

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22839

研究課題名（和文）細胞間相互作用に由来するがん細胞多様性の抽出と創出機構の解明

研究課題名（英文）Revealing molecular mechanisms of cancer cell heterogeneity induced by inter-cellular interaction

研究代表者

小嶋 泰弘 (Kojima, Yasuhiro)

名古屋大学・医学系研究科・特任助教

研究者番号：00881731

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：細胞間の相互作用は、細胞の状態を大きく変化させることで、がん細胞の多様性を生み出す一因となっている。本研究においては、がん細胞をはじめとする細胞の腫瘍組織内における細胞間の相互作用に基づく細胞状態の多様性を明らかにし、その分子機構を探求する。そのために、深層生成モデルに基づく新規手法DeepCOLORの開発を行い、腫瘍浸潤部において共局在するがん細胞とFibroblastの集団の特定を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発を行ったDeepCOLORは、これまで困難であった一細胞トランスクリプトームの空間分布を復元するための情報科学的方法を提供している。また、細胞間の共局在関係をデータ駆動的にとらえ、さらにその間に存在する分子機構までを明らかにすることで、新規創薬の標的になる分子の効率的な探索を可能にする枠組みとなることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Cell-cell interactions contribute to the diversity of cancer cells by significantly altering the cellular state. In this study, we will clarify the diversity of cell states based on cell-cell interactions in tumor tissues of cancer cells and other cells, and explore the molecular mechanisms of these interactions. To this end, we developed a novel method, DeepCOLOR, based on a deep generative model. We have identified a population of cancer cells and Fibroblasts that co-localize in the tumor infiltrate.

研究分野：生命情報科学

キーワード：空間トランスクリプトーム 一細胞トランスクリプトーム 深層生成モデル

1. 研究開始当初の背景

がん細胞の持つ多様性は、一部のがん細胞が現代的ながん治療の網の目をかいくぐることを可能にし、患者の予後に大きな影響を及ぼしている。それゆえ、がん細胞の多様性に関わる分子機構の理解と制御は、がん治療の予後を大きく改善することが期待される。がん細胞には、ゲノムやエピゲノムなどの内的差異に起因する細胞自律的な多様性と、近傍細胞とのリガンド-受容体を通じた相互作用などの外的要因により生まれる非細胞自律的な多様性が存在する。これらの多様性を網羅的に取得する手法の一つが1細胞トランスクリプトームの観測技術であり、近年の1細胞解析ソリューションの普及に伴い、がん細胞の遺伝子発現の多様性に関する理解は大きく前進した。しかし、1細胞トランスクリプトーム観測では細胞間相互作用が期待される近傍細胞等の情報が失われているため、がん細胞のトランスクリプトーム多様性に関する理解は飛躍的に向上したものの、がん細胞多様性の内、どこが非細胞自律的な部分で、どのようなメカニズムで実現されているのか、については体系的に調べることは困難であった。

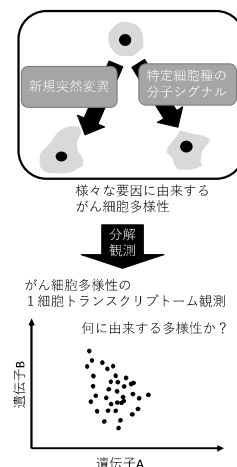


図 1: 1細胞トランスクリプトームによる多様性解析困難

2. 研究の目的

本研究では、がん細胞の多様性創出に関わる細胞間相互作用をデータ駆動型空間分布解析により抽出し、がん多様性を制御する非細胞自律的な分子機構を解明することを目的とする。具体的には下記の三項目に開発を進めることにより、研究開発の推進を行う。

(1) 一細胞トランスクリプトームの空間分布の復元

現段階で、普及をしている空間トランスクリプトームの技術では、一つの観測地点が一細胞より大きな解像度となってしまっており、それら複数の細胞の発現プロファイルが混合されたものが観測される。そのため、観測と紐づけられる空間的な座標において、どのような細胞が存在しているかを明らかにすることは、困難な問題となっていた。本研究では、一細胞のトランスクリプトームによりこれらの発現プロファイルを分解することにより、一細胞レベルの空間分布を明らかにすることを目的とする。

(2) 細胞間の共局在関係により規定される細胞集団の同定

腫瘍の微小環境における細胞間の相互作用は、それぞれのがんをはじめとする細胞の状態を変化させ、多様な状態を生み出す。このような細胞の多様な状態を捉える上で、一細胞トランスクリプトーム観測は非常に有用である一方、その多様性の中から細胞癌の相互作用によるものを抽出することは容易ではない。本研究では、上記で推定を行った各一細胞の空間分布を活用することにより、細胞間の共局在ネットワークの推定を行う。これにより、細胞間の共局在により規定される集団を抽出することで、細胞間相互作用により生まれる細胞の多様を明らかにする。

(3) 細胞間相互作用の分子機構のデータ駆動的な検出

細胞間の相互作用を担う重要な分子機構として挙げられるのが、Ligand-Receptor を介したシグナル伝達である。一細胞トランスクリプトームの活用によりこれらをデータ駆動的に推定する枠組みも登場しつつあるものの、空間的な制約がないため偽陽性が高い可能性があるとともに、あらかじめ定義した細胞クラスター間におけるコミュニケーションへと帰着をさせていた。本研究では、上記で推定した一細胞レベルの共局在関係を活用することにより、近傍細胞間で行われるシグナル伝達を推定する手法の開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 一細胞トランスクリプトームの空間分布の復元

本研究では、一細胞で観測される発現プロファイル空間的な遺伝子発現プロファイル X^{SP} を一細胞レベルの発現量 X^{SC} の線形和の形 $X_s^{SP} = \sum_i w_{is} X_i^{SC}$ となるように推定を行う。しかし、この線形重みを直接最適化してしまうと、ほとんど同じ細胞で重みが一貫した値になるという制約がない。観測値のノイズに対して頑健性の乏しい推定となってしまう、といった問題があった。そこで、本研究では、近年一細胞オミクス解析の分野において応用が進む深層生成モデルの枠組みによりこの問題を解決する。具体的には、変分自己符号化器の枠組みにより、低次元の細胞状態 z_i を推論し、重みをその潜在状態に依存した形で再構成された発現プロファイルの線形和 $\mu_s^{SP} = \sum_i w(z_i)_s \lambda(z_i)$ により空間発現プロファイルの平均パラメータを計算する。これにより、対数尤度最大化の枠組みで似たような細胞状態をもつ細胞では、一貫した空間分布の推定が可能

となる。

(2) 細胞間の共局在関係により規定される細胞集団の同定

(1)で推定を行った空間分布をもとにして、二つの細胞の共局在スコアを二細胞の分布の重なりとして評価する。この時に、一様分布との重なりと比較することにより、共局在の高い細胞ペアの抽出を可能とする。これらのペアについては、そのままではさまざまな細胞の組み合わせが抽出されていることが期待される。そのため、上述した変分自己符号化器により推定した細胞状態の和を細胞ペアの状態としてクラスタリングを行うことにより、分子的な特徴が一貫する共局在集団を同定する。

(3) 細胞間相互作用の分子機構のデータ駆動的な検出

既存の研究 (Browaeyts et al. 2019)において推定された Ligand と Receptor 下流のターゲットの遺伝子との関係を利用することにより、共局在関係にある細胞間での相互作用の分子機構を明らかにする。具体的には、共局在する細胞ペアを細胞種ごとに分類し、その上でペアの片方におけるリガンドともう片方でのターゲットの発現の量が上位となる細胞のペアをカウントする。これにより、特定の細胞種間において、共局在した際に実際にシグナルが伝達し影響を与えているような分子機構を網羅的に探索する。

4. 研究成果

(1) 一細胞トランスクリプトームの空間分布の復元

本研究で開発を行った方法(DeepCOLOR)は、マウス脳組織、ヒト扁平上皮癌、ヒト COVID19 感染肺組織の公開データに対して適用を行い、検証を行った。結果として、いずれのデータセットについても、空間分解に使用した一細胞の発現プロファイルにより、十分な精度で空間発現パターンの再構築ができていることを確認した。また、シミュレーションデータによる検証では、これまでの細胞腫レベルの再構築と比較して、精度の高い細胞空間座標の再構築を行えていることを確認した(図 2)。

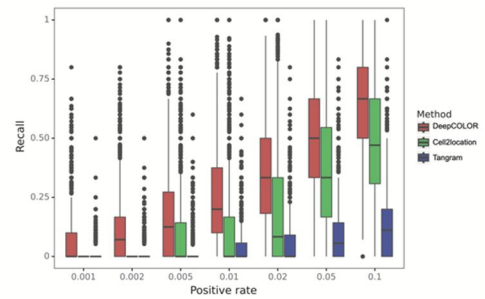


図 2:空間分解能の推定精度比較

(2) 細胞間の共局在関係により規定される細胞集団の同定

シミュレーションによる実験では、上述のように得られた細胞の空間分布による共局在スコアでは、既存の方法と比べてより精度高く共局在関係にある細胞集団を特定できていることが確認された。扁平上皮癌のデータに対する適用においては、腫瘍浸潤部に局在するがん細胞と共局在する Fibroblast の集団を検出することに成功した。これらの細胞集団のプロファイルは、TCGA の扁平上皮癌においても、非常によく相関しており、検体を跨いだ共局在があることが示唆されている。また、その Fibroblast のプロファイルの強さは、予後と有意に相関することが確認された。さらに、データとは異なる臨床検体においても、当該 Fibroblast で強発現する INHBA 陽性の Fibroblast が腫瘍の浸潤部に存在することを確認することができた。

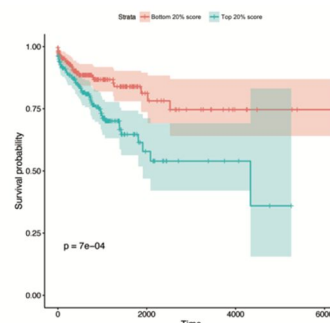


図 3:共局在 Fibroblast と予後

(3) 細胞間相互作用の分子機構のデータ駆動的な検出

扁平上皮癌においてがん細胞と各細胞種との相互作用の分子機構の推定を行った。その結果、Fibroblast からのシグナルとして上位に上述のように共局在の検証を行った INHBA が存在した(図 4)。この結果は、上述のように共局在をベースとして同定された集団で強発現するリガンド分子が共局在するがん細胞に対して作用し、分子プロファイルを変化させていることを示唆する結果となっている。また、COVID19 肺組織に対する適用においては、感染組織での減少が報告されている II 型肺細胞に対するシグナルとして、Fibroblast から予後との関連が指摘される NAMPT 分子によるシグナルが予測されていた。

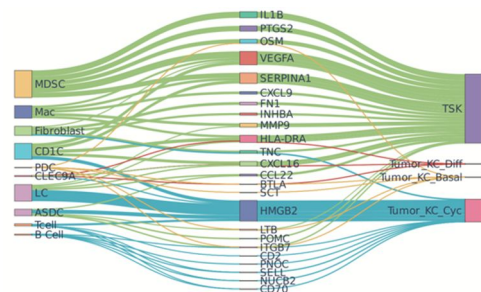


図 4:がん細胞との細胞間相互作用の分子機構の推定

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小嶋泰弘
2. 発表標題 空間トランスクリプトームの一細胞分解に基づく細胞間共局在関係の推定
3. 学会等名 日本数理生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuhiro Kojima, Teppei Shimamura
2. 発表標題 Dynamics and colocalization of deep learning-based cell states behind single cell and spatial transcriptome observation
3. 学会等名 The 40th Sapporo International Cancer Symposium
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------