

戦略的創造研究推進事業
発展研究（SORST）

研究終了報告書

研究課題
「システムバイオロジーの基礎的研究」

研究期間：平成 15 年 10 月 1 日～
平成 20 年 11 月 30 日

北野 宏明
(特定非営利活動法人
システム・バイオロジー研究機構
会長)

1. 研究課題名

「システムバイオロジーの基礎的研究」

2. 研究実施の概要

生物の持つロバストネス(robustness)を中核的なコンセプトとし、基礎理論から疾病治療までを一貫した体系として構築することを研究の基本的戦略とする。その中で、理論構築、情報インフラ整備、個別対象の研究の三方面での研究を同時に推進する。プロジェクトの目標は、ロバストネスの概念に基づく創薬・治療戦略のありかたを提案し、それに必要な基本技術・ノウハウや関連する知見を蓄積することにより、終了段階では、次への展開として、実際の創薬へと展開する製薬企業などとの具体的な共同研究が踏み出せることを目指した。

理論研究は、生物の持つ頑健性（ロバストネス）に関する理論的枠組みを提示(Kitano, H., Biological robustness, Nature Reviews Genetics, Nov. 2004)、この基本概念に基づいて癌や糖尿病、自己免疫疾患のロバストネスの理論を提示。これは、Kitano, H., Cancer Robustness, Nature, Nov. 2003 や Kitano, H., Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy, Nature Reviews Cancer, March 2004, Kitano, et al., Metabolic Syndrome and Robustness Tradeoffs, Diabetes, Dec. 2004, Kitano, H. and Oda, K.; Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system, Molecular Systems Biology, Jan 2006 において発表された。また、大きな進化的な変化を及ぼし、ロバストネスを強化する機構として、自己拡張共生(Self-Extending Symbiosis)の概念を提唱し、Biological Theory 誌に掲載された (Kitano, H. and Oda, K., Self-Extending Symbiosis: A Mechanism for Increasing Robustness Through Evolution, Biological Theory, 2006)。また、これらの知見をどのように創薬に結び付けていくかに関する理論的枠組みを検討し、多剤混合かつ細胞のダイナミクスを利用するアプローチを提案した。これは、Kitano, H., A robustness-based approach to systems-oriented drug design, Nature Reviews Drug Discovery, March 2007 に発表された。

さらにこの概念を展開し、ロバストネスの数理的基礎に関する検討を行い、この最初の成果は、Towards a theory of biological robustness, Molecular Systems Biology, Sept. 2007 として発表され、同誌の 10 月の最も多くダウンロードされた論文となった。ここでは、ロバストネスの数理的定式化、トレードオフを表現する式など、一連の定式化を行った。現在、これらの概念体系をより精緻化する研究をおこなっており、ロバストネス・トレードオフとポートフォリオ理論やゲーム理論と融合することを進めている。

ソフトウェアの基盤整備に関しては、システムバイオロジーの為の一連のソフトウェア基盤の構築を行った。モデル表現の基盤として、Systems Biology Mark-up Language (SBML)、Systems Biology Graphical Notation (SBGN)や Systems Biology Workbench (SBW)などの開発、普及を推進している。この結果、機械可読モデル表現言語である SBML は、この分野の事実上の国際標準となっている。さらにネットワークの標準記法の開発と推進も行っている。さらに分子間ネットワークのグラフィカルな表記の標準として SBGN を提唱した。これも、国際的なチームを編成し、2008 年 8 月、Level-1 の国際標準仕様書をリリースした。また、これらの標準に準拠した CellDesigner 4.0 を、2008 年 8 月にリリースした。この結果、SBML と SBGN という国際標準を実現し、それに準拠する CellDesigner はこの分野での定番ソフトウェアとなった。現在、CellDesigner は、一万以上のアクティブ・ユーザを抱えており、この分野になくはないソフトウェアとなっているなど、情報基盤開発は非常に順調かつ効果的に実行することができた。さらにこれらの基盤ソフトウェアを利用して大規模分子間相互作用マップの開発を行った。たとえば、EGFR シグナル伝達系と Toll-Like Receptor に関しては、大規模 MAP が完成し、Molecular

Systems Biology 誌に発表された (Oda, K.; Matsuoka, Y.; Funahashi, A.; Kitano, H. A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling. Molecular Systems Biology. msb4100014, E1-E17, 2005; Oda, K. and Kitano, H., A comprehensive map of the toll-like receptor signaling network, Molecular Systems Biology, Apr. 2006)。特に、癌のシグナル伝達系の研究として、EGFR シグナル伝達系などの網羅的マップを開発し、それを利用してドラッグの効果予測と副作用予測を行う計算モデルの開発を行った。これらの研究の成果は、創薬に直接的に応用が可能であり、実際、製薬会社との共同研究に発展している。

実験系の研究としては、ロバストネスの解析が可能な実験系の構築に集中した。本研究が開始された後に、守屋研究員によって、遺伝子の過剰発現に対する細胞のロバストネスの定量測定を可能とする実験手法 (genetic Tug-Of-War: gTOW) が考案された。この手法によってロバストネスの理論を実験的に検証し、創薬などへ応用する可能性が大きく開けてきた。この手法の有用性を検証する為に、出芽酵母の細胞周期に応用した成果を PLoS Genetics 誌に発表した (Moriya, H., Shimizu-Yoshida, Y., Kitano, H., In Vivo Robustness Analysis of Cell Division Cycle Genes in *Saccharomyces cerevisiae*, July 2006)。ここでは、細胞周期に関係する遺伝子 30 個に対する過剰発現の上限値を測定し、その傾向さらには既存の計算機モデルとの違いなどが詳細に検討された。さらに gTOW 系を中心とした酵母ベースのドラッグターゲット同定システムを開発することを今後の展開として想定しており、そのために、gTOW を出芽酵母に対してのゲノムワイド化を実現した。この gTOW-6000 コレクションは、出芽酵母の 6000 ORF に対して gTOW を構築したものであり、ゲノムワイドに発現上限の定量測定が可能となる。このシステムは、従来から存在する遺伝子欠損株のゲノムワイドコレクションやハプロ欠損株などと組み合わせることで、効率的なドラッグ・スクリーニングやドラッグターゲットの同定システムとして利用が可能と考えている。実際、製薬企業に対して、この系に関するライセンス供与を行うとともに共同研究を実施する展開となっている。

3. 研究構想

研究開始時の構想、計画に関しては、正確を期すため申請書より以下に青字で引用する。

本研究の構想：

“システムバイオロジー領域においては、一連の探索研究の成果を統合し、ソフトウェア基盤 SBW/SBML の産業水準への強化・事業化、細胞レベルにおけるシステム理論を理論と実験の密なる連携で確立し (酵母・癌細胞での実験・理論研究を発展させる)、より医療に近いターゲットとして癌細胞のシステム理解へと結びつける。これにより、ゲノム情報に加えて、遺伝子制御ネットワークの動態も加えたシステムバイオロジー創薬と呼べる分野への道筋がつけられることを期待する。従来は CALTECH に設置していた実験設備を、国内に設置し (酵母は現拠点内、癌細胞は慶応大学理工学部内：すでに試験的に運用し、実験を開始している)、実験と理論の融合を推し進める。我々の強みは、ソフトウェア基盤開発と理論にドライブされた実験と解析の融合であり、すでに Nature(2002, 420(6912):206-10)で議論したアプローチに基づいて、細胞のロバストネス、制御理論、不安定性の理論の確立、ネットワークのデザイン・パターンの抽出とその実験的実証を、すでに実験系が立ち上がっている酵母と癌細胞、並びに、現在行っている、Anita Aperia 教授 (カロリンスカ研究所)、AfCS (Alliance for Cellular Signaling:代表 Al Gilman Texas South Western Medical School 教授) との共同研究を通じて行う。これらの理論と実証結果を、システムバイオロジー創薬などに応用する道筋をつける。これらの成果は、製薬企業へのライセンスリング、スピンアウト・ベンチャーの設立などの形態で産業化をする。”

このうち、研究実施期間内での変更は以下の通り：

- (1) 実験実施場所は、当初、慶應義塾大学理工学部内であったものを、発足時に同大学医学部リサーチパーク内に移転。さらに、2006年4月財団法人癌研究会癌研究所に移転。
- (2) Anita Aperia 教授およびスウェーデン側で数理解析を行う Brismar 教授との共同研究は、スウェーデン側からのポストドクを受け入れ実施し、論文を発表した段階で完了 (Kowalewski JM, Uhlen P, Kitano H, Brismar H. “Modeling the impact of store operated Ca^{2+} entry on intracellular Ca^{2+} oscillations” Math. Biosci. 2006; 204(2):232)。
- (3) Alliance for Cellular Signaling (AfCS) との共同研究は、AfCS 側の大幅な計画変更により、AfCS のデータを利用しシグナル伝達系の Bow-tie 型ネットワークの機能に関する仮説の実証を行う研究へと修正。
- (4) 期間中に、Genetic Tug-of-War (gTOW) 法などの有望な新手法の開発があり、後半は、実験系をこの手法中心のプロジェクトに全面的に組み替えた。これは、中間評価会で表明した上で実施。

実施計画概要：

システムバイオロジー分野においては、ERATO プロジェクトで生み出された個別研究成果を統合的に発展させ、二つの目標を成し遂げようとする。まず、システムレベルでの生命理解の根幹をなす強力な理論体系の構築である。その発想の一部は Nature の特集号 (論文 2) でも議論している。また、この理論的研究と密接に連携を取りながら、既に網羅的精密測定が可能である酵母実験系による検証と、社会的にインパクトのある基幹的応用ターゲットとして「癌のシステムバイオロジー」を掲げる。これらの研究を利用して、どのように創薬や治療方法の開発へとつなげるかの道筋をつける。さらに、研究方法論を広範に普及させるために、SBW/SBML ソフトウェアを実用レベルまでに練り上げ、事業化を検討する。

これらの考えを踏まえ、理論研究、ソフトウェア・プラットフォーム構築、実験の三つのユニットに研究を再編・集約し、相互に連携して、目標を迫及する。

理論ユニット(TU)

今までの理論研究を基礎に、より本質的な理論の研究を行う。システムの構成要素となる機能回路の体系化として、周期的挙動 (細胞周期、概日周期、 Ca^{2+} 振動)、環境適応 (化学走性、ロドプシン光応答系など)、多安定スイッチ (MAPK カスケードなど) という基本ダイナミクスを実現する機能的回路の基本パターンを抽出するとともに、各回路の挙動解析と基本原理の同定を行う。究極的には、遺伝子制御と生化学反応からなるネットワークの機能回路パターンについての理論的体系化を推し進める。さらに、機能回路に関する理論解析を行う。例えば、多くの細胞機能が環境などに対する最適化をフィードバック制御などの機構で実現しているが、現在の工学系の制御理論では、追従すべき最適値・最適状態が設計者により明示的に与えられており、これらが内在的でありかつ動的・創発的に変化するシステムは記述することができない。工学的な制御理論を拡張して、さらに最適状態が環境や進化によって動的に変動する状態を理論化、導入し、これを記述することのできる生物学的制御理論体系を構築する。これらの理論研究の基礎データ収集・実証実験には、主に酵母を用いる。また、カロリンスカ研究所、AfCS との共同研究も、この枠組みで行う。

また、これらの理論の応用として、癌細胞のシステムの状態の解析を行う。この研究が将来にわたって進展すれば、癌細胞特性の制御方法が明らかになると期待される。

理論研究は、長期的な研究であり、現在も進行中である。この期間内では、Biological Robustness (Kitano, Nature Reviews Genetics, 2004; Kitano, Molecular Systems Biology, 2007)、Self-extending symbiosis (Kitano and Oda, Biological Theory, 2005)、な

どの基礎的考察とともに、疾病のメカニズムのロバストネスからの考察 (Kitano, H., Cancer Robustness, Nature, Nov. 2003 や Kitano, H., Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy, Nature Reviews Cancer, March 2004, Kitano, et al., Metabolic Syndrome and Robustness Tradeoffs, Diabetes, Dec. 2004, Kitano, H. and Oda, K.; Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system, Molecular Systems Biology, Jan 2006) や創薬へのロバストネス概念の応用などを考察した一連の論文を発表した。さらに創薬への応用(Kitano, Nature Reviews Drug Discovery, 2007) や共生系への概念の拡張(Kitano and Oda, Biological Theory, 2005)を行うなど一連の研究を展開した。

シグナル伝達系に関する Bow-tie 構造についての考察においては、ソフトウェア・プラットフォーム構築ユニットの EGFR と TLR に関する大規模 MAP の開発によって、その構造の存在が明らかになった。また、その Bow-tie 構造の機能に関する仮説を提唱し、それは AfCS のデータを利用して実証されつつある(Poloukohl, et al., PLoS One, in revision)。さらに、酵母を利用した研究については、実験のセクションで触れる。

ソフトウェア・プラットフォーム構築ユニット(SPU)

ERATO プロジェクトにおいて現在開発が進んでいる SBW/SBML を継続的に発展させ、さらに新たに染色体動態などの物理シミュレーション技法なども導入したソフトウェア・プラットフォームを構築し、正式標準化および事業化することを目標とする。

- ① 標準化の推進: SBW/SBML をシステムバイオロジー研究におけるソフトウェアのデファクト標準・規格として確立する。SBML は、我々のチームを中心に形成されたコンソーシアムが、基本モデルの記述方法の定義を目指している。今後、実用レベルで必要な情報の多くの部分を正式な標準化定義部分に盛り込んでいく。また、国際標準化団体 (OMG, W3C) への提案も同時に行う。
- ② 適用事例: 中心的課題である癌のシステムレベルでの研究を行う上で必要な、統合シミュレーション・解析環境を開発する。これには、従来までのシミュレーション、解析ツール群に加え、ゲノム情報、プロテオーム情報も統合的に利用できる環境とする。最終的には、このシステムだけで統合的な解析を一通り行える実用システムとする。
- ③ システム開発: 生化学反応のみならず、細胞内の物理的・空間的要因を記述、解析できるシミュレーション技術の研究開発を行い、SBW のモジュールとして提供する。また、システムの大規模化、高速化の要望にあわせ、グリッドコンピューティングなどの技術を利用した SBW の分散アーキテクチャの開発を行う。
- ④ 普及活動、事業展開: モデル化と解析を統合的に行えるソフトウェアをパッケージとして販売することによる事業展開を目指し、さらにそれを用いて企業や大学との共同研究を推進できる体制を整える。また、マニュアルなどの関連書籍の出版、セミナーの開催などにより、SBW/SBML の普及活動を行う。

SPU ユニットの内容への更新点は以下の通り。

- (1) SBML に関しては順調に推移し、デファクト国際標準となった
- (2) 人間可読のモデル記述標準として Systems Biology Graphical Notation (SBGN) の開発と標準化に着手し、その標準仕様第一版を 2008 年 8 月にリリースした。
- (3) 生物モデル記述のソフトウェア・プラットフォームとして CellDesigner を開発し、第 4 版までをリリース。現在、世界中に数千ユーザを擁する、この分野での定番ソフトウェアへと成長している。
- (4) SBW に関しては、ERATO メンバーで新たに PI ポジションを取得した Herbert Sauro が、このソフトウェアに関する研究を継続したいということで、Sauro 研に移管した。
- (5) 当初、シミュレーション・モジュールも独自開発する予定であったが、これは、Pedro Mendes と Ursula Kummer 等の開発する COPASI シミュレーションエンジン (<http://www.copasi.org>) と連携することがより効果的と判断し、CellDesigner の関連の開発により特化することに決定。現在、CellDesigner と COPASI はきわめて密に連携動作している。

実験ユニット

上述した理論の精密な検証を目的として、酵母を利用して、さらに網羅的な蛍光タンパク質の導入と FRET ペアの構築などを進め、細胞内の一連のプロセスを定量的に測定し、細胞内局在の時間変化、反応局在位置の特定、各種定数の決定を行い、それに基づいて理論解析を行うことを可能にする。さらに、多焦点面を設定できる共焦点顕微鏡などを導入し、局在の 3 次元パターンと時間変化、反応の局在部位などを計測する。

癌のシステムバイオロジーについては、癌細胞モデルを作成して根本的な癌化のメカニズムを解析すると共に、癌細胞株からの網羅的発現データを利用し、「システムバイオロジー創薬」の手法の確立を目指した基盤作りを目的とする。我々は、癌細胞特性の出現を、還元論的に組み立てられた生物実験とその結果の再構築のみでは仕組みを解析することのできない、複数の原因が共同で起こす現象であり、システムバイオロジーの立場に立った、モデル構築とシミュレーションによる解析が特に有効な解析手段になると考えている。研究の着手点として、癌細胞の悪性度を左右する足場非依存的増殖能にかかわる機構をシステムレベルで理解し、その知識を基に、癌細胞の持つ特性を人為的に的確に制御・操作する方法の構築を目指す。モデルの研究は、癌に共通して見られる異常を対象とすることにより、疾患としての癌の治療を目的とした実用的な意味のほかに、細胞の生命としてのシステムを解明する糸口としての基礎研究的な意味を持つ。これを、様々な癌の種類ごとの特性を抽出していく作業と、具体的な悪性度の高い癌の例に取り組む作業の 2 方向に応用することを考え、以下の研究に取り掛かっており、発展事業でさらに強化する。

- (1) 癌細胞モデルの構築：すでに足場刺激と増殖因子刺激のシグナル、細胞増殖機構、代謝経路などを組み込んだ細胞のモデルを構築中である。具体的な試行対象としては、癌細胞内の細胞膜近傍で起きる過剰なチロシンリン酸化の集積がシグナル伝達機構に及ぼす影響を、調べている。また、それらのシグナル伝達系の最終的なターゲットの一つとして、足場非依存的増殖制御機構について解析中である。実験には動物及びヒトの培養細胞系を用い（系は既に立ち上げ済み）、生物実験とシミュレーション、理論解析を一体となつて行う計画となつている。今後、癌細胞のその他の主要な特徴についても研究を拡張していく考えである。
- (2) 網羅的発現データとモデルの統合による細胞制御法の開発：上記のように構築した癌細胞モデルに対し、癌の種類ごとの遺伝子発現プロファイルを利用して、個別の癌に対する適切な薬効ターゲットを特定する方法を構築する。この方法により、従来のクラスタリングのみによる解析では見落とされてきた、細胞内の具体的なシグナル制御の変化が明確になり、理論的な薬効ターゲットの同定が可能になると考える。また、遺伝的・生化学的プロファイルに基づいて細胞の状態を同定し、複数の薬剤を系統的に投与して細胞を適切な状態へ誘導する、理論的基盤と基礎的実験検証を行う。
- (3) グリオ・ブラストーマ治療法の研究：上記①②のアプローチの具体的な応用として、最も悪性度の高い脳腫瘍であるグリオ・ブラストーマの治療法を研究する。この研究は、佐賀医大の田淵和雄教授、白石哲也講師との共同研究を開始しており、佐賀医大脳神経外科で蓄積されている 700 件以上の臨床データ等に当該機関の承認を得てアクセスする。その他の癌に関しても、適宜、臨床パートナーと共同で研究を行う予定である。

実験ユニットの内容は、大幅に変更された。変更点は以下の通り。

- (1) gTOW 法の開発：実験系に関して最大の出来事は、守屋研究員による gTOW 法の開発であり、この手法を徹底的に追求することを決定。これに伴い、プロジェクト中盤以降、それ以外の実験は順次中止し、gTOW 法関連にリソースを集中投下した。この手法は、細胞の遺伝子過剰発現に対するロバストネスの上限を定量的に測定することが可能な手法であり、理論と実験の連動が可能となる実験系が実現したことになる。
- (2) グリオ・ブラストーマに関しては、共同研究者の白石哲也氏がソニーコンピュータサイエンス研究所（ソニー CSL）に移籍したために、当プロジェクトとしての共同研究は中止とした。

- (3) これらの変更に伴い、癌細胞関連の実験は中止し、EGFR シグナル系を中心に、当プロジェクトでは計算モデルと解析に集中することとした。

当プロジェクトは、中間段階で、実験系を中心に大きな再編を行った。ソフトウェア関連は、当初より一貫し予定通り実行したが、実験系に関しては、gTOW 法の開発などを契機に大幅にその計画を見直し、後半は、実験系に関しては gTOW 法に集中し、ロバストネスに関する理論研究やソフトウェア開発などとの融合を加速した。

また、前半では、図 1 にあるように、システムバイオロジーとその情報基盤、実験基盤、理論基盤に関して広範な研究とそれに関する論文の出版を行った。中間段階でのアセスメントの結果、図 2 にあるようにテーマを再編し後半のプロジェクトを遂行した。この結果、プロジェクト内テーマ間の整合性が飛躍的に高まり、当初からの目標である創薬などへの技術と知見の集約へと進むことができた。これらの計画の再編は、中間評価時点で明示し、評価員の支持を得ている。

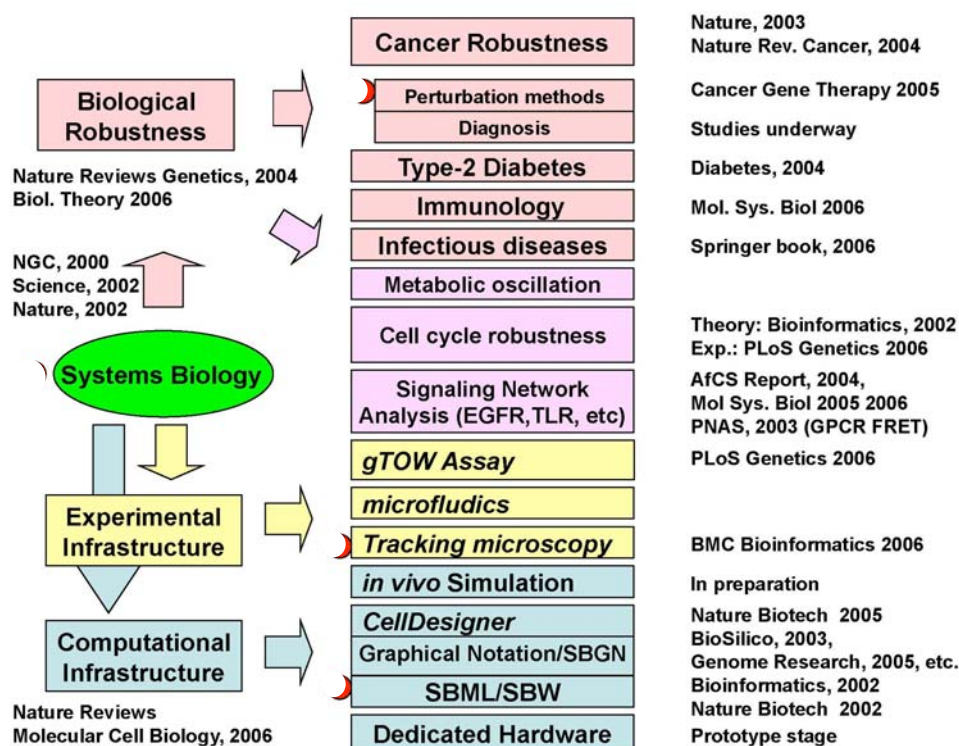


図 1 : プロジェクト前半の展開
(情報、実験、理論基盤に関して扱った研究テーマと関連論文)

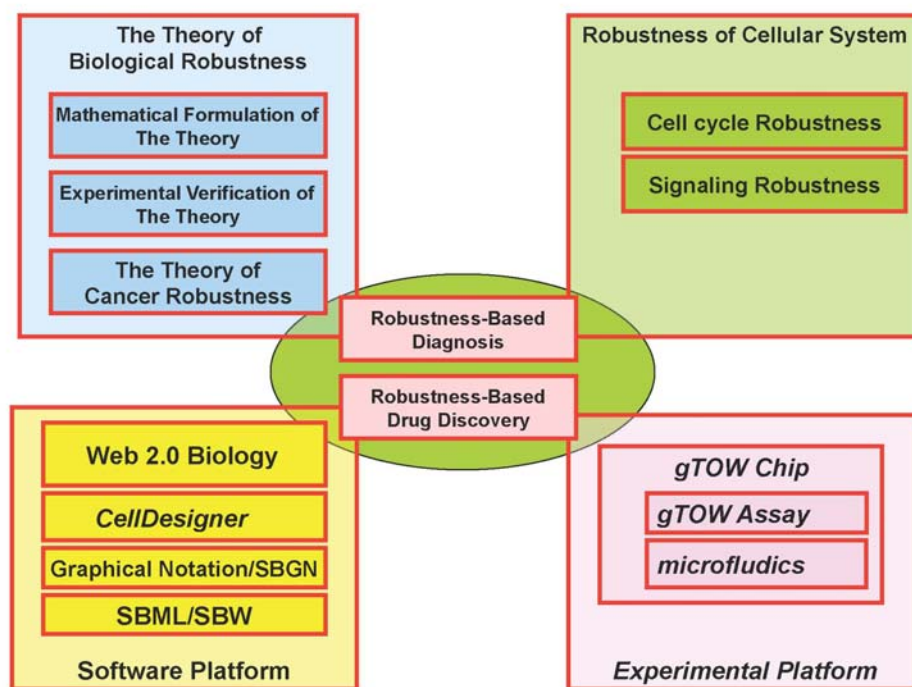


図 2 : プロジェクト再編後の構想

再編後の構想の中で、gTOW Chip に関しては、出芽酵母でのゲノムワイド化を達成した。それを踏まえ、チップ化は現在、興味を持っている企業複数と共同開発の協議中である。

4. 研究実施内容

生物の持つロバストネス(robustness)を中核的なコンセプトとし、基礎理論から疾病治療までを一貫した体系として構築することを研究の基本的戦略とする。その中で、理論構築、情報インフラ整備、個別対象の研究の三方面での研究を同時に推進する。

理論構築

生物学的ロバストネス

生物の持つロバストネスに関する理論的枠組みを提示(Kitano, H., Biological robustness, Nature Reviews Genetics, Nov. 2004)。この理論の骨子は以下の通り。環境擾乱に対するロバストネスが進化可能性を促進し、進化の過程でよりロバストな個体が選択される。この過程で、システムは特徴的なアーキテクチャが形成される。特に、大域的には、モジュール化された入れ子構造の **Bow-Tie** 構造のネットワークが出現する。また、ロバストなシステムは、予測されていない擾乱に対してはきわめて脆弱になるというトレードオフも存在する。疾病は、このようなトレードオフの表象である。

大域的ネットワーク構造(Bow-Tie 構造の存在とそのシグナル伝達系における機能)

ロバストネスと進化可能性から生物の分子間相互作用は、**Bow-tie**構造になるということが議論されている。代謝系で、このような構造になるということが報告されているが、我々は、シグナル伝達系の網羅的分子間相互作用マップの開発(情報基盤の公で触れる)から、シグナル伝達系においても **Bow-tie**構造が存在することを示した。同時に、このコアの部分には、代謝系と違い、極めて少数のノードによって構成されていることを示し、これ多様な入力刺激を細胞の刺激応答へとつなげる際の進化的に形成された一般化装置になっているのではないかという仮説を提示した。これは、フィードフォワードニューラルネットワークの学習のように、シグナル伝達系ネットワークが学習システムとして入力パターンの汎化(Generalization)と分類(Classification)を行っているという考えである(図3)。ニューラルネットワークとの違いは、これは進化的スケールで起きているということである。我々は、これを実証するために、AfCSのデータを用いて検証した。その結果、**B-cell**とマクロファージのGPCRシグナル伝達系においては、**cAMP**とカルシウムがコア分子となり、入力刺激を4から5のクラスターに分類し(B)、各々が重複はするものの、特徴的な個別の下流転写因子群の活性に関わり(C)、それが各々のクラスターに特徴的な遺伝子群の活性制御をおこなう(D)ということが確認された。これによって、**Bow-Tie**構造ネットワークの細胞における機能に一つの答えが見いだせたと考えている。この結果は、論文としては発表予定である(G-Protein Coupled Receptor Signaling Architecture of Mammalian Immune Cells, Polouliakh, Nock, Nielsen, and Kitano, PLoS One, 4(1), e4189, 2009)。

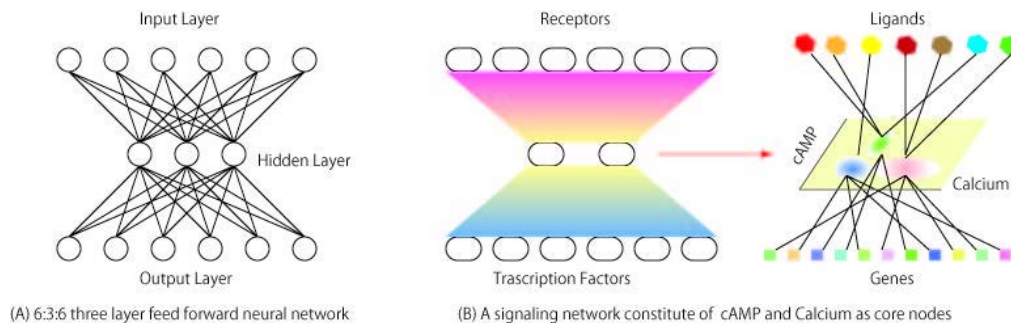


図3 : (A) Bow-Tie 構造ネットワーク

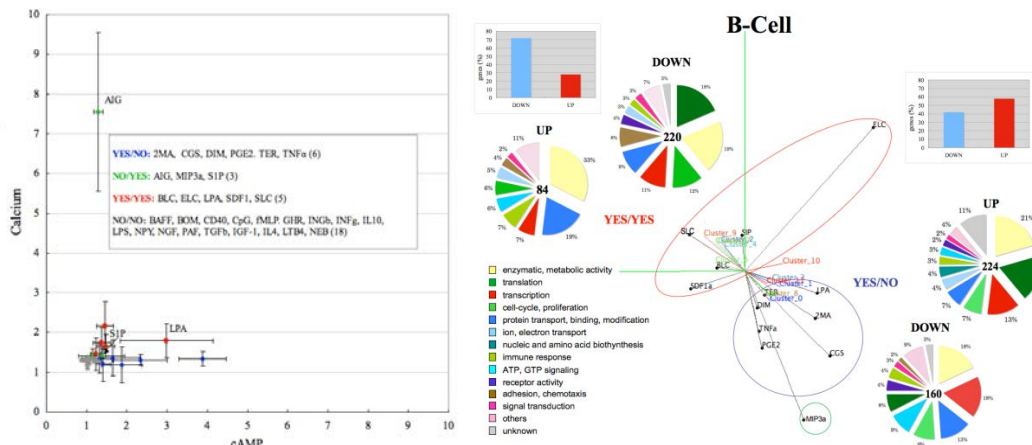


図 3 : (B) リガンド・クラスター (C) 転写因子群とリガンド・クラスター

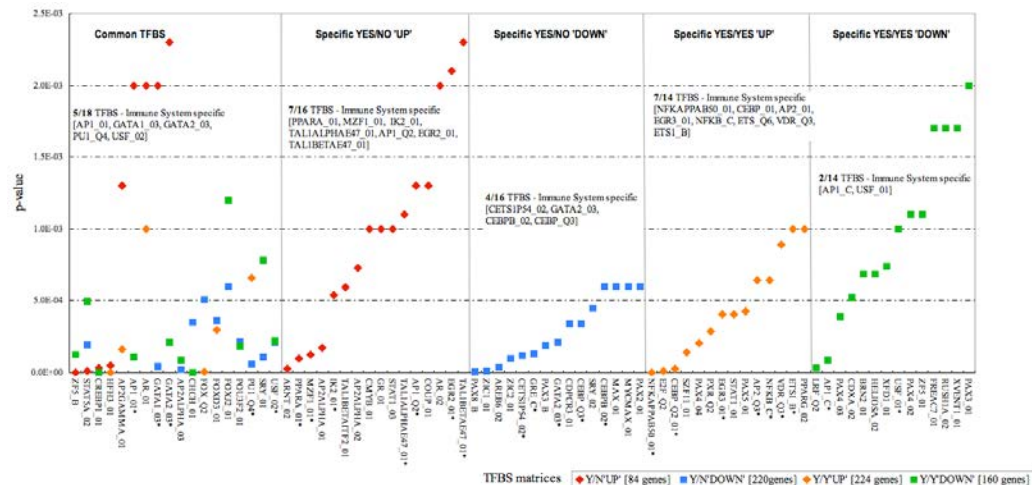


図 3 : (D) 各クラスターに対応する下流遺伝子群

ロバストネス・トレードオフに基づく疾病理解

ロバストネス理論は、個別の疾病に応用され、より深い理解と研究戦略が引き出される。癌という疾病には「癌のロバストネスの理論」が生み出されつつある。この視点は独自のものであり、その理論的基盤は、癌という疾病が **HOST** のもつロバストネス向上の機構をハイジャックし、独自のロバストネスをそなえたことにあると分析、それに対応する戦略を議論した。これは、Kitano, H., *Cancer Robustness*, Nature, Nov. 2003 や Kitano, H., *Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy*, Nature Reviews Cancer, March 2004 において発表された。また、Metabolic syndrome (糖尿病など) のシステムバイオロジーに関しては、その複雑な病態と分子ネットワークの関連をロバスト・システムの考え方で再定義するという研究を進めている。この場合、進化的に適応したシステムの正常な応答として、ある環境下では、糖尿病などの症状がでることが、モデルからも明確になった。また、それを前提に、理論的な治療方針の解析を行っている。癌の場合と同じように、ロバストネスという視点から、Metabolic Syndrome のシステムバイオロジーを構築した。この解析の最初の知見は、Kitano, et al., *Metabolic Syndrome and Robustness Tradeoffs*, Diabetes, Dec. 2004 に掲載された。さらに自己免疫疾患ならびに免疫と常在細菌の共生関係に関わるロバストネスと脆弱性の理論的議論を展開。これは、Molecular Systems Biology 誌に掲載された (Kitano, H. and Oda, K., *Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in the immune system*, Molecular Systems Biology, Jan 2006)。理論の骨子は以下の通り。免疫系は、数々の病原体や寄生虫に対するロバストネスを獲得するために進化的に獲得したメカニズムであるが、資源制約のあるなかでこれを達成した

ために、大きな脆弱性を抱えている。これは、免疫不全や自己免疫疾患へとつながる。この現象は、既に提案した、生物学的ロバストネスの理論に合致する結論である。これらの論考は、考え方の枠組みを提示するものであるが、そのみでは、具体的な、生命システム理解や創薬、治療へとつながりにくい。そこで、一方では、数理的定式化を進めると同時に、具体的な創薬への概念の適用と実験的検証を行うこととした。

数理的定式化

生物学的ロバストネス理論の重要さは浸透しつつあるが、理論基盤を強化するために、その数理的定式化を急ぐ必要がある。そのため、2007 年度には一連の数理的考察を行い、この最初の成果は、**Towards a theory of biological robustness, Molecular Systems Biology, Sept. 2007** として発表され、同誌の 10 月の最も多くダウンロードされた論文となった。ここでは、ロバストネスの数理的定式化、トレードオフを表現する式など、一連の定式化を行っている。さらに、現在、この定式化を、ポートフォリオ理論、ゲーム理論と融合させる研究を行っている。

創薬への適用

創薬への適用という問題では、これらの理論的考察を創薬に展開した理論的考察を行い、**Nature Reviews Drug Discovery** に発表した (Kitano, H., **A robustness-based approach to systems-oriented drug design, Nature Reviews Drug Discovery, March 2007**)。その骨子は以下の通り。ゲノム創薬として分子標的薬が期待されているが、ターゲットに固有な変異などが存在する特殊な場合以外は有効性が確認されていない。これは、細胞のもつロバストネスによって薬の効果が打ち消されていることが大きな要因。同時に、ロバストネスのトレードオフとしての脆弱性も存在し、薬がこの部分に影響を与えると、大きな副作用として問題が起きる。新たな創薬と治療法の開発においては、生物の基本的特徴であるロバストネスとそのトレードオフを理解することが非常に重要である。これらの議論からの帰結は、多くの因子と弱く相互作用する超多剤複合薬の開発であり、古来の漢方薬を現代的に再構成したような薬になるであろう。これらの薬の設計は、いくつかの数学的問題として定義できる部分があり、これらを **Spread Spectrum control problem** と **Long-tail control problem** として定義した。これは、**Nature Reviews Drug Discovery** 誌に発表された論文に記述されている。この枠組みで、次は、実際に、創薬を行う段階に入るわけであるが、すでに、製薬会社がこの概念の応用に興味を示しており、今後は、創薬現場との共同研究として研究開発を進めていく部分が多くなってくると思われる。また、この概念でのスクリーニングを行う手法として **gTOW** 法を開発、さらにそれをゲノムワイドに拡張することで、ロバストネスに基づく創薬の概念実証を行った。

また生物学的ロバストネスの創薬への応用に関する考察の一つの結果として、ロングテール・ドラッグとオープンファーマという概念が浮かび上がり、これを提唱した。これらの概念は、今後の創薬のパラダイムを大きく変えるものであると考えている。この詳細に関しては、Kitano, **Nature Reviews Drug Discovery, March 2007** や「したたかな生命」さらには、今後発表される一連の論文、著作を参照されたい。

自己拡張共生理論

また、大きな進化的な変化を及ぼし、ロバストネスを強化する機構として、自己拡張共生 (Self-Extending Symbiosis) の概念を提唱し、**Biological Theory** 誌に掲載されたが (Kitano, H. and Oda, K., **Self-Extending Symbiosis: A Mechanism for Increasing Robustness Through Evolution, Biological Theory, 2006**)、この理論をより一般的な概念に展開する研究を行なった。この理論は、サンゴと共生藻の関係をよく記述することが指摘され、米国 UC Merced、メキシコ UMAC とこの理論を実証するための共同研究へと発展している。

啓蒙・分野外への応用

また、これらの一連の考えかたを広く知らしめるため「したたかな生命」と表わし出版すると同時に、一連の講演を国内外で行いその概念的枠組みの普及に努めた。

さらに、日本銀行金融システム部より、金融システムの安定性と脆弱性に関して分析し、講演をすることを依頼されるなどの広がりを見せている。



情報インフラ整備

システムバイオロジー情報基盤

ソフトウェアの基盤整備に関しては、システムバイオロジーのためのソフトウェア基盤の構築として、Systems Biology Mark-up Language (SBML)や Systems Biology Workbench (SBW)などの開発、普及を推進している。この結果、SBMLはこの分野の事実上の標準となっている。また、分子間相互作用を視覚的に表現する際の標準を Systems Biology Graphical Notation (SBGN)として開発・推進した。SBGNは、国際的なチームを組織して仕様の検討を行い、2008年8月に、Level-1の国際標準仕様書をリリースした。

さらに、CellDesignerというネットワーク定義ツールを開発、そこでは、遺伝子相互作用やたんぱく質相互作用などのダイアグラムを統一された記法で記述できる。CellDesignerにシミュレーション、DBアクセス機能の強化を行い、現在、3万弱ダウンロードあり、相当数のユーザが存在する。我々は、この記法を国際標準にし、CellDesignerをシステムバイオロジー分野での定番ソフトウェアとすることを目指している。また、SBGNの最新の定義に準拠した CellDesigner 4.0の開発が順調に進み、2008年8月にリリースした。

SBML (Systems Biology Markup Language)

ERATO 北野共生システムプロジェクトで提唱・推進した SBML (<http://sbml.org>)の開発も SORSTで継続した。SBMLは、現段階で、数十の研究機関の参加する大規模な研究コンソーシアムへと発展している。本プロジェクト実施期間中に、初期の仕様の改良・発展版である Level 2 をリリースするとともに、次世代 Level 3の仕様開発を行った。

2005年5月5日号のNatureで、Nature Publishing GroupはSBMLの使用を強く推奨するという Editorial (図4) が掲載され、普及がさらに加速した。



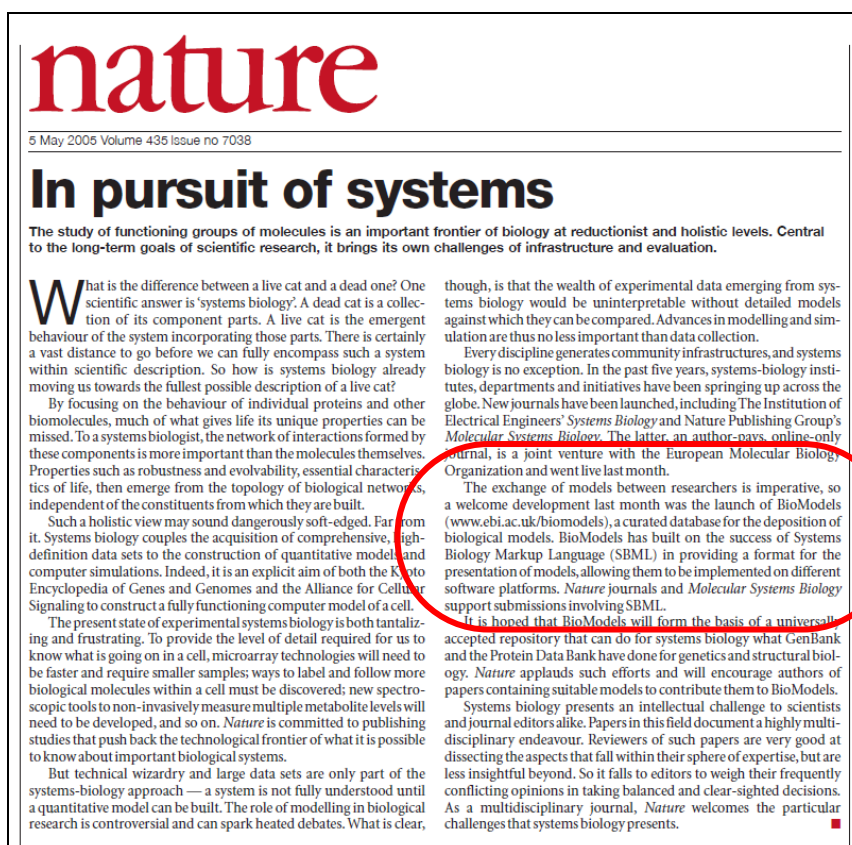


図4 : Nature 2005 年 5 月 5 号より SBML に言及する Editorial

SBGN (Systems Biology Graphical Notation)

分子間相互作用を視覚的に表現する際の標準を Systems Biology Graphical Notation (SBGN) (<http://sbgn.org>) として開発・推進した。



SBMLがコンピュータ可読フォーマットの標準を確立したのに対し、SBGNでは、論文の図などに人間が読む形で表現されるフォーマットの標準化を目指している。つまり、電子工学における回路図の国際標準を、生物学の分野で作ろうという試みである (Kitano, H. et al., Nature Biotechnology, August 2005, Le Neuvre, et al, Nature Biotechnology, August, 2009)。

SBGNは、国際的なチームを組織して仕様の検討を行い、Process Diagram、Entity Relationship、Activity Flow の3記法の仕様を策定することを目指して活動を進めている。2008 年 8 月に、第一弾として、Process Diagram Level-1 の国際標準仕様書をリリースした。(図5、図6、図7、図8)

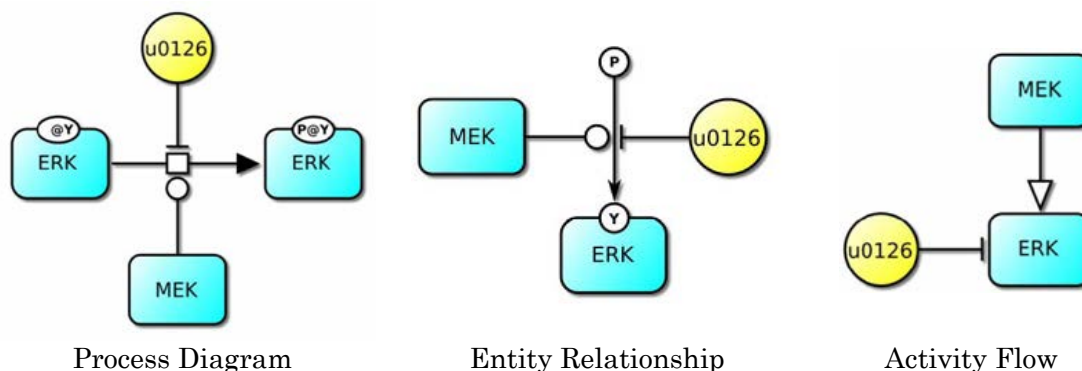


図 5 : SBGN の 3 つの記法

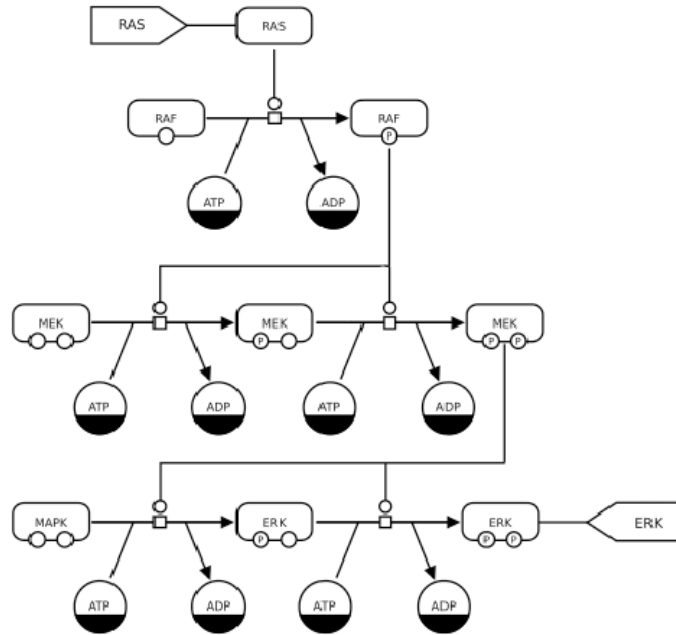


図 6 : SBGN Process Diagram Level 1 で記述した MAPK カスケード

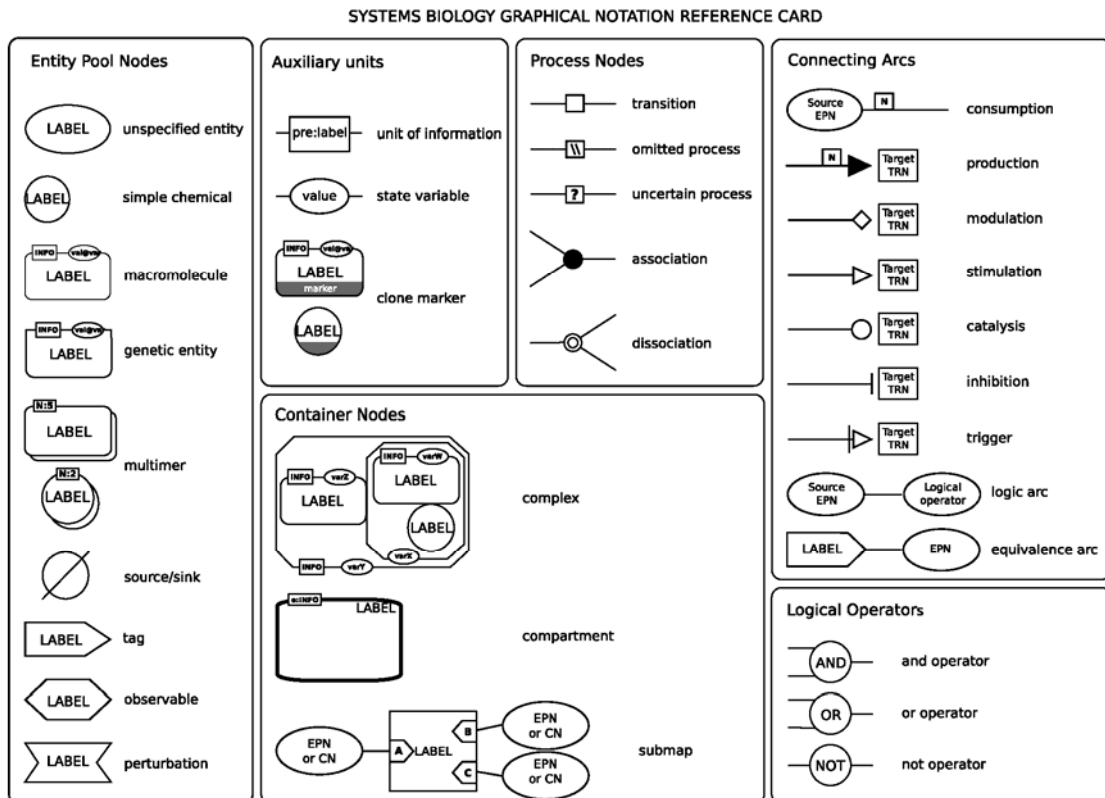


図 7 : SBGN Process diagram Level 1 の記法

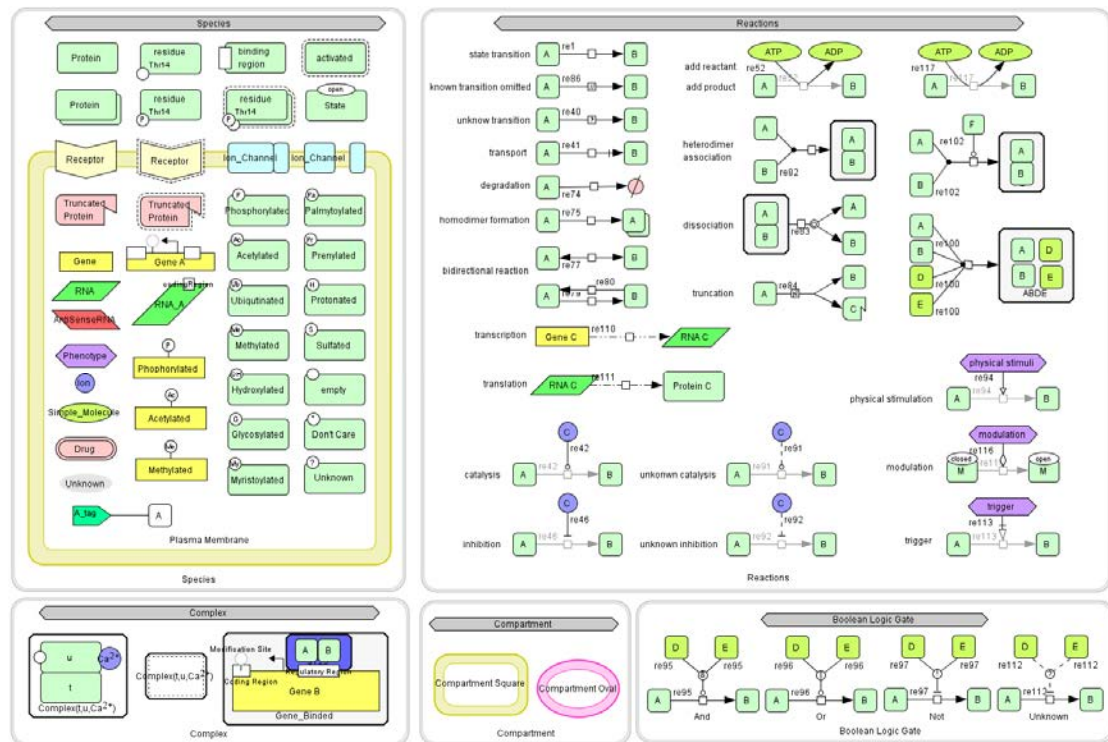


図 8 : CellDesigner 4.0 の記法

標準化仕様の普及

SBML, SBGN の普及を推進するための情報共有は重要である。本プロジェクトでは、sbml.org, sbgn.org サイトを構築。現在は、それぞれのコミュニティメンバーがサイト運営を担当、仕様の公開、オンライン上でのディスカッションが可能となっている。

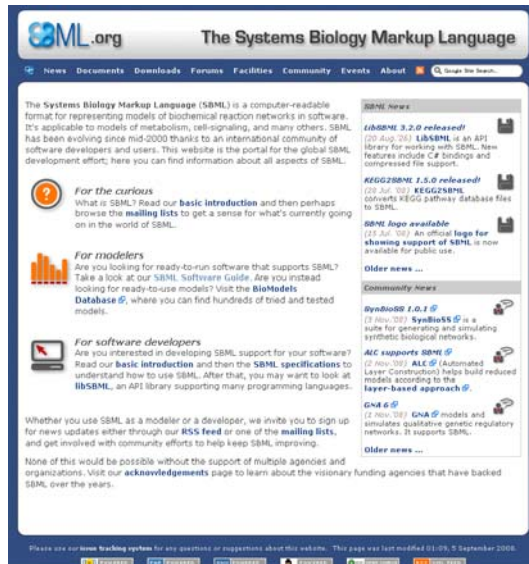


図 9 : SBML と SBGN のウェブサイト

CellDesigner の開発

システムバイオロジーにおけるソフトウェア基盤として開発している CellDesigner は、ERATO プロジェクトの成果であるソフトウェアの統合フレームワークを採用し、ユーザが容易にモデル記述、構築が行えるソフトウェアである。また、CellDesigner は単一のアプリケーション開発プロジェクトにとどまらず、標準的なモデル記法 (SBGN) の開発を兼ねており、システムバイオロジーにおける標準化技術 (SBML, SBW) の発展にも貢献している。

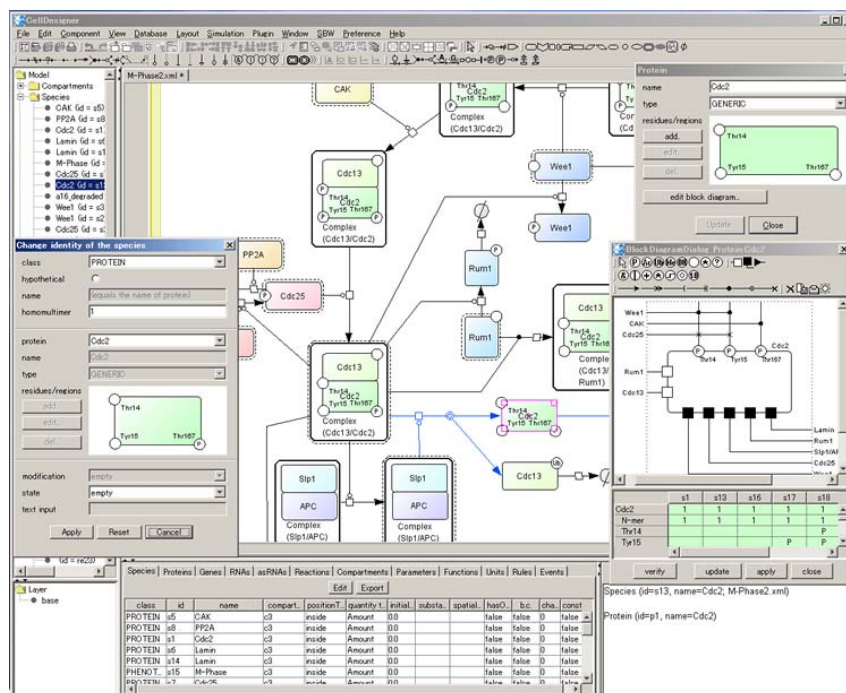


図 10 : CellDesigner モデル構築

CellDesigner の開発経緯

CellDesigner は遺伝子・代謝・シグナル伝達ネットワークモデル作成エディタで多彩な表現によるネットワークモデルの構築が可能であり、SBW を介して、あるいは直接実装したモジュールを呼び出して、シミュレーションを実行できる。

CellDesigner の開発は、2002 年度より富士総研、三井情報との共同開発により進めてきた。2005 年 1 月に SBW2.0 に対応した CellDesigner 2.1 をリリース、2005 年 5 月には各種データベースとの接続、モデルイメージの SVG などへの出力に対応した CellDesigner 2.2 をリリースした。2005 年 9 月にはシミュレーション機能 (SBML ODE Solver) を内部に組み込んだ CellDesigner 2.5 をリリース、2005 年 10 月には SBGN の初期仕様に対応した CellDesigner 3.0 をリリースした。2006 年 3 月、7 月には 3.0 の後継バージョンである 3.1, 3.2 をそれぞれリリース。CellDesigner 3.1 は大規模モデルを開いた際のパフォーマンス向上及び BioModels.net データベースとの接続を可能とし、CellDesigner 3.2 では SBML を取り扱うライブラリである libSBML に対応、作成したネットワークを PDF に書き出せるようにした。2006 年 12 月にリリースした CellDesigner 3.5 では autolayout に対応し、これによりレイアウト情報を含めない SBML ファイルを開いた場合にも、ネットワークの形状を明快に表示することが可能となった。CellDesigner 3.5 のメンテナンスを行う一方で、メジャーバージョンアップとなる CellDesigner 4.0 の開発を進め、アルファ版、ベータ版のテストを経て、2008 年 8 月に CellDesigner 4.0 をリリースした。CellDesigner 4.0 ではパスイの標準的なグラフィカル記法である SBGN に対応、ユーザーインターフェースの抜本的改良、plugin 開発環境の提供、最新版のシミュレーションエンジン及び libSBML への対応、新規シミュレーションエンジンである

COPASI ライブラリに対応など、数多くの拡張を行った。

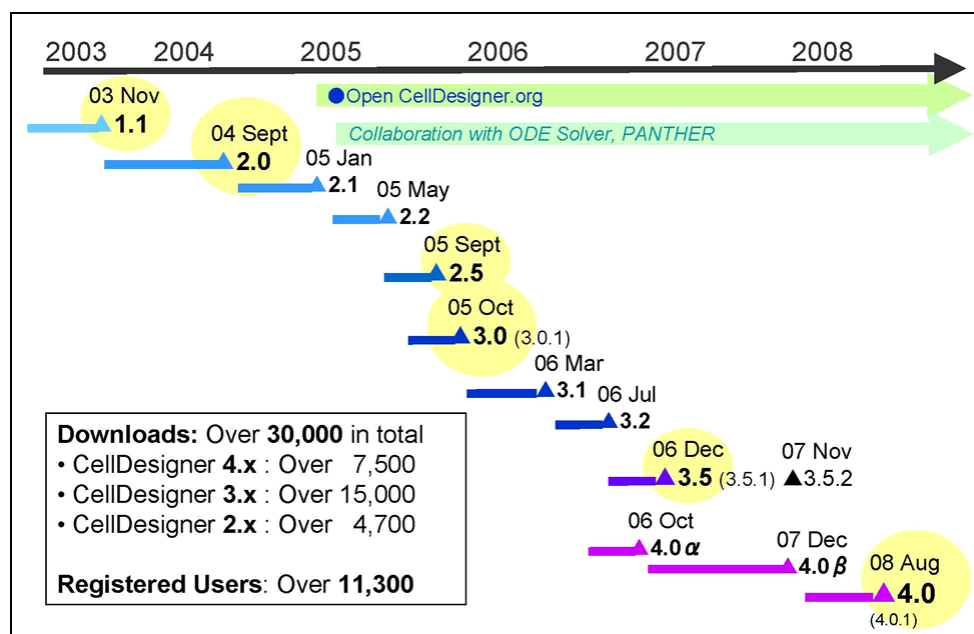


図 11 : CellDesigner の開発経緯

普及・評価

CellDesigner のダウンロード件数は 2008 年 11 月現在、30,000 以上である。また、登録ユーザ数は 11,300 名以上あり、2004 年の 1,500 人から年間 2,500 人程度のペースで増加している。今年度のダウンロード件数、登録ユーザ数の増加は過去と比較しても圧倒的な伸びを示している。

CellDesigner は、システムバイオロジー研究のニーズにマッチしたソフトウェアであり、この分野の定番となった。2005 年の Nature Biotechnology に発表された調査では、CellDesigner が、システムバイオロジー分野で最もよく使われている専用ソフトウェアであるという結果が報告された。この調査では、プログラミング言語や汎用数値計算ソフトウェア以外では、LibSBML と CellDesigner が 1 位と 2 位を占めた。LibSBML は、SBML ファイルを読み書きするライブラリであり、我々も開発に関与している。

CellDesigner を利用することで、ユーザは容易にモデル構築から、シミュレーション実行まで行うことができる。また、標準ファイル形式 (SBML) を採用、汎用的な MATLAB ファイルへの変換も実装、さらに、標準的なモデル記法に準拠することで、各種アプリケーションとの互換性・親和性を提供している。また、CellDesigner は、JAVA を採用して、Windows、MacOSX などのマルチプラットフォームに対応したことが、幅広いユーザに評価されたとも要因であろう。我々は CellDesigner 2.1 リリース時より、web サイト <http://celldesigner.org> を公開、また、登録ユーザ数に対し、バージョンアップ情報を逐次メール配信する一方、バグ報告や問い合わせにも迅速に対応するサポート体制をとっている。

このような CellDesigner 普及の推進は、単体のアプリケーションの普及という域に留まらず、SBML、SBGN などのシステムバイオロジーの標準仕様・プラットフォームの普及をも大きく牽引してきたと自負している。

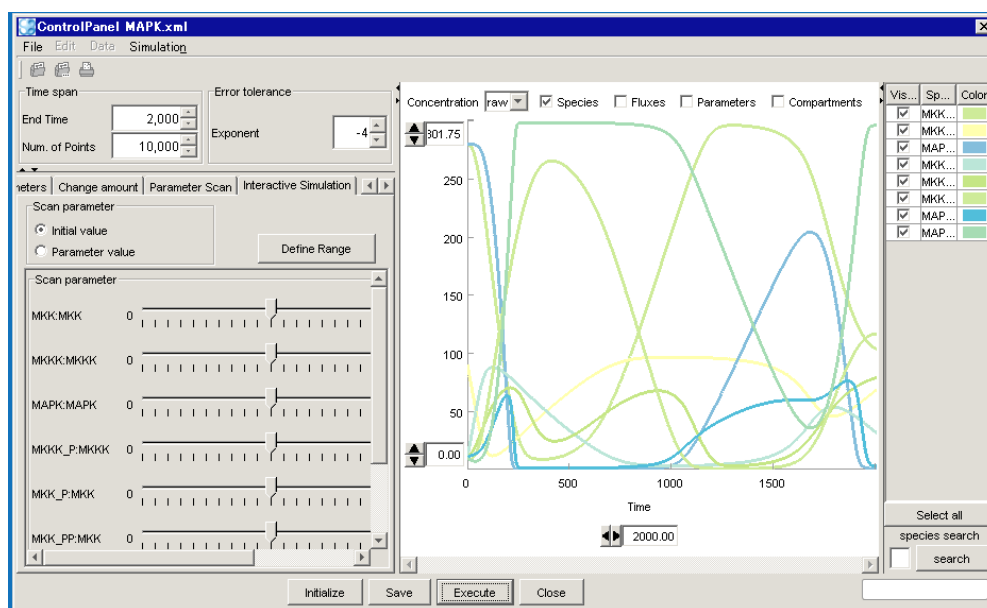


図 12: CellDesigner のシミュレーションコントロールパネル

CellDesigner Applet の開発

また、CellDesigner 本体だけでなく、ウェブ上でモデル図を表示・編集できる Applet の開発も行った。現在、PANTHER Pathway database 等がアプレットを採用し、ウェブサービスで利用している。

CellDesigner を使ったモデル開発

CellDesigner を用いたモデル開発として、いくつかの大規模なシグナル伝達系の MAP を開発・公開した。主なモデルは以下のとおり。

- EGFRシグナル伝達系
Oda, K., Matsuoka, Y., Funahashi, A., Kitano, H., A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling, Molecular Systems Biology, May 2005 (図 13(a))
- TLRシグナル伝達系
Oda, K. and Kitano, H., A comprehensive map of the toll-like receptor signaling network, Molecular Systems Biology, Apr. 2006 (図 13(b))
- 酵母の細胞周期
ベータ版マップを ICSB-2008 で公開 (図 24)

さらにこれらの大規模マップをもとに、詳細なモデルを構築する研究を行っている。特に、癌に関連するシグナル伝達系、細胞周期、アポトーシス系などに関して薬剤効果予測と副作用予測に関する研究も行い、そのノウハウは、製薬企業との共同研究へと繋がっている。

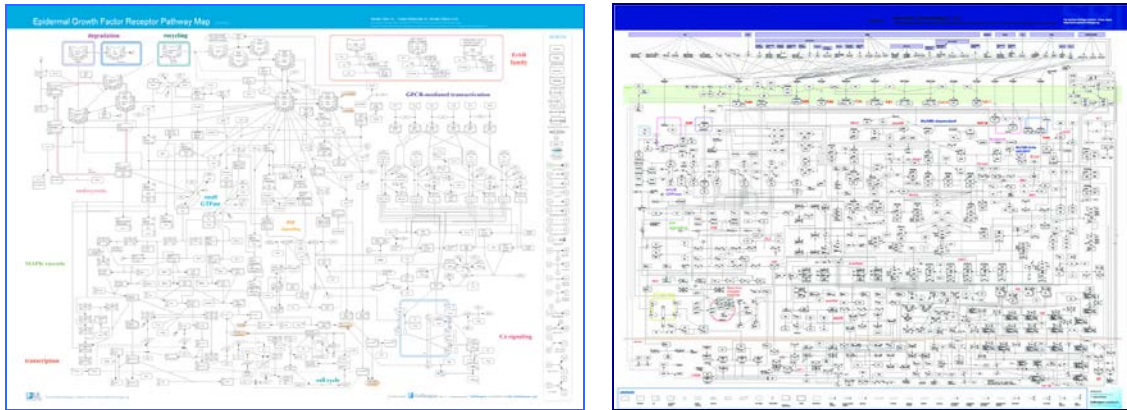


図 13 : (a)Epidermal Growth Factor Receptor Pathway Map と
(b)A comprehensive map of Toll-like receptor signaling

実験基盤開発

Genetic Tug-of-War (gTOW)法の開発とその応用

本プロジェクトは、基礎研究の部分に関しては、生物学的ロバストネスがメインテーマとなっている。このため、これを理論的に展開するだけではなく、実験的に測定し実証する技術の開発とその背後のバイオロジーの研究が非常に重要になる。

ロバストネスに関わる生命現象は極めて広範であるが、本研究では、細胞内の分子相互作用ネットワークが構成するシステムのロバストネスを測るための良い指標となる、細胞内の遺伝子の発現量などの生化学的パラメータの擾乱に対するロバストネスを観測することから着手することとした。先行した ERATO プロジェクトにおいて、諸橋研究員らが数理モデルとシミュレーションを用いた理論的考察により、真核細胞の細胞周期のロバストネスを検証した (Morohashi 2002)。この研究は、細胞周期において、遺伝子発現量の変動が野生型と変異型においてどのように定量変化するかについて、計算モデルで解析したものである。

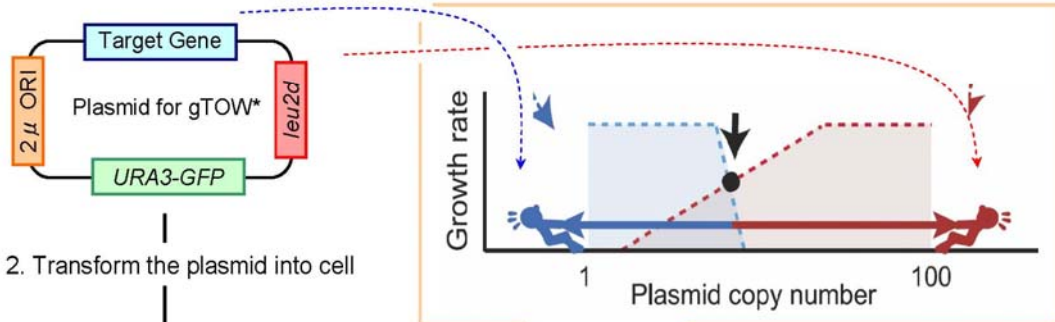
gTOW 法とロバストネス・プロファイルの測定

SORSTでは、この細胞システムのロバストネス研究を生物学実験と融合させるために、信濃町の慶應義塾大学医学部リサーチパーク内に生物学実験室を構成し、新たな実験手法の開発に着手した。その中で、2004 年 4 月から着任した守屋研究員が細胞システムのロバストネスを実際の細胞で測定する実験手法の開発を試みた。その結果、真核細胞のモデル生物である出芽酵母を用いて、遺伝子綱引き法 (gTOW) という新しい実験手法の開発に成功した。この手法では遺伝子のコピー数を上昇させその上限を測ることで、遺伝子の過剰発現に対する細胞のロバストネスを知ることが可能になる (図 14)。

Genetic Tug-Of-War (gTOW)

- A genetic method to measure upper limit gene dosage.
- Unique experimental method for *in vivo* robustness analysis

1. Clone a target gene into a plasmid for gTOW



2. Transform the plasmid into cell

3. Transfer the transformants into leucine minus media (Selection for high copy plasmid)

*Patent applied for yeast plasmids

4. Measure
- growth rate
 - plasmid copy number
 - GFP fluorescence

→ Budding yeast cell cycle genes (Moriya et al., 2006)

図 14 : Genetic Tug-Of-War (gTOW)

これを用いて、まず、出芽酵母の 30 個の細胞周期関連遺伝子について上限測定を行い、これまでに報告のない、細胞の「ロバストネス・プロファイル」が浮かび上がった (図 15 (a))。ここで注目すべき点は、過剰発現上限の分布であり、また、従来非常にシーケンス・ホモロジーが高く、同じような機能を果たしているとされていたペア遺伝子が、ロバストネス・プロファイルでは両極端に分かれるということも見出した。たとえば、Cln1 と Cln2 は、非常に Sequence Homology が高く冗長とされてきたが、ロバストネス・プロファイルからは、両極端に分かれることが判明した。さらに、このプロファイルから、細胞周期システムの脆弱点がみつき、それが特定のサブシステムを構築している事もわかった (図 15 (b))。この結果は、Moriya, et al., PLoS genetics e111 (2006) に発表した。

さらに、ロバストネスと脆弱性の分布は、一つの遺伝子が欠損するだけで劇的に変化することがあることを実測で示した。図 15 (b) では、細胞周期関連 30 遺伝子の過剰発現に対する出芽酵母のロバストネスの分布を野生型と Cdh1 欠損株で示しているが、その分布は、一部で逆になっている。これは、細胞の遺伝的差異によって、ロバストネス・プロファイルが大きく変化するというを実際に計測で示したものである。つまり、癌細胞と正常細胞との間にある遺伝的差異から、癌細胞で特に脆弱性を伴う遺伝子群が存在することが予想され、それが有効なターゲットとなりうることを示している。もちろん、癌細胞の遺伝的多様性と染色体不安定性からくる進化に関しても考慮することが必要であるが、基本的なロバストネス・トレードオフの考えを実験的に実証する第一歩である。

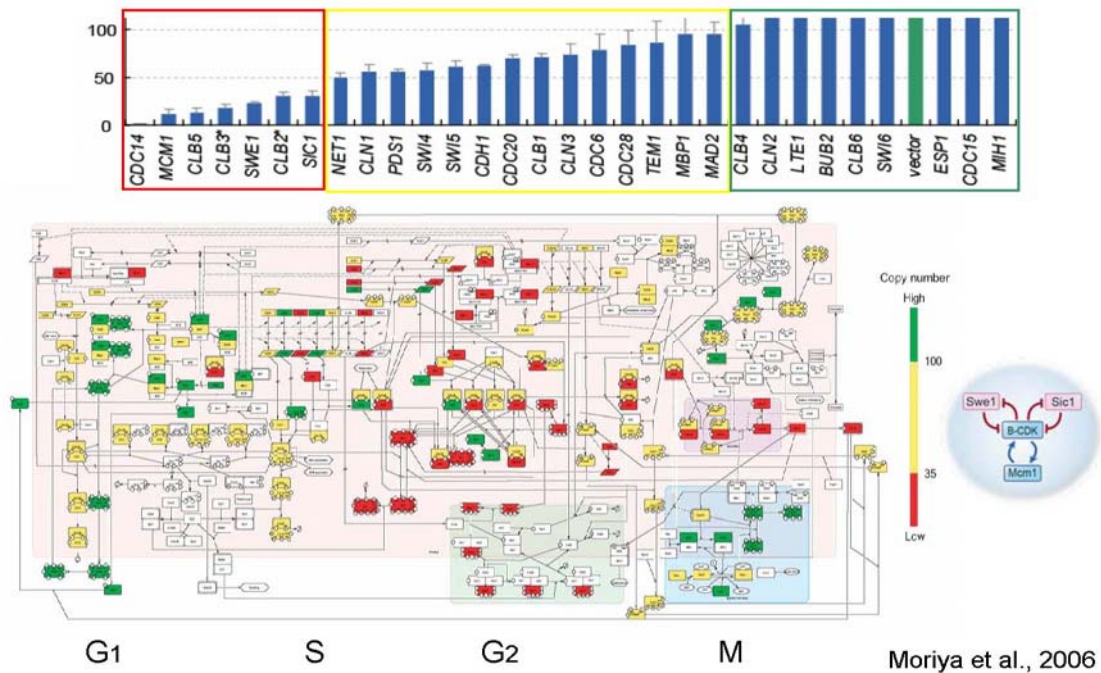


図 15 (a) : Revealing principles of cellular robustness

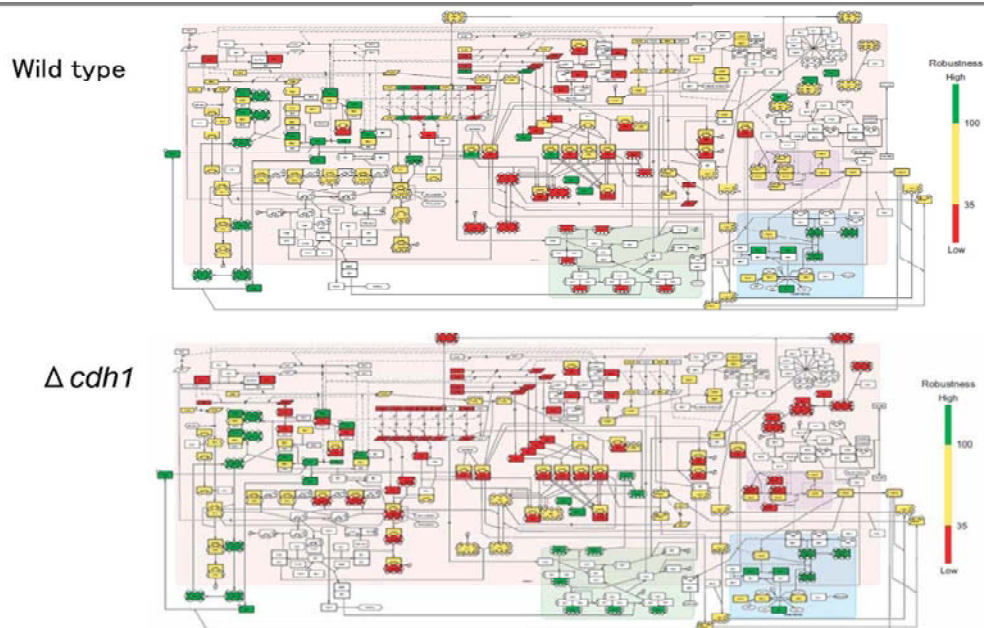


図 15 (b) : Development of realistic cellular mathematical models

シグナル伝達系への応用

さらに、スウェーデン イエテボリ大学等との共同研究により、HOG pathwayなどのシグナル伝達系および転写因子に関しても酵母株を作成し、対象となる遺伝子の数を約 400 個へと増やすとともに、同様な測定が可能になるような系を設計した。作成した株については、スウェーデンにおいて引き続き機能解析が進められている。この解析の結果、Pbs2, Ssk1, Ptc2 などの遺伝子の過剰発現に対して出芽酵母は脆弱であることが分かり、その機能に関して解析を行った (Marcus Krantz¹², Doryaneh Ahmadpour^{†1}, Lars-Göran Ottosson^{†1}, Jonas Warringer¹, Christian Waltermann³, Bodil Nordlander¹, Anders Blomberg¹, Stefan Hohmann¹ and Hioraki Kitano², Robustness and fragility in the

yeast High Osmolarity signal transduction pathway, *Molecular Systems Biology*, 3, (281) 2009。(図 16) この研究は、スウェーデン・日本間の戦略国際研究プログラムとして採択され推進された。

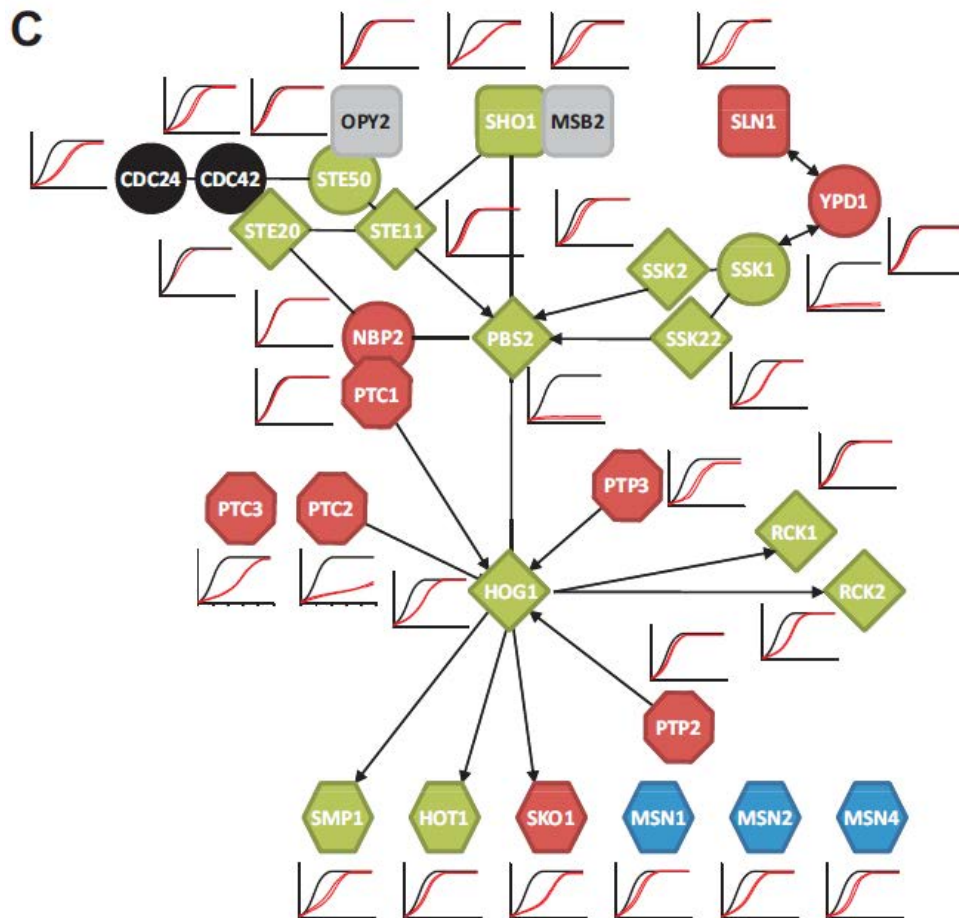
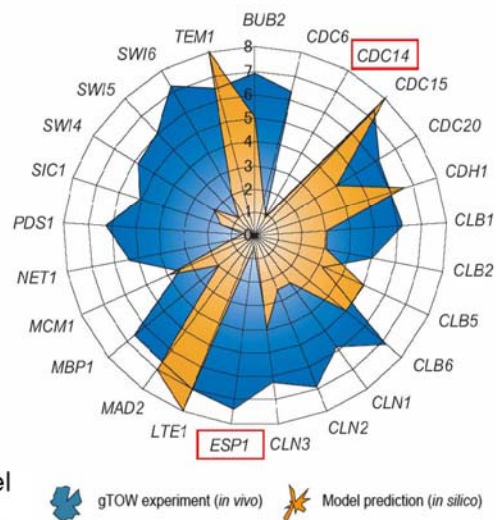
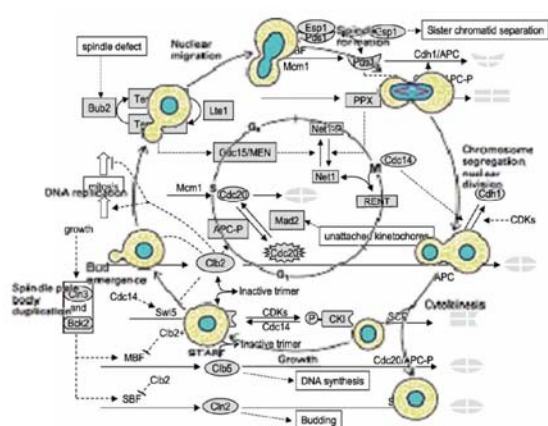


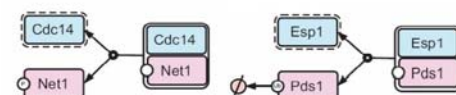
図 16：出芽酵母 HOG pathway の解析

高精度数理モデル構築への応用

さらに、ロバストネス・プロファイルを用いて数理モデルの包括的な評価も行えることが分かった (図 17)。図 17 右において、オレンジの領域は、従来までで最も精度の高い出芽酵母の計算機モデルに基づいて予測されたロバストネス・プロファイルである。このモデル自体は、120 以上の遺伝子欠損株の表現型を説明できる能力を有するモデルであり、一定の精度を有するものと考えられてきた。しかし、ロバストネス・プロファイルからは、実測値と計算機モデルとの間に大きな乖離がみられることが分かった。さらに注目すべきは、この乖離が、計算モデルでの結果がコンスタントにより脆弱になっているということである。つまり、ある擾乱に対して、計算機モデルでは、細胞の機能に異常がみられたり増殖が停止したりするという予測をした場合に、大きな割合で、実際の細胞ではそのような現象が観察されない可能性があるということを意味している。これは、従来型のモデル構築の方法論に大きな警鐘を鳴らす結果であるといえる。我々は、この乖離の理由を調査した結果、従来のモデル構築に利用するデータ（時系列データやノックアウトからのデータ）に適合するモデルを構築する際に必要とは考えられていない、詳細な分子機構が、定量的な擾乱の際に何らかのバッファ機能を果たしていることを見出した。つまり、このような細部にわたるモデルを構築しない限り、計算機モデルは常に過剰な予測をするということである。この結果は、*PLoS genetics* e111 (2006) に発表した。



- Chen 2004 budding yeast cell cycle model
- Expresses fluctuations of 30 proteins with ordinary differential equations (ODEs).
- Reproduces 121/130 mutant phenotypes (experimental results)



Moriya et al., 2006

図 17 : Development of realistic cellular mathematical models

これらの観察を踏まえ、gTOW法の応用として計算機モデルの精度向上と分子間相互作用の詳細な解析手法の開発に着手した。例えば、いろいろな遺伝子欠損株に対してgTOW法を適応すると組み合わせ効果が測定可能であり、その状態でのモデルの校正が可能となる。また、二つの遺伝子に対して各々gTOWプラスミドを設計し、両方を組み入れた株を作ることによって、二つの遺伝子の発現のバランスの変動が測定可能となり、そこからStoichmetryのin vivo測定が可能となる。この量論的比率の精密測定は、相互作用の詳細を明らかにする。例えば、Cdc14とNet1は、一対一で結合し、Cdc14の活性を抑制する。このバランスが崩れると、Cdc14の活性の制御がはずれ、細胞増殖ができなくなる。この為に、Cdc14は、過剰発現に対して非常に脆弱になっている。これは計算機モデルでも予想され、実験でも確認されている。ところが、同じ結合様式をとるとされているEsp1とPbs1では、Cdc14の場合のような脆弱性が見られない(図18)。二つのプラスミドを導入する2D-gTOW法での解析と遺伝子欠損株との組み合わせ実験から、Cdh1とClb2遺伝子が、この脆弱性の克服に関係していることが判明した。これは、Cdh1,Clb2とEsp1やPbs1などの未知の相互作用が存在する可能性を示唆している。この手法は、コンピュータモデルの精度向上に非常に効果的であるとともに、ゲノムワイドに拡張することで出芽酵母の全Stoichmetry Ratioの決定ということが達成できる可能性を示しており、今後有望な課題である。学生研究員の海津は、この研究で、慶應義塾大学より博士号を取得の予定である。

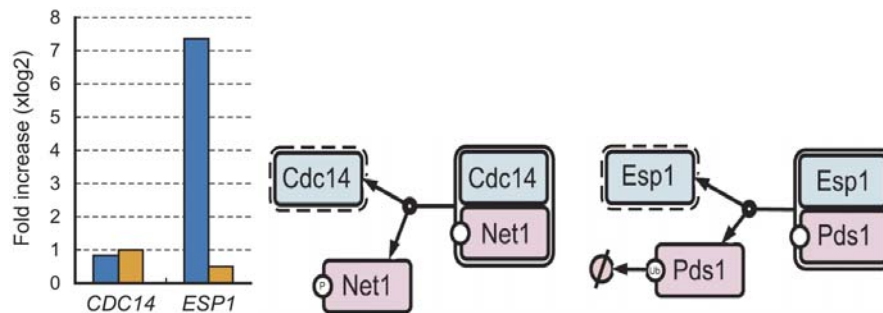


図 18：出芽酵母の Stoichiometry Ratio の解析例

gTOW-6000 の開発(出芽酵母ゲノムワイド gTOW システム)

細胞周期関連 30 遺伝子での研究で、gTOW法の有効性が確認できたので、これをゲノムワイドに拡張することに着手した。出芽酵母には約 6000 の遺伝子があり、gTOWを出芽酵母のゲノムの上の全遺伝子 6000 へ適応するプロジェクトである。これは、gTOWに用いるプラスミドの出芽酵母の全ゲノム遺伝子 6000 をクローンし、酵母に導入した後、それぞれの遺伝子の上限コピー数を測定するというプロセスからなる(図 19)。2008 年 9 月末のSORST 終了時、約 90%の遺伝子のクローン化、データの取得が終了しており、現在、外部資金により残りの部分のgTOW化と検証を行っており、2008 年 12 月の段階で完了の予定である。また、ゲノムワイド・システムの測定を容易にするために、出芽酵母の gTOW の改良 (GFP を用いた蛍光モニター化)、分裂酵母での gTOW の開発により、特許を 2 件申請した (特許申請 1、2)。この gTOW のチップ化に関しては名古屋大学の馬場研究室との基礎研究が進んでいる。

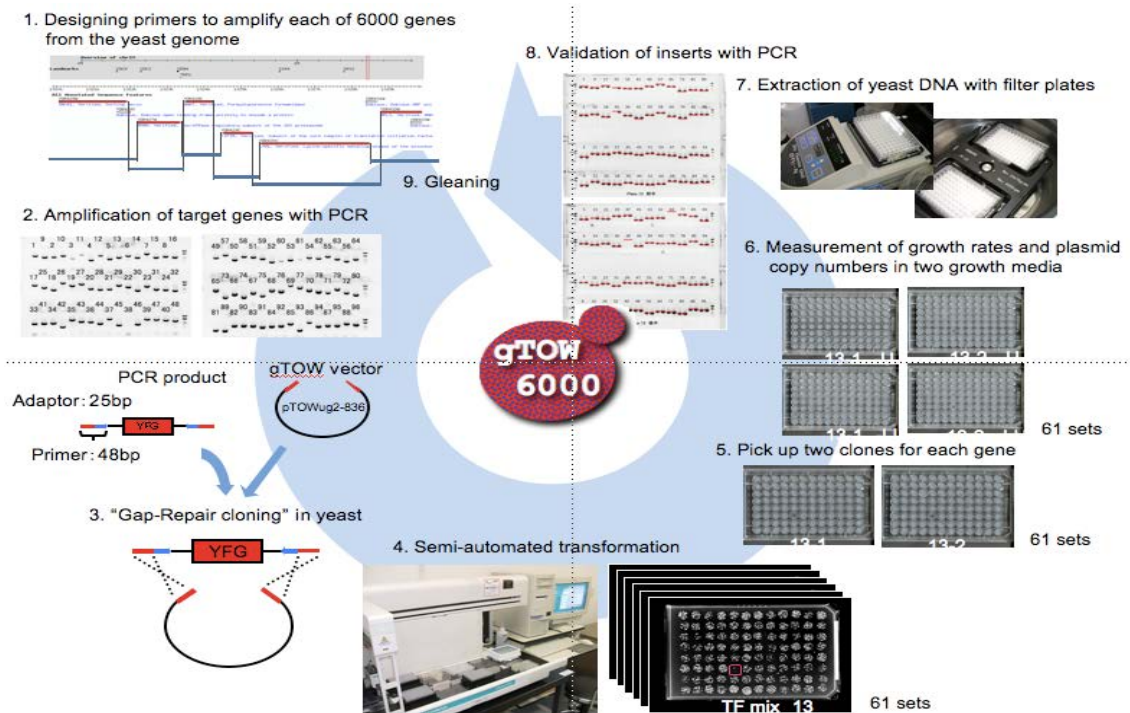


図 19：ゲノムワイド gTOW システム(gTOW-6000)の開発

gTOW 法に基づくドラッグ・スクリーニング系

当プロジェクトの最終目標の一つは、創薬への応用であり、gTOW 法をドラッグ・スクリーニング系の開発に利用する試みも行った。当然、実用化レベルのスクリーニング系は、当プロジェクトの予算と人員では構築することができないため、ここでは、その概念実証を行うレベルの研究を行った。まずは、gTOW プラスミドを導入した菌株に薬剤添加し、その効果を生育速度、プラスミドコピー数（GFP 蛍光量）を指標に評価、薬剤効果プロファイルを作成して各遺伝子群の機能を推定し、薬剤作用機序を理解することを目指した。

一般的に、酵母細胞を用いた薬剤スクリーニング系でかつロバストネスを利用した系としては、遺伝子の減少を用いた方法として、遺伝子破壊株（非必須遺伝子）、二倍体細胞の片側遺伝子破壊株（ヘテロ破壊株）を用いた系が使われている。一方、遺伝子増幅系としては、マルチコピープラスミドに遺伝子をのせた過剰発現系や一過的な強制発現系が用いられている。いずれの場合にも、株の生育阻害を指標としているが、定量的な変動を精密に測る手法ではない。一方、gTOW 法では、遺伝子コピー数の選択圧をかけない培地での生育と、選択圧をかける場合の生育の、2 種類の培養条件で検討することができる。また、生育速度およびコピー数の変動を指標とできる。このため、遺伝子の薬剤への影響を複数の制約条件から測定することが可能となる。このように、gTOW 法と複合させることによって、より精度の高い手法となると考えている。

今回のスクリーニング系の実証実験は、以下のプロセスで行った。

- (1) 対象薬剤と薬剤濃度の同定
- (2) ヘテロ破壊株を用いた薬剤感受性試験
- (3) gTOW を利用した薬剤耐性・感受性遺伝子スクリーニング
- (4) gTOW6000 によるゲノムワイド化・ハイスループット化試験

(1) スクリーニング対象薬剤の同定と薬剤濃度の検討

酵母細胞でスクリーニング可能な抗癌剤を同定し、至適薬剤濃度を検討するために、まずヘテロ破壊株のゲノムワイドプールを用いた実験を行った。その結果、17 種類の抗癌剤を検討し、そのうちの 10 種類に効果があることを確認した。図 20 には、いくつかの抗癌剤に対する出芽酵母の増殖抑制の濃度依存性が示されている。これから、出芽酵母で増殖抑制が観察される薬剤とその濃度範囲が決定される。古典的な抗癌剤として知られ、副作用が大きく、かつ薬剤効果のサイドパスウェイの存在が示唆されている、Methotrexate (MTX: 葉酸代謝拮抗剤) を例にとると、MTX では増殖抑制が観察され、その濃度域は、0~60 μ g/ml の範囲が適切であることがわかる。

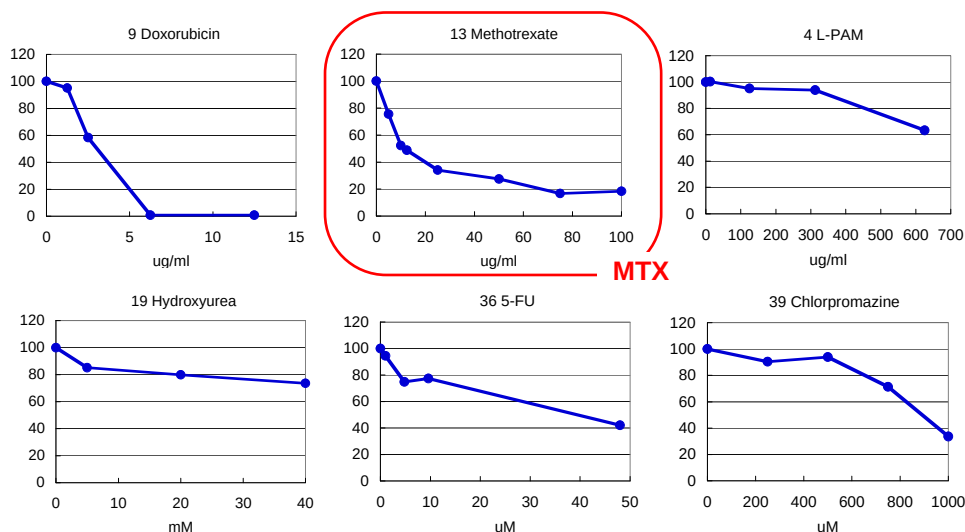


図 20：抗癌剤に対する出芽酵母の増殖抑制の濃度依存性

(2) ヘテロ破壊株を用いた薬剤感受性試験

次に、ヘテロ破壊株を単独に生育し、非添加、5, 12.5, 50 μ g/ml (MTX) の生育速度を測定し、生育速度の変化を、下図に $\log(\text{Drug/no Drug})$ で表した。

PDR3 (薬剤排出系遺伝子の転写因子) は、有意に薬剤感受性であった。その他の薬剤排出系の遺伝子 (図 21 の 1~17) においても感受性に差があり、薬剤の種類によって排出系が異なることが指摘されている通りの結果がみられる。AQR1 (多剤排出トランスポーター) のように完全に耐性の遺伝子もある。一方ストレス反応系遺伝子 (図 21 の 18~30) や、細胞周期関連遺伝子も反応に差があり、薬剤感受に関与している可能性が示唆された。

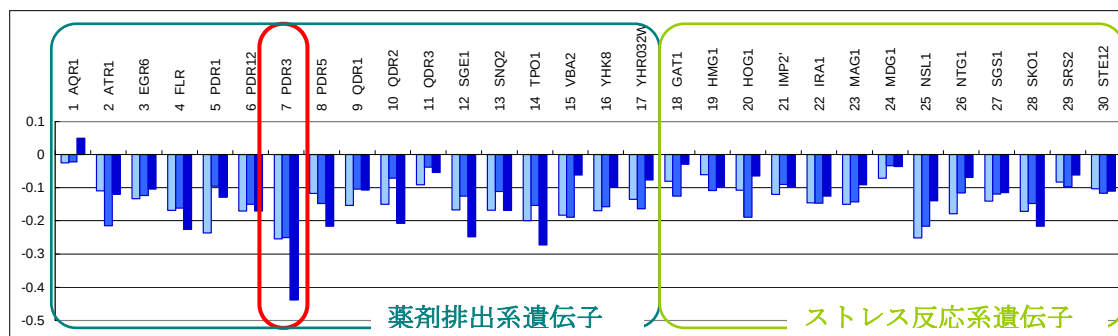
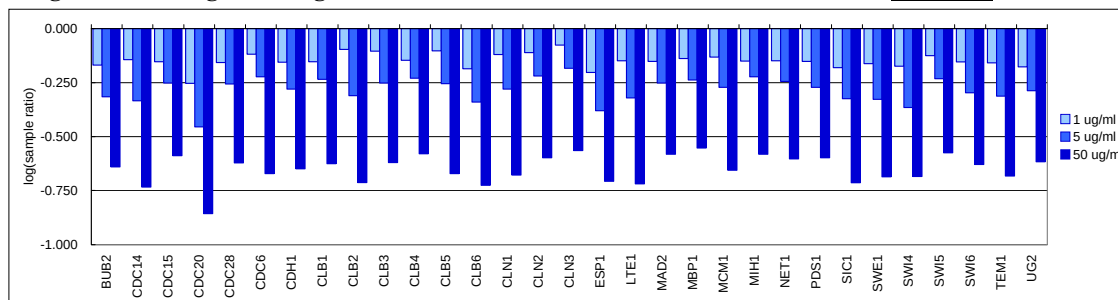


図 21：ヘテロ破壊株を用いた薬剤感受性試験

(3) gTOW を利用した薬剤耐性・感受性遺伝子スクリーニング

次ステップとして、gTOW を用いた薬剤耐性・感受性遺伝子スクリーニングを行った。gTOW では、遺伝子コピー数の選択圧をかけない培地での生育と、選択圧をかける場合生育の 2 種類の培養条件でスクリーニングを行う。選択圧をかけない場合、遺伝子コピー数が自由に変動できるため、さらなる擾乱 (薬剤やストレスなどの培養環境) に対し、最適なコピー数と生育速度に収束する。この値を各遺伝子において比較することで、擾乱の遺伝子への影響を観察できる。たとえば、薬剤添加に対し、生育速度の上昇、またはコピー数の上昇がみられる場合、その遺伝子は耐性を得たと考えられる。この場合、薬剤でその遺伝子が担っている機能が抑制されるためコピー数を上昇し、その機能を補償しようとするのが考えられ、薬剤の直接ターゲットとなっている可能性も考えられる。一方、生育速度の減少、コピー数の減少がみられる場合、その遺伝子発現は薬剤にセンシティブであり、薬剤ターゲットとなりうることを示唆される。選択圧をかけた場合の説明は、スペースの関係で省略する。

gTOW細胞周期関連遺伝子 (30 遺伝子) において、MTXをno drug, 1, 12.5, 50 μ g/mlで添加し、生育速度、GFP蛍光量 (コピー数測定の代替) を測定、薬剤効果を $\log(\text{Drug/no Drug})$ でプロットしたところ、生育速度は薬剤濃度に依存して、抑制が強くなる遺伝子が見いだされた (図 22 上)。薬剤効果に対して、その遺伝子自身が直接のターゲットかは、薬剤非添加データと、薬剤添加データを比較することで調べることができる。各遺伝子での比較には、空ベクター (UG2) での薬剤反応性で補正を行う (式 $\text{Log}((\text{gene-drug/no drug})/(\text{UG2-drug/no drug}))$ を利用) と、より遺伝子の影響が見やすい (図 22 下)。



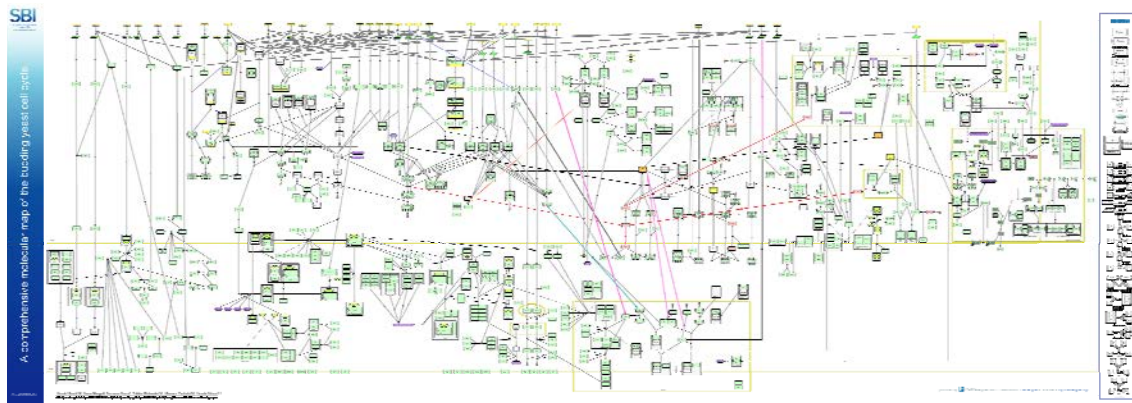


図 24：出芽酵母細胞周期分子間相互作用マップ

ここでは、MTX を例に、gTOW 法を用いたスクリーニング法の説明をした。第一段階として、数十種類の抗癌剤を含む薬剤を対象にスクリーニングを行った。また、複数の薬剤の相乗効果時のターゲットを同定するための複数薬剤添加時のスクリーニングも試行した。この結果、新規ターゲット候補が見つかり、今後、詳細な検討を行う。これらの結果、gTOW 法が、薬剤ターゲットの同定などのスクリーニングに利用可能であることが分かった。また、情報基盤や理論研究との融合も明確であり、今後の研究によって一貫した技術体系として完成させる予定である。

ただし、すべての薬剤に可能ということではなく、出芽酵母で効果の現れる薬剤を選択する必要があるということと、出芽酵母とヒト細胞間の違いを認識する必要がある。これらの問題の解決に関する研究も行っているが、その成果は、当プロジェクト終了後の研究で発表されることになろう。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

最大の成果は、システムバイオロジー自体が世界的に大きく展開していることだと考えている。このプロジェクト固有の研究課題としては、理論、情報、実験の各々の基盤の構築とそれらを融合した創薬へのアプローチと考えている。

理論面では、ロバストネスの概念の確立と普及、さらには創薬への展開が議論され、実際にその枠組みで創薬を考えようという製薬企業が出現したことがあげられる。今後、共同研究などを通じて、我々の理論的成果が、具体的な形となって世に出ていくと考えている。また我々が直接かわからないプロジェクトにおいてもロバストネスを基本概念として研究を組み立てることが増えており本プロジェクトの影響が見てとれる。

情報基盤に関しては、SBML と SBGN の国際標準化とその普及、及び CellDesigner の開発と普及が非常に大きなインパクトがあったと考えている。これらの基盤は、広くコミュニティで利用されるとともに、企業でも広く利用されている。現在、SBML、SBGN、SBW は世界中の研究者が参加するコミュニティにより開発が継続されており、数多くのソフトウェアが対応を表明している。CellDesigner はモデルの作成、シミュレーション、データベースとの連動、プラグインの開発環境などの機能を備える。現在、CellDesigner は 30,000 以上のダウンロードを達成し、システムバイオロジーの分野において標準的ソフトウェアの地位を築いている。我々が開発してきたこれらの計算機基盤はシステムバイオロジーの発展に大きく貢献しており、今後も更なる成長が期待されている。また、これらの情報基盤を利用した薬剤影響予測に関するノウハウは、製薬企業のニーズにマッチしており、現在、共同研究に向けた議論をしている。

また、一連の大規模マップの開発は、その有用性を世に知らしめ、同様なプロジェクトが始まっている。最近、Nature Biotechnology 誌に発表された出芽酵母の代謝系のコンセンサスマップの開発などは、我々の研究に触発されたものである。また、パリの Institut Curie でも哺乳動物細胞周期の大規模マップが、我々の開発した基盤を利用して行われるなど、世界的な広がりを見せている。

実験系に関しては、gTOW6000 の完成とそのデータを他の実験系での測定結果などを含めた包括的な解析系を利用することで、高精度な細胞モデルの構築や未知の相互作用の同定などに利用することができるということが分かった。同時に、薬剤スクリーニングへの応用可能性も小規模な実証実験から確認され、いくつかの企業と共同研究ならびにライセンス供与に向けた話し合いを行っている。

今後、研究資金が得られれば、gTOW6000 を利用して出芽酵母のゲノムワイド測定による相互作用係数の精密な測定と未知相互作用の網羅的同定などを行い、出芽酵母のすべての相互作用を明らかにしモデル化するプロジェクトを行いたいと考えている。これすれば、現存するどのモデルよりも精密に構築される細胞モデルとなり、その手法はヒト細胞にも応用可能である。これは、ヒトゲノム計画に匹敵するプロジェクトになると考えられる。

研究分野としてのシステムバイオロジーの確立

ICSB-2006 (<http://www.systems-biology.org/icsb-2006/>)

この会議は、2000 年に科学技術振興事業団 (JST) の主催で第 1 回のシステムバイオロジー研究分野の国際学会として東京で行われた。その後、パサデナ、ストックホルム、セントルイス、ハイデルベルグ、ボストンで開催され、毎回数百人の参加者と高レベルの発表で、システムバイオロジーの分野を牽引してきた。

第 7 回システムバイオロジー国際会議 (ICSB-2006, ICSB=International Conference on Systems Biology) を 2006 年 10 月 8 日 (日) から 13 日 (金) までの 6 日間パシフィコ横浜 (横浜市西区) および日本科学未来館 (東京都江東区) にて開催した。世界 34 カ国から 750

名（内、海外よりの参加数一約 450 名、学生比率約 3 割）の参加を得、さらにこの分野のトップレベルの研究者 50 名を招待講演者として招聘し、3 部門 17 セッションに渡るプログラムを実施、389 件のポスター発表が行われた。

システムバイオロジーは、分子生物学、ゲノム科学、コンピュータサイエンス、制御工学やその他関連の分野の著しい発展によって可能になってきた、「生命のシステムとしての理解」を目指した学問分野である。同時に、システムバイオロジーは、創薬、エネルギーおよび環境問題に対応するバイオテクノロジーへも応用されうる大きなポテンシャルをもった分野であり、既に世界各国で活発な研究が始まっている。ICSB-2006 の成功は、日本のシステムバイオロジーの発展と国際的なプレゼンスの確立に向けきわめて重要な意義をもつものとなった。

システムバイオロジー学会の設立 issb.org

International Society for Systems Biology が、2007 年、International Conference on Systems Biology (ICSB2007)にて設立が承認された。現在、スイスのチューリッヒに登録され、北野が創立会長に就任した。

FCSB-2008 (<http://www.jst.go.jp/inter/workshop/fcsb-2008.html>)

科学技術振興機構（JST）とイギリスのバイオテクノロジー・生物科学研究会（BBSRC - Biotechnology and Biological Sciences Research Council）との協力により、平成 20 年 2 月 4 日（月）から 6 日（水）まで東京国際フォーラム会議室において、International Workshop on Future Challenge for Systems Biologyを開催した。本ワークショップは北野のコーディネートにより、①各国のシステムバイオロジー研究の最新情報の紹介、②「創薬」分野を中心に、従来の研究と異なるアプローチを取る研究事例に焦点をあて、その有効性の検証、③システムバイオロジーのフロンティアトピックの紹介、の 3 点を柱に、研究の推進方策も視野に入れつつ、システムバイオロジーからイノベーションへの流れを検証することを目的として開催された。



産業界との連携

当初の目的は、システムバイオロジー、特に、ロバストネスの理論を創薬へとつなげることであった。5 年間の研究期間が終了した段階で、国内外数社との共同研究、ライセンス供与、プロジェクト・アドバイザーなどの契約が成立する見込みであり、我々の構想とその技術が実際に創薬の現場に導入されようとしている。

5. 類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけ

ERATO プロジェクトでシステムバイオロジーを提唱し、国際的にその推進を図ってきた結果、米国、欧州を中心に、システムバイオロジーに関するプロジェクトが続々と立ち上がり、システムバイオロジーを標榜する学部も作られるに至った。その中で、本プロジェクトは、情報基盤、理論、実験の各方面でリーダーシップをとり、有機的に連動した研究とその創薬への応用を進めているという点でユニークである。

2005年に発行された European Science Foundation がドイツ Franhoufer 財団に委託した報告書"The Take-off of European Systems Biology"では、世界のシステムバイオロジー研究機関のランキングで、北野プロジェクトは、第 5 位にランクされるなど、国際的に極めて存在感が強いプロジェクトとして位置づけることが可能であると考ええる。

また、このプロジェクトが国際的に影響力を持っていることは、Google scholar においてシステムバイオロジー関連の引用回数トップ 3 がすべて当プロジェクトからのものであることでも明らかである。

Google Scholar Rank : Article : Citation

1: Kitano, Science 2002 :	1079
2: Hucka, et al., Bioinformatics 2003 :	620
3: Kitano, Nature 2002 :	595

現在、国内外の製薬企業との共同研究等を実施し、産業との受け渡しと事業化への展開の可能性が開けていることは非常によい状況であり、この分野でのリーダーシップを維持できる可能性はある。

ただし、海外のシステムバイオロジー関連プロジェクトが、これからさらに潤沢な研究資金を獲得する時期にプロジェクトが終了となり、さらに現在、システムバイオロジーを対象とする適切な研究プログラムが国内に存在せず、公的資金での研究の道が困難な状況であることは、今後の展開に大きな影響を与えられられる。このことは、折にふれ、JST ならびに文部科学省に説明を申し上げたが、それに対して意味のある対応は行われてこなかった。今後とも、今のような状況が続くとするならば、日本のシステムバイオロジー、ひいては、生命科学全般の日本の地位は急速に低下することが危惧される。

6. 研究実施体制

(1) 体制

グループ区分する研究規模ではないため、グループ制はとらない。

研究項目は、in vivo simulation, SBW/SBML 構築・基本モジュール開発・普及, 酵母の網羅的測定・モデル化・理論解析, 癌関連解析。

(2) メンバー表

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
北野 宏明 (研究代表者)	特定非営利 活動法人 システム・バイオ ロジー研究機構 (SBI)	会長	研究総括	平成 15 年 10 月～ 平成 20 年 9 月
松岡 由希子	SBI	JST 研究員	SBML/SBW の開発・普 及	平成 15 年 10 月～ 平成 20 年 9 月
諸橋 峰雄	SBI	JST 研究員	細胞内ダイナミクスの 研究他	平成 15 年 10 月～ 平成 16 年 10 月
舟橋 啓	SBI	JST 研究員	SBML/SBW の開発	平成 15 年 10 月～ 平成 19 年 3 月
舟橋 啓	慶應義塾大学 理工学部	客員 研究員	SBML/SBW の開発	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 9 月
藤原 賀子	SBI	JST 研究員	実験とモデル化他	平成 15 年 10 月～ 平成 19 年 3 月
守屋 央朗	SBI	JST 研究員	酵母実験他	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 9 月
Douglas Murray	SBI	JST 研究員	酵母実験他	平成 16 年 4 月～ 平成 19 年 5 月
藤井 昭康	SBI	JST 研究員	事務総括	平成 16 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
木村 友美	東京医科歯科 大学 / SBI	助手/ 客員研究 員		平成 16 年 4 月～ 平成 17 年 7 月
小田 夏奈江	慶應義塾大学	学生 研究員		平成 16 年 6 月～ 平成 18 年 3 月
吉田 由紀	SBI	JST 技術員	実験補助	平成 17 年 2 月～ 平成 18 年 3 月
吉田 由紀	財団法人癌研 究会 癌研究所 システムバイ オロジー部 (癌研)	JST 研究員	酵母と哺乳動物細胞の 細胞周期ロバストネス の検証	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 9 月
上樂 明也	SBI	JST 研究 補助員	研究データ収集・解析	平成 17 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
長名 保範	SBI	JST 研究 補助員	研究データ収集・解析	平成 17 年 4 月～ 平成 18 年 3 月

長尾 克彦	SBI	JST 研究員	事務総括	平成 17 年 5 月～ 平成 18 年 3 月
Marcus Krantz	JSPS	フェロー	酵母シグナル伝達系の 数理解析	平成 17 年 11 月～ 平成 19 年 10 月
西村 正	SBI	JST 研究員	事務総括	平成 18 年 4 月～ 平成 18 年 12 月
海津 一成	SBI	研究 補助員	細胞周期、シグナル伝 達系のモデル解析	平成 18 年 4 月～ 平成 18 年 11 月
海津 一成	癌研	JST 研究 補助員	研究データ収集・解析	平成 18 年 12 月～ 平成 20 年 9 月
佐藤 亘	SBI	JST 研究 補助員	研究データ収集・解析	平成 18 年 11 月～ 平成 19 年 5 月
守田 保道	SBI	JST 研究員	事務総括	平成 19 年 1 月～ 平成 20 年 9 月
蒔苗 浩司	癌研	JST 技術員	酵母細胞実験データ取 得及び解析	平成 19 年 1 月～ 平成 20 年 9 月
松原 和子	SBI	JST 技術員	酵母細胞実験データ取 得及び解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 9 月
松原 和子	独立行政法人 理化学研究所	客員 研究員	酵母細胞実験データ取 得及び解析	平成 19 年 6 月～ 平成 20 年 9 月
杉村 晴香	SBI	研究 補助員	SBML/SBW の実装	平成 19 年 5 月～ 平成 20 年 9 月
藤本 尚未	SBI	JST 技術員	酵母細胞実験データ取 得及び解析	平成 20 年 2 月～ 平成 20 年 9 月
藤本 尚未	独立行政法人 理化学研究所	客員 研究員	酵母細胞実験データ取 得及び解析	平成 20 年 2 月～ 平成 20 年 9 月
Samik Ghosh	SBI	JST 研究員	シグナル伝達系と細胞 周 期 の 数 理 解 析 、 SBML/SBW の開発	平成 20 年 3 月～ 平成 20 年 9 月
土田 直美	SBI	事務員	会計事務	平成 15 年 10 月～ 平成 16 年 8 月
牛渡 千恵	SBI	事務員	研究事務	平成 15 年 10 月 平成 20 年 9 月
増田 恭子	SBI	事務員	会計事務	平成 16 年 9 月～ 平成 20 年 9 月
John Doyle	CALTECH	教授	研究顧問	平成 15 年 10 月～ 平成 20 年 9 月
Michael Hucka	CALTECH	研究員	協力研究員	平成 15 年 10 月～ 平成 20 年 9 月
Tau-Mu Yi	UC Irvine	研究員	協力研究員	平成 15 年 10 月～ 平成 20 年 9 月
Andrew Finney	University of Hertfordshire	研究員	協力研究員	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 9 月
仲嶋 一範	慶應義塾大学	教授	研究推進委員	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 9 月
岡 浩太郎	慶應義塾大学	教授	研究推進委員	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 9 月

7. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 15 年 11 月 9 日	The First International Workshop on Systems Biology of Yeast	Washington University in St. Louis	約 80 名	ICSB2003 (11 月 5 日～10 日、Washington University in St. Louis にて開催。北野が Organizing Committee の Co-chair を務める。)の関連 Workshop
平成 18 年 2 月 11 日 ～12 日	The first international workshop on the Systems Biology Graphical Notation (SBGN-1)	産業技術総合研究所	約 30 名	分子間の相互作用を曖昧さなしに記述する表現言語、システムバイオロジーグラフィカル表現言語 (SBGN)開発の推進
平成 18 年 10 月 7 日	The Second Systems Biology Graphical Notation Workshop (SBGN-2)	横浜ワールドポーターズ	約 40 名	分子間の相互作用を曖昧さなしに記述する表現言語、システムバイオロジーグラフィカル表現言語 (SBGN)開発の推進。 世界各国から約 40 名が参加し、15 件の発表が行われた。SBGN の初期仕様となる SBGN draft に含まれる基本コンポーネントの定義が行われ、また、SBGN の記法として State Transition, Entity Relationship の二つの記法が採用されることが決定した。
平成 18 年 10 月 8 日 ～13 日	The seventh International Conference on Systems Biology 2006 (ICSB 2006, 第 7 回システムバイオロジー国際会議)	10 月 8 日: Tutorials@パシフィコ横浜 10 月 9 日～11 日: Conference@パシフィコ横浜 10 月 12 日～13 日: Workshop@横浜ワールドポーターズ、産業総合技術研	約 750 名	2000 年に JST 主催で東京にて開催。その後、パサデナ、ストックホルム、セントルイス、ハイデルベルグ、ボストンで開催され、数百人の参加者と高レベルの発表で、システムバイオロジーの分野を牽引してきた国際会議、ICSB を、平成 18 年は横浜で開催。主催者は、システム・バイオロジー研究機構、JST、理研 GSC、産総研。 世界 34 カ国から 750 名 (内、海外よりの参加数: 約 450 名、学生比率約 3 割)

		研究所 生命情報科学研 センター、 日本科学未 来館		の参加を得、さらにこの分 野のトップレベルの研究 者 50 名を招待講演者とし て招聘し、3 部門 17 セッシ ョンに亘るプログラムを 実施、389 件のポスター発 表が行われた。
平成 19 年 3 月 15 日 ～17 日	The Third Systems Biology Graphical Notation Workshop (SBGN-2.5)	Interdiscipli nary Center for Scientific Computing of the Ruprecht-K arls-Univers ity of Heidelberg, Germany	約 20 名	分子間の相互作用を曖昧 さなしに記述する表現言 語、システムバイオロジー グラフィカル表現言語 (SBGN)開発の推進。 世界各国から約 20 名が参 加し、SBGN の仕様の詳細 な策定、及び仕様の執筆が 行われた。シンボルの定 義、および、SBGN で使用 される標識(glyph)の最終 仕様が決定した。また、標 識以外にも State Transition 及び Entity Relationship の シンタックス、レイアウト のガイドラインの執筆が 行われた。
平成 19 年 9 月 30 日	The third international workshop on the Systems Biology Graphical Notation (SBGN-3)	Long Beach Convention and Entertainme nt Center, USA	約 30 名	分子間相互作用の標準記 法としての SBGN 開発の推 進
平成 20 年 1 月 28 日 ～2 月 2 日	SBGN-Super Hackathon	沖縄科学技 術大学院大 学セミナー ハウス	約 30 名	分子間相互作用の標準記 法としての SBGN 開発の推 進

(2) 招聘した研究者等

氏 名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Philip M. Kim (MIT, Artificial Intelligence Laboratory, USA, post-doc)	Job talk	北野共生システム プロジェクト システム・バイオロ ジー研究機構	平成 16 年 6 月 10 日～6 月 13 日
Marcus Krantz (Göteborg University, Sweden, Post-doc)	スウェーデン戦略財 団と日本学術振興 会の外国人研究員 招聘事業の研究員	同上	平成 17 年 11 月 1 日～ 平成 19 年 10 月 31 日

Lars-Göran Ottosson (Göteborg University, Sweden, Ph.D. student)	上記 Marcus Krantz の研究活動サポート	同上	平成 19 年 1 月 18 日～平成 19 年 4 月 17 日
Michel Francois Pettigrew (Pettigrew Consulting, USA)	Job talk	同上	平成 19 年 4 月 3 日～5 日
Ungsik Yu (Korea Institute of Bioscience and Biotechnology, Korea)	Job talk	同上	平成 19 年 5 月 17 日～19 日
Samik Ghosh (The University Of Texas At Arlington, USA, Ph.D. student)	Job talk	同上	平成 19 年 11 月 1 日～3 日
Samik Ghosh (The University Of Texas At Arlington, USA, Ph.D. student)	ワークショップ (FCSB-2008)参加、 着任準備等	同上	平成 20 年 2 月 3 日～9 日

8. 発展研究による主な研究成果

(1) 論文発表 (英文論文 29 件 邦文論文 0 件)

1. Le Nov`ere, N., Moodie, S., Sorokin, A., Hucka, M., Schreiber, F., Demir, E., Mi, H., Matsuoka, Y., Wegner, K., Kitano, H., Systems Biology Graphical Notation: Process Diagram Level 1 Release 1.0, http://sbgn.svn.sourceforge.net/viewvc/sbgn/ProcessDiagram/tags/Level1.0.0/sbgn_PD-level1.pdf, Aug. 2008.
2. Funahashi, A.; Matsuoka, Y.; Jouraku, A.; Morohashi, M.; Kikuchi, N.; Kitano, H. CellDesigner 3.5: A Versatile Modeling Tool for Biochemical Networks. Proceedings of the IEEE Special Issue: Computational Systems Biology. 96, 8, 1254-1265, Aug. 2008.
3. Kitano, H. Towards a theory of biological robustness. Molecular Systems Biology. 3:137, doi:10.1038/msb410079, 2007.
4. Funahashi, A.; Jouraku, A.; Matsuoka, Y.; Kitano, H. Integration of CellDesigner and SABIO-RK. *In Silico Biology*. 7 S1, 10, 2007.
5. Kitano, H. A robustness-based approach to systems-oriented drug design. Nature Reviews Drug Discovery. 6, 3, 202-210, 2007.
6. Murray, D.; Beckmann, M.; Kitano, H. Regulation of yeast oscillatory dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 104, 7, 2241-2246, 2007.
7. Murray, D.; Lloyd, D. A tuneable attractor underlies yeast respiratory dynamics. BioSystems. 2006.
8. Murray, D.; Lloyd, D. The temporal architecture of eukaryotic growth. FEBS Lett. 580, 18, 4571, 2006.
9. Moriya, H.; Shimizu-Yoshida, Y.; Kitano, H. In Vivo Robustness Analysis of Cell Division Cycle Genes in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS Genetics. 2, 7, 2006.
10. Oda, K.; Kitano, H. A comprehensive map of toll-like receptor signaling network. Molecular Systems Biology. msb4100057, E1-E20, 2006.
11. Kitano, H.; Oda, K. Self-Extending Symbiosis: A Mechanism for Increasing Robustness Through Evolution. Biological Theory. 1, 1, 61-66, 2006.
12. Kitano, H. Computational cellular dynamics: a network-physics integral. Nature Reviews

Molecular Cell Biology. 7, 3, 163, 2006.

13. Kitano, H.; Oda, K. Robustness trade-offs and host-microbial symbiosis in immune system. *Molecular Systems Biology*. msb4100039, E1-E10, 2006.
14. Hiroi, N.; Funahashi, A.; Kitano, H. Comparative studies of suppression of malignant cancer cell phenotype by antisense oligo DNA and small interfering RNA. *Cancer Gene Therapy*. 13, 7-12, 2006.
15. Hamahashi, S.; Onami, S.; Kitano, H. Detection of nuclei in 4D Nomarski DIC microscope images of early *Caenorhabditis elegans* embryos using local image entropy and object tracking. *BMC Bioinformatics*. 6, 125, 2005.
16. Oda, K.; Matsuoka, Y.; Funahashi, A.; Kitano, H. A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling. *Molecular Systems Biology*. msb4100014, E1-E17, 2005.
17. Lloyd, D.; Murray, D.B. Ultradian metronome: timekeeper for orchestration of cellular coherence. *Trends Biochem Sci*. 2005.
18. Kitano, H.; Funahashi, A.; Matsuoka, Y.; Oda, K. Using process diagrams for the graphical representation of biological networks. *Nature Biotechnology*. 23, 8, 961-966, 2005.
19. Kitano, H. International alliances for quantitative modeling in systems biology. *Molecular Systems Biology*. March 29, 2005.
20. Huaiyu Mi, Betty Lazareva-Ulitsky, Rozina Loo, Anish Kejariwal, Jody Vandergriff, Steven Rabkin, Nan Guo, Anushya Muruganujan, Olivier Doremieux, Michael J. Campbell, Hiroaki Kitano and Paul D. Thomas. The PANTHER database of protein families, subfamilies, functions and pathways. *Nucleic Acids Research*. 33, Database issue, D284-D288, 2005.
21. Kitano, H. Biological Robustness. *Nature Reviews Genetics*. 5 (11), 826-837, 2004.
22. Kitano, H.; Oda, K.; Kimura, T.; Matsuoka, Y.; Csete, M.; Doyle, J.; Muramatsu, M. Metabolic Syndrome and Robustness Tradeoffs. *Diabetes*. 53, S6-S15, 2004.
23. Oda, K.; Kimura, T.; Matsuoka, Y.; Funahashi, A.; Muramatsu, M.; Kitano, H. Molecular Interaction Map of Macrophage. *AfCS Research Reports*. 2 (14), 2004.
24. Kyoda, K.; Baba, K.; Onami, S.; Kitano, H. DBRF-MEGN method: an algorithm for deducing minimum equivalent gene networks from large-scale gene expression profiles of gene deletion mutants. *Bioinformatics*. 20 (16), 2662-2675, 2004.
25. M. Hucka; A. Finney; B.J. Bornstein; S.M. Keating; B.E. Shapiro; J. Matthews; B.L. Kovitz; M.J. Schilstra; A. Funahashi; J.C. Doyle; and H. Kitano. Evolving a lingua franca and associated software infrastructure for computational systems biology: the Systems Biology Markup Language (SBML) project. *IEE Systems Biology*. 1 (1), 41-53, 2004.
26. Murray, D. On the Temporal Self-Organisation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Genomics*. 5 (8), 665-671, 2004.
27. Kitano, H. Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 4, 3, 227-235, 2004.
28. Kitano, H. Tumour tactics. *Nature*. 426, 6963, 125, 2003.
29. Sauro, H.; Hucka, M.; Finny, A.; Wellock, C.; Bolouri, H.; Doyle, J.; Kitano, H. Next Generation Simulation Tools: The Systems Biology Workbench and BioSPICE Integration. *Omics A Journal of Integrative Biology*, 7 (4), 355-372, 2003.

①学会

国内 8 件, 海外 32 件

②その他

国内 51 件, 海外 27 件

(3) 特許出願 (SORST 研究の成果に関わる特許 (出願人が JST 以外のものを含む))

	件数
国内出願	2
海外出願	0
計	2

(4) その他特記事項

Nature/EMBO Molecular Systems Biology に北野の Towards a theory of biological robustness, Sept. 2007 が発表された際、同誌の 10 月の最も多くダウンロードされた論文となった。また、本プロジェクトからの 2 報の論文も Top 10 にランクインした。

1 位: "Towards a theory of biological robustness" Kitano 2007

8 位: "A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling" Oda et al. 2005

10 位: "A comprehensive map of the toll-like receptor signaling network" Oda and Kitano 2006

9. 結び

ERATO と SORST の通算 10 年間に於いて、システムバイオロジーという分野を提唱し、それを普及・推進し、その理論、情報、実験基盤を構築するというのが、大きな目標であった。それを、さらに強化するとともに創薬や治療法などへ展開する道筋をつけることが SORST での具体的な目標となった。これらの目標は達成できたのではないかと考えている。これらのプロジェクトを通じて我々が提唱したものの見方、方法論、技術などは、現在、国内外の製薬企業や創薬関連機器メーカーなどからの引き合いがあり、今後、産業への展開と事業化への道筋が見えてきた状況にある。10 年前の状況からは大きな変化であり、これは、JST の創造研究推進事業によるご支援と広く関係者のご努力、ご支援、さらに株式会社ソニーコンピュータサイエンス研究所の関係者のご理解がなければありえなかったと思う。ここに関係者に感謝を表したい。

ただ、日本発の分野にも関わらず、欧米でのプログラムや資金の方がはるかに潤沢で、日本では、研究の継続が極めて困難な状況であるという点が残念である。

国際的には、システムバイオロジーが、大きな分野となりその重要性が認められている。このことは、諸外国の取り組みから明らかである。また、ノーベル委員会は、2009 年にシステムバイオロジーをテーマとしたノーベル・シンポジウム(Nobel Symposium on Systems Biology in Chemistry, Physics, and Medicine)を開催することを決定した。私も招待を受けている。いずれこの分野での研究にもノーベル賞が与えられることになるであろう。

幸いにして、私は、この期間、株式会社ソニーコンピュータサイエンス研究所 (ソニー CSL)

を本務としてきたために、短期的な評価などを気にせずに、長期的な視点で研究を推進することができた。ソニーCSLの経営・運営方針は、世の中に大きな影響力を持つような研究を、長期的に推進するということである。個々の研究の成果もさることながら、分野の創生など、長期的な流れに影響を与える活動が大きな成果と見なされる。本務先であるソニーCSLが、このような方針であったことが幸いであった。

さらに、ERATOの後半から、特定非営利活動法人システムバイオロジー研究機構（SBI）を設立し、SORSTでは、SBIが活動の母体となり、JSTからの委託研究としてプロジェクトを実行した。これによって、JSTの資金で補えない部分や関連研究を、別の研究資金を獲得することで有機的に連動するプロジェクト群を遂行するという体制が整った。JSTの創造科学推進事業、ソニーCSL、SBIの組み合わせは、非常に絶妙なものであったと考えている。

システムバイオロジーのような分野の立ち上げは、認知され、まとまった具体的な成果が出るには最低でも数年はかかる。初期の段階では、生物学者や医学系の研究者からは、コンピュータ屋さんのお遊びと捉えられたことも多かった。しかし、中には、当初からその意味を理解した人もいた。たとえば、シドニー・ブレナー博士は、我々がERATOプロジェクトを開始した直後に、「面白いことと始めると聞いたので、説明してくれ」といって、突然、我々のラボを訪れ、皆を驚かせた。後日、本人から直接聞いた話では、私が1994年にブレナー博士宛てに、線虫発生過程の詳細なコンピュータモデルを作りたいので会って話をしたい、と書いた手紙のことを覚えていたということである。ブレナー博士が、我々のプロジェクトの最初の訪問者であった。しかし、やはり継続は力なりで、状況は大きく変わりつつある。まだ、日本国内での認知は十分ではないが、システムバイオロジーは、メインストリームのバイオロジーへの道を歩み始めていると思う。

このような流れを確実にするには、プロジェクトの成果とともに、人材の育成が大切である。たぶん、人材育成の方が、長期的には分野の隆盛に大きな影響があるであろう。私は、研究者のキャリア・ステージによるものの、参加期間を概ね3~4年で、独立した研究者のポジションを得てプロジェクトを離れることを奨励した。同じ研究テーマを継続するなら、その後、私との共同研究とすればよい。私は、研究員には、ある程度自由に研究をやっていただいたが（特に、ERATOの時代はそうである）、大きなプロジェクトの中での自由と、独立して得ることの自由はその質と責任が根本的に違う。できるだけ若いうちに独立すべきであるというのが私の考えである。ERATOとSORSTの期間を通じて、システムバイオロジー関連で、8名（上田（理研・神戸）、大浪（理研・横浜）、Hucka（Caltech）、Sauro（Univ. Washington）、Yi（UC Irvine）、Murray（慶應・鶴岡）、舟橋（慶應・理工）、守屋（JST さきがけ））のPIを輩出し、さらに数名が新たなプロジェクトに移籍し活躍をしている。今後のさらなる活躍を期待したい。

このプロジェクトは終了するが、システムバイオロジーは、さらに発展し生物学の本流となっていくであろう。生命科学において、20世紀後半が分子生物学の時代であったように、21世紀はシステムバイオロジーの時代になるであろう。本プロジェクトの本当の価値は、その時に歴史が下すのであろう。

To be continued...