

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19314

研究課題名（和文）空間オミクスによるシグナル伝達経路の擬似追跡法の確立

研究課題名（英文）Establishing pseudo-tracking of signaling pathways by spatial omics

研究代表者

富松 航佑（Tomimatsu, Kosuke）

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：00614926

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では細胞の活性化シグナル伝達を検出し、細胞状態の変化を擬似時間で並べてシグナル伝達の活性化度合いを計測することで細胞状態変化におけるシグナル伝達を擬似追跡する系を構築した。まず連続免疫染色法を開発し、細胞状態変化における活性化シグナル伝達を網羅的に検出する系を確立した。次にヒト細胞株のがん遺伝子誘導性細胞老化の系を用いて、状態変化した細胞に対してシグナル伝達分子を含む206種類の免疫染色を行った。染色した細胞を1細胞解像度でプロファイルし、擬似時間を構築することで細胞老化におけるシグナル伝達の活性化順序の検出を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した空間オミクス手法は、細胞状態と空間配置を精緻に捉え、擬似時間解析により特定の細胞状態の将来推定を可能にした。将来的には本技術を疾患組織の解析に応用することで、がんの悪性化や各種疾患につながる特異的な細胞環境やシグナル伝達メカニズムを解明し、新たな疾患の治療戦略確立につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we established to detect an pseudo-tracking of signal transductions during cell state changes by measuring multiple protein informations including signaling molecules. First, we developed a sequential immunostaining (SeqIS) method for comprehensive detection of activated signals during cell state changes. Next, we performed SeqIS with 206 antibodies recognize multiple factors including signal transduction molecules for oncogene-induced cellular senescence in a human cell line. The order of signal transduction during cellular senescence was enable to profile by constructing pseudotime by analyzing the SeqIS dataset.

研究分野：Spatial Omics

キーワード：空間オミクス 細胞老化 シグナル伝達

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体を構成する細胞は、細胞外環境による外的な刺激と内因の遺伝子発現により状態が制御される。生体の恒常性の維持あるいは破綻であるがん化や老化の理解には、これら細胞内外の変化の解析が欠かせない。すなわち外因性のシグナル伝達から内因性のクロマチン構造の制御に至る空間的、時間的変化の統合的理解が必要となる。現在、単一細胞トランスクリプトーム法を主流とした手法により細胞集団の変化や特異的な細胞の出現を捉える試みが行われている。その一方で外的な干渉を示すシグナル伝達がトランスクリプトームを上流で制御するメカニズムの解明は技術の限界でこれまで困難であった。

2. 研究の目的

本研究では個々の細胞のトランスクリプトームをシグナル伝達経路とともに同時解析可能なマルチオミクス技術を開発し、細胞集団を単一細胞トランスクリプトーム情報から擬似時間追跡法によりソートすることで細胞状態変化におけるシグナル伝達のダイナミクスを可視化する。

3. 研究の方法

活性化シグナル伝達情報を網羅的に取得する手法として、抗体による標的タンパク質の染色と消光を繰り返す連続免疫染色法を開発する。ヒト正常線維芽細胞 IMR90 のがん遺伝子誘導性細胞老化モデルを用いて連続免疫染色を行った後に、一細胞毎にタンパク質の発現をプロファイルし、細胞状態の似た順序で並び替えを行うことで擬似時間を構築する。その上に活性化シグナル伝達状態をプロットすることで、細胞状態の変化とそれに関わるシグナル伝達の活性化を解析する。

4. 研究成果

免疫染色と消光を繰り返す系を構築するため、抗体にジスルフィドリンカーを介して蛍光色素を付加した抗体 Precise Emission Cancelling Antibody (PECAb)を開発した。PECAbを用いた染色後に還元剤でSS結合を切断することで免疫染色によるシグナルが消光されることを確認した。活性化シグナル伝達分子を含む206種類のPECAbを用いて細胞老化を誘導したIMR90細胞を染色し、細胞毎に染色シグナルの定量を行なった。その結果、細胞老化誘導前後で異なる細胞状態のプロファイルが得られた。さらに細胞を正常から老化状態に並び替えることで擬似時間を構築し、擬似時間上でシグナル伝達活性化状態を観察した結果、がん誘導性細胞老化で見られるATMやAKTの活性化のダイナミクスがこれまで報告されていたものと一致した。さらに擬似時間上における細胞老化マーカーのダイナミクスを解析した結果、老化に伴うp21、p53BPの上昇、Lamin B1の減少が見られた。以上の結果から連続免疫染色により取得されたデータを用いる擬似時間解析は細胞状態変化に関わる活性化シグナル伝達のダイナミクスを解析する手段として機能することが示された。

< 論文・著書 >

論文

Tomimatsu K, Fujii T, Bise R, Hosoda K, Taniguchi Y, Ochiai H, Ohishi H, Ando K, Minami R, Tanaka K, Tachibana T, Mori S, Harada A, Maehara K, Nagasaki M, Uchida S, Kimura H, Narita M, *Ohkawa Y. Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging to capture specific cell state. *Nat Commun.* 15:3657, 2024.

月刊 Precision Medicine 病理/組織画像評価法の潮流

タイトル: 組織を構成する細胞状態の解明に向けたエピゲノム解析技術の開発(分担執筆)

著者: 富松航佑・大川恭行

< 講演・発表 >

国内学会

第46回日本分子生物学会年会 バイオテクノロジーセミナー 2023年12月・神戸

演題: 細胞状態変化を計測するマルチオミクス技術開発(口頭発表、招待あり)

演者: 富松航佑

第 46 回日本分子生物学会年会 シンポジウム 2023 年 12 月・神戸

演題：細胞状態のダイナミクスを解析する空間マルチオミクス技術の開発（口頭発表、招待あり）

演者：富松航佑

第 82 回日本癌学会学術総会 シンポジウム 2023 年 9 月・横浜

演題：Spatial multi-omics reveals dynamics of cell state（口頭発表、招待あり）

演者：富松航佑

第 16 回日本エピジェネティクス研究会年会 バイオテクノロジーセミナー 2023 年 6 月・東京

演題：細胞状態変化を計測するためのマルチオミクス技術開発（口頭発表、招待あり）

演者：富松航佑、原田哲仁

国際学会

8th International Cell Senescence Association meeting, Minneapolis, USA. Oct 2023

演題：Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging capturing specific cell state.（ポスター発表）

演者：Kosuke Tomimatsu, Takeru Fujii, Yasuyuki Ohkawa

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tomimatsu Kosuke, Fujii Takeru, Bise Ryoma, Hosoda Kazufumi, Taniguchi Yosuke, Ochiai Hiroshi, Ohishi Hiroaki, Ando Kanta, Minami Ryoma, Tanaka Kaori, Tachibana Taro, Mori Seiichi, Harada Akihito, Maehara Kazumitsu, Nagasaki Masao, Uchida Seiichi, Kimura Hiroshi, Narita Masashi, Ohkawa Yasuyuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging to capture specific cell states	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3657
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-024-47989-9	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 該当する

1. 著者名 Tomimatsu Kosuke, Fujii Takeru, Bise Ryoma, Hosoda Kazufumi, Taniguchi Yosuke, Ochiai Hiroshi, Ohishi Hiroaki, Ando Kanta, Minami Ryoma, Tanaka Kaori, Tachibana Taro, Mori Seiichi, Harada Akihito, Maehara Kazumitsu, Nagasaki Masao, Uchida Seiichi, Kimura Hiroshi, Narita Masashi, Ohkawa Yasuyuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging capturing specific cell state	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2023.10.17.561810	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 6件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 富松 航佑、藤井 健、備瀬 竜馬、細田 一史、大石 裕晃、落合 博、内田 誠一、大川 恭行
2. 発表標題 細胞状態のダイナミクスを解析する空間マルチオミクス技術の開発
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kosuke Tomimatsu, Takeru Fujii, Yasuyuki Ohkawa
2. 発表標題 Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging capturing specific cell state
3. 学会等名 8th International Cell Senescence Association meeting（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富松航佑
2. 発表標題 Spatial multi-omics reveals dynamics of cell state
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 原田哲仁、富松航佑
2. 発表標題 細胞状態変化を計測するためのマルチオミクス技術開発
3. 学会等名 第16回日本エピジェネティクス研究会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 原田哲仁、富松航佑
2. 発表標題 細胞状態変化を計測するマルチオミクス技術開発
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会 バイオテクノロジーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富松航佑
2. 発表標題 空間マルチオミクスによる細胞状態と空間分布特徴の解析
3. 学会等名 第45回分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富松航佑
2. 発表標題 空間マルチオミクスによる細胞状態の特徴量解析
3. 学会等名 第3回ゲノム生物物理学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富松航佑
2. 発表標題 単一細胞レベルでタンパク質の空間プロファイルをする連続免疫染色法の開発
3. 学会等名 第15回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 富松 航佑, 原田 哲仁	4. 発行年 2023年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 6
3. 書名 Precision Medicine	

1. 著者名 原田 哲仁 , 富松 航佑 , 武 千メイ , 大川 恭行	4. 発行年 2023年
2. 出版社 公益財団法人金原一郎記念医学医療振興財団・医学書院	5. 総ページ数 5
3. 書名 生体の科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野HP
<https://tx.bioreg.kyushu-u.ac.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
--	---------------------------	-----------------------	----

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