

# 統合オミクス解析による代謝制御機構のシステム解析技術開発

柚木 克之

理化学研究所生命医科学研究センタートランスオミクス研究YCIラボ 上級研究員  
(現 理化学研究所生命医科学研究センター統合細胞システム研究チーム チームリーダー)

## 緒 言

細胞はゲノム (DNA)、トランスクリプトーム (RNA)、プロテオーム (タンパク質)、メタボローム (代謝物質) など、機能や物性により分類された複数のオミクス階層より構成されている。生命システムが示す様々な表現型は、これら複数階層にまたがるネットワークの時空間的ダイナミクス、すなわち分子群の濃度変化や局在変化により決定される。代謝と他のオミクス階層をつなぐネットワークの破綻は2型糖尿病などの多因子代謝疾患を引き起こすことが知られている。しかし、従来の研究で対象となっていたのは単一の分子や単一のオミクス階層であり、複数のオミクス階層間に多数存在すると考えられる調節経路はほぼ手付かずとなっていた。我々は、同一条件でサンプル調製・測定された多階層オミクスデータを用いて、複数階層にまたがるネットワークを再構築する「トランスオミクス解析」(統合オミクス解析)の方法論を確立した。トランスオミクスには主に以下3点が期待される。

- ・多階層の網羅的「地図」をつくる
- ・研究者の主観に依存しないアンバイアスなターゲット分子絞り込みを実現し、重要分子の見逃しを防ぐ
- ・複数階層にまたがるフィードバックや側副路を発見し、未解明現象のメカニズム解明に寄与する

さらに我々はトランスオミクス解析をインスリンによる糖代謝制御など主に哺乳類における代謝恒常性のメカニズム解明に応用し、これまでに以下3つの新規代謝調節メカニズムを発見した。

1. リン酸化プロテオーム階層およびメタボローム階層にまたがる新規代謝調節経路の発見
2. 脂肪細胞における代謝プライミング現象の発見
3. インスリンが空腹時と摂食時とで異なる調節経路を使い分けることを発見

## 結 果

### 1. オミクス階層縦断的な新規解糖系調節経路の発見

インスリン作用の分子ネットワークは複数のオミクス階層にまたがるということが知られているが、その全貌は明らかになっていなかった。我々はインスリンで刺激したラット肝がん由来Fao細胞から得られたリン酸化プロテオームとメタボロームのデータにトランスオミクス解析を適用し、これら2つのオミクス階層にまたがる多階層代謝制御ネットワークを再構築することに成功した(図1)。再構築されたインスリン作用のネットワークは、従来の個別分子解析のパッチワークとして知られていた経路以外にも多数の新規経路を含み、インスリンシグナルが従来知られているよりもはるかに広い範囲に伝達されていることが示唆された。これらのうち、解糖系の律速酵素として知られるホスホフルクトキナーゼの新規リン酸化について生化学的解析を行ったところ、このリン酸化は当該酵素を活性化し、解糖系の上流から下流への代謝物の大規模な移動を調節する役割を担っていることが明らかとなった。

### 2. 脂肪細胞における代謝プライミング現象の発見

インスリンによる脂肪細胞の中心的代謝調節機構としてこれまで重視されてきたのは、インスリン応答性グルコース輸送体GLUT4を介した糖の取り込みである。しかし近年の先行研究では、インスリンにより多数の代謝酵素がリン酸化されることが報告されていた。我々は、これらの代謝酵素リン酸化が代謝調節に果たす役割を明らかにするべく、炭素13で標識した同位体メタボロームとリン酸化プロテオームのデータをトランスオミクスの方法論に則って統合解析した。その結果、代謝酵素はグルコース由来の炭素が流入するのに先立ってリン酸化され、活性が調節されていることが明らかとなった。これにより我々は、GLUT4依存的な細胞外グルコース取り込みを調節する「プッシュ型制御」のみならず、代謝酵素リン酸化によって中間代謝物を事前に同化経路に移動させ、

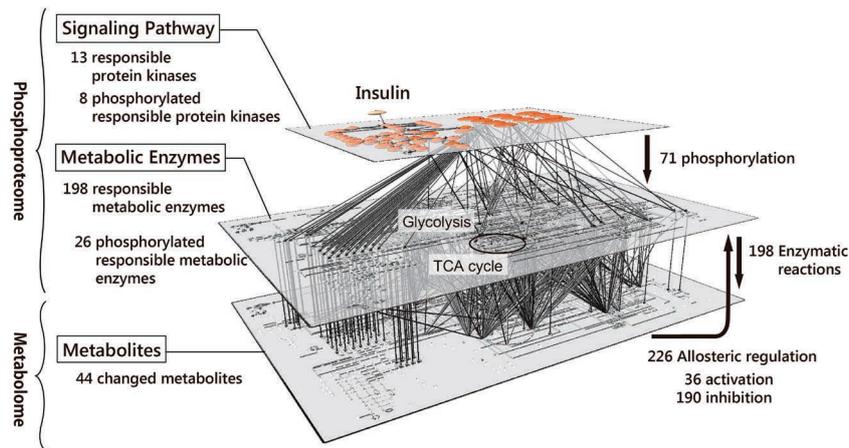


図1 ラット肝がん由来Fao細胞におけるインスリン作用の多階層代謝制御ネットワーク (Yugi et al., *Cell Rep.*, 2014)

このネットワークが含まていたホスホフルクトキナーゼの階層縦断的調節経路およびその機能を生化学的解析により実証した。

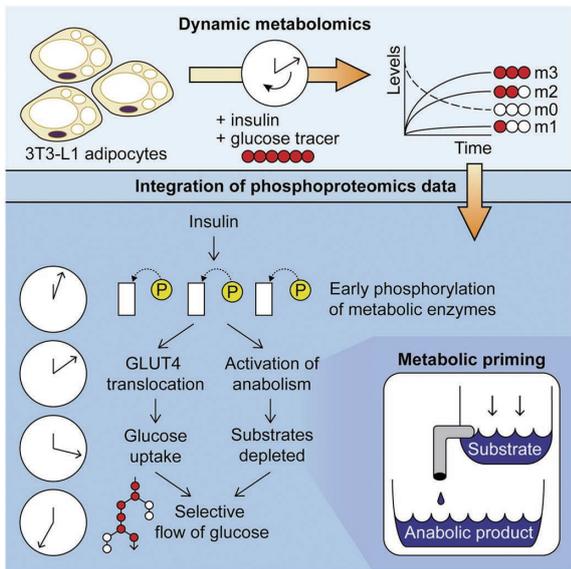


図2 脂肪細胞における代謝プライミング現象 (\*Krycer, †Yugi et al., *Cell Rep.*, 2017より, CC BY-NC-ND 4.0)

同位体メタボロームとリン酸化プロテオームの統合解析により、インスリン依存的な代謝酵素リン酸化はGLUT4依存的なグルコース取り込みに先立って起こり、代謝の流れを同化経路に誘導することを見出した。

グルコース流入のキャパシティを準備する「プル型制御」が連動する「代謝プライミング」現象を発見した(図2)。

### 3. インスリンが空腹時と摂食時とで異なる調節経路を使い分けることを発見

インスリンの血中濃度は、大きく分けて2つの成分から構成される。第一の成分は、空腹時・摂食時を問わず一定の濃度を保つ「基礎分泌」であり、第二の成分は摂食

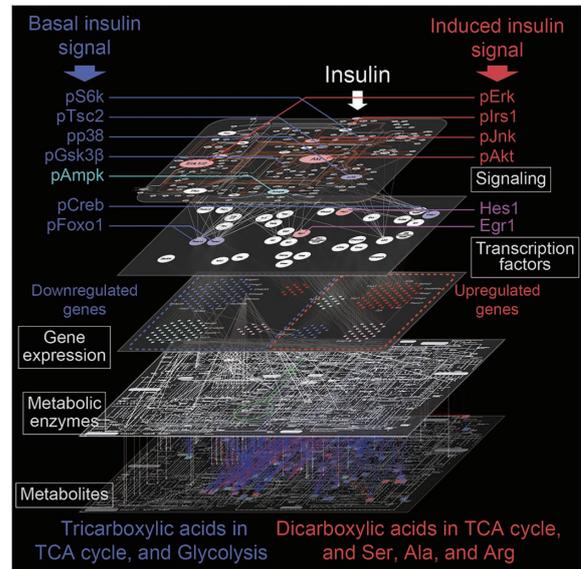


図3 ラット肝がん由来Fao細胞におけるインスリンの用量依存的ネットワーク (\*Kawata, †Hatano, †Yugi et al., *iScience*, 2018より, CC BY 4.0)

左側・青字：低用量インスリンシグナル(基礎分泌) 応答性の制御軸。右側・赤字：高用量インスリンシグナル(追加分泌) 応答性の制御軸。

時のインスリン濃度上昇を担う「追加分泌」である。これら2つの成分と標的臓器・組織におけるインスリンシグナルとの関係はこれまで十分に理解されているとは言い難かった。我々はラット肝がん由来Fao細胞を複数用量のインスリンで刺激することにより前記2成分を模擬し、インスリン作用の用量依存的ネットワークを再構築した。リン酸化プロテオーム、トランスクリプトーム、メタボロームの3階層にまたがる当該ネットワークの解析結果から、低用量および高用量のインスリンによってそれぞれ

相互排他的に動作する階層縦断的な制御軸を同定した(図3)。基礎分泌に相当する低用量インスリンシグナルは、AKTキナーゼにより翻訳関連因子依存的に下流の遺伝子へと伝達された。対して、追加分泌に相当する高用量インスリンシグナルは、ERKキナーゼを介して初期応答遺伝子等の転写因子依存的に下流の遺伝子へと伝達された。この結果は、肝細胞がインスリン濃度依存的に異なる調節経路を使い分けることを意味する。

## 考 察

トランスオミクス解析を最初に発表した論文(Yugi et al., *Cell Rep.*, 2014; 図1)では、解糖系の律速酵素であるホスホフルクトキナーゼなど複数の酵素に新規の階層縦断的調節経路が見つかった。また、脂肪細胞における代謝プライミング現象発見(†Krycer, †Yugi et al., *Cell Rep.*, 2017; 図2)に際しては代謝酵素リン酸化が代謝物質よりも早い時間帯に起きることを見出したのが決定的であった。これらはいずれも従来の個別分子解析や単階層のみを対象とするオミクス解析では方法論的に発見が困難であり、複数のオミクス階層をつなぐトランスオミクス解析により初めて見出された階層縦断的かつ大規模な代謝調節メカニズムである。

我々が開発したトランスオミクス解析の独創性は、変動する代謝物を最初に同定し、変動を引き起こした可能性のある因子へと順次オミクス階層をさかのぼるところにある。再構築するネットワークのスケールは、オミクス測定可能な範囲の全分子であり、かつ再構築の各段階は数値基準に基づくアンバイアスな手法である。よって、研究者の主観に起因する重要因子の見逃しを大幅に減らすことが可能である。当該分野では、ネットワークをオミクスデータのみから予測しようと試みた研究例もみられるが、必ずしも成功しているとは言い難い。これを踏まえて、我々は時系列オミクスデータに加えて、代謝経路や一部のシグナル伝達経路など既に知られている経路についてはKEGG等の経路データベースを用いることにより多階層ネットワークを高精度に再構築することに成功した。

変動した代謝物から出発して上流の調節経路へとさかのぼるトランスオミクス解析の方法論は、上記の例で示したインスリンによる糖代謝調節のみならず他の代謝調節メカニズムや代謝疾患の解析にも応用できる。よって、代謝との関連が明らかになりつつある他の疾患等の生命現象(がん、免疫、炎症性疾患など)についても応用できる。また、上記の例では培養細胞を用いた研究のみ示したが、疾患モデルマウスやヒト疾患への展開を現在準備中である。

今後、疾患モデル動物等を用いて多階層ネットワークを再構築することにより、疾患特異的に応答する経路の発見が期待できるほか、そこに属する分子群からバイオマーカー候補を導出することが可能である。従来のバイオマーカー探索では、候補因子(群)を*ad hoc*に選択し、疾病との因果関係が容易に推察できるもののみを利用することが広く行われてきた。これに対してトランスオミクス解析に基づくバイオマーカー探索では、疾患特異的ネットワークに属する分子群から網羅的にバイオマーカーを同定できるうえ、それらの分子群がなぜ当該疾患のバイオマーカーたりうるのかを多階層ネットワークの文脈内で説明できる。別の言い方をすれば、「個別分子のスクリーニング」を指向する従来手法に対して、「ネットワークのスクリーニング」によって疾患特異的ネットワーク全体を抽出するところに本手法の新規性・発展性がある。

## 要 約

代謝の恒常性は、ゲノム(DNA)、トランスクリプトーム(RNA)、プロテオーム(タンパク質)、メタボローム(代謝物質)など、複数のオミクス階層にまたがる生化学ネットワークによって実現されている。我々は、これらのオミクスデータを階層縦断的に統合する「トランスオミクス解析」の手法を世界にさきがけて確立した。そしてトランスオミクス解析を代謝制御機構の解明に応用し、以下3つの発見を成し遂げた。

1. リン酸化プロテオーム階層およびメタボローム階層にまたがる新規代謝調節経路の発見
2. 脂肪細胞における代謝プライミング現象の発見
3. インスリンが空腹時と摂食時とで異なる調節経路を使い分けることを発見

## 謝 辞

本研究を第9回三島海雲学術賞にお選びいただいた選考委員の先生方、同賞に推薦していただいた理化学研究所・松本紘理事長に御礼申し上げます。また、東京大学理学系研究科・黒田真也教授をはじめとする本研究の共同研究者の方々に深く感謝いたします。

## 文 献

- K. Yugi, et al.: *Cell Reports*, **8**(4), 1171–1183, 2014.  
 †J. Krycer, †K. Yugi, et al.: *Cell Reports*, **21**(12): 3536–3547, 2017.  
 †K. Kawata, †A. Hatano, †K. Yugi et al.: *iScience*, **7**: 212–229, 2018.

## 著者紹介



**柚木 克之** (ユギ カツユキ)

1977年 東京都生まれ  
2004年 3月 慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科博士課程 単位取得退学  
2005年 8月 博士(学術)(慶應義塾大学)  
2006年 4月 慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 助手  
2010年 4月 東京大学大学院 理学系研究科 生物化学専攻 特任助教  
2015年 10月 科学技術振興機構さきがけ「疾患代謝」領域 研究者(兼任)  
2017年 1月 理化学研究所 生命医科学研究センター トランスオミクス研究YCIラボ上級研究員  
2020年 7月 理化学研究所 生命医科学研究センター 統合細胞システム研究チーム チームリーダー

代謝の恒常性は複数の生化学反応から成る閉ループ回路によって実現されています。私のテーマはこの閉ループ回路の巨視的動態を制御工学の言葉で理解することです。