The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	シングルセルRNA-seqデータを用いた細胞系譜解析による癌治療に対する抵抗性因子の探索手法に関する研究
Author(s)	村山, 皇翔
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/88157
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式3

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　村山　皇翔　　）	
論文題名	シングルセルRNA－seqデータを用いた細胞系譜解析による癌治療に対する抵抗性因子の探索手法に関する研究

論文内容の要旨

近年、癌に関連する死亡は社会的な問題となっている。この状況を打破するために、薬物治療の研究開発は目覚ましく進展している。その中でも、標準的に使用される薬物治療に対する抵抗性因子の探索は、多くの研究者が取り組んでいる領域である。遺伝子転写産物であるRNAの発現量を網羅的に評価するトランスクリプトーム解析では、特に、単一細胞ごとのRNAを評価するシングルセルRNA－seqの導入が、癌研究において進んでいる。一方で、シングルセルRNA－seqの技術進展にあわせて、より膨大な量のデータを取り扱う必要があり、現在も更なる解析手法の開発が求められている。

本研究では、離散的な状態間の遷移ではなく、連続的な遷移過程を細胞系譜として推定し、系譜上で発現変動する遺伝子をマーカーとして検出する手法を開発した。薬剤感受性から薬剤抵抗性への遷移、および、上皮間葉転換(EMT)において上皮系から間葉系と間葉系から上皮系への遷移について本手法を適用し、それぞれの遷移過程でのマーカーの検出精度を評価することで、本手法の有効性を示している。

本論文は、以下の第1章から第4章で構成される。第1章では、研究の背景に関して述べた。第2章では、口腔扁平上皮癌のシスプラチンへの感受性細胞株、抵抗性株、抵抗性後休薬期間を設けて培養された株より得られたデータを使用した。データ統合、クラスタリングによる細胞タイプの分類後、細胞系譜を推定し、各系譜の連続的な遺伝子発現の推定、各系譜内および系譜間の発現変動マーカーの同定を行う手法の開発を試みた。結果、シスプラチンの抵抗性因子であるUCA1、AXL、UBE2C、MT2Aを検出し、本手法が有効であることが示唆された。第3章では、EMTを誘導した癌細胞株より得られたデータを対象に、EMT進行時とEMT反転時の両方向に対して最小全域木により系譜を推定し、系譜ごとの発現変動遺伝子を探索する手法の開発を試みた。本手法より得られたマーカーを対象に、標準的なEMT関連遺伝子を用いて定量的に精度を評価した結果、本手法が有効であることが示唆された。第4章では本研究の結果より薬物治療やEMTによる変化が、細胞の動的な遺伝子発現の変化であることを踏まえ、本手法により考えられる細胞の特性変化を捉えるアプローチの優位性に関して論じ、今後のシングルセルRNA－seqデータを用いた薬剤抵抗性機序の解明に対する展望について述べた。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　村山　皇翔　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	松田　秀雄
	副 査	教授	清水　浩
	副 査	准教授	岡橋　伸幸
	副 査	准教授	古川　正紘

論文審査の結果の要旨

近年、癌に関連する死亡は社会的な問題となっている。この状況を打破するために、薬物治療の研究開発は目覚ましく進展している。その中でも、標準的に使用される薬物治療に対する抵抗性因子の探索は、多くの研究者が取り組んでいる領域である。遺伝子転写産物であるRNAの発現量を網羅的に評価するトランスクリプトーム解析では特に、単一細胞ごとのRNAを評価するシングルセルRNA‐seqの導入が、癌研究において進んでいる。一方で、シングルセルRNA‐seqの技術進展にあわせて、より膨大な量のデータを取り扱う必要があり、現在も更なる解析手法の開発が求められている。

本研究では、離散的な状態間の遷移ではなく、連続的な遷移過程を細胞系譜として推定し、系譜上で発現変動する遺伝子をマーカーとして検出する手法を開発した。薬剤感受性から薬剤抵抗性への遷移、および、上皮間葉転換(EMT)において上皮系から間葉系へと間葉系から上皮系への遷移について本手法を適用し、それぞれの遷移過程でのマーカーの検出精度を評価することで、本手法の有効性を示している。

本論文は、以下の第1章から第4章で構成される。第1章では、研究の背景に関して述べた。第2章では、口腔扁平上皮癌のシスプラチンへの感受性細胞株、抵抗性株、抵抗性後休薬期間を設けて培養された株より得られたデータを使用した。データ統合、クラスタリングによる細胞タイプの分類後、細胞系譜を推定し、各系譜の連続的な遺伝子発現の推定、各系譜内および系譜間の発現変動マーカーの同定を行う手法の開発を試みた。結果、シスプラチンの抵抗性因子であるUCA1、AXL、UBE2C、MT2Aを検出し、本手法が有効であることが示唆された。第3章では、EMTを誘導した癌細胞株より得られたデータを対象に、EMT進行時とEMT反転時の両方向に対して最小全域木により系譜を推定し、系譜ごとの発現変動遺伝子を探索する手法の開発を試みた。本手法より得られたマーカーを対象に、標準的なEMT関連遺伝子を用いて定量的に精度を評価した結果、本手法が有効であることが示唆された。第4章では本研究の結果より薬物治療やEMTによる変化が、細胞の動的な遺伝子発現の変化であることを踏まえ、本手法により考えられる細胞の特性変化を捉えるアプローチの優位性に関して論じ、今後のシングルセルRNA‐seqデータを用いた薬剤抵抗性機序の解明に対する展望について述べた。

以上のことから、本論文はシングルセルRNA‐seqデータを用いた細胞系譜解析による癌治療に対する抵抗性因子の探索手法を提案することで、細胞における連続的な状態遷移過程を解析する研究の発展に貢献するものである。よって、博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。