

E-CELL:ゲノム情報に基づく細胞の再構築

慶応義塾大学 環境情報学部 ○富田 勝

Whole cell simulation based on genomic information

Tomita Masaru Professor, Department of Environmental Information
Keio University

Abstract: We constructed a computer model of the human erythrocyte using E-CELL simulation system. The model has three major metabolic pathways including glycolysis, the pentose phosphate pathway, and nucleotide metabolism, as well as physical effects such as volume change along with osmotic pressure. In this paper, we report two results of simulation experiments as follows: (i) Analyses of the effect of osmotic pressure that changes the cell volume. (ii) The simulation of the hereditary enzyme deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), including the pathways for glutathione (GSH) de novo synthesis and export system of glutathione disulfide (GSSG).

電子化細胞 (E-CELL) プロジェクトは、細胞内の全プロセスをシミュレーションすることを目的として、1996年に発足した。E-CELL システムは細胞内の全プロセスを再現する目的で開発された汎用シミュレーションシステムである。このシステムは反応速度式をベースとしたシミュレーションモデルのみならず、あらゆる形態のシミュレーション表現を行うことができる柔軟な構成となっている。E-CELL システムの仕組みは、簡単に言うと反応器 (reactor) と呼ばれるプログラム化された反応速度式が、E-CELL システムを介して物質 (substance) の量を操作するというものである。主なインターフェースとしては、Reactor の動作状況 (活性やパラメータなど) を表示する Reactor Window や、物質量の表示および操作を行う Substance Window がある。この他にも、Tracer と呼ばれる、グラフ機能もついており、Substance の量や Reactor の活性を視覚化して容易に変化を確認することができる (Fig.1)。また、E-CELL Manager という、E-CELL システムと連動してデータの解析やパラメータ推測を行う周辺ソフトウェアも用意されている。1997年秋にはこのシミュレーションシステムを用いてマイコプラズマ菌 (*M.genitulum*) を参考に仮想の原核細胞をシミュレーションモデル化した (1,2)。本稿ではE-CELLシステムを用いたヒト赤血球細胞モデルを中心に報告する。



Fig 1. E-CELL system

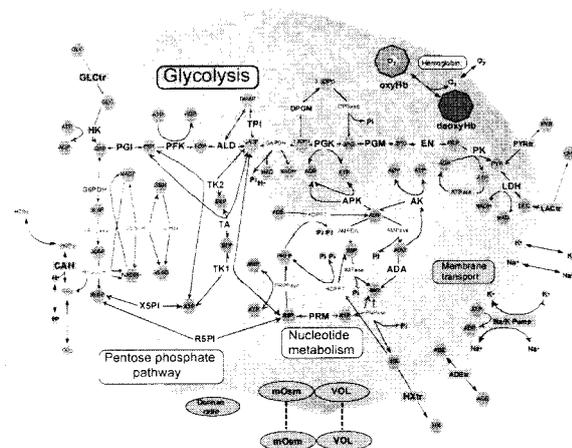


Fig 2. General concept and architecture of the erythrocyte model.

1. 赤血球シミュレータの構築

ヒトを含む多くの生物の赤血球は核を含まず、遺伝子の発現が起こらないことが知られており、その単純さからシミュレーションの対象と

して最適であると考えられる。また、ヒト赤血球は古くから代謝学的解析が行われており、これまでに膨大な実験データの蓄積が存在している。我々は特にデータが蓄積している主要な代謝経路である解糖系、ペントースリン酸経路、核酸代謝経路、簡単な膜輸送系の実験データを用いて E-CELL システム上に赤血球シミュレーションモデルを構築した (Fig.2)。このモデルはこれまでの酵素速度論的解析から得られた微分式を元に構築されており、すべての律速酵素と ATP の生産に関わるような一部の重要な酵素に関してはフィードバックも表現している (3)。物質量の初期値としては、これまでの実験による測定結果の平均値を用いているが、半数の物質量に関しては不明のため、他の部分シミュレーションモデルの演算結果を用いた。このような初期値を用いて演算を繰り返して、定常に近い状態を再現することに成功した。

2. バーチャル赤血球による酵素欠損症シミュレーション

赤血球モデルを用いてグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PD) 欠損症の解析を行った。この欠損症は患者数が最も多く、約1000人に1人がこの酵素の先天性異常を持っていると言われており、その症状は貧血である。この疾患の原因酵素であるグルコース-6-リン酸脱水素酵素は、ペントースリン酸経路の入り口に当たる酵素であり、解糖系で作られるグルコース-6-リン酸を 6-ホスホグルコン-1,5-ラクトンに変換すると同時に、NADPH を生成する。その後、この物質は6-ホスホグルコン酸を経てリブロース 5-リン酸まで代謝されるが、この際にも NADPH が生成される。この還元力は細胞中の様々な部分で使われるが、特に重要なのは、酸化型グルタチオン (GSSG) を還元する役割である。この還元力が失われると、細胞内の主要な酵素は直接、活性酸素によって障害を受けたり、あるいは酸化型グルタチオンとシステインが反応することによって、酵素の失活が促進される (この酵素活性の低下はシミュレーションに組み込まれている)。また、同様に酸化によって細胞膜が弱体化することが知られている。このような影響によって赤血球の寿命が早まり、貧血を発症する。この先天性酵素欠損症は最もよく調べられている欠損症のひとつであり、欠損症の患者から分離された欠損酵素の反応速度パラメータを得ることが出来た。当初、このデータを単に赤血球細胞モデルに組み込んでシミュレーションを行ったところ、貧血に至る細胞内の逐次的状況が再現されるなど、興味深い結果を得ることが出来たが、シミュレーションで得られた赤血球の寿命が実際のものと比較して1/4であった。

3. シミュレーションによって予測された代謝経路

この原因を探っていくうちに、ヒト赤血球には還元型グルタチオンの生合成経路と酸化型グルタチオンの能動的排出機構が存在していることがわかった。この経路は還元型グルタチオンを直接生成し、また、酵素阻害の一因になっている酸化型グルタチオンを低下させる作用があると予想されたため、G6PD 欠損による還元力低下に対するある程度の補償機能を持つのではないかと考え、これらの経路を組み込んだ (Fig.3)。

その結果、還元力の低下が組み込み前と比較して ATP 量から予想される赤血球の寿命は、ほぼ実際の細胞と変わらないまでに延長した (Fig.4)。この結果から、これらの経路が G6PD 欠損症において変異赤血球の寿命を延長する機能を持っていることが示唆された。この欠損症が最も患者数の多い欠損症である理由は、このような補償

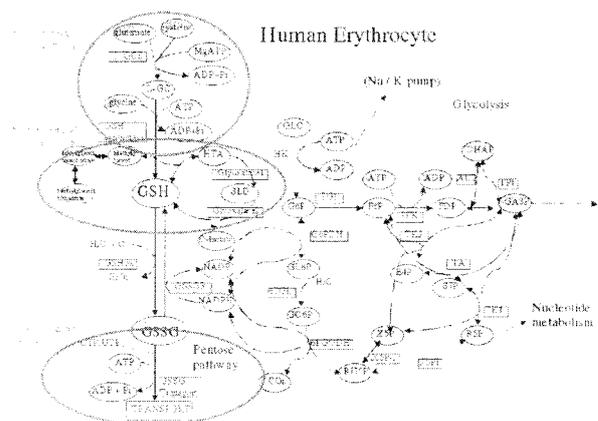


Figure 3. Pathways for de novo GSH synthesis and export system of GSSG.

経路の存在のために変異の影響がそれほど厳しいものでなく（つまり、重篤な貧血を引き起こすような可能性が減少する）、他の欠損症と比較して進化的に淘汰の対象となりにくかった可能性を示唆していると思われる。

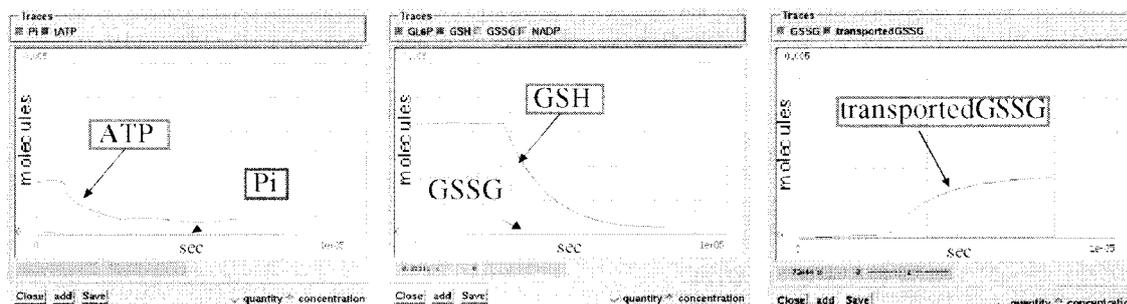


Figure 4. Simulation of G6PD deficiency.

4. ネットワークの利用

シミュレーションのためのクラスターサーバーを慶應大学湘南藤沢キャンパス（SFC）の研究棟に置き、鶴岡キャンパスなどSFC外からもアクセスした。また、KEGGやGENBANKなどのデータベースにもネットワークを利用して頻繁にアクセスしている。

5. まとめ

本稿では研究成果のうち赤血球モデルを中心に述べた。

このような細胞シミュレーション研究は今後ますます盛んになると思われるが、現在におけるもっとも大きな壁は、定量的データの不足である。遺伝子の機能がわかっていても、それらの働きの定量的なデータは少ない。また、細胞内のさまざまな物質の濃度についてもほとんど調べられることがなかった。赤血球のように細胞内代謝が網羅的に調べられているケースは極めて例外的である。これからはメタボローム(metabolome)、すなわち細胞内代謝の定量的データの網羅的解析が重要になるだろう。慶應大学は平成13年4月より鶴岡市（山形県）に先端生命科学研究所（<http://www.bioinfo.sfc.keio.ac.jp/LAB>）を新設した。今後は細胞モデリングのための「メタボローム+シミュレーション」という新しいタイプの研究プロジェクトを行って、本研究課題の成果を発展させていきたい。

研究実施体制

氏名	所属	役職
富田 勝	慶應義塾大学 環境情報学部	教授
中山 洋一	慶應義塾大学 環境情報学部	専任講師
内藤 泰宏	慶應義塾大学 環境情報学部	専任講師
石川 直太	慶應義塾大学 SFC 研究所	所員
村上 康文	慶應義塾大学 政策メディア研究科	プロジェクト教授
清水 友益	慶應義塾大学 SFC 研究所	所員
原 淳子	慶應義塾大学 SFC 研究所	所員
高橋 恒一	慶應義塾大学 環境情報学部	博士課程

橋本 健太	慶應義塾大学 環境情報学部	博士課程
三由 文彦	慶應義塾大学 環境情報学部	博士課程
松崎 由理	慶應義塾大学 環境情報学部	博士課程
柚木 克之	慶應義塾大学 環境情報学部	博士課程
佐藤 朝子	慶應義塾大学 SFC 研究所	所員
萩原 正敏	慶應義塾大学 SFC 研究所	所員
小長谷 明彦	北陸先端科学技術大学院 知識科学研究科	教授
大竹 久夫	広島大学 先端物質科学研究科	教授
滝口 昇	広島大学 先端物質科学研究科	助手
中本 麻紀子	広島大学 先端物質科学研究科	
岡本 正宏	九州大学 農学部	教授
清水 和幸	九州工業大学 情報工学研究科	教授
富永 大介	九州工業大学 情報工学研究科	博士課程
田中 康司	九州工業大学 情報工学研究科	博士課程
亀岡 孝治	三重大学 生物資源学部	教授
橋本 篤	三重大学 生物資源学部	助教授
中西 健一	三重大学 生物資源学部	臨時職員

文献

[1] Tomita, M.; Hashimoto, K.; Takahashi, K.; Shimizu, T.S.; Matsuzaki, Y.; Miyoshi, F.; Saito, K.; Tanida, S.; Yugi, K.; Venter, J.C.; and Hutchison, C.A., E-CELL: Software environment for whole cell simulation. *Bioinformatics* 15:72-84. (1999)
<http://www.e-cell.org/>

[2] Tomita, M.; Hashimoto, K.; Takahashi, K.; Matsuzaki, Y.; Matsushima, R.; Saito, K.; Yugi, K.; Miyoshi, F.; Nakano, H.; Tanida, S.; Saito, Y.; Kawase, A.; Watanabe, N.; Shimizu, T.S.; and Nakayama, Y. The E-CELL Project: Towards Integrative Simulation of Cellular Processes. *New Gener Comput* 18, 1-12. (2000)

[3] Joshi, A.; and Palsson, B.O. Metabolic Dynamics in the Human red Cell. Part I-A Comprehensive Kinetic Model. *J Theor Biol* 141, 515-528. (1989)

[4] Tomita, M.: Whole cell simulation: A grand challenge of the 21st century” *Trends in Biotechnology*, 19:6, 205-210 (2001)