

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月13日現在

機関番号：17104

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02898

研究課題名(和文) ゲノムスケールヒト代謝のdFBAモデル開発と多剤併用療法への応用

研究課題名(英文) dFBA model of genome-scale human metabolism and its application to multi-drug combination therapy

研究代表者

倉田 博之 (Kurata, Hiroyuki)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授

研究者番号：90251371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：既存の実験データを正確に再現する細胞の中心代謝システムの詳細な動力学モデルを開発した。器官(血管、肝臓、心臓、腎臓、脂肪組織、肺、骨格筋、脳)ごと、疾患タイプごとに変化する代謝ネットワークマップを構築し、環境ストレス(基質濃度、薬物濃度)に対する臓器連関ネットワーク中の代謝物濃度の時間変化を予測するダイナミックモデルを開発した。投薬の影響をコンピュータシミュレーションし、副作用の影響を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界でもっとも正確な細胞の中心代謝モデルの動力学モデルを開発した。また、従来の薬物動態モデルにおけるブラックボックス部分をヒト代謝ネットワークモデルで表現して、ホルモンや医薬品が全身の代謝に与える影響を予測するダイナミックモデル(創薬CAD)を開発した。創薬CADは、実験費用や時間を大幅に節約する。がん代謝をメカニズムに基づいて数理的に解析するシステム生物学への道を拓いた。

研究成果の概要(英文)：We have developed a detailed kinetic model of central carbon metabolism that reproduced the existing experimental data. Subsequently, we have constructed the metabolic network maps of multiple organs including blood, liver, heart, kidney, lung, brain, skeletal muscle, and adipose tissue, and built the dynamic model of the organ interaction networks to predict the time course of the metabolites concentrations and fluxes. By using the model, we predicted changes in metabolism with respect to different environmental conditions and dosages.

研究分野：システム生物学

キーワード：全細胞シミュレーション 数理モデリング システム解析 ヒト生理学

## 1. 研究開始当初の背景

バイオ医薬品（タンパク質など）市場が急速に伸びる一方で、抗がん剤の新薬の承認数が低下している。バイオ医薬品は、細胞外に露出している受容体に結合し、ERK-MAPK や PI3K-Akt 経路の増殖や生存シグナル経路を阻害するが、細胞内に取り込まれにくいと、標的は細胞外の受容体に限られる。一方、抗代謝薬（構造的類似化合物で代謝酵素反応を阻害する薬剤）を含む多数の低分子医薬品は、細胞内で起こる多様な代謝反応（ヌクレオチド、アミノ酸、脂質の合成系）を標的とするので、それらの多剤併用療法の発展が期待される。

実験と理論の両面から、がん細胞と正常細胞の生体分子ネットワークの相違を同定にすることによって、がん細胞に特異的な代謝性要求を叩く分子標的治療が注目されている。がん細胞は、酸素がある場合でも ATP を最も効率的に生成する酸化リン酸化を行わずに、解糖系を利用して ATP を生成する「ワールブルグ効果」を示す。また、糖代謝と関連の深いアミノ酸代謝にも劇的な変化を起こす。グルタミン、セリン、グリシン、トリプトファン消費ががん細胞で共通して高く、これらのアミノ酸代謝の変化は、がん細胞の生存、増殖、転移などを可能にしている。2-hydroxyglutarate のような細胞を腫瘍形成へと導くがん代謝物も知られている[1]。遺伝子発現ネットワークや信号伝達経路は、p53、Myc、HIF1、Akt、AMPK、mTOR のようなタンパク質を介して、積極的に代謝系を調節している[2]。たとえば、p53 がペントースリン酸経路を抑制して、がん細胞の代謝性要求をシャットダウンする。

薬剤が代謝系に与える影響を解析するためには、組織や疾患ごとに代謝ネットワークマップを構築する必要がある。トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームから、組織（血管、肝臓、心臓、腎臓、脾臓、膵臓、肺、胸腺、骨格筋、脳）ごと、がんタイプごとに変化する代謝ネットワークマップが構築された[3]。しかし、ハイスループットデータの正確性が十分ではないため、ネットワークマップは、使用したデータによって大きく相違する（相違は数十パーセントの場合もある）[4]。

一方、代謝系のモデリングは、酵素反応の化学量論式に基づく流束収支解析やエレメンタリモード解析を用いる代謝パスウェイ解析が一般的である。遺伝子発現分布の変化を代謝パスウェイに統合して代謝流束分布の変化を推定できるが、遺伝子発現や酵素活性調節メカニズムを考慮しないので、予測の正確性や合理性は十分ではない[4-6]。

特定の組織細胞の代謝系を生体分子ネットワークに基づいて記述するダイナミックモデル開発が期待されている。グルコースとインスリン代謝の作用について Tolic らはグルコース代謝のインスリン供給効果を説明するモデルを提案した[7]。Tindall らのモデルは、特定の種類のリポタンパク質の肝臓における競合的取り込みを再現した[8]。Berndt らは、肝臓代謝を詳細な生化学反応に基づいて数理モデル化した。Vicini らのモデルは骨格筋のエネルギー収支を正確に考慮した[9]。近年、個々の細胞だけではなく、ヒトの代謝全体（臓器連関ネットワーク）を生体分子ネットワークに基づいて記述する数理モデル開発が始まっている[10-12]。

## 2. 研究の目的

本研究では、**図 1** に示すようなヒトの代謝系全体の生理学的変化を予測できる数学モデルを開発する。糖や脂質の代謝・輸送・貯蔵を再現することに重点をおいたプロトタイプモデルである。数学モデルを用いて、(1) 薬剤や環境ストレス（基質濃度、食事制限）、遺伝子発現変化に対して代謝流束変化や増殖速度変化を予測し、(2) 疾患特異的数理モデルを作成して薬剤投与

が表現型（増殖、流束変化、副作用）に与える影響を予測する。

### 3. 研究の方法

#### (1) ダイナミックモデル

生体分子ネットワークに基づいて、代謝物濃度の時間変化を表すダイナミックモデルを微分代数方程式を用いて開発する。ヒト臓器細胞の動力学データは不足しているため、最初は、代謝系に関する生化学的理解の進んでいる大腸菌中心代謝系についての動力学モデル開発を行った。高度なモデリング技術を習得した後、ヒトの臓器連関ネットワークのダイナミックモデルを構築する。

#### (2) 臓器連関ネットワークのダイナミックモデル

図1に血漿、肝臓、骨格筋、脂肪組織、脳からなる臓器連関ネットワークを示す。代謝物としてグルコース(Glc)、グリコーゲン

(Glycogen)、乳酸(Lac)、グリセロール(Glr)、遊離脂肪酸(FFA)、トリグリセリド(TG)を選択した。最初に、各臓器

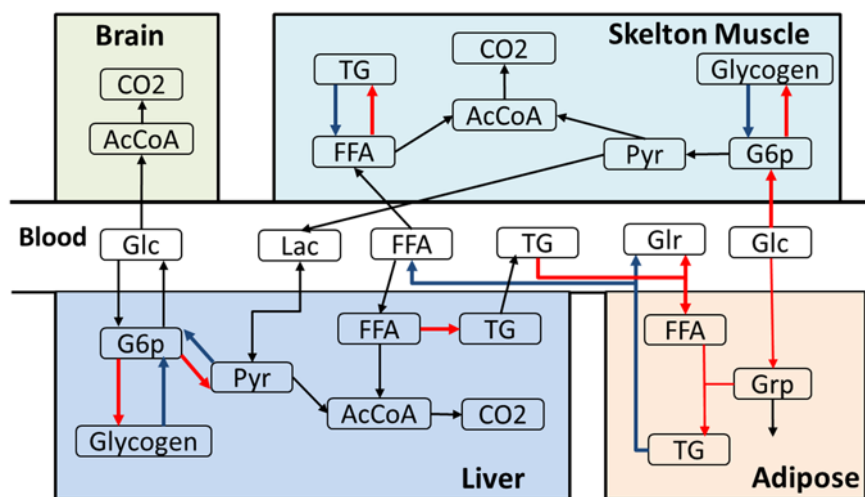


図1 簡略化した臓器連関ネットワークマップ

の代謝ネットワークマップの和集合を作成した。和集合ネットワークから特定の代謝反応を削除することによって、臓器特異的代謝ネットワークマップを作成する。血漿中や各臓器中の代謝物濃度の時間変化を再現するダイナミックモデルを開発する。

### 4. 研究成果

#### (1) 臓器連関ネットワークのダイナミックモデル

グリコーゲン、グリセロール、乳酸、脂肪酸、トリグリセリドの代謝物濃度の時間変化をシミュレーションした（図2）。長時間安静状態に置いたのち、 $t=0$ においてグルコースとトリグリセリドを投与（食事）した。食後、血漿中のグルコース濃度の上昇が始まるとインスリンが分泌されて、肝臓、骨格筋、脂肪細胞で糖や脂肪の蓄積が始まった。グルコースは、肝臓や骨格筋でグリコーゲンとして蓄積され、脂質は骨格筋や脂肪細胞で蓄積した。血漿中のグルコース濃度の低下にしたがって、インスリンの放出が低下し、血漿中グルコース濃度が一定になり、インスリン濃度が抑制された安静状態にもどる。食後1時間後、血漿中グルコース濃度  $8\text{mM}$  となり、最大化した。安静時状態において  $5\text{mM}$  の値をとった。実験データと一致した。

食後、肝臓で脂肪酸からトリグリセリドが合成されるため、トリグリセリド血漿中濃度は増加した。インスリン作用によって脂肪組織による脂肪酸の取込みが増加する一方で、その放出が低下する。骨格筋、肝臓では脂肪酸の消費が続くため、血漿中の脂肪酸は低下した。食後数時間経

過後の安静状態では、肝臓のグリコーゲンが分解されて糖新生が生じ、血漿中にグルコースが放出された。骨格筋では、分解されたグリコーゲンはエネルギーとして利用される。骨格筋では、糖新生経路がないためグルコースの放出は起こらない。

一般に、食事後、安静状態、飢餓状態、運動状態などの状態において代謝状態が大きく変化する。今回は、食事後と安静状態の代謝システムのシミュレーションを行ったが、今後は、様々な環境条件、薬剤投与の条件下で、代謝の生理学的変化を予測するダイナミックモデルを開発する。代謝系でのホルモンや増殖因子などの生理学的因子による調節機構（信号伝達系）に着目する。

## (2) まとめ

ヒト臓器連関ネットワークの代謝のダイナミックモデル（プロトタイプ）を開発した。本モデルを発展させて、下記の課題に取り組む。

① 薬物動態モデルをホワイトボックスにする：現在の薬物動態モデルでは、細胞内の薬物の作用メカニズムはブラックボックスである。ブラックボックスを代謝ネットワークに基づくメカニズムモデル置き換えることによって、創薬 CAD を開発する。

② 多剤併用療法のコンピュータシミュレーション：低分子医薬品（抗代謝薬を含む）の多剤併用療法による新しい治療法が必要である。膨大な数にのぼる医薬品の種類や投与量の組合せが、引き起こす細胞の増殖や副作用を数学モデルで予測する。実験費用や時間の節約が期待される。

③ システム生物医学：複雑な疾患であるがんは、一つあるいは二つの遺伝子発現の明瞭な変化から生じる病気ではなく、遺伝子発現分布の広範囲な変動から生じる。がんの代謝をメカニズムに基づいて数理的に理解するシステム生物医学の複合領域を開拓する。

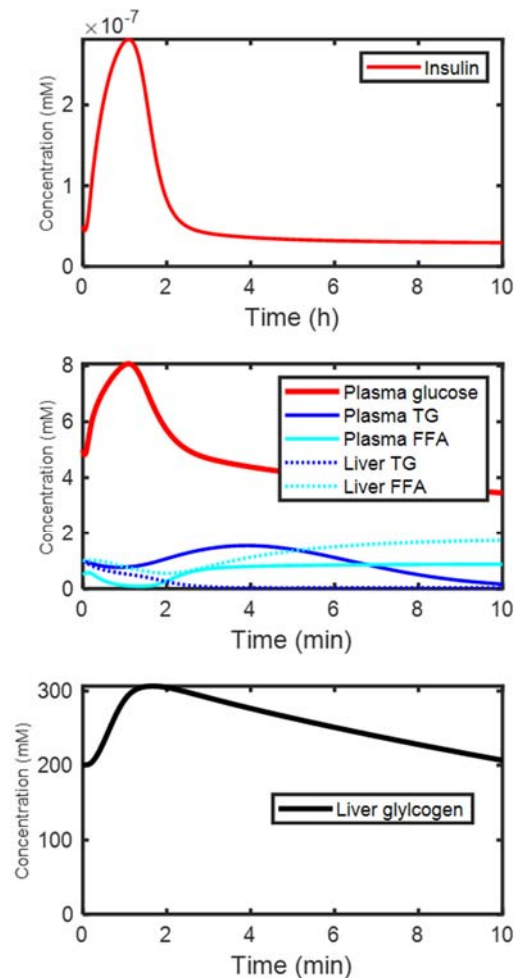


図2 食後の代謝物濃度の時間変化

## 参考文献

- [1]Schulze, A.andA.L. Harris:Nature, 494(7435), 130-130, (2013)
- [2]Bensaad, K., et al.:Cell, 126(1), 107-120, (2006)
- [3]Mardinoglu, A., et al.:Nat Commun, 5, 3083, (2014)
- [4]Agren, R., et al.:Plos Computational Biology, 8(5), e1002518, (2012)
- [5]Zhao, Q.andH. Kurata:Bioinformatics, 25(13), 1702-1708, (2009)
- [6]Zielinski, D.C., et al.:Nat Commun, 6, 7101, (2015)
- [7]Tolic, I.M., et al.:J Theor Biol, 207(3), 361-375, (2000)
- [8]Tindall, M.J., et al.:J Theor Biol, 257(3), 371-384, (2009)
- [9]Vicini, P.andM.J. Kushmerick:Am J Physiol Cell Physiol, 279(1), C213-224, (2000)
- [10]Ashworth, W.B., et al.:Plos Computational Biology, 12(9), e1005105, (2016)
- [11]Pearson, T., et al.:Bull Math Biol, 76(9), 2091-2121, (2014)
- [12]Kim, J., et al.:Ann Biomed Eng, 35(1), 69-90, (2007)
- [13]Matsuoka, Y.andK. Shimizu:J Biotechnol, 168(2), 155-173, (2013)

- [14]Toya, Y., et al.:Mol Biosyst, 8(10), 2593-2604, (2012)  
[15]Zhu, J.andK. Shimizu:Appl Microbiol Biotechnol, 64(3), 367-375, (2004)  
[16]Levanon, S.S., et al.:Biotechnol Bioeng, 89(5), 556-564, (2005)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 12 件）

- (1) Kazuhiro Maeda, Fred C. Boogerd, Hiroyuki Kurata. libRCGA: a C library for real-coded genetic algorithms for rapid parameter estimation of kinetic models. IPSJ Transaction on Bioinformatics 11:31-40, 2018. (査読有) 10.2197/ipsjtbio.11.31
- (2) Md. Mehedi Hasan, Hiroyuki Kurata. GPSuc: Global prediction of generic and species-specific succinylation sites by aggregating multiple sequence features. PLoS ONE 13:e0200283, 2018. (査読有) 10.1371/journal.pone.0200283
- (3) Kazuhiro Maeda, Hiroyuki Kurata. Long negative feedback loop enhances period tunability of biological oscillators. J. Theor. Biol. 440:21–31, 2018. (査読有) 10.1016/j.jtbi.2017.12.01
- (4) Hiroyuki Kurata, Yurie Sugimoto. Improved kinetic model of *Escherichia coli* central carbon metabolism in batch and continuous cultures. J. Biosci. Bioeng. 125:251-257, 2018. (査読有) 10.1016/j.jbiosc.2017.09.005
- (5) Md. Mehedi Hasan, Guo Dianjing, Hiroyuki Kurata. Computational identification of protein S-sulfenylation sites by incorporating the multiple sequence features information. Mol. Biosyst. 13:2545-2550, 2017. (査読有) 10.1039/C7MB00491E
- (6) Yu Matsuoka, Hiroyuki Kurata. Modeling and simulation of the redox regulation of the metabolism in *Escherichia coli* at different oxygen concentrations. Biotechnol. Biofuels 10:183, 2017. (査読有) 10.1186/s13068-017-0867-0
- (7) A B M Shamim Ul Hasan, Hiroyuki Kurata. Mathematical comparison of memory functions between mutual activation and repression networks in a stochastic environment. J. Theor. Biol. 427:28–40, 2017. (査読有) 10.1016/j.jtbi.2017.05.036
- (8) Hiroyuki Masunaga, Yurie Sugimoto, Shigeyuki Magi, Ryunosuke Itasaki, Mariko Okada-Hatakeyama, Hiroyuki Kurata. Robustness analysis of the detailed kinetic model of an ErbB signaling network by using dynamic sensitivity. PLoS ONE 12(5): e0178250, 2017. (査読有) 10.1371/journal.pone.0193088
- (9) Nusrat Jahan, Kazuhiro Maeda, Yu Matsuoka, Yurie Sugimoto, Hiroyuki Kurata. Development of an accurate kinetic model for the central carbon metabolism of *Escherichia coli*. Microb. Cell Fact. 15:112, 2016. (査読有) 10.1186/s12934-016-0511-x
- (10) Yu Matsuoka, Nusrat Jahan, Hiroyuki Kurata. S-system-based Analysis of the Robust Properties Common to Many Biochemical Network Models. Bioproc. Biosyst. Eng. 39:735–746, 2016. (査読有) 10.1007/s00449-016-1554-4
- (11) Md. Bahadur Badsha, Hiroyuki Kurata, Masayoshi Onitsuka, Takushi Oga, Takeshi Omasa. Metabolic analysis of antibody producing Chinese hamster ovary cell culture under different stresses conditions. J. Biosci. Bioeng. 122:117-24, 2016. (査読有) 10.1016/j.jbiosc.2015.12.013
- (12) Noorlin Mohd Ali, Ryo Tsuboi, Yuta Matsumoto, Daisuke Koishi, Kazuhiro Maeda, Hiroyuki Kurata. Web application for genetic modification flux with database to estimate metabolic fluxes of genetic mutants. J. Biosci. Bioeng. 122:111–116, 2016. (査読有) 10.1016/j.jbiosc.2015.12.001

〔学会発表〕（計多数）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕無し。

〔その他〕 <http://www.cadlive.jp/>

## 6. 研究組織

(1)研究分担者 無し。

(2)研究協力者

研究協力者氏名：酒井康行

ローマ字名：SAKAI, Yasuyuki