

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H04715

研究課題名(和文) 奇形腫病理の機械学習解析に基づくヒト iPS・ES細胞のクリティカルエピゲノム同定

研究課題名(英文) Critical epigenome identification of human iPS / ES cells based on machine learning analysis of teratoma pathology

研究代表者

梅澤 明弘 (Umezawa, Akihiro)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・再生医療センター・副所長/再生医療センター長

研究者番号：70213486

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、奇形腫の病理組織像に対して機械学習解析を行い、そのデータを基盤として、多能性幹細胞のクリティカルエピゲノムを同定した。奇形腫形成の過程や、細胞間、移植部位それぞれの相互作用を始め、奇形腫を構成する自然法則を明らかにし、多能性幹細胞による奇形腫がどのように創成されているかを構成的アプローチによって有機的なシステムとして解明を試みた。構成的システム病理学は、細胞、器官、多細胞体などを創成する仕組みや原理を解明するところに特徴がある。現在主流の要素還元的アプローチだけでは困難な、細胞や遺伝子の仕組みの解明が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代病理学・幹細胞学の研究は、物質レベルで腫瘍の構成要素を明らかにし、発生部位における組織像の差異を明らかにするという要素還元的アプローチが主流である。その結果、ゲノム情報や細胞を構成する分子とその機能に関する多くの知識が蓄積されてきた。さらに病理学をシステムとしてとらえ、構成する要素間の相互作用がもたらすダイナミクス、制御ネットワークの解明するシステムが展開された。本研究においては、構成的システム病理学的手法を用いて、多能性幹細胞を移植することで形成された奇形腫に対して、組織構成及び未分化度・悪性化を創成する仕組みや原理を解明するところに特徴があり、学術的な意義は極めて高い。

研究成果の概要(英文)：Machine learning analysis was performed on the histopathological image of the teratoma. The critical epigenome of pluripotent stem cells was identified. We analyzed the process of teratoma formation, the interaction between cells, and the site of transplantation. We also clarified the process of forming a teratoma. We attempted to elucidate the structure of teratomas caused by pluripotent stem cells. System pathology is characterized by the elucidation of the mechanisms and principles of cells, organs, and multicellular bodies. It has become possible to elucidate the mechanism of cells and genes that are difficult with conventional methods

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：奇形腫 システム病理学 多能性幹細胞 ES細胞 エピゲノム メチル化解析

1. 研究開始当初の背景

ヒト幹細胞を用いた再生医療技術を臨床、疾患研究、創薬、検査等に対して早期の実用化を図り国民への技術還元を行うと共に、安全性・有効性をより高めるための革新的なヒト幹細胞に関する研究開発を持続的に行うことが求められている。現代病理学・幹細胞学の研究は、物質レベルで腫瘍の構成要素を明らかにし、発生部位における組織像の差異を明らかにするという要素還元的アプローチが主流である。その結果、ゲノム情報や細胞を構成する分子とその機能に関する多くの知識が蓄積されてきた。さらに病理学をシステムとしてとらえ、構成する要素間の相互作用がもたらすダイナミクス、制御ネットワークの解明するシステムが展開された。また、諸要素を統合し、再構成することで理解しようとする統合的解析が提案されている。本研究においては、構成的システム病理学的手法を用いて、多能性幹細胞を移植することで形成された奇形腫に対して、組織構成及び未分化度・悪性を創成する仕組みや原理を解明するところに特徴がある。

2. 研究の目的

ヒト幹細胞を用いた再生医療技術を臨床・治療、疾患研究、創薬、検査等に対して早期の実用化を図り国民への技術還元を行うと共に、安全性・有効性をより高めるための革新的なヒト幹細胞に関する研究開発を持続的に行うことが求められている。本研究では、奇形腫の病理組織像に対して機械学習解析を行い、そのデータを基盤として、多能性幹細胞のクリティカルエピゲノムを同定することを目標とする。奇形腫形成の過程や、細胞間、移植部位それぞれの相互作用を始め、奇形腫を構成する自然法則を明らかにし、多能性幹細胞による奇形腫がどのように創成されているかを構成的アプローチによって有機的なシステムとして解明することを目的とする。構成的システム病理学は、細胞、器官、多細胞体などを創成する仕組みや原理を解明するところに特徴がある。現在主流の要素還元的アプローチだけでは困難な、細胞や遺伝子の仕組みの解明が可能となる。従来までに蓄積されてきた科学研究、特に精巣、卵巣、脳に発生した奇形腫の形態情報を背景として、ヒト多能性幹細胞(iPS細胞、ES細胞)による奇形腫への科学的な理解、特にエピゲノム情報に対する新たな礎となる。

3. 研究の方法

ヒト幹細胞、並びに分化誘導した細胞群に対し、illumina HumanMethylation450Kを使用した網羅的DNAメチル化解析、ChIP-on-chipを使用した網羅的ヒストンメチル化解析、網羅的遺伝子発現解析を行う。そのための適切なプロトコルを確立し、必要に応じて他の手法による確認を行う。得られた解析結果のシグナル値を元にエピジェネティック・プロファイル評価システムにより解析するとともに、高品質バイオフィーマティクス解析系を構築する。様々なエピゲノム解析によるプロファイリングの結果、細胞に発現するエピゲノム修飾が推定され、これに対応した分化指向性、腫瘍リスク率の発現を決定する。また、ヒトES細胞、胎児性癌(EC)細胞、体性幹細胞の多群間比較解析を行うと共にヒト体性幹細胞の比較解析、継代数の異なるヒトES細胞株の比較解析、継代数の異なるヒト体性幹細胞の比較解析、ヒト体性幹細胞の腫瘍性向に関わる因子を同定も行なっていく。さらに、ヒトおよびマウス幹細胞の未分化維持機構、分化、がん化のメカニズムについてゲノムワイドなエピジェネティックネットワークと関連づけ

て解明し、多次元多細胞システムの構築を行った。

4. 研究成果

奇形腫形成にかかる基本材料及び情報取得にかかる体制構築

国立成育医療研究センターでは様々なヒト ES 細胞やヒト体性幹細胞を樹立保有している。細胞数が十分確保しやすくかつ再現的に細胞を得やすいヒト幹細胞全般に関して実験を進めた。細胞株が細胞元来のもつ分化能を含めた特質を維持していることした未分化性を維持していることも確認した。これらの細胞を、既に確立された分化誘導法に基づき、骨・軟骨・脂肪・神経・肝に分化させ、分化（分化誘導前）および分化誘導後の細胞のエピジェネティック・プロファイルを明確に規定するための材料とした。

ヒト胚性幹(ES)細胞、ヒト多能性幹細胞のエピジェネティック・プロファイリングによる解析

前項で調製したヒト幹細胞、並びに分化誘導した細胞群に対し、illumina HumanMethylation450K を使用した網羅的 DNA メチル化解析、ChIP-on-chip を使用した網羅的ヒストンメチル化解析、網羅的遺伝子発現解析を行った。得られた解析結果のシグナル値を元にエピジェネティック・プロファイル評価システムにより解析するとともに、高品質バイオインフォマティクス解析系を構築した。様々なエピゲノム解析によるプロファイリングの結果、細胞に発現するエピゲノム修飾が推定され、これに対応した分化指向性、腫瘍リスク率の発現を決定した。また、ヒト ES 細胞、胎児性癌 (EC) 細胞、体性幹細胞の多群間比較解析を行うと共にヒト体性幹細胞の比較解析、継代数の異なるヒト ES 細胞株の比較解析、継代数の異なるヒト体性幹細胞の比較解析、ヒト体性幹細胞の腫瘍性向に関わる因子を同定も行った。さらに、ヒトおよびマウス幹細胞の未分化維持機構、分化、がん化のメカニズムについてゲノムワイドなエピジェネティックネットワークと関連づけて解明し、多次元多細胞システムの構築を行った。

がん関連遺伝子及びシグナル伝達経路におけるエピゲノム解析

Rspondin-LGRs シグナルについてヒト幹細胞や間葉系幹細胞における遺伝子動態とエピジェネティック制御について、Wnt 系関連遺伝子群を中心に行う。さらに上皮幹細胞の未分化、分化における網羅的エピジェネティック解析を行い上皮幹細胞分化の関連因子と分化機構の解明を行った。これらの結果をヒト多能性幹細胞へのフィードバックにより、ヒト上皮幹細胞、間葉系幹細胞における未分化、分化、がん化のメカニズムの解析を行った。がん関連遺伝子については図に示した遺伝子に特に注目し、解析を実施した。

大規模オンライン機械学習を用いた奇形腫評価

機械学習による奇形腫評価を行った。Jubatus の搭載する最新の機械学習アルゴリズムでは数万個の特徴を用いた分類問題を解き、奇形腫組織像における画像情報を活用した。従来までのバッチ形式を基盤とする解析手法と異なり、データの追加時の処理が軽いオンライン処理が可能なシステムを用いた。リアルタイムで生物情報の解析が可能な機械学習プラットフォームを利用した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Nishino K, Arai Y, Takasawa K, Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Sugawara T, Akutsu H, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Umezawa A. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Epigenetic-scale comparison of human iPSCs generated by retrovirus, Sendai virus or episomal vectors. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Regenerative Therapy | 6. 最初と最後の頁 71-78 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.reth.2018.08.002 | 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 Park SJ, Komiyama Y, Suemori H, Umezawa A, Nakai K. | 4. 巻 44 |
| 2. 論文標題 OpenTein: a database of digital whole-slide images of stem cell-derived teratomas. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Nucleic Acids Res. | 6. 最初と最後の頁 D1000-D1004 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/nar/gkv1096 | 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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|---|
| OpenTein http://opentein.hgc.jp/ |
|---|

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 | 豊田 雅士 (TOYODA MASASHI) (50392486) | 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長 (82674) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 | 中井 謙太 (NAKAI KENTA) (60217643) | 東京大学・医科学研究所・教授 (12601) | |
| 研究分担者 | 秦 順一 (HATA Junichiro) (90051614) | 公益財団法人実験動物中央研究所・その他部局等・所長 (72611) | |