



数理モデルを用いた肝臓内の脂質代謝にみられる空間的不均質性の合理性の解明

The rationality of spatial heterogeneity in hepatic lipid metabolism: a mathematical model and computer simulation study

政策・メディア研究科 先端生命科学プログラム (BI) 修士課程 2 年 戸塚健介

要旨

肝臓はヒトなど多くの脊椎動物の最大実質臓器であり、生命活動の維持に不可欠な様々な代謝機能や、恒常性の維持に寄与する。肝臓の組織学的構成単位である肝小葉内には、血流の上流から下流にかけての血中物質濃度勾配による不均質性と、位置特異的な遺伝子制御による代謝動態の不均質性の、二重の不均質性が存在する。肝小葉内の代謝機能の不均質性が自然選択を経て現存している理由について、定量的な検討はほとんど進んでいない。本研究では肝臓の脂質代謝に関する不均質性に着目し、肝脂質代謝を模した数理モデルと遺伝的アルゴリズムを用いて進化シミュレーションを行い、現存している肝脂質代謝の空間的不均質性がいかなる選択圧によって獲得されたのか推定を試みる。これまでに肝脂質代謝を表現する数理モデルを構築し、シミュレーション結果を先行研究のデータを比較することで、モデルの検証を行った。検証の結果、シミュレーション結果と先行研究のデータは一致せず、モデル内のグルコースに関連する代謝経路の実装に不備があると推測された。

生体における肝臓の役割

肝臓は生命活動に不可欠な多数の代謝機能を担い、物質の生合成、貯蔵、分解を行うことで生体内の物質恒常性を維持している。肝臓は酸素濃度の高い血液が流入する肝動脈と、消化管で吸収した物質を含む血液が流入する門脈の2つの経路から入力を受ける。肝臓の代謝により成分調整された血液は、肝静脈を経て体循環へと加わる (図1)。

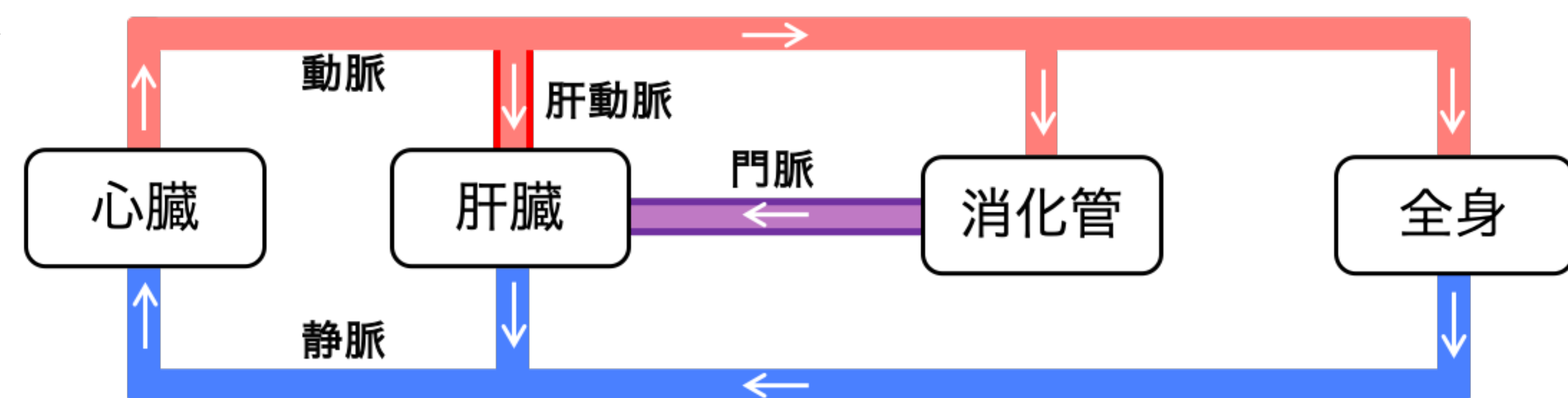


図1 体循環における肝臓の位置.

肝臓の構造と代謝区域化 (metabolic zonation)

肝臓の構造

肝臓は組織学的構成単位である肝小葉の集合した実質臓器である（図2A, B）。ヒトの場合、肝臓には約2500億個の肝細胞が存在する。肝小葉内の血流は**一方向性**であり、流入部である門脈域から、流出部である中心静脈域までの **porto-central axis**（門脈-中心静脈軸, PCA）で肝臓が担う代謝が行われる（図2C）。つまり、肝臓が担う代謝の総和は、肝臓内の全てのPCAで行われる代謝の総和と等しい。

脂質・エネルギー代謝の metabolic zonation

門脈域の肝細胞が腸管で吸収された雑多な物質を含む血液に触れる一方、中心静脈域の肝細胞は小葉内の代謝により成分調整された血液に接している。これにより、肝小葉内には**物質濃度勾配による代謝機能の不均質性**が存在する。例えば、門脈域は酸素濃度は高く、中心静脈域では低い（図2D）。

加えて、**代謝機能を制御する一部の遺伝子発現にも PCA 上での位置特異的な活性化**が存在する（図2D）。門脈域では脂肪酸の取り込み、脂肪酸酸化、糖新生が亢進する。中心静脈域では、グルコースの取り込み、脂質生合成、解糖が亢進する。

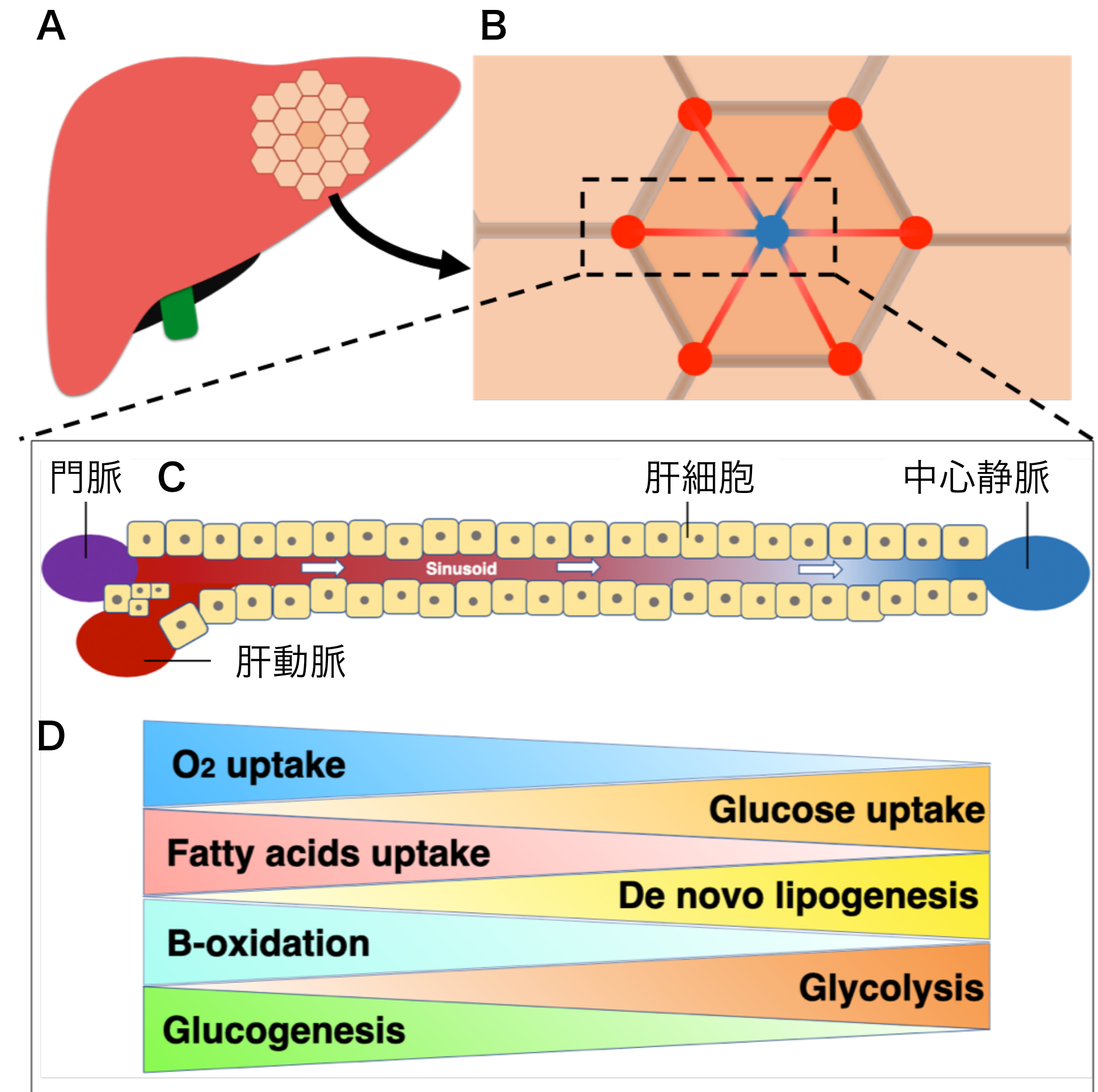


図2 肝臓-肝小葉-PCA構造とmetabolic zonation. (A)肝臓. 肝臓は約50万個の肝小葉によって構成される. (B) 肝小葉の概念図. 1つの肝小葉は約50万個の肝細胞を持つ. (C) 門脈-中心静脈軸 (PCA). (D) 肝小葉内の脂質・エネルギー代謝に関するmetabolic zonation.

本研究の問い

Metabolic zonation が自然選択を経て現存しているなら、進化の過程で淘汰された zonation と比較した場合、何かしらの選択圧に対して適応度が高い構造であったはずである。

本研究では数理モデルとコンピュータシミュレーションを用いて、**現存する肝小葉内に存在する脂質代謝機能の空間的不均質性 (metabolic zonation) がいかなる選択圧によって獲得されたのか**推定を試みる。

研究手法

- 1. 肝臓の脂質代謝の zonation を表現した数理モデル（以下 zonation 型モデル）を構築する。（環境: E-Cell3）
- 2. zonation 型モデルのモデルパラメータに変異を加えたモデルを数千個以上作成する（zonation 変異モデル群）。
- 3. zonation 型モデルと zonation 変異モデル群を、選択圧として想定されうる様々な要素についてランク付けを行い、自然選択を経て現存している肝脂質代謝の zonation がいかなる選択圧によって象られたものであるのかを推定する。

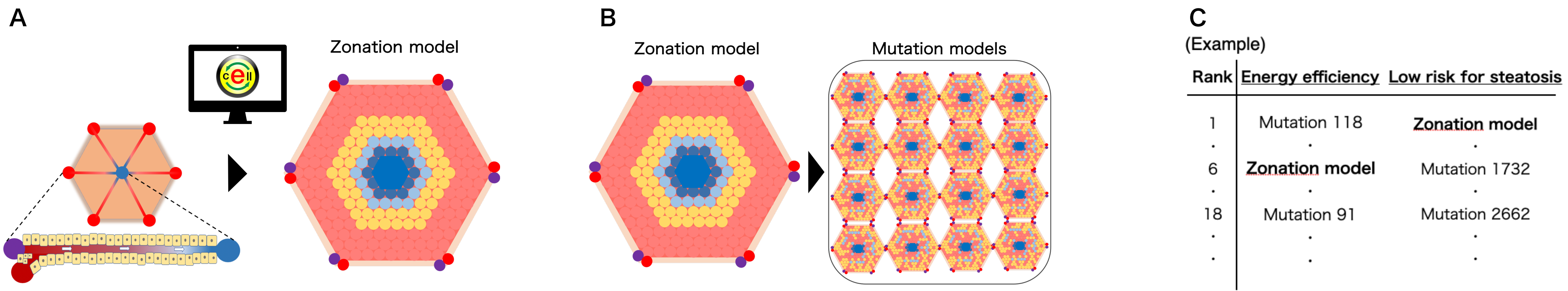


図3 本研究の流れ. (A) 現存する zonation 型モデルの構築. (B) 現存する zonation 型モデルを基点とする zonation 変異モデル群の構築. (C) モデルの比較と現存する zonation の機能的意義の探索

モデル

本研究で構築するモデルは、下記の2つのモデルによって構成される。

(Ashworth, W. B. *et al.*, *PLoS comput. Biol.*, 2016. を参考に作成)

肝細胞モデル (図4)

脂質代謝（脂質生合成、脂質分解、脂肪酸酸化）および関連するエネルギー代謝（解糖系、糖新生、グリコーゲン合成および分解、ATP産生）を表現する。

全身モデル (図5)

肝臓と肝臓以外の区画によって構成される。肝臓の区画では PCA を8区画に分けることで zonation を表現する。各区画には肝類洞の小区画と肝細胞モデルが含まれている。肝臓以外の区画では膵臓のホルモン分泌、摂食、脂肪組織での脂質代謝が表現される。

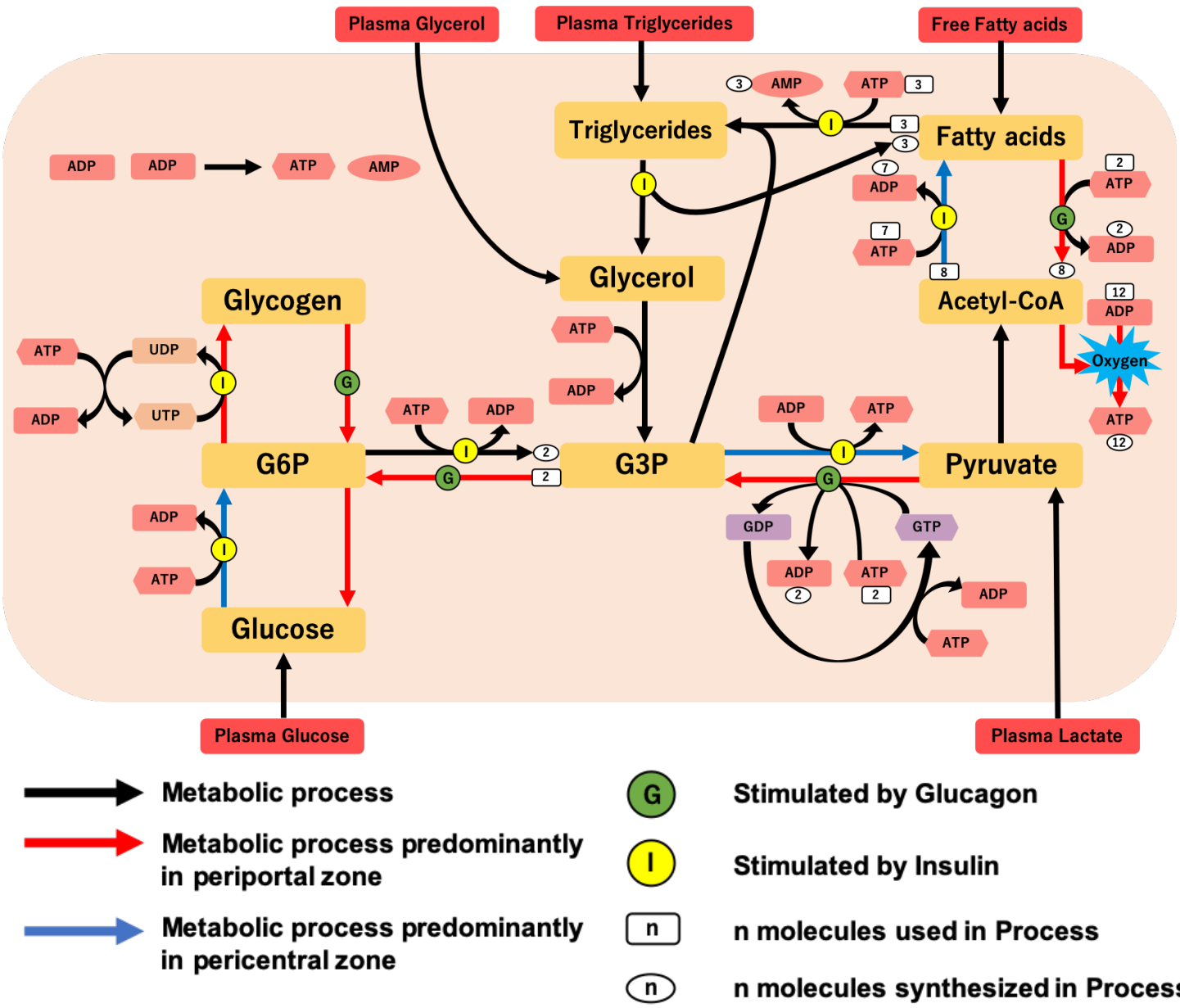


図4 肝細胞モデルの概念図。

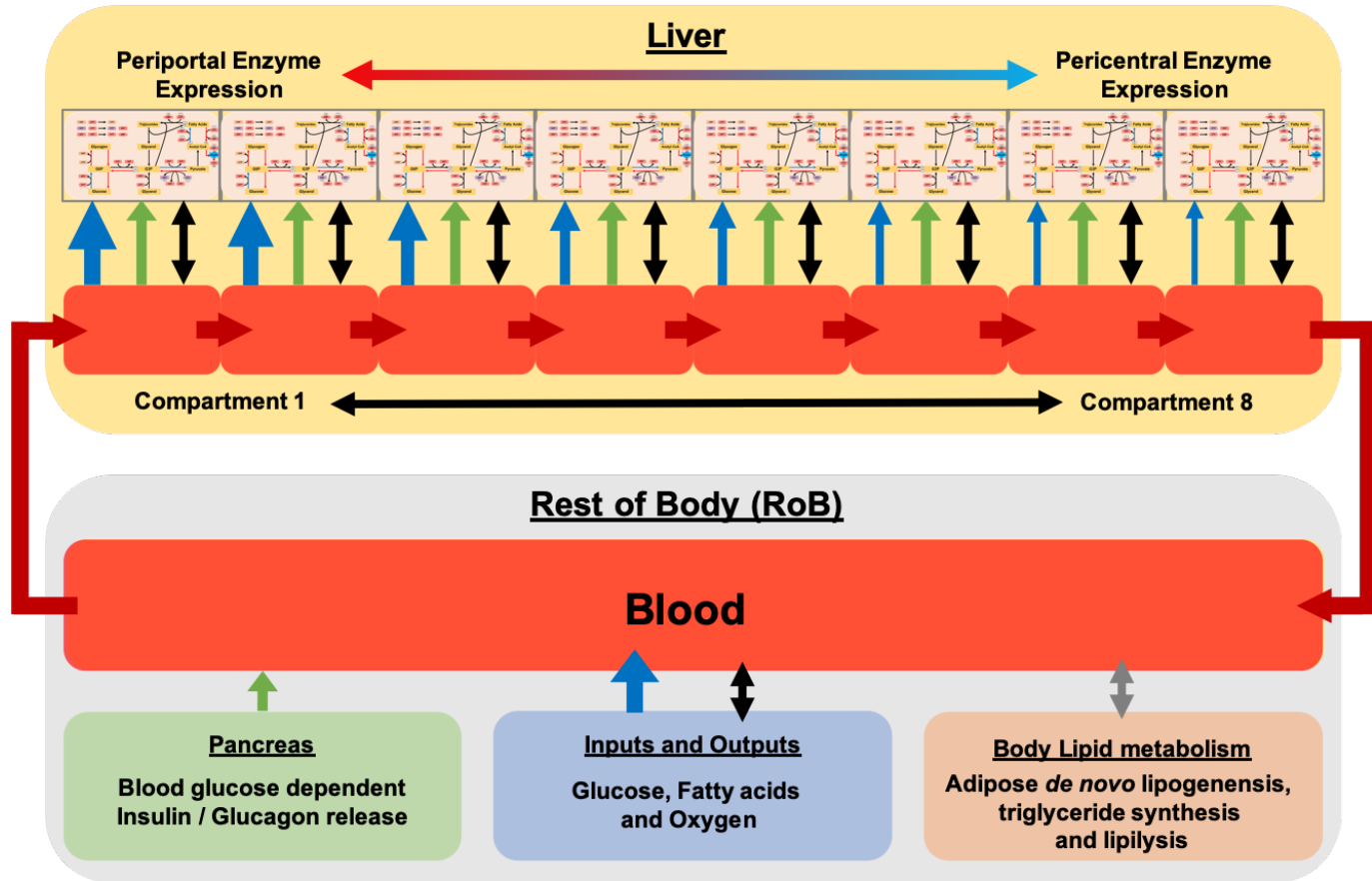


図5 zonation 型モデルの全体の概念図。

赤矢印：血流、青矢印：酸素の取り込み、
緑矢印：ホルモン（インスリン・グルカゴン）の分泌および刺激、
上下矢印：血中物質の移動

結果① モデル検証：反応速度式

- 構築したモデルと先行研究のモデルの各代謝経路の反応速度式を比較（先行研究の初期値を用いて1ステップのシミュレーション）
- 先行研究のシミュレーション環境を用意できなかったため、先行研究の反応速度はモデルファイルを Python に移植して得た。

結果：反応速度の値は一致した。（数値計算上の誤差有り）

表 1 肝細胞モデルの代謝経路の反応速度比較（例: 区画 1）。

Validation of reaction rate(μM/s) in hepatocyte model (compartment 1).			
Process	Previous study	E-Cell3	Relative error※
Glycolysis stage 1 by phosphofructokinase.	1.633E+01	1.633E+01	-2.034E-08
Pyruvate oxidation	2.253E+00	2.253E+00	4.257E-08
Triglyceride Synthesis	3.306E-01	3.306E-01	-1.027E-08
Lipolysis	2.062E-02	2.062E-02	-1.659E-08
Glycerol Kinase	2.456E+00	2.456E+00	3.751E-08
Glucose-6-Phosphatase	1.786E+01	1.786E+01	1.281E-08
Glycogen Synthesis	5.786E+00	5.786E+00	1.400E-08
Glycogen Phosphorylation	5.834E+00	5.834E+00	8.905E-09
Gluconeogenesis stage 1 (Pyr→G3P)	2.514E+01	2.514E+01	-9.486E-09
Gluconeogenesis stage 2 (G3P→G6P)	2.608E+01	2.608E+01	-2.976E-08
β-Oxidation	1.807E+00	1.807E+00	2.336E-08
ATP Synthesis	1.204E+01	1.204E+01	3.335E-08
Glucokinase	8.714E+00	8.714E+00	-2.489E-08
Lipogenesis	1.443E-01	1.443E-01	-4.855E-08
Glycolysis stage 2 by pyruvate kinase	5.478E+00	5.478E+00	3.906E-08
Adenosine Kinase	2.810E-02	2.810E-02	-2.386E-08
Cellular ATP consumption	1.063E+02	1.063E+02	2.868E-08
Inorganic Phosphate Regulation	-3.660E+01	-3.660E+01	-4.169E-08
Nucleoside Diphosphate Kinase(GTP→GDP)	-6.065E+01	-6.065E+01	3.041E-08
Nucleoside Diphosphate Kinase(UTP→UDP)	1.042E+01	1.042E+01	4.498E-08
Glucose Uptake	7.835E+00	7.835E+00	2.523E-08
Glycerol Uptake	0.000E+00	0.000E+00	-
Lactate Uptake	-1.176E+01	-1.176E+01	-1.907E-08
Fatty acids Uptake	9.594E-01	9.594E-01	-2.377E-08
Triglyceride Uptake	-9.735E-02	-9.735E-02	3.135E-08
Triglyceride Output	1.351E-01	1.351E-01	-1.655E-08

※ (E-Cell3 - Previous study) / Previous study

結果② モデル検証：先行研究との肝細胞モデル内の物質濃度の比較

- モデル構築で参考とした先行研究では、先行研究のモデルのシミュレーション結果と実験値の比較を通して、モデルの検証が行われていた。本研究で構築したモデルでも、先行研究のモデル検証と同一の条件でシミュレーションを行い、先行研究の値と比較を行った（表2）。
 - シミュレーション時間：4 時間
 - 数値：シミュレーション時間における各物質の平均モル濃度

表2 4時間あたりの肝細胞モデル内の各物質の平均濃度.

The average concentration of hepatic molecules (μM), over each 4 hour input cycle.

Variable	Previous study	E-Cell3
Phosphate	3960 (3971-4011)	4145 (4143-4159)
ATP	2820 (2640-2960)	2407 (1935-3104)
ADP	832 (765-926)	995 (665-1194)
AMP	269 (223-337)	519 (161-791)
UTP	324 (205-365)	295 (236-383)
UDP	67 (27-188)	97 (9-167)
GTP	274 (271-275)	266 (257-278)
GDP	101 (100-104)	108 (96-117)
Glucose	8240 (7280-10000)	29460 (563-67133)
G6P	85 (31-126)	156 (20-246)
GADP (G3P)	236 (195-312)	313 (162-395)
Acetyl-CoA	46 (35-58)	64 (58-75)
Glycogen	200000 (0-500000)	206903 (185318-246984)
Triglycerides	38100 (37600-38400)	21013 (18252-26536)

数値は 4時間周期での平均値（最小値-最大値）

結果からの考察

- 比較の結果、先行研究の値と一致しなかった。グルコースの過度な蓄積により、グリコーゲンや解糖系の下流物質であるG6PやG3Pの増加を引き起こしていると推測される。
- 肝細胞モデル内のグルコースの物質収支に関わるのは、Glucose uptake、Glucokinase、Glucose-6-Phosphatase（式1）であり、いずれか（あるいは全て）の Process によって過度な蓄積が引き起こされているはずである。

$$\frac{dG_c}{dt} = -\mathbb{R}_{GK} + \mathbb{R}_{G6Pase} + \mathbb{R}_{Glut}$$

$\mathbb{R}_{Glut}$

Glucose Uptake.

$\mathbb{R}_{GK}$

Glucokinase.

$\mathbb{R}_{G6Pase}$

Glucose-6-Phosphatase.

式1 肝細胞モデル内のグルコースの物質収支式.

- 結果①から代謝経路の反応速度式に問題があるとは考えにくいため、全身モデルのシミュレーション結果からグルコースの過度な蓄積の原因を探索すると、肝類洞区画のグルコース濃度が上流から下流へと勾配していないことがわかった（図6）。

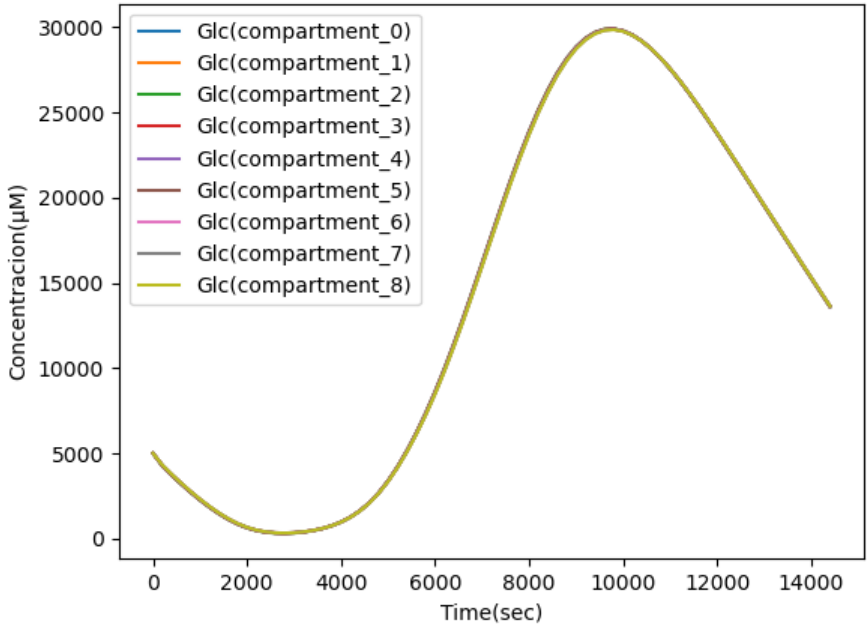


図6 4時間あたりの血中グルコース濃度変化.

PCA上でのグルコース濃度勾配がなく、全区画で濃度が一定である。
時間変化による濃度の増減は摂食によるグルコースの取り込みに拠るもの。