

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09768

研究課題名（和文）卵巣がんにおける人工知能とロボット技術を用いた次世代型エピゲノム解析

研究課題名（英文）Next generation epigenomics using artificial intelligence and robotics in ovarian cancer

研究代表者

小松 正明（Komatsu, Masaaki）

国立研究開発法人理化学研究所・革新知能統合研究センター・副チームリーダー

研究者番号：70750842

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：卵巣がんは婦人科腫瘍で最も予後不良であり、予後改善に向けた早期診断や創薬を目指して、卵巣がんの発がん機序を解明する必要がある。卵巣がんの発がん機序にはエピゲノム異常の影響が大きいことが報告されており、まず煩雑なエピゲノム解析手法にロボット技術を導入した新規実験系を構築し、その実験精度・再現性を高めた。さらに、人工知能技術を用いて卵巣がん臨床検体のオミックスデータを多層解析し、発がん段階における複雑なクロマチン構造変化の網羅的解析を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣がんの予後改善に向けた個別化・精密医療の実現を目指して、その複雑な発がん機序を解明するための新たなエピゲノム解析手法を構築した。まず煩雑なエピゲノム解析手法にロボット技術を導入して、その実験精度・再現性を高めた。さらに、人工知能技術を用いて卵巣がん臨床検体のオミックスデータを多層解析し、発がん段階における複雑なクロマチン構造変化の網羅的解析を進めた。

研究成果の概要（英文）：Ovarian cancer is the most lethal gynecological cancer. To its early detection and novel therapeutic approaches toward precision medicine, it requires further investigation of molecular mechanisms underlying ovarian tumorigenesis and progression. To deal with the technical difficulties of epigenetic histone modification analyses with clinical samples, we introduced the humanoid robot that can perform complex experiments with higher accuracy and reproducibility. Furthermore, we apply artificial intelligence to systematically integrate the massive datasets including ChIP-seq, RNA-seq, and clinical records. We demonstrated that the peaks of the histone marks in ovarian tumors were significantly diminished in the promoter regions of several critical genes associated with tumorigenesis. These results suggest that our experimental platform can identify novel epigenetic signatures relevant to biomarkers and drug targets for ovarian cancer.

研究分野：産婦人科学

キーワード：卵巣がん 人工知能 ロボット技術 マルチオミックス解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

卵巣がんは検診方法が確立しておらず、初期段階では自覚症状に乏しいため、早期発見が困難であり進行例が多く予後不良である。また、パクリタキセル+カルボプラチン療法をはじめとする卵巣がん標準化学療法が無効となった症例に対して、現時点ではエビデンスのある有効な分子標的治療や免疫療法は確立していないため、本邦では選択可能な治療手段が限定されている。このような臨床的問題点を解決するには、早期診断や治療効果・副作用予測さらには創薬に応用できる新たな分子生物学的知見を得る必要があるため、卵巣がんの発生や進展などの腫瘍特性を規定する分子ネットワークについての包括的理解が求められる。

高異型度卵巣漿液性がんの網羅的ゲノム解析では、代表的ながん抑制遺伝子である TP53 遺伝子変異の頻度は多いが、他のがん種と比較して、発がん機序における遺伝子変異の寄与割合が低く、遺伝子のコピー数変化やエピゲノム異常の寄与割合が高いことが明らかとなっている<sup>1</sup>。エピゲノムは主に DNA メチル化やヒストン修飾によるクロマチン構造変化によって制御されており、ヒストンメチル化異常の細胞がん化における重要性も明らかにされている<sup>2</sup>。しかし、卵巣がんの網羅的なクロマチン構造解析は技術的な先進性・困難性のため、世界的にも未だ大規模に実施されていない<sup>3</sup>。

よって、卵巣がんエピゲノム解析について技術的革新を積み重ねることで再現性を高め、また細胞株だけでなく臨床検体にも適用することで、これまで遺伝子解析だけでは不明であった新たな臨床的知見を得る必要がある。また、卵巣がんの腫瘍特性は複雑な分子ネットワークに基づいて構築されており、組織型によっても多様であるため、1対1の解析ではなく、臨床情報およびゲノム・エピゲノム解析データ等の多層化ビッグデータをマルチモーダルに解析する必要がある<sup>4</sup>。

### 2. 研究の目的

(1) 代表的なエピゲノム解析手法である ChIP-seq (chromatin immunoprecipitation sequencing) に対してロボット技術を導入することにより、非常に煩雑な実験手技の自動化、また実験精度・再現性の向上を目指した。

(2) 卵巣がんの発がん機序に関する複雑な分子ネットワークの包括的理解に向けて、深層学習などの人工知能技術を用いて、卵巣がん臨床検体マルチオミックス解析の実現を目指した。

### 3. 研究の方法

(1) 卵巣がん臨床検体の凍結標本やホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本について、HE 染色にて腫瘍部位を確認し、レーザーマイクロダイセクション法にて抽出した。卵巣がん臨床検体に適した ChIP-seq 用のサンプル調整や、汎用ヒト型ロボット「まほろ」に対する適切な実験器具の選定や実験手技プログラム設定を行った。

(2) ChIP-seq 作業工程の一部であるクロマチン DNA 断片化における実験時間および再現性について、検査者 4 名による手動作業とロボットによる自動作業を比較検討した。再現性については、本作業工程を複数回実施し、Agilent 4200 TapeStation を用いて、クロマチン DNA 断片長を計測することで評価した。

(3) 卵巣がん組織および同一症例の正常卵巣の臨床検体について、臨床情報や ChIP-seq・RNA-seq 解析データを統合し、発がん段階におけるクロマチン構造変化の網羅的解析を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 卵巣がん臨床検体に適した ChIP-seq 用のサンプル調整、また汎用ヒト型ロボットに対する適切な実験器具の選択・配置や実験手技プログラムを構築した<sup>5</sup>。

(2) クロマチン DNA 断片化の平均実験時間は、検査者：20 時間、ロボット：11 時間であり、ロボットを用いた自動作業による実験時間の短縮を認めた。また、実験の再現性についても、ロボットによる自動作業の方がクロマチン DNA 断片長のバリエーションが少なく、検査者による手動作業より優れていた（図 1）。

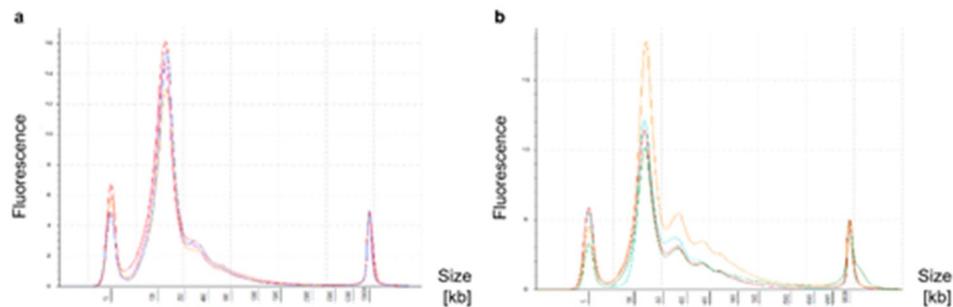


図 1. クロマチン DNA 断片長による実験再現性の比較 (a. ロボット b. 検査者)

(3) ヒストンマーク H3K4me3、H3K27ac、H3K27me3、および転写因子 CTCF について ChIP-seq 解析を実施した。卵巣がん組織および同一症例の正常卵巣の比較にて、ある遺伝子において活性化型ヒストンマークの発現低下を認めた（図 2）。卵巣がんの発がん機序に関わる複雑な分子ネットワークの構成因子である可能性がある。さらに臨床情報や ChIP-seq・RNA-seq 解析データを統合し、発がん段階におけるクロマチン構造変化の網羅的解析を進めている。

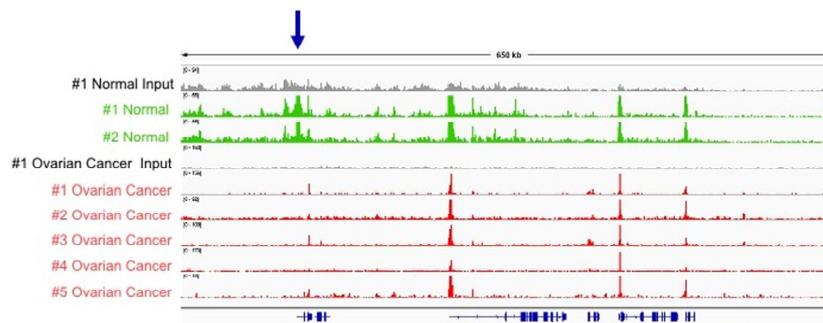


図 2. 正常卵巣と卵巣がんにおけるヒストンマーク発現比較（緑色：正常卵巣、赤色：卵巣がん）

#### < 引用文献 >

1. Bowtell DD, Böhm S, Ahmed AA, et al. Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2015;15(11):668-679.
2. Hamamoto R, Saloura V, Nakamura Y. Critical roles of non-histone protein lysine methylation in human tumorigenesis. *Nature reviews. Cancer*. 2015;15(2):110-124.
3. Natanzon Y, Goode EL, Cunningham JM. Epigenetics in ovarian cancer. *Seminars in Cancer Biology*. 2018;51:160-169.
4. Hamamoto R, Komatsu M, Takasawa K, Asada K, Kaneko S. Epigenetics Analysis and Integrated Analysis of Multiomics Data, Including Epigenetic Data, Using Artificial Intelligence in the Era of Precision Medicine. *Biomolecules*. 2019;10(1):62.
5. Kaneko S, Mitsuyama T, Shiraishi K, et al. Genome-wide chromatin analysis of FFPE tissues using a dual-arm robot with clinical potential. *Cancers*. 2021;13(9):2126.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 7件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Machino Hidenori, Kaneko Syuzo, Komatsu Masaaki, Ikawa Noriko, Asada Ken, Nakato Ryuichiro, Shozu Kanto, Dozen Ai, Sone Kenbun, Yoshida Hiroshi, Kato Tomoyasu, Oda Katsutoshi, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki, von Keudell Gottfried, Saloura Vassiliki, Hamamoto Ryuji	4. 巻 5
2. 論文標題 The metabolic stress-activated checkpoint LKB1-MARK3 axis acts as a tumor suppressor in high-grade serous ovarian carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02992-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Asada Ken, Kaneko Syuzo, Takasawa Ken, Machino Hidenori, Takahashi Satoshi, Shinkai Norio, Shimoyama Ryo, Komatsu Masaaki, Hamamoto Ryuji	4. 巻 11
2. 論文標題 Integrated Analysis of Whole Genome and Epigenome Data Using Machine Learning Technology: Toward the Establishment of Precision Oncology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 666937
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fonc.2021.666937	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kaneko Syuzo, Mitsuyama Toutai, Shiraishi Kouya, Ikawa Noriko, Shozu Kanto, Dozen Ai, Machino Hidenori, Asada Ken, Komatsu Masaaki, Kukita Asako, Sone Kenbun, Yoshida Hiroshi, Motoi Noriko, Hayami Shinya, Yoneoka Yutaka, Kato Tomoyasu, Kohno Takashi, Natsume Toru, von Keudell G, Saloura V, Yamaue Hiroki, Hamamoto Ryuji	4. 巻 13
2. 論文標題 Genome-Wide Chromatin Analysis of FFPE Tissues Using a Dual-Arm Robot with Clinical Potential	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13092126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Wada Miku, Kukita Asako, Sone Kenbun, Hamamoto Ryuji, Kaneko Syuzo, Komatsu Masaaki, Takahashi Yu, Inoue Futaba, Kojima Machiko, Honjoh Harunori, Taguchi Ayumi, Kashiyama Tomoko, Miyamoto Yuichiro, Tanikawa Michihiro, Tsuruga Tetsushi, Mori-Uchino Mayuyo, Wada-Hiraike Osamu, Osuga Yutaka, Fujii Tomoyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Epigenetic Modifier SETD8 as a Therapeutic Target for High-Grade Serous Ovarian Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1686
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom10121686	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Hamamoto Ryuji, Suvarna Kruthi, Yamada Masayoshi, Kobayashi Kazuma, Shinkai Norio, Miyake Mototaka, Takahashi Masamichi, Jinnai Shunichi, Shimoyama Ryo, Sakai Akira, Takasawa Ken, Bolatkan Amina, Shozu Kanto, Dozen Ai, Machino Hidenori, Takahashi Satoshi, Asada Ken, Komatsu Masaaki, Sese Jun, Kaneko Syuzo	4. 巻 12
2. 論文標題 Application of Artificial Intelligence Technology in Oncology: Towards the Establishment of Precision Medicine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12123532	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Asada Ken, Bolatkan Amina, Takasawa Ken, Komatsu Masaaki, Kaneko Syuzo, Hamamoto Ryuji	4. 巻 10
2. 論文標題 Critical Roles of N6-Methyladenosine (m6A) in Cancer and Virus Infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10071071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hamamoto Ryuji, Komatsu Masaaki, Takasawa Ken, Asada Ken, Kaneko Syuzo	4. 巻 10
2. 論文標題 Epigenetics Analysis and Integrated Analysis of Multiomics Data, Including Epigenetic Data, Using Artificial Intelligence in the Era of Precision Medicine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10010062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Masaaki Komatsu, Ai Dozen, Kanto Shozu, Syuzo Kaneko, Hidenori Machino, Ken Asada, Hiroshi Yoshida, Tomoyasu Kato, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Epigenetic and functional analyses of PRELP gene in ovarian cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hidenori Machino, Ai Dozen, Masaaki Komatsu, Kohei Nakamura, Kanto Shozu, Syuzo Kaneko, Ken Asada, Hiroshi Yoshida, Tomoyasu Kato, Kentaro Nakayama, Satoru Kyo, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Integrative analysis revealed early epigenetic changes in high-grade serous ovarian carcinogenesis
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Ken Asada, Hiroshi Yoshida, Tomoyasu Kato, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 Clinical epigenetic analysis with robotics in ovarian cancer.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hidenori Machino, Syuzo Kaneko, Masaaki Komatsu, Ken Asada, Ai Dozen, Kanto Shozu, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 LKB1-MARK3 axis is a novel stress-activated cell cycle checkpoint and dysregulated in high-grade serous ovarian cancer.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kanto Shozu, Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Ai Dozen, Hidenori Machino, Akitoshi Nakashima, Shigeru Saito, Ken Asada, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 Biological mechanisms of PRELP in ovarian cancer.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Dozen, Masaaki Komatsu, Hidenori Machino, Kohei Nakamura, Syuzo Kaneko, Kanto Shozu, Ken Asada, Tatsuaki Chiyoda, Kentaro Nakayama, Daisuke Aoki, Satoru Kyo, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 Integrative multi-omics analysis of multistage carcinogenesis in high-grade serous ovarian cancer.
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaaki Komatsu, Ai Dozen, Kanto Shozu, Hidenori Machino, Tomoyasu Kato, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 Novel clinical epigenetics using robotics toward precision medicine in ovarian cancer.
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kanto Shozu, Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Ai Dozen, Hidenori Machino, Akitoshi Nakashima, Shigeru Saito, Tomoyasu Kato, Ryuji Hamamoto.
2. 発表標題 WNT7A gene was regulated by epigenetic changes and associated with tumorigenesis in ovarian clear cell carcinoma.
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Ken Asada, Tomoyasu Kato, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Clinical epigenetics using artificial intelligence and robotics in ovarian cancer
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidenori Machino, Syuzo Kaneko, Masaaki Komatsu, Ai Dozen, Kanto Shozu, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Tumor suppressive roles of MARK3 in high-grade serous ovarian carcinomas
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ai Dozen, Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Kanto Shozu, Hidenori Machino, Tatsuyuki Chiyoda, Daisuke Aoki, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Epigenetic regulation of epithelial cell integrity through extracellular matrix in ovarian cancer
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanto Shozu, Masaaki Komatsu, Syuzo Kaneko, Ai Dozen, Hidenori Machino, Akitoshi Nakashima, Shigeru Saito, Ryuji Hamamoto
2. 発表標題 Epigenetic regulation of the WNT7A gene in ovarian clear cell carcinoma
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浜本 隆二  (Hamamoto Ryuji)  (80321800)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長    (82606)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	金子 修三  (Kaneko Syuzo)  (10777006)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・ユニット長    (82606)	
研究分担者	浅田 健  (Asada Ken)  (70773414)	国立研究開発法人理化学研究所・革新知能統合研究センター・研究員    (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関