連携・融合ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
由良　敬（早稲田大学理工学術院・教授）

１細胞／微小組織マルチオミックスの オールインワン解析による生命科学研究の支援

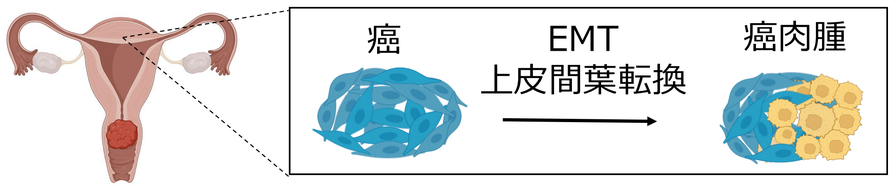
補助事業分担者（所属・職名）
竹山　春子（早稲田大学理工学術院・教授）、浜田　道昭（早稲田大学理工学術院・教授）、馬場　健史（大阪大学大学院医学系研究科・教授）、村松　知成（東京大学大学院農学生命科学研究科・特任准教授）、細川　正人（早稲田大学理工学術院・教授）、松永　浩子（早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構・研究員准教授）、井内　仁志（早稲田大学理工学術院・次席研究員）、和泉　自泰（大阪大学大学院理学研究科・教授）、田畑　祥(大阪大学大学院医学系研究科・准教授）、髙橋　政友（大阪大学大学院理学研究科・准教授）、甲畑　宏子（東京科学大学大学院先進倫理医科学分野・講師）

高度化における研究背景・目的・成果

様々な研究支援を実現するために、従来技術の統合と新規技術の開発による研究技術の高度化を行っています。

背景１

子宮癌肉腫は上皮性の癌腫成分の一部が**上皮間葉転換（EMT）**によって間葉系の肉腫成分に変化するとされている。



目的１

癌肉腫8症例を対象に、3つの解析手法を統合し、癌成分から肉腫成分への移行に伴うEMT状態と遺伝子発現変化を明らかにする。

癌肉腫 8症例



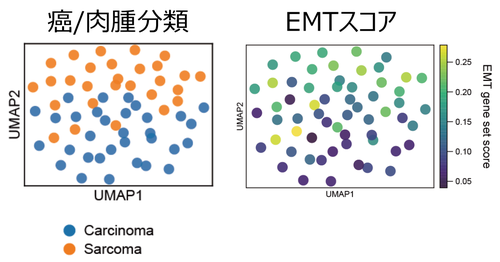
手法１

技術	微小組織解析	Xenium	Chromium
			
空間情報	○	○	×
遺伝子網羅性	◎（高感度）	△（遺伝子数に制限）	○
解像度	△（30細胞）	○（1細胞）	○（1細胞）

結果１

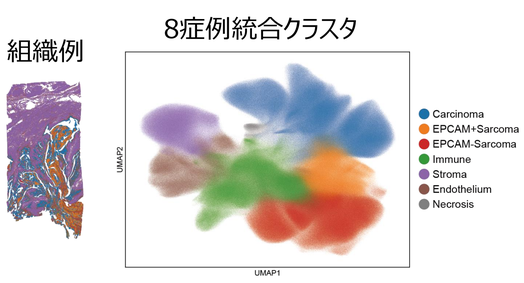
現在解析中

微小組織解析	Xenium	Chromium
領域レベルのEMT状態を評価	境界領域の細胞を空間的に同定	目標：境界領域クラスターの発現プログラムを解明



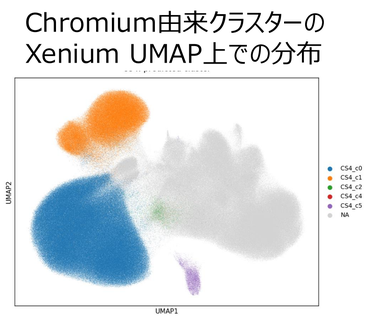
癌・境界・肉腫領域から微小組織を採取し、EMTスコアを比較

境界領域では、癌成分と肉腫成分の中間的なEMT関連スコアが認められた。



遺伝子発現に基づくクラスタリングと組織内の位置情報を統合

中間的なEMT状態を示す境界領域に偏在する腫瘍クラスターを同定



境界領域クラスターと対応するChromium由来クラスターを同定
→詳細な遺伝子発現解析を実施予定

考察１

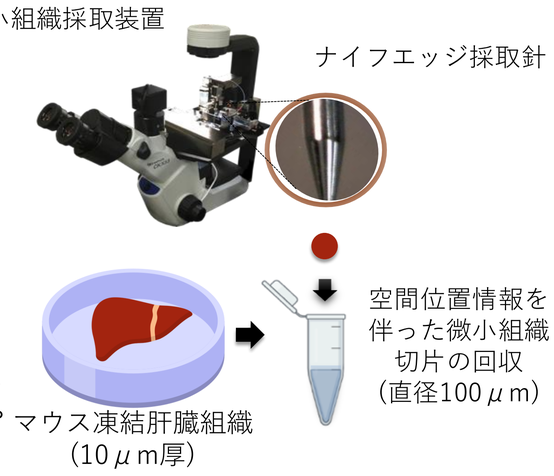
・微小組織解析により、癌と肉腫の境界に中間的なEMT状態を示す領域が存在することを明らかにした。
・Xenium解析により、この境界領域に特定の腫瘍細胞集団が偏在することが示された。
→同定したクラスタが癌から肉腫への移行過程を直接示すかについては、今後Chromiumデータの解析により検証が必要である。

背景２

組織内の空間的不均一性や局所的な分子変化を理解するためには、微小領域から遺伝子発現、タンパク質、代謝物を統合的に取得する技術が必要である。

目的２

早稲田大学竹山グループの微小組織採取・遺伝子発現解析技術と、大阪大学馬場グループの高感度プロテオーム・メタボローム分析技術を融合し、**<u>10 μm厚・100 μm径の微小組織片１個から複数階層のオミックス情報を取得可能なマルチオミックス解析基盤の構築</u>**を目指した。



手法2

微小試料に対応するため、DIAプロテオーム解析やnano-LC/MSメタボローム解析など、分析系自体の高感度化・網羅性を向上させた。 微小組織マルチオミックス解析基盤の構築、プロテオーム解析の高深度化、メタボローム解析の高感度・高網羅化を進め、微量試料からより多くの分子情報を取得可能な解析基盤を構築した。

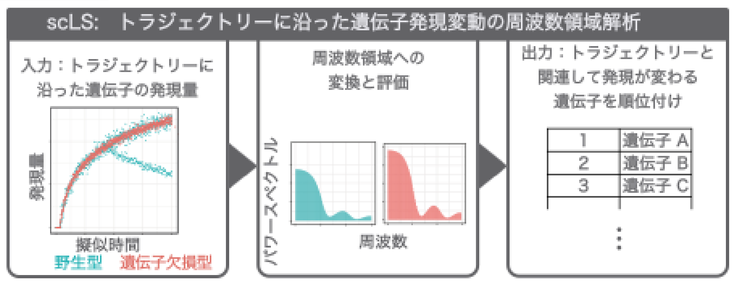
結果２

1. **親水性代謝物を高網羅に一斉分析するunified-HILIC/AEX/MS法の開発**
   親水性相互作用クロマトグラフィーと陰イオン交換クロマトグラフィーを統合し、幅広い極性代謝物を1回の分析で測定可能な分析系を構築した。【*Analytical Chemistry* (2022)】
2. **微小組織からのマルチオミクス解析基盤の構築**
   10 μm厚・100 μm径の微小組織片からRNA、タンパク質、代謝物を分画し、トランスクリプトーム・プロテオーム・メタボロームを統合的に解析するための前処理・分析フローを確立した。関連する解析技術を総括して報告した。【実験医学 (2024) 】
3. **unified-HILIC/AEX/HRMSによる親水性メタボローム分析法の高度化**
   固定相の特性を比較・最適化し、高分解能質量分析と組み合わせることで、親水性代謝物の網羅性と分析精度を向上させた。【*Mass Spectrometry* (2024)】
4. **微小試料に対応したプロテオーム・メタボローム分析の高感度化**
   DIA法の導入によりプロテオーム解析の網羅性を従来法の2～3倍に向上させた。また、unified-HILIC/AEX/MSを親水性代謝物と脂質のワンショット分析へ拡張するとともに、nano-LC/MSへダウンサイジングし、微小試料からの超高感度・高定量メタボローム解析系を構築した。

背景・目的３

単一細胞RNA-seqは、細胞集団の状態を高解像度で観察でき、トラジェクトリー解析では、細胞状態の遷移経路と擬似時間を推定し、分化や刺激応答などの動的過程を再構成できる。しかし、擬似時間は不均一に分布し、複数の分岐を含む軌道では、回帰モデルの設定や分岐の対応付けが難しい。そこで、Lomb–Scargle periodogramを利用した遺伝子発現変動検出法「scLS」を開発した。

手法３

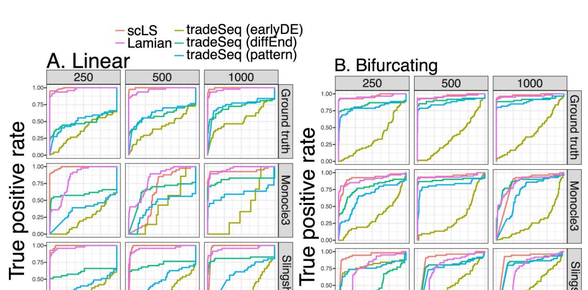


- 各遺伝子の「擬似時間―発現量」を周波数領域のパワースペクトルへ変換する。
- Dynamic expression testにより、擬似時間に沿って動的に発現する遺伝子を検出する。また、Shifted expression testにより、WTとKOなど条件間で発現軌道が異なる遺伝子を検出する。

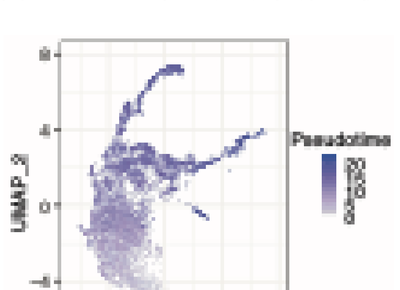
結果３

Iuchi H, Hamada M. The Lomb–Scargle periodogram-based differentially expressed gene detection along pseudotime. *Nucleic Acids Research*. 2026;**54**(13).

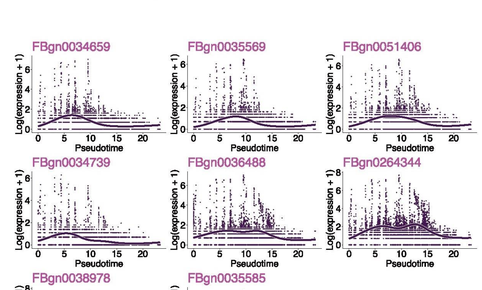
- WTとKOで発現軌道が異なる線形・分岐型のシミュレーションデータを作成し、DEG検出性能をROC曲線で評価した。
- scLSは多くの条件で既存手法と競合する検出性能を示し、高いAUCを維持した。
- 分岐の対応付けや特定区間の事前指定を行わず、発現軌道全体の変化を検出できることが示された。
- ショウジョウバエのscRNA-seqデータにMonocle3を適用し、分岐を含む発生軌道と擬似時間を推定した。
- scLSで特徴的に検出された遺伝子は、擬似時間の中盤で発現が上昇し、その後低下する一過性（ピーク型）の発現パターンを示した。
- scLSは発現軌道全体を評価することで、非単調かつ一過性の発現変化を検出できることが示された。



左：線形、右：分岐型トラジェクトリーにおけるDEG検出性能。各手法の性能をROC曲線で比較した。



UMAP上に示した推定擬似時間



scLSが特徴的に検出した一過性発現遺伝子の例

今後の発展

CESOARにおける数多くの研究支援により、大量の測定データが集まってきています。それらのデータのうち、研究支援の成果（論文発表）として利用されているのはごく一部です。

➡ CESOAR Big Dataを活用することで、CESOARを高度化することをめざします。

・CESOARに蓄積されるデータの二次利用を可能にする枠組みを検討する。
・異なる生体組織のデータを比較・統合することで新規知見を導出する方法を開発する。
・各種測定機器のデータ特性を明らかにする。

CESOAR Big Data
ビッグデータ活用の道筋をつける

CESOAR