

# システム分子医学と複雑系疾病理論

—がん転移のアトラクター理論を例として—

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構

東京医科歯科大学 名誉教授 (臨床腫瘍学)

田中 博



# 本日のTopics

- システム分子医学とは
  - ゲノム・オミックス医療の3世代
- システム分子医学研究
  - 疾患システムバイオロジー
    - 疾患システムバイオロジーアプローチの一般論
    - 肝細胞がんのシステムバイオロジー
  - 複雑系疾病論 ←
    - 定量的Waddingtonエピジェネティック地形
    - がん転移の上皮間葉転換 (EMT)の病態力学
- 再生医学への応用

# ゲノム・オミックス医療

## 3つの概念/パラダイム

根拠となる疾患形成機序の概念

### 第1 ゲノム医療

- 生得的ゲノム情報の変異・多型性

### 第2 オミックス医療

- 後天的体細胞の網羅的分子プロファイル

### 第3 システム（分子）医学

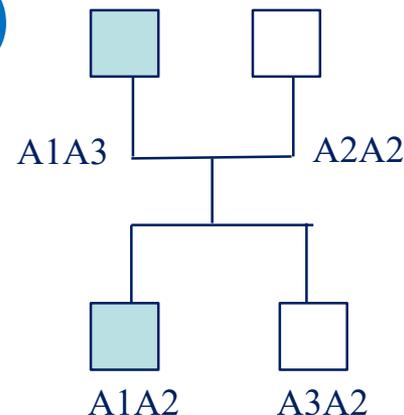
- 細胞分子ネットワークの歪み/構造変化

# 網羅的分子医学 第1パラダイム

## ゲノム医療 (1990~現在)

- 「生得的な(germ-line)」ゲノム変異や多型性に基づいた個別化医療

- 生得的ゲノム (constitutional genome)は全細胞で生涯を通じて同一 99.9%は共通



- 疾患原因遺伝子 (Disease causative gene)

- 家系調査/Linkage解析、Positional Cloning

- 1980年代から: ハンチントン病 (CAGリピート, HTT遺伝子, 99%浸透率), その他にデシャンヌ型筋ジストロフィー, 嚢胞性線維症など
- 当時400程度のDNAマーカ → ヒトゲノム解読計画へ

- 疾患感受性遺伝子 (Disease susceptibility gene)

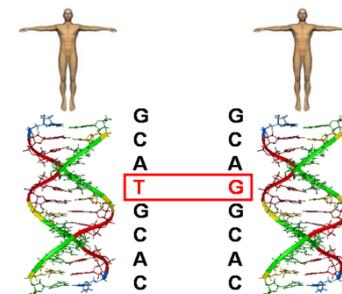
- 多型性: 一塩基多型(SNP), 約1億個,

- そのほかにマイクロサテライト、CNVなど

- 全ゲノム関連解析 (GWAS) 疾患相対リスク

- HAPMAPプロジェクト、1000ゲノムプロジェクトなど

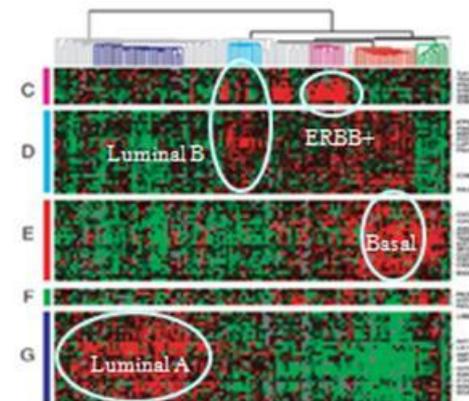
- 薬剤代謝酵素の多型性 → 薬の有効性・副作用の評価



1塩基の変異が疾患や薬剤への応答性に関与する場合がある

# 網羅的分子医学 第2パラダイム オミックス医療 (2000~)

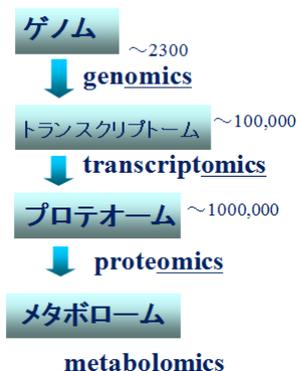
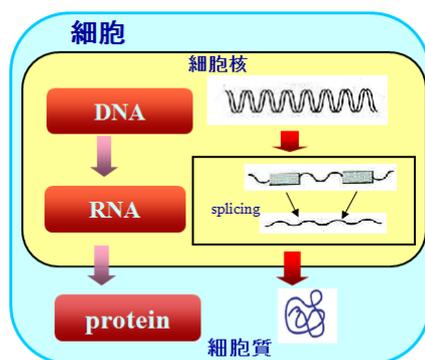
- 「**後天的・疾病状態依存的に変化する体細胞変異**」
  - 後天的体細胞ゲノム変化・オミックス変化に基づく医療
    - 遺伝子発現プロファイル・プロテオーム・メタボロームなど
    - 網羅的分子表現型 "molecular phenome" — 分子的病態像
  - 疾患の進行度の評価**
    - 疾患組織や病態進行の段階に依存
    - 臨床症状や病理変化より早く変化→予測医療・先制医療



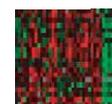
- 疾患オミックスプロファイルによる疾患の内在的分類**
  - 網羅的分子病態像によるサブタイプ分類
    - 遺伝子発現プロファイルによる分類
  - 臨床・病的な分類よりもintrinsicな分類
    - 乳がんの臨床を根底的に変革

intrinsic分類	ER	PgR	HER2	予後
Luminal A	ER(+) and/or PgR(+)	(-)	(-)	予後良好
Luminal B	ER(+) and/or PgR(+)	(-)	(+)*	A型より不良
HER2 enriched	(-)	(-)	(+)	予後不良
Basal-like	(-)	(-)	(-)	予後不良

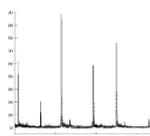
乳がんのオミックスプロファイルと亜型分類と予後・治療



Next generation sequencer



DNA microarray



Mass spectrometry



# 網羅的分子医学 第3パラダイム システム分子医学 (2010~)

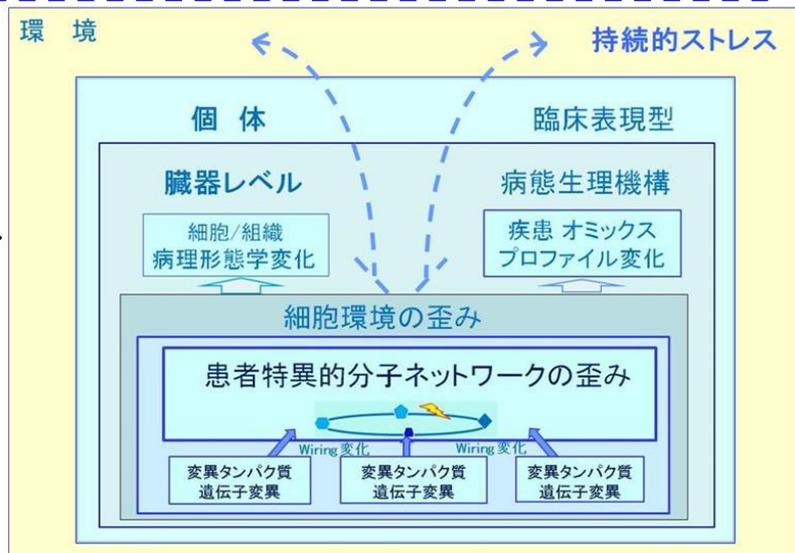
システム科学の疾患への応用  
「疾患をシステムとして理解する」

単因子性の疾患を除いて、大半の疾患は1個や2個の遺伝子の変異ではなく多数の遺伝子の変異やタンパク質の機能異常による分子パスウェイ/ネットワークの調節機能不全や歪み  
**distortion (dysregulation) of molecular network**

個別化医療・予測医療・先制医療・創薬のための疾患のシステムの理解に基づく医療

**疾患オミックス**  
網羅的分子表現型  
(molecular phenome)  
成り立たせる基底としての  
「細胞分子ネットワークの構造変化」

病態生理層と病理形態層による  
臓器・個体レベルの階層システム化



# ゲノム・オミックス医療の流れ

2008年

2009年

2010年

2011年

2012年

2013年

2014年

2015年

2016年

2005～ NGSの登場  
(454, Solexa, SOLID)  
2007/8～  
**シーケンス革命**

ゲノム多型性の認識  
.Hapmap2002開始  
GWAS研究の興隆

TCGA (2006), 国際  
がんコンソーシア  
ムICCG(2008) の  
成果2011から出現

Undiagnosed  
Disease原因遺  
伝子のPOC同定  
**MCW小児病院**

薬剤代謝酵素多型性  
電子カルテで警告  
Preemptive PGx  
**Vanderbilt大病院**

Cancer Driver  
Geneの同定と  
抗がん剤治験  
**Dana Faber**

現在のゲノム・オミックス医療  
臨床実装 (clinical implementation)

現在のゲノム医療は多因子疾患には無力である

システム分子医学

合理的・客観的医療 (precision medicine) の開始

# システム分子医学の基礎

## 1. 疾患システムバイオロジー

「システム生物学」を基礎に疾患へ適用

## 2. 複雑系疾病論

「複雑系」を基礎理論として疾病に適用

# システム分子医学を支える 疾患システム科学

## 第1の疾患システム科学 疾患システム・バイオロジー

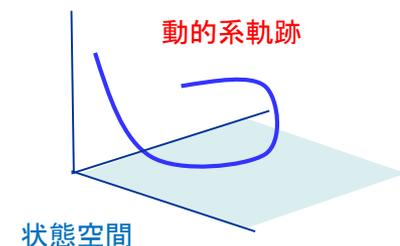
- システム生物学の疾患領域への応用
- 細胞病態過程のシステム・モデリング
  - 計算機シミュレーション・実験値との突合
  - 実験データのシステム・モデル分析
  - 欠点：モデル化可能な既知の生物過程に限る
  - 特徴：システム構造は不変、変量だけが時間的に変化
- 疾患オミックス情報からシステム同定
  - 決定的な同定法を探求中
  - 多層疾患オミックス情報の利用



培風館 2012

# システム分子医学を支える 疾患システム科学

## 第2の疾患システム科学 複雑系疾病論（病態力学系）



- 複雑系・動的（非線形）システム論
- 非線形動的システム概念からの疾病理解
  - 生命システム構造（枠）の時間的変化（「構造変化」）
  - 発生や生命進化が扱える。これらと疾病との基本関係
  - 生命システム構造の大転換「転移」と疾患発症
- 具体的疾患過程への応用は探索中
  - 数理モデルとしての限界の超克
  - 具体的疾患過程への適用—現象的なシステム量へ縮約

# I 疾患システムバイオロジー

# 疾患システムバイオロジーの現状

## 例 がん疾患

- **Cancer Systems Biology**

- 「疾患システムバイオロジー」の最も活発な分野
  - 疾患システムバイオロジー (disease systems biology)
    - システム生物学の疾患への応用
    - 「システム(分子)医学」の基礎を支える学問分野
  - システム生物学:
    - 「生命をシステムとして理解する」生命情報学の第3世代
    - 第1世代: 単分子の核酸・タンパク質の配列・進化解析
    - 第2世代: 網羅的分子 (genome/omics) の配列・進化解析

- **学術的領域としてのすでに確立**

- NIH, 2004年にグラント開始
  - 00'の中頃からシステム生物学の生命科学での興隆に影響を受けて疾患分野での応用を目指す。
- 全米で12の研究施設 (Center for Cancer Systems Biology)
  - NCIのICBP(integrative cancer biology program)より助成
  - Dana-Faber(Harvard), Stanford, Columbia, MIT, MSKCC等
- 国際学会・シンポジウム: CSBの名前で多数開催
- Cancer Systems Biology Consortiumが本年から NIHの援助 (37.8M\$)のもとに活動開始



Center for Cancer Systems Biology

# 疾患システムバイオロジーの臨床基本戦略

## マルチオミックスからの分子ネットワーク病態認識へ

### 1. 疾患オミックスプロファイル (disease omics profile) から

→ **患者特異的分子ネットワーク(個別化医療)** の調節不全分枝 同定

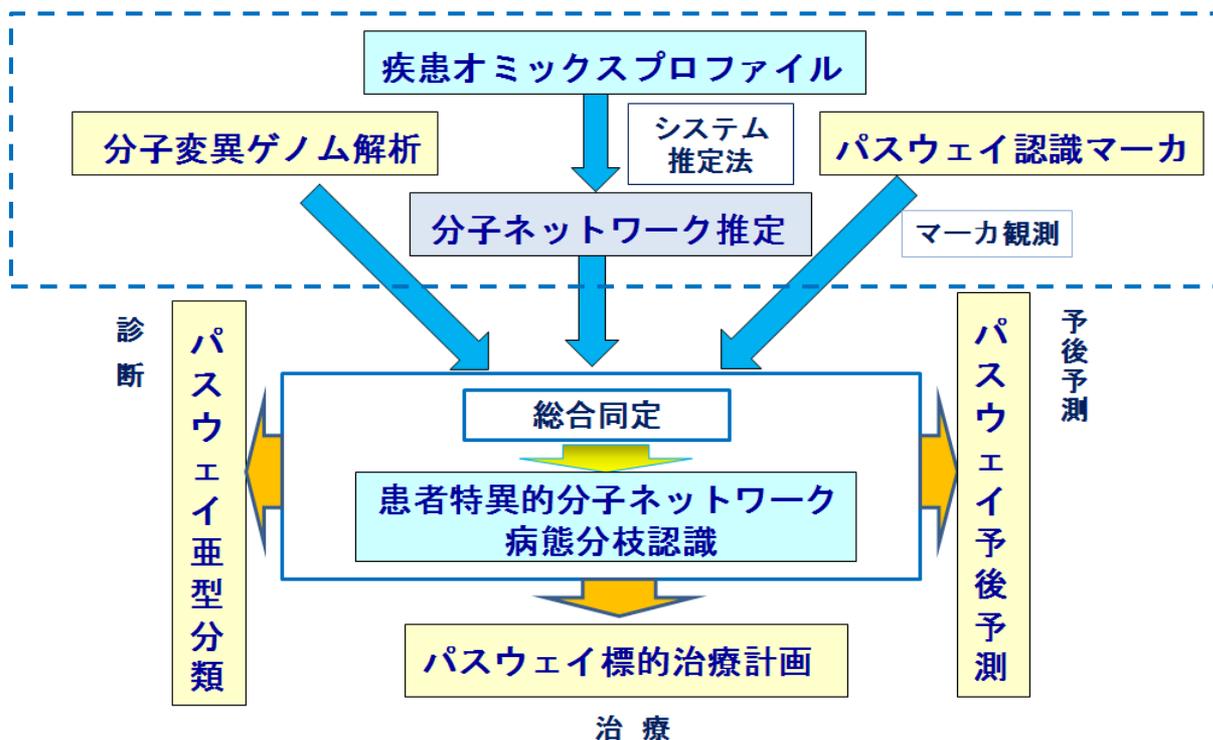
Dysregulated pathway/subnetwork (“disease-perturbed network” Hood) の同定

### 2. マルチオミックスによる臨床的実践の戦略

**遺伝子発現プロファイル** 推定法による分子ネットワークの同定 (80%)

**次世代シーケンシング** 転写因子や信号パスウェイ分子の変異

**プロテオーム**(パスウェイバイオマーカ) リン酸化情報



# 疾患システムバイオロジーの臨床実践の フレームワーク

**目標**：患者特異的な細胞分子ネットワークの歪構造変化を同定し  
これを基礎に診断・治療・予後を組み立てる

## 基本原則

臨床実践レベルで実現可能な分子ネットワーク歪構造同定

## 基本的枠組み

1. 遺伝子発現プロファイルを、**主要疾患オミックスプロファイル**として  
分子ネットワーク推定アルゴリズムを適応してNWの大枠を決定
2. Clinical sequencingにより**遺伝子・ゲノム変異**を得てNWを詳細指定
3. リン酸化タンパク質抗体などのパスウェイバイオマーカより**活性化分枝特定**

**問題点**：単一の疾患オミックスプロファイルから患者特異的な分子ネットワークは  
同定不可能

**方向**：疾患オミックスプロファイルのDBが必要。患者のオミックスプロファイル  
から類似パターンを検索

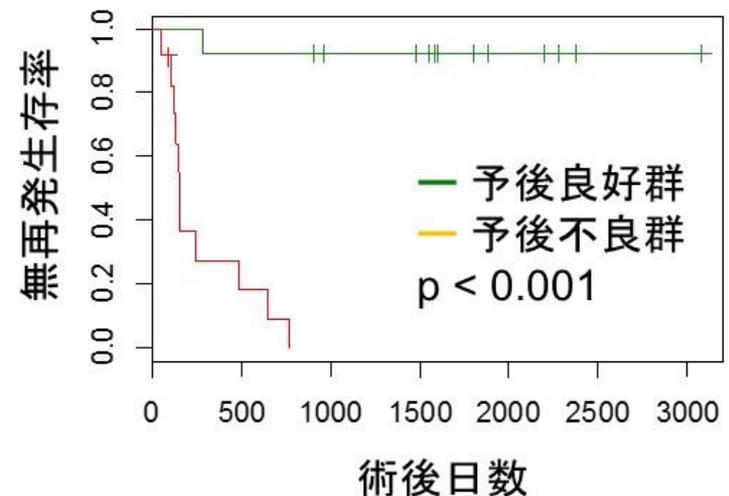
# 分子ネットワーク歪構造同定

疾患オミックスプロファイルの乱れの  
親近度クラスター分離

分子ネットワーク差異的部分の推定

## 疾患ネットワーク同定方法論の試み

- 東京医科歯科大学附属病院 肝胆膵・総合外科にて肝切除を受けた症例
  - 類似の発現パターンの予後良好群20例と不良群20例を抽出
  - 臨床病理学的因子：門脈侵襲(vp:  $p < 0.001$ )などに強く相関
- 多層オミックス測定
  - DNAマイクロアレイによる発現解析
  - SNPアレイによるコピー数変異解析
  - 次世代シーケンサによるエクソーム解析（変異遺伝子）
  - プロテオーム解析（リン酸化）

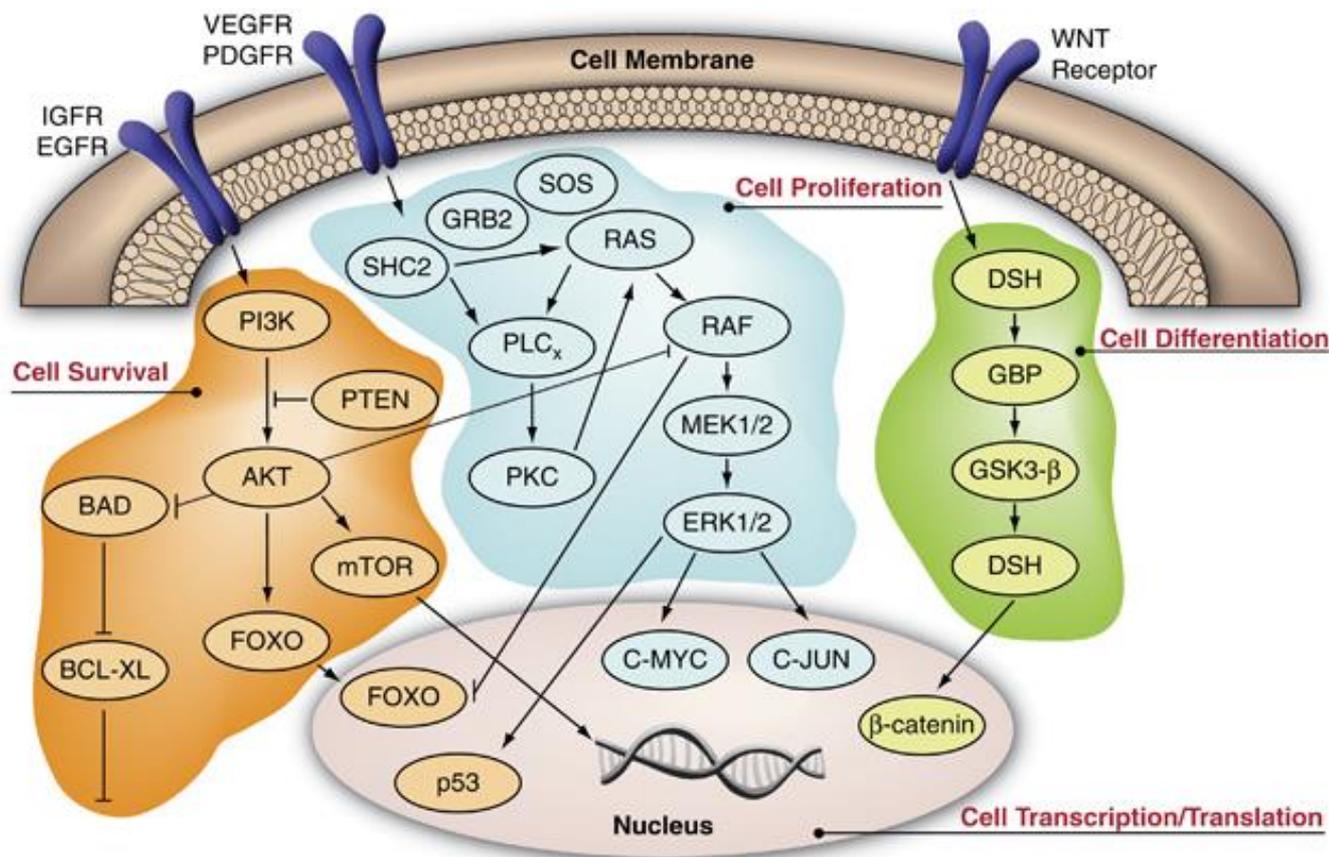


# 細胞分子ネットワーク同定方法論

- 細胞分子ネットワーク・モデルを設定
- 遺伝子発現プロファイルの類似症例集団に遺伝子ネットワーク同定アルゴリズム（例えばGenie3）を適用して分子ネットワークを推定・同定
  - 臨床統合オミックスDB（例えばiCOD）が存在すれば、患者の疾患オミックスと類似な症例（類似性検索）を検索して、一定の患者亜集合を構成する。
- タンパク質間相互作用ネットワーク（PPI）などを用いて分子ネットワークの推定を補う。
- 類似症例間での推定ネットワークを比較して、Differential 法で分子ネットワークの歪構造サブネットワークを抽出

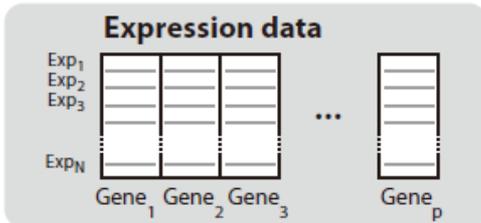
# がん分子ネットワーク上流モデル 細胞増殖系

- Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2010;29(36):4989-5005.



## Gene Network Inference with Ensemble of trees

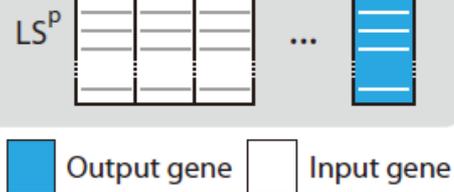
①遺伝子p個の発現データ



LS<sup>1</sup> 部分問題 ...

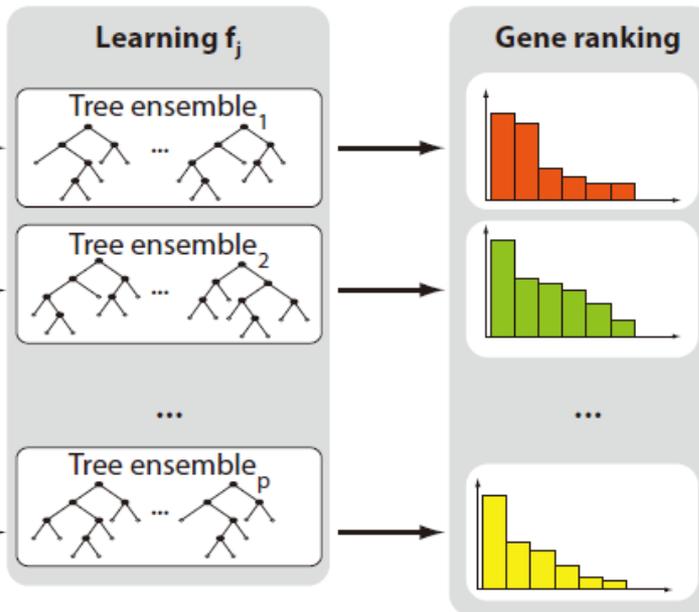
目的関数はターゲット遺伝子の発現量

他の幾つかの遺伝子の発現量で目的関数を説明する

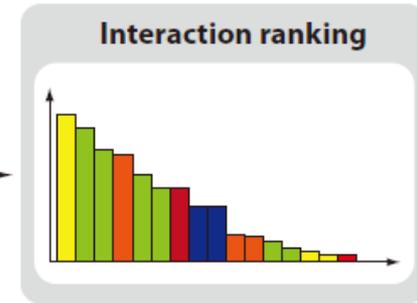


②ネットワーク推定の問題をp個の部分問題として扱う。

③それぞれの部分問題をrandom forestで解く。Random forestは多数の回帰木を作成して問題を解く方法。



④p個のリンクのスコアリストを統合して、全遺伝子のリンク全てに対するスコアリストを作成する。

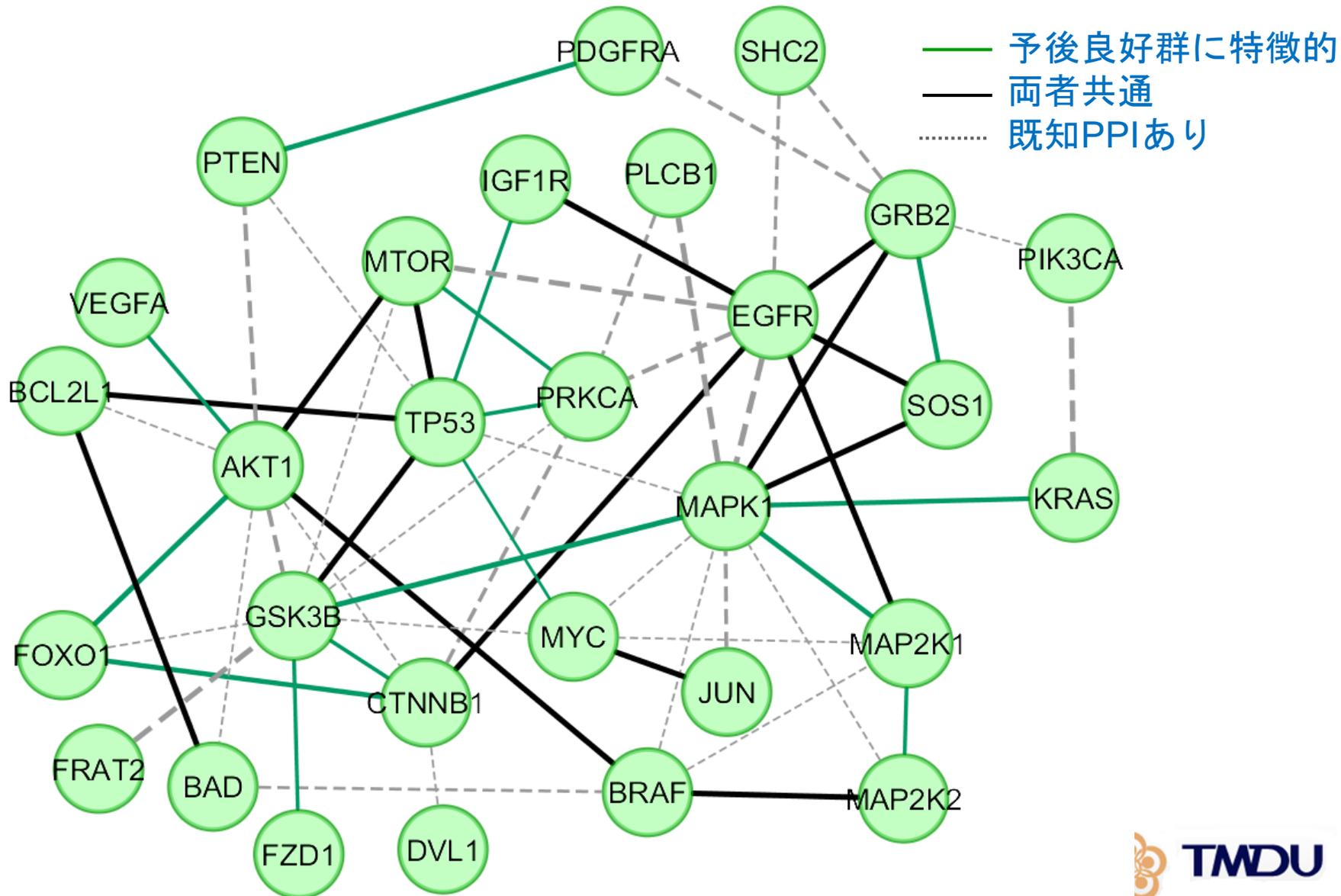


部分問題の結果はそれぞれの遺伝子のスコアとして表される。高いスコアの遺伝子がターゲット遺伝子を制御する遺伝子とみなされる。そのスコアが、ターゲット遺伝子とその遺伝子の間のリンクのスコアとなる。

Huynh-Thu VA, Irrthum A, Wehenkel L, Geurts P. Inferring regulatory networks from expression data using tree-based methods. PLoS ONE (2010) 28:e12776.

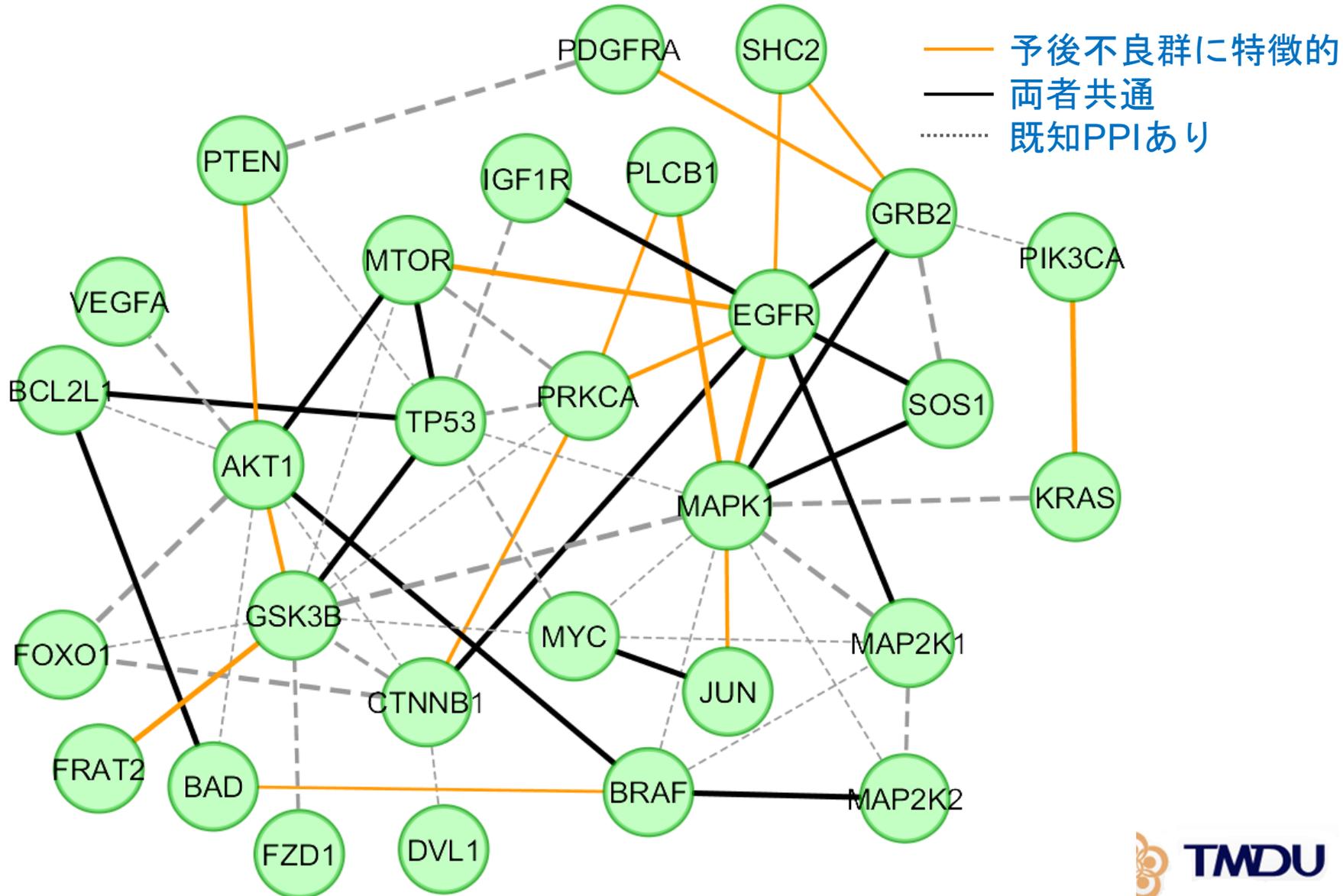
# 細胞増殖分子ネットワーク推定

## 予後良好群ネットワーク



# 細胞増殖分子ネットワーク推定

## 予後不良群ネットワーク



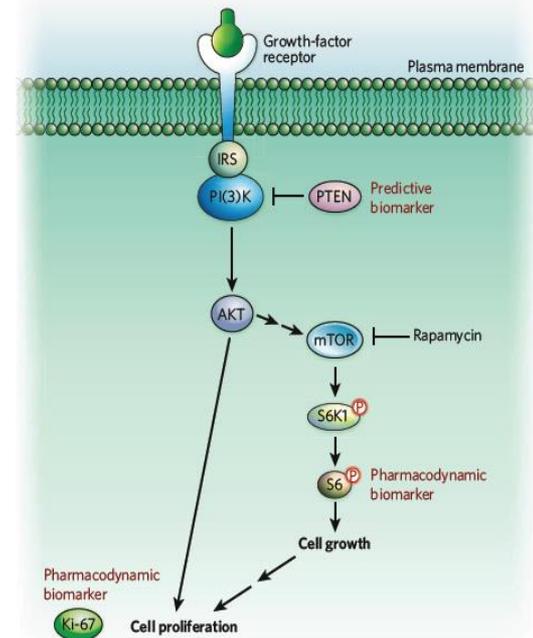
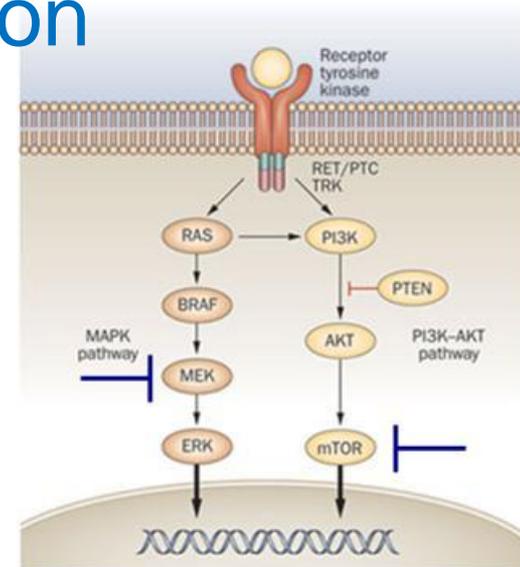


# 疾患のシステム理解 がんとPathway Addiction

## ■ 多重シグナル伝達経路の存在

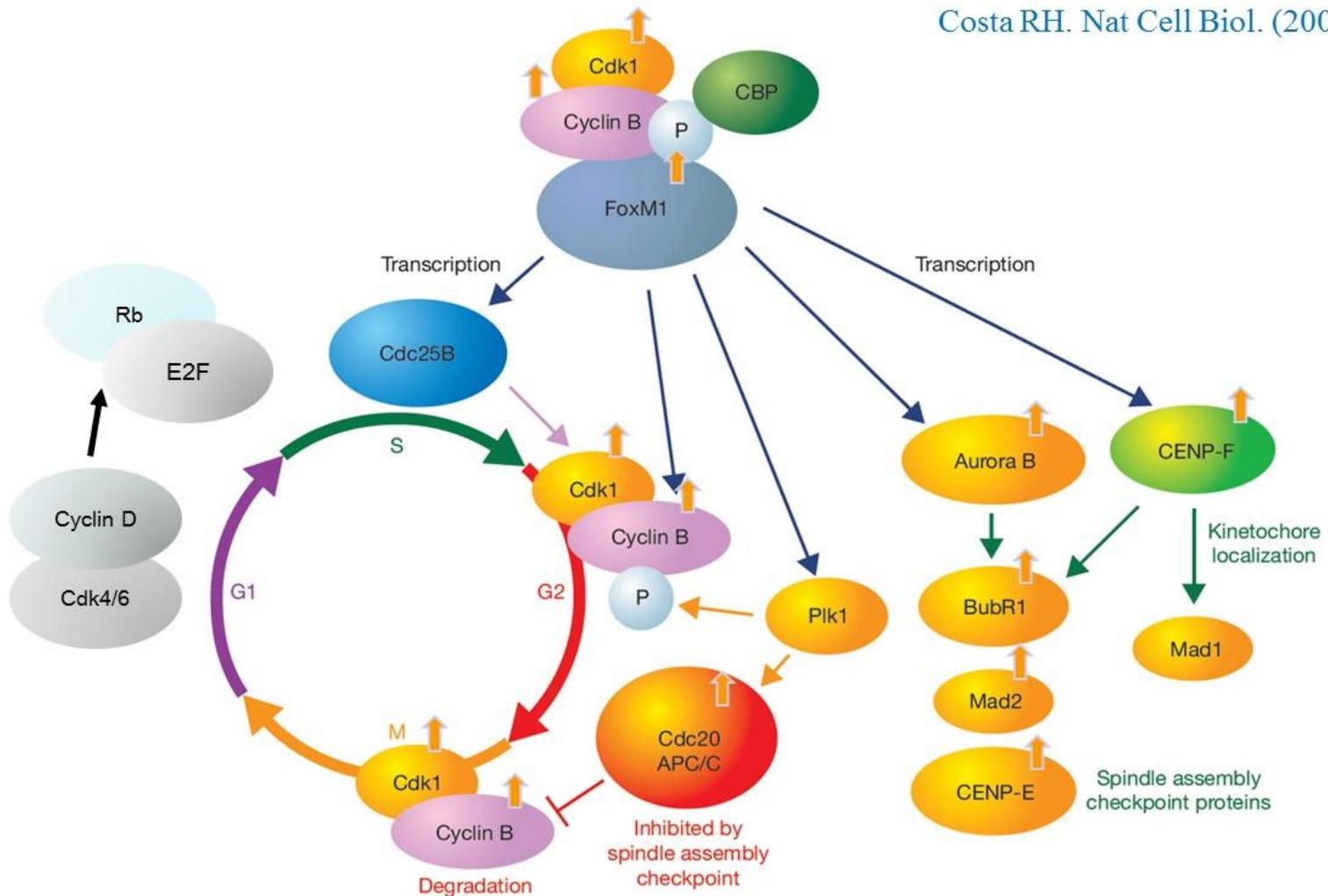
### EGFRパスウェイの下流

- Ras-Raf-MEK-ERK
- PI3K-Akt-mTOR-S6
- がん抑制遺伝子 PTEN 機能喪失
  - PI3K/Akt パスウェイは通常 PTENで抑制
  - がんではPTEN変異のため PI3K/Akt 系活性
  - 全ゲノム配列解析やExomeシーケンシング
- PI3K/Akt/mTORにPathway Addiction
  - MEK 阻害剤がしばしば無効
  - パスウェイ過剰活性化は非線形システム現象
- “パスウェイ活性化バイオマーカー”を
  - リン酸化した S6の抗体マーカー
  - 患者特異的パスウェイ異常の同定
- mTOR inhibitor を使用する
  - PI3K/Akt/mTOR 過剰活性化がんパスウェイの抑制



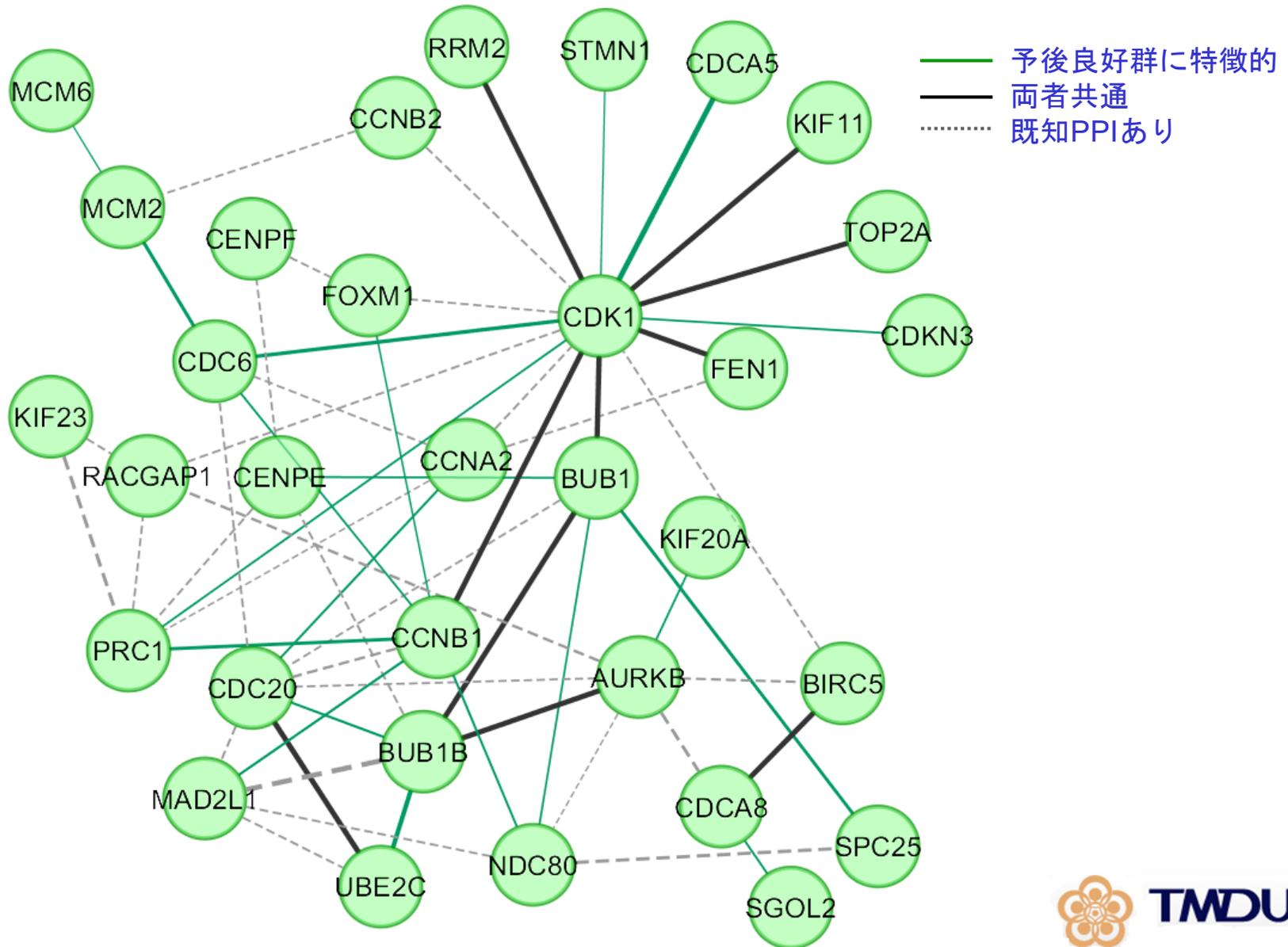
# がん分子ネットワーク下流モデル 細胞周期制御

Costa RH. Nat Cell Biol. (2005)



# 細胞周期 分子ネットワーク推定

## 予後良好群ネットワーク



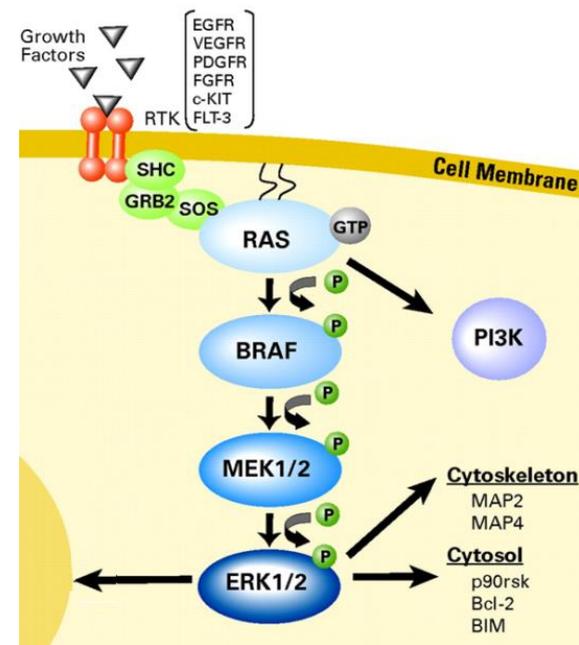




# システム分子医学と創薬

## oncogene addictからpathway addictへ

- 分子標的薬と **oncogene addiction**
  - 分子標的薬の有効性理論根拠
  - 乳がんHer2, 肺がんEGFR
- パスウェイ過剰依存
  - **Pathway addiction**
  - 標的分子というより、並行パスウェイ間の競合による選別
  - 非線形システム現象（差異拡大型正帰還）の**収斂効果**
  - **Addictionはシステム現象なので変化する場合多い**

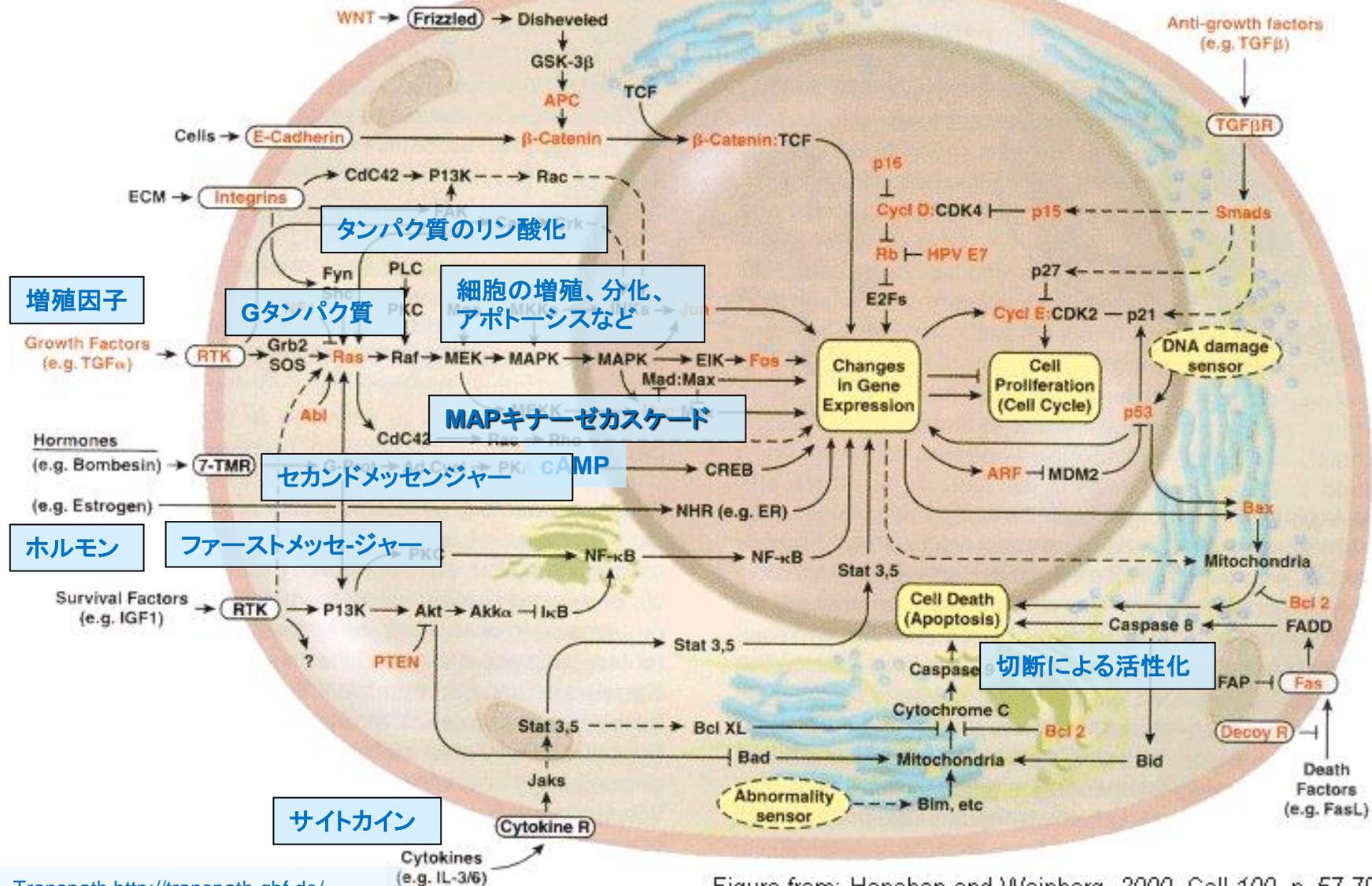


# II 複雑系疾病論

(病態力学系アプローチ)

# 細胞分子ネットワーク

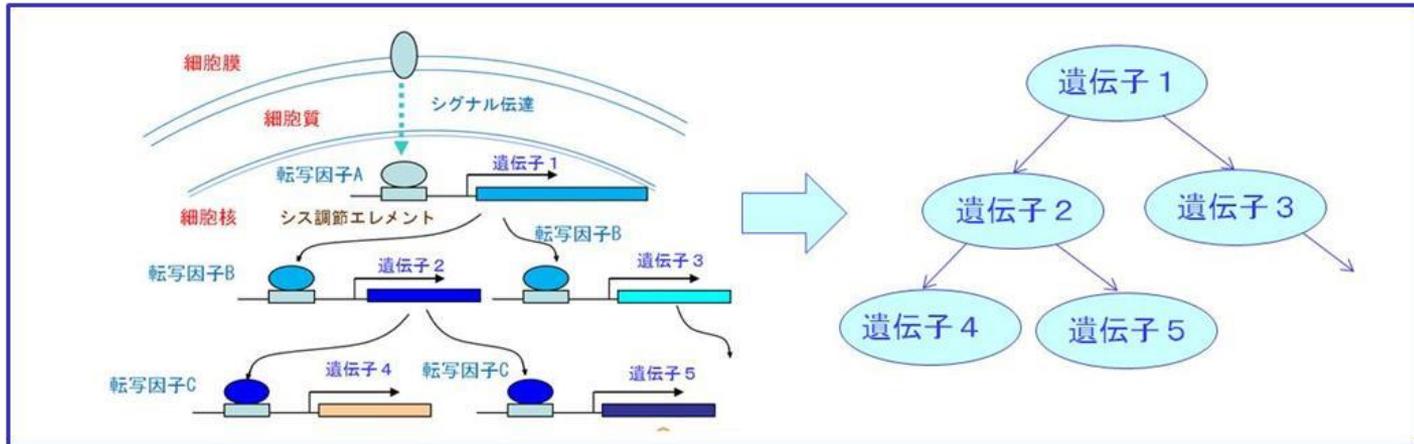
## 1. 細胞内シグナル伝達系



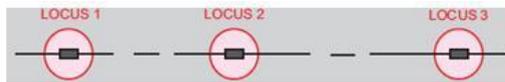
# 細胞分子ネットワーク

## 2. 遺伝子発現調節ネットワーク gene regulatory network (GRN)

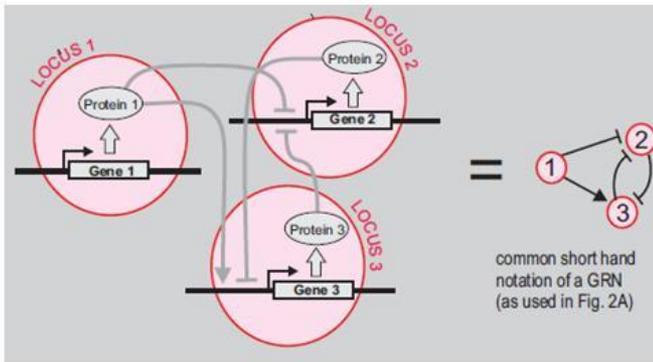
遺伝子発現調節ネットワーク (GRN) は生命系の機能的構造を形成。シグナル伝達系は情報伝達



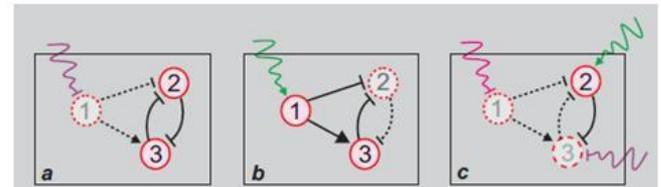
ゲノム  
遺伝子座



遺伝子  
発現調節  
ネットワーク  
構造



遺伝子発現調節  
ネットワークの  
様々な発現パターン



# 病態進行の機序：分子ネットワーク構造変化

## Prion accumulation network

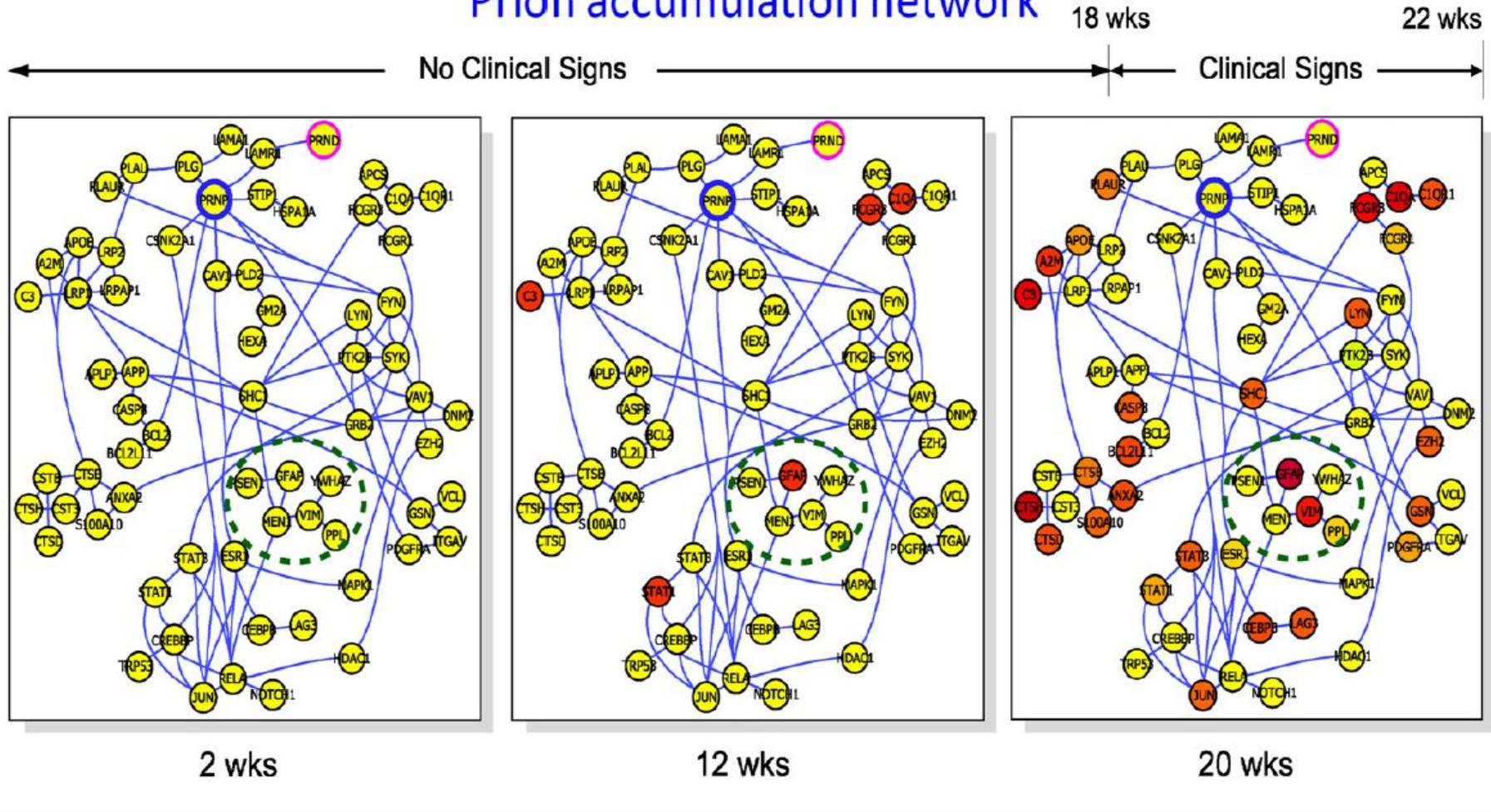


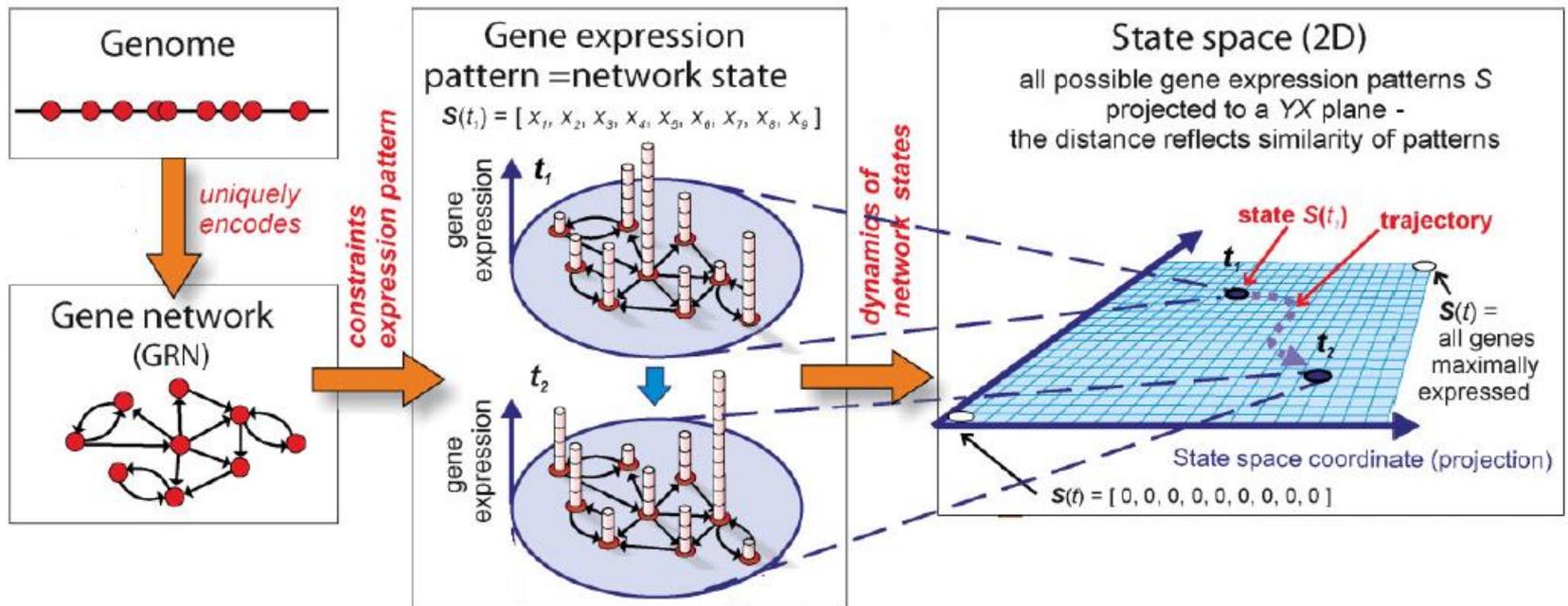
FIGURE 4

A schematic of the prion accumulation and replication network in the prion-induced mouse neurodegenerative disease. The red indicates transcript levels that have been increased in the brains from prion-infected animals as compared with normal control brains. The yellow indicated transcripts that are the same in control and diseased animals. The three panels represent the network at 2, 12 and 20 weeks in animals that live about 22 weeks with this disease. The disease-perturbed networks appear about eight weeks before the clinical signs appear in these animals.

がんと再生医療の  
細胞分子ネットワーク空間分析  
定量的 Waddington エピゲノム地形分析

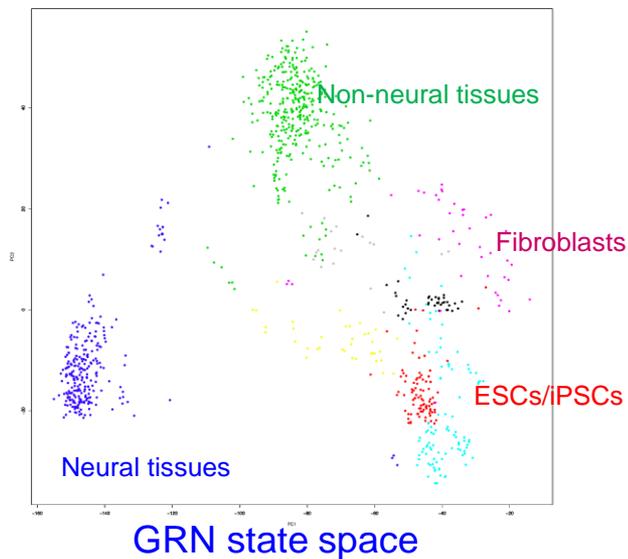
# 細胞分子ネットワークの状態空間

- 細胞分子ネットワーク (GRN) の状態空間を考える
- 細胞分子ネットワークの結線構造はゲノムにコードされて生得的/固定的である
- GRNの中でどの遺伝子が発現しているかは、細胞型および状態によって異なる

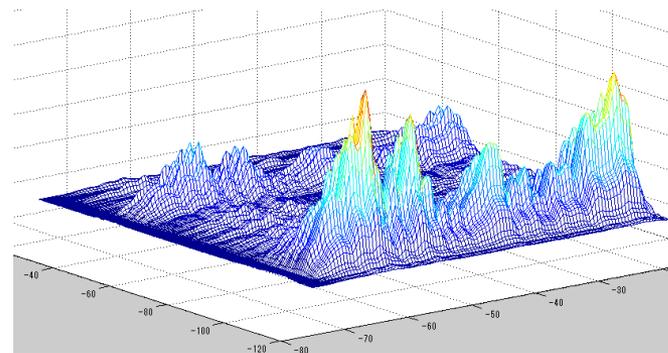


# 細胞型とGRN空間での分布

- GRN空間内での220種類の細胞型 (cell type)の発現
- 一定の細胞分子ネットワークの発現パターン (安定な発現プロファイル) に対応する点の周りに集積
- GRN空間に頻度分布 (確率構造)



GRN state space



各細胞型: 共通に高頻度で観測される  
遺伝子発現プロファイルとして集積

# 定量的Waddington Epigenetic Landscape (qWEL 理論)

- 細胞分子ネットワーク空間 (GRN空間)
  - 遺伝子のネットワークの活性化状態を表す
  - 遺伝子発現プロファイル (=GRN) の空間
- GRN空間における確率分布  $\Psi(r)$ 
  - GRN空間での遺伝子発現プロファイルの頻度分布  $\Psi(r)$
- 確率分布を準ポテンシャル表示に変換  
定量的Waddingtonエピゲノム地形
  - quantified Waddington Epigenetic Landscape
  - ここでは“qWEL (理論)”とよぶ
- ボルツマンの関係式  $f(x) = \exp(-E/kT)$

$$U(r) = -\log \Psi(r)$$



# Waddington のエピゲノム地形 (Epigenetic Landscape)

- 発生学者Waddingtonが細胞運命の譬喩として提唱(1942,1957)

- 細胞運命 (cell fate) :**

細胞の発生過程

多能性幹細胞(ES/iPSC)から

前駆細胞 (progenitor cell) を経由して

成熟分化細胞型 (matured cell type)

球が稜線間の谷間を経由して転がる

- 細胞は、分水嶺 (Dividing ridge) の麓でどの谷間を転げ落ちるかを選択する

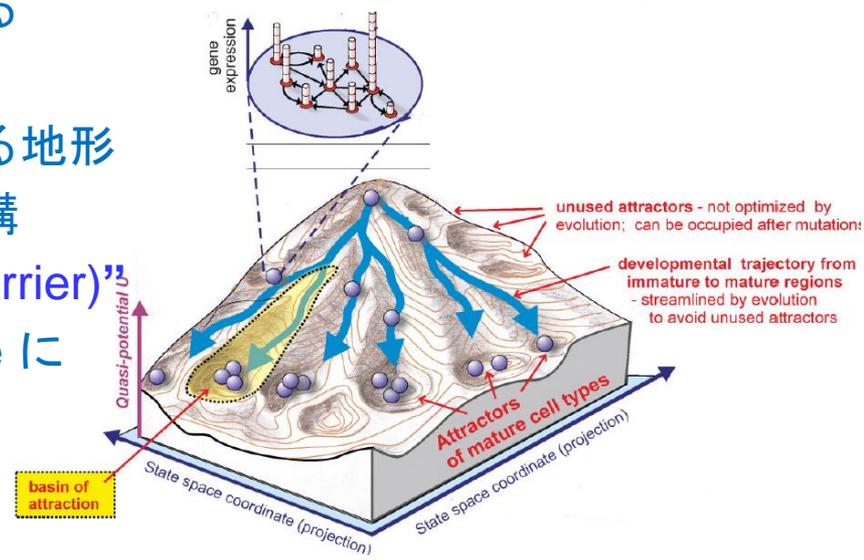
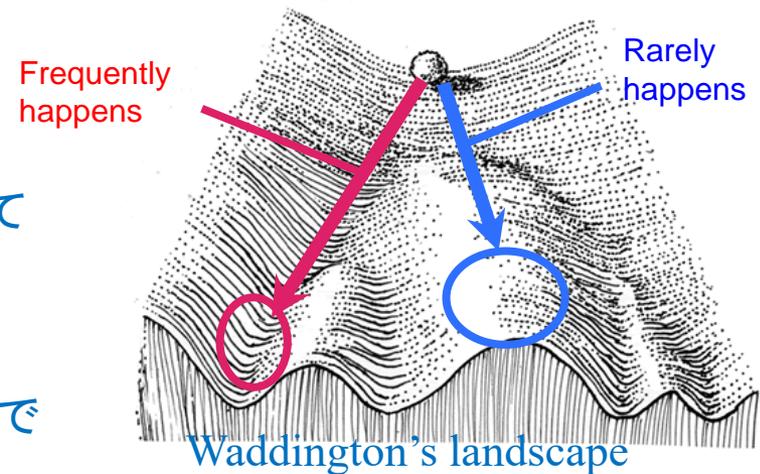
- Dividing Ridge (分水嶺) :**

細胞分子ネットワークの構造が作る地形

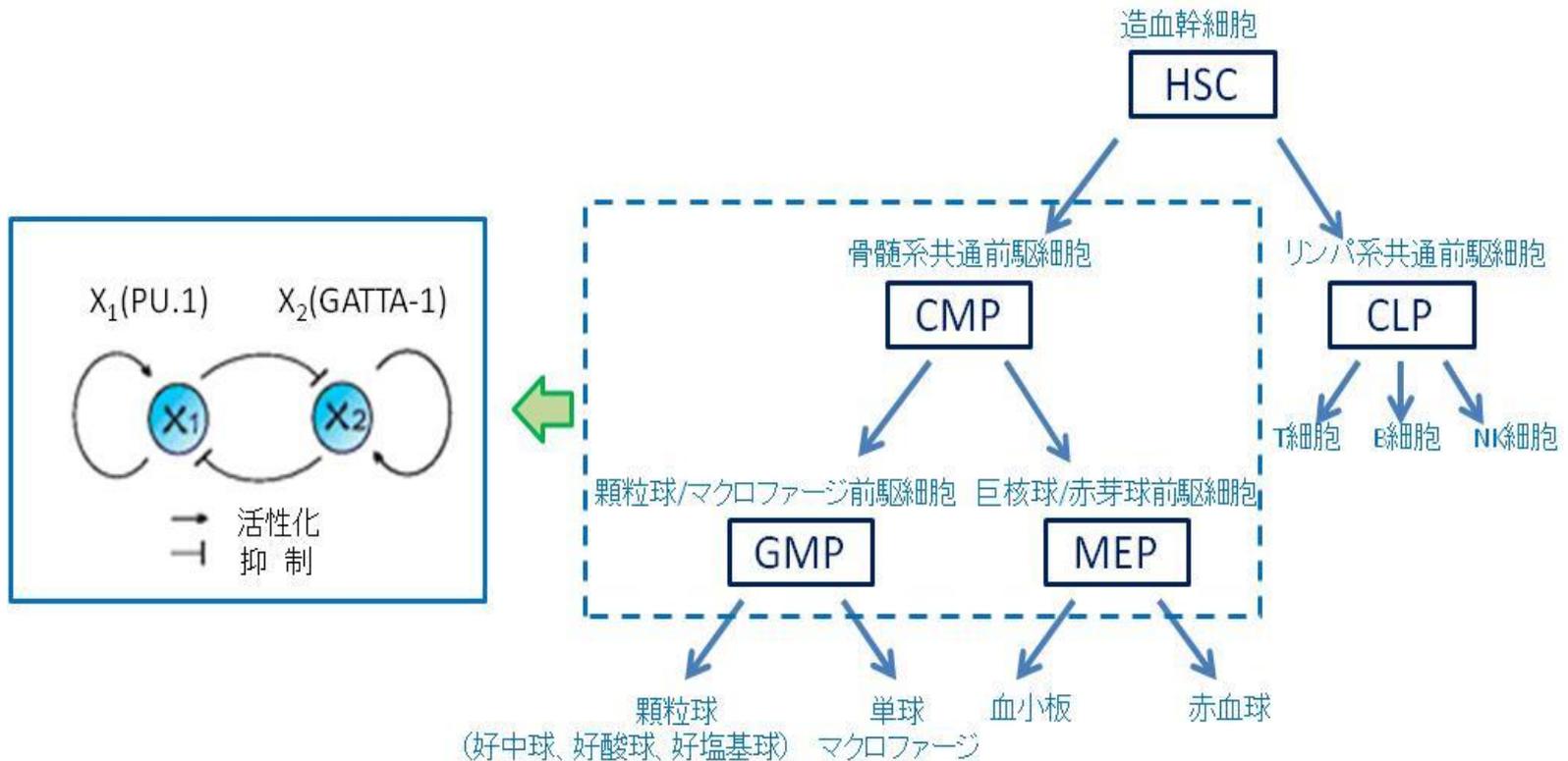
エピゲネティックな遺伝子調節機構

→”**エピゲノム障壁 (Epigenetic Barrier)**”

- 成熟細胞型はWaddington landscape に Basinを作る



# 数理解析によるqWEL地形の導出 Wangのモデル



造血幹細胞からの血球成分への分化と骨髄系共通前駆細胞CMPの発生運命を決定する転写因子PU.1とGATA-1の相互抑制動態モデル

# 定量的Waddington Epigenetic Landscape (qWEL 理論)

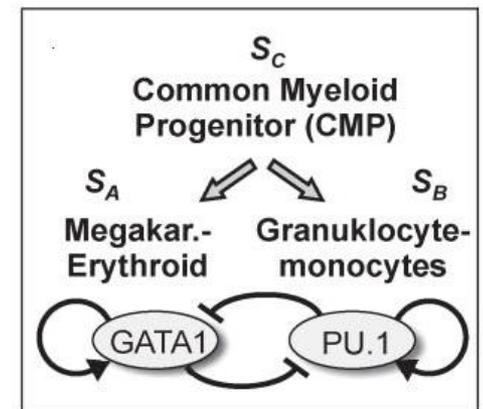
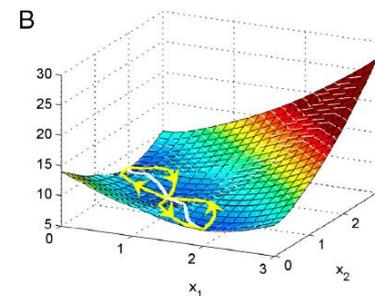
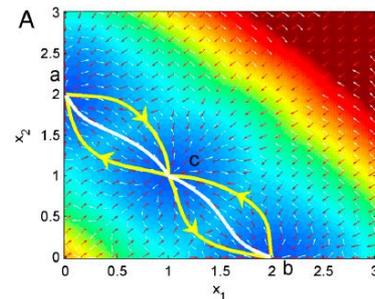
- 多能性幹細胞（前駆細胞）の運命選択
  - 骨髓系前駆細胞 Myeloid Progenitor Cell (CMP)
    - 赤芽球系前駆細胞  
Megakaryocyte-Erythroid Progenitor Cell (GATA1)
    - 顆粒球マクロファージ前駆細胞  
Granukocyte-Macrophage Progenitor Cell (PU.1)
- 方程式

$$\frac{dx_1}{dt} = \frac{a_1 x_1^n}{S^n + x_1^n} + \frac{b_1 S^n}{S^n + x_2^n} - k_1 x_1 = F_1(x_1, x_2)$$

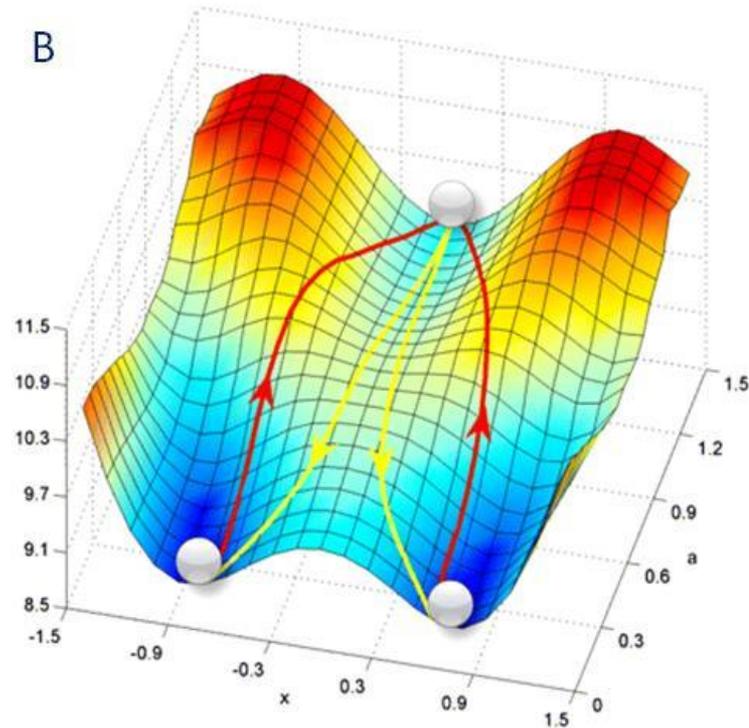
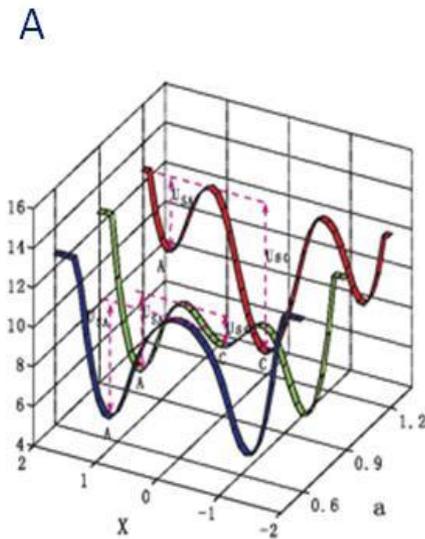
$$\frac{dx_2}{dt} = \frac{a_2 x_2^n}{S^n + x_2^n} + \frac{b_2 S^n}{S^n + x_1^n} - k_2 x_2 = F_2(x_1, x_2)$$

$$dx/dt = \mathbf{F}(\mathbf{x}) = [F_1(x_1, x_2), F_2(x_1, x_2)]$$

$$\frac{da}{dt} = -\lambda a$$



# Wangの2遺伝子モデルとWaddington地形

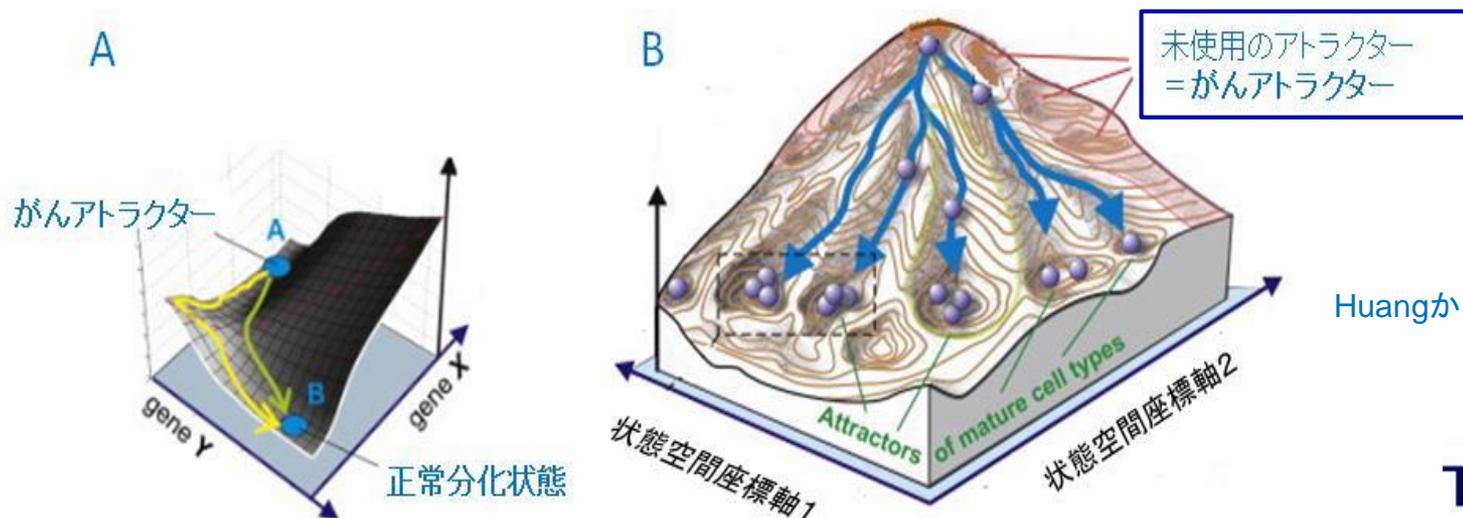


発生進行パラメータaとWaddingtonエピジェネティック地形

図A パラメータaによる準ポテンシャルの横断面の変化 (aが大きくなると中央のCMPのアトラクターが不安定になり、両脇のMEP、GMPのアトラクターが深くなる。図B 発生に伴うaの変化を取り入れたアトラクター地形の変化と細胞状態の分化過程。オリジナルなWaddingtonエピジェネティック地形と同等の地形が構成できた。

# がんアトラクターと病態力学系治療方針

- **Kaufman : がんアトラクター理論**
  - がんアトラクター：正常の分化パス（青色のパス）から離れたところのアトラクターで、通常は未使用のアトラクターである
  - 遺伝子発現調節ネットワークの可能解として存在
  - がんは変異の連続・集積で生成されるものではない。予め遺伝子NWの解として存在する。変異の連続はこのアトラクターへ至る誘導である
  - 進化が、この陥穽に陥らないような発生パスを形成している
- **がん治療への方針**
  - 状態空間でのがんアトラクターの位置（A）と正常分化状態（B）
  - A：現在のがん病態の状態空間での位置 B：正常分化状態
- **qWEL地形を参照した治療方針**
  - A→BのパスをX方向に継いでY方向に遷移させるよりもX,Y同時に動かす方がバリアを登らなくてよい。
  - 複数抗がん剤による最適治療制御の可能性



Huangから著者改変

# 我々の方法

## 経験的ポテンシャル法 (empirical qWEL)

- GEOなどの遺伝子発現プロファイルDBの  
遺伝子発現プロファイルのデータから  
GRN空間に経験的頻度分布を描く
- 頻度分布を正規化
  - リサンプロリングによって緻密にする
  - 細胞型のアプリアリな事前確率を乗して調整する
- 主成分分析を行い2成分系の座標を計算
  - 確率分布をスプライン関数などで補完する
- 確率密度を量子化してボルツマン関係式より
- $U = -\ln \Psi$  より準ポテンシャルを計算

# がんの転移過程

## 上皮間葉転換(EMT)の病態力学

### Epithelial-Mesenchymal Transition

doi:10.1093/jmcb/mjv035

Journal of Molecular Cell Biology (2015), 7(3), 253–266 | 253

#### Article

### Network biology approach to epithelial–mesenchymal transition in cancer metastasis: three stage theory

Hiroshi Tanaka<sup>1,2,\*</sup> and Soichi Ogishima<sup>2,†</sup>

<sup>1</sup> Department of Bioinformatics, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Department of Bioclinical Informatics, Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, Sendai, Japan

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.

\* Correspondence to: Hiroshi Tanaka, E-mail: tanaka@cim.tmd.ac.jp

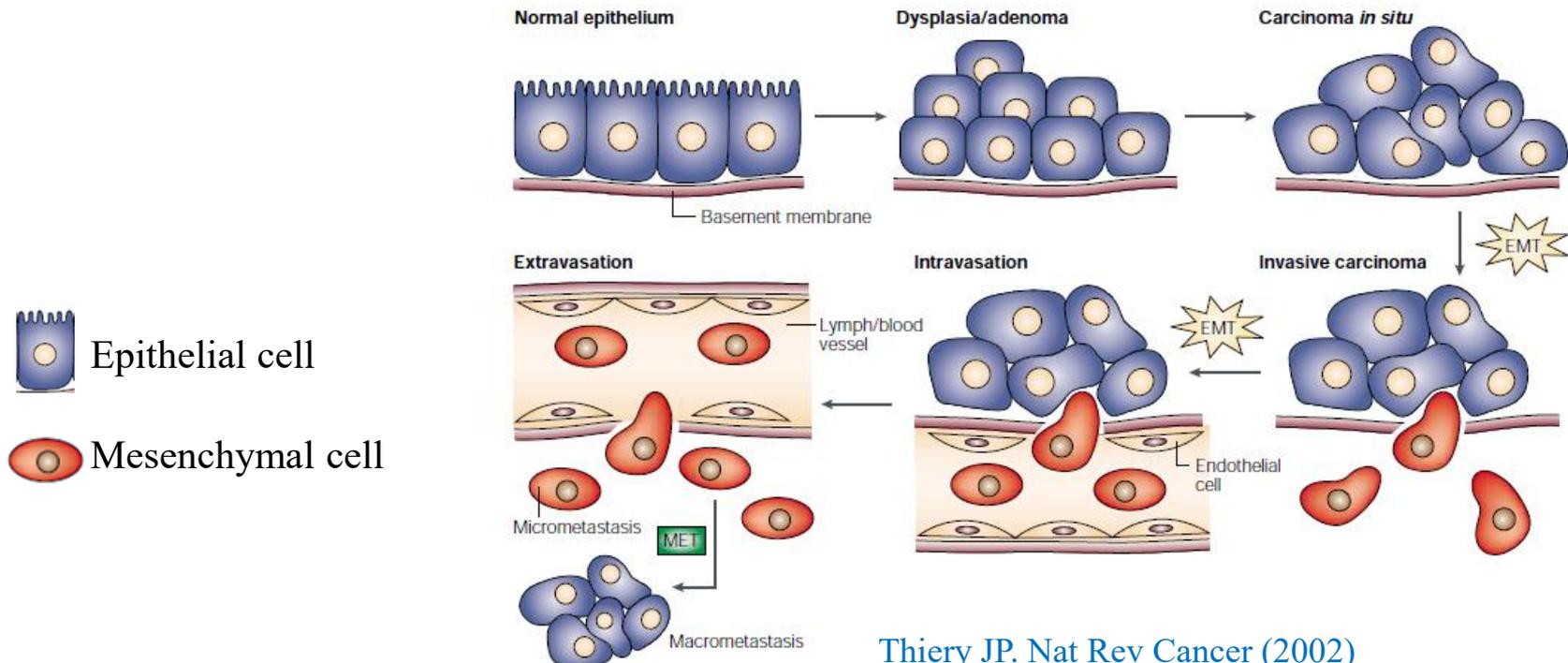
Epithelial–mesenchymal transition (EMT) plays a critical role in promoting cancer metastasis. In this study, cancer EMT is considered as an overall structural change in the gene regulatory network (GRN), and its essential features are elucidated by the network biology approach. We first defined the state space of GRN as a set of all possible activation patterns of GRN, and then introduced the quasi-potential field into this space to show the relative stability distribution of each state. The quasi-potential was determined empirically by collecting gene expression profiles from public databases. Changes of GRN states during the EMT process were traced in the state

Journal of molecular cell biology  
7(3),253-266,2015



# 上皮間葉転換(EMT)

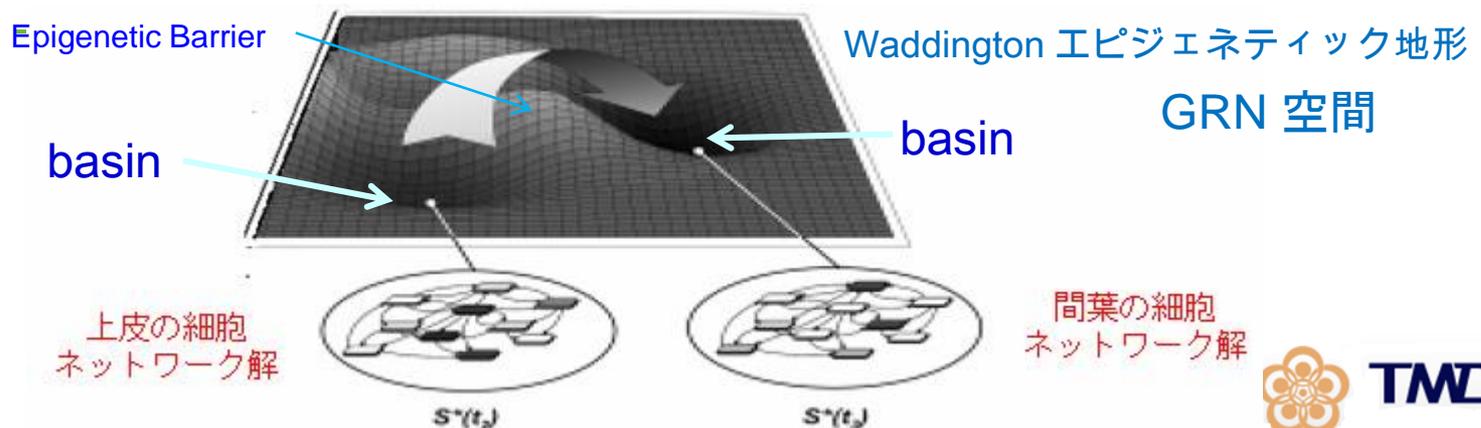
- Epithelial-mesenchymal transition (EMT)
  - non-motile, polarized epithelial cells, embedded via cell-cell junctions, dissolve their cell-cell junctions and convert into individual, non-polarized, motile and invasive mesenchymal cells
- EMT は生物に取っても重要な発生現象
  - Gastrulation (原腸陥入)、神経堤形成など
- EMT は、細胞分子ネットワーク発現の大域的变化



# がんの浸潤転移

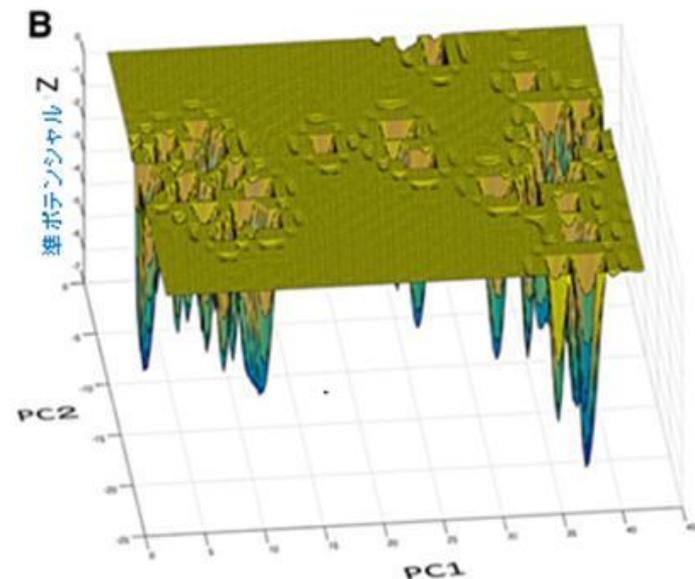
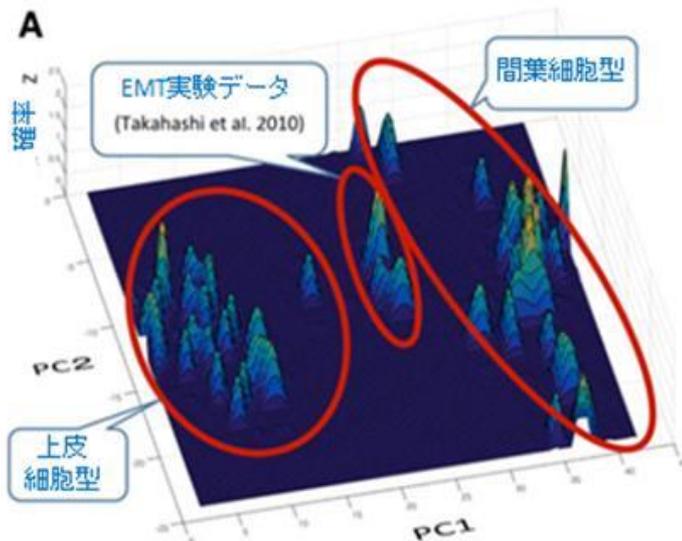
## 細胞分子ネットワーク空間の大域変異

- 細胞分子ネットワーク状態 (GRN状態空間)
  - 細胞分子ネットワークはいくつかの安定解を持つ
  - 各安定解は細胞種類に相当する(約220種類の安定解)、細胞ネットワークが作るCMN空間のエピゲノム地形(準ポテンシャル)「アトラクター状態」これらは多能性幹細胞から分化解である
- EMT (上皮・間葉転移) Epithelial-mesenchymal Transition
  - 細胞分子ネットワークの上皮安定解が間葉安定解へと移行
  - 全ネットワーク状態の転移であるから「相転移」といえる
- がんの転移とは相転移
  - 安定解を不安定化し(ゲノム不安定性)、障壁を越えるためにはゲノムの不安定性が必要である。



# GRN部分空間でのEM状態の表示

- **統計的頻度分布の構築**
  - GEO, ArrayExpressより上皮細胞 (E) および間葉細胞 (M) の遺伝子発現プロフィール・データを収集
  - EMT過程の時系列データとして利用する高橋らの実験的EMTデータを追加
  - Takahashi E, Nagano O, et al. (2010); J Biol Chem. 285(6):4060-73.
- **EMT部分空間の構築**
  - そのままでは4万次元GRN空間、EとMの識別性の高い遺伝子で部分空間を抽出
  - 61遺伝子よりなるGRN部分空間を得る
- **可視化3次元表示のための主成分分析**
  - 61遺伝子の主成分分析を行い、第1-2主成分で2次元座標上に、遺伝子発現データを表す3次元表示系を取得
  - 頻度分布および、そのボルツマン変換により準ポテンシャル表示



# 第 1, 2 主成分の意味

- **PC1: E状態とM状態を一般的に分離する遺伝子**
  - FN1 (fibronectin), COL1A1, COL13A1(Collagen), NEGR1, TNC(Cell adhesion) , ARHGAP24(cell motility)など
- **PC2: がんアトラクターにおけるE状態とM状態を分離する遺伝子**
  - HMMR, PBK, CKMT1A/1B, and BRI3BP (がん関連遺伝子)
  - 細胞周期関連遺伝子cyclin B1, MAD2L1

(a) The top 20 PC1 loadings

Gene symbol	Gene name	PC1 loading
ELTD1	EGF, latrophilin and seven transmembrane domain containing 1	0.261823
<u>FN1</u>	<u>Fibronectin</u>	0.238429
CNN1	Calponin 1, basic, smooth muscle	0.206869
<u>COL1A1</u>	<u>Collagen, type I, alpha 1</u>	0.203478
<u>NEGR1</u>	<u>Neuronal growth regulator 1</u>	0.190520
FBN1	Fibrillin 1	0.187782
ARMCX1	Armadillo repeat containing, X-linked 1	0.182721
WNT5B	Wingless-type MMTV integration site family, member 5B	0.182222
XK	X-linked Kx blood group	0.172636
BAALC	Brain and acute leukemia, cytoplasmic	0.163815
GAP43	Growth associated protein 43	0.157189
ENPP1	Ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase 1	0.156683
<u>COL13A1</u>	<u>Collagen, type XIII, alpha 1</u>	0.156403
DSC2	Desmocollin 2	0.154287
PLSCR4	Scramblase 4	0.148105
<u>TNC</u>	<u>Tenascin C</u>	0.143167
RCAN2	Regulator of calcineurin 2	0.140531
1560208_at		0.135836
<u>ARHGAP24</u>	<u>Rho GTPase activating protein 24</u>	0.135123

(b) The top 20 PC2 loadings

Gene symbol	Gene name	PC2 loading
DSC2	Desmocollin 2	0.266742
ENPP1	Ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase 1	0.264823
ASPM	Asp (abnormal spindle) homolog, microcephaly associated	0.258160
HMMR	<u>Hyaluronan-mediated motility receptor (RHAMM)</u>	0.246326
PBK	<u>PDZ binding kinase</u>	0.238582
CKMT1A/1B	<u>Creatine kinase, mitochondrial 1A/1B</u>	0.221564
AP1S3	Adaptor-related protein complex 1, sigma 3 subunit	0.217856
MIR222HG	mir host gene	0.216734
CNN1	Calponin 1, basic, smooth muscle	0.192942
MAD2L1	<u>MAD2 mitotic arrest deficient-like 1</u>	0.189140
CCNB1	<u>Cyclin B1</u>	0.173976
CLIP3	CAP-GLY domain containing linker protein 3	0.171328
KCND3	Potassium channel, voltage gated Shal related subfamily D, member 3	0.169711
ELTD1	EGF, latrophilin and seven transmembrane domain containing 1	0.159304
HPS3	Hermansky-Pudlak syndrome 3	0.144361
GAP43	Growth associated protein 43	0.133483
PVRL3	Poliovirus receptor-related 3	0.132407
BRI3BP	<u>BRI3 binding protein</u>	0.132175
XK	X-linked Kx blood group	0.128981

# 網膜色素上皮細胞(培養細胞) におけるEMT過程と 遺伝子発現ネットワーク(Cell line of EMT)

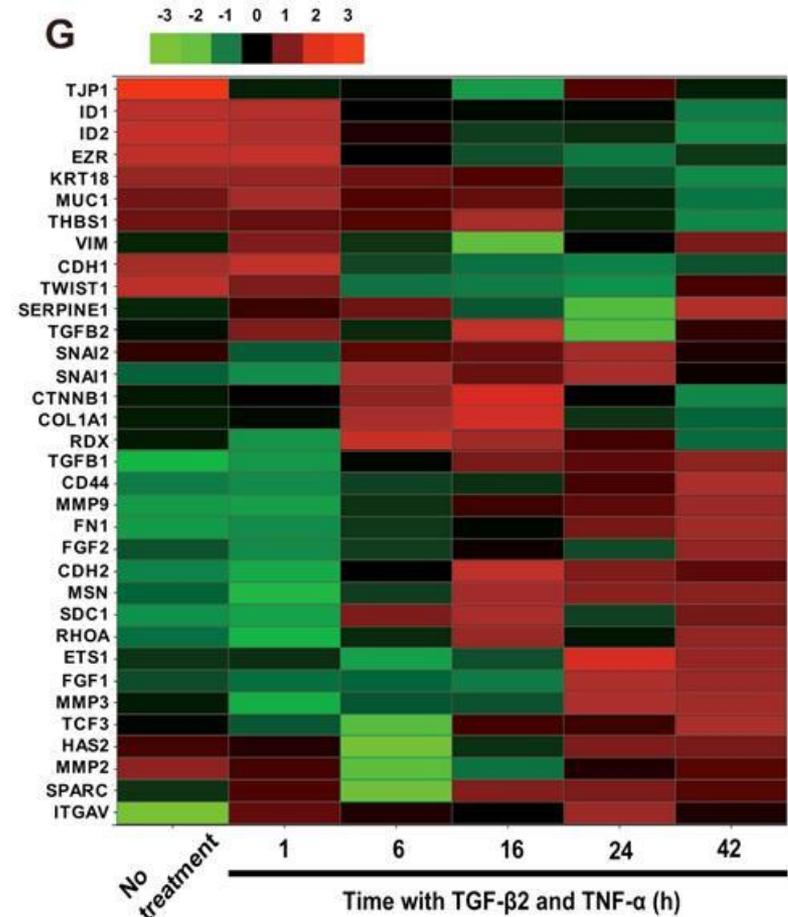
高橋らの網膜色素上皮細胞 (retinal pigment epithelial cell) の実験データを使用。  
TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  を添加すると自動的にEMTを  
起こす。我々研究室で再実験。

## 観測時点

0h, 1h, 6h, 16h, 24h, 42h, 60h  
2,218 probe sets (1,797 genes)

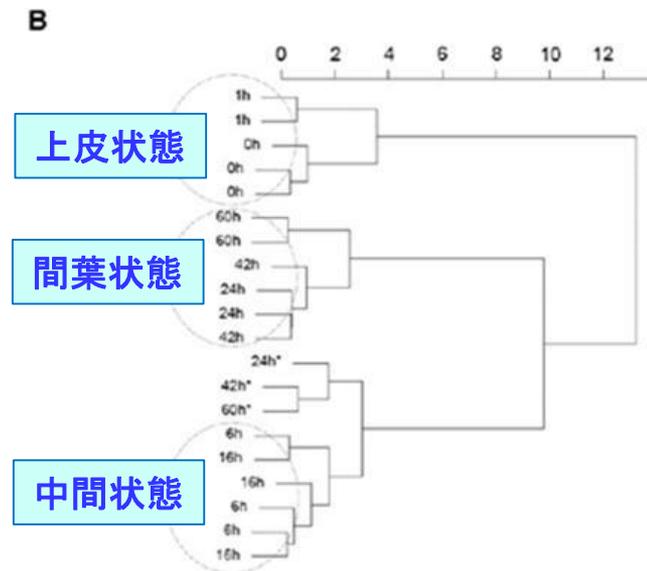
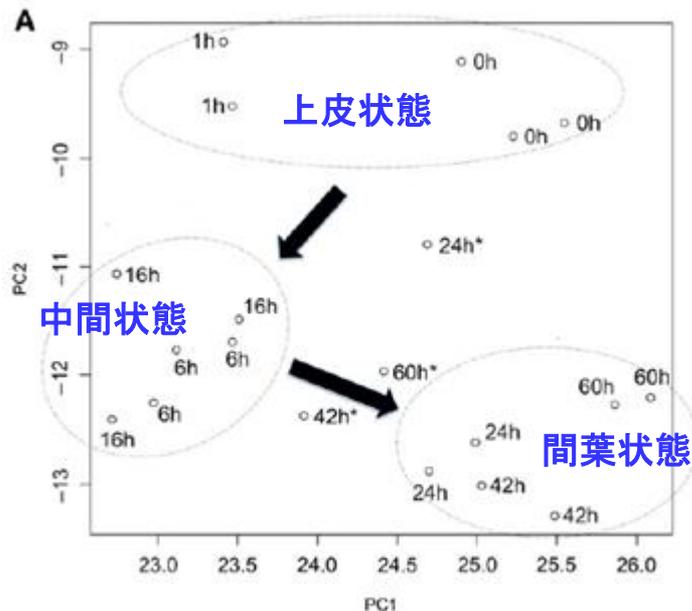
Takahashi E, Nagano O, et al. (2010)  
Tumor necrosis factor-alpha regulates  
transforming growth factor-beta-dependent  
epithelial-mesenchymal transition by  
promoting hyaluronan-CD44-moesin  
interaction.

J Biol Chem. 285(6):4060-73.



# 第 1, 2 主成分平面での軌跡

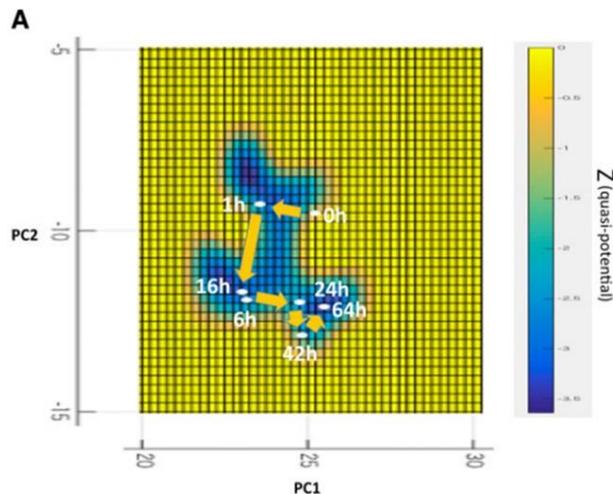
- EMT時系列遺伝子発現データをPC1-2平面にプロットすると屈曲的軌跡
- クラスタ分析に3つの小集団に分離
  - 遷移の方向が**中間状態**で屈曲
- 「EMT遷移 3 状態論」 (3 stage theory) へ



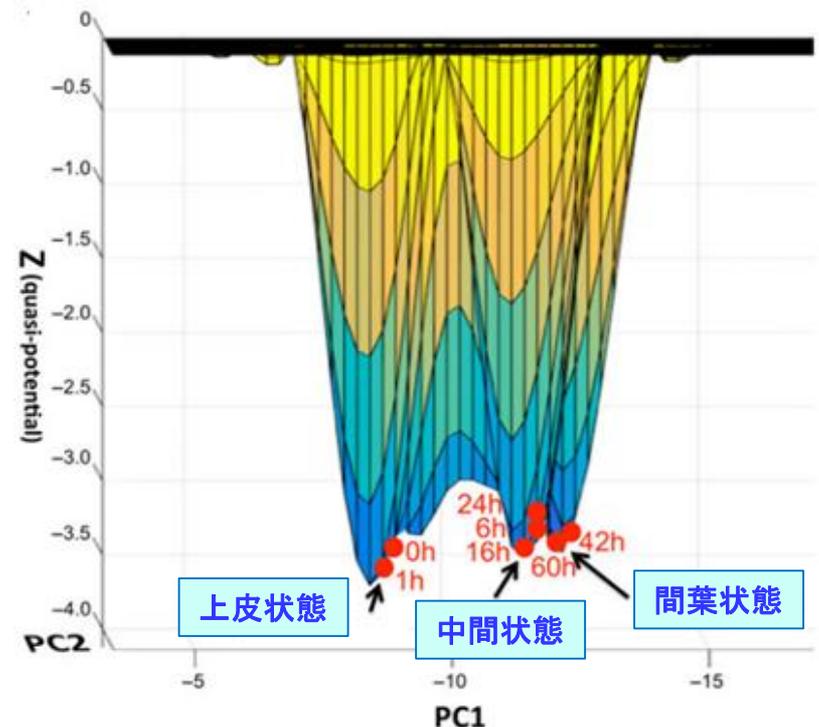
# 定量Waddington地形でのアトラクター遷移

- 3次元Waddington地形での表示
  - がん転移過程のアトラクター遷移
  - 準ポテンシャルの3次元表示
- 中間状態への停留を明示
  - 「がん転移3状態論」 確証

準ポテンシャル上の遷移の3次元表示  
(側面ビュー：横からの眺め)



準ポテンシャルの深さの情報を表示  
(俯瞰ビュー：上からの眺め)



# 材料と方法

- ヒト網膜色素上皮細胞 (ARPE-19) の、TGF- $\beta$ に対する応答の遺伝子発現プロファイルデータ (EMT過程) を (0, 1, 6, 16, 24, 42, 60h) 時点測定 : GeneChip (Affy HGU133 Plus 2.0).

Takahashi E, Nagano O, Ishimoto T, Yae T, et al. (2010) Tumor necrosis factor-alpha regulates transforming growth factor-beta-dependent epithelial-mesenchymal transition by promoting hyaluronan-CD44-moesin interaction. J Biol Chem. 285(6):4060-73.

- ARACNe アルゴリズムを遺伝子ネットワークを推定するために、時系列的遺伝子発現プロファイルデータに適用 (1000 bootstraps) .

2つの遺伝子発現 (X、Y) の相互情報量 $I(X,Y)$ を計算し、そのリンクのp値を計算する。間接的な関連を除去するためにデータ処理不等式を使用する。1000回のブートストラップにより90%以上を採用

Margolin AA, Nemenman I, Basso K, Wiggins C, et al. (2006) ARACNE: an algorithm for the reconstruction of gene regulatory networks in a mammalian cellular context. BMC Bioinformatics 7 (Suppl 1): S7.

# Results: EMT遺伝子関連ネットワークを推定 するための遺伝子の選択

遺伝子ネットワークを推定するために使用した遺伝子数 合計

5183 probe sets (2988 genes)

- 1) 時点間で有意発現差異を示した遺伝子 (SAM) ;  $p < 0.001$ ;  $FC > 1.5$   
3471 probe sets (1766 genes)
- 2) 単調増加・減少した遺伝子 (累積 t 検定;  $p < 1.0 \times 10^{-10}$ )  
1689 probe sets (1203 genes)
- 3) 既知の上皮細胞・間葉細胞マーカー遺伝子  
34 genes

# ARACNeによる遺伝子調節ネットワークの推定

- ARACNeは遺伝子調節ネットワークの推定アルゴリズムで、各遺伝子の発現量を確率変数にし、2遺伝子の同時確率を個別確率の積で除算して相互情報量を算出し、2遺伝子の相関関係を推定

ARACNeによる遺伝子調節ネットワークの推定

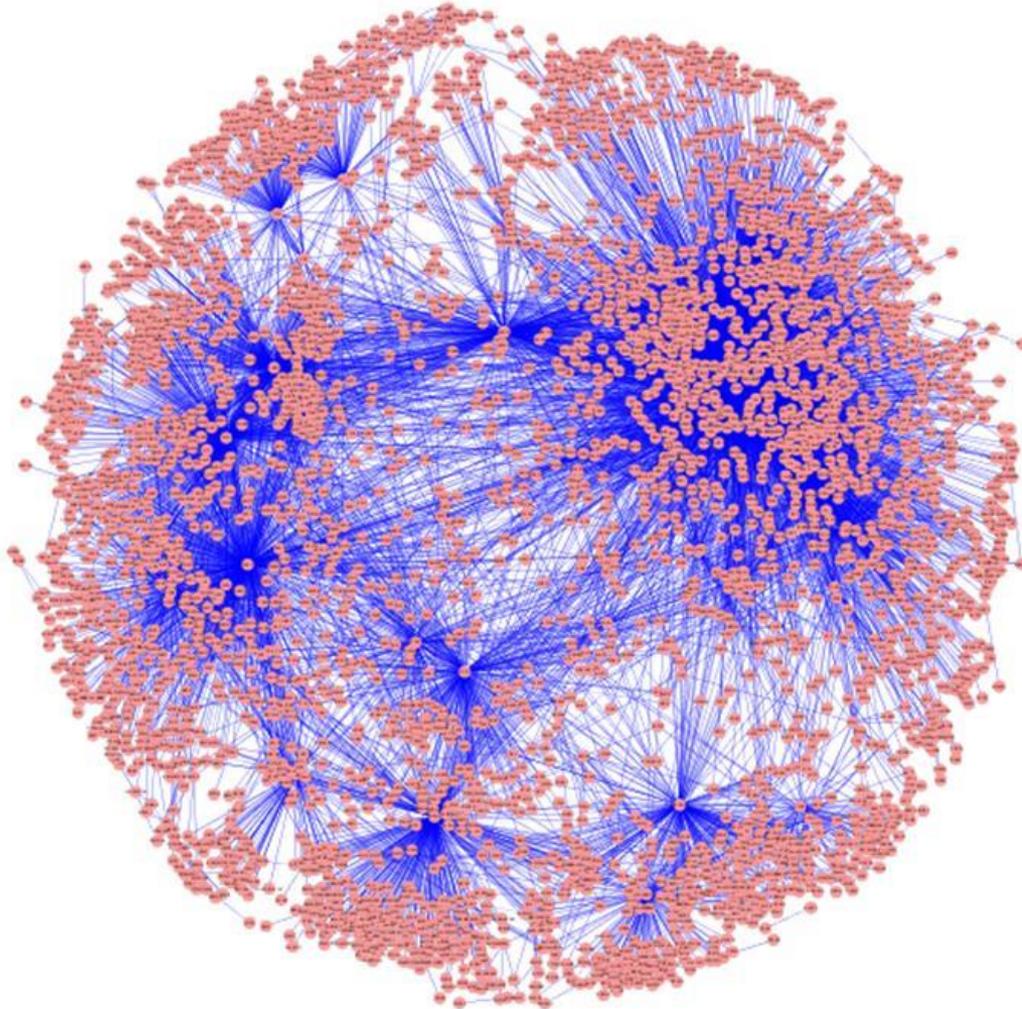


- P値とブートストラップ検定により、推定した遺伝子調節ネットワークの信頼性を評価
- 不等式により間接的な相互作用も評価:

$$I(g_1, g_3) \leq \min [I(g_1, g_2); I(g_2, g_3)]$$

# Cancer EMT 遺伝子関連ネットワーク

ARACNe による cancer EMT 遺伝子ネットワーク (17,368 regulations)  
( $p < 1.0 \times 10^{-10}$ ; bootstrap >90%) の推定.



ARACNe;  $p < 1.0 \times 10^{-10}$ ;  
bootstrap >90%

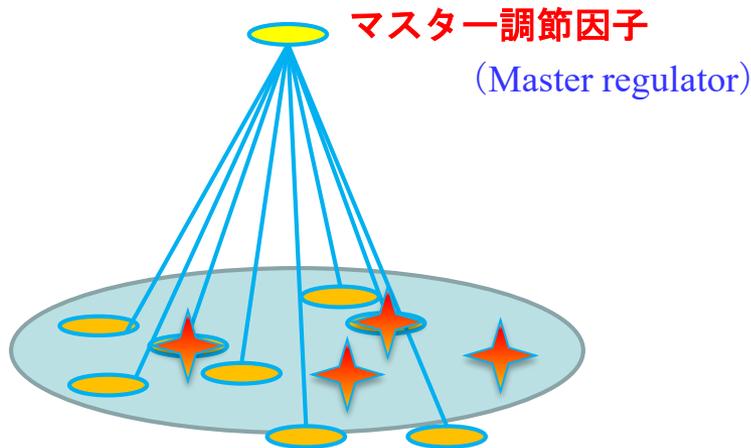
# がんのEMTのマスター調節因子分析(11因子)

## マスター調節因子

差別的発現遺伝子を平均的期待数より有意に多く制御している転写因子 (Fisher exact test  $p < 0.05$ ).

## がん EMT GRN

ARACNe algorithmによって推測される



-  マスター調節因子候補
-  差別的発現遺伝子 (DEGs) (+マーカー遺伝子)
-  転写因子の制御される遺伝子

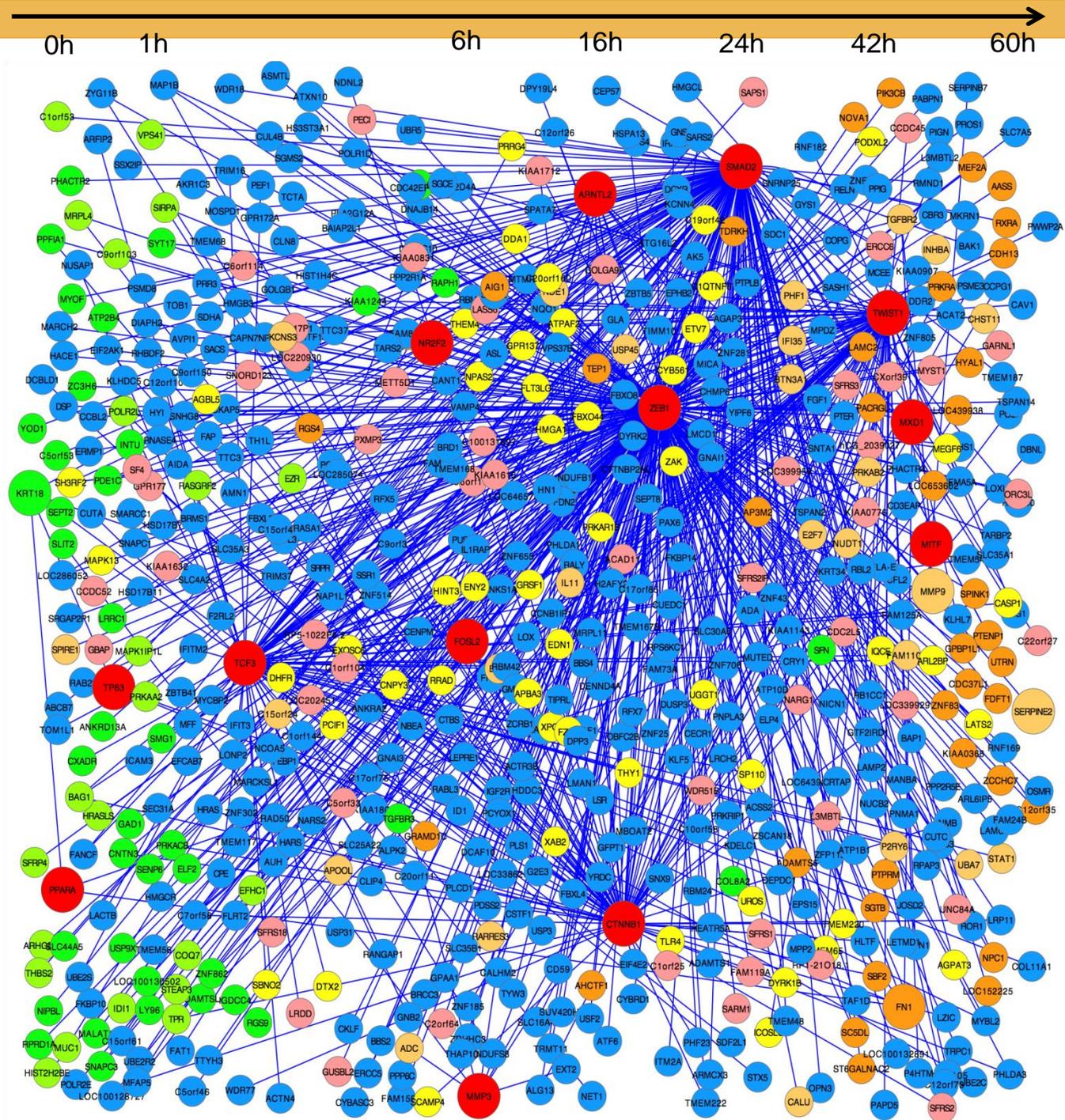
Transcription factors	# of DEG (SAM; $p < 0.0001$ , $FC > 1.5$ )	P-value (Fisher exact test)
TCF3	86/135	$2.20 \times 10^{-16}$
ZEB1	46/592	$8.58 \times 10^{-16}$
SMAD2	36/317	0.000209
TWIST1	16/154	0.005634
TP63	6/7	0.01302
FOSL2	5/6	0.02516
PPARA	5/7	0.03732
ARNTL2	15/38	0.03843
MXD1	4/5	0.04918
MITF	4/5	0.04918
NR2F2	4/5	0.04918

## EMT 関連遺伝子のマスター調節因子

A : 11遺伝子 (5%有意) B : 4遺伝子(1%有意)

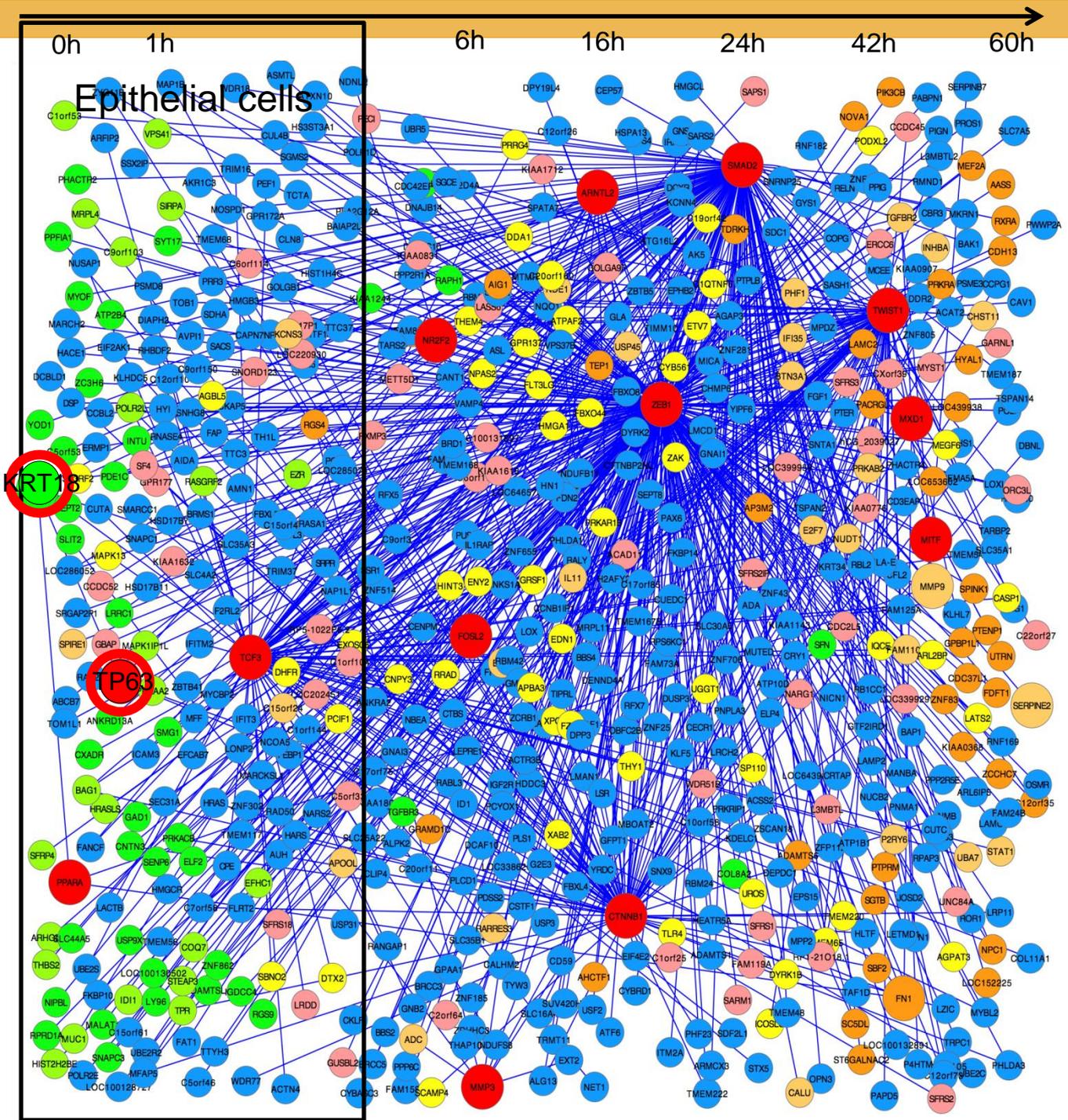
# がん EMT network

Gene regulatory networks directly regulated by 11 master regulators.



# がん EMT network 初期状態

KRT18 and TP63 expressed in the epithelial cells as reported before. A master regulator TP63 was predicted to regulate KRT18.



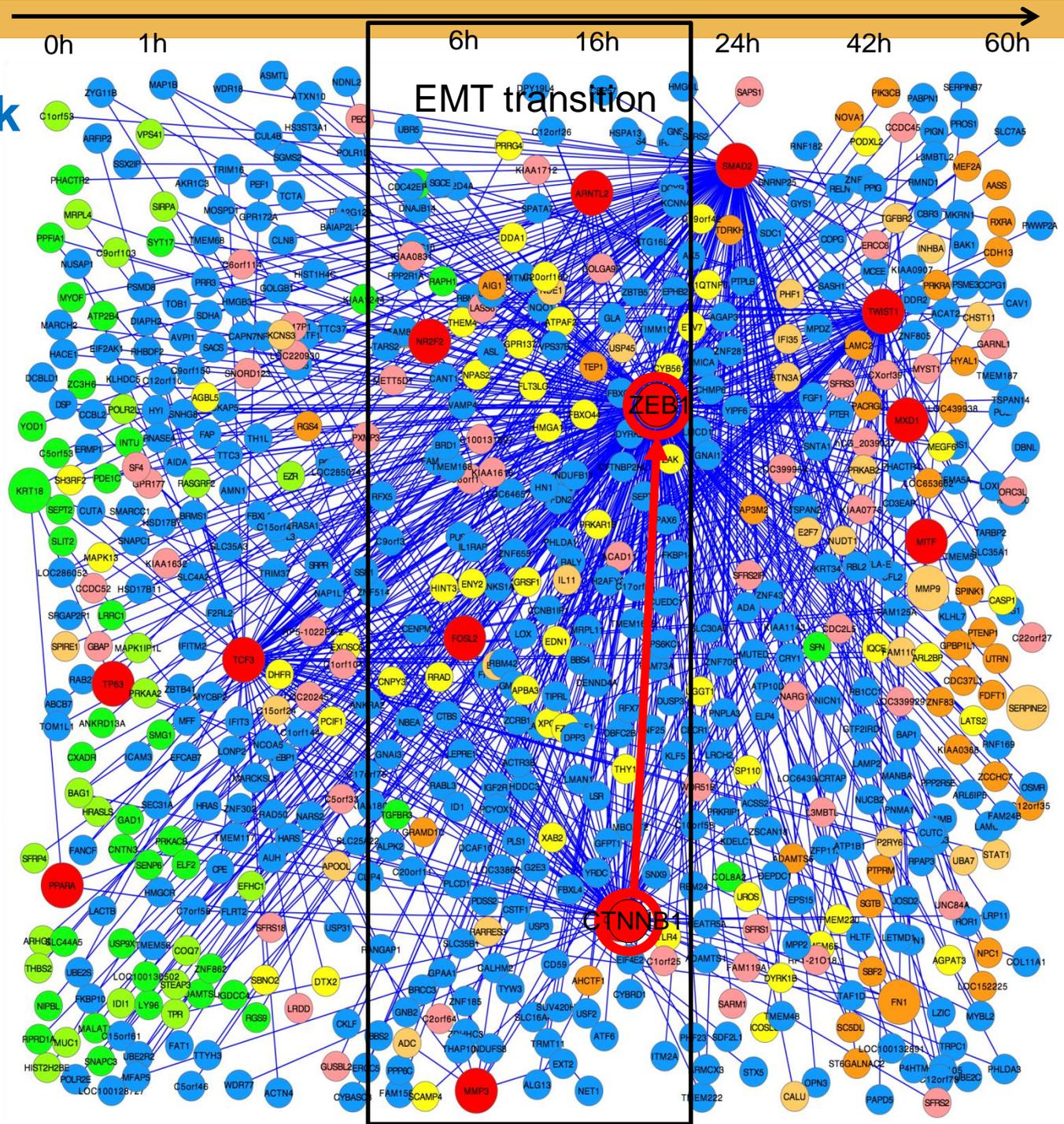
- master regulator
- epithelial marker
- mesenchymal marker
- gene regulatory interaction

# がん EMT network 中期状態

A master regulator CTNNB1 was predicted to induce the expression of ZEB1 as reported before. The CTNNB1 was known to be key factor inducing the EMT process.

ZEB1 was also a master regulator which expressed from the beginning of EMT process, and was known to down-regulate CDH1 gene expressions.

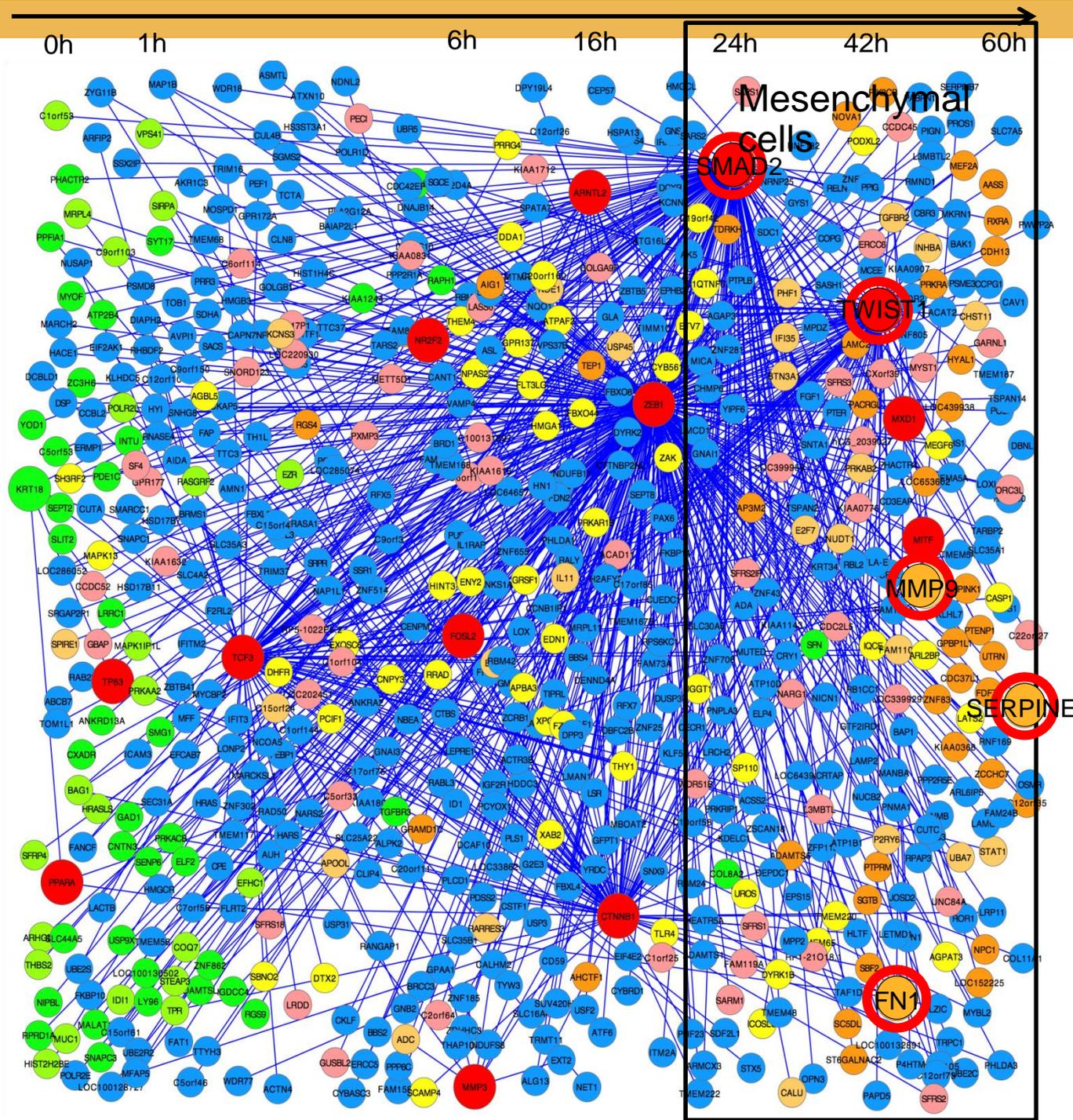
- master regulator
- epithelial marker
- mesenchymal marker
- gene regulatory interaction



# がん EMT network 後期状態

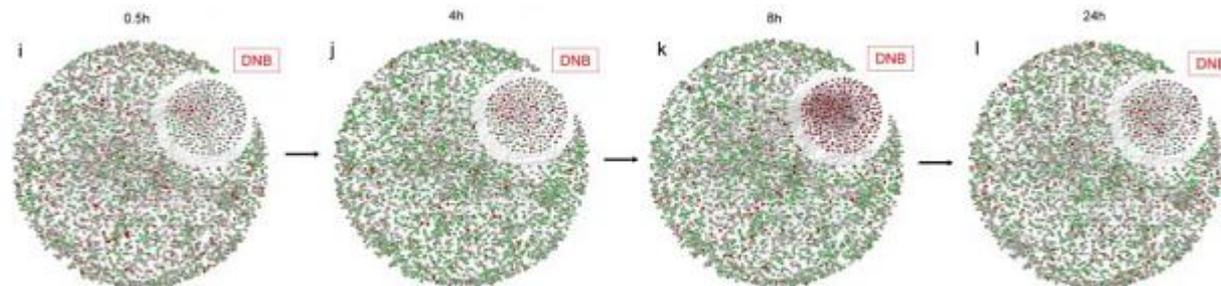
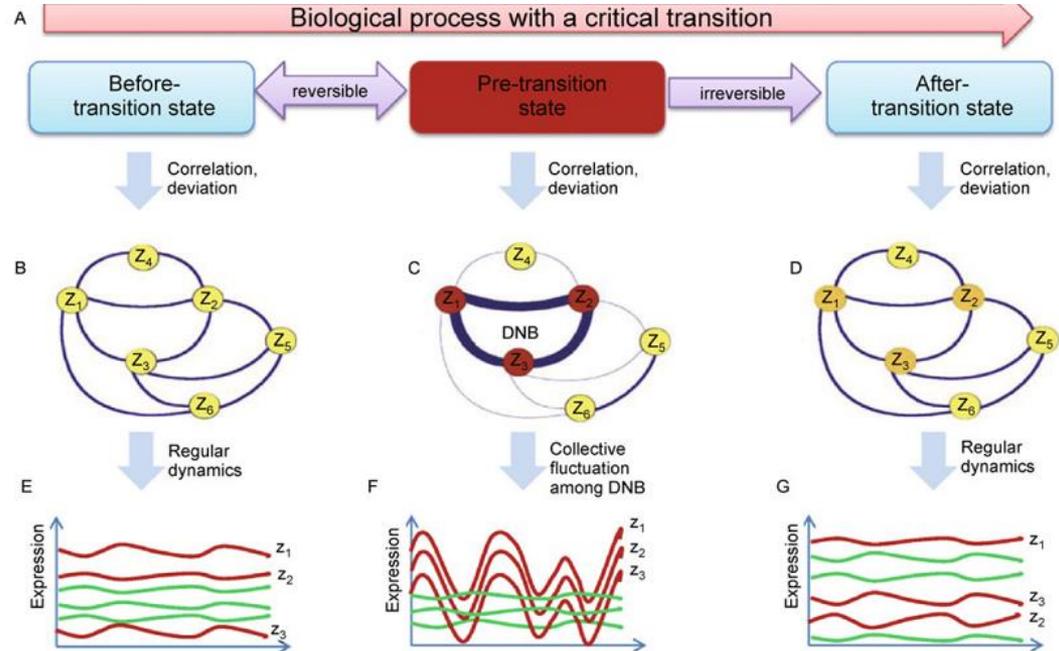
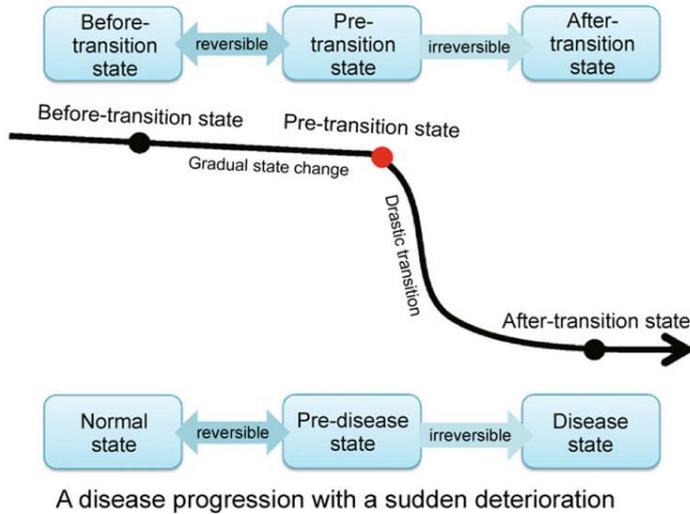
SMAD2 was a master regulator, and was known to induce the mesenchymal marker genes; e.g., MMP9 and FN1, and SERPINE2 genes.

TWIST1 was also a master regulator, and in fact, was reported to be essential in induction of the EMT process.

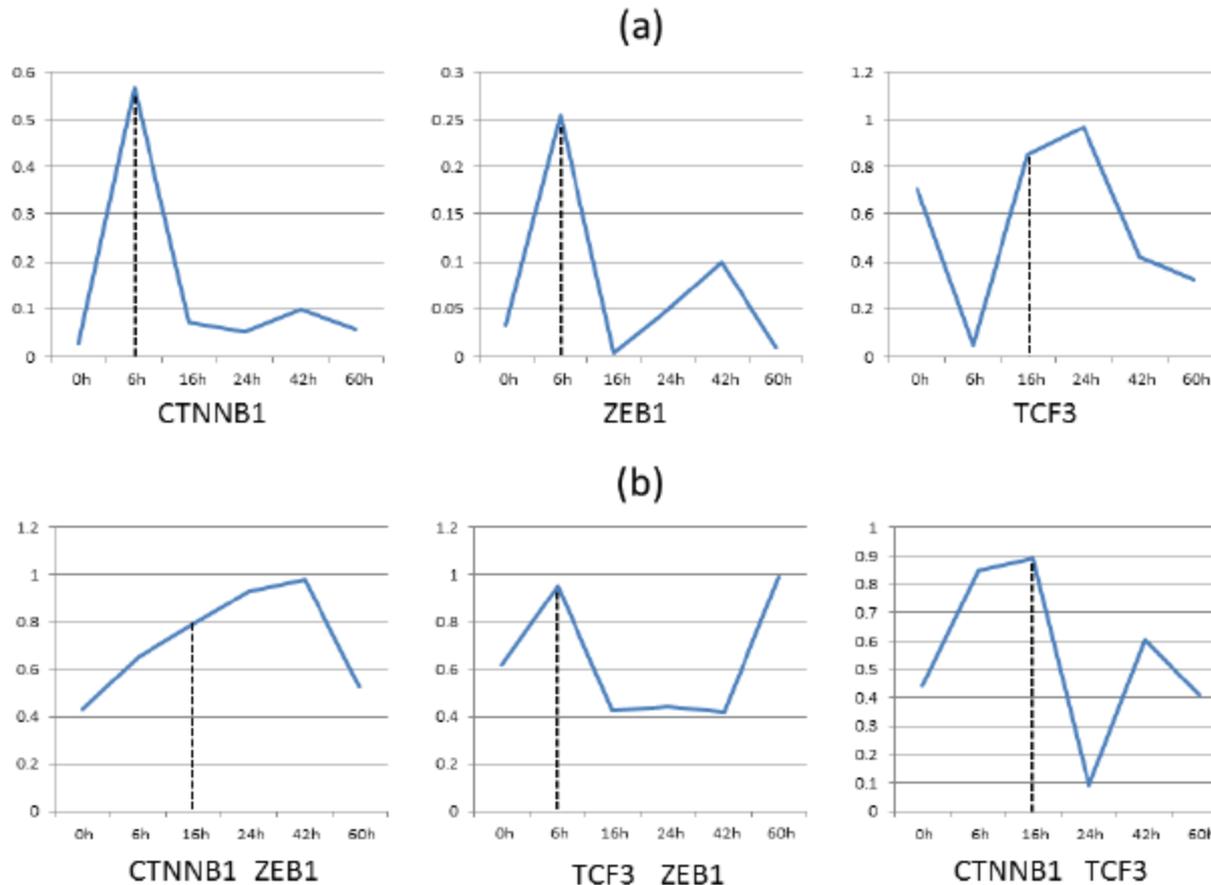


- master regulator
- epithelial marker
- mesenchymal marker
- gene regulatory interaction

# Chenの疾患発症のネットワーク バイオマーカー



# ChenらのDynamical Network Marker

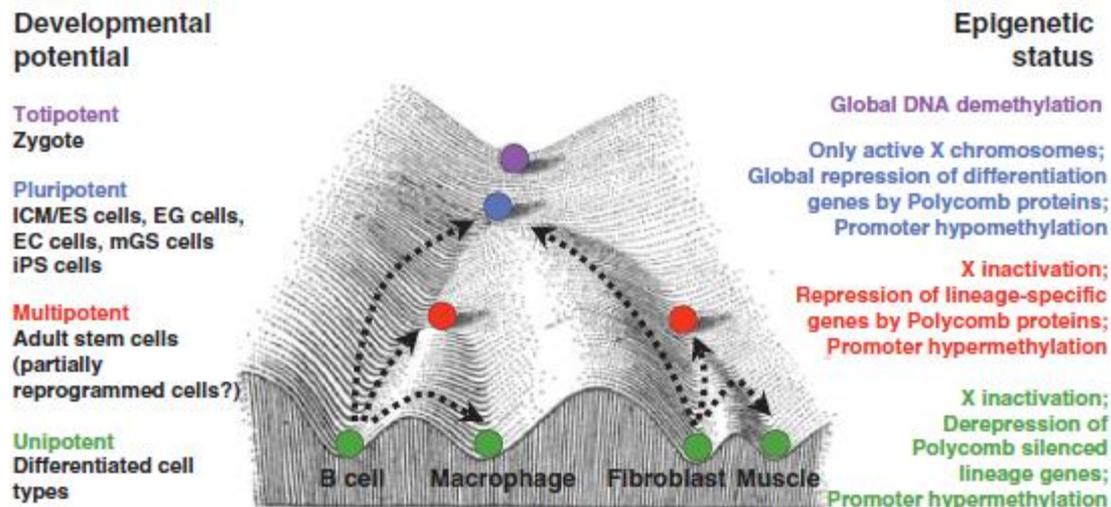


(a) The standard deviations and (b) absolute values of correlation coefficients among the expressions of TCF3, ZEB1, and CTNNB1.

# 再生医学への応用

# ダイレクト・リプログラミング

- 皮膚などの採取しやすい細胞から、神経細胞や心筋細胞に分化する幹細胞をiPS細胞を介さず、必要な幹細胞を直接（ダイレクトに）作成する。
- 繊維芽細胞→MyoD→骨格筋細胞  
繊維芽細胞→iHEP細胞→肝細胞  
心筋繊維芽細胞→iCM細胞→心筋細胞など
- iPS細胞に戻すよりも成功率高く時間もかからない(0.01-0.1%に対して2-4%程度)

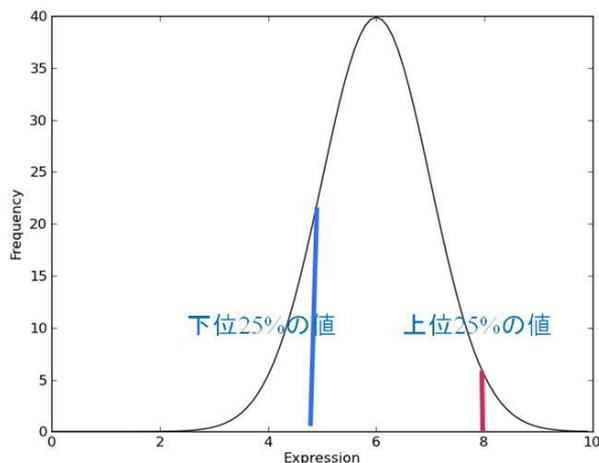


# 遺伝子発現プロファイル

Affymetrix GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array

- 成熟組織の網羅的データセット (疾患状態含む)
  - GSE7307
- fibroblast/keratinocytesからiPSへのリプログラミングデータ
  - GSE12583, 18226, 23583, 9832, 16694, 9865, 37258
- ES, iPS細胞のデータ
  - GSE18618
- ES, iPSからの分化誘導データ
  - GSE9169(ニューロン), 14897(肝細胞), 9440, 29115(肝)
- 4, 5, 6, 7, 8, 9週目の胚
  - GSE15744
- 1, 2, 4, 8分割受精卵、桑実胚、胚盤胞(ヒトのみ)
  - GSE18290

合計 956サンプル



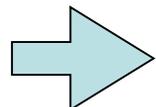
$$\begin{aligned} IQR &= \log_2 \frac{\text{上位 25 \% の値}}{\text{下位 25 \% の値}} \\ &= \log_2 \frac{8}{4} \\ &= 1 \end{aligned}$$

今回は  $IQR > 4$  の  
プルーブ・遺伝子を抽出。

プルー部数・遺伝子数:  
839プルーブ 603遺伝子

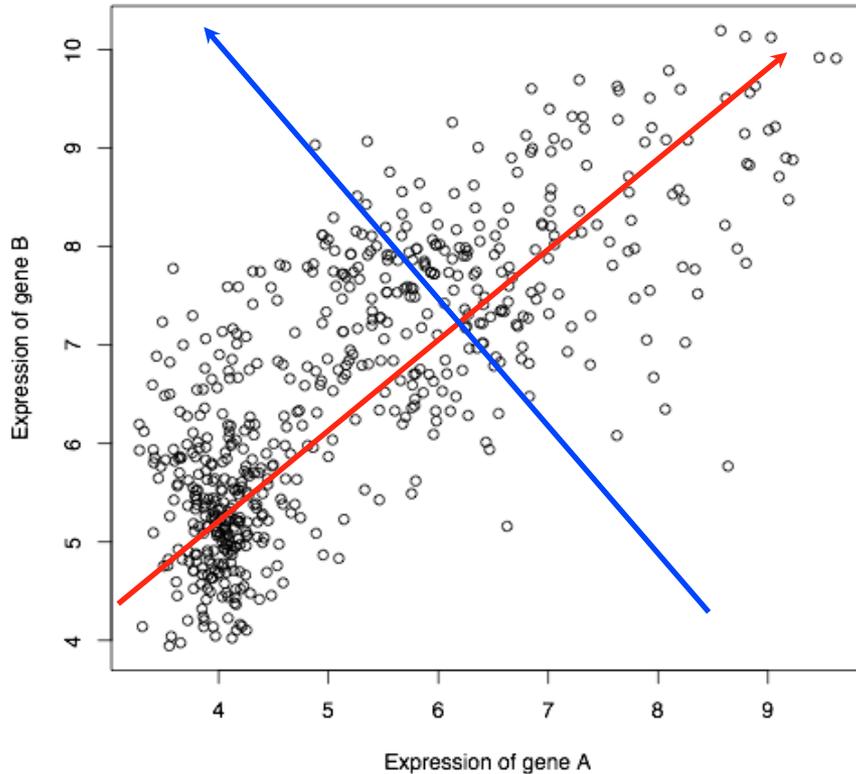
# GO Biological Processes

Rank	GO Biological Processes	Count	%	P-value	Benjamini
1	Anatomical structure development	179	30.4	$4.6 \times 10^{-25}$	$1.3 \times 10^{-21}$
2	Nervous system development	107	18.2	$1.7 \times 10^{-24}$	$2.4 \times 10^{-21}$
3	System development	166	28.2	$3.7 \times 10^{-23}$	$3.4 \times 10^{-20}$
4	Developmental process	195	33.2	$1.4 \times 10^{-20}$	$9.9 \times 10^{-18}$
5	Multicellular organismal development	177	30.1	$4.0 \times 10^{-18}$	$2.2 \times 10^{-15}$
6	Multicellular organismal process	228	38.8	$3.0 \times 10^{-16}$	$1.5 \times 10^{-13}$
7	Neurogenesis	63	10.7	$2.1 \times 10^{-15}$	$8.3 \times 10^{-13}$
8	Cell adhesion	63	10.7	$2.1 \times 10^{-12}$	$7.1 \times 10^{-10}$
9	Biological adhesion	63	10.7	$2.2 \times 10^{-12}$	$6.8 \times 10^{-10}$
10	Generation of neurons	55	9.4	$2.2 \times 10^{-12}$	$6.1 \times 10^{-10}$

 603遺伝子は分化・発達の指標

# 主成分分析 (PCA)による次元圧縮

遺伝子A, Bの発現量の分布が次のようなとき

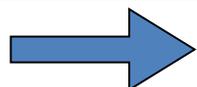


もし、gene A, Bが神経分化に関与する遺伝子なら、**第一主成分**は神経分化の程度を表す指標となる。

ポテンシャルの2次元表示で特徴を概ね表現できる。  
(データの低次元化)

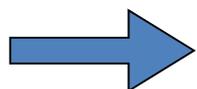
# 軸の解釈 GO Biological Processes

Rank	GO Biological Processes	Count	%	P-value	Benjamini
1	Synaptic transmission	6	21.4	$7.9 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-2}$
2	Transmission of nerve impulse	6	21.4	$1.7 \times 10^{-4}$	$3.6 \times 10^{-2}$
3	System process	10	35.7	$2.3 \times 10^{-4}$	$3.4 \times 10^{-2}$
4	Nervous system development	8	28.6	$9.6 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-1}$
5	Cell communication	7	25.0	$1.1 \times 10^{-3}$	$9.0 \times 10^{-2}$



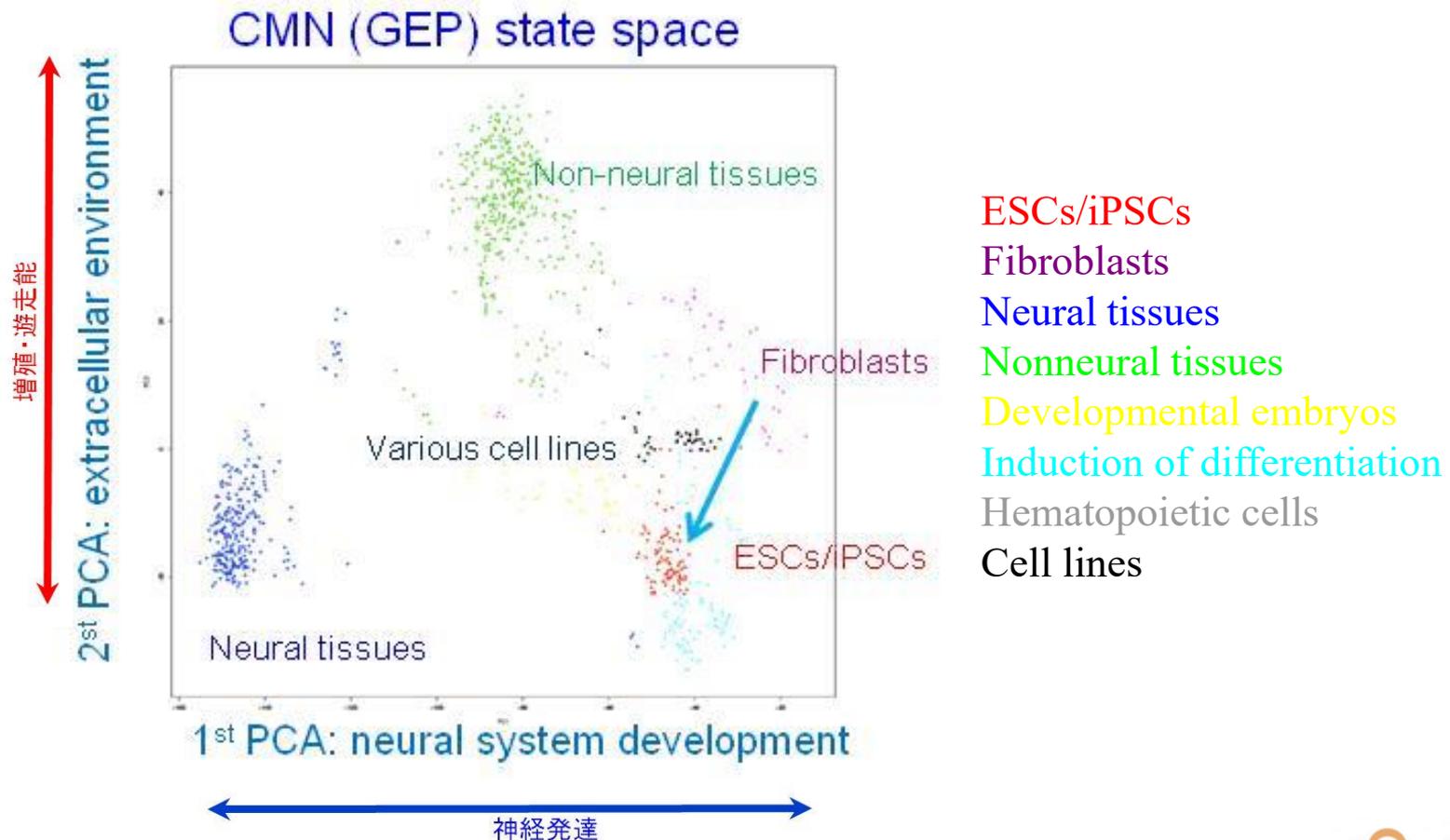
第1主成分は神経発達の指標

Rank	GO Biological Processes	Count	%	P-value	Benjamini
1	Extracellular matrix organization	6	20.7	$7.5 \times 10^{-7}$	$2.4 \times 10^{-4}$
2	Extracellular structure organization	6	20.7	$6.9 \times 10^{-6}$	$1.1 \times 10^{-3}$
3	Positive regulation of response to stimulus	5	17.2	$6.2 \times 10^{-4}$	$6.4 \times 10^{-2}$
4	Collagen fibril organization	3	10.3	$1.1 \times 10^{-3}$	$8.3 \times 10^{-2}$
5	Immune effector process	4	13.8	$1.5 \times 10^{-3}$	$8.9 \times 10^{-2}$

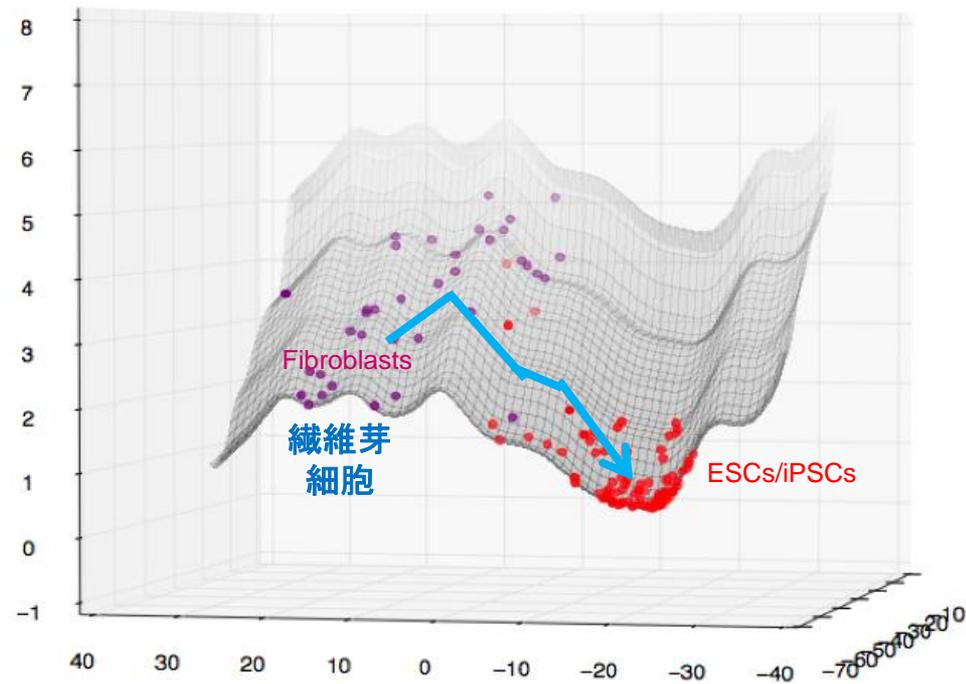
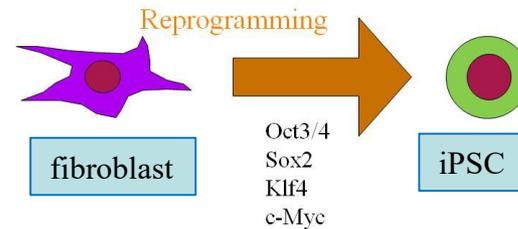
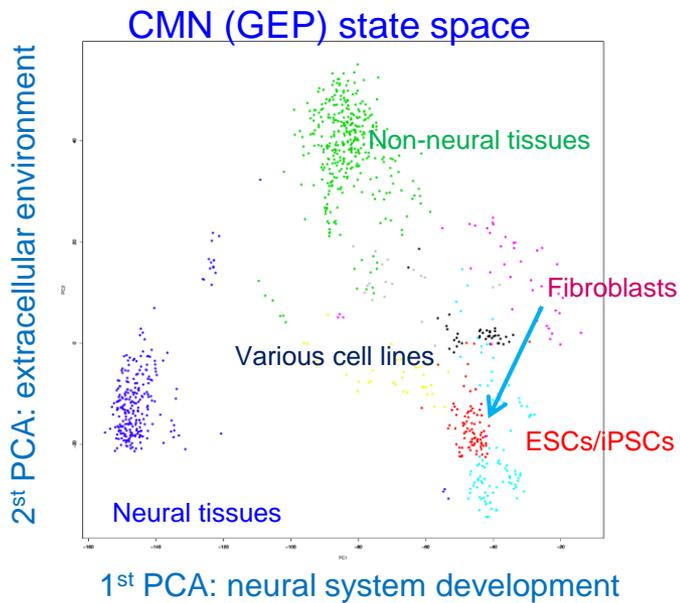


第2主成分は増殖・遊走能の指標

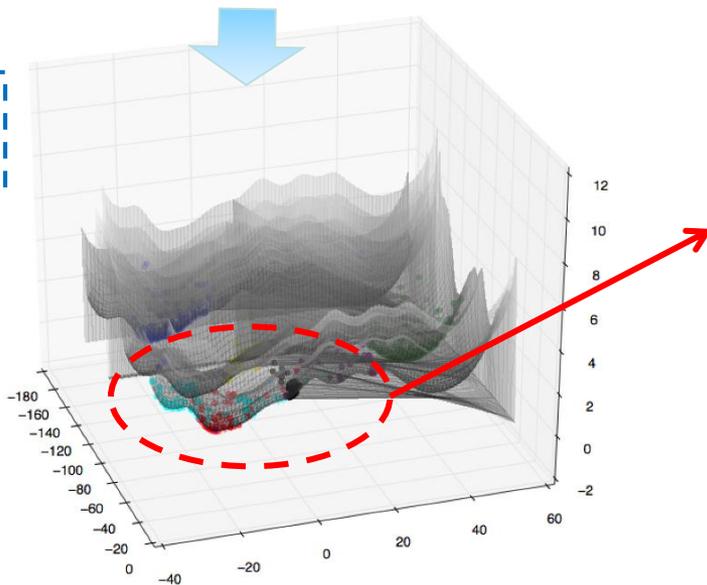
# 第1・2主成分によって構築された 細胞状態平面



# iPSC reprogramming プロセス



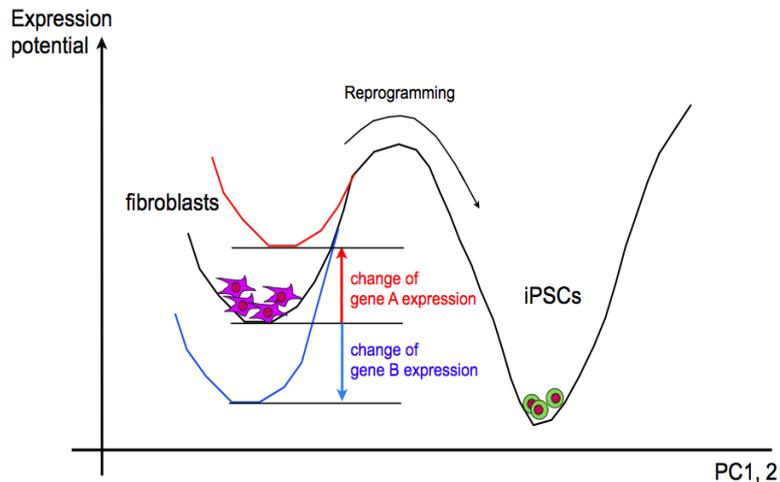
qWEL picture



Oxford press-JBiC prize 2012

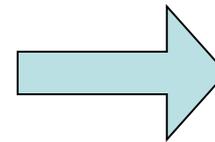
# 準ポテンシャルへの寄与度

1. 繊維芽細胞とiPSCの各遺伝子の発現の平均値を計算
2. 繊維芽細胞の発現値を iPSC の発現値に置き換えてポテンシャルのBasinの深さが変化するか調べる



1	CFH
2	DCN
3	MIR143HG
4	LMOD1
5	NMU
6	SCG3
7	C10orf116
8	ASPN
9	PRELP
10	IGJ
...	
30	SOX11
...	
50	SOX2

Transcription factors only



1	23	HoxA10
2	30	Sox11
3	34	Zic2
4	50	Sox2
5	85	Emx2
6	91	FoxM1

inc: iPScell increase  
dec: iPScell decrease

# 考察と結論

- Sox11はES細胞におけるH3K9/14AcとH3K4me3の活性化に関係しており、ES細胞やiPS細胞でのH3K9AcやH3K4me3のレベルは線維芽細胞に比べて高いという報告がある。
  - iPS細胞でのSox11の発現量は上昇していたことから、Sox11はそれらの修飾レベルを高めることでリプログラミングに貢献している可能性がある。
- HoxA10はhomeobox遺伝子の一つであり、発達や形態形成に関与している。
  - HoxA10の発現量はiPS細胞では減少していたことから、HoxA10の発現をRNA干渉で抑制し発達を妨げることで、iPS細胞の樹立効率が向上する可能性がある。
- Emx2はSox2エンハンサーを抑制調節していることが知られている。
  - Emx2の発現量はiPS細胞で低くなっているため、Emx2 siRNAでその発現を抑制することでリプログラミング効率が向上する可能性がある。
- 発現ポテンシャル値に対する遺伝子の寄与度を計算することで、目的細胞への誘導において重要な遺伝子を推定できる
  - 線維芽細胞からiPS細胞への誘導においては、Sox2やSox11が転写因子の上位にランキングされた

ご清聴ありがとうございました



# タンパク質相互作用ネットワーク と疾患・創薬

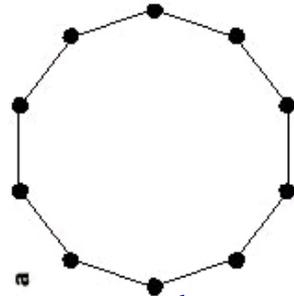
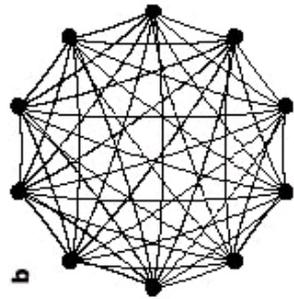
Evaluation of drug targetness from protein-  
protein interaction network

# 複雑系ネットワーク理論

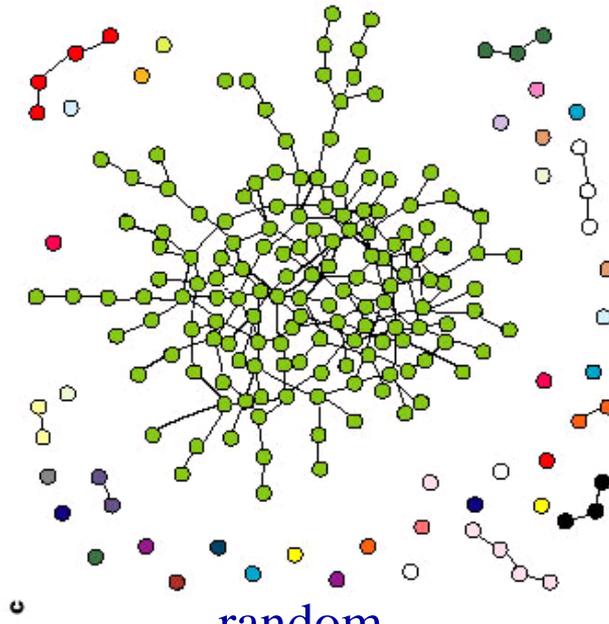
## Complex Systems Theory of Network

- 複雑系の理論を生命認識につかう
  - 「複雑系生物学」
  - 2つの論理の指摘
    - 平衡の論理
      - すべては平衡（平均）へと収束する（ポアソン分布）
    - 非平衡の論理
      - 差異的秩序形成の原理
      - 差は増大する方向に正帰還される（べき乗則）
  - これまで 動的システムや離散系への適用が多かった。これをネットワーク構造形成へ応用
- 秩序→自己組織化的臨界性（べき乗則）→カオス

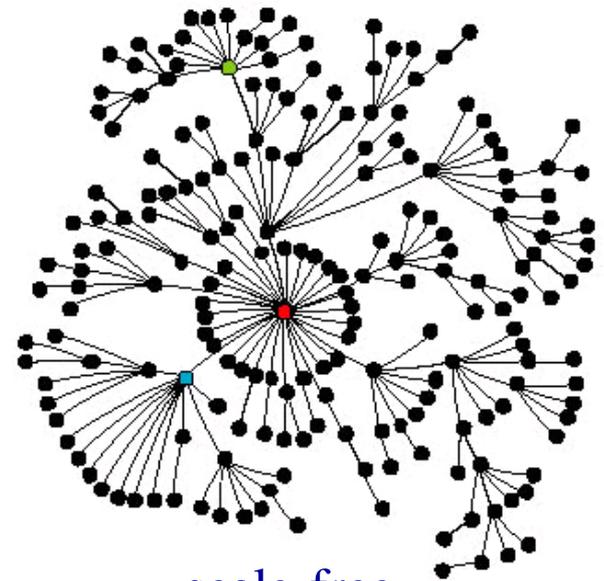
# Random/Scale-free ネットワークとは



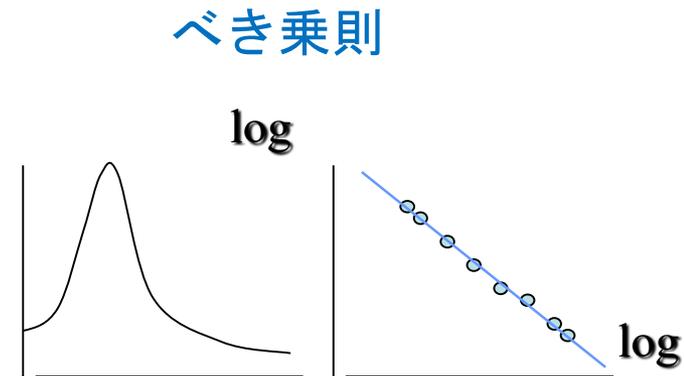
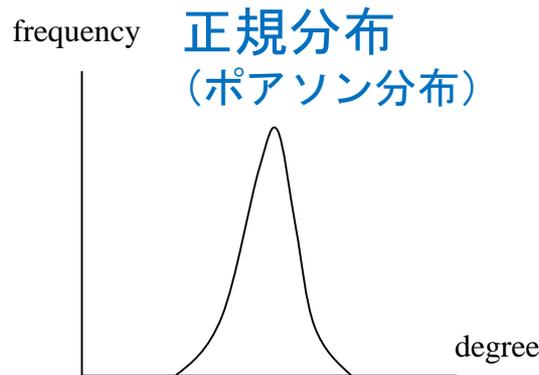
regular



random



scale-free



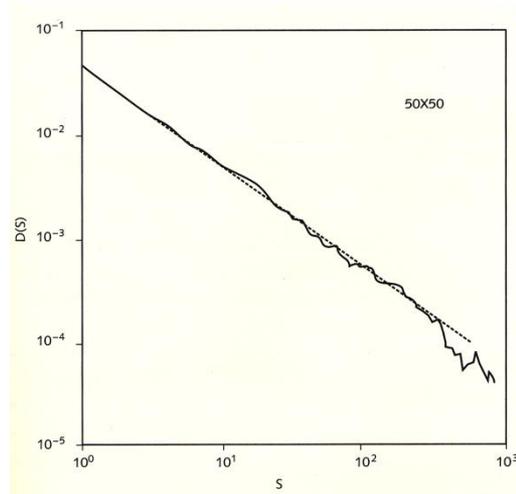
Regularネットワーク

Random ネットワーク

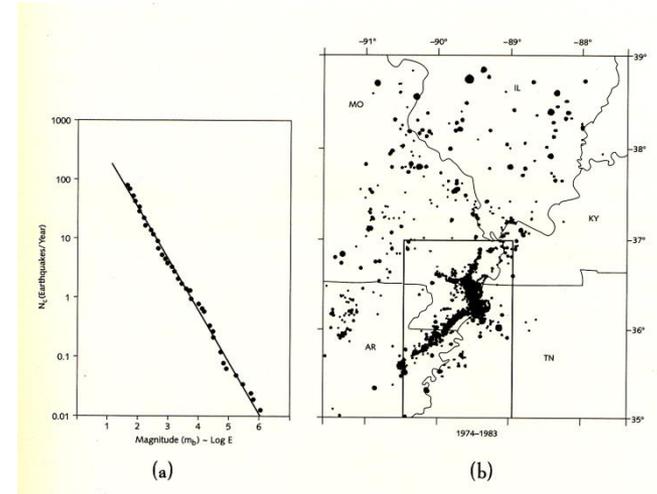
Scale free ネットワーク

# べき乗則は臨界性を表す 自己組織化的臨界性(Bak1988)

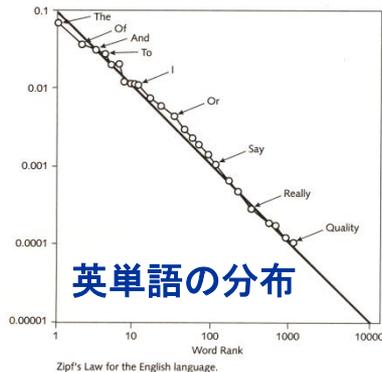
相転移に出現  
(分子間相関長の分布)  
無秩序—秩序の間の  
自己組織化



雪崩のサイズ頻度分布

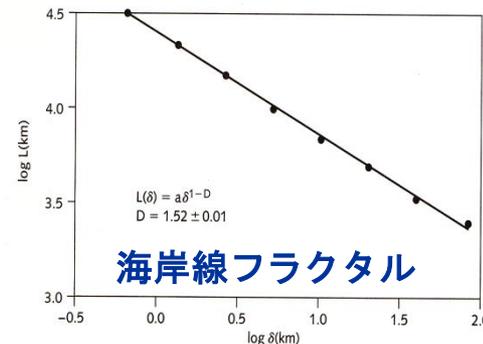


地震のマグニチュード頻度分布

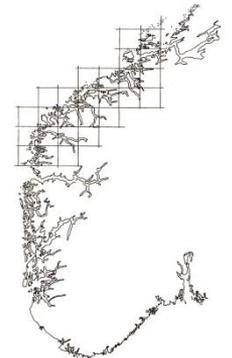


英単語の分布

$$C = \lim \frac{\log N_r}{\log r}$$



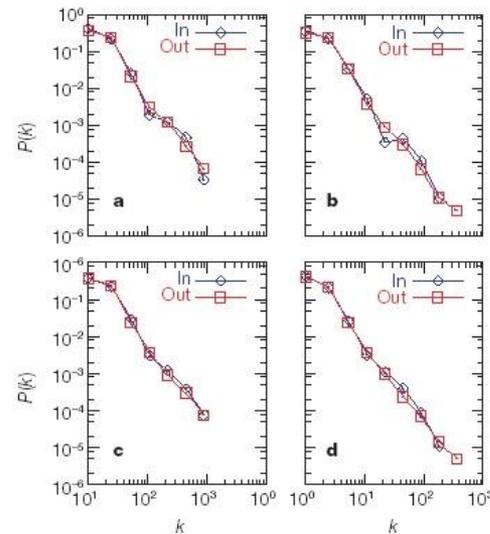
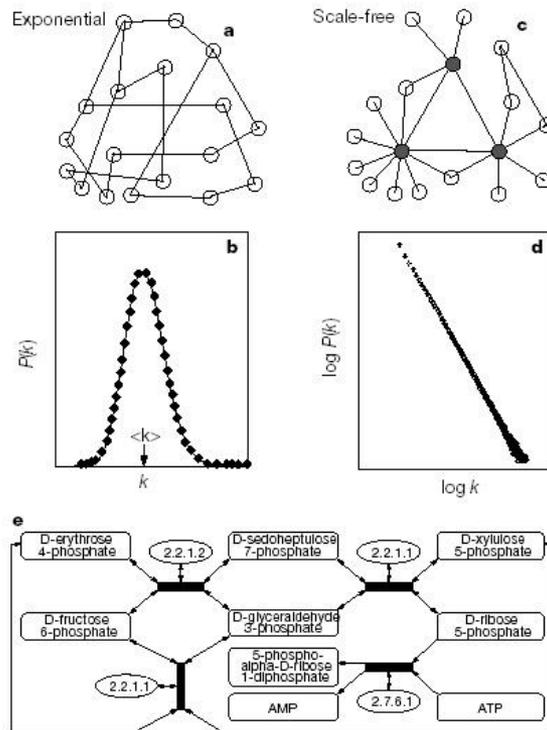
海岸線フラクタル



# 最近の生命ネットワーク論

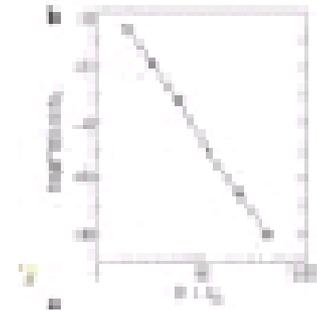
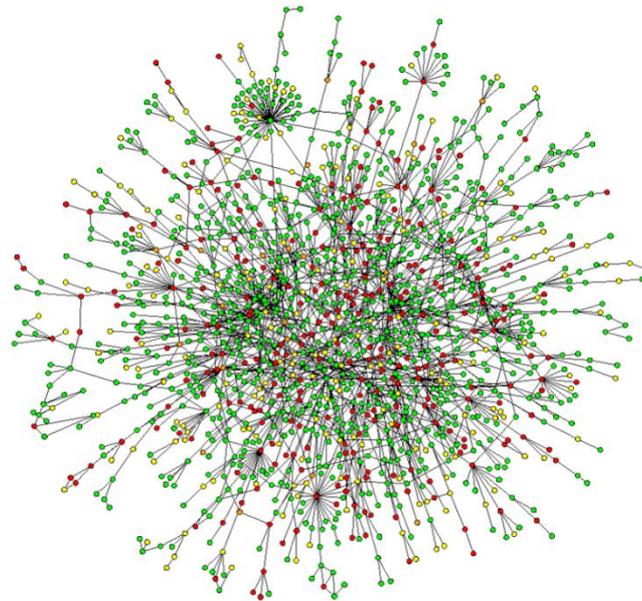
## ネットワーク構造論—代謝

- 代謝ネットワークのトポロジー的性質
- 43種の生物の代謝網の結線トポロジー
  - スケールフリー、Hub-branch構造 (Nature2001)



**Figure 2** Connectivity distributions  $P(k)$  for substrates. **a**, *Archaeoglobus fulgidus* (archae); **b**, *E. coli* (bacterium); **c**, *Caenorhabditis elegans* (eukaryote), shown on a log-log plot, counting separately the incoming (In) and outgoing links (Out) for each substrate.  $k_{in}$  ( $k_{out}$ ) corresponds to the number of reactions in which a substrate participates as a product (educt). The characteristics of the three organisms shown in **a–c** and the exponents  $\gamma_{in}$  and  $\gamma_{out}$  for all organisms are given in Table 1 of the Supplementary Information. **d**, The connectivity distribution averaged over all 43 organisms.

# たんぱく質相互作用ネットワークの大域構造の 代表的な先行研究



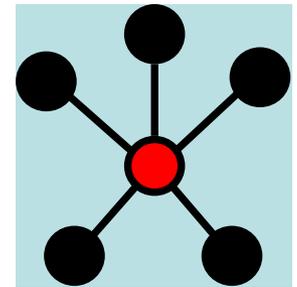
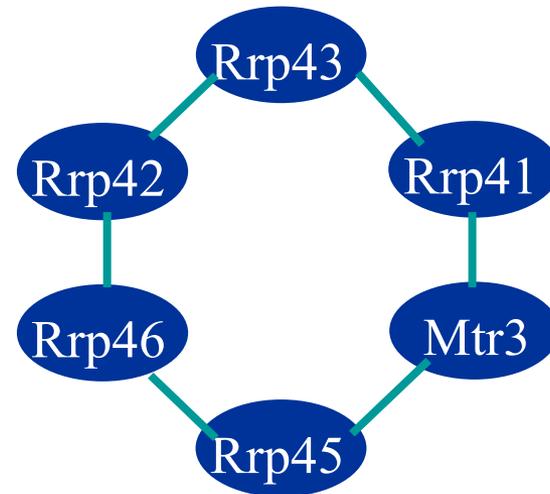
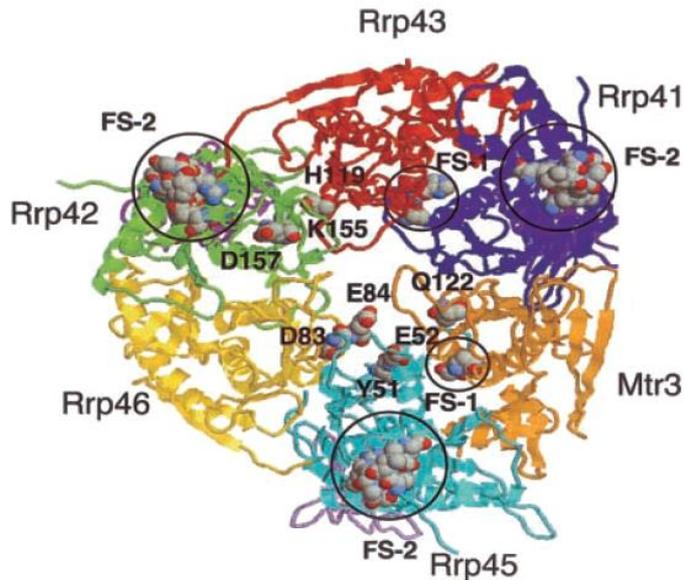
<http://www.nd.edu/~networks/>より

致死性のあるタンパク質  
Jeong et al *Nature* 411 2001

ネットワークの階層性 Maslov et al *Science* 296 2002  TMDU

# タンパク質相互作用をグラフで表す

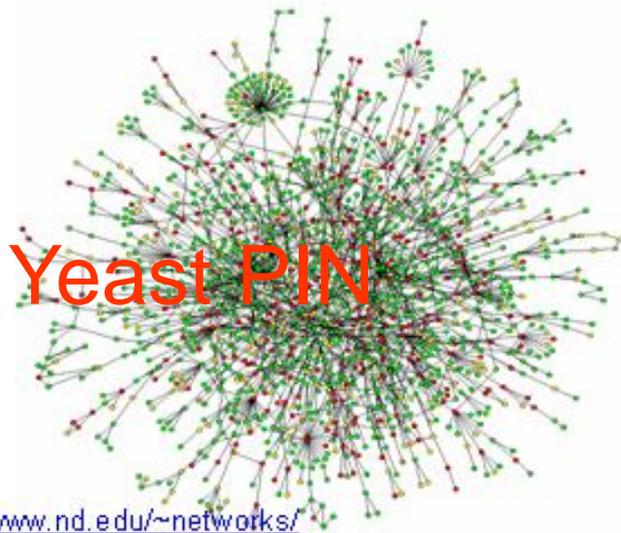
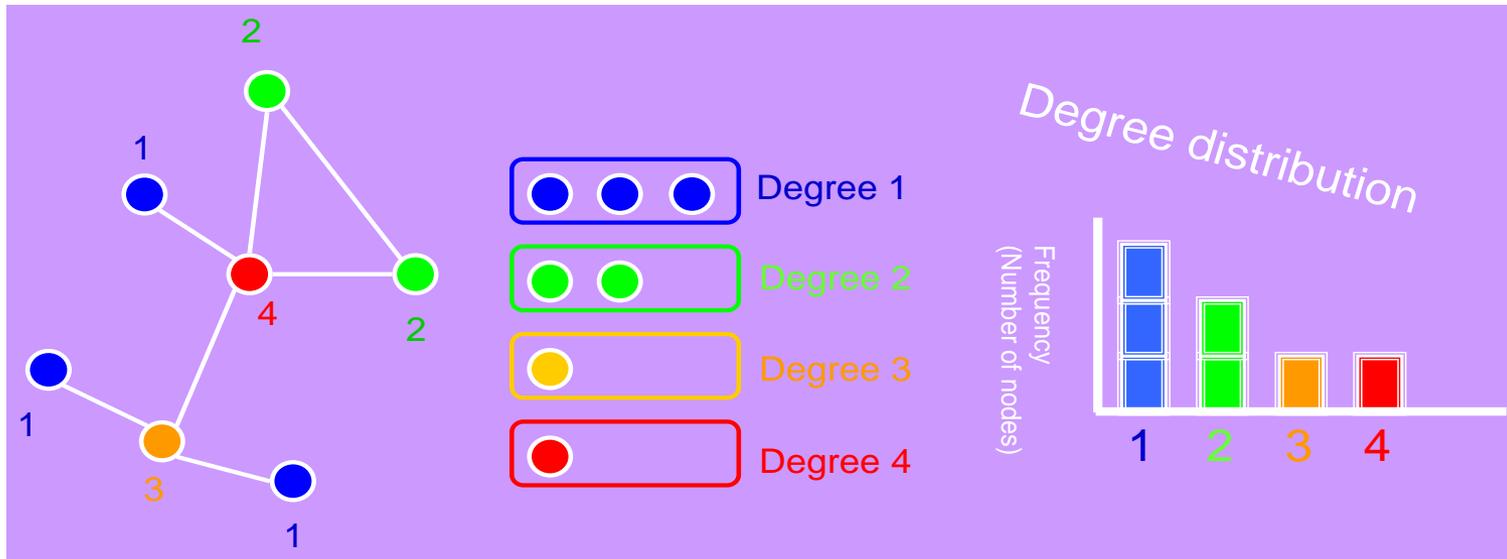
In protein-protein interaction networks (PINs), a node and a link represent a protein and an interaction between two proteins, respectively. The number of links connected to a node is called a degree.



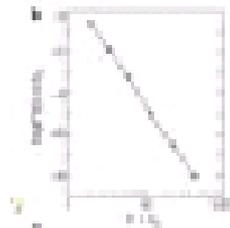
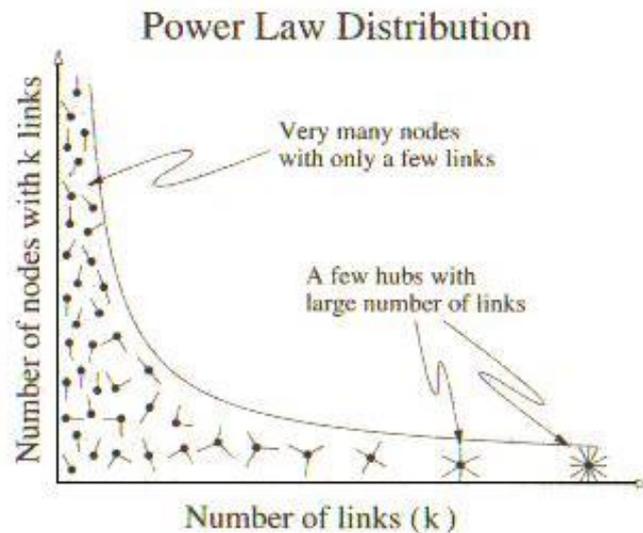
相互作用の数を度数 (Degree) とよぶ

Degree of red node is 5.

タンパク質相互作用ネットワーク(PIN)では数少ない相互作用が集中したタンパク質(hub)と相互作用が1や2の多数の末端タンパク質(branch)が存在する



<http://www.nd.edu/~networks/>

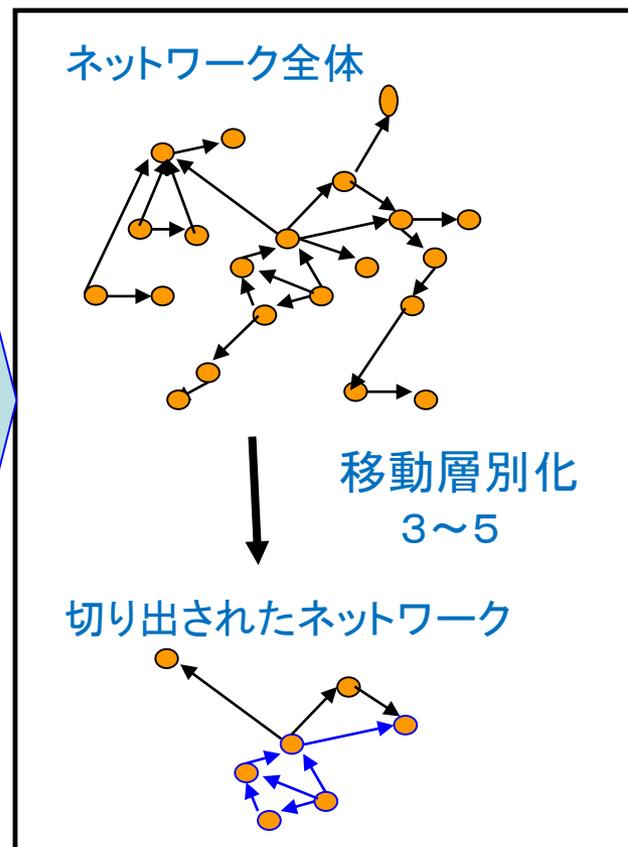
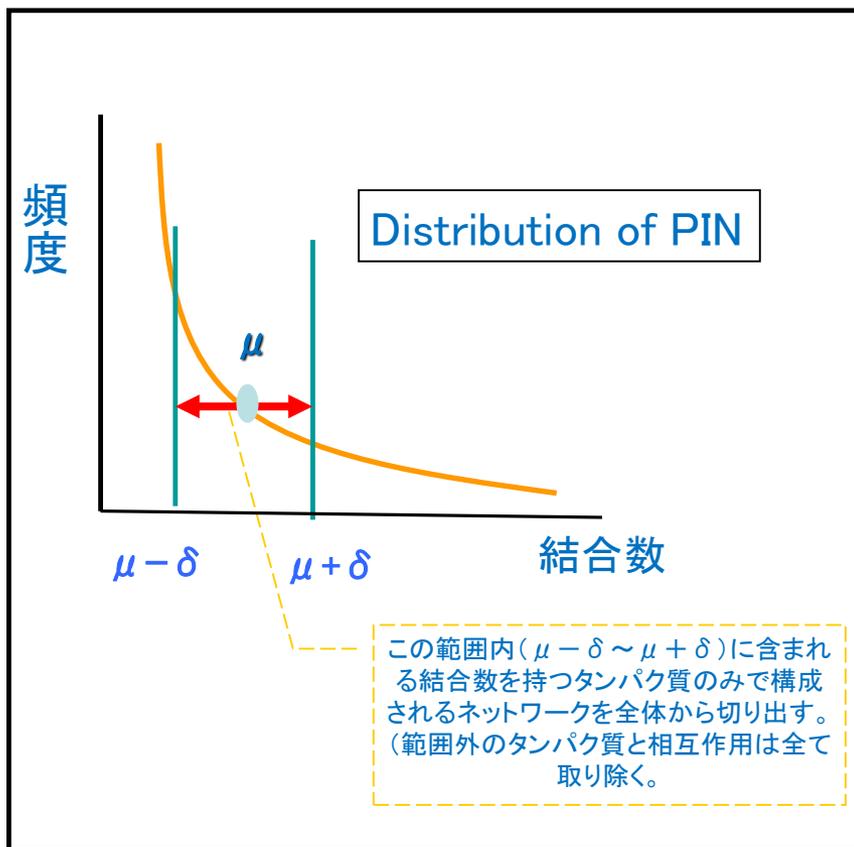


両Logで直線

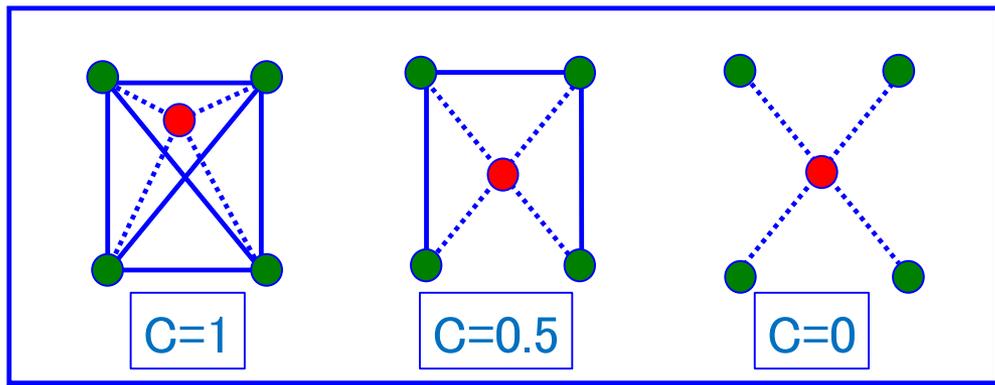


<http://www.macs.hw.ac.uk/~pdw/topology/ScaleFree.html>

# 結合次数ごとの層別化ネットワーク構造の解析

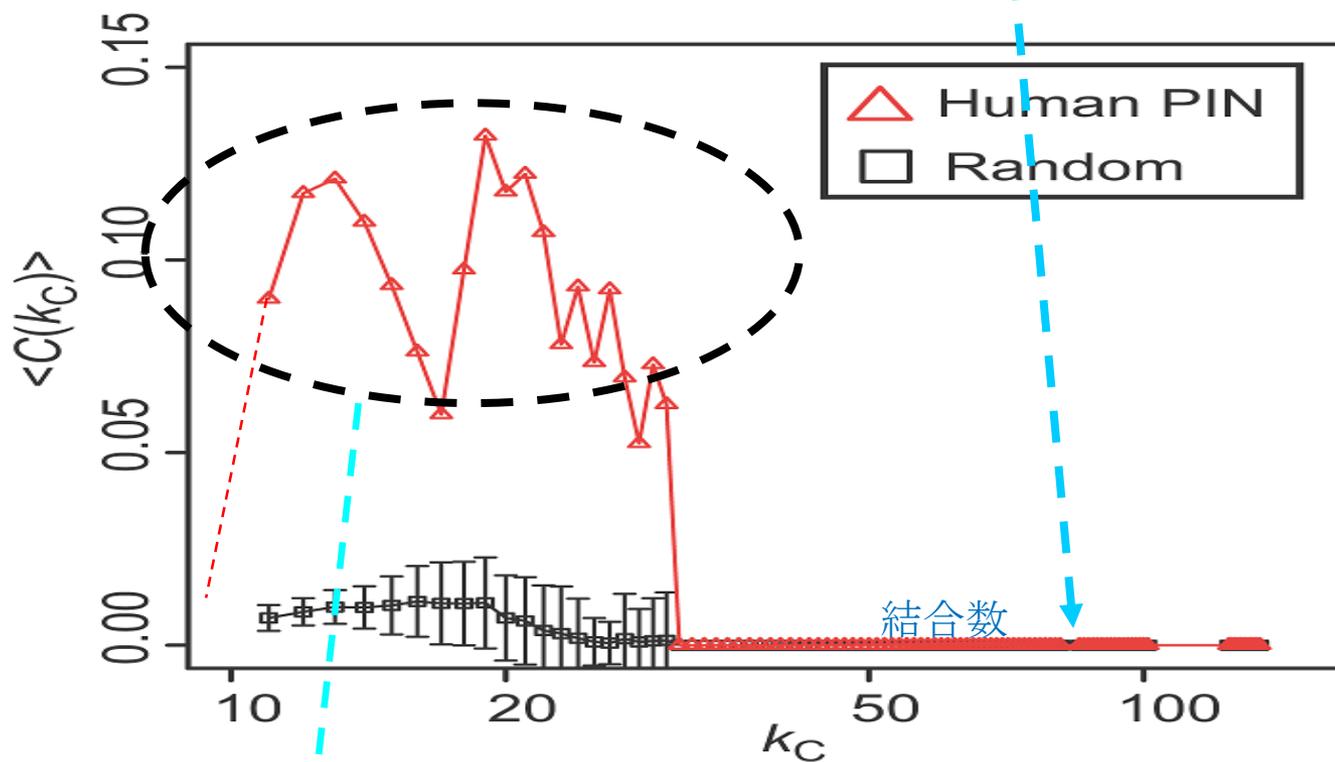


クラスター係数



# 移動層別化によるクラスター係数

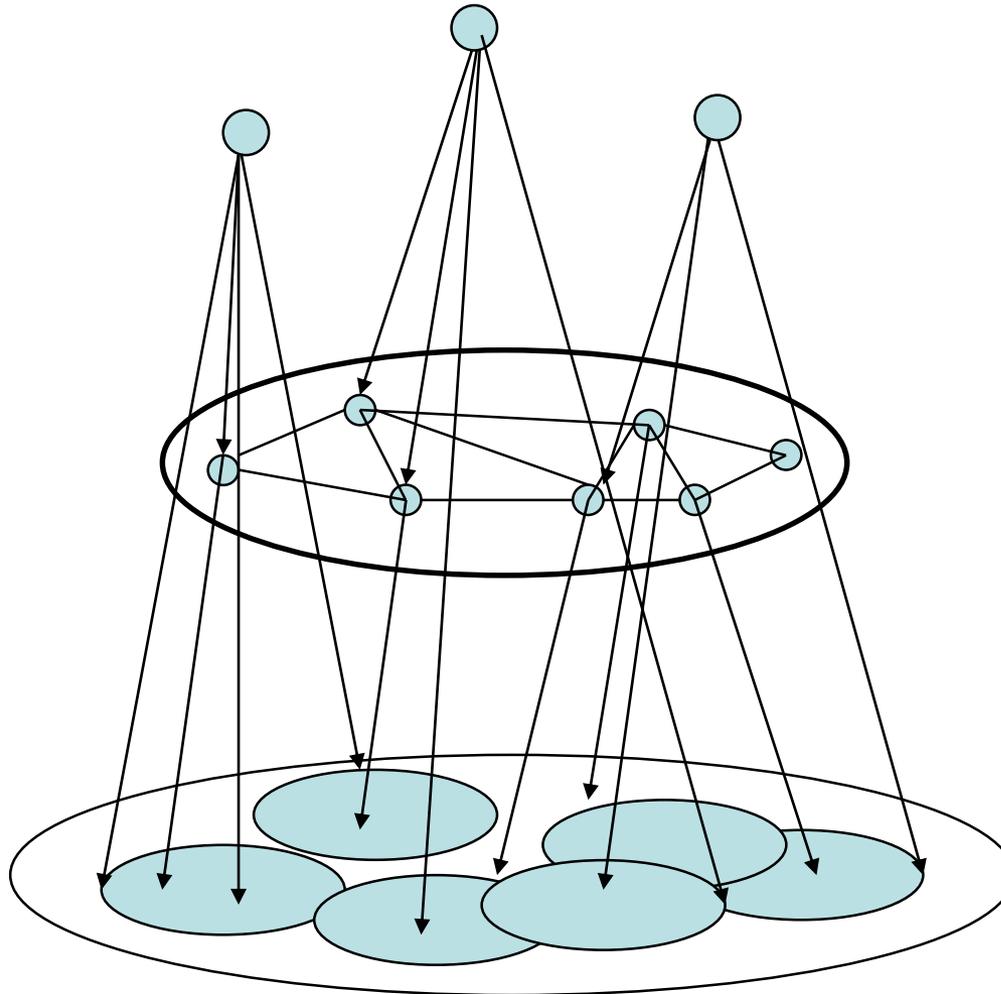
高いConnection Degreeを持つノード(スーパーハブ)はお互いに密に結合しない



中程度の結合数(7~42)を持つタンパク質は、多数の密なモジュールを構成している。

タンパク質相互作用から見られる

# 生命情報ネットワークの構造

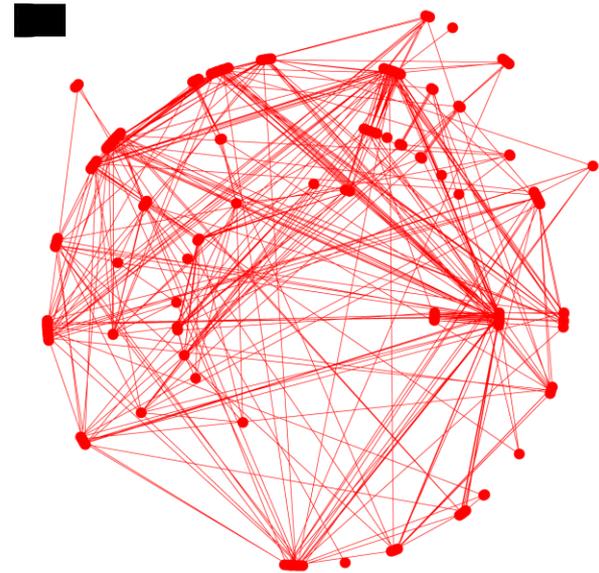
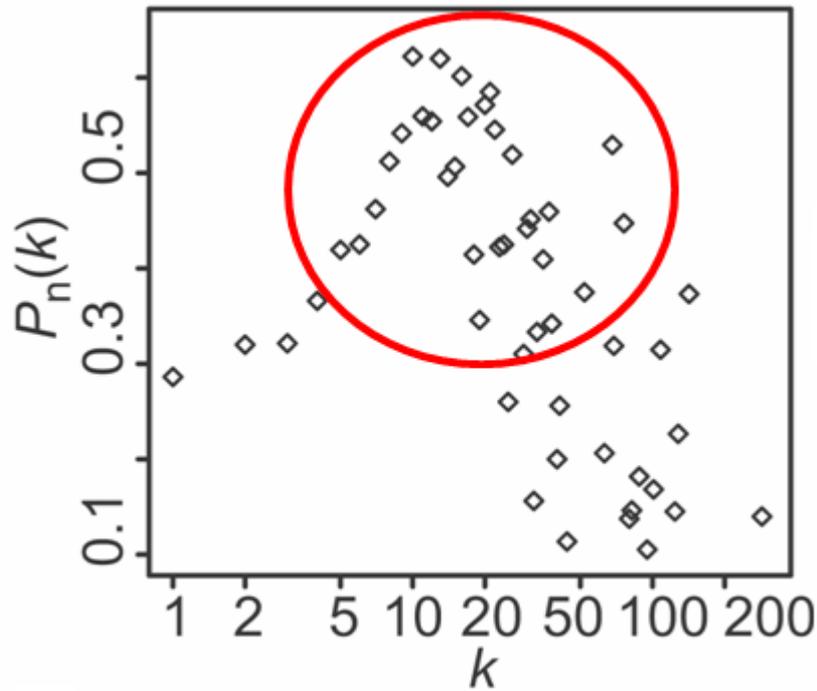


**高層**  
高デGREEハブ  
度数  
> 31 ヒト  
> 39 酵母

**中間層**  
中程度デGREE  
度数  
6 ~ 30 ヒト  
6 ~ 38 酵母

**低層**  
低デGREE  
ブランチ  
度数 < 6

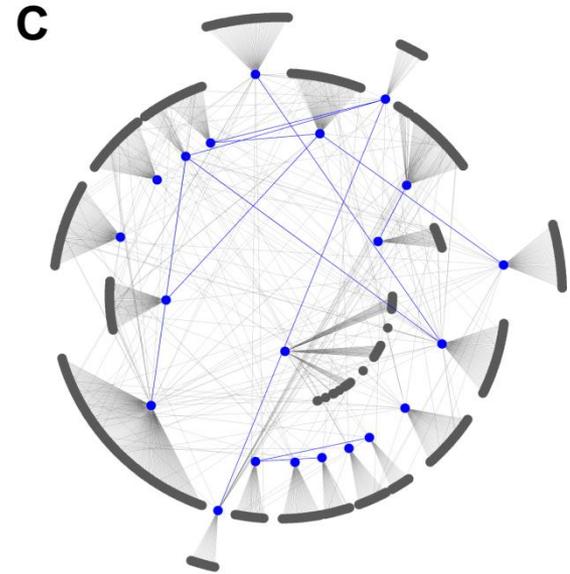
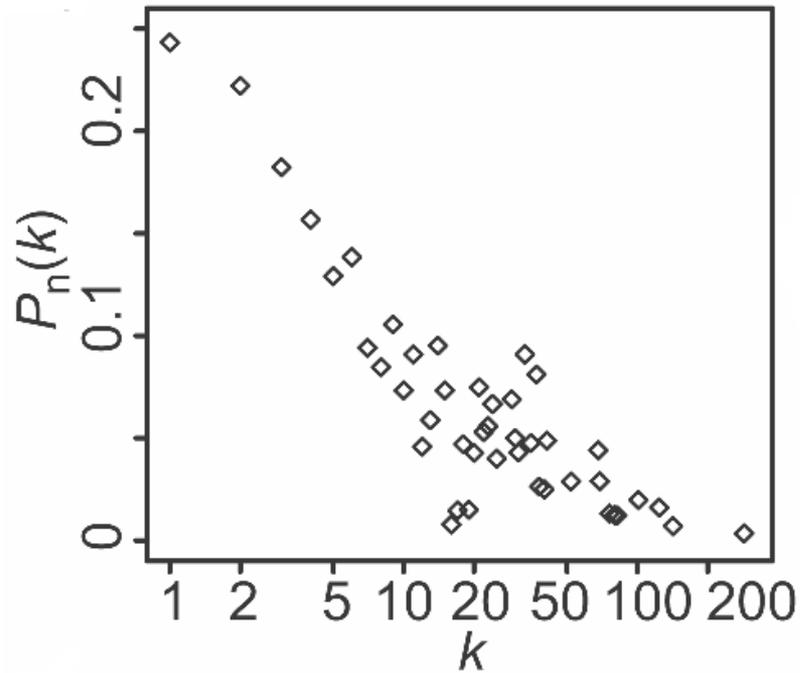
# 中層は互いに相互作用する



$P_n(k)$   $k$ -degree のノードのリンクが、中間層のdegreeのノードへ結合している確率

中程度のdegreeのノード間ではPINのバックボーンを構成している。

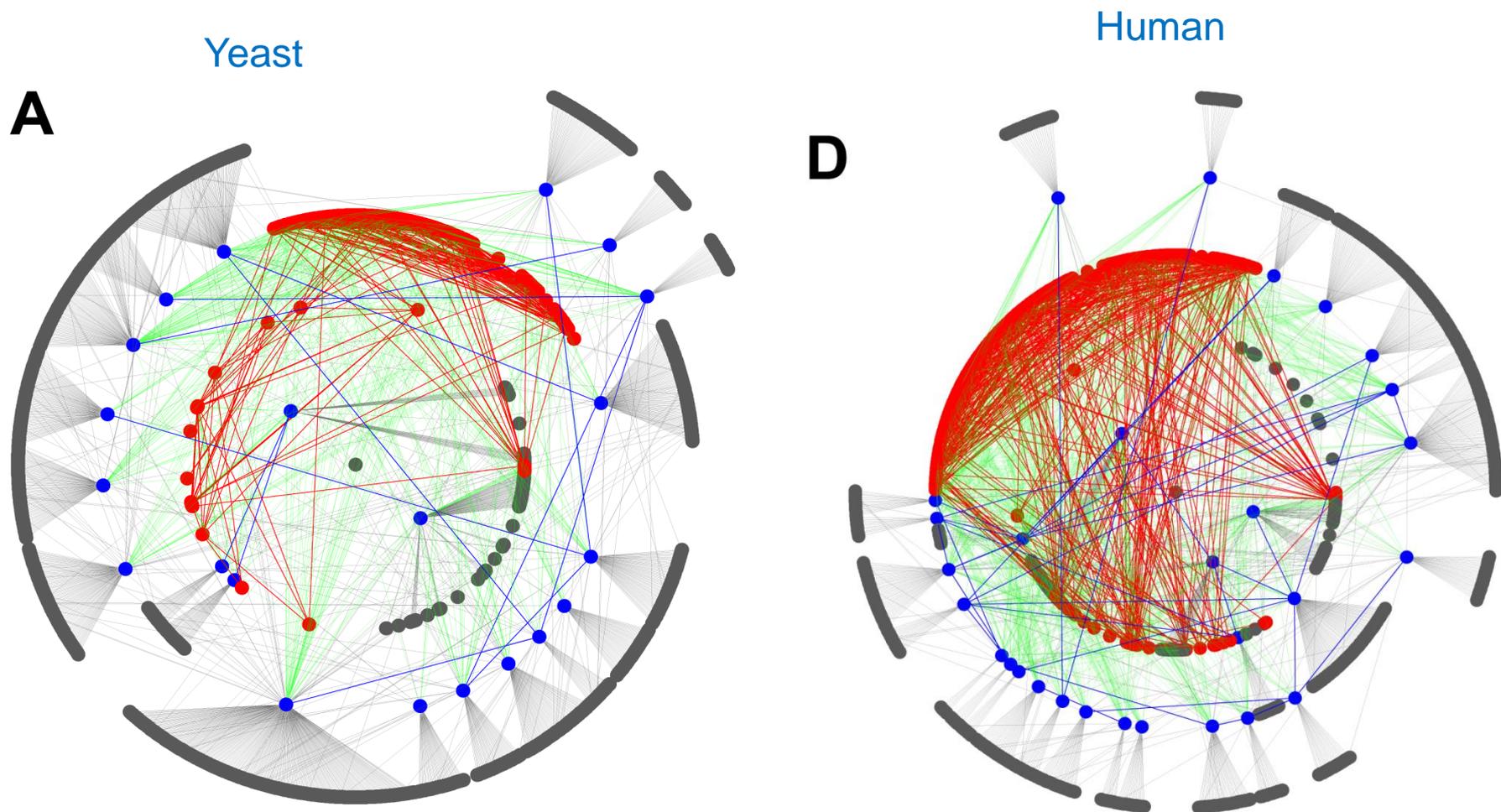
# ハブ(高層)は低層と相互作用する



$P_n(k)$   $k$ -degree のノードのリンクが、高層のdegreeのノードへ結合している確率

高層のdegreeのハブが、低層のdegreeのノードに結合し、ハブ間の結合は抑えられている。

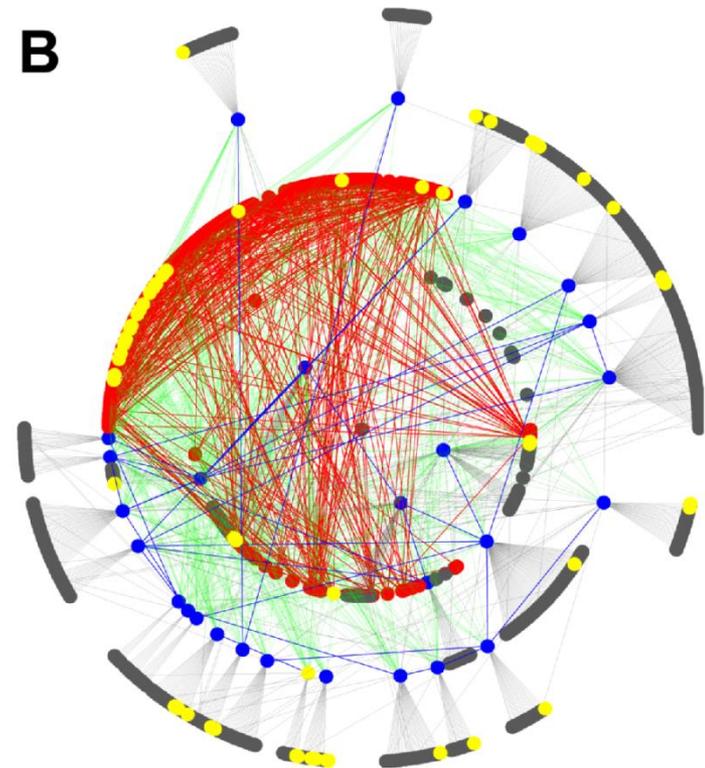
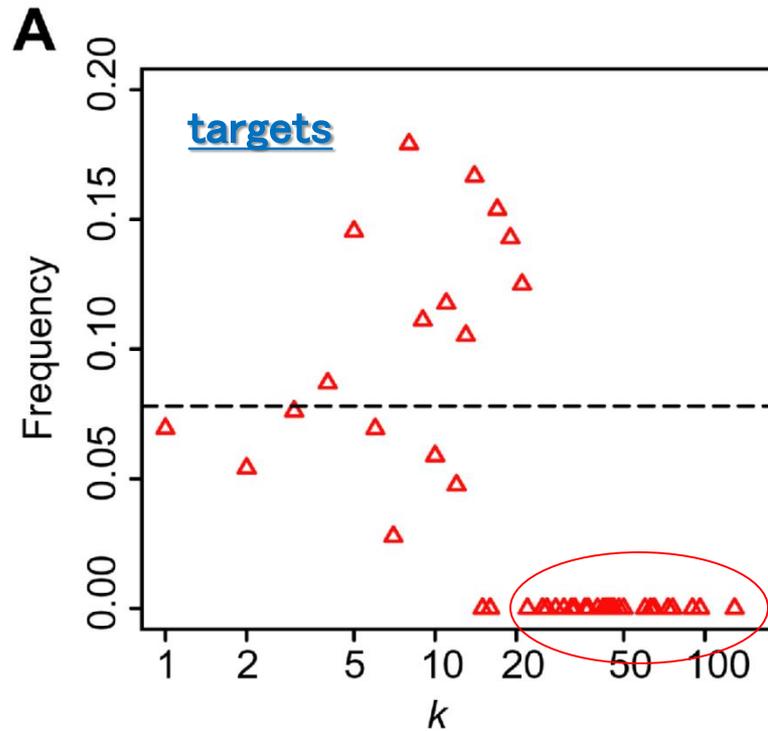
# PINのCloud Topology (3環トポロジー)



**Middle-degree ノードは PIN backbone を形成する。**

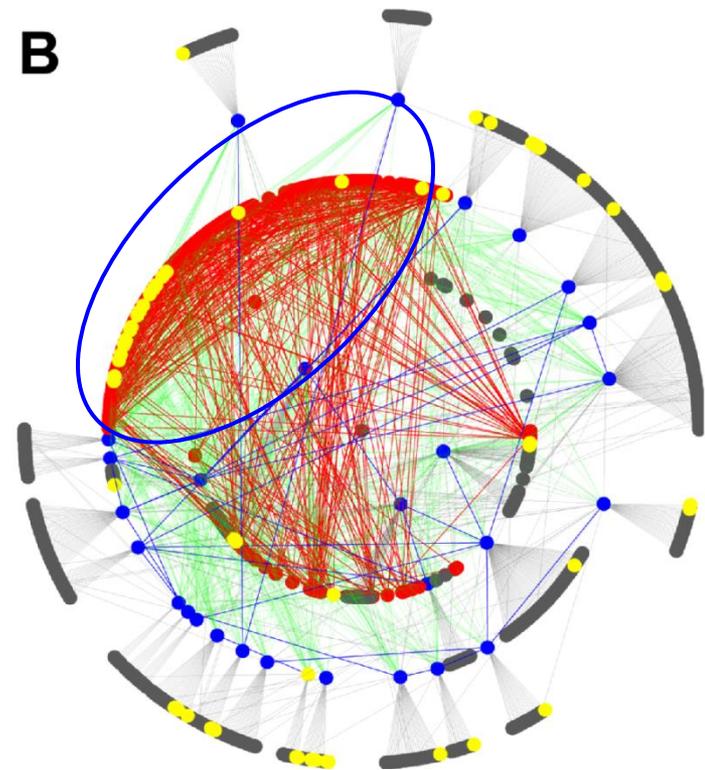
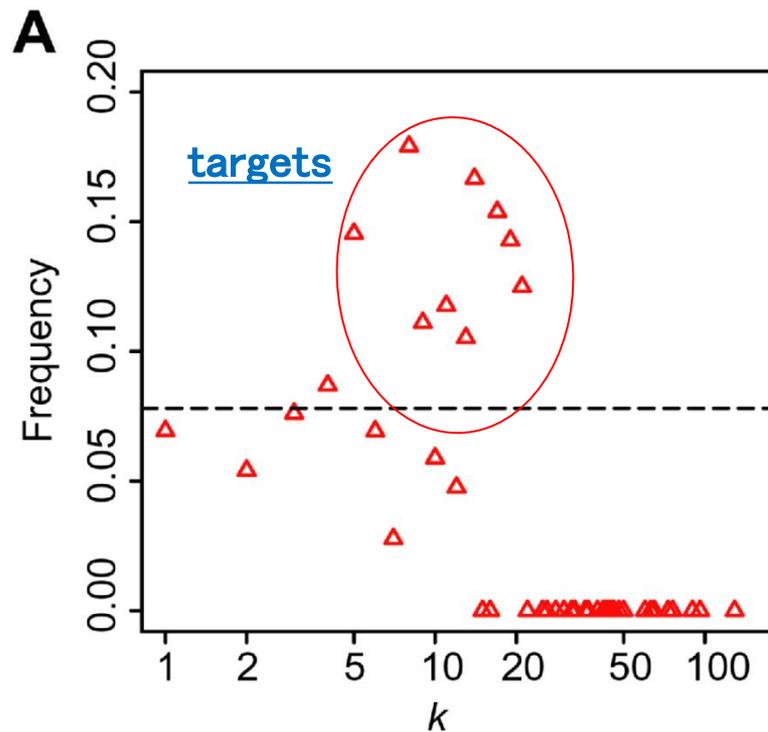
灰色, 赤, 青は、それぞれ低層、中層、高層のdegreeのノードをそれぞれ表す。

# タンパク質の結合度数と薬剤可能性



黄色いノードは薬剤標的タンパク。  
高層には薬剤標的分子がない

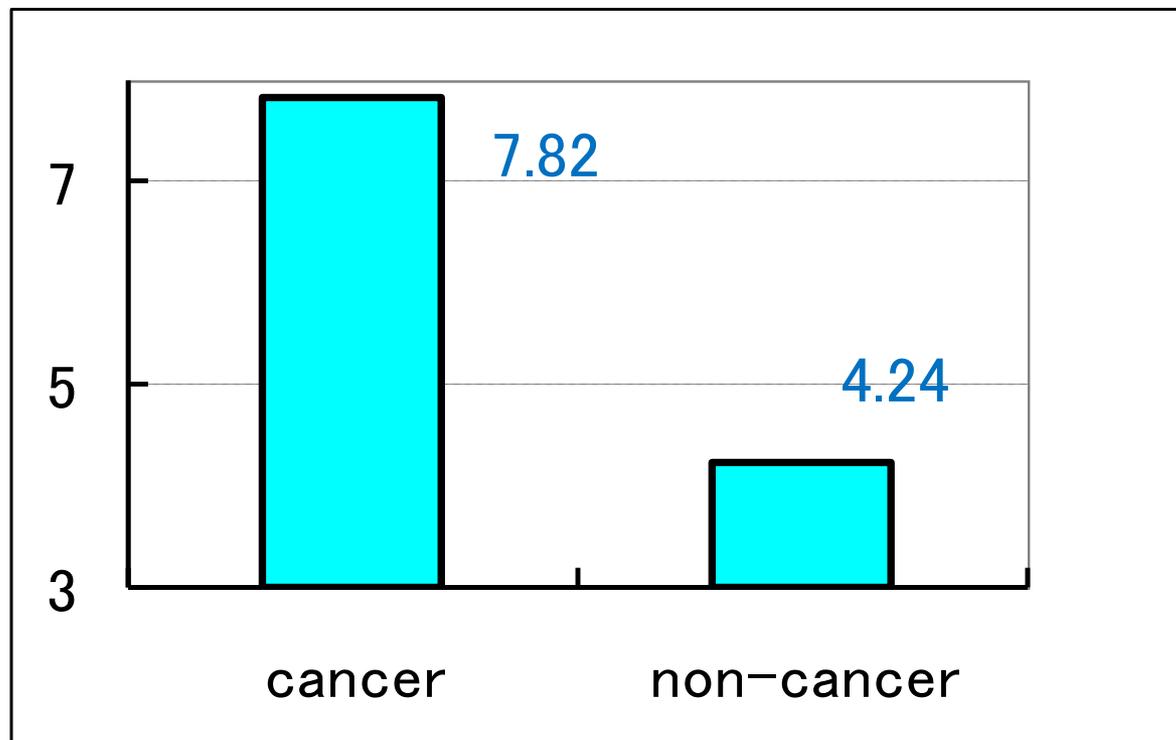
# 薬剤標的分子と結合度数



中層レベルのノードは治療薬として最適な標的である。それゆえ、多くの市場にある薬剤標的は、ヒトのバックボーンタンパク質に集中している

# 薬剤標的分子と結合度数

平均 Degree



薬剤標的  
全平均  
4.74

タンパク質  
全平均  
4.06

抗がん剤 (P=0.01)の標的分子は平均的にdegreeが高い。抗がん剤がより厳しい副作用を起こす理由である。

## Article

# Network biology approach to epithelial–mesenchymal transition in cancer metastasis: three stage theory

Hiroshi Tanaka<sup>1,2,†,\*</sup> and Soichi Ogishima<sup>2,†</sup>

<sup>1</sup> Department of Bioinformatics, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Department of Bioclinical Informatics, Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, Sendai, Japan

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.

\* Correspondence to: Hiroshi Tanaka, E-mail: tanaka@cim.tmd.ac.jp

**Epithelial–mesenchymal transition (EMT) plays a critical role in promoting cancer metastasis. In this study, cancer EMT is considered as an overall structural change in the gene regulatory network (GRN), and its essential features are elucidated by the network biology approach. We first defined the state space of GRN as a set of all possible activation patterns of GRN, and then introduced the quasi-potential field into this space to show the relative stability distribution of each state. The quasi-potential was determined empirically by collecting gene expression profiles from public databases. Changes of GRN states during the EMT process were traced in the state**

NBS  
Nippon  
Basic Series

シリーズ 進化生物学の新潮流

# 生命進化の システム バイオロジー

進化システム生物学入門

田中 博<sup>[著]</sup>

Tanaka Hiroshi

日評ベーシック・シリーズ

 日本評論社

 TMDU

# Acknowledge

- Hideyuki Saya, *Keio University*, EMT
- Soichi Ogishima, *TMDU*, EMT network identification
- Kaoru Mogushi, *TMDU*, gene expression analysis
- Tadashi Miyamoto, *TMDU*, *iPS regeneration medicine*
- Shigeki Arii, *TMDU*, hepatocellular carcinoma
- Shinji Tanaka, *TMDU*, hepatocellular carcinoma