

## 肝臓での窒素代謝の空間設計の解明

所属：環境情報学部

氏名：内藤泰宏

## 概要

肝臓内での様々な代謝に空間的な不均質性 (metabolic zonation) が観察されているが、その機能的意義の多くは未解明である。申請者は、数理生物学的アプローチを用い、窒素代謝を対象に肝内のmetabolic zonationの意義の解明、ならびに進化的成立過程の推定を目指している。

哺乳類は窒素の大部分を尿素として腎臓から排泄する。尿素回路をはじめとする窒素代謝関連遺伝子は、肝臓内で空間的発現制御を受けている。窒素を尿酸として排泄する爬虫類、鳥類では類似する空間的不均質性は見られないことから、尿素による窒素排泄に適応するためにmetabolic zonationが進化した可能性がある。

その蓋然性を検討するために、全身の窒素恒常性を考慮した数理モデルを構築し、爬虫類、鳥類などと同様に空間的不均質性のない平坦な肝窒素代謝モデルを祖先モデルとし、数理モデルの進化シミュレーションに取り組んでいる。

## 背景

## 肝臓における metabolic zonation

肝臓は、ヒトをはじめとする多くの脊椎動物の最大の実質器官である。消化管から吸収された養分は門脈を通じ、そのすべてが肝臓を通過し、多様な代謝を通じ、全身循環へと受け渡す成分が調整される。

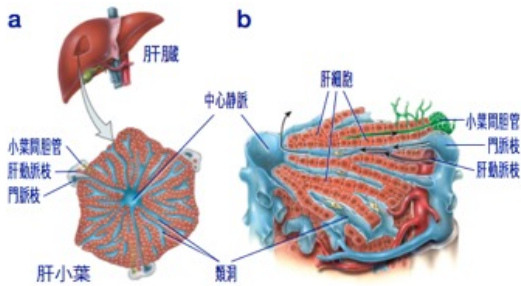


図1 肝臓と肝小葉の構造 (a) 肝臓は構造単位である肝小葉が集合した“並列回路”である。(b) 肝小葉の組織構造 (トートラ人体解剖生理学 10版 2017 より改変)

入力、門脈ならびに酸素などを供給する肝動脈、出力は肝静脈である。肝臓は、肝小葉を構造単位とする並列回路である (図1 a)。血液は門脈および肝動脈から分枝した細動脈から肝臓に流入し、小葉内では類洞と呼ばれる多孔性の毛細血管を通過する。門脈に沿って、肝(実質)細胞が整列し、中心静脈から小葉を出て合流して肝静脈となる。

肝臓で起こるすべての代謝は、肝小葉の入口から出口にかけての porto-central axis (PCA) 内で起こる (図1 b)。PCA上流は代謝経路の基質を多く含む、下流は生成物を多く含む。それだけでなく、肝細胞中の代謝酵素の発現量もPCAに沿ってWntシグナルなどによって調節されている。窒素代謝は、上流側約80%で尿素回路による尿素産生が優勢で、最下流の約20%ではグルタミン合成が優勢であることが知られている (図2)。

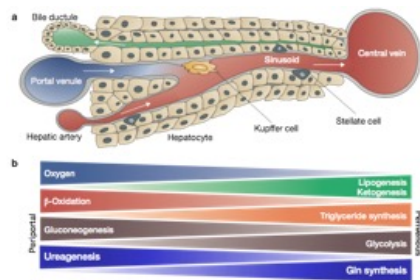


図2 肝内のMetabolic zonation. (a) 肝小葉の門脈から中心静脈にかけての porto-central axis (PCA) の構造。(b) 肝小葉内でみられる代謝不均質性の例。(Birchmeier, W. Nat Cell Biol. 2016 より改変)

## モデリング

## 窒素代謝の恒常性維持と metabolic zonation

全身の窒素代謝の概要と、そこから導かれる肝臓の窒素代謝が果たすべき“使命”を検討する。(図3)

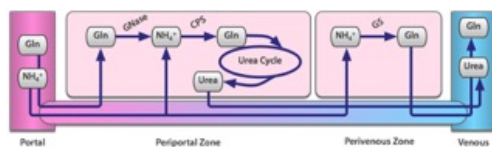


図3 窒素代謝の metabolic zonation 肝小葉では、門脈側と静脈側で代謝の動態が異なる。アンモニア代謝の場合にも、上流にあたる門脈辺縁領域 periportal zone では尿素回路によるアンモニアの尿素への転換が優勢であり、下流に当たる静脈辺縁領域 perivenous zone では glutamine synthetase (GS) によるグルタミン生成が優勢であることが観察されている。こうした肝内の位置による代謝の不均一性 heterogeneity は、肝小葉の組織学的構造から必然的に起こる勾配 (一般に上流の肝細胞は高濃度の基質に曝される等) を基盤に、部位特異的な遺伝子発現調節も加わって成立している。

- ・ 窒素はタンパク質をはじめとする生命分子を構成する主要元素のひとつである。
- ・ 哺乳類では、体内に取り込む窒素のほぼ全量が消化管から吸収される。
- ・ 排泄される窒素の90%以上が尿中の尿素として排泄される。尿素は専ら肝臓で独占的に合成される（ラットでは全身で消費されるATPの約15%が尿素産生に用いられている（Schneider et al., Cell Biochem Funct. 1990; 8:227-32.））
- ・ 恒常性が維持されている場合、全身の窒素量はほぼ一定に維持されており、以下の関係が成り立つ。  

$$[\text{窒素摂取量}] = [\text{窒素排泄量}]$$
- ・ 窒素排泄がすべて尿素によると単純化すると、以下の関係が成り立つ。  

$$[\text{消化管から摂取される窒素等量}] = [\text{尿中に尿素として排泄される窒素等量}] = [\text{肝臓で合成される尿素の窒素等量}]$$
- ・ 有毒なアンモニアの血中濃度を低く維持しなければならない。
- ・ 代謝経路別のアンモニアへの親和性は、グルタミン合成酵素（GS） > 尿素回路

∴ 肝臓は、摂取した窒素と等量の尿素を産生し、その際に余ったアンモニアを無毒化しなければならない。

Question：現実には観察される metabolic zonation はこの目的を満たす最適解になっているのか？

## 数理モデル

全身の窒素恒常性を再現するための極力単純なモデルを構築した。（図4）

血液循環は、肺循環を省略して、心臓、肝臓、その他器官の3区画で表現した。肝臓は、類洞（毛細血管）と肝細胞の2区画からなり、総じて、心臓、類洞、肝細胞、その他の器官の4区画で全身を表現した。

肝細胞区画は、PCAの空間的不均質性を再現するため任意の数の小区画の直列回路として表現した。

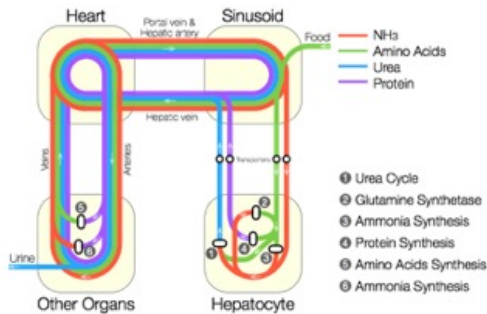


図4 全身の窒素恒常性モデル。全身を表現する区画、要素、反応の概要

窒素化合物は、アンモニア、アミノ酸、尿素、タンパク質の4要素で表現した。肝内での代謝は以下の4種類で表現した。

- ① 尿素回路 (US) アンモニア + アミノ酸 → 尿素
- ② グルタミン合成酵素 (GS) アンモニア → アミノ酸
- ③ アンモニア合成酵素 (AS) アミノ酸 → アンモニア
- ④ タンパク質合成経路 (PS) アミノ酸 → タンパク質

摂取する窒素は、アミノ酸として類洞区画の最上流に流入する。排泄される窒素はその他の器官（ここに腎臓が含まれる）から尿素として流出する。

## 結果

### 進化シミュレーション

窒素代謝関連反応の酵素反応速度論的な性質およびPCA内での遺伝子発現勾配に漸進的な変異を加えることで、数理モデルの変異体をつくることができる。（図5）

遺伝子発現勾配のない“平坦な肝臓”を“祖先モデル”とし、1つのモデルを1個体として集団をつくる。

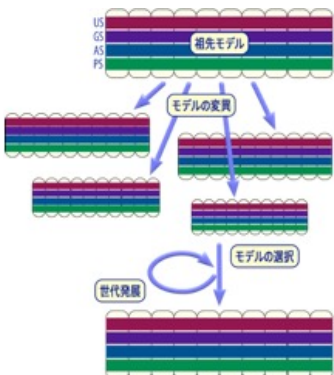


図5 数理モデルの進化シミュレーションの概要

集団内の各個体に変異を起こし、適応度の高い個体を次世代に残す。これを1世代として世代発展させる単純な進化的アルゴリズムの実行により、適応度の高い窒素代謝の metabolic zonation の取得をめざす。

今回は、予備的な検討として、パラメータの定義域を限定して進化シミュレーションを行った。具体的には、各反応の速度論パラメータは固定して、遺伝子発現勾配だけを対象に探索を行った。肝臓の小区画数は30に固定した。

また、選択圧として、ATPの消費量を用い、よりエネルギー効率の高い窒素恒常性を実現した個体が有利に繁殖することとした。

## 展望

今回示す探索では、グルタミン合成は中心静脈側（下流）で優勢に発現する場合（図6a）に、尿素回路は特にアンモニア合成と共発現して門脈側（上流）で優勢に発現する場合（図6b）にエネルギー効率が向上すると示唆された。これらの発現勾配は、実際に哺乳類の肝臓

で測定されているグルタミン合成酵素やカルバモイルリン酸合成酵素の発現勾配をよく再現している。また、最適化されたグルタミン合成と尿素回路・アンモニア合成の発現勾配を結合すると、相加的にエネルギー効率が向上することも示された（図6c）。ただし、今回示した探索結果は試行回数が不十分であり、探索対象のパラメータも限定されているため、得られたモデルが局所解である可能性がある。より自由度の高い進化シミュレーションを数多く試行する必要がある。

本研究の中長期的な目標のひとつは、哺乳類の肝臓にみられる *metabolic zonation* を *evolvability* の観点から分析し、理解を深めることであるが、より射程の長い目的として、哺乳類以外の脊椎動物との比較、それぞれにみられる肝内の代謝経路群の空間的制御の理解がある。窒素代謝に関しては、鳥類、爬虫類では *metabolic zonation* は認められず、“平坦な肝臓”であることが知られている。これは、鳥類、爬虫類が窒素を、尿素ではなく尿酸として排泄していることと関連があるかもしれない。そうした分類群間の代謝経路の合理性の分析に寄与することを目指したい。

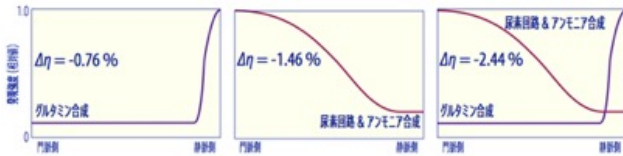


図6 進化シミュレーションの結果の例。門脈側から動脈側を30の小区間に分割して発現勾配を表現した。発現強度は、全区間で最大の強度で発現している場所を1とした相対値。エネルギー効率  $\Delta\eta$  は、“平坦な肝臓”のATP要求量との差分。値が小さいほど、ATP要求量が減少している。