に関しては(2)で述べる。概日リズムの解析を進める中で、概日リズムが正確な周期を維持する上で長いフィードバックループが重要であることを数学的に証明した。これに関しては(3)で述べる。

### (1) 概日リズム-細胞周期モデルの解析

概日リズム-細胞周期モデルとして、Gerardらのモデルを採用した。このモデルでは、細胞周期を制御する Wee1 の発現が概日リズムによって制御されている。また概日リズムは周期的な光刺激によって環境と同調している(図1)。このモデルの動力学パラメータを

変更することで、正常細胞とがん細胞のモデルを構築する。そして、それぞれの細胞が一日のうちどの時間帯に細胞分裂をするのか明らかにし、それを考慮したうえで効果的な投薬タイミングを提案する。

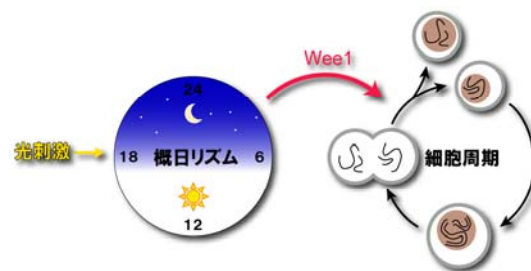


図1 概日リズム-細胞周期モデル

### (2) 制約付き最適化アルゴリズムを用いたパラメータ推定法の開発

シミュレーションモデルを作成するためには、その挙動が実験データと一致するように動力学パラメータを推定しなければならない。一般に *in vitro* と *in vivo* では動力学パラメータの値は異なるが、*in vitro* 測定値は *in vivo* の動力学パラメータの値を推定する手がかりとなる。*in vitro* 測定値が利用可能な場合には、それらから動力学パラメータの推定値が大きく外れないようにすることが重要である。制約付き最適化アルゴリズムを用いることで、この問題を効率的に解決できる。本研究では、動力学パラメータの *in vitro* 測定値を利用する新規の動力学パラメータ推定法を開発する。

### (3) 長いフィードバックループがロバストな振動を生み出す機構の解明

概日リズムや細胞周期のような振動現象は生物でよく見られる。これまでに生物の振動現象に関して多くの研究がなされており、現在では、振動を生み出すのにネガティブフィードバックループが必要であることがわかっている。

生化学システム的设计原理を理解するためには、計算的研究と解析的研究の両方が必要である。数値シミュレーションによって生化学システムの挙動を定量的に知ることができる。一方、解析解はシステム構造やパラメータが挙動に与える影響を調べるのに重要である。

この研究では、まず、ネガティブフィードバック振動子の一般モデルに対して周期、振幅、マルチパラメータ感度(MPS)の解析解を与える。そして、分散時間遅れ機構によって、長いネガティブフィードバックループがパラメータ変動に対する振動周期のロバストネスを向上させることを証明する。

## 3. 研究の方法

### (1) 概日リズム-細胞周期モデルの解析

細胞周期が 20 時間のモデルを正常細胞モデル、13 時間のモデルをがん細胞モデルとする。これらのモデルを概日リズムと接続したとき、細胞周期のダイナミクスに違い出ると予想される。この違いを利用して投薬スケジュールを決定する。

(2) 制約付き最適化アルゴリズムを用いたパラメータ推定法の開発

テスト問題として、大腸菌アンモニア同化システム(図 2)の動力学パラメータ推定を考える。このシステムでは動力学パラメータの *in vitro* 測定値が比較的豊富であるので、テスト問題として最適である。大腸菌アンモニア同化の Bruggeman モデルは、酵素反応の反応機構を反映した詳細なダイナミックモデルである(Bruggeman et al., FEBS J, 2005)。このモデルでは、動力学パラメータの値として *in vitro* 測定値が使われている。しかし、最近のメタボロームデータを定量的に再現することができないという問題がある。これは、*in vivo* の動力学パラメータの値が *in vitro* とは異なるからであると考えられる。

メタボロームデータとの誤差がある範囲内という制約のもとで、動力学パラメータの推定値と *in vitro* 測定値の差を最小化するという最適化問題を設定した。この問題を解くために、制約付き最適化問題を扱えるように遺伝的アルゴリズムを改良した。

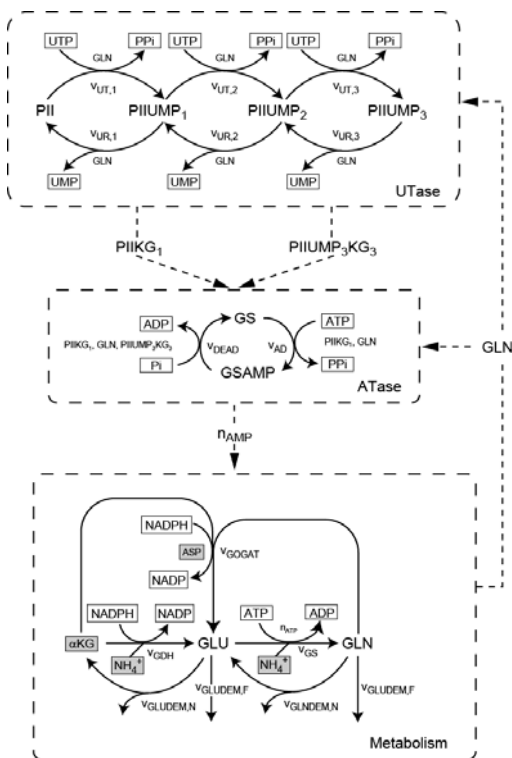


図 2 大腸菌アンモニア同化システムのネットワークマップ。

(3) 長いフィードバックループがロバストな振動を生み出す機構の解明

一般に、生化学システムのダイナミックモ

デルは次のような微分方程式で表される。

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{F}(t, \mathbf{x}, \mathbf{p})$$

ここで  $t$  は時間、 $\mathbf{x}$  は状態変数、 $\mathbf{p} = (p_1, p_2, \dots, p_m)$  は動力学パラメータである。 $m$  は動力学パラメータの数である。ここで  $q(\mathbf{p})$  をシステムの入力とすると、 $i$  番目のパラメータに対する出力  $q(\mathbf{p})$  の感度は次のように表される。

$$S_{p_i}^q = \frac{p_i}{q} \frac{\partial q}{\partial p_i} = \frac{\partial \ln q}{\partial \ln p_i}$$

マルチパラメータ感度(MPS)は次のようになる。

$$\Phi_q = \sum_{i=1}^m (S_{p_i}^q)^2$$

MPS は、シングルパラメータ感度の二乗和として簡単に計算できるが、すべての動力学パラメータがランダムかつ同時に微小変化した場合のロバストネスを表している(Maeda and Kurata, J Theor Biol, 2011)。

本研究では、図 3 に示したネガティブフィードバック振動子の一般モデルを扱う。 $x_i$  は  $i$  番目の分子種を表す。 $x_i$  は  $x_{i+1}$  の生成を活性化する( $i \in \{1, 2, \dots, n-1\}$ )。そして、 $x_n$  は  $x_1$  の生成を抑制する。すべての  $x_i$  に分解反応がある。 $n$  はフィードバックループを構成する分子種の数、あるいはフィードバックループの長さである。振動の 1 サイクルをいくつかのインターバルに分割し、各インターバルにかかる時間を求める。そして、その総和をとることで振動の周期を求めることができる。

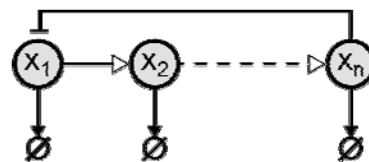


図 3 ネガティブフィードバック振動子のネットワークマップ。

4. 研究成果

(1) 概日リズム-細胞周期モデルの解析

正常細胞モデルとがん細胞モデルのシミュレーション結果の一部を図 4 に示す。正常細胞では、cyclin B/Cdk1 は、夜から午前中にかけて低い。即ち、この時間は M 期の正常細胞が少ないことを示す。この時間帯に M 期の進行を阻害する薬剤を投薬すれば副作用を最小化できる。

問題は、現在の概日リズムと細胞周期のモデルはまだ実験データに基づいていないことである。実験データが得られたとしても、そこからモデルパラメータの値を一意に決めることは難しいと予想される。

がん細胞と一言で言っても、がん組織の中でがん細胞は遺伝的に多様である。しかし、

がん細胞では、グルコースの取り込みと乳酸の生産が増加しているという共通点がある。代謝の日内変動を利用することで、正常細胞にとって毒性が少なく、かつ多様な遺伝的背景を持つ癌細胞に対して効果のある投薬戦略が実現できるかもしれない。

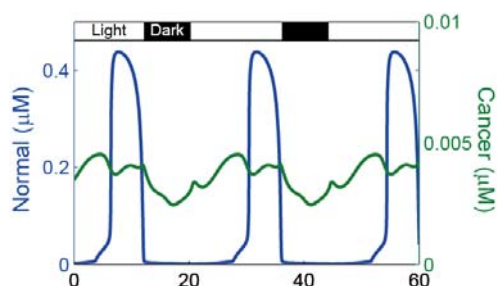


図4 cyclin B/Cdk1 のダイナミクス。

(2) 制約付き最適化アルゴリズムを用いたパラメータ推定法の開発

最適化後のシミュレーション結果の一部を図5に示す。制約付き遺伝的アルゴリズムを用いることで、多くの動力学パラメータを *in vitro* 測定値からほとんど変更せずにメタボロームデータを再現することができた。動力学パラメータ推定を制約付き最適化問題として捉えることで、現実的なダイナミックモデルを構築できる。

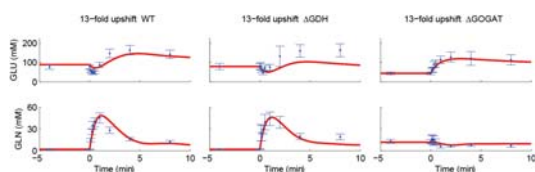


図5 実験データ(青)と最適化後のシミュレーション結果(赤)の比較。

(3) 長いフィードバックループがロバストな振動を生み出す機構の解明

$x_i$  の生成のオン/オフをステップ関数で表現するなど、いくつかの仮定を置くと、ネガティブフィードバック振動子の周期  $\tau$  とその MPS  $\Phi_\tau$  は次のようになる。

$$\tau = \frac{n \ln 4}{\alpha}$$

$$\Phi_\tau = \frac{1}{n}$$

フィードバックループの長さ  $n$  が大きくなるにつれて、また、分解速度定数  $\alpha$  が小さくなるにつれて周期が大きくなる。  $\alpha$  の変化は MPS に影響を与えないが、  $n$  が大きくなるにしたがって MPS は小さくなる。フィードバックループを構成する分子種の数が増加するにしたがって、周期を構成する時間遅れの数が増加する。多数の反応に時間遅れが分散することによって周期の MPS は小さくなる(図6)。

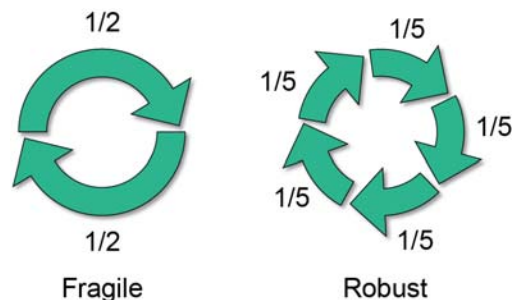


図6 分散時間遅れ機構。周期が多数の時間遅れから成る場合(右)、周期はパラメータ変動に対してロバストになる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6件)

- (1) 前田和勲, Fred C. Boogerd, Frank J. Bruggeman, Hans V. Westerhoff, 倉田博之, 大腸菌アンモニア同化制御機構のダイナミックモデルの構築, IPSJ SIG Technical Report, 2013
- (2) Kazuhiro Maeda and Hiroyuki Kurata, Dynamic modeling of ammonia assimilation system in *E. coli*, IPSJ SIG Technical Report, 2012

[学会発表] (計 7件)

- (1) Kazuhiro Maeda and Hiroyuki Kurata, Multiparameter sensitivity as a robustness measure for dynamic biochemical models, 24th International Conference on Genome Informatics, Singapore, (December 2013)
- (2) Kazuhiro Maeda, Fred C. Boogerd, Frank J. Bruggeman, Hans V. Westerhoff, and Hiroyuki Kurata, Developing a dynamic model of the *E. coli* ammonium assimilation system, The 36th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Kobe, Japan, (December 2013)
- (3) Kazuhiro Maeda, Fred C. Boogerd, Hans V. Westerhoff, Frank J. Bruggeman, and Hiroyuki Kurata, Dynamic modeling of *E. coli* ammonia assimilation system, FOSBE 2012, Tsuruoka, Japan, (October 2012)

[その他]

研究成果のリスト

<http://kurata21.bio.kyutech.ac.jp/maeda/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

前田和勲 (Maeda Kazuhiro)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・研究員

研究者番号：50631230