

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23300110

研究課題名(和文)セルアレイからのタンパク質分布と発現タイミング情報に基づくがん細胞の特徴化と分類

研究課題名(英文)Characterization and classification of cancer cells based on protein distributions and expression timings from cell array

研究代表者

松野 浩嗣(Matsuno, Hiroshi)

山口大学・理工学研究科・教授

研究者番号：10181744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,300,000円

研究成果の概要(和文)：セルアレイからのタンパク質の量と凝集度、細胞のサイズ、DNAの量と凝集度の5つの散布パターンを、サポートベクターマシンのカーネル関数を用いて有次元の特徴空間に写像して線形分離を行うことで、がん細胞の特徴情報を明確する手法を開発した。
さらに、時間ペトリネットによるシグナル伝達経路モデルを滞留なしペトリネットとするために必要な条件を示した。この条件は、トランジションの遅延時間とサイクルの構造に依存するため、シグナル伝達経路の各部分構造に対する遅延時間の決定方法と、サイクルの構造条件を示した。

研究成果の概要(英文)：A method expressing characteristics of cancer cells based on linear differentiation, which maps 5 kinds of dispersion patterns, quantity and aggregation ratio of protein, cell size, and quantity and aggregation ratio of DNA, to a fixed dimensional feature space by using kernel function of a support vector machine was developed.

In addition, some necessary conditions for timed Petri net are shown to make it retention-free. Based on the dependencies of transition delay time and cycle structure in Petri net, a method deciding delay times in partial structures in a Petri net model of a signaling pathway and a condition for cycle structure were formulated.

研究分野：システム生物学

キーワード：システム生物学 シグナル伝達経路 ペトリネット セルアレイ がん細胞分類 サポートベクターマシン

1. 研究開始当初の背景

がんの分類は治療の方法を決めるという点からも重要である。従来から現在に渡って、これは病理部門において顕微鏡を使い目視によって行なわれている。しかし、この方法では分類できないがんの存在も知られており、目視による検査の限界があることも言われている。がんの発生は遺伝子やその産物である分子の異常によるものであるから、がんを分子レベルで分類できる手法があれば、より正確ながん分類が可能になり、有効な治療法の決定にもつながる。しかしながら、まだ分子レベルの有効な分類手法は確立されていない。

2. 研究の目的

セルアレイから得られる2種類のタンパク質発現パターンデータを用いて、新しい視点に基づくがん細胞な特徴化を以下の2通りの方法で試みる。

(1) タンパク質の濃度と凝集度に着目した分類

セルアレイから、特定のタンパク質のある一つの細胞内における濃度と凝集度値を得て、この散布状態から細胞内のタンパク質の分布の傾向を知る。

本研究では、いくつかのタンパク質のセルアレイを用意し、得られる散布パターンの組み合わせによってがん細胞を特徴化して分類する手法を開発する。

(2) タンパク質濃度の時系列的变化に基づくシグナル・フロー・ダイナミクスによる分類

がんの原因の主要因は細胞内シグナル伝達に関わる分子の異常であるので、この伝達機構の正確なモデル化は正確ながん分類の実現につながる。しかし、このために従来使われてきた情報は、シグナル伝達経路の酵素の連鎖的反応とそれを補完するタンパク質相互作用を表現したスタティックな構造情報だけである。本研究では構造情報のみならず細胞膜から核までのシグナルの流れのダイナミクス情報を組み込んだ、より精巧な表現法を開発する。この表現法によってシグナル・フローの違いに基づいたがん細胞の特徴化を行い、シグナル伝達経路のダイナミクス情報を取り入れたがん細胞分類手法の開発を行う。

3. 研究の方法

セルアレイから取得された「タンパク質の発現濃度・凝集度データ」と「タンパク質発現の時系列データ」の2種類のデータを用いて、次の2つの手法の開発を行う。

(1) 濃度と凝集度分布形状の定量化による特徴抽出

タンパク質の濃度と凝集度の散布パターンを定量化することで特徴を抽出する。セルアレイではセルライン細胞を用いるので実験で用いる細胞のがんの属性(性質)は既知であるので、この既知の属性情報に基づいて適切な分類が行えるタンパク質の組み合わせを見つける手法を開発する。

(2) 濃度の時系列的变化をシグナル伝達モデルに組み込むためのアルゴリズムの開発

シグナル伝達経路のモデル化手法としてペトリネットを用いる。セルアレイからの時系列タンパク質測定データを使い、シグナル伝達の上流と下流に位置するタンパク質のセルアレイデータから、ピーク値の差分を反応時間差として取る。シグナルを滞留させないことを基本方針とし、この差を実現するように各トランジションの時間を決めるアルゴリズムを開発する。

4. 研究成果

(1) サポートベクタマシンを用いたがん細胞のタンパク質情報の特徴抽出分類

セルアレイから取得したがん細胞のタンパク質量、タンパク質の凝集度、細胞のサイズ、DNA量、DNAの凝集度の5次元の散像し、特徴空間上で線形分離を行うことで、がん細胞の特徴情報を明確化する手法を示した。カーネル関数には、ガウシアンカーネルを用いており、変数の自動化手法を取り入れることで、最適な結果が得られることを確認した。

図1は、本システムで開発した分類システムの構成図である。事前学習により特徴化したがん細胞のデータベースを構築し、患者から取得した未知の癌細胞に対して、どのがん細胞の特徴情報に近いタイプであるかを判定することができる。Her2タンパクによる10種類のがん細胞(A431, CCK-81, G-EMC-SS, HeLaS3, HMC-1-8, LK-2, MDA-MB-435, PC-3, SW-13, TIG-7)の識別実験においては、全てのがん細胞を識別可能であることを確認した。

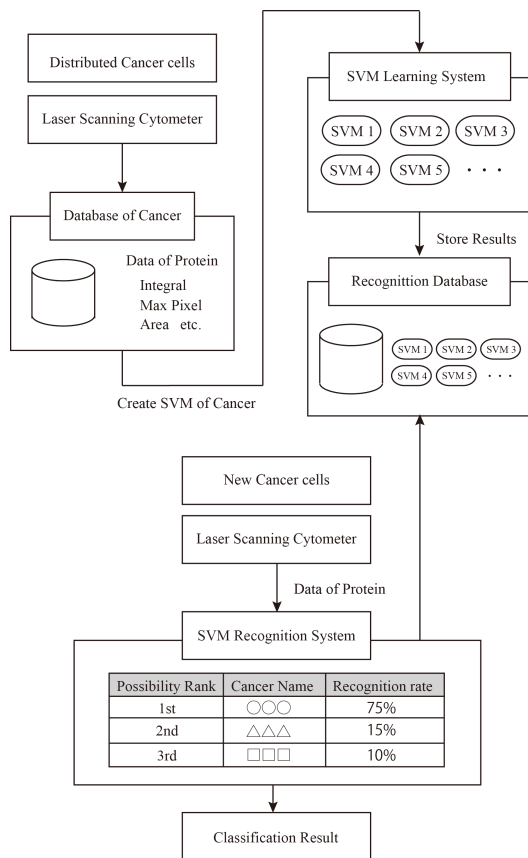


図 1 特徴化による識別システムの構成図

(2)シグナル伝達経路ペトリネットモデルの構造情報に基づく反応速度決定手法

シグナル伝達経路におけるシグナルは、タンパク質のリン酸化修飾などを伴う、上位から下位への連鎖的量変化であり、タンパク質の滞留はシグナル伝達の異常を表す。ペトリネットモデルにおいて、タンパク質量をレースのトークン数に対応させれば、この滞留はトークン数の異常で表現される。

本研究では、時間ペトリネットによるシグナル伝達経路モデルを滞留なしペトリネットとするために必要な条件を示した。この条件は、トランジションの遅延時間とサイクルの構造に依存することを示し、シグナル伝達経路の各部分構造に対する遅延時間の決定方法と、サイクルの構造条件の導出方法を示した。図 2 は IL-1 シグナル伝達経路ペトリネットモデルの一部であり、 SN_1 , SN_2 , SN_3 , SN_4 の 4 つの部分構造からなっている。提案手法の有効性は、IGF-1 シグナル伝達経路に適用することで確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

北風裕教、重本昌也、古屋智子、松野浩

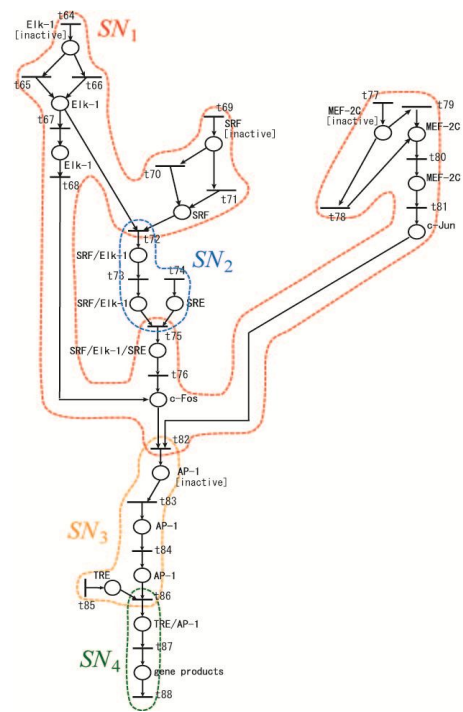


図 2 IL - 1 シグナル伝達経路ペトリネットモデル (一部)

嗣、がん細胞のタンパク質情報を考慮に入れた SVM による病理診断システムの可能性、産業応用工学論文誌、Vol.3, No.2, pp.56-64, 2015. 査読有
DOI:10.12792/jjiaae.003.02.04

水田淳史, 葛崎偉, 松野浩嗣, 依存縮約による滞留なしペトリネットの等価変換, 電子情報通信学会技術研究報告, Vol. 114, No. 493, MSS2014-98, pp.41-46, 2015. 査読無

Y. Murakami, Q.-W. Ge, H. Matsuno, Incorporation of cycles and inhibitory arcs into the timed Petri net model of signaling pathway, IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications, and Computer Sciences, Vol.E96-A, No.2, pp.514-524, 2013. 査読有

DOI:10.1587/transfun.E96.A.514

北風裕教, 井川翔平, 伊藤剛, 古屋智子, 神田全啓, 池田信彦, 松野浩嗣, セルアレイデータに基づくがん細胞分類を支援するタンパク質情報可視化手法の提案, 電子情報通信学会技術研究報告, MSS2012-23, pp.123-128, 2012. 査読無
村上祐樹, 葛崎偉, 松野浩嗣, シグナル伝達経路の性質に基づく時間ペトリネットのトークン滞留なし条件の検討, 電子情報通信学会技術研究報告, vol.111, no.453, (MSS2011-77), pp.29-34, 2012. 査読無

村上祐樹, 葛崎偉, 松野浩嗣, サイクリック構造を含むシグナル伝達経路ベトリネットモデルの滞留なし発火頻度決定手法の提案, 電子情報通信学会技術研究報告, vol.111, no.294, (MSS2011-45), pp.71-76, 2011. 査読無

[学会発表](計 19 件)

原田志織, 北風裕教, 松野浩嗣, 古屋智子, ガウシアンカーネルのパラメータの自動化取得を導入した SVM によるがん細胞の分類手法の検証, 電子情報通信学会総合大会, 2016 年 3 月 16 日, 九州大学(福岡県福岡市)

Baasanchuluun Batnasan, 古屋智子, 松野浩嗣, 北風裕教, ニューラルネットワークを用いたがん細胞の認識検証, 電子情報通信学会総合大会, 2016 年 3 月 16 日, 九州大学(福岡県福岡市)

藤崎七海, 古屋智子, 松野浩嗣, 北風裕教, インターフェロン 投与による乳癌由来細胞株における時間変化の特徴分析, 電子情報通信学会総合大会, 2016 年 3 月 16 日, 九州大学(福岡県福岡市)

重本昌也, 古屋智子, 松野浩嗣, 北風裕教, SVM を用いた病理診断システムにおけるがん細胞の種類増加に伴う認識検証, 電子情報通信学会総合大会, 2016 年 3 月 16 日, 九州大学(福岡県福岡市)

重本昌也, 北風裕教, 松野浩嗣, がん細胞のタンパク質情報を分類する SVM による認識データベースの開発, 日本高専学会年会, 2015 年 8 月 29 日, 徳山高専(山口県周南市)

重本昌也, 北風裕教, 松野浩嗣, サポートベクタ マシンを用いたがん細胞の認識検証, 電子情報通信学会総合大会, 2015 年 3 月 12 日, 立命館大学(滋賀県草津市)

重本昌也, 北風裕教, 松野浩嗣, SVM を用いたがん細胞認識システムの開発, 電気・情報関連学会中国支部連合大会, 2014 年 10 月 17 日, 山口大学工学部(山口県宇部市)

重本昌也, 北風裕教, SVM を用いたがん細胞分類システムの開発と有効性の考察, 第 6 回電気学会中国支部高専研究発表会, 2014 年 3 月 7 日, 中国電力(広島県広島市)

伊藤剛, 池田信彦, 松野浩嗣, 北風裕教, 3 次元散布部によるがん細胞の分類システムの開発, 電子情報通信学会総合大会, 2013 年 3 月 21 日, 岐阜大学(岐阜県岐阜市)

吉田卓洋, 池田信彦, 松野浩嗣, 北風裕教, がん細胞の SOM 分類におけるタンパク質反応面積の重要性の検討(2), 電子

情報通信学会総合大会, 2013 年 3 月 21 日, 岐阜大学(岐阜県岐阜市)

井川翔平, 池田信彦, 松野浩嗣, 北風裕教, がん細胞分類診断を支援する可視化数列の改善, 電子情報通信学会総合大会, 2013 年 3 月 21 日, 岐阜大学(岐阜県岐阜市)

伊藤剛, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, 描画優先順位を考慮したがん細胞分類診断システムの開発, 電気・情報関連学会中国支部連合大会, 2012 年 10 月 20 日, 島根大学(島根県松江市)

吉田卓洋, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, がん細胞の SOM 分類におけるタンパク質反応面積の重要性の検討, 電気・情報関連学会中国支部連合大会, 2012 年 10 月 20 日, 島根大学(島根県松江市)

井川翔平, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, がん細胞分類診断を支援する可視化システムの改善, 電気・情報関連学会中国支部連合大会, 2012 年 10 月 20 日, 島根大学(島根県松江市)

伊藤剛, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, 可視化数列に基づくクラスター分析によるがん細胞の分類, 電子情報通信学会 2012 年総合大会, 2012 年 3 月 20 日, 岡山大学(岡山県岡山市)

北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, タンパク質分布情報によるがん細胞の可視化手法に関する一考察, 電子情報通信学会 2012 年総合大会, 2012 年 3 月 20 日, 岡山大学(岡山県岡山市)

吉田卓洋, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, SOM によるがん細胞の分類に関する一考察, 電子情報通信学会 2012 年総合大会, 2012 年 3 月 20 日, 岡山大学(岡山県岡山市)

井川翔平, 北風裕教, 池田信彦, 松野浩嗣, 可視化数列によるがん細胞認識に関する一考察, 電子情報通信学会 2012 年総合大会, 2012 年 3 月 20 日, 岡山大学(岡山県岡山市)

村上祐樹, 葛崎偉, 松野浩嗣, シグナル伝達経路ベトリネットモデルのサイクリック構造に対する滞留なし発火頻度決定手法, 平成 23 年度電気・情報関連学会中国支部連合大会, 2011 年 10 月 22 日, 広島工業大学(広島県広島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松野 浩嗣 (MATSUNO HIROSHI)
山口大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号: 10181744

(2) 研究分担者

葛 崎偉 (GE QI-WEI)

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

山口大学・教育学部・教授
研究者番号：30263750

近藤 智子(古屋 智子)(FURUYA TOMOKO)
山口大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：30379979

Adrien Faure (Adrien Faure)
山口大学・理工学研究科・助教
研究者番号：00610627

北風 裕教(KITAKAZE HIRONORI)
大島商船高等専門学校・情報工学科・准教授
研究者番号：70342558

(3)連携研究者

池田 信彦(IKEDA NOBUHIKO)
徳山工業高等専門学校・情報電子工学科・
嘱託教授
研究者番号：60110235