

2009年1月29日

システム生物学と創薬¹⁾

江口至洋

九州大学 客員教授

システム薬学研究機構 副会長

目次

1. はじめに一創薬における研究開発の現状
2. システム生物学とは
3. システム生物学の方法と創薬
 3. 1 化学反応ネットワークの構造解析と創薬
 3. 2 反応速度論と創薬
 3. 3 力学系としての化学反応系と創薬
 3. 4 化学反応ネットワークの感度解析と創薬
 3. 5 化学量論解析と創薬
 3. 6 化学量論的ネットワーク解析と創薬
4. システム生物学の将来

補論1 創薬の研究開発の流れ

補論2 数理モデルにおける粗視化

システム生物学と創薬¹⁾

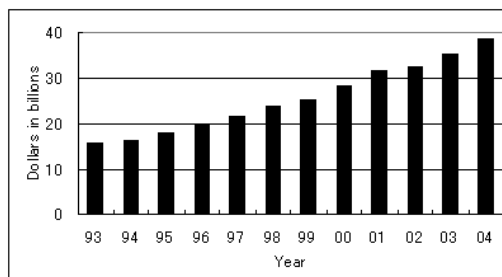
創薬におけるシステム生物学（システムバイオロジー： Systems Biology）の役割、あるいはシステム生物学に課せられた課題を明確にするため、まず、第1章で創薬における研究開発の現状、特に1995年以降長期的な新薬生産性の低下がみられる現状を述べる。ついで、第2章で、新薬生産性向上のための一つの技術として期待されているシステム生物学の意味するものを述べる。第3章ではシステム生物学の方法論の概要とその創薬への適用例を紹介し、最後に第4章ではシステム生物学の将来展望について記す。

第1章 はじめに—創薬における研究開発の現状

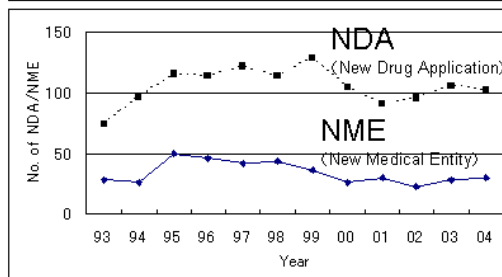
製薬企業における研究開発は有効かつ安全な「新薬」を患者に提供していく上で、ここ10年、困難な時期を過ごしており、現下において明かりの見える状況にはない。

まず研究開発の生産性についてその具体的状況を、日本を含め世界のビッグファーマがこぞって新薬申請を行うアメリカ市場についてみる。2006年、アメリカ議会は公的資金として巨額の研究開発資金が継続的に提供されてきた創薬分野において、なぜ新薬生産性が継続的に低下してきているのかをアメリカ会計検査院（US Gov. Accountability Office）に調査依頼した。その調査ではアメリカ医薬品企業の研究開発費用や、1993年から2004年の12年間にFDA（Food and Drug Administration）に提出された1,264件のNDA（New Drug Application）が調べられている²⁾。その結果を図1に示す。

① 米国医薬品企業 のR&D 費用



② Total NDA, and NDA for NME submission (米国FDAに申請さ れた新薬の推移)



NME (New Medical Entity)

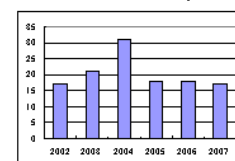


図1 アメリカ医薬品企業の研究開発費用の推移とFDAに申請されたNDAの推移②にみられるようにNMEの件数については2002年から2004年にかけてわずかながら増加傾向がみられていたが、Hughesの報告によると³⁾、図の右側に棒グラフで示すように、その後、2007年にかけて低下傾向を示している。

図1①にみられるように、1993年以降アメリカの医薬品企業が費やしてきた研究開発費は着実に増加し、2004年には400億ドル近くに達し、1993年の2.5倍強となっている。一方、図1②にみられるように、NDAはこの間、年間100件前後で推移しており、特段の増加傾向はみられない。特に、NDAのうちNME（New Medical Entity）をみると、1995年の年間50件をピークに、その後2007年に至るまで長期的な低下傾向を示している。これらの図からアメリカの医薬品産業の新薬生産性は長期的な低迷の時期にあることが理解される。

さらに個々のNDAの属性を図2に示す。1993年から2004年の1,264件のNDAのうち、68%は「non-NME」であり、いわゆる既存薬の修飾と考えられる。また、NMEのうちでもピカ新とされる「Priority NME」は全体の12%で、かつ（図2には示されていないが、）1993年以降年間15件を越えたことはない。Overingtonら⁴⁾は、1989年から2000年にFDAにより承認された361のNMEのうち新規ターゲットを対象にしたNMEは6%であったとしている（76%は既存ターゲットを対象としたNMEであった）。これらのことから、FDAに申請されるNDAのうち、NMEは32%と少なく、かつ新規ターゲットを対象にした新薬は年間数個かそれ以下と推計され、有効でかつ安全な新薬の新規ターゲット探索技術が求められている。

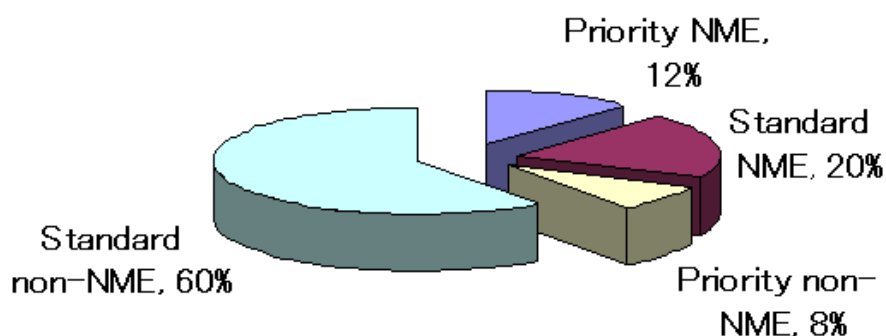


図2 FDAに申請されたNDAの属性

1993年から2004年の12年間にFDAに提出された1,264件のNDAの属性を示す。FDAはNDAを「NMEかnon-NMEか」、「PriorityかStandardか」の属性で区分している。

現在どれほどの数のターゲットが同定されているのかについては、2000年のDrews⁵⁾や2006年のOveringtonら⁴⁾の研究がある（図3）。Drewsは薬理学の教科書「薬理書」（1996年）に記載されている483個のターゲットを抽出し、そのうち、45%は受容体、28%は酵素、11%はホルモンや増殖因子であるとしている。一方、OveringtonらはFDAに承認されている1,357の薬（彼らはFDAのOrange Bookなどを情報源とし、類似薬をまとめ1,357個の‘unique drugs’を解析している）のターゲット、324個を調べた結果26.8%はロドプシン様GPCR、13.4%はイオンチャネル、13%は核内受容体であるとしている。彼らの情報

源は異なるが概略 1,500 前後の薬について 300 から 500 のターゲットが既知ターゲットとされている。それでは、ヒトゲノムの塩基配列が解読され少なくともターゲットの候補となるタンパク質の総数（遺伝子数）は推定されるようになった現在、将来的な薬のターゲットの総数はいかほどと推定されているのだろうか。Drews は 2000 年の論文で市場性をも考慮して、大きな製薬企業がターゲットとしうる数は 5,000 から 10,000 であろうと推定している。その後、Hopkins ら⁶⁾や Russ ら⁷⁾はより精緻な解析を行い、ターゲットの総数はより少なく 2,000 から 3,000 であろうとしている。この数値を採用すれば、2,000 から 3,000 をターゲットとした有効でかつ安全な新薬の開発がこれから世界的規模で進められることになる。（ただ、システム生物学の立場からは、薬がターゲットとする個々のタンパク質ではなく、薬がターゲットとすべきパスウェイ／ネットワーク、そしてマルチターゲットとしてのタンパク質群の探索が主な研究対象になる。研究共同体 The Cancer Genome Atlas Research Network も、多形性グリア芽細胞腫の変異を調べた結果、多形性グリア芽細胞腫の治療においては、少なくとも RTK/RAS/PI(3)K シグナル伝達系と、p53 シグナル伝達系、RB シグナル伝達系の 3 つのシグナル伝達系を全体として治療のターゲットにすべきとの考えを述べている⁸⁾。）

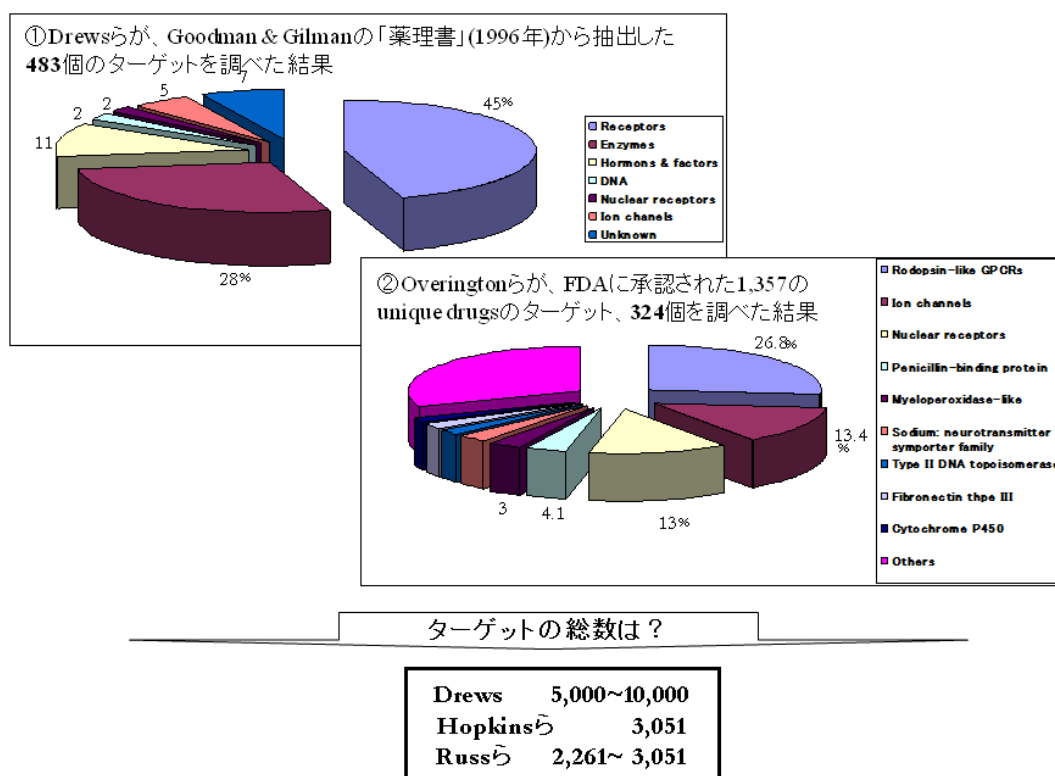


図3 薬のターゲットの機能分類と総数の推計

新薬開発のあらゆる段階で、患者に対する安全性は厳しく検討されてきているが、上市以

降において重篤な副作用がみられ、市場から撤収する薬もみられる。表1には2000年以降市場から撤収した薬を例示しているが、肝毒性をはじめQT間隔延長、筋肉障害、心血管障害など多様な副作用による市場からの撤退がみられる。Schusterら⁹⁾によると「NCEs (New Chemical Entities) の10%ほどが、市販後重篤な副作用を示している」とされており、有効性と共に安全性が創薬の重要課題となっている。

表1 市販後、重篤な副作用により市場から撤退した薬の一例

2000年	胸やけ治療薬 Propulsid (Cisapride)
	1993年承認を受ける。致死性不整脈 (QT間隔延長) により、市場から撤収。
2000年	糖尿病薬 Rezulin (Troglitazone)
	1997年から販売。肝障害への副作用から販売中止。
2001年	高脂血症薬 Baycol (Cerivastatin)
	1997年から販売 (スタチン系の10%の市場を占有)。重篤な筋肉障害。
2004年	非ステロイド性抗炎症薬 Vioxx (Rofecoxib)
	1999年に販売開始。心血管リスクの増加のため市場から撤収。

以上述べてきたように世界的な新薬の研究開発効率の長期的低下傾向の中で、効果的な創薬ターゲットの探索技術と、より安全な新薬創製技術の開発が求められているが、その一技術としてシステム生物学が位置づけられてきている¹⁰⁾。

2. システム生物学とは

システム生物学はなんら特殊な研究方法ではなく、極めて一般的な研究方法の一つである。生物学は理論科学ではなく実験科学であるとの意見もあるが、どのような自然科学も実験と理論との連携がなされ、一体化している (純粋数学は現実世界から遊離しうが、大学入学直後の授業で数学の教師が「数学科は文学部哲学科に所属すべきである」と主張されていた。一理ある)。

例を薬とターゲットの相互作用解析にみる (図4)。今、薬物DとターゲットTとの解離定数 K_d や速度定数 k_a , k_d を表面プラズモン実験により計測しようとする、まずは薬物DとターゲットTとの反応 (会合と解離) モデルを立てられる。図4②ではターゲットは複合体を形成することなく単量体として薬物と会合、解離するとしているが、この段階では作業仮説ともいふべきものである。ついで、表面プラズモン実験がなされ、得られたデータから理論式に基づく回帰分析で解離定数や速度定数が計算される。この反応モデルや理論式に基づく回帰分析は極端な場合、実験を行う研究者にとっては暗箱となる場合があるが、暗箱の中には必ず反応モデルと回帰分析ツールが潜んでいる。(このように、ほとんどの場合、証明困難ではあるがあえて言えば「すべての場合」で、理論から遊離した実験は存在せず、逆に実験から遊離した理論も存在しない。)

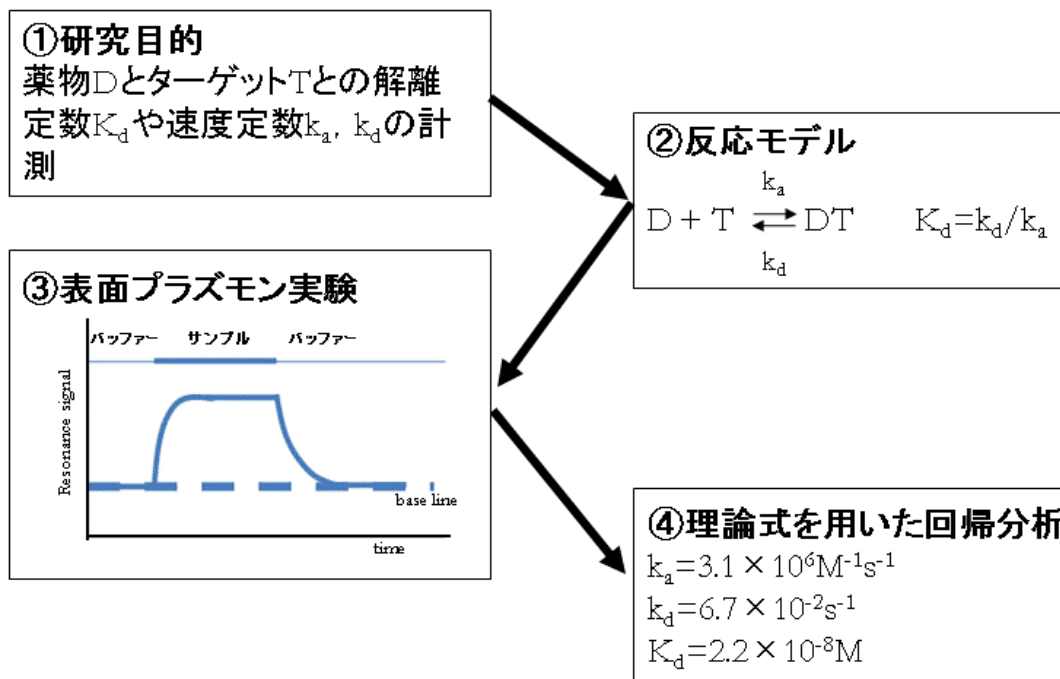


図4 薬物とターゲットとの相互作用解析

より一般的な生物学の研究スタイルを図5に示す。研究のはじめには研究対象と研究目的がある。研究目的を達成するための実験を計画する場合には概念モデル（図4②の反応モデルに対応する）ともいべき作業仮説が立てられ、実験によるデータの計測がなされる。計測されたデータは数理モデル（図4④の理論式に対応する）に当てはめられ、推論され、その結果は研究対象の予測や操作性の獲得により、検証される。検証によりはじめて「研究対象、研究目的とその概念モデルに従ったデータの計測→計測されたデータに基づくモデル化→数理モデルに基づく推論→予測と操作性の獲得による検証」のサイクルが完了し、数理モデルの有効性が、さらには概念モデル（作業仮説）の有効性が確認されることになる。予測や操作性の獲得の過程で実験との齟齬が生じた場合には、再実験もなされるが、同時に概念モデルや数理モデルの修正が求められる。

ここでは数理モデルとして微分方程式のモデルが例示されているが、数理モデルそのものは多様であり、それだけで百科事典ができるほどである。図5に示す研究スタイルは医学、薬学はじめ生物学研究一般で採用されているが、生物学はより実験に軸足を置き、システム生物学はより数理モデルに軸足を置いた研究分野であるといえる。生物学を記載するには多くの百科事典が必要とされるが、同じくシステム生物学も研究対象や研究目的、そして数理モデルの多様性もあり、”You could almost write a dictionary of the different uses of systems biology’ともいわれる¹⁰⁾。

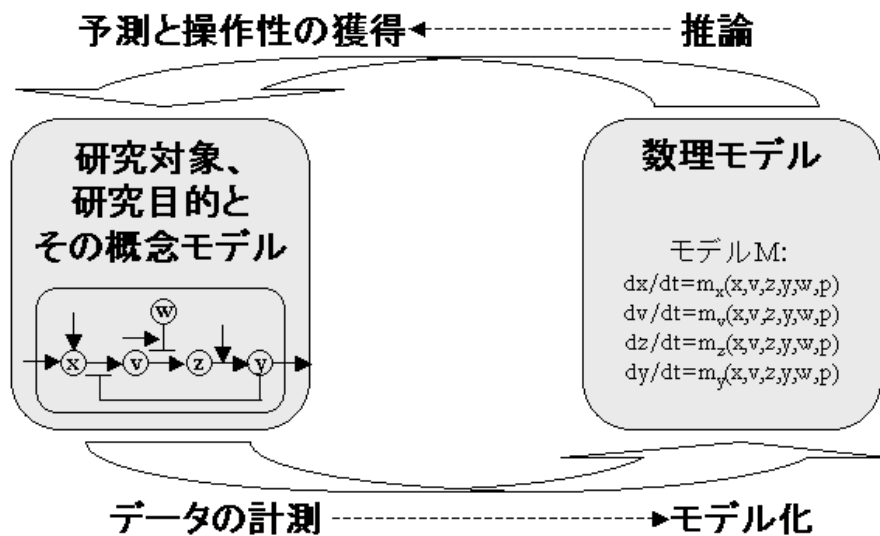


図5 生物学およびシステム生物学にみられる一般的な研究スタイル

ここではモデル M を微分方程式で例示しているが、実際には多様なモデルが採用される。概念モデルや数理モデルの変数として、図では系内の分子数や濃度が暗に想定されているが、神経興奮における膜電位や電流などのマクロな変数も用いられる。どのような変数が用いられるかは研究対象と研究目的に依存する。「予測と操作性の獲得」の失敗は概念モデルや数理モデルの修正につながる。例えば、見落とされていた要素（見落とされていた分子や見落とされていた分子間相互作用など）が推定される場合には、概念モデルや数理モデルへの追加、修正とともに、その要素を考慮した再実験が必要となる。ただ、研究対象に含まれる全ての要素を考慮することは合理的ではなく、研究目的に照らした要素の選択が重要である。この点については補論 2 「数里モデルにおける粗視化」を参照されたい。

図 4 や図 5 に示すように、システム生物学は極めて一般的な研究方法の一角を占めているが、それだけに「なぜ今、システム生物学か？」という疑問はある。その一つの回答は、1990 年代に推進され、2003 年に一応の終了宣言がなされたヒトゲノムの塩基配列解読プロジェクトがある（この年は、Watson-Crick らの二重らせんモデルが提出されてちょうど 50 年目にあたる）。そこではヒト細胞の中に存在するタンパク質構造（一次配列）の総合カタログが明らかにされ、次の課題として総合カタログに記されたタンパク質の機能解明、さらには細胞機能の解明があげられている。この「機能解明を行う」という課題を達成する一つの柱としてシステム生物学が位置づけられている。がん細胞を例にしたシステム生物学の役割の明確化は Hanahan ら¹¹⁾によってなされている。彼らは、がん細胞の機能は①自律的増殖促進機能、②増殖抑制シグナルへの低感受性、③アポトーシス抵抗性、④永続的細胞分裂能、⑤血管新生能、⑥組織浸潤性と転移能であるとし、その機能を説明するためには個々の遺伝子やタンパク質からなる細胞内集積回路図（転写系、代謝系、シグナル伝達系などからなる化学反応ネットワーク）の解明とその数理モデルの作成が必要であると述べている。その結果はじめて、個々のがん特異的な遺伝傷害による集積回路の構造的、

機能的変化、そして組織の細胞機能の変化、さらにはがんが誕生する仕組みを解析することが可能となる。彼らはその先に、

「現在、がん生物学およびがん治療は細胞生物学や遺伝学、組織病理学、生化学、免疫学、薬理学からなる継ぎはぎ細工である。しかし、いつの日にか、われわれは科学としてのがん生物学およびがん治療を想像することができるだろう。そこには、現在の化学や物理学に匹敵するほどの概念構造と論理的な統一性、首尾一貫性を持った科学としてのがん生物学およびがん治療がある。」

との夢を述べている。

現在のシステム生物学は、Hanahan らの文脈に沿っていえば、「生命の機能を解明する」、さらには「継ぎはぎ細工としての生物学を科学化する」といった役割の一翼を担おうとしている。その研究対象は広大で、研究方法も研究目的により異なり多様ではあるが、「細胞のシステム生物学」に限定すれば、以下のようにシステム生物学を規定することができる。

- 1) 細胞の機能は、 10^{-15} から 10^{-11} リットルという小さな空間で数千から数万種類の分子により繰り返されている化学反応に担われている。
- 2) 細胞内では自己複製、転写、翻訳、代謝、シグナル伝達といわれる特徴的な化学反応ネットワークが形成されているが、それらは相互に連結し、単一の化学反応ネットワークとして「生きている」機能、すなわち細胞機能を維持している。
- 3) 細胞は物理化学の法則に従って生きている。(ただ、古典力学と熱統計力学との違いのように異なったレベル、生物学というより高次のレベルでの法則性が存在する点が重要である。)
- 4) システム生物学は細胞の特性に照応した数理モデルを構築し、その構造と機能を解析する試みである。
- 5) システム生物学は、数理モデルの妥当性を、実験的検証および予測能力の検証によって明らかにする。(この検証は極めて重要であるが、細胞を研究対象とする場合、細胞そのものの多様性、複雑性からくる困難さを伴う。)

3. システム生物学の方法と創薬

1995 年以降の長期的な新薬生産性の低下傾向を受け、新たな創薬方法論の確立が求められている。ここではシステム生物学による新規ターゲット探索の研究例を紹介する。

システム生物学の方法論の詳細および生物学研究への適用については別途文献を参照されたい¹²⁾。

3. 1 化学反応ネットワークの構造解析と創薬

化学反応ネットワークを整理しようとする研究は代謝マップの作成を嚆矢として古くから進められてきた。Kanehisa ら¹³⁾は過去の研究成果を計算機上に表現するとともに、新たな研究成果を取り入れ、世界的に標準とされる KEGG データベースシステムを開発、整備してきている。この成果は、Hanahan ら¹¹⁾ががん生物学、がん治療分野で必須であるとし

た細胞内集積回路図そのものであり、以下で述べるシステム生物学全体に対する貴重な研究基盤となっている。

Kanehisa ら¹⁴⁾はさらに薬とそのターゲットを整備しつつあるが、この分野の研究は世界的規模で DrugBank¹⁵⁾や MATADOR¹⁶⁾、PharmGKB¹⁷⁾などとして急速に進んできている。これらの研究成果は、化学反応ネットワークの中にターゲットを位置づけ、ターゲット分子だけでなくターゲットパスウェイ／ターゲットネットワークを解析しうる道を整備し、有効でかつ安全な新薬の開発に寄与しつつある。

その一例を抗炎症薬の開発にみる。ここではその開発の歴史を5期に分けてみる(表2)。

表2 抗炎症薬の開発の歴史

第一期： 伝承の時代
BC400年 ヤナギの樹皮の抽出エキスは鎮痛・解熱のために用いられていた。
第二期： 創薬の時代 (アスピリンの時代)
1763年 ヤナギ樹皮からの抽出物 (サリチル酸類) を解熱薬として使用する。
1899年 アスピリンが Bayer 社によって発売される。
第三期： ターゲット探索の時代
1971年 アスピリンはプロスタグランジン生成を抑制するとの研究結果がでる。 (アスピリンは COX-2 とともに、COX-1 をも阻害するため、胃粘膜などの障害が避けられないとされた。)
第四期： COX-2 の時代
1990年代 「COX-1=生理的、COX-2=病態」 →COX-2 選択的阻害剤の開発
1999年 FDA が、Merck 社の Vioxx(rofecoxib)を承認。
第五期： ポスト COX-2 の時代
2004年 FDA は Merck 社 Vioxx の自主回収を了承した。

まず、伝承の時代がある。この時代はおそらく人類の誕生以来ヒトを検体としてなされてきたランダムスクリーニングとセレンディピティの成果としてヤナギが伝承医薬として確立されてきた時代である。第二期はヤナギ樹皮からの抽出物 (サリチル酸類) の使用から、新規化合物 (NME) であるアスピリンの化学合成に至る「創薬」確立の時期である。この時期、いまだ薬のターゲットは問題にされていない。アスピリンのターゲット探索研究 (いまだアスピリンのターゲットは汲みつくされてはいないが) はようやく 1971 年に成果をあげている。第三期「ターゲット探索の時代」の始まりである。この期の成果として、「アスピリンは cyclooxygenase (COX)-2 とともに、COX-1 をもターゲットとして阻害するため、胃粘膜などの障害が避けられない」とされ、1990 年代には第四期「COX-2 の時代」に入る。この時代の通説は「COX-1 は生理的、COX-2 は病態」とされ、この通説から直線的に抗炎症薬として COX-2 選択的阻害剤の開発が進められた。その成果は多くのコキシブ (coxib) 系薬の開発に繋がっている。しかし 2004 年には Merck 社の開発した rofecoxib が 1999 年

の市販開始からわずか5年で、重篤な心臓疾患をもたらす危険があるとして市場から撤退することになった。その時以降「ポスト COX-2 の時代」がはじまっている。

ポスト COX-2 の時代は有効性ととも、あるいはそれ以上にいかに安全な薬を開発するかが課題となっている。今から振り返ると、COX-2 選択的阻害剤は重篤な副作用をもたらす可能性があるとの見解は、第四期から既に述べられていた¹⁸⁾。いまだ副作用をもたらす詳細な機構は不明ではあるが、リン脂質からアラキドン酸の生成に始まるアラキドン酸代謝経路(図6)のうち COX パスウェイの下流に位置するトロンボキサン A₂ (TXA₂: 血小板凝集促進作用) とプロスタサイクリン (PGI₂: 抗血小板凝集作用) とのアンバランスが原因との見解もある。この見解に対し、2004 年以降の論文ではあるが、そのような機構による副作用の可能性は過去の研究成果としてのアラキドン酸代謝パスウェイをみれば想像しうる、しかも、今では KEGG にそのパスウェイがまとめて記載されている、との批評もなされている¹⁸⁾。この批評は時期を失したきらいはあるものの、的を得ている。現在、安全な抗炎症薬の開発にむけて、図6に示す cPLA₂ 選択的阻害薬や mPGES-1 選択的阻害薬、さらには COX とともに 5-LOX パスウェイの鍵となる酵素である 5-LOX の同時阻害薬の開発が進められている。しかし mPGES-1 選択的阻害薬をみても、その効果は発熱、痛覚感受性増幅という炎症の病態を直接担う PGE₂ の生合成をピンポイントで阻害することにより有効かつ安全な薬の開発が可能との考察から進められているが、PGE₂ 生合成阻害はその前駆物質である PGH₂ の蓄積をもたらす、その下流に位置する各種エイコサノイドの生合成バランスを崩すとの指摘もあり¹⁹⁾、図6に示す代謝経路に基づくより詳細な検討が求められている²⁰⁾。

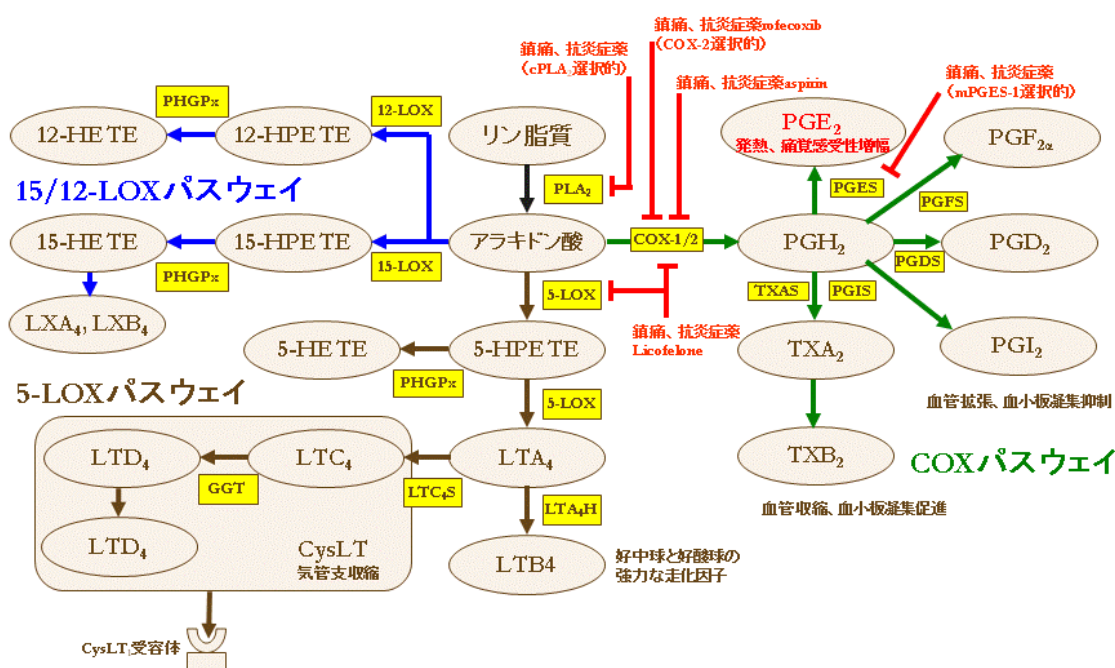
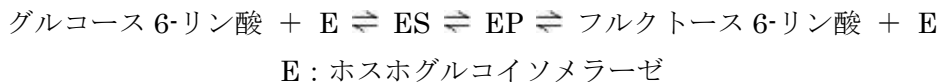


図6 アラキドン酸代謝経路と抗炎症薬のターゲット

化学反応ネットワークの整備は新たな研究方法をも生み出している。最も整備の進んでいる KEGG 代謝マップの例を図 7 に示す。この図そのものは KEGG 中の代謝マップを取り出して鳥瞰したものである。個々の線は



といった本来は Michaelis-Menten 機構などで表現されるべき酵素反応過程を「グルコース 6-リン酸 - フルクトース 6-リン酸」と簡略化したものであるが、鳥瞰することにより新しい研究視点が提供されている。その一つが図 7 の代謝マップを点と線からなるグラフであるとみなし、そのグラフ構造のスケールフリー性の解析である。多くの研究者によると細胞内の化学反応ネットワークはスケールフリーであるとされ^{23,24}、そのようなグラフでは①ほとんどの頂点（分子）の次数は小さく、他との接点は少ない、②ハブ空港のような分子が存在し、その分子は多くの他の分子と接点を持っている、③2つの分子間を結ぶ線（リンク）の数の平均値（平均経路長）は短い、つまりスモールワールドであるとされる。このようにスケールフリーなグラフ構造をもつ代謝マップの機能をみると、ハブ分子のエラー（遺伝的変異やノックダウン、阻害剤による機能阻害）には弱い、多くは非ハブ分子であるため、ランダムエラーには強いという性質がある。

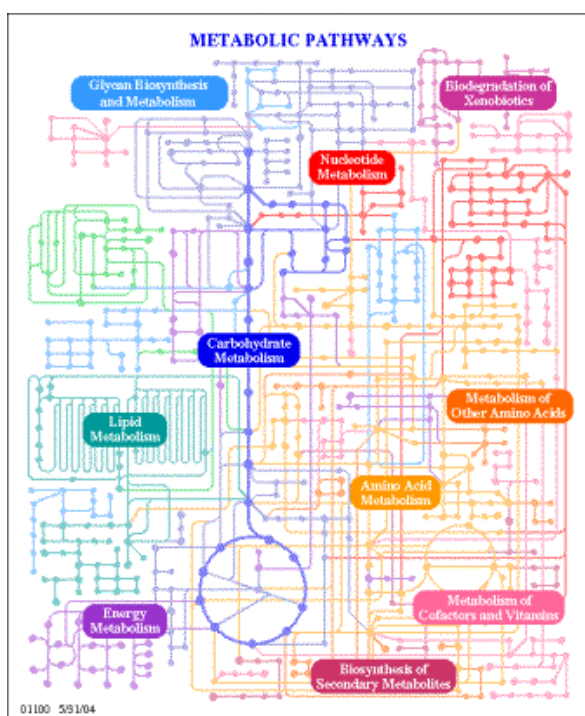


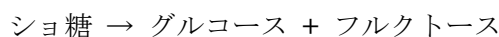
図 7 化学反応ネットワーク (KEGG¹³)の代謝マップを例に)

KEGG は細胞内化学反応ネットワークを主にボトムアップ的に構築してきたが、ヒトゲノムの塩基配列の解読をうけ、KEGG の研究成果を踏まえつつ、トップダウン的に代謝ネットワークを構築しようとする試みもなされてきている^{21,22}。

スケールフリー性を創薬研究に適用しようとする研究の多くは、ネットワークの構造推定方法¹²⁾との組み合わせた研究となっている。Basso ら²⁵⁾は正常な B 細胞や各種リンパ腫の B 細胞など 336 種類の B 細胞の遺伝子発現データを用い、遺伝子ネットワークの推定を行い、解析対象とした約 6,000 の遺伝子について約 129,000 のリンクからなるネットワークを構築している。そのネットワークはスケールフリーである。彼らは、機能的に重要な遺伝子とされるハブ遺伝子のトップ 5% に入っている転写因子 MYC に焦点をあて、MYC と直接のリンクで結ばれているハブ遺伝子 BYSL は MYC の機能調節に重要な役割を果たしており、創薬ターゲット候補であろうとしている。同様の研究に、ヒト白血球に細菌毒素を投与し、0 (投与前)、2、4、6、9、24 時間後の発現プロファイル²⁶⁾から炎症に関与する遺伝子ネットワークを推定し、ハブ遺伝子を抗炎症薬のターゲット遺伝子であるとしている Chen らの研究²⁷⁾がある。(なお、「ハブ遺伝子がターゲット候補」という考えは一般的には成立しない。ハブ遺伝子は致死遺伝子である可能性もあり、「ハブ遺伝子を直接、あるいは間接に制御している遺伝子がターゲット候補」との考えもある。)

3. 2 反応速度論と創薬

化学反応の数理モデル化は 1850 年の L.F.Wilhelmy の研究に始まるとされる。彼はショ糖の加水分解反応

$$k$$


でショ糖のモル濃度[A]の時間変化が微分方程式

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A] \quad (1)$$

で記述されることを示した。この数理モデルは、①モル濃度の時間変化は時間の一階微分方程式で記述しうる (注: ニュートンの運動方程式は時間の二階微分方程式で記述されており、力が保存力である限り、時間反転対称性をもち、可逆である)、②反応速度を示す右辺の関数はモル濃度の関数である、ということを示している。この数理モデルは酵素反応を含む化学反応でその後現在に至るまで一貫して使用されてきている。酵素反応の数理モデルは 1913 年の Michaelis-Menten の研究に始まる。彼らは基質 S が酵素 E の触媒作用により生成物 P ができる反応は、酵素基質複合体 ES を経過するとし、



なる反応機構モデルを提案した。ここで仮定された複合体 ES の構造はその後 X 線結晶解析により多くの酵素と基質で明らかにされている。Wilhelmy の研究や Michaelis-Menten の研究に沿った酵素反応の数理モデル化はその後盛んになり 1970 年代には酵素反応の数理モデルの百科事典化がなされ、1980 年代以降は解糖系、赤血球の代謝系、シグナル伝達系など多くの細胞内生体反応の数理モデル化がなされてきている。その成果は BioModels²⁸⁾ など公共の数理モデル・データベースとして整備されている。

反応速度論に基づく解析過程の概略を図8に示す。反応速度論は①反応モデルから出発する。そして反応モデルから②反応速度式が記述される。この①から②に至る過程は反応モデルが大きくなると、単純ではあるが根気のいる作業となる。反応速度式を解析的に解くことができる場合には過程③から⑤をたどる。図8の場合、反応モデルが一分子反応で記述されており、かつ閉鎖系としてモデル化されているため、③に示されるように、反応速度式は一変数の簡単な微分方程式となる。③に示す微分方程式の一般解に反応の初期条件を代入することにより、初期条件に対応した④微分方程式の解が得られる。この解は反応の時間変化を正確に予測しており、実験との対応により図8①の反応モデルは検証されることになる。反応の時間変化ではなく平衡状態（開放系を取り扱う場合には定常状態）が解析目的である場合には、②反応速度式で $dX/dt=dY/dt=0$ とするか、④微分方程式の解で $t \rightarrow \infty$ とするかによって平衡状態での分子種 X と Y の濃度が求められる。すなわち、平衡状態を研究目的とする限りでは微分方程式を解く必要はない。ここまでは②反応速度式が解析的に解ける場合であるが、一般的には反応速度式の右辺は 2 変数以上の非線形関数となり、微分方程式を解析的に解くことはできない。その場合には、②反応速度式を数値的に解くことになる。その結果が⑥反応速度式の数値解に示されている。

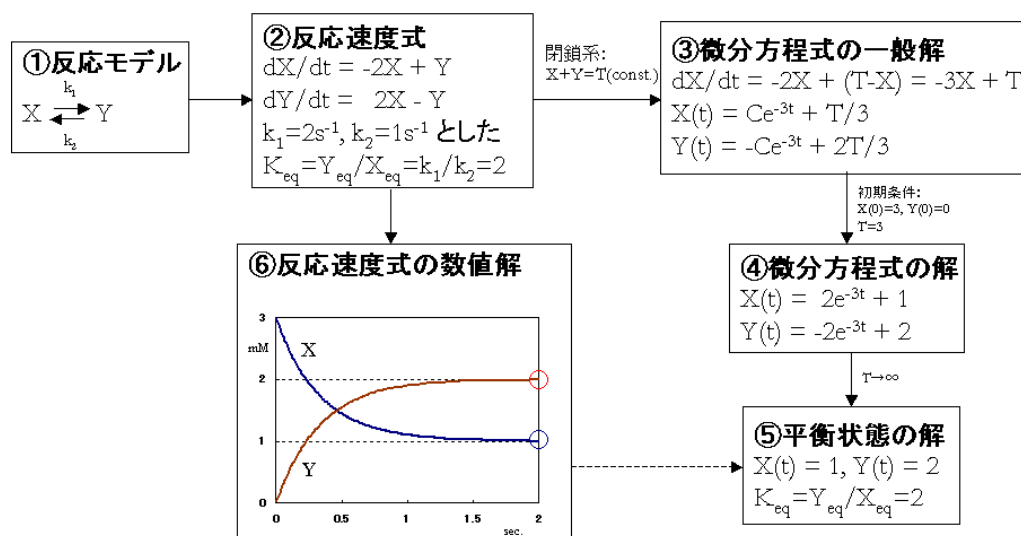


図8 反応速度論に基づく解析の流れ

反応モデルから速度式、そしてその解としてのタイムコースや平衡状態を示している。実験からえられるタイムコースや平衡状態の値は誤差を含んでおり、速度式のパラメータである速度定数や、初期濃度が正確に設定されているとすれば、個々の実験結果は⑤や⑥の値の近傍に位置し、繰り返し実験を行うことにより、その平均的挙動は⑤や⑥の値に収束する。(ただ、以上の議論は統計物理学でいわれる「ゆらぎ」を無視しうる場合の議論である。転写過程のように反応に関与する分子の数が少なく、ゆらぎの効果を無視できない場合には、反応モデルを確率過程で記述し、ゆらぎを直接取り扱う必要が生じる¹²⁾)

反応速度論に基づく創薬研究は Sung らによる NF- κ B ネットワーク阻害剤(多発性骨髄腫の治療薬 Bortezomib) の効果解析²⁹⁾や Chassagnole らによるがん治療における各種キナーゼ阻害剤 (Cyclacel 社の celiciclib 等の阻害剤) の評価に適用されている³⁰⁾。Sung らの問題意識は NF- κ B シグナル伝達系での最適な抗がん剤の探索と最適な治療法の探索にある。Sung らは、I κ B のプロテアソーム分解阻害剤 (プロテアソームの触媒部位をブロックする薬剤) とされる Bortezomib に比べ、IKK の競合阻害剤や細胞質における NF- κ B の競合阻害剤 (NF- κ B の核内移行の阻害剤) がより効果的な治療薬になりうるとしている。また、Chassagnole らの問題意識はヒトの細胞周期をシミュレートしうる数理モデルを構築し、ブロードなキナーゼ阻害効果もつ抗がん剤の効果を明らかにすることと、キナーゼ阻害の異なったスペクトルを持つ薬剤を最適に組み合わせた治療法を提示することにある。Chassagnole らはキナーゼ阻害剤投与にともなう細胞周期の破綻を定量的に解析しているが、さらにアポトーシスや DNA 複製機構をも組み入れたモデルの作成が必要であるとしている。

3. 3 力学系としての化学反応系と創薬

式 (1) や図 8 ②に示される反応速度式は数学的にはより広い概念である力学系としてとらえることができる。図 9 に反応速度式の力学系としての解析例を示す。①に示すように反応速度式は時間に関して一階の非線形微分方程式として記述しうる。右辺は反応速度を示す反応項であり、一般的には反応系に含まれる化学種の濃度 c_i と反応速度定数や阻害物濃度などのパラメータ p からなる非線形関数 $f_i(c_1, c_2, \dots, c_n, p)$ となる。(ここで n は分子種の数であるが、多くの論文を参考にして反応系に含まれる全ての分子種を考慮すると n は大きな値となる。研究対象と研究目的に応じてどの分子種を明示的に取り扱うのか、どの分子種を捨て去るのかの考察は数理モデル化において重要かつ悩ましい問題である。図 10 で述べる Araujo らの研究、および補論 2「数理モデルにおける粗視化」を参照されたい。) 研究対象となる化学反応系に対して図 9 ①に示す微分方程式が立てられると、数値解析 (図 8 の⑥参照) や感度解析、安定性解析、分岐解析などがなされる。それぞれは微分方程式に含まれるパラメータ p あるいは初期濃度などが変化した場合の系の挙動を解析する。

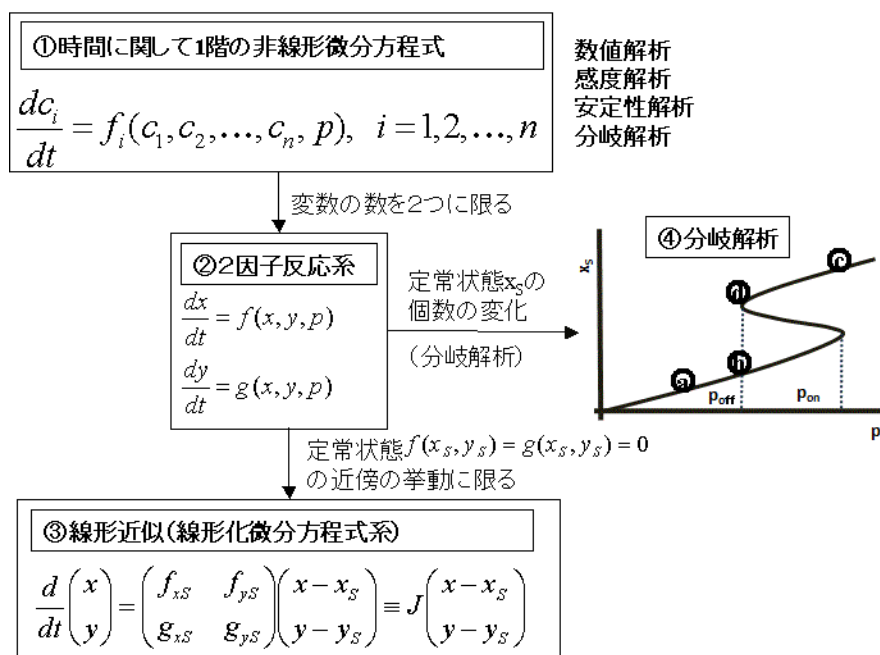


図9 力学系としての化学反応系

③の線形近似や④の分岐解析は多変数の力学系でも用いられている解析手法であるが、ここでは簡単のため2因子系で例示している。

図9の①に示す多変数の微分方程式の場合、計算機能力の向上により数値解を求めることは容易になったが、その結果を読み解くことは一般には困難である。そのため、大きな数理モデル(ここでは①に示す微分方程式)を構築し、その挙動を解析する試みとともに、数理モデルの変数の数を、研究対象、研究目的に沿って、可能な限り簡略化し、研究対象となる系の要点を見通しよく解析しようとする試みがある。図9では変数の数を2にした②2因子反応系を例示している。2因子反応系において $f(x, y, p) = g(x, y, p) = 0$ として求められる定常状態(閉鎖系の場合には平衡状態)は1つとは限られず複数個存在する可能性があるが、その一つの定常状態を (x_s, y_s) とするとその近傍での反応系の動的挙動は③線形化微分方程式系で記述される。この系のおおまかな挙動は偏微分係数を要素とする行列 J で規定され、行列 J の固有値の実部がすべて負の場合系は漸近安定であるといわれる。一般に細胞内化学反応系は漸近安定であると仮定されており、数理モデルとして構築される①の微分方程式(反応速度式)の線形化微分方程式の行列 J の固有値の実部が一つでも正の場合、系は不安定であり、立てられた数理モデルそのものが誤っていると推測される。

図9②の2因子反応系についてみると、パラメータ p に応じて定常状態は非線形方程式 $f(x, y, p) = g(x, y, p) = 0$ から求められる。今その値を $(x_{s1}, y_{s1}), \dots, (x_{sn}, y_{sn})$ としパラメータ p の値を変化させたときの (x_{s1}, \dots, x_{sn}) をグラフ化することにより系の分岐を解析することができる。その一例を図9④分岐解析に示している。この例では p が0から p_{off} までは定常状態は1つしか存在しないが、 p_{off} から p_{on} の間は3つの定常状態が存在する。そして p

の値が p_{on} を越えると定常状態は 1 つになる。はじめ系は $p < p_{off}$ であったとすると定常状態は点 a の位置にあり、 p が大きくなるにつれ点 b を越え、 x_s の値は連続的に大きくなっていく。ところが p の値が p_{on} を越えると定常状態は点 c に飛躍する。その後、 p が小さくなっていくと x_s の値は連続的に減少し、点 d にまで達する。 p の値が p_{off} 以下になると定常状態は点 d から点 b に飛躍する。この定常状態の個数が変化し、その点で定常状態が飛躍する点 p_{off} と p_{on} を分岐点という。

分岐解析を創薬に適用している例として de Atauri らの研究や Araujo らの研究がある。de Atauri らは Mulquiney ら³¹⁾が開発した赤血球の代謝系の数理モデルをもとに代謝系の定常状態の崩壊に伴う溶血性貧血の解析を行っている³²⁾。また、Araujo ら³³⁾はインスリンシグナル伝達系をターゲットにしたがんの最適治療法を解析している。Araujo らが解析したインスリンシグナル伝達系を図 10 に示す。図 10①に示されているインスリン受容体基質 1 (IRS1) は多くの固形がんにおいて活性化状態にあり、IRS1 のリン酸化を介したインスリンシグナル伝達系は抗がん剤のターゲットになりうる。

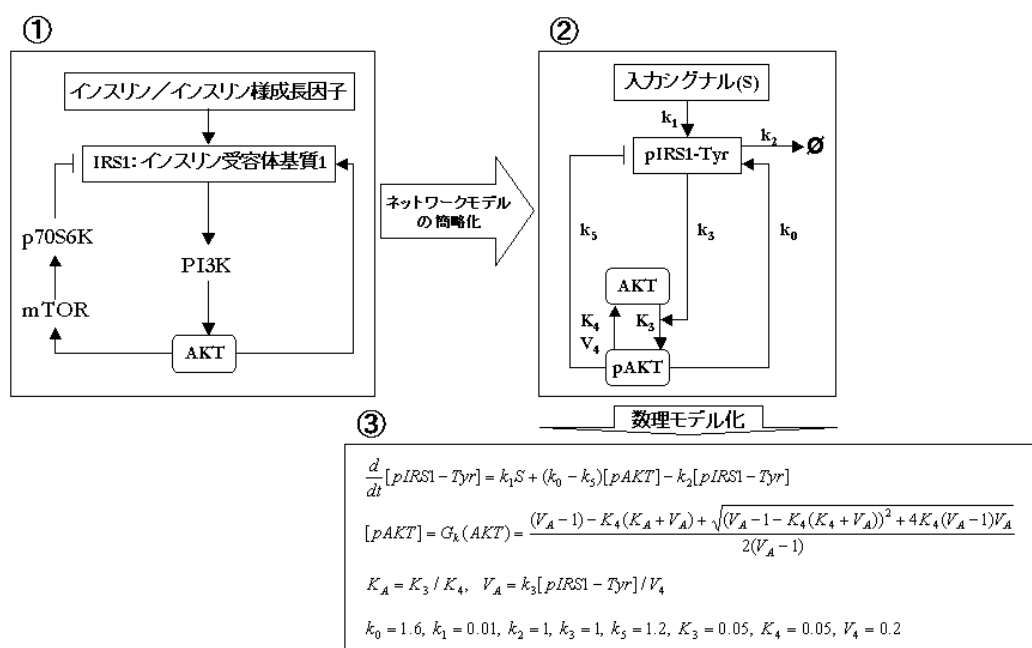


図 10 AKT を介したインスリン受容体基質 1 のフィードバック制御³³⁾

図 10①ではシグナル刺激 (S) による IRS1 の活性化状態が PI3K を介して AKT に伝達され、その後 AKT から直接的に IRS1 の活性化をもたらす正のフィードバックループと、IRS1 の活性抑制をもたらす mTOR から p70S6K を介した負のフィードバックループがモデル化されている。これら全ての分子 (登場人物) を数理モデルに組み込むことも可能ではあるが、Araujo らは登場人物を入力シグナル S、IRS1、AKT の三者に限定したモデルを構築している (図 10②)。ここで S は図 9 ①でいうパラメータ p にあたる。図 10②の数理

モデルは図 10③に示されている。ここで IRS1 はその活性型のみが考慮され、AKT のリン酸化反応と脱リン酸化反応は定常状態にあるとして数理モデルは作成されている。このような簡略化は、もし適切になされれば、研究目的をより正確に表現し、かつ解析結果の見通しを良くする。

図 11 に数理モデル上で考察される治療法とその効果が示されている。

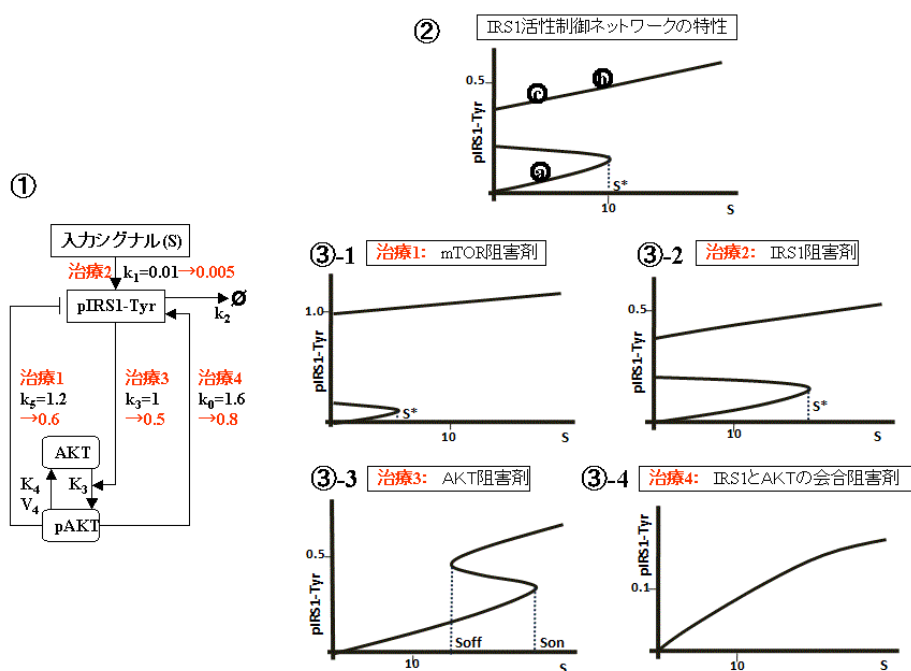


図 11 シグナル伝達系をターゲットにしたがん治療法の検討³³⁾

図 11①は Araujo らが解析しているモデルパラメータと治療法の数値を示している。基準となるパラメータは $k_5=1.2 < k_0=1.6$ と設定されており、Araujo らのモデルは相対的に、正のフィードバックに比べ負のフィードバックが弱いモデルとなっている。このパラメータの場合 (図 11②) 刺激 S が S^* 以下である場合 3 つの定常状態が存在するが、正常な状態では活性化した IRS1 は最も低い値 (例えば点 a) をとっているとされる。 S が S^* を越えると S の定常状態値は非連続的に増加し、点 b の値を示す。 Araujo らによるとこの状態はがん化した状態である。この数理モデルでは、一度がん化するとその後刺激 S が減少しても活性化した IRS1 の値が点 a の位置に戻ることはなく、がん化した点 c の位置に留まる。すなわち IRS1/AKT シグナル伝達系は危険な一方スイッチの機能を有する反応ネットワークであるといえる。図 11③は図 11①に示す各治療法の効果を示している。図 11③-1 に示す治療 1 は AKT から IRS1 に至る負のフィードバックループを弱めている。例えば、治療 1 は AKT→mTOR→p70S6K に至るパスウェイの mTOR を阻害する薬剤による治療に対応する。図 11③-1 にみられるようにこの場合、図 11②) に比べ分岐点 S^* は左側にシフトし、危険な

一方向スイッチの機能を強化している。図 11③-2 に示す治療 2 は入力シグナル S による IRS1 の活性化の効果を減弱させている。具体的には IRS1 阻害剤が考えられる。図 11③-2 にみられるようにこの場合、図 11②)に比べ分岐点 S*は右側にシフトし、危険な定常状態への移行は起こりにくくなっているが、危険な一方向スイッチの機能は残っている。図 11③-3 に示す治療 3 は IRS1 による AKT の活性化を減弱させている。具体的には AKT 阻害剤が考えられる。この場合には図 11③-3 に示される分岐図は大きく変化し、危険な一方向スイッチから、より無害な二方向トグルスイッチに変化する（この分岐図の含意については図 9④)の説明を参照されたい）。その意味では治療 1 や治療 2 に比べより効果的な治療法となっている。図 11③-4 に示す治療 4 は AKT による IRS1 活性化の正のフィードバックループの阻害に対応する。具体的には AKT と IRS1 の会合阻害が考えられる。この場合、危険な一方向スイッチはなくなり、最も効果的な治療法となっている。

このように反応ネットワークを縮約し、単純化した数理モデルを力学系としてみる解析は、反応ネットワークの最適なターゲットパスウェイを見通しよく検討することを可能としている。

3. 4 化学反応ネットワークの感度解析と創薬

細胞は外部の環境（例：温度や栄養源）や内部の仕組み（例：遺伝子の変異）の変化に対して柔軟に対応し、元の細胞機能を維持しようとする。このような「元の細胞機能を維持しようとする」機能は種々の言葉で表現されてきている。最も古くは 1929 年に Cannon が提唱したホメオスタシスがある。Cannon は「生物が外界と相互作用を行いながら、自己の内部環境をほぼ一定に保つ現象」としてホメオスタシスを把握している。また、1942 年には Waddington が「環境の変化にかかわらず必然的に定められた一定の発生、分化の道筋を進もうとする傾向」としてキャナライゼーションを提唱している。力学系の視点からは細胞という系の安定性、漸近安定性、構造安定性が古くから議論されてきている¹²⁾。近年は Kitano や Stelling など多くの人々によりロバストネスが「外乱に対して生命機能を維持する能力」として研究対象となっている³⁴⁾。

このような概念には深い含意があるが、反応ネットワークの数理モデルをもとにした簡単な考察は感度解析として行うことができる。今、図 9①)と同じく、次に示す数理モデル

$$\frac{dX}{dt} = f(X, p)$$

を考える。この数理モデルによって、初期条件や各種拘束条件が定まると分子種 X の濃度の時間変化を数値的に求めることができる。感度解析では、反応ネットワークの特性や機能を示すある関数 Obj(X(t))をあらかじめ定めておき、ネットワークのパラメータである初期濃度 X₀や速度定数、酵素濃度などのパラメータ p の変動 (δ X₀, δ p)により関数 Obj(X(t))がどの程度変化 (δ Obj) するのかを解析する。化学反応ネットワークを研究する目的により具体的な関数型 Obj は異なるが、素朴にはある代謝物 X_iの濃度 Obj(X(t))=X_i(t)や反応速

度 $\text{Obj}(X(t))=d X_i(t)/dt$ が考えられる。あるパラメータの変動に対して関数 Obj の変化 δObj が小さい ($\delta \text{Obj} \approx 0$) 場合、関数 Obj によって表現される特性や機能からみて当該変動に対しネットワークは頑健であるとされる。一方、 $|\delta \text{Obj}| \gg 0$ の場合にはネットワークは当該変動に対して脆弱であるとされる。細胞内の化学反応ネットワークは、考察対象となる関数 Obj や変動させるパラメータに応じて頑健性ととも脆弱性を合わせ持っていると考えられる³⁴⁾。創薬の視点から例えば、シグナル刺激に応答し核内に移行する転写因子のシグナル伝達系(例: $\text{NF-}\kappa\text{B}$ シグナル伝達系)を数理モデル化し、核内濃度が最初のピークを示す時間やその時の濃度が Obj となり、 Obj に最も影響を与えるためにはシグナル伝達系のどの生体分子をターゲットにした薬剤を開発すべきか、すなわちどの生体分子の機能変動に対し当該シグナル伝達系は脆弱かを考察することが考えられる。

Bakker ら³⁵⁾はアフリカ睡眠病の原因である原虫トリパノソーマの解糖系の代謝制御解析と薬剤ターゲット探索を行っているが、彼らは酵素活性 E_i の変化に対する流速 J の変化、すなわち定常状態での反応速度の変化の大きさを示す指標である流速制御係数 C_i

$$C_i = \frac{\partial J}{J} \bigg/ \frac{\partial E_i}{E_i} = \frac{\partial \ln J}{\partial \ln E_i}$$

を目的関数としている。そして、「最も効果的な薬剤ターゲットは、トリパノソーマに対して高い流速制御係数を示し、ヒトに対しては低い流速制御係数を持つ酵素である」との仮説の基に、薬剤ターゲットの探索を行っている。Bakker らの解析結果によると、アフリカ睡眠病の治療薬の一つであるスラミン (suramin) のターゲットとされているグリセロール-3-リン酸デヒドロゲナーゼとともに、アルドラーゼやグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、ホスホグリセリン酸キナーゼが薬剤のターゲット候補とされている。

Yamada ら³⁶⁾はがんや炎症に深く係わっている JAK/STAT1 シグナル伝達系の数理モデルを作成し(図 12)、系の挙動は脱リン酸化酵素の内 PPN の濃度変化に最も影響を受ける、としている。Zi ら³⁷⁾は Yamada らのモデルを用いて大域的な感度解析を行い、系は SOCS1、STAT1c、PPN の初期濃度変化に最も影響を受け、それらはがんや炎症の薬剤開発にあたってのターゲットになりうるとしている。

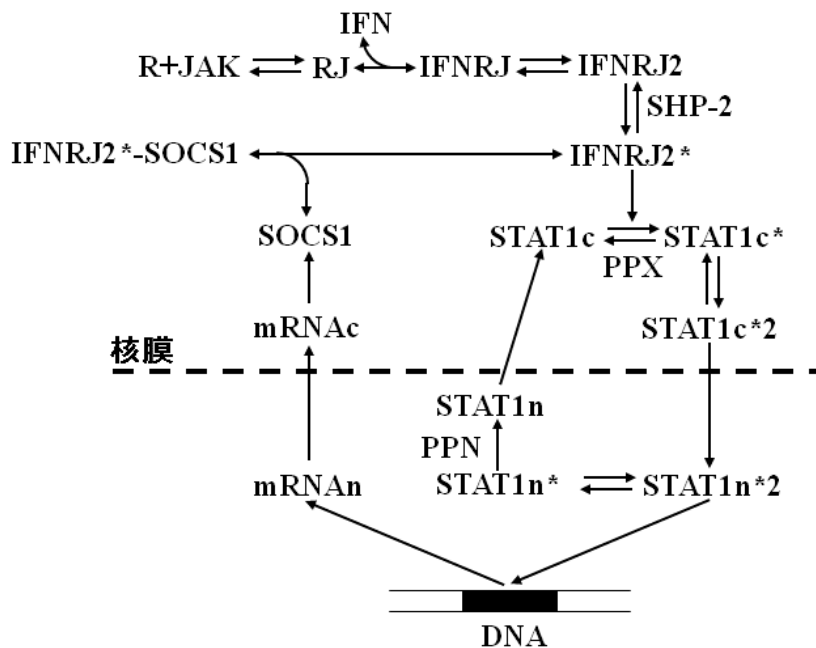


図 12 JAK/STAT1 シグナル伝達系のモデル³⁶⁾

この系には3種の脱リン酸化酵素、SHP-2、PPX、PPNが含まれている。Yamada らの研究³⁶⁾も Zi らの研究³⁷⁾も、そのうち PPN が最も重要な役割を果たしているとの結果を示している。

3. 5 化学量論解析と創薬

化学量論解析は、定常状態下での個々の反応過程の速度（流速）が細胞機能を担っているとの立場にたち、系の動的な挙動ではなく、定常状態に解析の対象を限定することにより、数理モデルの適用範囲を広くしている。化学量論解析では個々の反応過程の詳細な機構、例えば Michaelis-Menten 機構やアロステリック酵素の場合の Monod-Wyman-Changeux 機構などは考察の対象とならない。化学量論解析の概要を図 13 に示す。

今、考察対象とする反応ネットワークモデルを図 13①とする。 X_i は系内の化学種の濃度、 v_i は各反応過程の速度を示す。この反応ネットワークモデルの物質収支（例えば X_4 は速度 v_4 で生成され、速度 v_5 で分解しているため、濃度の時間変化は $v_4 - v_5$ である）を個々の化学種についてみると、各化学種の濃度の時間変化を示す物質収支則は②-1 のように表現される。②-2 は物質収支則を行列表現したもので、行列 S は化学量論係数行列といわれ、①の反応ネットワークモデルの各化学種間の変換過程を全て表現している。その意味で行列 S は①の反応ネットワークモデルと同等である。

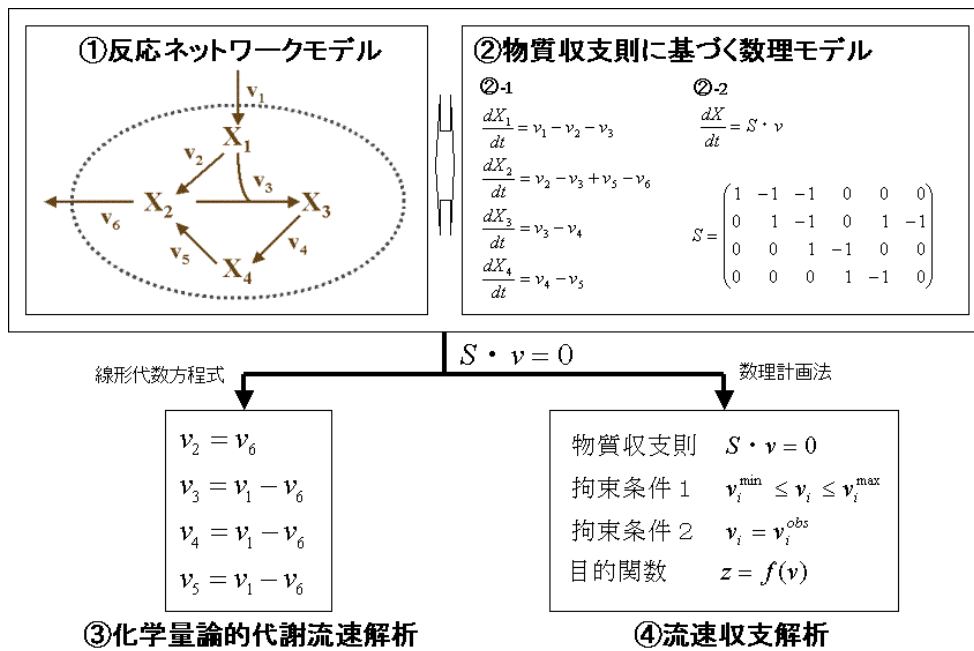


図 13 化学量論解析の枠組み

化学量論解析では定常状態のみを問題にし、流速（定常状態 $dX/dt=0$ での反応速度） v_i を②-2 の式 $S \cdot v=0$ から求めようとする。この式は v_i に関する線形代数方程式であり、変数 v_i の数に比べ式の数が多い場合には簡単に解くことができる。反応ネットワークモデル①の場合には変数の数が6、式の数4であるため、このままでは解くことはできないが、容易に計測しうる系への X_1 の流入速度 v_1 と系からの X_2 の流出速度 v_6 が計測されると、変数の数と式の数が一致し、図 13③のように系内の全ての流速を式 $S \cdot v=0$ から簡単に計算することができる。変数の数に比べ式の数が多い場合の他の解法として数理計画法の適用、すなわち流速収支解析がある。そこでは物質収支則 $S \cdot v=0$ 以外に、図 13④に示すように v_i への拘束条件と目的関数 z が設定される。拘束条件としては熱力学的考察からある反応過程が実質的に不可逆と仮定しうる場合には $0 < v_i$ などの不等式が用いられる。目的関数は研究対象となる反応ネットワークによって異なる。

Cakir ら³⁸⁾はニューロンとアストロサイトのエネルギー代謝関連の流速収支解析を行っている。彼らは膨大な文献調査を行い、217 の反応過程（184 の内部反応と 33 の交換反応）、216 の代謝産物（183 の内部代謝物、33 の外部代謝物）からなるニューロンとアストロサイトの代謝反応ネットワークを作成している。この結果は図 13④の物質収支則 $S \cdot v=0$ に反映される。そして、グルタミン酸、グルタミン、GABA のサイクル流速の最大化（エネルギー代謝関連最大化を図る戦略）、および全流速の 2 乗和最小化（酵素効率を最大限引き出して細胞機能の維持を図ろうとする戦略）を目的関数として流速 v を求めている。その結果を図 14 に示す。この結果は、ニューロンとアストロサイトの TCA サイクルのフラックス比は実験と整合的である一方、ニューロンからアストロサイトへのアスパラギン酸の

輸送 (0.092) は実験に比べ高い値を示しているなど、課題は残されているものの流速収支解析によりヒト細胞の大きな代謝反応ネットワークの流速を数理モデルによって求めることを示している。Cakir らの研究目的の一つは低酸素状態になった場合の流速の変動にあり、このことは図 14 の BLOOD から NEURON や ASTROCYTE への酸素の流入速度を変化させることにより、解析されている。

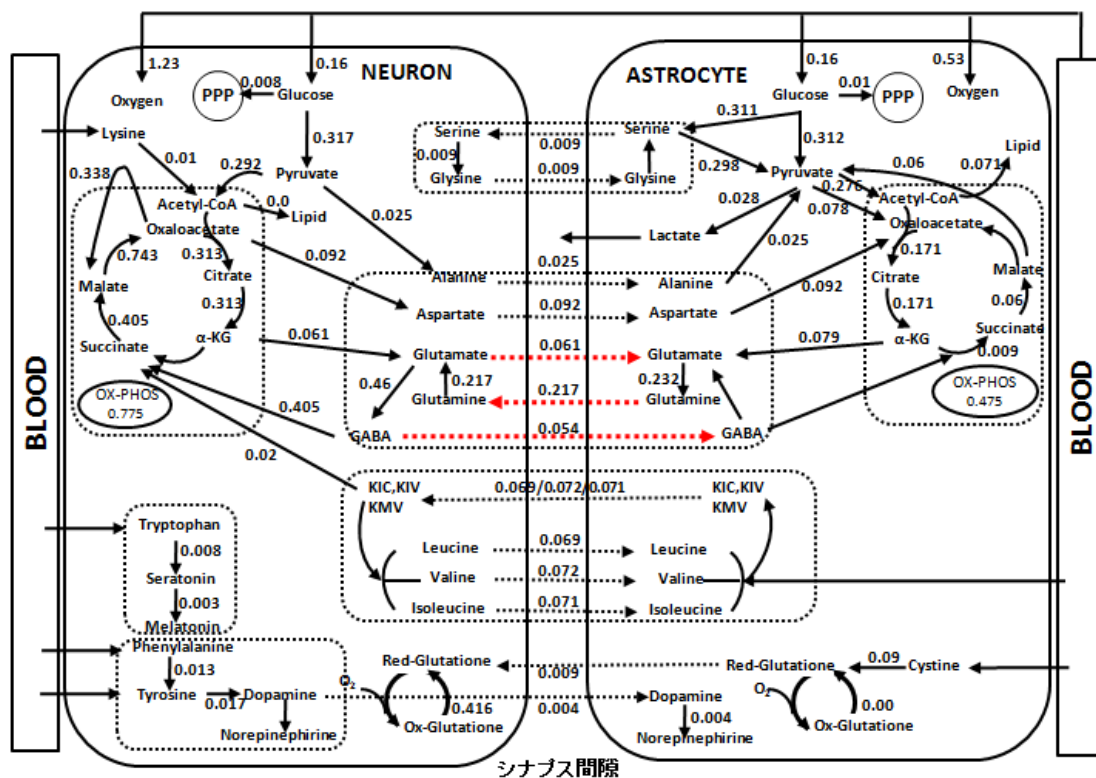


図 14 ニューロンとアストロサイトのエネルギー代謝連関³⁸⁾

Cakir ら³⁸⁾が求めた流速の一部のみを示している。彼らが構築した数理モデルは 217 の反応過程 (184 の内部反応と 33 の交換反応)、216 の代謝産物 (183 の内部代謝物、33 の外部代謝物) からなる。

Munger ら³⁹⁾はヒト繊維芽細胞にヒトサイトメガロウイルスを投与し、kinetic flux profiling という手法を用いて、非投与の場合との代謝流速の変化を計測している。その結果を図 15 に示すが、彼らは、解糖系、TCA サイクル、脂肪酸合成系の流速が顕著に増加していることを確認し、さらに脂肪酸合成酵素の阻害はヒトサイトメガロウイルスおよび A 型インフルエンザウイルスの複製を抑制することを実験的に明らかにしている。彼らが用いた脂肪酸合成酵素阻害剤はヒト繊維芽細胞のアポトーシスを誘導することではなく、毒性もみられなかった。これらのことから、化学量論解析による流速の解析はターゲットとなるパスウェイの同定と薬剤の開発に有効な手法であると考えられる。

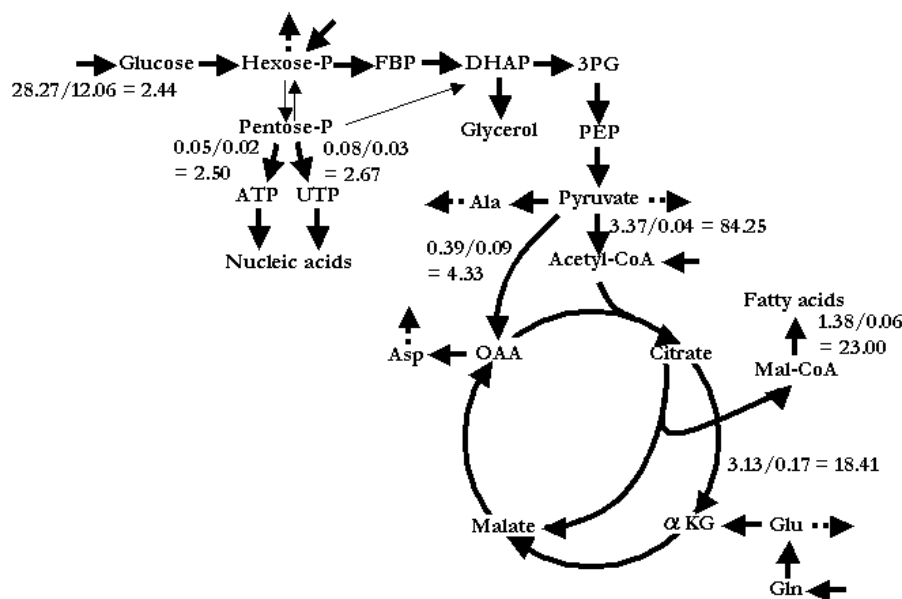


図 15 ヒトサイトメガロウイルスを投与にともなうヒト繊維芽細胞内代謝流速の変化³⁹⁾
 図中の数値は「HCMV-infected / uninfected cells=ratio」を示す。流速の単位は nmol/min/1.5*10⁶ cells
 である。

3. 6 化学量論的ネットワーク解析と創薬

化学反応ネットワークの個々の反応機構の詳細に立ち入ることなく、図 13②にも示されている化学量論係数行列 S 、すなわちネットワークのトポロジーのみから定常状態について可能な限り詳細な情報を得ようとする立場が化学量論的ネットワーク解析である。

化学量論係数行列 S で記述される細胞内の化学反応ネットワークが定常状態にあり、物質収支則 $S \cdot v=0$ による拘束を流速 v が受けるとき、細胞内ではいかなる流速分布が実現されるか、この問題意識は 1980 年代 Clarke によって立てられた。数学的には物質収支則 $S \cdot v=0$ で示される斉次の連立一次方程式の解空間（核空間 **kernel space** や零空間 **null space** とよばれる）を求めることになり、その基底ベクトルは簡単に求めることができる。しかし、零空間の基底ベクトルは、ある化学反応の集合 **Irrev** に対して熱力学的な拘束から要請される不可逆性の条件、

$$0 \leq v_i \quad \text{ここで } i \in \text{Irrev}$$

を満たすという保証はない。また、零空間の基底ベクトルは一意的には決定されえない¹²⁾。

Schuster らは、零空間の基底ベクトルに代わり、熱力学的にも実現可能な基底ベクトルとして基準モード (**elementary mode**) を提案している^{40,41)}。基準モードは物質収支則 $S \cdot v=0$ と不可逆性の条件に加え、「定常状態を維持しうるパスウェイ（個々の反応の集合）であり、かつ最小の反応数から構成される。すなわち、基準モード内のどの反応を取り除いても、系の定常状態を維持しえない」という条件（非分解性の条件: **non-decomposability**）を加えることにより一意に求めることができる。一方、物質収支則と不可逆性の条件、お

よび非分解性の条件に加えて、「どの極値パスウェイも他の極値パスウェイの非負係数の線形結合では表現しえない」という独立性の条件を付加した基底ベクトルとして、極値パスウェイ (extreme pathway) が提案されている^{40,41)}。これら基準モード/極値パスウェイはどちらも反応ネットワークの定常状態を表現する場合の基底ベクトルとなり、全ての定常状態は、正係数を用いた基準モード/極値パスウェイの線形結合で表現できる。この正係数という条件は不可逆性の条件を満たす必要十分条件である。

基準モードと極値パスウェイを図 14 に例示する。図 14①には反応ネットワークと物質収支則が示されている。図示された反応ネットワークと化学量論係数行列 S は同等である。不可逆性の条件は図の矢印 (\rightarrow) で示されており、 v_4 のみが可逆反応である。「定常状態を維持しうるパスウェイであり、かつ最小の反応数から構成される」基準モードを図 14②に示す。全ては系内への物質の流入と、系内での物質変換、および系内が定常状態を維持するための流出からなっている。可逆反応とされる v_4 のみは流入 (EIMo1) と流出 (EIMo2) の両ケースが基準モードに現れているが、その他の流速は不可逆性の条件を満たしている。基準モードの場合、相互の独立性は保証されてはおらず、EIMo4 は EIMo1 と EIMo2 の線形結合で表現される。そのため独立性の条件を課している極値パスウェイに EIMo4 は含まれない (なお、系外との交換反応が不可逆であれば基準モードと極値パスウェイの数は一致する)。これら基準モード/極値パスウェイを e_i とすると、図 14①に示す反応ネットワークで実現されうる定常状態の流速分布 v は

$$v = \sum_i \alpha_i e_i, \quad \alpha_i \geq 0$$

と表現されうる。あるいはこの式で表現できない定常状態は存在しない。

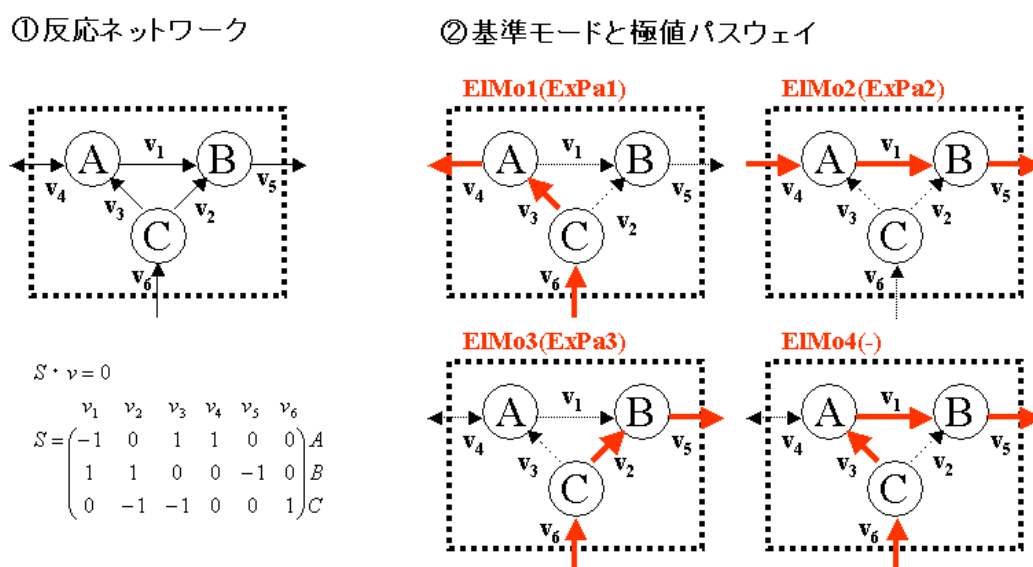


図 14 基準モードと極値パスウェイの例

②に基準モードと極値パスウェイを示すが、ベクトル表現では $EIMo1 = ExPa1 = e_1 = (0 \ 0 \ 1 \ -1 \ 0 \ 1)^t$ 、

$EIMo2=ExPa2=e_2=(1\ 0\ 0\ 1\ 1\ 0)^t$ 、 $EIMo3=ExPa3=e_3=(0\ 1\ 0\ 0\ 1\ 1)^t$ 、 $EIMo4=e_4=(1\ 0\ 1\ 0\ 1\ 1)^t$ となる。

Schuster ら⁴²⁾は赤血球の代謝ネットワークを対象に基準モード解析を行っている。彼らはアデニン ADE から出発し、ATP が合成される基準モードを解析しているが、それらは4つある。その一つを図 15 に示す。4つの基準モードは全てアデニンホスホリボシル基転移酵素 AdPRT を含んでおり、このことは AdPRT 欠損症でアデニンが蓄積されることと整合的であるとされる。また4つの基準モードともにアデノシンキナーゼ AK や、アデノシンデアミナーゼ ADA、プリンヌクレオチドホスホリラーゼ PNPase を含んでおらず、それら酵素の欠損の影響を4つの基準モードは受けないことを示している。

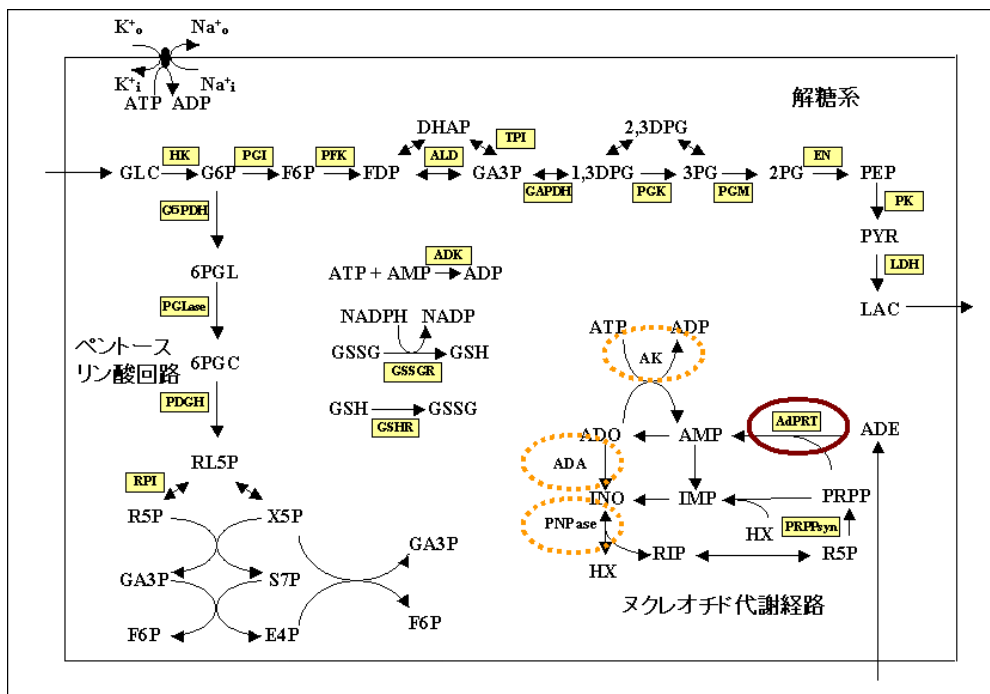


図 15 赤血球代謝ネットワークの基準モード

アデニン ADE から出発し、ATP が合成される基準モードは4つある。それらの化学反応式は $aGLC + bADE = cCO_2 + dLAC_{ext} + eATP$ で示される。図にはその一つの基準モードを示している。□の中に酵素名が記されている反応経路が基準モードを構成している。

Cakir ら⁴³⁾も赤血球の代謝ネットワークの基準モード解析を行っており、全ての基準モードにヘキソキナーゼ HK、グリセルアルデヒド 3-リン酸脱水素酵素 GAPDH、ホスホグリセリン酸ムターゼ PGM、エノラーゼ EN、ピルビン酸キナーゼ PK が含まれ、赤血球の代謝ネットワークが定常状態を維持するためにはそれら5つの酵素は必須であることを示している。そして、HK や PK の欠損は重篤な溶血性貧血をもたらすことと整合的であるとされる。

4. システム生物学の将来

今から 40 年ほど前 Rosen は「生物学におけるダイナミカルシステム（力学系）の理論」を著し、同じ頃 Segel は酵素反応の百科事典ともいえる本「Enzyme Kinetics」を著している。また同じ頃、湯川秀樹のノーベル賞受賞を記念して設立された基礎物理学研究所の 15 周年の記念シンポジウムに多くの研究者が集い、生物と物理学との連携を話し合っている。その中で量子論の研究者、福留英雄は「今後は、細胞でしょう。非常に複雑なシステムに対して本質的なモメントを見つけ出していくという方法論上の寄与」をしていきたいと抱負を述べ、湯川秀樹は討論の場で「生物は物質系であると同時に、情報のかたまりともみられるが、情報と情報を担っている物質あるいはエネルギーの形態とが不可分の関係にある。したがって、後者と独立に情報のみを考えるのでは、物理的といえない。現在までの傾向は、情報理論が数学的、工学的見地からしか取り上げられていないという一面性が強くでている」との問題意識を述べていた¹²⁾。

現在、システム生物学（システムバイオロジー）がその当時以上の高まりをみせ、Segel が個々の酵素反応を問題にしていたのに対し、転写系、代謝系、シグナル伝達系をはじめ多くの生体内酵素反応系がネットワークとしてデータベース化され、数理モデル化されている。また、1990 年代のヒトゲノムプロジェクトの高まりもあり、医学、薬学などの生物学をはじめ、物理、化学、情報学など多くの異分野の研究者が相互に連携を深めつつある。

今後のシステム生物学の展開を想像することは困難ではあるが、研究の方向性を考える一助として、あえて想像すると、図 16 になる。創薬の視点からは、2020 年代の「細胞／組織の数理モデルを用いて、治療方針や薬剤の効果予測が行えるようになる」が当面の研究ターゲットと考えている。よりコンパクトな代謝系やシグナル伝達系を対象にした研究では、先にも述べた多くの研究例が出てきている。それらの研究を新しい治療法の開発、新しい薬の開発に結び付けていくためには、公的な研究機関における基礎研究者、そして製薬企業の研究開発担当者との広い連携が必要となる。創薬の研究開発の過程（補論 1 を参照）からみても、その道のりは長いものとなるが、刺激的な研究開発分野ではある。みなさんがそれぞれの夢を持ち、「システム生物学と創薬」というこの刺激的な分野に参画されることを願っています。

<p>2000 年代 :</p> <p>1) ネットワークを基盤にした細胞知識ベース (例: KEGG の進化) が完成する。</p> <p>2) 細胞全体のシミュレーションをめざし、高速化技術が進歩する。 「1960 年代のスーパーコンピュータの機能が、今、膝の上のパソコンで実現している」</p> <p>3) 細胞知識ベースに基づく創薬ターゲットの探索と最適化が図られる。</p>
<p>2010 年代 :</p> <p>4) 分子 (DNA、タンパク質)、細胞、組織、器官を重層したシミュレーション研究が一般化する。</p> <p>5) 創薬の現場でシステム生物学が広く活用される。</p>
<p>2020 年代 :</p> <p>6) がん細胞/組織の数理モデルを用いて、治療方針や抗癌剤の効果予測を行えるようになる。 「がんはがん細胞の問題ではなく、正常細胞も含めた組織の問題である」</p> <p>7) 細胞の発生と分化を制御するための数理モデルが開発される。</p>
<p>2030 年代 :</p> <p>8) ヒト細胞が完全にシミュレートでき、コンピュータに基づく研究が主力になる。 「情報だけで組み立てられた薬学があってもいいのではないか (お茶の席でのある薬学の名誉教授の発言)」</p> <p>9) 生体高分子、細胞に計算機能を付与し、診断、治療への応用が進む。(薬概念の拡大) 「大腸菌を利用したファージの複製過程をみると、複雑だけど、結局は “copy” という計算をしているんだよね」</p>

図 16 システム生物学の将来

2000 年代は、既存のデータベースの拡充とその応用研究が進む。計算機の高速化技術はソフト面よりもハード面での進歩が大きいと考えられる。2010 年代は時間的、空間的にマルチスケールのシミュレーション研究が進行する。細胞内も同様で、核、細胞質ゾルと個々の細胞小器官とのマルチスケール化は必要となろう。2020 年代には、その成果の新薬の創製や治療法の開発への応用が進む。2030 年代には現在の薬の概念が拡大し、「あらかじめプログラムされた計算」を実行する分子や細胞が治療に適用される。

文献と注：

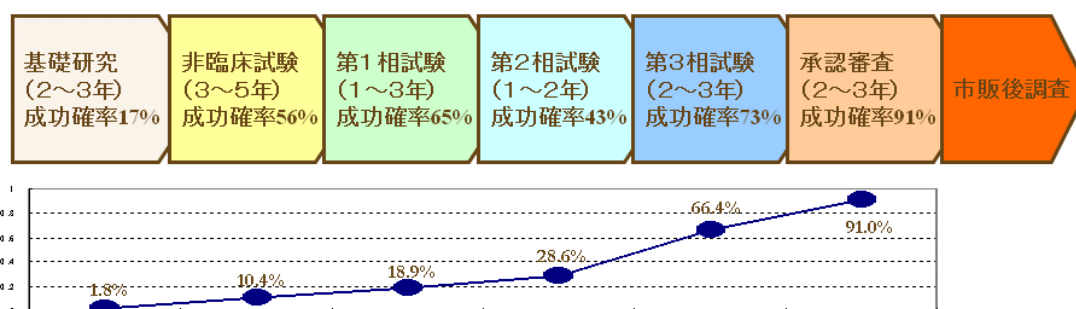
- 1) 本小論は 2008 年 11 月 25 日に京都大学で行った「平成 20 年度薬学研究科 バイオインフォマティクス概論／創薬標的探索理論」、また 12 月 4 日に東京大学で行った「先端ゲノム医科学特論 I」の一環として行った講義「システム生物学と創薬」を基に文章化したものである。図表は講義に用いたものを一部修正している。
- 2) US Gov. Accountability Office (2006) “New Drug Development: Science, Business, Regulatory, and Intellectual Property Issues Cited as Hampering Drug Development Efforts”
- 3) Hughes,B.(2008) 2007 FDA drug approvals, *Nat.Rev.Drug Discov.*, **7**, 107
- 4) Overington,J.P. et al.(2006) How many drug targets are there?, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 993
- 5) Drews, J (2000) Drug Discovery: A Historical perspective, *Science*, **287**, pp1960-196
- 6) Hopkins, A.L. et al.(2002) The druggable genome, *Nat Rev Drug Discovery* **1**, 727
- 7) Russ, A.P. et al.(2005) The druggable genome: an update, *DDT*, **10**, 160
- 8) The Cancer Genome Atlas Research Network(2008) Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways, *Nature*, **455**, 1061
- 9) Schuster D, et al.(2005) Why drugs fail--a study on side effects in new chemical entities.*Curr Pharm Des.* **11**:3545-59.
- 10) Jones,D.(2008) All systems go, *Nat.Rev.Drug Discov.*, **7**, 278
- 11) D.Hanahan & R.A.Weinberg (2000) The hallmarks of cancer,*Cell*, **100**, 57
- 12) 江口至洋(2008) 細胞のシステム生物学、共立出版
- 13) <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/>
- 14) <http://www.genome.jp/kegg/drug/>
- 15) <http://www.drugbank.ca/>
- 16) <http://matador.embl.de/>
- 17) <http://www.pharmgkb.org/>
- 18) Rajasethupathy,P. et al.(2005) *Curr.Opin.Chem.Biol.*, **9**, 400
- 19) Scholich, K. et al. (2006) Is mPGES-1 a promising target for pain therapy?., *Trends. Pharmacol. Sci.*, **27**, 399
- 20) Yang,K. et al.(2007) Dynamic simulations on the arachidonic acid metabolic network, *PLoS Comput. Biol.*, **3**, 3
- 21) Duarte,N.C., et al.(2007) Global reconstruction of the human metabolic network based on genomic and bibliomic data, *Proc.Natl.Acad.Sci.*, **104**, 1777
- 22) Ma,H. et al.(2008) Human metabolic network reconstruction and its impact on drug discovery and development, *Drug Discov.Today*, **13**, 402

- 23) Jeong,H. et al.(2000)The large-scale organization of metabolic network, *Nature*, **407**, 651
- 24) Barabasi,A.-L., Oltvai,Z.N.(2004)Network Biology: Understanding the Cell's Functional Organization, *Nature Rev.Genet.*, **5**, 101
- 25) Basso,K. et al.(2005) Reverse engineering of regulatory networks in human B cells, *Nat.Genet.*, **37**, 382
- 26) Calvano, S.E. et al.(2005) A network-based analysis of systemic inflammation in humans, *Nature*, **437**, 1032
- 27) Chen, B. S. et al.(2008) A systems biology approach to construct the gene regulatory network of systemic inflammation via microarray and databases mining, *BMC Med. Genomics*, **1**:46.
- 28) <http://www.ebi.ac.uk/biomodels-main/static-pages.do?page=home>
- 29) Sung, M.H., Simon R.(2004) In silico simulation of inhibitor drug effects on nuclear factor-kappaB pathway dynamics, *Mol Pharmacol.* **66**, 70
- 30) Chassagnole,C. et al.(2006) Using mammalian cell cycle simulation to interpret differential kinase inhibition in anti-tumour pharmaceutical development, *BuiSystems*, **83**, 91
- 31) Mulquiney,P.J. et al.(1999) Model of 2,3-bisphosphoglycerate metabolism in the human erythrocyte based on detailed enzyme kinetic equations, *Biochem.J.*, **342**, 597
- 32) de Atauri,P. et al.(2006) Metabolic homeostasis in the human erythrocyte: In silico analysis, *Biosystems*, **83**, 118
- 33) Araujo,R.P. et al.(2007) Proteins, drug targets and the mechanisms they control: the simple truth about complex networks, *Nat.Rev.Drug Disc.*, **6**, 871
- 34) Stelling,J. et al.(2004) Robustness of cellular functions, *Cell*, **118**, 675
- 35) Bakker, B. M. et al. (2000) Metabolic control analysis of glycolysis in trypanosomes as an approach to improve selectivity and effectiveness of drugs, *Mol.Biochem.Parasitol.*, **106**, 1
- 36) Yamada,S. et al.(2003) Control mechanism of JAK/STAT signal transduction pathway, *FEBS L.*, **534**, 190
- 37) Zi,Z. et al.(2005) In silico identification of the key components and steps in IFN- γ induced JAK-STAT signaling pathway, *FEBS L.*, **579**, 1101
- 38) Cakir, T. et al. (2007) Reconstruction and flux analysis of coupling between metabolic pathways of astrocytes and neurons: application to cerebral hypoxia, *Theor. Biol. Med. Modelling*, **4**: 48
- 39) Munger,J. et al.(2008) Systems-level metabolic flux profiling identifies fatty acid synthesis as a target for antiviral therapy, *Nature Biotech.*, **26**, 1179

- 40) Klamt,S. et al.(2003) Two approaches for metabolic pathway analysis?, Trends Biotechnol., **21**, 64
- 41) Papin,J.A. et al.(2004) Comparison of network-based pathway analysis methods, Trends Biotechnol., **22**, 195
- 42) Schuster,S. et al.(2005) Adenine and adenosine salvage pathways in erythrocytes and the role of S-adenosylhomocysteine hydrolase, FEBS J., **272**, 5278
- 43) Cakir,T. et al.(2004) Metabolic pathway analysis of enzyme-deficient human red blood cells, BioSystems, **78**, 49

補論 1 創薬の研究開発の流れ

新薬を生み出す過程は多様でかつ複雑な流れを形成するが、典型的な流れは補図 1-1 のように整理される。基礎研究はターゲット探索から新薬の候補化合物の創製までを含んでいる。基礎研究の成果を踏まえ、動物を対象にした非臨床試験がなされる。非臨床試験で行うべき内容は GLP (Good Laboratory Practice) として規定されている。第 1 相試験から第 3 相試験は臨床試験あるいは治験といわれ、GCP (Good Clinical Practice) に厳格に準拠して行われる。その結果は NDA (New Drug Application) として厚生労働省/ 医薬品医療機器総合機構に提出され、承認審査を受ける。承認された薬は市販後も臨床現場での有効性、安全性の確認や適正使用に関する調査が継続的になされる。Bristol-Myers Squibb 社 T.Herpin 氏によると個々の過程の成功確率は補図 1-1 のようになり、基礎研究に入ってから以降、承認されるまでの全体の成功確率は 1.8% と極めて低い。基礎研究開始から承認を受けるまでの期間は、中央値で 15 年となる。これら成功確率の向上と研究開発期間の短縮は製薬企業における緊要の課題となっている。



補図 1-1 創薬の研究開発の流れとその成功確率

2005年10月18日、Bristol-Myers Squibb 社 T.Herpin 氏のボストンでの講演資料などをもとに作成した。基礎研究の範囲は広いがここでは製薬企業内での目的志向プロジェクト研究を指している。ここに示す成功確率は適応症によっても異なり、例えば抗ガン剤の第 3 相試験の成功確率は 40~50% であるとの意見もある。なお、それぞれの過程での期間は、安全性重視の視点から、長期化しつつあるとの意見もみられる。

基礎研究開始から新薬として承認を得るまでの期間は個々の薬に応じて多様であるが、例としてコレステロール低下剤であるスタチン（適応症：冠動脈疾患）にみると、遠藤らがコレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素をターゲットに阻害剤の開発を開始したのは 1971 年のこととされる（遠藤章「新薬スタチンの発見」岩波書店（2006））。その後、紅麹菌を用いたスクリーニングにより HMG-CoA 還元酵素阻害剤モナコリンを発見し、論文発表したのが 1979 年である。国際的な特許戦略の問題もあるが遠藤らのグループではなく Merck 社が最初のスタチンとして FDA の承認を 1987 年に受けている。遠藤らの研究開始から 16 年後のことである。また、抗炎症薬についてみると、1991 年に COX-1 のアイソザイムとして COX-2 が発見され、その後 COX-2 選択的阻害薬開発の契機となる

COX 理論が J.Vane により唱えられ、最初の COX-2 選択的阻害薬が FDA において承認されたのは 1998 年のことである。COX-2 の発見以降、7 年後のことである。この研究開発間は極めて短い。

補論2 数理モデルにおける粗視化

研究目的に沿った研究対象の粗視化は常になされている研究方法である。

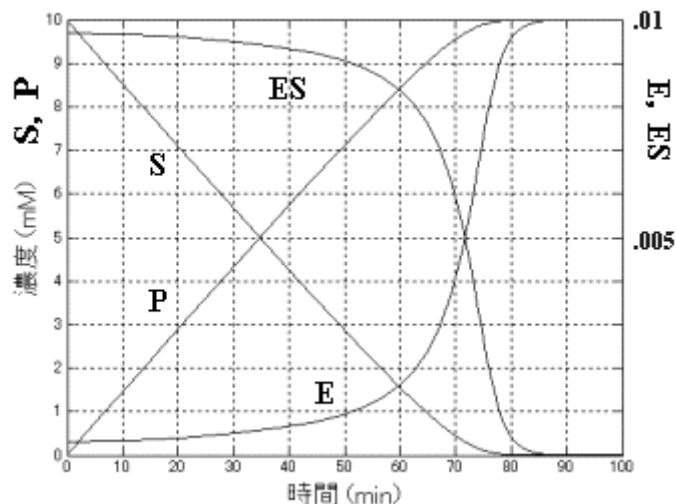
酵素反応機構においても同様である。Michaelis-Menten 機構に基づく酵素反応は、酵素基質複合体 ES を軸に



と記述される。個々の反応過程を素過程とし、この反応機構を数理モデル化すると、

$$\begin{aligned}
 d[S]/dt &= -k_1[S][E] + k_2[ES] \\
 d[E]/dt &= -k_1[S][E] + k_2[ES] + k_3[ES] \\
 d[ES]/dt &= k_1[S][E] - k_2[ES] - k_3[ES] \\
 d[P]/dt &= k_3[ES]
 \end{aligned}
 \tag{2-2}$$

となる。この数理モデルにより Michaelis-Menten 機構に現れる全ての分子種の時間経過 (タイムコース) が得られる。その一例を補図 2-1 に示す。



補図 2-1 酵素反応の時間経過

数理モデル (2-2) は系を閉鎖系としている。この図の速度定数は $k_1=1,050\text{mM}^{-1}\text{min}^{-1}$ 、 $k_2=300\text{min}^{-1}$ 、 $k_3=15\text{min}^{-1}$ 、基質と酵素の初期濃度は $S_0=10\text{mM}$ 、 $E_0=0.01\text{mM}$ とした。試験管内実験でよくなされる基質大過剰の条件で、時間経過を計算している。

補図 2-1 では全ての分子種の時間経過が描かれているが、研究目的が基質 S や生成物 P の時間経過にのみあれば、複合体濃度 ES の定常状態近似を採用した Michaelis-Menten 式

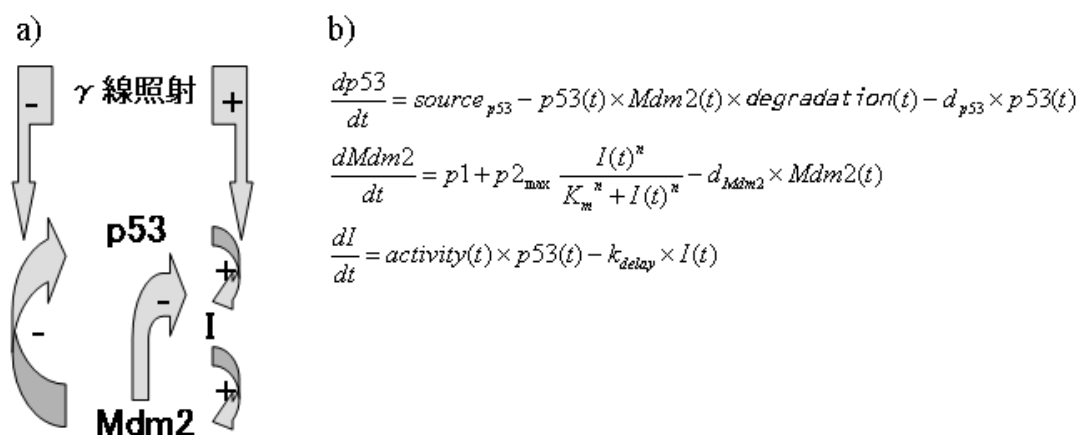
$$\frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}
 \tag{2-3}$$

但し $V_{\max} = k_3E_T$, $K_m = (k_2+k_3)/k_1$, $E_T = [E] + [ES]$

が数理モデルとして採用される。この式には基質 S と生成物 P のみが陽に現れ、式 (2-1) の Michaelis-Menten 機構は $S \rightarrow P$ と粗視化されている。ただ、Michaelis-Menten 式は粗視化した反応機構 $S \rightarrow P$ から直線的に

$$\frac{d[P]}{dt} = k[S] \quad (2-4)$$

と数理モデルまでも極端には粗視化していない。基質 S から生成物 P が生成される酵素反応を式 (2-2) と数理モデル化するか、式 (2-3) と数理モデル化するか、あるいは式 (2-4) と数理モデル化するかは、研究対象と研究目的に沿って決定される。(なお、モデルの検証段階、すなわち図 5 の「予測と操作性の獲得」においてこれら数理モデルが失敗した場合は、例えば反応を不可逆反応と仮定したことが誤りであった場合には、概念モデルも $S+E \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E+P$ などに修正され、数理モデルもそれに沿って修正されることになる。) 反応ネットワークのモデル化にあたっては粗視化はなされる。例えば、p53/MDM2 シグナル伝達系は多くの分子種が関与し、個々の反応過程は多くの反応中間体を經由し、かつ DNA 損傷シグナルにより p53 や MDM2 は細胞質と核内を相互移行 (shuttling) し、振動現象を示す¹²⁾。詳細なモデル化が必要な場合には反応中間体を含む多くの分子種を細胞質と核ごとに整理し、概念モデルと数理モデルが作成されるが、研究目的が振動現象をもたらす機構の大枠の解明にあれば、Lev Bar-Or らの研究に従い概念モデルと数理モデルを補図 2-2 のように粗視化する¹²⁾。このモデルは、p53/MDM2 の振動現象をもたらす機構は負のフィードバックループ ($p53 \rightarrow Mdm2 \rightarrow p53$) にあるとしている。



補図 2-2 p53/Mdm2 ネットワークの Lev Bar-Or モデル

原出典： Lev Bar-Or, R. et al. (2000) Generation of oscillations by the p53-Mdm2 feedback loop: A theoretical and experimental study, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **97**, 11250

最近の文献： Bottani, S. et al. (2007) Analysis of a minimal model for p53 oscillations, J. Theor. Biol., **249**,