

# 不確定要素を含む細胞死オントロジー構築へ向けた 機能定義方法の提案

## A Method to Define Functions towards an Ontology Including Unknown Factors in Programed Cell Death

山内 千尋<sup>1\*</sup> 小島 一晃<sup>2</sup> 松居 辰則<sup>2</sup>  
Chihiro Yamauchi<sup>1</sup> Kazuaki Kojima<sup>2</sup> Tatsunori Matsui<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 早稲田大学 大学院人間科学研究科

<sup>1</sup> Graduate School of Human Sciences, Waseda University

<sup>2</sup> 早稲田大学人間科学学術院

<sup>2</sup> Faculty of Human Sciences, Waseda University

**Abstract:** In this study, we built an ontology for a biological phenomenon, programed cell death. In our ontology, each biological event in the phenomenon is composed of chain reactions containing biopolymers as minimal components. Therefore, we identified chain reactions and causality between events. We also classified functions that biopolymer interactions offer into two types. One of the types is defined as an elementary function which is composed of biopolymers, and the other as a mechanical function which is composed of elementary functions.

### 1 はじめに

近年の生物学や生命科学では計算機による大規模な情報処理が行われているが、研究者の長年の経験や直感からその膨大な知識を活用する事は不可能である。また、生命現象理解の為に、反応間の相互関係を明らかにし、システムとしての生命を把握する必要があり、シミュレーションは欠かせない。したがって、膨大な知識の蓄積及び迅速な検索と、その知識を効率的にシミュレーションへ活かす事が求められている。

生命現象は個々の生体のばらつきに加えて一般の物理現象と比べてより複雑な要因に支配され、定量的な表現に限界がある [小山 89]。そのため文献には自然言語や図などの定性的な知識が多く蓄積される。シミュレーション構築の際には、このような定性的なデータを計算機上への表現する方法の枠組みが必要となる。この枠組みは人間と計算機間での理解共有を目指すオントロジー技術の適用によって提供される。また、オントロジーによる知識整備により、知識が表す内容が明確化され、他の現象を取り上げる際にもそれらの知識の検証・理解が容易になる。特に、同じような反応が多数出現する生命体においては、それまでに構築してきたオントロジーを再利用しやすく、様々な現象に応

用可能と考えられる。

この技術を生物学的分野へ生かし、新たな知見を得ようとするには、未知ではあるが存在が予測されている曖昧な概念や概念間の関係をオントロジー記述の中に含ませる必要がある。これにより、不明確な概念が存在が既に証明されている他の概念との関わりから明らかにする探索的手法に基づくシミュレーションの構築が実現されると考えられる。

そこで本論文では、不確定な概念の記述へ向けた機能に着目したデバイスオントロジーについて説明した上で、オントロジーにおいて分子の動きを独立したインスタンスとして記述し、それらを複合する事により経路や系を動的に生成するための機能の分類について述べる。

### 2 細胞死研究の現状

細胞死研究においては長年、細胞死の分類は能動的細胞死（プログラム細胞死）としてのアポトーシスと、ネクローシス（壊死）の2種類とされてきた。しかしながら、アポトーシスとプログラム細胞死を同義とする定義を誤りとし、プログラム細胞死の多様性を示唆する研究結果が報告されている。現在では、プログラム細胞死としてのタイプ1細胞死（アポトーシス）とタイプ2細胞死（オートファジーを伴う細胞死）、およ

\*連絡先：早稲田大学 大学院人間科学研究科  
〒 359-1164 埼玉県所沢市三ヶ島 2-579-15  
E-mail: chihiro.yamauchi@toki.waseda.jp

びネクロシスの3分類が広く認識されているが、新たにタイプ3細胞死の存在も示唆されている。

タイプ3細胞死は、リソソーム系以外の細胞内小器官空飽化を伴う細胞死を指し、形態的にネクロシスと似ている事から、ネクロシスとして扱われる事も多い。このタイプの細胞死は長年にわたり見ただ目で判断が容易なアポトーシスとネクロシスの2分類で細胞死が認識されていた事から研究が進んでこなかった。そのため、カスパーゼに依存しないタイプ3のような非アポトーシス性細胞死に関しては特徴は明らかとなっていないものの実行・制御因子は未解明のままである。研究の発展には、分子機構の解明が必須となるが、非アポトーシス研究においては遺伝子改変マウスの開発も遅れている事から、新たな手法を取り入れた研究が望まれている。タイプ3細胞死の例として星野らによって発見された TRIAD (transcriptional repression-induced atypical cell death) が挙げられる [Hoshino 06]。TRIAD が起きる際にはこの箇所に特徴的なタンパク質である YAPdeltaC が発現している事が明らかとなっている。他にも、細胞内小胞の形成を伴う非アポトーシス性細胞死は報告されているが、詳細な分子機構あるいはタイプ2細胞死との関連については明らかとなっていない。

このように、細胞死の分類については研究者間の完全な一致は得られておらず、未解明な部分が多く残されている。細胞死の分子機構を明らかにするためには、存在が予測されるが不明確な分子やその動きの特定が必要となる。

### 3 デバイスオントロジーによる記述

細胞死が起きるメカニズムを知るには、既知の現象が起きている箇所に存在するタンパク質分子の同定が必要となる。[Hoshino 06]でも示されているように、細胞死に関わる不確定要素は既知のタンパク質分子と関連するものである事が予測されるが、同様の分子であっても、環境や存在する細胞に依存して異なる挙動を示す場合も多い。また、分子の挙動は現象や機能などのよりマクロな階層との関連から捉えられるようになる必要がある。これは人間の思考で行われるような因果関係を用いた認識によって可能となる。このような認識のためには、対象を捉える視点を明確にした上で統一的に知識を記述しなければならない。そこで、ここでは Fas リガンドにより誘導されるアポトーシスのシグナル伝達 (Fas 経路) に焦点を当て、デバイスオントロジーの枠組みで記述した例を示す。

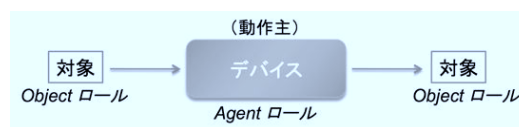


図 1: デバイスオントロジー概略図

#### 3.1 デバイスオントロジー概要

デバイスオントロジーは対象領域を捉える際の視点提供のための「機能」に着目し構築され、所望の出力を得るために中心的な役割を果たす動作主となるべき「何か」(Agent と呼ぶ)とそれに処理される「何か」(Object と呼ぶ)が存在する [來村 02]。基本概念には、対象とする世界においてそれらが果たす役割 (ロール) が与えられる。役割には、装置 (Device)・対象物 (Object)・導管 (Conduit)・媒体 (Medium)・振る舞い (Behavior) があり、個々の基本概念は、いずれかの機能概念に属する。対象物は、装置の間を「流れる」ものを認識され、装置は対象物に対して「働きかける (作用する)」という役割を果たす [來村 02]。対象物は、装置からの働きかけにより、属性を変化させる。オントロジー内においては、対象物の入力時における状態と出力時における状態の記述により反応の前後の状態が表現される (図 1)。振る舞いは、B0 的振る舞い (主体の作用による対象物の時間的変化を表す)・B1 的振る舞い (主体の作用による対象物の時間的・位置的变化を表す)・B2 的振る舞い (主体内部の時間的変化を表す)・B3 的振る舞い (同じレベルの主体への作用) の 4 種類が考えられるが、デバイスオントロジーにおいては、これらを B1 的振る舞いに統一する。これにより、主体 (装置) の作用と、それを受けた対象物の入出力の状態が明示化される。

#### 3.2 生物学的分野への適用例

[高井 05] では、生物の機能が複数の反応の連鎖で達成される事から、機能を達成するための連鎖反応と遺伝子との関連の解析が重要であるとし、生体内で起こる連鎖反応の一種であるシグナル伝達における機能とパスウェイ (細胞機能のメカニズムを定性的に表現した知識) に関するデバイスオントロジーの構築を行った。ここでも、前節で述べた装置 (Device)、導管 (Conduit)、対象物 (Object)、媒体 (Medium)、振る舞い (Behavior)、機能 (Function) が機能概念として定義され、ロール概念関係において作用を受ける役割を果たす物理的実体物を対象物 (Object) とし、装置の入出力時点における状態 (IO-State) を持つとしている。この装置は他の装置と接続関係と全体-部分概念を持つ。また、振る

舞いは IO-State 間の遷移と定義され、B1 的振る舞いに変換して記述される。さらに機能を、単独分子の作用である基盤的機能と分子複合体の作用である組織的機能に分け、基盤的デバイスを組織的デバイスの構成要素として定義している。

このように機能概念をオントロジーで整理した事により、シグナル伝達において装置間を流れる概念が同定され、生物学の分野において明確な合意のなかった「シグナル」について定義する事が可能となっている。

## 4 不確定要素のためのデバイスオントロジー

前章の例では、機能達成のメカニズムをオントロジーによって記述する事を目指しており、不明確な要素の存在や、個々の概念間の関係を探る事を目的とはしていない。これらは B1 的振る舞いにおける因果関係及び個々の基本概念の果たす機能を明らかにする事によって特定が可能になるものと予想される。存在が不確定な要素であってもそれらが達成する機能が推測できれば、「特定の機能概念に属する可能性のある概念要素」としてオントロジー内に記述する事が可能であると考えられる。また、存在が確認されてはいるものの、機能未知のタンパク質の機能の推測には、それらが存在する場所や、類似した機能の把握が求められる。そのため、本研究では前章のデバイスオントロジーを参考とし、個々の概念が果たす機能という統一された視点から知識を整備するとともに、事実記述のみにとどまらない不確定要素を含むオントロジー構築を目指す。

なお、本研究においては、不確定要素は生体高分子とする。生体高分子の動きがオントロジーを構成する最小単位の部品となり、この部品の連鎖により系が生成される。そのため、最小単位の部品が属する機能と、それら機能の複合体として存在する上位の機能を分類した。これにより、デバイスオントロジーで与えられた役割を参照し、最小単位の部品同士の関わりから不確定要素を探るとともに、上位の機能が既知であればその構成要素を手がかりに不確定要素の存在を予測する事が可能になる。

### 4.1 機能階層の定義

デバイスオントロジー構築においては、経路や系といった枠組みの記述は避ける事とし、オントロジーを構成する最小単位の部品である生体高分子の動きを独立したインスタンスとして記述した。これは、経路という概念は人間の認識に基づくものであり、実際に生体の中に境界が存在するものではないためである。ま

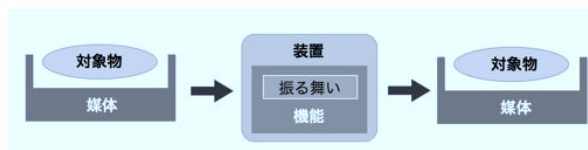


図 2: デバイスオントロジーにおける基本単位

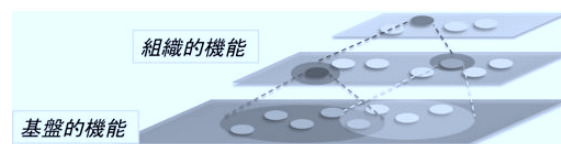


図 3: 基盤的機能・組織的機能の階層

た、メカニズムが未知の場合にはこのような経路も不明であり、「経路」という枠を予め与えておくのは適切ではない。我々が生体を眺めて観察出来るものは現象と分子の動きであるため、本来ならば分子の動きの連鎖を捉える事で動的に経路を生成する事を目指すべきである。このようなインスタンスとしての記述により、系を形成するそれぞれの動き（部品）は1つの系にとどまらず、使い回しが可能な部品として他の系の形成に携わることができる。

この時、最小単位となる部品は図2で示した装置と対象物の組合せで捉えられ、装置として作用するものと、媒体として活性を運ぶものの2種類の分子が反応に関わる事となる。デバイスオントロジーにおいては、分子が達成する種々の動きを「装置が活性を変化させる」という記述に統一した。このように部品の粒度を揃えておく事により、他の反応との比較によって不確定要素の特定が可能になると考えられる。

また、系の動的な生成は、インスタンス間の因果関係を捉え、連鎖を再現する事により実現可能となる。本研究では生体高分子によるインスタンスを基盤的機能として定義し、その上位の階層として基盤的機能により構成される組織的機能を定義した。組織的機能は系や経路を表し、構成要素である生体高分子の動きと同様、インスタンスとなる(図3)。なお、基盤的機能で記述されるのは単独分子の動きであり、組織的機能はそれら統合したものであるため複数分子による動きが記述される(図4)。

### 4.2 基盤的機能の記述

系を動的に生成するための独立したインスタンスとなる概念として、アポトーシスのシグナル伝達の系である Fas 経路に関する知識をデバイスオントロジーの

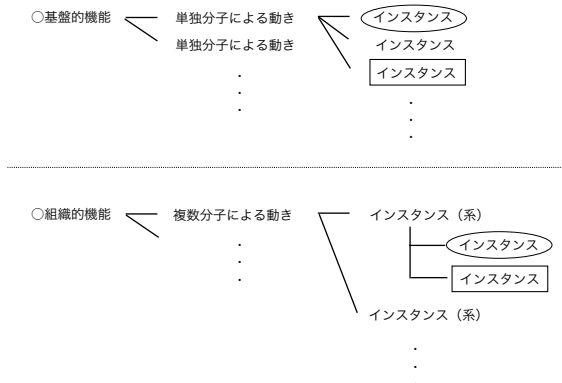


図 4: 各機能でのインスタンスの関係

枠組みで整理した。上位概念は [高井 05] を参考とした。Fas 経路におけるシグナル伝達は「活性の種類の変化」が次の反応を引き起こす連鎖反応であることから、基盤的機能は”to convert”となり、この下にインスタンスが生成される。Fas 経路における基盤的機能のインスタンスの例として、Fas リガンドと Fas の結合、および Fas と FADD の結合について図 5, 6 に示す。

Fas リガンドと Fas の結合箇所では、Fas リガンドが振る舞いを行う主体となる事から装置の役割を果たす。媒体は対象物が流れる際に必要な分子がコンポーネントとして定義されるため、Fas リガンドおよび Fas が対応する。作用を受けて反応の前後において属性が変化するものが活性であり、これが対象物として定義される。振る舞いは活性の属性値の変化であり、この変化を受けて Fas はアロステリック制御される。よって、ルールは、基盤的デバイス・「Fas リガンド」/対象物・活性/媒体・「結合」/ポート・分子認識部位/B1 振る舞い・活性の属性値変化 (アロステリック制御) と割り当てられる。Fas と FADD の結合箇所においても (図 6), Fas リガンドと Fas の結合の際と同様に、Fas が振る舞いを行う主体となる事から装置の役割を果たす。媒体のコンポーネントとなるのは、Fas および FADD である。対象物としては活性が定義される。装置の振る舞いによって FADD はアロステリック制御される。よって、ルールは、基盤的デバイス・「Fas」/対象物・活性/媒体・「結合」/ポート・分子認識部位 (領域は Fas の DD, FADD の DD) /B1 振る舞い・活性の属性値変化 (アロステリック制御) と割り当てられる。

この時、最小単位の部品は装置と対象物の組合せて捉えられ、反応に関わる分子は装置として作用するものと、媒体として活性を運ぶものの 2 種類である。また

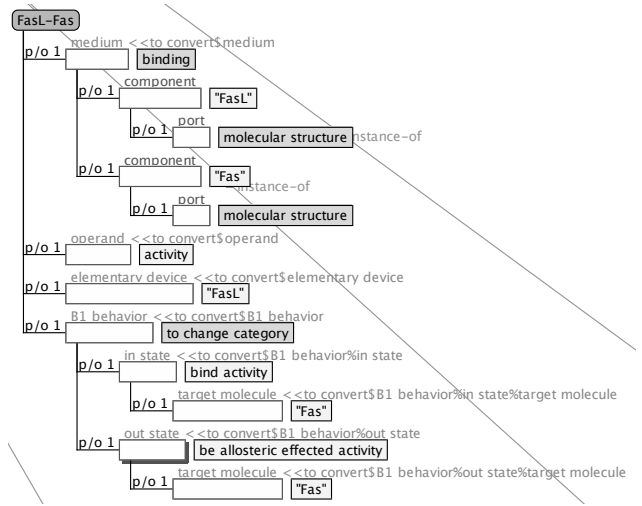


図 5: Fas リガンドと Fas の結合

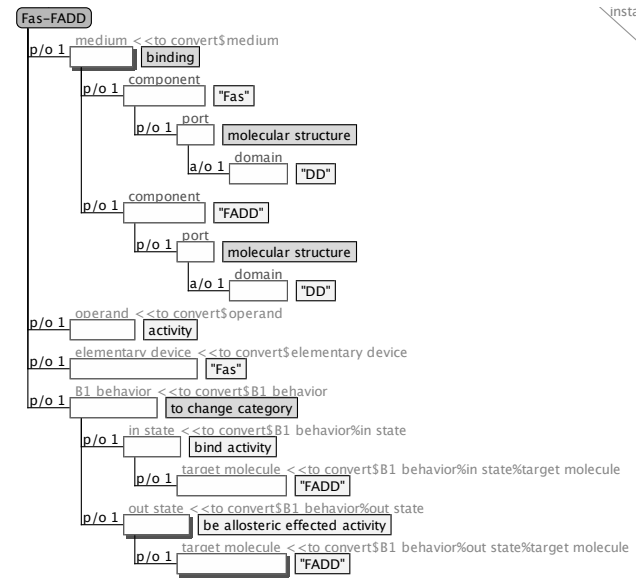


図 6: Fas と FADD の結合

分子が達成する種々の動きは「装置が活性状態を変化させる」という記述に統一した。系の動的な生成については、インスタンス間の因果関係から連鎖を再現し、組織的機能として表現する事により実現可能である。

### 4.3 組織的機能の記述

本研究において基盤的機能により生成される組織的機能においては装置の役割を果たす概念は複合体であるため、複数の分子から構成される。基盤的機能が「活性の種類の変化」のみに注目していたのに対し、組織的機能は複合体により達成され、より複雑な機能が表現されることになる。[高井 05]は組織層の機能を、「活性をいつ流すか」に注目した『オンにする』、「活性をどの程度流すか」に注目した『増幅する』・『抑制する』、「活性をどこへ流すか」に注目した『輸送する』の4種類としている。さらに、注目する対象物の属性として、「elasticity」, 「catalytic」, 「efficiency」, 「reaction radius」, 「concentration」, 「局在」を挙げている。

本研究で扱うアポトーシスに関するオントロジーにおける組織的機能の記述では、カスパーゼの活性化機構を組織的機能として定義し、この活性化機構に関わる個々のカスパーゼを含む基盤的機能を参照する事により、系の存在が確認可能であると考えられる。これは、アポトーシスにおいてはカスパーゼとよばれるタンパク質分解酵素がアポトーシスの実行に重要な役割を果たしている事に由来する。ほとんどすべてのアポトーシスを誘導する刺激は最終的にはカスパーゼの活性化に集約される。カスパーゼは他のプロカスパーゼとよばれる不活性な前駆体として作られ、アポトーシスを誘導するシグナルに応じてそれ自身が切断されて活性化し、活性化したカスパーゼはファミリーの他の仲間を切断、すなわち活性化してタンパク分解の連鎖(カスケード)が「増幅」される。この事から、活性をどの程度流すかについてを表す組織層の機能としてカスパーゼの連鎖は定義出来る。活性をどの程度流すかの指標については、実験室環境においてカスパーゼ前駆体とカスパーゼの活性の連鎖の様子は濃度変化として観察される事から、濃度をデバイスオントロジーにおいて対象物として役割を与えられる活性を捉えるための属性として定義できると考えられる。

## 5 まとめ

デバイスオントロジーを用い、分子やそれらの動きに役割を与える事によりアポトーシスの Fas 経路に関する知識を機能という視点に基づき整理した。機能を基盤的機能と組織的機能に分け、基盤的機能である単独分子の動きをインスタンス化して扱い、このインス

タンスの組合せによって組織的機能が実現されるとした。このようにすることで、経路、もしくは系といった人間の認識に基づく概念の記述を避ける事ができるとともに、基盤的機能に属する単独分子の動き(部品)の再利用から、動的に系を作り出す事が可能であると考えられる。アポトーシスにおける組織的機能の記述では、アポトーシスの実行機構であるカスパーゼの活性化の焦点を当て、タンパク分解の連鎖、および、活性化される分子の濃度変化を捉える事とした。

今後は、組織的機能の記述へ向け、アポトーシスにおけるカスパーゼファミリーの構造の記述を加えていく必要がある。これによりアポトーシスに果たす役割が不明確であり、実行機構においては不確定要素として存在しているカスパーゼ 13,14 について明確となるようなオントロジーとなることを目指す。また、アポトーシス以外の細胞死においても、各細胞死の指標となる機構を組織的機能として加える事により、これまで曖昧とされて来た細胞死の分類について明らかになるものとした。さらに、存在自体が不明確なタンパク質分子の特定には関連する分子の構造や、それらに関わる様々な反応を手がかりとした絞り込みへ向け、タンパク質分子の構造や分類などの詳細な記述も含めたオントロジーの拡張をしていかなければならない。

## 参考文献

- [小山 89] 小山 昭夫: 医学における定性推論の役割, 人工知能学会誌, Vol. 4, No. 5, pp. 31-33 (1989)
- [來村 97] 來村 徳信, 笹島 宗彦, 池田 満, 吉川 信治, 小沢 健二, 溝口 理一郎: モデルに基づく問題解決のための流体系と時間のオントロジーの構築と評価, 人工知能学会誌, Vol. 12, No. 1, pp. 132-143 (1997)
- [來村 02] 來村 徳信, 溝口 理一郎: オントロジー工学に基づく機能的知識体系化の枠組み, 人工知能学会誌, Vol. 17, No. 1, pp. 61-72 (2002)
- [來村 02] 來村 徳信, 笹井 俊信, 吉川 真理子, 高橋 賢, 古崎 晃司, 溝口 理一郎: オントロジーに基づく機能的知識の体系的記述とその機能構造設計支援における利用, 人工知能学会誌, Vol. 17, No. 1, pp. 73-84 (2002)
- [高井 05] 高井 貴子, 溝口 理一郎, 高木 利久: デバイスオントロジーに基づくシグナル伝達パスウェイの統一的記述枠組みの開発, 人工知能学会誌, Vol. 30, No. 6, pp. 406-416 (2005)
- [西田 89] 西田 豊明: 定性推論の基礎, 人工知能学会誌, Vol. 4, No. 5, pp. 34-39 (1989)

- [淵 89] 淵 一博監修, 溝口 文雄, 古川 康一, 安西 祐一郎 共編: 定性推論, 共立出版, (1989)
- [Bruce 07] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Martin Raff, Peter Walter, Dennis Bray, Julian Lewis, Keith Roberts 著, 中村 桂子・松原 謙一 監訳: Essential 細胞生物学, 南江堂, (2007)
- [Matsuno 03] Matsuno H, Tanaka Y, Aoshima H, Doi A, Matsui M, Miyano S: Biopathways Representation and Simulation on Hybrid Functional Petri Net, *In Silico Biology*, Vol. 3, No. 3, pp. 389–404 (2003)
- [Hoshino 06] Hoshino M, Qi ML, Yoshimura N, Miyashita T, Tagawa K, Wada Y, Enokido Y, Marubuchi S, Harjes P, Arai N, Oyanagi K, Blandino G, Sudol M, Rich T, Kanazawa I, Wanker EE, Saitoe M, Okazawa H: Transcriptional repression induces a slowly progressive atypical neuronal death associated with changes of YAP isoforms and p73, *The Journal of Cell Biology*, Vol. 72, No. 4, pp. 589–604 (2006)