

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24510285

研究課題名(和文) 構造方程式モデリングによる多能性幹細胞での細胞分化制御因子の推定

研究課題名(英文) Inference of cell differentiation factors in pluripotent cells by Structural Equation Modelling

研究代表者

油谷 幸代 (Aburatani, Sachiyo)

独立行政法人産業技術総合研究所・ゲノム情報研究センター・研究チーム長

研究者番号：10361627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、各モデル生物において、細胞分化・器官形成など時間経過とともに形態変化を起し異なったステージへの移行を決定する細胞内因子を推定し、細胞分化プロセスをネットワークモデルとして解析を行った。

具体的には、構造方程式モデリングを軸とし、因子分析やクラスタリングなどその他の統計解析と組み合わせた新規ネットワーク推定手法を開発した。さらに開発した手法を、出芽酵母・線虫・ショウジョウバエ・ES細胞やiPS細胞などの様々なモデル生物で測定された遺伝子発現プロファイルに適用した。その結果、細胞分化プロセスで必要とされる遺伝子発現の細胞内制御因子候補を推定し、その制御機構をネットワークモデルとした。

研究成果の概要(英文)： In embryonic stem cells, various transcription factors (TFs) maintain pluripotency.

To gain insights into the regulatory system controlling pluripotency, I inferred the regulatory relationships between the TFs expressed in ES cells. In this study, I applied a method based on structural equation modeling (SEM), combined with factor analysis, to 649 expression profiles of 19 TF genes measured in mouse Embryonic Stem Cells (ESCs). The factor analysis identified 19 TF genes that were regulated by several unmeasured factors. Since the known cell reprogramming TF genes (Pou5f1, Sox2 and Nanog) are regulated by different factors, each estimated factor is considered to be an input for signal transduction to control pluripotency in mouse ESCs. In the inferred network model, TF proteins were also arranged as unmeasured factors that control other TFs. The interpretation of the inferred network model revealed the regulatory mechanism for controlling pluripotency in ES cells.

研究分野：システム生物学

キーワード：構造方程式モデリング 遺伝子ネットワーク 多様性 ES細胞 細胞分化

1. 研究開始当初の背景

1995年のcDNAマイクロアレイ法を皮切りに、最近では次世代シーケンサーを用いて、細胞内転写産物を測定した実験研究が数多く行われている。実験的に得られたデータの蓄積に伴い、遺伝子発現データから遺伝子間ネットワークを推定する数理モデルも数多く発表されており (Akutsu, et al. 2000, Friedman, et al., 2000)、ある状態での遺伝子発現相互作用を推定するのに有用であることが明らかになっている。しかし、病気の進行や細胞数が増加していく細胞分化の過程では細胞が時間的・空間的に変化することから、遺伝子間の相互関係だけでは現象のメカニズム解明は困難であると考えられる。モデル生物では、発生の初期において、細胞質因子や中心体など遺伝子やタンパク質以外の物質による遺伝子発現制御が確認されている (Seydoux, et al. 1996, Goldstein, et al., 1996)。さらに、近年では ncRNA の一部によって遺伝子の発現制御が行われていることも示唆されている。このように、細胞内における様々な要因が遺伝子発現制御を行っている可能性が高いにも関わらず、これら別因子は遺伝子発現プロファイルデータ上にはデータとして存在しない。よって、細胞分化制御のメカニズム解明には、従来の遺伝子間の関連構造推定だけでなく、遺伝子と他の細胞内因子の関連性を網羅した細胞内因子間ネットワーク推定が必要であると考えられる。

2. 研究の目的

発現プロファイルは網羅的な遺伝子の発現状態を観測しており大量の数値データが得られるため、統計的な処理は必要不可欠である。さらに、統計的に推定した膨大なネットワーク構造の中から、解析対象とする現象を反映する部分構造の抽出をおこなう必要がある。本研究では変量解析の1つである構造方程式モデリングに因子分析やクラスタリングを組み合わせた新規ネットワーク推定手法の開発と実データへの適用を行った。構造方程式モデリングは数理的には確立された手法であり、観測変数間の因果関係をグラフ表示するパス解析を元にする。さらに、開発した手法をモデル生物や ES/iPS 細胞の発現プロファイルに適用し、細胞分化の制御候補因子の推定・および細胞分化プロセスにおける重要なパスウェイの解明目標とした。

3. 研究の方法

本研究では、遺伝子同士の制御関係を推定するだけにとどまらず、遺伝子発現に影響を及ぼしている可能性のある遺伝子以外の細胞内因子の推定も行うため、因子分析という統計手法を構造方程式モデリングに組み合わせたモデリングを適用する手法の開発を行った。

構造方程式モデリングは、通常検証的因果

推論として使用されるため、本研究のように探索的なモデリングを行うために因子分析を組み合わせた手法、プロセジャーの開発が必要であった。

第一に、因子分析を実行する上で、最適なパラメータを探索した。因子分析では、因子抽出法や因子軸の回転法などいくつかのパラメータを設定する必要がある。各パラメータの組合せによって抽出される因子数も異なってくることから、解析対象のデータにとって最適なパラメータの組合せの探索を行った。

次に、決定したパラメータの組合せで因子分析を実行し、ターゲットとする遺伝子群 (観測変数) を制御する因子を非観測変数として抽出した。抽出した因子と既知の知見を元に、ターゲット遺伝子群と抽出された因子の両方を含んだ単純な構造の初期モデルを作成した。

初期モデルにおいて、観測変数/非観測変数間に作成された因果関係について、パス解析を行いモデルと発現データの適合度検定を行った。ここで統計的に有意と判断された遺伝子間の制御関係はモデル上でエッジとして残し、その他の統計的に棄却された遺伝子間の制御関係については、仮説が誤っていたものとしてモデルからエッジを除去した。

非観測変数それぞれについてネットワークモデル内へ潜在変数として組み込むかどうかの検証を行った。モデル内に組み込むことが決定した非観測変数を、遺伝子発現制御因子とし、遺伝子群の上流に配置したネットワークモデルを構築した。

構築したネットワークモデルに対し構造方程式モデリングを実行し、モデル上の全てのエッジについての検定を行うアルゴリズムを開発し、モデル上全てのエッジが統計的に有意になるまでと判断されるまでネットワークモデルの再構築を行う。

以上のように、逐次的に因子分析と構造方程式モデリングを行い、段階的に潜在変数を加えていく手法を開発することで、構造方程式モデリングの持つ変数制限という問題は解決され、最終的に発現データを反映するネットワークモデルを構築できるようになった。

4. 研究成果

本研究では、第一に構造方程式モデリングと因子分析やクラスタリングを組み合わせた新規ネットワーク推定手法の開発を行った。次に、開発した手法を発現プロファイルへ適用し、細胞分化や器官形成のように時系列で形態変化する細胞内で起こっている遺伝子発現制御の候補因子の推定と制御ネットワークの推定を行った

平成24年度は、研究項目の について主に行った。具体的な実績は以下の通りである。

1) 既知の知見からの制御関係の抽出を行った。具体的には、ヒト・マウス双方の ES 細

胞、および iPS 細胞について、実験的に確認された遺伝子間・タンパク質間の関連性の知見を収集し、仮説モデルの原型となるモデル構造を構築した。

2) ES/iPS 細胞における発現プロファイルの収集・データ整備を行った。GEO (Gene Expression Omnibus) から、ES/iPS 細胞の発現プロファイルデータを網羅的に収集をおこなった。収集したデータを実験条件や細胞分化の段階によって分類し、解析対象とする現象に適応した実験条件下で測定された発現プロファイル群を選択した。

3) 構造方程式モデリングと因子分析を組み合わせたモデリングを適用する手法を開発した。ヒト ES 細胞にて測定された発現プロファイル群につて、まずは潜在変数を含まないネットワークモデルの構築手法を確立した。本手法では、データにもっとも適合したモデル構造にする model optimization の方法を確立した。

平成 25 年度は次段階として、開発した手法を発生過程において測定された発現プロファイルへ適用し、細胞分化や器官形成のように時系列で形態変化する細胞内で起こっている遺伝子発現制御の候補因子の推定と制御ネットワークの推定を行った。平成 25 年度に研究した項目は、研究計画書に挙げた研究項目のうち、3) 構造方程式モデリングと因子分析を組み合わせたモデリングを適用する手法の開発、4) 開発した手法の、発現プロファイルへの適用、5) 推定ネットワークの構築の 3 項目を行った。3) の「構造方程式モデリングと因子分析を組み合わせたモデリングを適用する手法」としては、開発したネットワークモデリング手法を実際のデータに適用するために必要な様々なプロセッサの開発を行った。特に、偏相関と交差相関を組み合わせた初期モデル構築手法を開発した。さらに、4) の「開発した手法の、発現プロファイルへの適用」として、開発した初期モデル構築手法や構造方程式モデリングによるネットワーク手法を化学物質暴露の ES 細胞や、出芽酵母・線虫の発現データへ適用した。これらの複数のモデル細胞・モデル生物において、5) の「推定ネットワークの構築」を行い、論文発表を行った。特に線虫では、C 細胞系譜の発生過程におけるネットワーク推定を行い、母細胞からの mRNA の分配が転写因子の発現制御に深く関与していることを明らかにした。

最終年度である、平成 26 年度は各種モデル生物・細胞に開発した手法を適用し、細胞分化に関するネットワーク推定を多数行った。ショウジョウバエの前後軸形成時における遺伝子ネットワーク推定では、羽や目が形成される過程を遺伝子レベルで推定した。さらに、マウス ES 細胞の多能性に関する発現データからは、LIF や Wnt などのシグナルパスウェイによって、多能性と安定化のバランスがとられていることを推定した。このよ

うに様々な細胞分化で必要とされる遺伝子発現の細胞内制御因子候補を推定した。また、推定した制御因子と遺伝子間の相互関係をネットワークモデル化することで、細胞分化における重要なパスウェイを同定した。

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 8 件)

1. Sachiyo Aburatani* "Inference of Transcriptional Network for Pluripotency in Mouse Embryonic Stem Cells", *J. Phys.: Conf. Ser.* 574, pp.1-4, 2015
2. Shohei Maruyama, Yasuo Matsuyama, Sachiyo Aburatani*, "Application of KL Divergence for Estimation of Each Metabolic Pathway Genes", *Int. J. Med. Hea. Biom. Pharm. Eng.*, vol:9, No:3, pp.233-237, 2015
3. Shohei Maruyama, Yasuo Matsuyama, Sachiyo Aburatani*, "Inferring Genes Involved in Metabolic Pathways by Using Support Vector Machines", *Proceeding of ABBE2014*, pp.30-36, 2014
4. Sachiyo Aburatani*, Hiroyuki Toh, "Network Inference of AP pattern formation system in *D.melanogaster* by Structural Equation Modeling", *Journal of Physics: Conference Series*, 490, pp.1-4, 2014
5. Sachiyo Aburatani*, Wataru Fujibuchi, Junko Yamane, Reiko Nagano, Hideko Sone, Satochi Imanishi, Seiichiroh Ohsako. "Inference of Gene Regulatory Networks to Detect Toxicity-Specific Effects in Human Embryonic Stem Cells", *Int. J. on Adv. in Life Sciences*, vol 5 no 1 & 2, 103-114, 2013,
6. Sachiyo Aburatani*, "Network Inference of pal-1 Lineage-Specific Regulation in the *C. elegans* Embryo by Structural Equation Modeling", *Bioinformation*, vol.8:14, pp.652-657, 2012,
7. Sachiyo Aburatani* & Wataru Fujibuchi, "Application of Structural Equation Modeling for Inferring Toxicity-Dependent Regulation in Human Embryonic Stem Cells", *Proceeding of GLOBAL HEALTH*, pp.27-32, 2012
8. Sachiyo Aburatani* & Wataru Fujibuchi "Inference of Specific Gene Regulation by Environmental Chemicals in Human Embryonic Stem Cells", *J. Mol. Biol. Res.*, Vol. 2, No.1, pp.54-64, 2012,

[学会発表](計 19 件)

1. Shohei Maruyama, Yasuo Matsuyama, Sachiyo Aburatani*, "Application of KL Divergence for Estimation of Each Metabolic Pathway Genes", Proceeding of International Conference on Mathematical and Computational Biology ICMCB2015, Mar.23th-24th, Praque, Czech Republic, (CA)
2. Sachiyo Aburatani, "Inference of Transcriptional Network for Pluripotency in mouse Embryonic Stem Cells", Dec.18th, Tokyo, CBRC2014· BiWO2014, Japan
3. 下岡純也, 油谷幸代, 山名早人, " 包括的遺伝子ネットワーク構造からの活性化部位推定手法の開発 ", 第 37 回日本分子生物学会年会, 11 月 25 日・27 日, パシフィコ横浜, 横浜
4. 油谷幸代, " 幹細胞を用いた遺伝子ネットワーク解析 ", JSBi 生命システム理論研究会・細胞状態の理論的解明に向けて, 11 月 18 日, 京都大学 iPS 細胞研究所, 京都, 2014
5. Shohei Maruyama, Yasuo Matsuyama, Sachiyo Aburatani*, "Inferring Genes Involved in Metabolic Pathways by Using Support Vector Machines", Advances in Bio-Informatics, Bio-Technology and Environmental Engineering (ABBE2014), Nov.16th-17th, Bir
6. Sachiyo Aburatani, "Network Inference of Transcriptional Regulation in Mouse Embryo Stem Cells", The International Conference Systems Biology (ICSB2014), Sep.14th-18th, Melbourne, Australia mingham, United Kingdom, (CA)
7. Sachiyo Aburatani* and Hiroyuki Toh, "Network Inference of Serial Gene Regulation during D.melanogaster AP pattern formation", FEBS-EMBO2015, Aug.30th-Sep.4th, the Palais des Congrès, Paris, France
8. Sachiyo Aburatani*, "Inference of Transcriptional Network for Pluripotency in mouse Embryonic Stem Cells", International Conference on Mathematical Modeling in Physical Sciences (IC-MSQUARE 2014) , Aug. 28th.-31th, 2014, Madrid, Spain
9. 油谷幸代 " 構造方程式による遺伝子ネットワーク推定 ", 12 月 3 日 - 6 日, 神戸ポートアイランド, 第 36 回日本分子生物学会年会(2013)
10. 丸山翔平, 松山泰男, 油谷幸代, " 出芽酵母における転写制御関係の自動抽出システムの構築 ", 2013 年 12 月 3 日 - 6 日, 神戸ポートアイランド, 第 36 回日本分子生物学会年会(2013)
11. Shohei MARUYAMA, Sachiyo ABURATANI, Yasuo MATSUYAMA, "Automatic Estimation of Transcriptional Regulation of Budding Yeast by a Machine Learning Method", Sep.11th-13th, BiWO2013, Tokyo, Japan
12. Sachiyo Aburatani and Hiroyuki Toh, "Network Inference of AP pattern formation system in D.melanogaster by Structural Equation Modeling", The 2nd International Conference on Mathematical Modeling in Physical Sciences (IC-MSQUARE 2013) , 1.Sep.-5.Sep., 2013, Prague, Czech Republic
13. Sachiyo Aburatani, "Estimation of C Lineage-Specific Gene Regulation in C.elegans Embryogenesis by Structural Equation Modeling", The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), 30.Aug.-3.Sep., Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark
14. Shohei Maruyama, Sachiyo Aburatani, Yasuo Matsuyama, "Automatic Estimation of Transcriptional Regulation of Budding Yeast by a Machine Learning Method", The 14th International Conference on Systems Biology (ICSB2013), 30.Aug.-3.Sep., Tivoli Congress Center, Copenhagen, Denmark
15. Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi, "Statistical analysis of Enzyme Activity pathway for catabolizing malodor components in compost", 第 11 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会、産業技術総合研究所、筑波、2 月 5 日-6 日, 2013 (CA)
16. Junko Yamane, Sachiyo Aburatani, Satoshi Imanishi, Reiko Nagano, Hiedeko Sone, Seiichiroh Ohsako and Wataru Fujibuchi, " Prediction of Developmental Neurotoxic Effects using Human Pluripotent Stem ", 第 7 回武田科学振興財団薬科学シンポジウム, 1 月 16 日-18 日, 大阪
17. Shohei Maruyama, Yasuo Matsuyama, Sachiyo Aburatani, "Construction of an Automatic Extraction System of Transcriptional Regulation in Yeast", 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012, 12 月 11 日-14 日, 福岡国際会議場 (CA
18. Sachiyo Aburatani (CBRC), "Network Inference of AP pattern formation system in D.melanogaster", BiWO 2012, ,Oct.30-Nov.2, Tokyo, Japan, 2012

19. Sachiyo Aburatani, "Application of Structural Equation Modeling for Inferring Toxicity-Dependent Regulation in Human Embryonic Stem Cells", GLOBAL HEALTH 2012, , Oct.20-Oct24, Venice, Italy, 2012

(3)連携研究者 ()

研究者番号 :

〔図書〕(計2件)

1. Sachiyo Aburatani*, Hiroyuki Toh, "Estimation of Physical Transcriptional Control in Yeast Cell Cycle by Structure Equation Modeling ", Basic Methods in Protein Purification and Analysis, Chapter 14, iConcept Press Ltd, 2012,
2. Sachiyo Aburatani*, Hiroyuki Toh, "Structural Equation Modeling for systems biology", Encyclopedia of Information Science and Technology, Third Edition, Chapter 44: 458-467, International Publisher of Progressive Academic Research, Pennsylvania

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況(計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者 (油谷 幸代)

研究者番号 : 1 0 3 6 1 6 2 7

(2)研究分担者 ()

研究者番号 :