

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06306

研究課題名（和文）次世代トランスクリプトーム解析技術の開発と応用

研究課題名（英文）Development of the next generation transcriptome analysis and its application

研究代表者

鈴木 穰（Suzuki, Yutaka）

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：40323646

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 97,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究計画班では、本研究領域のすべての研究班に対して次世代シーケンス解析設備および一連の鋳型調整技術、一次情報解析技術を提供した。また同時に本研究班でも独自にがん細胞の薬剤応答時の代謝アダプテーションにおける多様性を解明するための基盤技術を開発、実践を行った。特に遺伝子発現制御に焦点をあて、トランスクリプトーム、エピゲノム解析を高効率化し、オミクス薬剤撓動応答について体系的なデータ産出を試みた。取得されたデータを起点として各オミクス階層をまたぐ情報解析モデルを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究期間内に行った次世代シーケンスデータ産生支援は、特に公募班若手研究者との共同研究として成果を論文発表することができた。該当分野になじみのなかった特に若手研究者に対して、大規模オミクスデータ産生/解析への参入を促すことができたと考えている。独自の課題であるがん細胞を対象とした多層オミクス解析について行ったトランスクリプトーム-エピゲノムネットワークにおける抗がん剤作用モジュールのカタログ化、その1細胞レベルへの計測の精密化を通じ、がん細胞薬剤応答の多様性の解明に向けて出発材料を創出することができたと考えている。

研究成果の概要（英文）：In this research, our research group has provided the next-generation sequence analysis platform, also including a series of template preparation platforms, and primary data analysis platforms to all research groups in this research area. At the same time, this research group has also independently developed and practiced the basic technology for elucidating the diversity of metabolic adaptation during drug response of cancer cells. With a particular focus on gene expression regulations, we attempted to increase the efficiency of transcriptome and epigenome analysis and systematically produce data on omics drug perturbation responses. An information analysis model was constructed across each omics hierarchy starting from the acquired data to understand the elastic response of the cancer cells in drug responses.

研究分野：ゲノム科学

キーワード：トランスクリプトーム エピゲノム

### 1. 研究開始当初の背景

近年のトランスクリプトーム、エピゲノム、プロテオーム、メタボロームの各オミクス階層において、次世代シーケンサーあるいは質量分析機を主軸とする観測技術の進展は目覚ましく、多くの実験系においてそのデータの蓄積は著しい。特にがん研究においては、TCGA 計画あるいは ICGC 計画において、多くのがん種について総計で数万症例、全ゲノムあるいはエキソームシーケンシング (WGS/WES) により突然変異部位が検出、カタログ化されている。収集されたゲノム変異情報には RNA Seq によるトランスクリプトーム情報、バイサルファイトシーケンシングあるいはアレイ解析による DNA メチル化パターンとしてのエピゲノム情報が付記され、がんの発症、進展機序について多くの知見が蓄積している。ヒストン修飾としてのエピゲノム情報については、昨年、国際エピゲノムコンソシアム (IHEC) が 1000 検体の健常者エピゲノムカタログを発表している。IHEC では、今後、疾患エピゲノム情報を収集し、正常カタログとの異同を比較するという。しかし、多くのデータが蓄積する一方で、これらの各階層オミクスデータが全体としてどのように遺伝子発現制御を攪乱し、がん細胞におけるカオティックかつその反面で驚くほど可塑的な細胞表現型を実現しているのかを俯瞰的に解析する方法論については未だに定式化されていない。実際、多くのいわゆるドライバー変異が同定されているものの、それらの変異あるいは付随するその他の遺伝子変異がどのように、分子標的薬にとどまらず多くの抗がん剤、代謝阻害剤、遺伝子発現攪乱剤を含めた薬剤応答の可塑性あるいは不可逆性を実現しているのか、依然として未解明の部分が大きく残されている。また、細胞集団中に存在する遺伝子発現の多様性が、最終的な薬剤耐性あるいは転移能獲得細胞の出現の発生源地となっている可能性が指摘されているが、その分子機序については全く未知である。がん培養細胞においては、米国 BROAD 研究所あるいは英国サンガー研究所ではがん細胞パネルを用いた大規模抗がん剤探索化合物スクリーニングが行われているが、その薬剤の投与で惹起される細胞内部のオミクス変化について詳細な解析は実施されていない。本研究課題では、がん等のゲノム変異が多層オミクスにもたらす影響を、オミクス階層横断的に開発する手法の確立とその実践を目指した。特にがんにおける代謝経路あるいはシグナル伝達経路に対する異常適用、あるいは薬剤耐性の獲得に着目して、その制御可能性をシステムの観点から解析することを目指した。

### 2. 研究の目的

本研究班でも独自にがん細胞の薬剤応答時の代謝アダプテーションにおける多様性を解明するための基盤技術を開発、実践を行った。特にがん細胞における遺伝子発現制御に焦点をあて、トランスクリプトーム、エピゲノム解析を高効率化し、オミクス薬剤摂動応答について体系的なデータ産出を試みた。取得されるデータを起点として各オミクス階層をまたぐ情報解析モデルを構築することを目的とした。データ駆動的アプローチによる本中規模実データ産生/解析系の実践により、代謝アダプテーションの実体である遺伝子発現プログラムの可塑的变化についての分子機序を明らかにすることを目指したものである。また独自にオミクス階層横断的解析を実施すると同時に、本研究計画班では、本研究領域のすべての研究班に対して次世代シーケンシング解析設備および一連の鋳型調整技術、一次情報解析技術のプラットフォームを提供した。

### 3. 研究の方法

本研究班では、領域全体に次世代シーケンシング解析設備を提供すると同時に、肺腺がん培養細胞パネルをモデル系に、本領域で推進されるトランスオミクス解析において各階層オミクス階層を繋ぐ次世代トランスクリプトーム解析技術の開発を試行した。これまでに本研究班は、代表的な肺腺がん培養細胞株 26 種について、多層オミクスカタログを作成している。この細胞株パネルに対して直接の薬剤介入である代謝阻害剤あるいは種々の遺伝子発現攪乱を惹起するエピゲノム試薬を投与し、トランスクリプトーム、エピゲノム解析を行った。解析の高効率化が必須になるが、これには Fluidigm 社 C1 システムのフローセルをナノ反応容器とした転用することで、該当規模での RNA Seq、ATAC Seq ライブラリに構築できることをこれまでの予備的検討から確認している。同反応系を用いて 23 種の細胞株に対して 100 種の薬剤を添加した RNA Seq/ATAC Seq それぞれ 約 3000 のライブラリ、総計 6000 以上のデータポイントについて、薬剤応答性に細胞内に潜在的に惹起される多層オミクスの摂動データを取得した。取得されたデータを用いて、データ駆動型に一連の情報学的手法についての方法論開発を行った。定常状態あるいは摂動状態について WGCNA 法により遺伝子共発現ネットワーク解析を構築し、ネットワークの摂動としてトランスクリプトーム、エピゲノムの変化を記述することから解析を始めた。さらに微視的視野から薬剤摂動時の細胞集団内遺伝子発現応答の多様性を解析した。これは上記技術と既存シングルセル解析の融合により行った。シングルセルの単離には 10X Genomics 社 Chromium システムを駆使した。一般にシーケンシング深度の制約から薄くなるデータ密度を補完する手法を robust PCA 法、ICA 法を基盤に構築した。また、一連の技術については他研究班や公募班へと提供した。

#### 4. 研究成果

本研究期間内に行った本研究領域の全ての班員に対する次世代シーケンズデータ産生支援は大きな成果をあげたと考えている。特に公募班若手研究者との間には、密接な連携体制を構築し、その成果を論文発表することができた (Kawaoka et al Nat Commu in press 等)。統括班経費も活用して、必ずしもこれまでに該当分野になじみのなかった特に若手研究者に対して、大規模オミクスデータ産生/解析をサポートすることができたと考えている。これはさらに領域内での共同研究を広い意味で活性化することにつながった。

さらに、上記の支援活動に加えて、独自の課題であるがん細胞を対象とした多層オミクス解析についてもその計画を遂行した。これまでにバルク細胞においてトランスクリプトーム-エピゲノムに関する発現制御ネットワーク解析に依拠した抗がん剤作用モジュールのカタログ化に成功、論文として発表している (Onodera et al SciRep, 2019)。また、異なる微小管障害剤に關与したモジュールについて、がんセンター臨床研究者とも連携し、その治療奏効性について具体的な検討を行った (Nakasone et al, Lung Cancer 2021)。さらにこれを1細胞レベルへと計測を精密化、その細胞多様性の解析を行ってきた。特に昨年度の後半には、10XGenomics社から上市された同一細胞でのエピゲノム-トランスクリプトームの同時解析 (scMultiome 解析) を用いて、細胞株パネルに対して、これらの同時計測を実施した (論文準備中)。外的刺激に対応してエピゲノム変化を伴わないトランスクリプトーム変化が多く惹起され、それが長期にわたって持続することでエピゲノム変化へと固定されていく様子を観察することができた。特に肺腺癌細胞株における解析を先行させ、ゲフィチニブ、オシメルチニブといった異なる EGFR チロシンキナーゼ阻害剤間でその変化様式には差異がみられることが明らかにすることができた (Kashima et al Can Res 2021)。現在、得られた知見の臨床検体の解析への展開を行っている。また本研究室では、昨年より VISIUM システムを用いた肺腺癌の空間トランスクリプトーム解析を実施、そのデータを蓄積しているが、これらのデータと得られる scMultiome データとの統合解析を行って、空間的にどの部分で上記のような遺伝子プログラムの改変が惹起されているのかをネットワークレベルで解明することを試みる。本研究期間内で論文成果として発表することはできなかったが、数年以内での発表を目指す。

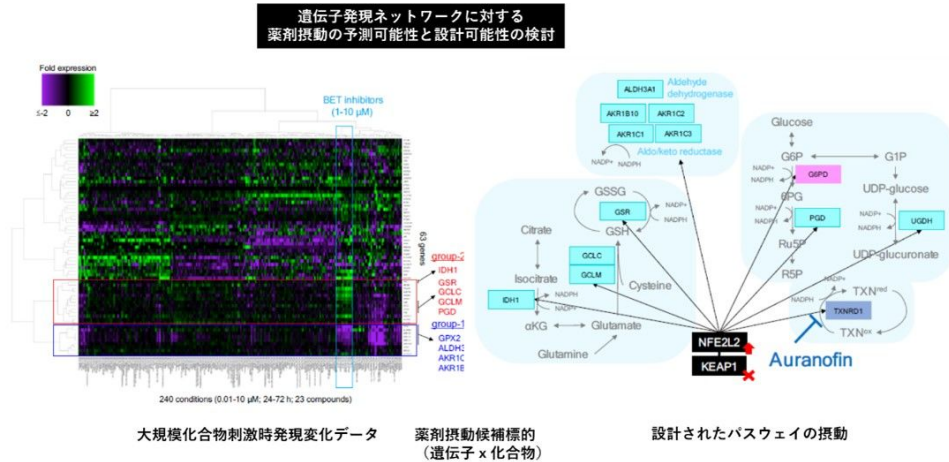


図.1 遺伝子発現ネットワークに対する薬剤摂動の予測可能性と設計可能性の検討

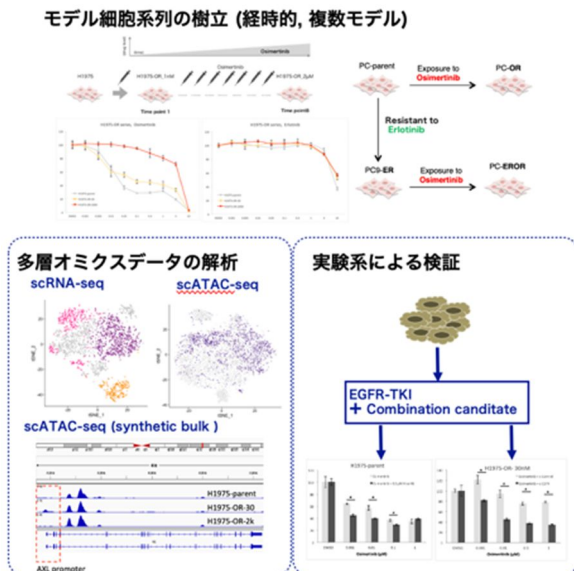


図.2 一細胞解析を用いた薬剤耐性メカニズムの解明

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Oka Miho, Xu Liu, Suzuki Toshihiro, Yoshikawa Toshiaki, Sakamoto Hiromi, Uemura Hayato, Yoshizawa Akiyasu C., Suzuki Yutaka, Nakatsura Tetsuya, Ishihama Yasushi, Suzuki Ayako, Seki Masahide	4. 巻 22
2. 論文標題 Aberrant splicing isoforms detected by full-length transcriptome sequencing as transcripts of potential neoantigens in non-small cell lung cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13059-020-02240-8	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 -

1. 著者名 Suzuki Ayako, Onodera Keiichi, Matsui Ken, Seki Masahide, Esumi Hiroyasu, Soga Tomoyoshi, Sugano Sumio, Kohno Takashi, Suzuki Yutaka, Tsuchihara Katsuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of cancer omics and drug perturbations in panels of lung cancer cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19529
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-55692-9	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 -

1. 著者名 鹿島幸恵, 鈴木絢子, 関真秀, 鈴木穰	4. 巻 Vol.36 No.15
2. 論文標題 ゲノム医療における一細胞解析	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学増刊 動き始めた がんゲノム医療 ;深化と普及のための基礎研究課題	6. 最初と最後の頁 pp.2626-2630
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 関真秀, 鈴木穰	4. 巻 266巻5号
2. 論文標題 シングルセル解析とナノポアシーケンス	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ 遺伝子解析研究の新時代	6. 最初と最後の頁 327-334
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakasone S, Suzuki A, Okazaki H, Onodera K, Zenkoh J, Ishii G, Suzuki Y, Tsuboi M, Tsuchihara K.	4. 巻 158
2. 論文標題 Predictive markers based on transcriptome modules for vinorelbine-based adjuvant chemotherapy for lung adenocarcinoma patients.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 115-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2021.06.011	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 -

[学会発表] 計14件(うち招待講演 13件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 鈴木穰
2. 発表標題 シングルセル解析技術の進展
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Introduction to Single Cell Analysis
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術総会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木穰
2. 発表標題 がんのシングルセルおよび空間トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Single Cell Analysis of Cancer Cells
3. 学会等名 EMBO Workshop on Single Cell Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Single Cell Analysis Reveals the Heterogeneity of Cancer Cells:
3. 学会等名 The 28th International KOGO Annual Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 穰
2. 発表標題 ゲノム解析技術の進展
3. 学会等名 共同利用・共同研究拠点「マルチオミックスによる遺伝子発現制御の先端的医学共同研究拠点」シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木穰
2. 発表標題 ゲノム解析新技術：ロングリード解析とシングルセル解析
3. 学会等名 日本内分泌学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 鈴木 穰
2. 発表標題 がん細胞株のシングルセル解析：複数プラットフォーム間の横断解析
3. 学会等名 日本分子腫瘍マーカー研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Multi-omics analysis of cancer cells
3. 学会等名 Human Genome Meeting 2018（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Multi-omics analysis of cancer cells
3. 学会等名 The 1st International Symposium for Trans-Omics（国際学会）
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Yutaka Suzuki
2. 発表標題 Single Cell and Spatial Transcriptome Analyses Reveals Heterogeneity of Cancers
3. 学会等名 第80回日本癌学会(international session)（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 鈴木 穰
2. 発表標題 がんのシングルセル/空間トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 第80回日本癌学会 (教育セッション・がん研究入門コース) (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 鈴木 穰
2. 発表標題 ゲノム解析技術の進展~シングルセル/ロングリード解析技術の臨床検体への応用
3. 学会等名 第18回日本免疫治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 鈴木 穰
2. 発表標題 ゲノム解析技術の展開：クリニカルシーケンスからシングルセル/空間トランスクリプトーム解析へ
3. 学会等名 第 39 回日本内分泌学会 内分泌代謝学サマーセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 渡辺 亮、鈴木 穰	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 219
3. 書名 シングルセルゲノミクス	



1. 著者名 Yutaka Suzuki (Editor)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer, Singapore	5. 総ページ数 150
3. 書名 “Single Molecule and Single Cell Sequencing”, Advances in Experimental Medicine and Biology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

記者発表：がん中存在する異常なメッセンジャーRNAの全長構造を同定 <a href="https://www.k.u-tokyo.ac.jp/information/category/press/3880.html">https://www.k.u-tokyo.ac.jp/information/category/press/3880.html</a>
--

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
研究協力者	ルントゥウェネ ルッキー (Runtuwene Lucky)		
研究協力者	サラン セリーワッタナウト (Sarun Sereewattanawoot)		

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