実験技術

PhysioDesigner による生理機能の多階層モデリング

浅井 義之¹⁾, 安部 武志¹⁾, 北野 宏明^{1,2)}

要約: 近年, フィジオーム・システムバイオロジーと呼ばれる分野がめざましい成果をあげている。還元主義的生命科学の成功から得られた膨大で精密な実験データに基づいて構築された数理モデルが果たした役割が大きい。生体システムに含まれる要素の多さ, 関連の複雑さ, 非線形性などのため, データに基づく思考実験からその機能発現のメカニズムを推定することは難しい。このため, タンパク質レベルから臓器・個体レベルまで, 各階層における, あるいは階層横断的な生理機能を定量的に記述し, つまり数理モデルを構築し, 数値シミュレーションによりダイナミクスを取り出すという手法がしばしばとられる。多くの場合, これらのモデルを薬剤の効果・毒性評価や診断などへ応用することを目的としているため, より網羅的でより精密なモデルを構築することが求められる。詳細生理モデルの開発には研究者間でのモデルの再利用や共有が有効であり, そのような活動をシステムティックにサポートする枠組みが必要とされている。このための技術開発の重要性も世界中で広く認識されている。本稿では, 近年我々のチームが開発を続けてきた生理機能の多階層モデリングをサポートするためのソフトウェア PhysioDesigner を用いたモデリング技法の一端を紹介する。

1. はじめに

実験技術の発展を背景に, これまでの生命科学は系をより単純化し分析的に明らかにしようとする還元主義的アプローチを推し進め大きな成功を収めてきた。その後, そこから得られた膨大な成果を統合し生命機能を総体的なシステムとして捉え理解することを目指す科学の重要性が認識され始め, 国際生理科学連合

(IUPS) においてフィジオーム・プロジェクトのコンセプトが提唱されたのが1993年である。それから20年余りが経った。

端的に言えば, 生命科学における還元主義的情報の総体を扱う学問分野をフィジオーム, その総体を生体機能として理解するための原理解明を目指す分野がシステムバイオロジーと呼ばれている(1, 2)。近年提唱されている多階層生体機能学, 統合生命科学, 統合生理学などといった学問分野もフィジオーム・システムバイオロジーの枠組みと同等の定義であると考えて良いであろう。また, systems cell biology, systems cancer biology など派生的な名称を用いた研究分野が開拓されたり, システムバイオロジーの技術を応用して創薬や創薬支援を行うベンチャーが起業されたりもしていることを鑑みると, その裾野は今日に至るまで着実に広がってきている。

システムバイオロジー的アプローチにおいては, 実験データに基づいて構築された生理機能の詳細数理モデルが重要な役割を果たす。モデルは複雑化・巨大化する傾向にあり, それらを効率的に開発するためには, 研究者間でモデルを共有・再利用することが有効である。そのような活動をシステムティックにサポートする基盤となる枠組みを開発する重要性は広く認識されており, 世界的にも IUPS Physiome Project, EuroPhysiome など, いくつかの拠点を中心に進められている。

2003年に生化学反応のモデルを記述する構造化言語 Systems Biology Markup Language (SBML) が提案されたのが一連の技術開発の草分けといえる(3)。同じ頃 IUPS Physiome Project において CellML というモデル記述言語が提案されている(4)。モデリングサ

キーワード: 多階層数理モデル, シミュレーション, システムバイオロジー, フィジオーム

¹⁾ 沖縄科学技術大学院大学統合オープンシステムユニット (〒904-0495 沖縄県国頭郡恩納村字谷茶 1919-1)

²⁾ システム・バイオロジー研究機構 (〒108-0071 東京都港区白金台 5-6-9 ファルコンビル 5F)

E-mail: yoshiyuki.asai@oist.jp 原稿受領日: 2015年10月26日, 依頼原稿

Title: Multilevel modeling of physiological systems on PhysioDesigner

Author: Yoshiyuki Asai, Takeshi Abe, Hiroaki Kitano

ポートのためのソフトウェアも並行して整備されてきた。SBML モデルをグラフィカルに開発するためのアプリケーションである CellDesigner(5) を筆頭に、今日では SBML に対応するアプリケーションは <http://sbml.org> にリストされているだけでも 280 を数える。2007 年グローバル COE「医・工・情報学融合による予測医学基盤創成」(代表: 野村泰伸教授・大阪大学) において、生理レベルのモデルを記述するための言語 *insilicoML* (ISML) (6), ISML モデルの開発をサポートするためのソフトウェア *insilicoIDE* (7) ならびにシミュレータ *insilicoSim* (8) の開発が行われた。これらの技術はそれぞれ Physiological Hierarchy Markup Language (PHML) と PHML に対応したモデル開発環境 PhysioDesigner, そしてシミュレータ Flint として継承され、2010 年新学術領域「統合的多階層生体機能学領域の確立とその応用」(代表: 倉智嘉久教授・大阪大学) の支援を得ながら、沖縄科学技術大学院大学を中心に現在も開発が進められている (9)。PhysioDesigner と Flint は <http://physiodesigner.org> においてフリーソフトウェアとして公開されている。

本稿では PhysioDesigner を中心に生理機能の多階層モデルの開発手法について概説する。

2. PhysioDesigner の概要

PhysioDesigner ではモデリング対象をモジュールに分割してモデル化する。複数のモジュールの集合をまとめて一階層上位概念のモジュールとして扱うこと

により、階層的な構造をモデル内で表現する。例えば、1 つの「細胞」をモジュールとして扱い、細胞の集合である「組織」を 1 つのモジュール、さらにその集合として「臓器」を 1 つのモジュールとして扱う。

生理機能中において時々刻々変化する化合物やイオンの濃度、あるいは膜電位といった物理量は *physical quantity* として各モジュール内に定義される。それらのダイナミクスは明示的に微分方程式などの数式で記述される。あるモジュールの中で、他のモジュールに定義されている *physical quantity* の値を参照する依存関係は、モジュールに定義されるポート (値の入出口に相当する) と、そのポート間をつなぐ有向エッジを用いて定義される。

この仕組みにより、モデルの物理的・論理的な構造は木構造で階層化され、機能的にはネットワーク構造としてデザインされる。PhysioDesigner 上ではこのモデリングプロセスをグラフィカルに進めることができる (図 1)。モジュールや木構造の一部をコピー & ペーストで再利用できるのが、このモジュール構造の利点であるが、モデルサイズが大きくなるにつれ機能的ネットワークは複雑になり、エッジが絡み合うため一部のモジュール構造の再利用などが難しくなる。

この問題を回避しモデルまたはモデルの一部の再利用性を高めるために、カプセル化という概念が導入されている。ひとまとまりの機能を果たす複数のモジュールをカプセルモジュールと呼ばれる *physical quantity* を持たない特別なモジュールで束ねる機能である。カ

図1 PhysioDesigner と Flint のスナップショット

上: PhysioDesigner のモジュールをグラフィカルに操作するキャンパス。右下: モジュールに *physical quantity* を定義するダイアログ。
左下: シミュレータ Flint。

プセルモジュールの中にあるモジュールへは、外から直接エッジ接続できない仕様になっている。その代わり、カプセルモジュールにその内外を接続するインターフェイスとなるポートを定義することができる。つまり、カプセルモジュール単位だと、エッジに煩わされることなく容易に再利用することができる。

PhysioDesigner 上で作成されたモデルは PHML という XML ベースの構造化言語で記述される。PHML はモジュールが構成するツリー構造とネットワーク構造を記述しやすいように設計されている。

3. PhysioDesigner 関連ツール

PhysioDesigner と連携するように設計されたシミュレータや可視化ツールも同時に開発が進められている (図 2)。PHML モデルのシミュレーションは Flint で実行することができる。Flint は PHML の他、SBML モデルや次章で紹介する SBML-PHML ハイブリッドモデルにも対応している。Flint は MIT ライセンスのもとオープンソースとして公開されている (<https://github.com/flintproject>)。スタンドアローン・アプリケーションとして動作する Flint の他、クラウドコンピューティングに対応した Flint K3 の開発も並行して進められている。<http://flintk3.org> からアクセスすることができる。ローカルに持っているモデルをアップロードしてシミュレーションを実行できるほか、Physiome.jp の PHML モデルデータベース (PH Database) (10) から直接モデルを取得しシミュレーションを実行するこ

とができる。ちなみに、PhysioDesigner も PH Database と直接連携して、モデルのダウンロード、アップロードを行うことができる。

PhysioDesigner では形状をモデルに反映させることができる。例えば、心室筋細胞モデルを心室形状に配列し、心室上を活動電位が伝播する様子をシミュレーションしたりできる。そのようなモデルのシミュレーション結果を 3 次元可視化するためのソフトウェア PhysioVisualizer が開発されている。時間軸情報を含む Flint により生成されたシミュレーション結果を動画として可視化できる。PhysioVisualizer は <http://physiome.jp> から無料で公開されている。この他同サイトでは、Flint が生成するシミュレーション結果の線グラフを描画するための PH Plotter なども公開されている。

4. SBML-PHML ハイブリッド多階層モデリング

本章では PhysioDesigner のモデリング手法について、特に SBML-PHML ハイブリッドモデリングに焦点を当てて紹介する。このモデリング手法は SBML と PHML の得意分野を活かした、PhysioDesigner が提供するユニークな多階層モデリング手法の 1 つである (11)。

SBML は、遺伝子発現、タンパク質相互作用など細胞内現象のモデルを記述するのに優れた構造化言語である。この SBML で書かれたモデルを丸ごと PHML のモジュールにインポートすることで SBML-PHML

図 2 PhysioDesigner と連携するツール

左上: Physiome.jp で管理している PHML モデルのデータベース。左下: iPad, iPhone 上で Flint K3 にアクセスしている画面。Flint K3 はパソコンのブラウザ上からもアクセスすることができる。右上: 形態も含めて可視化する PhysioVisualizer。シミュレーション結果をアニメーションとして表示できる。右下: Flint のシミュレーション結果をプロットする PH Plotter。

ハイブリッドモデルが構成される。つまり、モジュールにインポートされた SBML モデルが細胞内現象を表し、細胞以上のレベル（組織や臓器など）の現象は PHML で表現されることになる。

例として Yamashita らが行った生理学的薬物動態 (PBPK) モデルに基づく薬物相互作用シミュレーションをとりあげ紹介する(12)。抗生物質であるリファンピシンを併用すると、アルプラゾラムなど CYP3A4 基質薬物の投与後血中濃度が単独投与時ほど十分に上昇しないという現象が知られている(13)。これは、リファンピシンが薬物代謝酵素の一つである CYP3A4 を誘導し、その後に投与された CYP3A4 基質薬物の代謝が促進されることによると考えられる。Cytochrome P450 (CYP) は薬物等の酸化的代謝を担う主要な酵素ファミリーで、その中でも CYP3A は市販薬の約 30% の肝代謝に関与すると報告されている最も重要な酵素である(14)。

ヒト肝細胞にリファンピシンを作用させたときの CYP3A4 の mRNA の転写および酵素活性の変動に関するデータに基づいて、Yamashita らはまずリファンピシンによる CYP3A4 発現変動に関する SBML モデルを CellDesigner を用いて構築した(図 3)。リファンピシンは核内受容体 (PXR) と結合することがよく知られており、このモデルでは受容体との結合後に CYP3A4 の mRNA の転写過程が活性化され、結果として CYP3A4 の発現量が増加するプロセスが再現されている。

一方で、リファンピシンならびにアルプラゾラムに関して、肝臓のみを考慮した簡略化した生理学的薬物速度論 (physiologically based pharmacokinetics: PBPK) モデルを PhysioDesigner 上で構築し、各薬物の動態を検討した。経口投与された薬物は消化管から

吸収され、循環血に乗って各臓器に運ばれ分布し、肝臓や腎臓などの消失臓器で代謝や排泄を受けて体内から消失する。この過程をコンパートメントモデルとして表現し薬物の全身動態を記述するのが PBPK モデルである(15)。各臓器モデルには生理学的・解剖学的・生化学的な様々なパラメータが設定される。

PhysioDesigner 上でこのような PBPK モデルをモジュールのネットワークとして表現する形式は一通りではないが、例えば図 4 に示すようにそれぞれの臓器を 1 モジュールとして表現することができる。ここでは、動脈、静脈もそれぞれ 1 つのモジュールとして表現されている。

各臓器モジュールには、薬物の組織血液間分配比や組織固有クリアランスなどで規定される薬物濃度のダイナミクスが定義される。薬物の消失がない基本的な臓器の場合、臓器内の薬物濃度の変化は、血流による薬物の単位時間あたりの流入出量の差分を臓器の体積で割ることで得られる。流出量の計算には組織血液間分配比を考慮する。実際には、これに加えて各臓器特有の要素を考慮する必要がある。例えば、腸における薬物の吸収、肝臓における脾臓や腸からの流入ならびに代謝による消失、あるいは腎臓における糸球体からの濾過などである。そのような場合、PhysioDesigner では図 4 に示した基本的なモジュール構造はそのままに、各臓器をカプセル化し、その内部に複数のモジュールからなるサブツリーを構成することで、階層的に詳細化することができる。

PBPK モデルに使われるパラメータの値は薬物により異なるため、薬物ごとに PBPK モデルを構築することになるが、構造は同じでパラメータを調整するだけでよいので一度 PBPK モデルを作ってしまう後はモ

図 3 CellDesigner 上で構築したリファンピシンによる CYP3A4 発現変動に関する SBML モデル

図4 PhysioDesigner 上で構築された生理学的薬物速度論モデル

Physiome.jp の PH Database 中に収録されている Model ID 779 のモデルを PhysioDesigner 上で表示した。

デリングの手間はさほどかからない。

リファンピシン併用時におけるアルプラゾラムの体内動態変動，すなわち薬物間相互作用を予測するために，この2つの薬物に関するPBPKモデルを連結させる．具体的には，リファンピシンに関するPBPKモデル中の肝臓における遊離薬物濃度を，先ほどのCYP3A4発現モデルに入力し，そのCYP3A4の発現量をアルプラゾラムに関するPBPKモデルの肝臓における代謝過程に反映させる．このときに，SBMLで書かれているCYP3A4発現モデルをPhysioDesigner上でモジュールに取り込み，モジュールネットワークの一部として活用するのである。

図5にYamashitaらが用いた腸と肝臓のみに注目した単純化したPBPKモデルを示す．Bodyモジュールの中に腸モジュール，肝臓モジュール，血流モジュールが配置されている．各モジュールの中に2つの薬物それぞれの濃度計算モジュールがある．肝臓モジュールの中において，CYP3A4の発現に関するSBMLモデルをインポートしたモジュールを介して二薬の濃度計算モジュールが接続されている。

最初の5日間は2薬を同時に1日毎，以後はアルプラゾラムのみを2日毎に投与した場合のシミュレーション結果を図6に示す．リファンピシン（破線）投与期間中にCYP3A4の誘導量が増加し（黒線），同時にアルプラゾラム投与時の血中濃度（グレー線）の増加量が日に日に小さくなる様子が観察できる．そして，

リファンピシン投与を停止した後は，CYP3A4の誘導量は低下し，アルプラゾラム投与時の血中濃度の増加量は回復した。

5. おわりに

生理機能の多階層モデリングを実現するソフトウェアプラットフォームとして，PhysioDesignerのSBML-PHMLハイブリッドシミュレーション技術に焦点をあてて紹介した．本文では誌面の都合で触れることができなかったが，PhysioDesignerの特徴的な機能として，数理モデルに形状データや時系列データを統合することもできる．臓器や細胞などの形状を考慮する際にテンプレート・インスタンスと呼ばれる大規模モデル作成支援フレームワーク(16)を併用することで，例えば，心室上の興奮伝播や細胞質中での物質拡散といった生理機能のシミュレーションをすることができる．また，時系列データをモデルに統合することで，例えば，実験から得られた時系列データを用いてモデルを駆動するハイブリッドシミュレーションや，部分空間においてモデルのダイナミクスを拘束するようなシミュレーションを実行することができる。

これらツールの使用方法やチュートリアルはPhysioDesigner.orgやYouTubeのPhysioDesignerチャンネルで見ることができる．2015年10月現在20数編のチュートリアル動画がアップロードされているが，今後さらに充実させる予定である．一般的なモデル作

図5 PhysioDesigner 上に表示された薬物相互作用モデル

Physiome.jp の PH Database 中に収録されている Model ID 796 のモデルのレイアウトを変更し PhysioDesigner 上で表示した。

図6 PH Plotter で表示したシミュレーション結果

破線、グレー、黒の線がそれぞれ、リファンピシン、アルプラゾラムの血中濃度、そして CYP3A4 の誘導量を示す。

成という観点からも視聴者の参考になることを念頭において作成されている。

最近では、ガルダプラットフォームと呼ばれる、PhysioDesigner や CellDesigner といった多くのツールを連携させるためのプラットフォームの提供も始まっており(17)、これらのツールをますます便利に利用できる環境が整ってきている (<http://www.garuda-alliance.org>)。例えば、本文で紹介した SBML-PHML ハイブリッドモデリングでは、まず CellDesigner で SBML モデルを構築し、その SBML モデルをガルダプ

ラットフォームを介してシームレスに PhysioDesigner に渡して続きのモデリングを行う、といったように1つのソフトウェアの機能が拡張したかのような連携利用が可能となる。

ここで紹介したツールやモデリング技術が読者のモデル研究の一助となれば筆者にとって望外の喜びである。

謝辞：本研究開発の一部は MEXT gCOE “in silico medicine”, MEXT 科研費 22136002, JSPS 科研費 25730180 の助成を受けたものである。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Bassingthwaite JB. Ann Biomed Eng. 2000;28:1043-1058.
- 2) Kitano H. Nature. 2002;420:206-210.
- 3) Hucka M, et al. Bioinformatics. 2003;19:524-531.
- 4) Lloyd CM, et al. Prog Biophys Mol Biol. 2004;85:433-450.
- 5) Funahashi A, et al. Biosilico. 2003;1:159-162.
- 6) Asai Y, et al. J Physiol Sci. 2008;58:447-458.
- 7) Suzuki Y, et al. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2009;2803-2806.
- 8) Heien EM, et al. IPSJ Online Transactions. 2009;2:149-161.
- 9) Asai Y, et al. Conf Proc IEEE/IPSJ Appl Internet. 2011;250-255.
- 10) Asai Y, et al. Front Physiol. 2015;6:251.
- 11) Asai Y, et al. Adv Biomed Eng. 2014;3:50-58.
- 12) Yamashita F, et al. PLoS One. 2013;8:e70330.
- 13) Schmitter J, et al. Pharmacogenetics. 1999;9:725-734.
- 14) Zanger UM, et al. Pharmacol Ther. 2013;138:103-141.
- 15) Iwatsubo T, et al. Biopharm Drug Dispos. 1996;17:273-310.
- 16) Asai Y, et al. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2013;5529-5532.
- 17) Ghosh S, et al. Nat Rev Genet. 2011;12:821-832.