

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「多細胞間での時空間的相互作用の理
解を目指した定量的解析基盤の創出」
研究課題「ライブセルオミクスと細胞系譜解析による
パーシスタンスの理解と制御」

研究終了報告書

研究期間 2019年10月～2025年03月

研究代表者：若本 祐一
(東京大学 大学院総合文化研究科
教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

この研究課題では、ラマン分光を利用したライブセルオミクス技術、1細胞系譜計測技術、細胞系譜の統計数理、細胞集団制御技術を包括的に開発するとともに、これらの新規計測技術・解析手法を用いて、パーシスタンス現象の背景原理の理解と集団動態の制御手法の確立を目指した。具体的には以下の研究項目を実施した。

研究項目 1. ライブセルオミクス計測の実現

- 若本グループおよび宮本グループで協力し、ヒトがん細胞株を対象として、環境依存的なトランスクリプトーム変動をラマンスペクトルから推定できることを明らかにした。さらにラット肝がん細胞を用いて、遺伝子発現プロファイル(トランスクリプトーム)と代謝プロファイル(メタボローム)をラマンスペクトルから一挙に推定できることを明らかにした。小林グループでは、高次元統計の手法を援用して、ラマンスペクトルの高次元由来のノイズを抑制する HNR 法を構築した。これによりラマンスペクトルを用いた細胞状態の分類精度、オミクス推定精度を向上させられることを示した。
- 個々の細胞のトランスクリプトームプロファイルの変化をラマンスペクトルの変化から明らかにするライブセルオミクス計測が可能であることを確認した。さらに、ラマンスペクトルの細胞間差から、増殖率や薬剤耐性度のばらつきも評価できることを明らかにした。
- ラマン-オミクス対応におけるオミクス側の背景として、オミクス要素(遺伝子)間の階層的な量比保存関係があることを数理解析により突き止めた。さらに各遺伝子の量比保存性の強さは、その遺伝子の必須度、進化保存度が強く相関すること、またこの関係が微生物からヒト細胞まで一般的に保存されていることを明らかにした。

研究項目 2. 1 細胞長期追跡計測技術の開発

- がん細胞の長期1細胞計測を実現するマイクロ流体デバイスを構築した。このデバイスを用いて、マウス白血病モデル細胞 L1210 の分裂動態の世代間相関や、薬剤投与前の成長状態に依存した薬剤感受性差を明らかにした。
- 3 次元イメージングデータから細胞核の位置を同定する深層学習ベースの手法を小林グループが開発した。この手法をマウス、線虫、ショウジョウバエの胚発生データに適用し、既存の深層学習手法よりも優れた性能を示すことを確認した。
- 画像解析によって得られた細胞系譜の時系列情報をもとに細胞状態を隠れ状態として推定する方法を小林グループが構築した。さらにこの方法をベースに深層学習を組み入れたより表現性・拡張性の高い手法も構築し、これを若本グループで得られた細胞系譜データに適用することで、細胞サイズ制御の支配法則を系譜データのみから推定することに成功した。

研究項目 3. 細胞系譜解析技術の開発

- 1細胞計測によって得られる細胞系譜をもとに、任意の表現型(形質)に対する適応度地形や選択強度を定量する細胞系譜の解析フレームワークを若本グループで構築した。また小林グループでは、個々の細胞が順応して1細胞レベルで適応する過程と、複数の細胞系列が共存する集団が自然選択により適応する場合の本質的な差異や相互関係を捉える細胞の統合的適応理論を構築した。

研究項目 4. パーシスタンス現象の理解と制御

- 宮本グループでは、様々な薬剤に対する U2OS 細胞の応答を計測し、薬剤ごとのパーシスタンス応答の違いを明らかにした。また薬剤応答前後での遺伝子発現プロファイルの共通性と個別性を明らかにした。この結果を踏まえ若本グループでは、1細胞ラマン計測とタイムラプス計測を組み合わせることで、薬剤環境下で順応する細胞のスペクトル変化の特徴を明らかにした。
- パーシスター細胞の運命決定を操作することを目指し、細胞のオルガネラ形態を秒から

分オーダーで変化させる生体分子デバイス iCOM 法を宮本グループで開発した。実際これを用いてミトコンドリア形態を誘導することで、遺伝子発現・代謝プロファイルが変化するとともに、抗がん剤ラパマイシンによる mTORC1 の阻害効果が減弱することを見出した。

(2)顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. がん細胞を対象とした細胞ラマンスペクトルとマルチオミクスの対応の実証

概要：ラット肝がん細胞を対象に、環境依存的に変動する細胞ラマンスペクトルと、トランスクリプトーム、メタボロームのマルチオミクスデータとの統計的対応を明らかにした。またこれにより、従来別々に測定されていたマルチオミクス情報をラマンスペクトルから一挙に推定できることを示した。

2. ラマン-オミクス対応の背景機構の解明

概要：細胞ラマンスペクトルとプロテオーム、トランスクリプトームの対応に関する数理解析により、(1)ラマンスペクトルの主要な変化が、オミクス要素間の量比保存関係に基づくオミクスの低次元構造を反映すること、(2)オミクス要素の量比保存性の強さと発現の環境特異性に強い負の相関があること、という 2 つの事情が対応の背景にあることを突き止めた。これらの性質は生物種を超えて保存されていることも明らかになり、ラマンスペクトルからのオミクス推定が幅広い生物種で可能な背景機構が同定された。

3. ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞における薬剤依存的なパーシスタンス応答の解明

概要：ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞のパーシスタンス応答の解析により、一部の薬剤において顕著なパーシスタンス応答が現れることを明らかにした。特に一部の薬剤では集団中の少数の細胞が増殖に転ずる「適応的耐性」が生じることを明らかにした。さらに適応的耐性を獲得する一連の状態変化を細胞ラマンスペクトルによって評価し、その変化の特徴を明らかにした。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. トランスクリプトーム推定装置およびトランスクリプトーム推定方法

概要：細胞から得られるラマンスペクトルを用いてトランスクリプトームプロファイルを推定するための計測系および推定方法に関する標題の特許を獲得した(特許第 6993682 号)。この技術内容を踏まえた企業との共同研究を複数進めた。

2. がん細胞の長期1細胞計測技術の開発

概要：定常環境下でのがん細胞成長の 1 細胞連続観察と薬剤応答計測を実現するマイクロ流体デバイスを構築した。このデバイスを用いることで、がん細胞の世代時間の遺伝性や、薬剤投与前の成長状態と薬剤投与後の長期生存動態との相関を直接評価できるようになった。実際、この技術を用いた L1210 細胞の1細胞計測により、このがん細胞種における世代時間の強い遺伝性と、薬剤応答と成長の関係を明らかにした。

3. ミトコンドリアの形態を秒から分のスケールで操作することができる iCMM 法の開発

概要：近年、ミトコンドリアの形態は生理・病理学的な細胞挙動を理解するための新たな情報因子として認識され始めている。本研究では化合物誘導性二量体化システムを用いて、ミトコンドリアの形態を秒から分のスケールで操作することができる生体分子デバイス「inducible Counter Mitochondrial Morphology (iCMM)」を開発した。さらに iCMM を用いてミトコンドリアの形態を操作することにより、ミトコンドリアの形態変化が遺伝子の発現変化を誘導することや、アミノ酸代謝系に影響を与える可能性を見出した。

<代表的な論文>

1. Koganezawa, Y., Umetani, M., Sato, M., Wakamoto, Y. History-Dependent Physiological Adaptation to Lethal Genetic Modification under Antibiotic Exposure. (2022) eLife. 11, e74486.

概要:光照射により任意のタイミングで特定の遺伝子を欠損させる技術と、遺伝子欠損直後からの状態変化を1細胞レベルで追尾計測できるマイクロ流体デバイスを組み合わせた細胞計測手法を構築した。この手法を用いた計測により、薬剤環境下で耐性遺伝子を欠失させるという遺伝子型への致死的な摂動に対しても一部の細胞が履歴依存的に適応しうることを明らかにした。この手法はパーシスタンス現象の背景原理の探索や集団動態制御に有用である。

2. Yamauchi, S., Nozoe, T., Okura, R., Kussell, E., Wakamoto, Y. A unified framework for measuring selection on cellular lineages and traits. (2022) eLife. 11, e72299.

概要:1細胞計測等によって得られる細胞系譜情報から、細胞集団内の選択の強さや任意の表現型の適応度を定量できる一般的な細胞系譜解析フレームワークを確立した。このフレームワークは、具体的な成長モデル等に依存せず、細胞系譜情報のみから選択強度や適応度地形の情報を与えることができる点で強力である。また、細胞集団全体の環境依存的な適応度変化に対する、選択強度の変化の寄与と細胞状態の順応的変化の寄与をそれぞれ分離して定量評価することも可能になった。

3. Kamei, K. F., Kobayashi-Kirschvink, K. J., Nozoe, T., Nakaoka, H., Umetani, M., Wakamoto, Y. Revealing global stoichiometry conservation architecture in cells from Raman spectral patterns (2025) eLife, 14, RP101485.

概要:細胞ラマンスペクトルからトランスクリプトームだけでなく、プロテオームの推定も可能であることを明らかにした。さらに細胞ラマンスペクトルとプロテオームデータとの対応の背景を精査することで、オミクスデータを構成する各遺伝子の発現変動に階層的な量比保存構造があることを明らかにした。また、環境特異的に発現する量比保存グループの発現を伴う環境では、細胞ラマンスペクトルも大きく変化することを示し、このような変動の対応が、ラマンスペクトルからのオミクス推定を可能にしている背景にあることを明らかにした。

§ 2 研究実施体制

(1)研究チームの体制について

①若本グループ

研究代表者:若本 祐一 (東京大学大学院総合文化研究科 教授)

研究項目

- ・がん細胞におけるラマン-オミクス対応の実証
- ・1細胞レベルでのラマン-オミクス対応の実証
- ・ラマン-オミクス対応の数理解析法の開発
- ・三次元培養中の細胞からラマンスペクトルを取得する計測技術の開発
- ・多数のがん細胞の抗がん剤応答と履歴を取得できる1細胞長期追跡計測技術の開発
- ・細胞系譜をもとにした選択と順応の分離評価解析手法の開発
- ・マルチモーダルな情報を統合したパーシスタンス現象の背景機構の理解
- ・高精度ラマン分光測定法の開発と細胞分析応用
- ・異なる運動特性を持つ細胞に対するラマンスペクトルとトランスクリプトームの評価

②小林グループ

主たる共同研究者:小林 徹也 (東京大学生産技術研究所 教授)

研究項目

- ・ラマン-オミクス対応の数理解析法の開発
- ・細胞系譜情報抽出のための情報解析技術の開発

- ・細胞系譜をもとにした選択と順応の分離評価解析手法の開発

③宮本グループ

主たる共同研究者：宮本 崇史（筑波大学医療医学系 助教）

研究項目

- ・がん細胞におけるラマン-オミクス対応の実証
- ・1 細胞レベルでのラマン-オミクス対応の検証
- ・マルチモーダルな情報を統合したパーシスタンス現象の背景機構の理解
- ・パーシスタンスを制御するための集団動態制御法の開発

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

本 CREST 領域内では、若本グループが藤田グループと「高精度ラマン分光測定法の開発と細胞相関分析への応用」、及び澤井グループ、二階堂グループと「異なる運動特性を持つ細胞に対するラマンスペクトルとトランスクリプトームの評価」の C3 研究課題を連携して推進した。

国外連携として、若本グループはニューヨーク大学および Broad Institute と緊密な共同研究を継続して実施した。また国際ワークショップ Multi-Scale Biological Plasticity を主催し、海外からのゲストも招聘して研究発信や情報交換を行なった。

ラマン分光技術とこれを用いた独自の細胞状態同定技術の臨床応用のポテンシャルの高さを踏まえ、JST 成果支援展開の仲介を受けて、臨床研究者との共同研究を開始した。また本 CREST 課題の成果も踏まえ、複数の企業との共同研究も実施・継続し、本研究課題の成果を社会展開していくためのデータ取得、技術開発、協力体制構築を進めた。