

VCAD と E-Cell の連携による肝臓の 4D シミュレーション

ー 正常から病態モデルへの発展 ー

木下綾子¹⁾, 横田秀夫²⁾, 槌谷夏子¹⁾, 末松誠¹⁾

¹⁾慶應義塾大学医学部医化学教室, ²⁾独立行政法人 理化学研究所

ayakosan@sc.itc.keio.ac.jp, hyokota@riken.jp, na-tsuch@sc.itc.keio.ac.jp, msuem@sc.itc.keio.ac.jp

概要: 肝臓は、様々な生体代謝機能において中心的な役割を担っており、その分子レベルでの制御機構を理解することは、個体全体の代謝を理解するのに必要不可欠である。本研究では、動的で複雑な代謝分子ネットワークを精緻にモデリングし、生化学的に裏付けられた単肝細胞代謝シミュレーションモデルを E-Cell System 上に構築し、それら細胞モデルを、臓器の三次元構造、時空間的な環境要因の変動と相互の細胞間のやりとりを勘案して VCAD の単位ボクセルに配列させ、一細胞、肝細胞索、肝小葉、肝臓全体の各階層におけるモデルを作成する。生化学的に妥当性が検証された細胞シミュレーションを数億個の単位で、実際の四次元空間情報に基づいて配置し、シミュレーションすることで、臓器における時空間的な細胞代謝機能を考察する。同時に、シミュレーションモデルのパラメータ解析を行うことで、病態モデルを再現し、分子レベルでの代謝が肝臓臓器、ひいては個体全体の代謝に与える影響を予測することが可能になると考える。

1 はじめに

肝臓は、肝小葉と呼ばれる構造単位の規則的な集合で構成された組織である。肝小葉は、中心静脈を中心とし、門脈域を角の頂点として区画化された六角形の構造をとっている。更に微細な階層では、肝細胞が一行に並んだ肝細胞索と呼ばれる構造体が放射線状に配置されて肝小葉を形作っている。肝細胞索において横に並んだ肝細胞同士は小分子の物質交換が行われており、その間には毛细胆管が存在して、肝細胞で生成された胆汁や代謝物質が輸送される。このように、肝臓は非常に複雑な構造をとる一方で、同一の細胞や構造体を整列させた単純な繰り返しの形態が全ての階層で観察される、特徴的な臓器であると言える。加えて、均一の細胞であるはずの肝細胞が、その環境によって遺伝子発現パターンを変え、それぞれの配列部位に応じた機能を持つことが知られている。しかし、詳細な立体構造が把握できているにも関わらず、「時空間依存的に変化する単一細胞内の代謝」が、肝臓全体の機能にどのような意味をもたらすのかは未だ解明されていない。そこで、本研究では、一細胞レベルから臓器全体の代謝モデルをボトムアップに構築することで、細胞代謝の時空間的な制御機構の解明を行う。

2 単一肝細胞モデルの構築

肝臓組織構造の最小単位であり、肝実質の大部分(60%)を占める肝細胞における精緻な代謝シミュレーションモデルを、細胞シミュレーションに特化したソフトウェア、E-Cell System version 3¹⁾ (以下、E-Cell v.3) 上に構築する。E-Cell v.3 を用いて、筆者らは既に赤血球細胞の大規模な代謝シミュレーションモデルを完成させており、代謝物一斉測定 (メタボローム測定) による実証実験とシミュレーション解析を連携させることで新たな細胞生理機能の予測を行うことに成功している²⁾。赤血球モデルを用いたシミュレーションにおいて、実測データとの比較を行う際、広範な代謝ネットワークを網羅していること、また、アロステリック制御などを勘案した精緻な酵素反応速度式で記述することが非常に重要であることが示された。肝細胞モデルにおいても、肝細胞特異的な制御機構を含めた精緻な代謝ネットワークモデルを構築する必要がある。そのため、本研究で構築する単一肝細胞モデルでは、これまでモデルへの実装が行われてこなかった、または個々にモデリングが行われてきた、解糖系、ペントースリン酸回路、グリコーゲン貯蔵・分解経路、一部のアミノ酸代謝経路、ミトコンドリアによるエネルギー産生などを既存データに基づいて広範に実装し、肝臓の主要な機能に関連する代謝ネットワークを網羅

する。反応数数百から数千の微分方程式を連立させて解くモデルとなる。生化学実験側のアプローチとして、コラゲナーゼで処理して肝細胞を分離した後、エルトリエータを用いて肝細胞を門脈部位/中心静脈部位に分け、代謝物量をメタボローム測定によって明らかにする。

3 肝臓における時空間的な細胞代謝機能のシミュレーション

生体が細胞の位置的な情報をどのように利用し、部位の異なる細胞の連関不全がどのような時に病態となり得るかを検証するために、2.で構築した単一肝細胞モデルを肝細胞索-類洞モデルへと拡張する。現在、時空間的な膨大な4Dデータを収納、解析し得るVCADとE-Cellの連携が進んでおり、VCADが定義したメッシュの一つ一つの格子内で均一系の代謝シミュレーションを解き、シミュレーション結果に基づいて、それぞれの格子間で自然拡散を仮定した物質変換が起こるシステムが開発されている。このVCAD-E-Cellシステムを用いて、1格子1細胞のE-Cellシミュレーションモデルを配置した細胞索モデルを構築し、イメージングデータに基づいて肝細胞索を放射線状に配列した肝小葉モデル、それらを空間に正しく配置した肝臓モデルを構築する。類洞内を流れる分子は自然拡散を仮定することができないため、血流速度を加味した拡散速度を定義する。酸素に富む門脈、胆管、栄養に富む肝動脈、類洞の最下流にある中心静脈など、太い血管についても、類洞と同様にそれぞれに均一系の格子で区切り、血流速度に基づいた物質移動を再現する。血流速度、肝細胞間の物質移動速度、一列に配置した肝細胞内の酵素分布 (heterogeneity が見られる酵素の酵素濃度) をパラメータとして様々に変化させた際に、代謝がどのように変動するかの予測が可能なモデルとなる。マウスの肝臓には約2.6億個 (肝臓重量約2g, 1.3×10^8 細胞/g 肝臓³⁾より算出)の肝細胞が存在する。それらの細胞1つ1つの代謝状態を勘案して肝臓全体の代謝プールの増減を計算し、肝臓組織全体のメタボローム解析結果や時空間的なイメージングデータと照合してモデルの検証を行う。

4 まとめ

肝臓における、細胞、細胞の集合単位(肝小葉)の「特定の構造体を均一に配置することで複雑な高次構造を形成していく」という構造からは、生命体のあらゆる階層における構造原理との共通性が見いだせると同時に、「構造体単独ではなく、配列して高次構造をとることによって初めて機能が生まれる」ことが示唆される。実際、肝臓はその構造を巧みに利用して血糖調節、尿素生成、胆汁生成、解毒など様々な生体代謝機能において中心的な役割を担っている。しかし、肝細胞の機能不均一性に起因する複雑性、代謝ネットワークの広範さ、環境要因や内部の制御機構による動的な代謝変動によって、これまでの生化学的アプローチ、構造生理学的アプローチのみでは肝臓代謝の包括的な理解が不可能であった。また、スーパーコンピュータの計算能力なしに、数億に及ぶ細胞代謝シミュレーションを同時に実行することは不可能であった。本研究によって、個々の細胞代謝が正常状態で「時間的」「空間的」にどのような機能を司るのかを考察することが初めて可能になる。一方で、本研究で構築したモデルは、種々の代謝病態の解析に非常に有用なツールとなる。例えば、肝硬変では、肝細胞が壊死、脱落して繊維化し、間質性隔壁が生成されることで、酸素を含む物質輸送が障害され、最終的に肝小葉の構造が変化して肝機能障害が起こる。これらの分子レベルでのメカニズムは全く解明されていないのが現状であるが、本モデルの相互輸送のパラメータ解析によって、個々の細胞で起こる代謝を精緻に勘案しつつ、臓器全体への各物質輸送の影響を見積もり、仮説を提唱、検証することが可能である。

参考文献

- [1] Takanashi K. *et al.*, “Space in systems biology of signaling pathways--towards intracellular molecular crowding *in silico*.” *FEBS Lett.* 579(8):1783-8 (2005)
- [2] Kinoshita A., *et al.*, “Roles of hemoglobin Allostery in hypoxia-induced metabolic alterations in erythrocytes: simulation and its verification by metabolome analysis.” *J Biol Chem.* 282(14) 10731-41 (2007)
- [3] Sato H. *et al.*, “Receptor-recycling model of clearance and distribution of insulin in the perfused mouse liver” *Diabetologia* 34: 613-621(1991)