

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：17104

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2016

課題番号：25700030

研究課題名(和文)代謝ネットワークから解き明かす生物-環境相互作用：解析基盤の確立と応用

研究課題名(英文)Untangling species-environment interactions using metabolic networks: theory and its applications

研究代表者

竹本 和広 (Takemoto, Kazuhiro)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授

研究者番号：40512356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,200,000円

研究成果の概要(和文)：環境・医学分野において生物と環境のつながりを理解することは重要であり、そのための基礎理論構築と解析手法の確立は急務である。本研究課題では、多様な生物種の代謝ネットワークを用いることで、これまで特徴付けることが難しかった生物-環境相互作用を理解しやすいかたちで抽出・定量化するための手法を構築した。これを様々な分野の問題に適用し、多くの生物学的知見を得た。これらの結果はゲノム情報に基づく新たな医療診断や環境影響評価の基盤になると期待できる。

研究成果の概要(英文)：Species-environment interactions are important in environmental and medical sciences; however, previous methods for estimating the interactions have several limitations. Thus, I focused on the importance of metabolite interactions in microbial ecosystems, and proposed a novel method based on metabolic networks. The proposed method is useful for understating ecosystems at the molecular level. A number of interesting findings were obtained from the applications of the proposed method. These results promise to advance medical diagnosis and environment assessment based on genome information.

研究分野：計算・統合生物学

キーワード：ネットワーク科学 代謝ネットワーク 数値モデル 生態学 進化

1. 研究開始当初の背景

生命の階層性は、生体分子ネットワーク（特に、代謝ネットワーク）と環境（種間相互作用も含む）が極めて密接に相互作用することを意味している。このようなマクロな視点（生態系）をミクロな視点（生体分子ネットワーク）から理解することは生物多様性の維持、環境再生保全、更には健康・医療において極めて重要である。このような背景から、生物-環境相互作用を理解する目的の研究が環境分野や医療分野で徐々に行われている。特に、近年のシークエンス技術の飛躍的な発展から利用可能になった多様な生物種の代謝ネットワークと環境サンプルを組み合わせた解析が行われている。しかしながら、現在のところ、解析手法に大きな変革は起きていない。その多くは多変量解析のような古典的な統計学の枠組みに基づいている。このような場合、データやシステムの内在的な複雑性のため、解釈が難しい（もしくは、できない）結果を得ることもしばしばである。このような問題を避けるためには、遺伝子から生態系をシームレスに理解するため新規理論の構築や解析手法が必要である。

2. 研究の目的

本研究課題では代謝レベルから生物-環境相互作用を解析・理解するための解析基盤を確立し、応用に繋げることを目的とした。

(1) 生物と環境との相互作用（特に競争や協力といった種間相互作用）を定量化する理論を確立する。複数の種間における代謝物関係や代謝能の情報から種間相互作用（基質の供給（協力）や奪い合い（競争）など）の定量化を可能し、もうひとつの環境相互作用である種間相互作用も含めて環境相互作用をシームレスに解析する基盤を確立する。

(2) 代謝ネットワーク情報と環境データを整備する。理論だけではなく膨大な生物種に対する生育条件や生化学情報が必要である。既存のデータベースにおける生育条件・代謝情報の整備が不十分であるため、これを行う。

(3) システムの実装とツールを開発し、応用する。上記の理論をシステムとして実装し、視覚的にも使いやすいツール開発を行う。また、文献、データベース、共同研究者からの実データを用いて分析を行った。

3. 研究の方法

研究代表者がこれまでに確立してきた複雑な相互作用をシームレスに理解するための基礎理論を拡張した。微生物の生化学情報と生育環境情報に関するデータベースを構築した。理論とデータベースを用いて、様々な実問題に応用した。

(1) 代謝能の定量化する理論を確立した。任

意の化合物から反応可能な代謝スペース（Scope）を同定するアルゴリズムを拡張した。特に、Scope に対する確率論的枠組み応用することで、尤度に基づく柔軟な同定法を構築した。この手法を応用し（具体的には Scope を求める問題の逆問題として定式化し）、栄養素と生産物の同定法を構築した。モジュール分割を利用して代謝物の組成から種間関係の特徴付ける理論を応用して、生物間相互作用を推定する手法を構築した。またこの種間相互作用ネットワークから安定性などを評価するための理論的枠組みをランダム行列理論に基づいて構築したネットワークの可制御性を評価するための理論も構築した。

(2) 環境相互作用を特徴付けるため生理学的特徴（生育温度・pH、酸素要求性、栄養要求性、酸素呼吸速度、体サイズ）と地理学情報（気候、植生、人間活動の影響）のデータを収集し整理した。NCBI BioProject や GOLD といった有名なデータベースに加え、論文調査や専門家によってまとめられた百科事典に基づき、データを統合することでより精度の高い生育環境情報データベースを構築した。

代謝経路の情報も整理した。KEGG などの既存のデータベースには、アーキア（古細菌）など特殊な生物主において代謝経路の様々な不備が指摘されている。遺伝子操作系が確立されている *Thermococcus kodakarensis* KOD1 の情報をベースにして近縁種の情報も加えて、より精度の高い代謝経路データベースを構築した。

実際に観測される種間相互作用データを得るために、生態系ネットワーク（食物網、送粉系、種子散布系）のデータも既存のデータベースや文献に記載される情報などを統合することによって構築した。

(3) ユーザーフレンドリーな Web サーバやソフトウェアの構築し、最終的にツールとして公開した。実問題への適用として、がんリスク、寿命関連遺伝子推定、生態系評価（動物レベルの生態系と微生物生態系の両方）、ホスト-微生物相互作用推定などに取り組んだ。

4. 研究成果

(1) 代謝能力（Scope）を確率論的に定量化するための理論的枠組みを構築した（主な発表論文など 雑誌論文 9,10,15）。具体的に、分岐過程近似（ランダムファミリーフォレスト）を用いて解析的に求める手法を開発した。これまでは単一の入力（栄養や遺伝子摂動など）しか取り扱うことができなかったが、複数の入力においても、代謝ネットワークのスコップサイズを理論的に推定できることを示した（図1）。

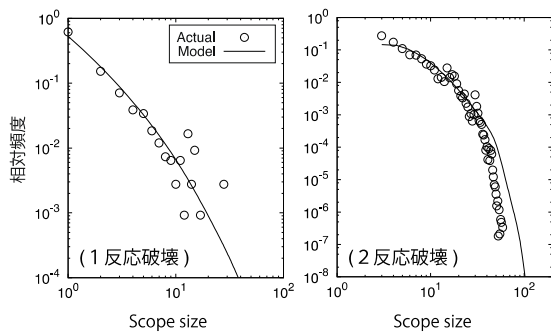


図 1: スコープサイズの理論と実データの比較

共生ネットワーク（送粉系や種子散布系）の安定性を分析（具体的には、二部グラフのスペクトル半径を推定）するための理論 Plus Twin 法を構築した（図 2；主な発表論文など雑誌論文 12）。Nature で「ネットワークの入れ子構造が生態系安定性の増加に貢献する」とする結論づける結果と「入れ子構造は、逆に安定性を減少させる」と指摘する論文があり論争が続いていた。これは多くの先行研究が計算機実験に基づいていたためである。構築した理論を用いて共生ネットワークの安定性は入れ子構造というよりはむしろ、ネットワーク構造の不均一性に決まることを理論的に示した。この手法のソースコードを公開した（主な発表論文等 その他 4）。

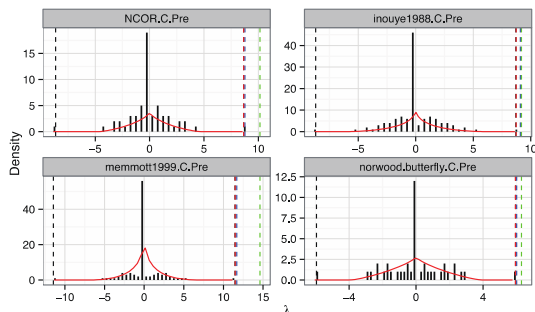


図 2: Plus Twin 法による現実の生態系ネットワークのスペクトル半径（安定性）の推定

任意の次数分布において極大（極小）の次数相関を示すネットワークにおける（ネットワーク可制御性のひとつの指標である）最小支配集合サイズの理論的な見積もりを与えた（主な発表論文など雑誌論文 4）。現実の生物ネットワーク（遺伝子制御ネットワークなど）より社会（人間関係）ネットワークの方が制御しにくいことという予想を立てた。

(2) 微生物の生理学的特徴のデータを統合しデータベース（主な発表論文等 その他 3）として公開した（図 3）。KEGG データベースとリンクさせ、代謝ネットワーク - 環境相互作用（遺伝子 - 環境相互作用も）を簡単に調査できるようにした。

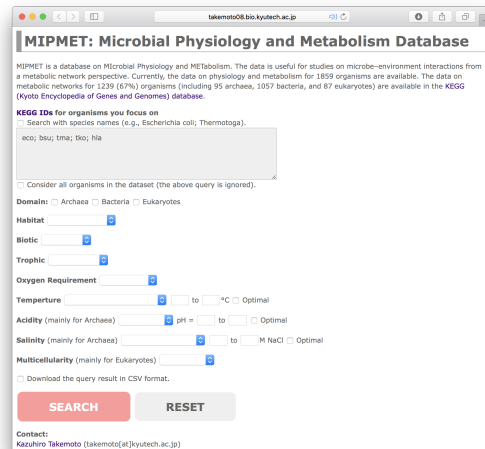


図 3: Microbial Physiology and METabolism (MIPMET) Database

更新された代謝経路情報を用いて、他の研究者が使いやすいように代謝ネットワークを構築し（グラフとして表現し）公開した（主な発表論文等 その他 4）。

生態系ネットワーク（食物網、送粉系、種子散布系）のデータを利用可能にした。特に文献から位置情報を収集し、様々な地理学データベースとリンクできるようにした（図 4）。

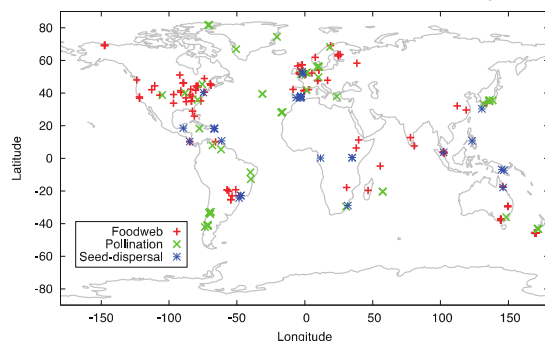


図 4: データベースで利用可能な生態系ネットワークとその観測地

(3) 代謝ネットワーク分析を用いて微生物生態系構造を可視化する手法を Web 上で簡単に使えるツール Estimator of COmmunity Structure based on MetabOlic networkS (ECOSMOS) を開発し、公開した（図 5；主な発表論文等 その他 2）。

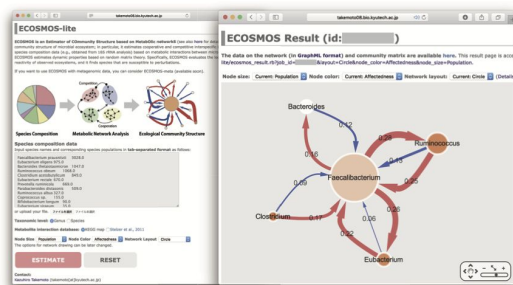


図 5: ECOSMOS の外観

一般に、相互作用の推定には多点観測データ（例えば時系列データ）を用いたアプローチがよく用いられるが、多くの時点でのデータが要求されるため、このような手法の適用はしばしば難しいという問題がある。ECOSMOSのように代謝ネットワークを用いれば、微生物間における物質（代謝物）のクロストークを考慮した生物間相互作用の推定が可能になる。加えて、時系列データは必要ではないため、コストや観測の制約がある場合でも利用可能であるという利点がある。予備的な調査ではあるが、この手法を用いて、健康な人の腸内細菌の生態系は安定であることや、ある環境変動において微生物は協力関係を強化することでその変動に対応することが分かってきた（主な発表論文等 雑誌論文 2）。

(1)の理論と(2)のデータを用いて、様々な分野の問題に取り組み、多くの知見を得た。

学術的な問題として、生物進化に関する問題に取り組んだ。環境相互作用の文脈において、地球史における酸素の出現は生物進化を考える上でとても重要である。一般に、このような酸素の出現は代謝ネットワーク拡大（結果として、生物種の多様性）を促進させたと考えられている。しかしながら、詳細な調査から、この予想に反し、酸素が代謝ネットワークを拡張させたとは結論づけられなかった（主な発表論文等 雑誌論文 14）。生物進化における酸素の役割についての理解は再考が必要である。

物理分野では、代謝ネットワークを含め、多くの複雑ネットワークには自己相似（フラクタル）性があると信じられている。しかしながら、先行研究は少数の種の代謝ネットワークのみに注目し、そのような自己相似性の普遍性は検証されていなかった。多くの代謝ネットワークデータを用いて、代謝ネットワーク自己相似性の統合評価を行った。結果として、代謝ネットワークのほとんどは自己相似性を示さないことを見出し、生物データの解析には十分な注意が必要であることを強調した（主な発表論文等 雑誌論文 11）。

医療分野の応用として、がん患者の死亡率と生体分子ネットワーク（特にシグナル伝達ネットワーク）の関係について調査し、シグナル伝達ネットワークのモジュール性が増加するとがん患者の生存率が低くなることを見出した（主な発表論文等 雑誌論文 16）。この結果はネットワーク情報に基づくがん治療に役立つと期待できる。

動物の生理学的データ（体サイズ、酸素消費速度、寿命）とゲノムデータを用いて、Petoのパラドクス（なぜ大きな動物のがん発症率は予想されるよりも低いのか）にひとつの解決を与えた。特にゲノム解析では酸素消費速度の違いを考慮することが重要であることを示し、大きい動物は自然免疫系の遺伝子を強化させることでがんになりにくいシステムを獲得していることを明らかにした（主な発

表論文等 雑誌論文 3）。

環境分野への応用として、生態系ネットワーク（食物網、送粉系、種子散布系）と環境変動の関係について調査した。結果として、気候の季節変動性、土地開発のような人間活動、そして気候変動（特に温暖化速度）が地球規模で生態系ネットワークに影響を与えていることを示した（主な発表論文等 雑誌論文 5,13）。この結果は PLOS Ecological Impacts of Climate Change Collection に収録され、PLOS Ecology Community で紹介された。

さらに環境変動との関連から、哺乳類の生息域多様性と遺伝子構成の関係を調査し、細胞外小胞のひとつであるエクソソームが哺乳類の生息範囲拡大に貢献していることを見出した（主な発表論文等 雑誌論文 1）。具体的に、生息域が広い動物はより多くのタンパク質や RNA がエクソソームによって運搬される。エクソソームは細胞間コミュニケーションで重要な役割を果たすと考えられている。細胞間コミュニケーションを強化することで、環境変動に対応したと考えられる。エクソソームの新たな役割を見出した。

よく受け入れられている既存の理論からはこのように生息域の多様性が高い動物の生体分子ネットワークは高度にモジュール化されていると予想されるが、そのような傾向は見られなかった（主な発表論文等 雑誌論文 6）。既存の理論を再考する必要がある。

このような医療や環境分野においては生理学パラメータ（特に、酸素消費速度）が重要である。酸素消費速度がどのように決定されるのかは生物学における積年の課題である。酸素消費速度 B は体サイズ（体重） M とべき乗則（ $B \propto M^{3/4}$ ）に従うことが知られている（ $3/4$ 乗則）。主な発表論文等 雑誌論文 8 では、階層性（フラクタル性）から導出される細胞不均一性から、 $3/4$ 乗則が導出できることを数学的に示した。特に、異なった生物学的な戦略（仮定）にも関わらず、ほとんどの場合に、 $3/4$ 乗則が導かれることも見出した。この研究は、なぜ $3/4$ 乗則が多く観測されるのかという長年の疑問にひとつの答えを与えた。

酸素消費速度は体サイズから説明されるが、生体分子間（特に代謝）ネットワークによって決定されると考えられる。そこで、Scope を用いて同定した酸素反応（酸素存在下で利用可能になる代謝反応）を同定し、酸素反応に関わる遺伝子の割合が酸素消費速度と関連することを見出した（主な発表論文等 雑誌論文 7）。加えて、The Rate of Living Theory（酸素消費速度が大きいほど寿命が短い／一生のうち消費するエネルギーは一定であるとする理論）に従うと、酸素反応は寿命と予想される。期待通り、酸素反応遺伝子群の割合は寿命と関連することを見出した。これらの結果は、配列データから（個体や生態系の）酸素消費速度や最大寿命が推定

可能であることを示唆する。

これらの結果はシーケンスデータに基づく新たな医療診断や環境影響評価の基盤になると期待できる。

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 19 件)

Takemoto, K. and Imoto, M. Exosomes in mammals with greater habitat variability contain more proteins and RNAs. *Royal Society Open Science*, vol. 4, article no. 170162, pp. 7 (2017), 査読有. doi:10.1098/rsos.170162

竹本和広. 代謝ネットワークを用いた微生物生態系の可視化. *実験医学増刊*, vol. 35, no. 5, pp. 211-214 (2017), 査読無.

Takemoto, K., Li, M. and Nishizuka, S. S. Importance of metabolic rate to the relationship between the number of genes in a functional category and body size in Peto's paradox for cancer. *Royal Society Open Science*, vol. 3, article no. 160267, 11 pp. (2016), 査読有. doi:10.1098/rsos.160267

Takemoto, K. and Akutsu, T. Analysis of the effect of degree correlation on the size of minimum dominating sets in complex networks. *PLoS ONE*, vol. 11, no. 6, article no. e0157868, 11 pp. (2016), 査読有.

doi:10.1371/journal.pone.0157868

Takemoto, K. and Kajihara, K. Human impacts and climate change influence nestedness and modularity in food-web and mutualistic networks. *PLoS ONE*, vol. 11, no. 6, article no. e0157929, 16 pp. (2016), 査読有.

doi:10.1371/journal.pone.0157929

Takemoto, K. Habitat variability does not generally promote metabolic network modularity in flies and mammals. *Biosystems*, vol. 139, pp. 46-54 (2016), 査読有.

doi:10.1016/j.biosystems.2015.12.004

Takemoto, K. and Kawakami, Y. The proportion of genes in a functional category is linked to mass-specific metabolic rate and lifespan. *Scientific Reports*, vol. 5, article no. 10008, 10 pp. (2015), 査読有.

doi:10.1038/srep10008

Takemoto, K. Heterogeneity of cells may explain allometric scaling of metabolic rate. *Biosystems*, vol. 130, pp. 11-16 (2015), 査読有.

doi:10.1016/j.biosystems.2015.02.003

竹本和広. 代謝ネットワークのロバスト

ネス. *細胞工学*, vol. 33, no. 1, pp. 31-36 (2014), 査読無.

竹本和広. 代謝ネットワークの数理モデルとその応用. *応用数理*, vol. 24, no. 1, pp. 10-18 (2014), 査読有.

Takemoto, K. Metabolic networks are almost nonfractal: A comprehensive evaluation. *Physical Review E*, vol. 90, issue 2, article no. 022802, 6 pp. (2014), 査読有.

doi:10.1103/PhysRevE.90.022802

Feng, W. and Takemoto, K. Heterogeneity in ecological mutualistic networks dominantly determines community stability. *Scientific Reports*, vol. 4, article no. 5912, 11 pp. (2014), 査読有. doi:10.1038/srep05912

Takemoto, K., Kanamaru, S. and Feng, W. Climatic seasonality may affect ecological network structure: Food webs and mutualistic networks. *Biosystems*, vol. 121, pp. 29-37 (2014), 査読有.

doi: 10.1016/j.biosystems.2014.06.002

Takemoto, K. and Yoshitake, I. Limited influence of oxygen on the evolution of chemical diversity in metabolic networks. *Metabolites*, vol. 3, issue 4, pp. 979-992 (2013), 査読有.

doi:10.3390/metabo3040979

Takemoto, K., Tamura, T. and Akutsu, T. Theoretical estimation of metabolic network robustness against multiple reaction knockouts using branching process approximation. *Physica A*, vol. 392, issue 21, pp. 5525-5535 (2013), 査読有. doi:10.1016/j.physa.2013.07.003

Takemoto, K. and Kihara, K. Modular organization of cancer signaling networks is associated with patient survivability. *Biosystems*, vol. 113, issue 3, pp. 149-154 (2013), 査読有. doi:10.1016/j.biosystems.2013.06.003

[学会発表](計 22 件)

Takemoto, K. Network complexity, disease and health. The 2nd International Symposium on BioComplexity (ISBC2), ISBC OS2-1 (20 January 2017, Beppu, Oita).

Takemoto, K. Environmental change influences ecological network structure on a global scale. Conference on Complex Systems (CCS) 2016, Satellite LIVING 2.0 (20 September 2016, Beurs Van Berlage, Amsterdam, the Netherlands).

竹本和広, 伊井将人, 西塚哲. 遺伝子数-体サイズ関係における代謝速度の重要性: がん発症率のパラドクスと関連して. 第4回がんと代謝研究会 (2016年7月7

日, かごしま県民交流センター, 鹿児島).

Takemoto, K. and Kajihara, K. Impacts of Climate Change and Human Activity on Nestedness and Modularity of Food Webs and Mutualistic Networks. NetSci 2016: International School and Conference on Networks Science, P2 (30 May - 3 Jun 2016, The K-Hotel Seoul, Korea).

Takemoto, K. and Kawakami, Y. Relative abundance of oxic reaction genes may determine metabolic rate and lifespan. Conference on Complex Systems (CCS) '15 (2 October 2015, DoubleTree by Hilton, Tempe, Arizona, USA).

Feng, W. and Takemoto, K. Heterogeneity is the main factor in determining the stability of ecological mutualistic networks. NetSci 2015: The International School and Conference on Network Science (4 June 2015, World Trade Center, Zaragoza, Spain).

Takemoto, K. and Kihara, K. Association between modular organization of cancer signaling networks and patient survivability. The 24th International Conference on Genome Informatics (GIW2013), 10 (16-18 December 2013, Matrix, 30 Biopolis Street, Singapore)

Takemoto, K. On the interaction between environments and metabolic network structure: in the light of modularity. Metabolic Pathway Analysis 2013 (17 September 2013, Corpus Christi College, Oxford, UK).

Takemoto, K., Tamura, T. and Akutsu, T. Estimating Metabolic Network Robustness Against Multiple Reaction Knockouts Using Branching Process Approximation. International Workshop on Phase Transition, Critical Phenomena and Related Topics in Complex Networks, P-01 (9-11 September 2013, Hokkaido University, Hokkaido, Japan).

Takemoto, K. and Yoshitake, I. Oxygen exerts limited influence on the chemical diversity of metabolic pathways. The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), 128 (30 August - 3 September 2013, Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark).

[図書](計1件)

日本バイオインフォマティクス学会 編. バイオインフォマティクス入門. 慶應義塾大学出版会, 2015 (竹本は 6-6, 6-7, 6-8 節を担当).

[その他]

ホームページ等

研究代表者の業績リスト.

<https://sites.google.com/site/kztakemoto/publication>

Estimator of COmmunity Structure based on MetabOlic networkS (ECOSMOS) software.

<http://takemoto08.bio.kyutech.ac.jp/ecosmos-lite/>

Microbial Physiology and Metabolism (MIPMET) Database.

<http://takemoto08.bio.kyutech.ac.jp/mipmet/>

研究リソース.

<https://sites.google.com/site/kztakemoto/resources>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹本 和広 (TAKEMOTO, Kazuhiro)

九州工業大学・大学院情報工学研究院・准教授

研究者番号: 40512356