

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07310

研究課題名（和文）スプライシング病克服を目指すRNA制御特化機械学習によるスプライシングコード解明

研究課題名（英文）Elucidation of splicing-code with RNA-specialized machine learning system toward overcoming hereditary diseases having splicing misregulations

研究代表者

飯田 慶（IIDA, Kei）

近畿大学・理工学部・講師

研究者番号：00387961

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：遺伝子疾患の研究の進展やシーケンス技術の発展によりイントロン中に生じた変異が疾患の原因となっているケースの報告は増加してきている。イントロン中に生じた変異が成熟mRNAにどのような影響を与えるかについては、いまだに体系的理解に至っていない。本研究では、近年の発展の著しい人工知能（AI）技術を応用して、スプライシング制御の詳細を明らかにすることを目指した。Illumina社が開発したSpliceAIに対してExplainable AIシステムを構築し、個々の遺伝子におけるスプライシング制御に関わる塩基配列の同定や、それに基づく疾患関連スプライシング制御の解明を可能にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スプライシングの詳細を明らかにするExplainable AIの開発により、COVID-19の重症化に関与するスプライシング制御の解明や、これに基づく、感染率低減法の提案につなげることができた。

研究成果の概要（英文）：Due to progress in research on genetic diseases and development of sequencing technology, there are increasing reports of cases in which mutations occurring in introns cause diseases. We still do not have a systematic understanding of how mutations in introns affect mature mRNAs. In this study, we aimed to clarify the details of splicing control by applying artificial intelligence (AI) technology, which has been developing remarkably in recent years. We have constructed an Explainable AI system for SpliceAI developed by Illumina, Inc., enabling the identification of nucleotide sequences involved in splicing control in individual genes and the elucidation of disease-related splicing control based on these.

研究分野：情報生物学

キーワード：RNAスプライシング 人工知能 ケミカルバイオロジー

### 1. 研究開始当初の背景

遺伝子疾患の研究の進展やシーケンス技術の発展によりイントロン中に生じた変異が疾患の原因となっているケースの報告は増加してきている。ヒトゲノムにおいてイントロンはエキソンの5倍~1,000倍の長さを持っているため、イントロン中の変異に起因する疾患は潜在的にはさらに多いと見込まれる。一方で、イントロン中に生じた変異が成熟 mRNA にどのような影響を与えるかについては、いまだに体系的理解に至っていない。このため、ゲノム変化に起因するスプライシング変化を高精度に記述するコンピュータ解析手法が求められていた。

### 2. 研究の目的

近年の発展の著しい人工知能 (AI) 技術を応用して、RNA 中のどの部位が、どの程度 RNA スプライシングに寄与しているかを記述する手法を作成し、個々の遺伝子・エキソンのスプライシング制御を明らかにすることを目的とした。また同時に、塩基の突然変異や SNPs によって RNA スプライシングがどのような影響を受けるかを明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

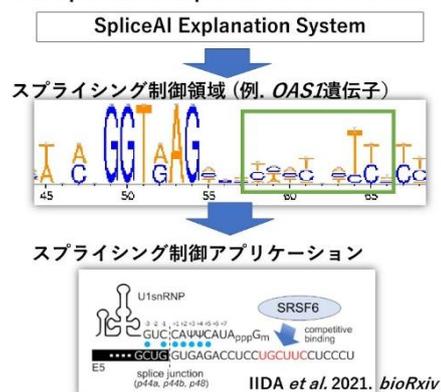
- ① RNA スプライシングを予測する AI として、本研究を開始した時期にイルミナ社が公開した、塩基配列入力型 AI である SpliceAI (Jaganathan *et al.* 2019. *Cell*) と、申請者が試作していた特徴量入力型 AI を比較し、研究に用いる AI システムの選別を行う。
- ② 選別された AI システムに応じ、RNA 中においてスプライシング制御に寄与する塩基配列の位置・種類を説明する Explainable AI の開発を行う。
- ③ Explainable AI を活用し、ヒトの疾患を扱ったゲノムワイド相関解析 (GWAS) 研究と統合解析を行い、疾患の背景メカニズムにあるスプライシング変化を記述する系を確立する。

### 4. 研究成果

- ① 申請者が試作していた特徴量入力型 AI と Illumina 社の SpliceAI を比べた結果、SpliceAI がより高いスプライシング予測を示すことが判明し、これを基幹としたシステム開発を行うこととなった。

- ② SpliceAI が、塩基配列そのものを入力情報として、スプライシング予測を行うというシステムであることを利用して、in-silico mutagenesis を行うことで、スプライシング制御に寄与する塩基配列の位置・種類を説明するシステムを作成した。これにより元来の SpliceAI が対応していない、Explainable AI として SpliceAI を活用することが可能となった (図 1・上段)。

図1. SpliceAIのExplainable化とその応用



- ③ 2020 年、COVID-19 の重症患者に対する GWAS 結果が公開された。COVID-19 Host Genetics Initiative 2021 *Nature*)。リスクアレルの 1 つは自然免疫にかかわる OAS1 遺伝子の最終エキソン-1 塩基のポジションに存在し、本遺伝子のスプライシングドナー破壊が COVID-19 の重症化に関与していることが示唆された (図 2)。本研究で開発した Explainable AI ではドナーサイト直下にスプライシング制御に関与する領域が示された (図 1・中段)。申請者と共同研究者の研究により、COVID-19 リスクアレルを持つ個人において弱活性型の OAS1 p42 がメジャーフォームとなる一因は、この位置における SRSF6 の結合であることが確認された (図 1・下段) (IIDA *et al.* 2021. *bioRxiv*, 査読誌でリバイス中)。さらにヒト細胞・SARS-CoV-2 を使った実験では、スプライシング操作化合物を使い、この部位への SRSF6 結合を阻害することで、細胞レベルでの SARS-CoV-2 感染耐性が向上することを確認できた。これによりスプライシング制御の詳細解析が、疾患リスクの個

人差の理解につながり、さらには、対処法の開発にもつながりうるというコンセプトを示すことができた。

図2. OAS遺伝子座におけるCOVID-19リスクアレル

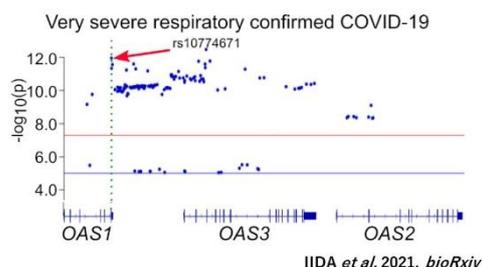
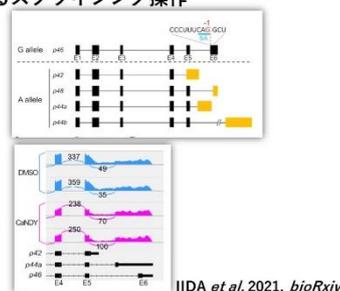
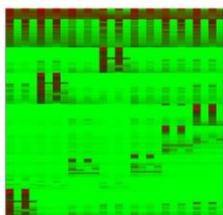


図3. OAS1 splicing isoformと低分子化合物CaNDYによるスプライシング操作



さらに、他の共同研究において、MC38 大腸がん細胞株に対して低分子化合物によるスプライシング操作を行うことでネオ抗原の提示を増やし、免疫チェックポイント阻害療法の効率を向上させられることを示した (Matsushima *et al.* 2022 *Science Translational Medicine*)。この研究において、がん細胞に対してスプライシング操作化合物を処理した際に、多くのスプライシング変化が観察された (図 4)。本研究で開発した Explainable AI を応用することで、ネオ抗原提示に関わるスプライシング変化のメカニズム理解を目指した研究を展開することが可能となった。

図4. 低分子化合物によって生じる、がん細胞におけるスプライシング変化のヒートマップ



Matsushima *et al.* 2022.  
*Science Translational  
Medicine*の準備解析の結果から

<引用文献>

Jaganathan K, Kyriazopoulou Panagiotopoulou S, McRae JF, Darbandi SF, Knowles D, Li YI, Kosmicki JA, Arbelaez J, Cui W, Schwartz GB, Chow ED, Kanterakis E, Gao H, Kia A, Batzoglou S, Sanders SJ, Farh KK. Predicting Splicing from Primary Sequence with Deep Learning. *Cell*. 2019 Jan 24;176(3):535-548.e24. doi: 10.1016/j.cell.2018.12.015.

COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*. 2021 Dec;600(7889):472-477. doi: 10.1038/s41586-021-03767-x.

Kei Iida, Masahiko Ajiro, Yukiko Muramoto, Toru Takenaga, Masatsugu Denawa, Ryo Kurosawa, Takeshi Noda, Masatoshi Hagiwara. Switching of OAS1 splicing isoforms mitigates SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv* 2021.08.23.457314; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.08.23.457314>

Matsushima S, Ajiro M, Iida K, Chamoto K, Honjo T, Hagiwara M. Chemical induction of splice-neoantigens attenuates tumor growth in a preclinical model of colorectal cancer. *Sci Transl Med*. 2022 Nov 30;14(673):eabn6056. doi: 10.1126/scitranslmed.abn6056.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iida Kei, Ajiro Masahiko, Muramoto Yukiko, Takenaga Toru, Denawa Masatsugu, Kurosawa Ryo, Noda Takeshi, Hagiwara Masatoshi	4. 巻 N/A
2. 論文標題 Switching of OAS1 splicing isoforms mitigates SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.08.23.457314	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kei Iida, Masahiko Ajiro, Yukiko Muramoto, Toru Takenaga, Masatsugu Denawa, Ryo Kurosawa, Takeshi Noda, Masatoshi Hagiwara
2. 発表標題 Precision Medicine to Provide Resistance to SARS-CoV-2 Infection by Switching OAS1 Splicing Isoforms
3. 学会等名 Cold Spring Harbor meeting (Eukaryotic mRNA Processing) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田慶、網代将彦、村木裕紀子、武長徹、出縄政嗣、黒澤凌、野田岳志、萩原正敏
2. 発表標題 Precision Medicine to Provide Resistance to SARS-CoV-2 Infection by Switching OAS1 Splicing Isoforms
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田慶、武内章英、萩原正敏
2. 発表標題 多層バイオインフォマティクス分析による、機能指向的な SFPQ の標的特異性と認識機構の解明
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

プレスリリース: RNAスプライシング制御による新規がん免疫療法 ネオ抗原を産生増強する治療候補の同定  
<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2022-12-12-0>

プレスリリース: RNA結合タンパク質の標的分子探索手法を開発 - 複雑なRNA制御のメカニズム解明に期待 -  
<https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2020-07-07>

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