

20140602/B

厚生労働科学研究費補助金

再生医療実用化研究事業

ヒト幹細胞を用いた再生医療の
臨床実用化のための基盤構築に関する研究

平成25年度～平成26年度 総合研究報告書

研究代表者 中井 謙太

平成 27 (2015) 年 5 月

目 次

研究組織	-----	1
ELSI委員名簿	-----	3
I. 総合研究報告		
ヒト幹細胞を用いた再生医療の臨床実用化のための基盤構築に関する研究		
中井 謙太（東京大学医科学研究所）	-----	7
II. 研究成果の刊行に関する一覧表		
-----	-----	19
III. 研究成果の刊行物・別刷		
-----	-----	23

研究組織

【研究代表者】総括・情報基盤

中井 謙太 東京大学医科学研究所 教授

(研究協力者)

鈴木 穰	東京大学大学院新領域創成科学研究科	教授
朴 聖俊	東京大学医科学研究所	特任講師
足立美保子	東京大学医科学研究所	特任研究員
込山 悠介 (平成26年度)	東京大学医科学研究所	特任研究員
LIANG, Kuo-ching (平成26年度)	東京大学医科学研究所	特任研究員
福岡 忠良	バイオグリッドセンター関西	理事
黒澤 隆	東京大学医科学研究所	学術支援専門職員
池田 恵美 (IT担当)	東京大学医科学研究所	学術支援専門職員

【研究分担者】臨床情報提供

今井 浩三 東京大学医科学研究所附属病院 抗体・ワクチンセンター 特任教授

(研究協力者)

各務 秀明	東京大学医科学研究所分子療法分野	特任准教授
海老原康博	東京大学医科学研究所先端的再生医療社会連携研究部門	特任准教授
竹谷 英之	東京大学医科学研究所附属病院関節外科	講師
相原 祐子 (IT担当)	東京大学医科学研究所再生基礎医科学国際研究拠点寄付研究部門	特任研究員

【研究分担者 (平成25年10月～)】情報システム・情報解析

藤渕 航 京都大学iPS細胞研究所 教授

(研究協力者)

山根 順子	京都大学iPS細胞研究所	特定研究員
Lekschas Fritz (平成25年度)	京都大学iPS細胞研究所	技術補佐員
松島 正知 (平成26年度)	京都大学iPS細胞研究所	技術補佐員

【研究分担者】分化誘導

中畑 龍俊 京都大学iPS細胞研究所 特定拠点教授

(研究協力者)

齋藤 潤	京都大学iPS細胞研究所	准教授
丹羽 明	京都大学iPS細胞研究所	特定拠点助教
磯田 賢一 (IT担当)	京都大学iPS細胞研究所	特定研究員

【研究分担者】臨床用ヒトES細胞株の樹立

中辻 憲夫 京都大学再生医科学研究所 教授

(研究分担者)

末盛 博文	京都大学再生医科学研究所	准教授
宮崎 隆道 (IT担当)	京都大学再生医科学研究所	研究員

【研究分担者】iPS細胞等分化誘導

岡野 栄之 慶應義塾大学医学部生理学教室 教授

(研究協力者)

赤松 和土 (平成25年度)	(IT担当兼任)	慶應義塾大学医学部生理学教室	講師
駒野 肇		慶應義塾大学医学部生理学教室	特任講師
曾根 岳史 (IT担当兼任)		慶應義塾大学医学部生理学教室	特任助教
岡田 洋平 (平成26年度)		慶應義塾大学医学部生理学教室	訪問教授

【研究分担者】ES細胞のマニピレーション

梅澤 明弘 国立成育医療研究センター 再生医療センター長

(研究協力者)

豊田 雅士	国立成育医療研究センター	共同研究員
町田 正和	国立成育医療研究センター	研究員
原 まり子	国立成育医療研究センター	研究補助員
石井 隆雅 (平成25年度)	国立成育医療研究センター	研究員
川崎 友之 (平成25年度)	国立成育医療研究センター	研究員
大野 真一 (平成26年度)	国立成育医療研究センター	研究員
齋藤佳代子 (IT担当)	国立成育医療研究センター	研究補助員
栗山 幹浩 (IT担当)	国立成育医療研究センター	研究補助員

【研究分担者】輸送

西田 幸二 大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科学 教授

(研究協力者)

辻川 元一	大阪大学大学院医学系研究科視覚再生医学寄附講座	寄附講座教授
林 竜平	大阪大学大学院医学系研究科幹細胞応用医学寄附講座	寄附講座准教授
大家 義則	大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科学	助教
佐々本 弦	大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科学	大学院生
安堵城 悟 (IT担当)	大阪大学大学院医学系研究科脳神経感覚器外科学	研究員

【研究分担者】移植、分化誘導

高橋 政代 理化学研究所 網膜再生医療研究開発プロジェクト プロジェクトリーダー

(研究協力者)

大西 暁士	理化学研究所 網膜再生医療研究開発プロジェクト	研究員
片山 朋子 (IT担当)	理化学研究所 網膜再生医療研究開発プロジェクト	システム担当者

【研究分担者】体性幹細胞分化誘導

大和 雅之 東京女子医科大学先端医科学研究所 所長

(研究協力者)

岩田 隆紀 (平成26年度)	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	准教授
梅本 晃正	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	特任助教
松崎 優	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	研究技師
糸賀 和義 (IT担当)	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	講師
宮田 明子 (IT担当) (平成26年度)	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	嘱託職員
水野 勝義 (IT担当) (平成26年度)	東京女子医科大学先端生命医科学研究所	派遣職員

ELSI委員会 委員名簿

後藤 厚宏 情報セキュリティ大学院大学 教授
セキュアシステム研究所 所長

隅藏 康一 科学技術政策研究所 総括主任研究官

(～平成25年度9月)

高須 直子 京都大学iPS細胞研究所 医療応用推進室 室長

(平成25年度10月～)

星野 利彦 京都大学iPS細胞研究所 所長補佐

○町野 朔 上智大学生命倫理研究所 所長代行

三尾 美枝子 キューブM総合法律事務所 弁護士

宮田 満 日経BP社 特命編集委員

山本 貴史 株式会社東京大学TLO 代表取締役社長

(五十音順・○：委員長)

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

ヒト幹細胞を用いた再生医療の臨床実用化のための基盤構築に関する研究

平成 25 年度～平成 26 年度 総合研究報告書

研究代表者 中井 謙太

東京大学医科学研究所 教授

研究要旨

本研究は、ヒト等の幹細胞を用いた再生医療技術の早期実用化に向け、再生医療に関わる我が国の研究機関がセキュアな情報共有を図ることによって、オールジャパンともいべき体制で新しい研究を触媒し、加速させるための情報基盤を構築することを目的としていた。本研究開始前の2年の活動を含めた4年間で、ハード・ソフトを含め、システムはほぼ完成したが、本研究終了後のシステムの継続的運用を見すえて、新たなメンバーが最小の必要経費で参加できることを目指したクラウド等の仕組み等も整備した。また、システムを利用した班員所属拠点間の情報共有を促進するために、中核拠点主導で17の共同研究を展開した。システムに蓄えられたデータの横断的解析による新知識獲得でも成果をあげ、再生医療新法などの要請にこたえる形で、実験ノートや標準手順書等の研究データの電子化推進にも尽力した。しかし、残念ながら計画より1年前に打ち切りが決定したため、システムは停止を余儀なくされ、クラウドなどの仕組みも検証することができなかった。

A. 研究目的

現在、国内での再生医療に関する研究開発の多くは、研究機関単位で自立的に行われている。その結果、研究機関同士での情報共有・活用が十分でなく、研究の加速の妨げとなっている。例えば、ある研究機関に存在するデータはその場での関心の下でしか価値判断されないため、多角的な分析が十分に行われないうまま埋もれてしまうケースや、他の機関との研究の重複によるリ

ソースの浪費、研究内容の相違の確認に基づく研究の深化の実施不能等の課題が存在する。さらに今後、国内の研究機関において再生医療の臨床応用に向け治験などの手続きが急増することが予想されるが、その際に必要な知識や経験が研究機関間で十分に共有されないと、現場の研究者に不必要な労力を強いてしまい、結果的に臨床実用化を遅らせることにもなりかねない。このような構造的な課題を乗り越え、早期の臨

床応用実現と持続的研究開発能力を確保するためにも、自律分散した研究機関間の連携を情報通信技術等の活用によって図り、機関間で研究結果の効率的活用を行う、一種の **Open Innovation** 環境を構築することが不可欠である。そこで、本研究ではヒト等の幹細胞を用いた再生医療技術の早期実用化に向け、再生医療に関わる我が国の研究機関が情報共有を図ることによって、オールジャパンともいうべき体制で研究を加速させるための情報基盤の構築を目的とする。

B. 研究方法

1. システムの構築（ハード面）

ハードウェアの構築は、基本的には本研究に先立つ2年間のうちに行った。メインのマシンは、地震災害なども考慮して、北海道のデータセンターに置き、インターネット回線上の論理的なプライベートネットワークとして、暗号化通信も可能な形で中核拠点や各拠点をつないだ。各拠点にもサーバマシンを設置しているので、各拠点の判断で、データを中央で共有するか、とりあえず研究室内での共有にとどめるかを調節できる。中央で共有するデータは、夜間などの間に自動的に中央にコピーされる仕組みを採用した。なお、各拠点には、デジタルペンやタブレット PCなどを配布し、実験室データや実験ノートの電子化にも取り組んでもらった。

2. システムの構築（ソフト開発）

システムの利用を促進するためのソフト開発を続けてきた。また、計算機の利用に不慣れな利用者のために、開発ソフトを始めとするシステムの使用法の説明会なども積極的に開催した。それらのいくつかについては、利用者の声をとりいれつつ、年々改良を重ねてきた。平成26年度開発のソフト群では、ユーザーインターフェースなどもある程度統一を図った。特に、データ共有のためのデータのデポジット手続きにおいては、後述のルールに従う必要があり、たとえばオンラインジャーナルのウェブサイト論文原稿をアップロードするような感覚で、必要な手順を踏みつつ、データをアップロードできるようにした。開発したソフトは適切なライセンス管理のもとで、幅広い研究者に自由に利用してもらえるようにすることを目指した。

3. システムの運用・整備・再編成

計算機の利用に不慣れな方が少なくない再生医療研究者への対応をきちんと行い、システムを安定的に運用した。利用者からの要望を反映させた形でシステムをより安全で使いやすくするために、上述のソフト開発の他にも、専門家や専門業者の協力を得て、セキュリティ規定を整備した。また、ELSI委員会を組織して、データ提供者の権利を保護するための取り決めを作り、プロジェクト参加者全員から承諾のサインを毎年回収した。さらに、3箇所以上の機関がデータを共有して、共同研究を進める場合

の倫理審査手順をスピードアップするために、倫理申請手順の整備などを進めた。平成 26 年度には、システムの継続的な運用を見すえ、セキュリティを犠牲にしない範囲で、データセンターのサーバの一部を中核拠点に移設するとともに、システムの利用ログ管理の一元化にも取り組んだ。

4. データ共有と再利用の活性化

研究スタート時の計画では、対象を予め絞らない多様なデータを柔軟に共有することで、自然発生的に再利用や共同研究が進むことを期待していたが、研究評価委員会ならびにプログラムオフィサーからのご意見もあり、またある程度システムを活用してもらうことから始めた方がよいとも考え、中核拠点主導で班員同士、拠点同士の共同研究を積極的に企画した。

5. ポストプロジェクト体制の模索

本研究で構築しているシステムを持続的に維持していくために、現班員以外の研究者が追加費用をできるだけ抑えた形で参加できるようにする方策（準会員制度）をハード・ソフト両面で検討し、意欲のある若手研究者との交流を進めた。また、将来の企業からの参加の可能性も見すえ、そのニーズを探った。

6. データマイニングその他

情報通信技術を駆使して、デポジットされたデータを横断的に検索・解析し、新しい知見を得るための研究を行った。また、

再生医療新法の要請などにこたえるために、過去の実験ノートなどの一次資料を電子化して保存するためのプロトコルなどを開発し、試験的に情報を蓄え始めた。

（倫理面への配慮）

本研究においては、個別研究における数値情報、評価情報等を取り扱うことから、個人情報等の利用が研究遂行上で必須になる可能性は低いと考えられたが、上述のように、本研究に従事する者全員が従う旨の誓約書を提出することになっているデータ共有・公開に関するルールで以下のように定めている。

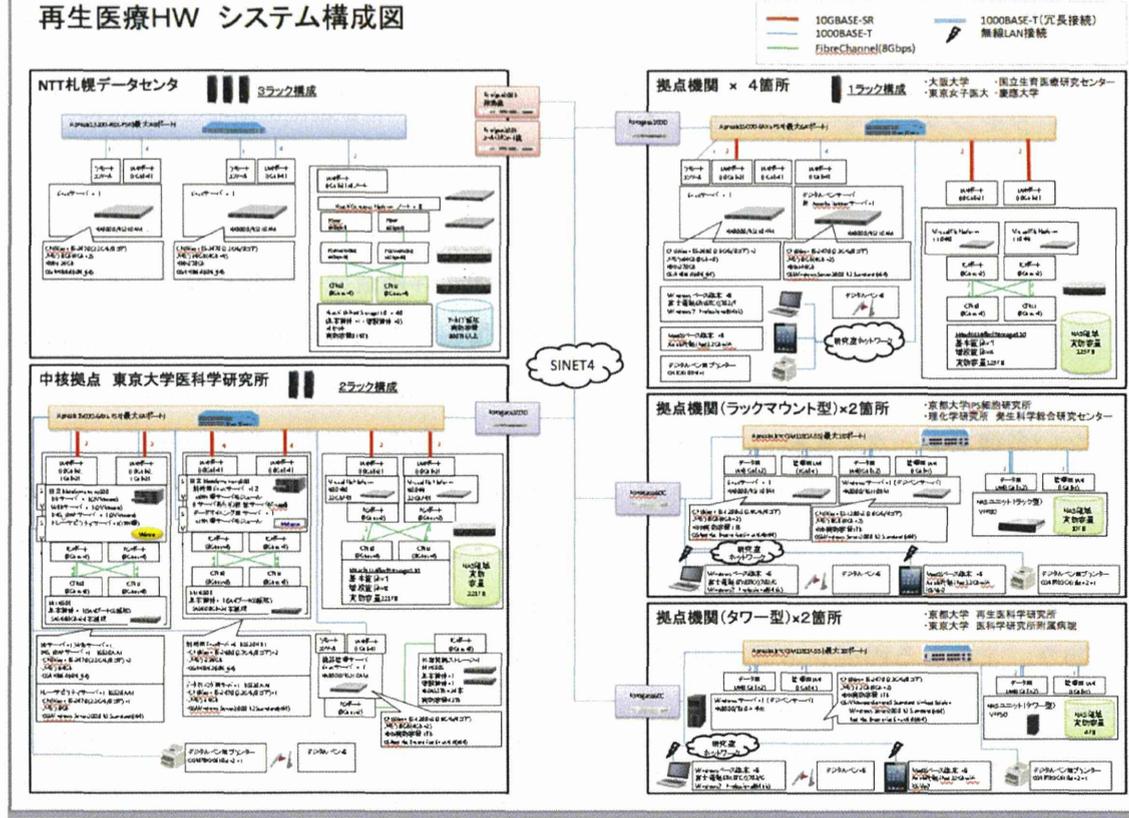
「（データ共有の際、情報共有システムの）情報管理者は、国の研究倫理指針の対象となるデータが共有又は公開される場合、情報システムへの提供前に、データ提供者の所属機関の倫理審査委員会において審査を受け、承認されていることを確認しなければならない。」

また、本研究では、研究倫理等に関する専門家を含む専門委員会（ELSI 委員会）を擁し、研究上のさまざまな問題に関して助言を受けることができる体制を用意した。

さらに、上述のように、本研究では機動的にデポジットされたデータを介した共同研究を行うので、必要な倫理申請手続きにかかる時間をできるだけ少なくすることが、研究そのものの目標の一つになっている。

再生医療HW システム構成図

2014/11/14 更新



ここ数年間の試行錯誤でかなり手続きの流れもこなれてきたが、三者以上の拠点が関係する場合は手続きが依然として複雑であるために、適切に管理された知財ガイドラインとセキュリティを担保として、共通のデータベースを利用するという包括的な形式を認めてもらえるように、各拠点の倫理担当部局と協議するなど、所定の手続きを踏みつつ、研究の実を上げるために努力した。

C. 研究結果

1. システムの構築（ハード面）

本研究で構築したシステムの構成図を示す。拠点機関に関しては、先行して機器類を導入した4機関（慶應義塾大学、成育医療研究センター、東京女子医科大学、大阪大学）には、各1ラックのサーバセットを配備した。残りの拠点に関しては、スペースなどの点で制約が多かったため、各拠点の事情に応じて、ラックマウント型（京都大学 iPS 細胞研究所、理化学研究所）またはタワー型（京都大学再生医科学研究所、東京大学医科学研究所附属病院）のサーバセットを配置した。実験ノートの電子化などに関しては、市販の電子ノートソフトは予想に反して、大阪大学などを除いて積極

的に用いられなかった。これは、我々がプロジェクト内で開発したものよりも圧倒的に開発費をかけて、インターフェースなどを工夫しているものでも、必ずしも受け入れられるものではないことを示している。一方のデジタルペンに関しては、成育医療研究センターや東京女子医科大学において、

積極的に利用された。特に東京女子医科大学では、独自予算で研究所全体の電子化とデータ共有を図って、当システムと融合させるなど、先進的な取り組みが目立った。ただし、予定外の研究計画打ち切りのため、現在は構築したシステムは稼働を停止している。

共有データ一覧

Keywords

実験タイプ

登録日

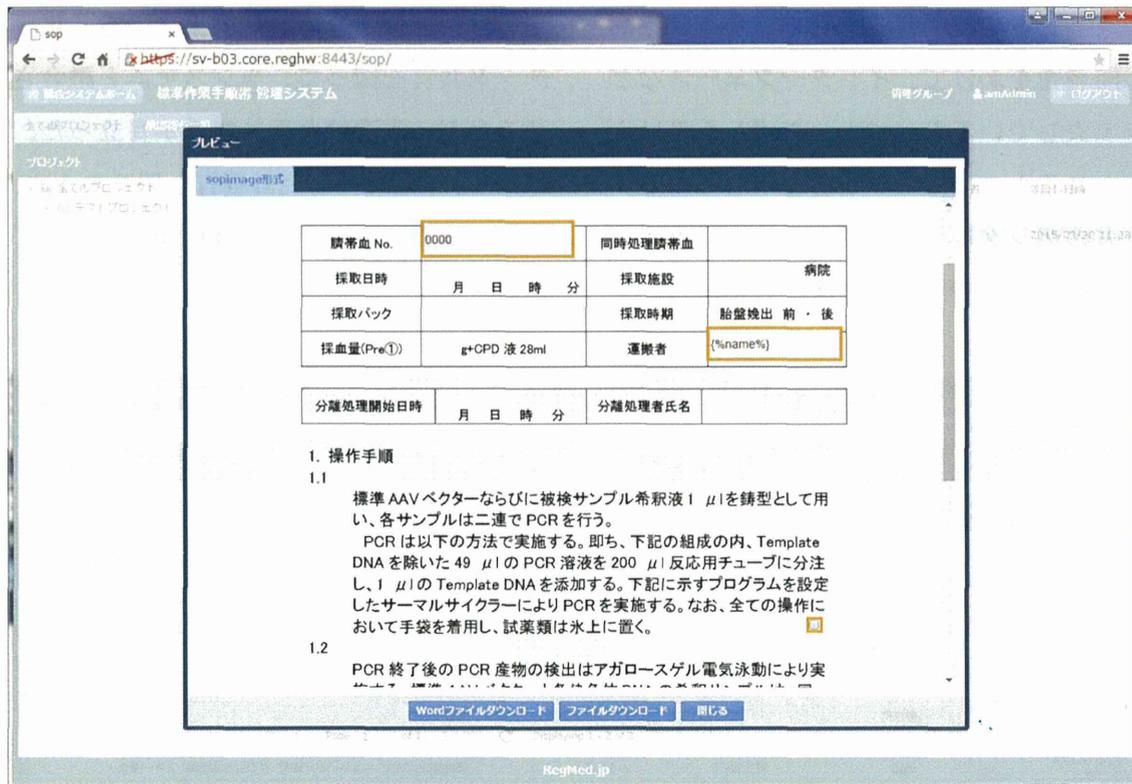
版ID	共有ID	タイトル	登録日	更新日時	承認	キュレーター確認	共有レベル	ステータス
dynamcom01-0010	REG-15-0004	osaka_test	2015-04-28	2015-04-28	承認	済	済	共有 (レベル2)
dynamcom01-0009		dynamcom01	2015-03-19	2015-03-19	未承認	未	未	一時保存
dynamcom01-0008		dynamcomtest	2015-03-19	2015-03-19	未承認	未	未	一時保存
	REG-15-0003	keio01	2015-03-19	2015-03-19	未承認	済	済	共有 (レベル4)
dynamcom01-0007		dynamcom02	2015-03-19	2015-03-19	承認	未	未	一時保存
dynamcom01-0006		dynamcom01	2015-03-19	2015-03-19	未承認	未	未	一時保存

2. システムの構築 (ソフト開発)

ソフト開発は継続して行ってきたが、前年度開発したものの改良が多く、ここでは2015年時点でほぼ完成したものを中心に述べる。

(i) 『実験データの共有とアプリケーションの集約に向けた統合システムの開発』では、これまで ELSI 委員会などを通して策定してきたデータ共有ルールをもとにした

データのデポジット手続きに準拠した、システム利用のプラットフォームとして開発した。これによって、データ登録から共有までのプロセスが Web ブラウザ上で実現された。また、プロジェクトのポータルサイトとしてシングルサインオン・システムを持たせたことで、一度のログインで他の開発ソフトウェアも利用できるようになった。



(ii) 『再生医療における電子標準作業手順書作成・管理・運用支援システムの次世代化』では、細胞調整センター（Cell Processing Center）内で標準作業手順書（SOP: Standard Operating Procedure）にもとづいて実験・作業を行う際に、タブレット端末で電子的に記録を取るためのシステムを開発した。また、その標準作業手順書の編集・認可プロセスにおいても PC の Web ブラウザ上で実現されたことで、迅速な処理が可能になった。さらに、これに関連して、数名の班員から提供を受けたサンプルの SOP を集めて、将来のライブラリづくりのひな形とした。

(iii) 『ユニバーサル実験画像ビューワの開

発』では、実験画像データや実験ノートのアーカイブを目的とした画像閲覧ソフトを開発した。閲覧ソフトに登録された画像はテーマごとに自由に再編纂することができ、集めた画像には図形やコメントなどのアノテーションを付けて閲覧・保存することが可能である。これにより、これまで困難であった実験画像データに関する知識構造化および知識共有を支援することができるようになった。

(iv) 『遺伝子発現プロフィールによる類似細胞検索システム』では、当プロジェクトのシステムにデポジットされるデータとして、幹細胞やその誘導細胞の RNA-seq データなどの遺伝子発現プロフィール情報が多

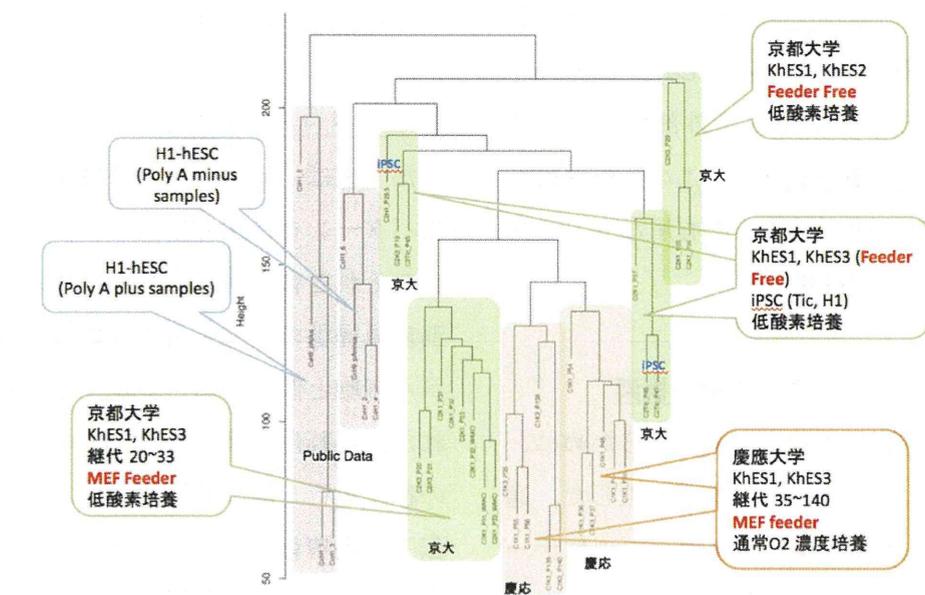
かったので、自分が検索しようとする細胞の発現データとよく似た発現パターンを示す細胞をデポジットデータもしくは公共データの中から検索するために開発した。公共データだけを検索するバージョンは外部向けの公開も行った(Expression Search: <http://expression-search.hgc.jp/cgi-bin/searchExpression/top.cgi>)。

これらのソフトウェアはどれも基本的には利用者に無料で公開することになっているが、研究計画が突然打ち切りになったために十分にその準備ができない状態になっている。

3. システムの運用・整備・再編成

第一線の研究者が安心して効率的に情報共有を行えるように、システム説明会(年数回)や日々の相談などを通して班員(現場の研究者を含む)からの要望を聞き、システムの安定的運用と改善に努めた。また、インシデント対応手順などの現場に密着したマニュアル的なものから、情報セキュリティ対策のポリシーまで、情報セキュリティ規定の体系的な整備を行った。また、パイロット的に中核拠点と1箇所の分担者所属拠点(東京大学医科学研究所附属病院)において、情報セキュリティ監査を実施した。ELSI関係の環境整備としては、上述のように、3拠点以上が関与する場合の倫理申請手順の大幅スピードアップを実現した。

ヒトES細胞培養の多施設間比較



4. データ共有と再利用の活性化
システムの利便性が向上したこともあり、

平成26年度には17の拠点間共同研究が立ち上がった。中でも、当初班員からのそれ

ぞれ独立な発案により計画された、間葉系幹細胞の品質変化に関するマーカー遺伝子探索研究と、同一株由来の ES 細胞の培養条件等の違いによる性質変化の比較研究が融合して、データ共有範囲が拡大しているのは、本システム利用の特徴的成果と言える。理化学研究所拠点の高橋政代チームリーダーから提供された世界初の iPS 細胞臨床試験のための申請書類も、関連書類へのリンク付きの Web ドキュメントの形で、共有を行った。これは、新たに再生医療の臨床研究を始める場合に大変参考になるものと、班員からの評価も高かった。さらに、再生医療のいわゆるウェット研究に対して、大量データのコンピュータ解析を伴うドライ研究を融合させるという観点からみても、論文投稿・発表段階まで進んだものがいくつか出ている。また、論文発表はまだだが、細胞の分化万能性をみるテラトーマ作成実験結果の画像データを収集したデータベース OpenTein を構築し、外部に公開した (<http://opentein.hgc.jp/>)。このデータは今後の画像解析研究のための有用なリソースになるものと期待される。

5. ポストプロジェクト体制の模索

いわゆる準会員制度を実現するために、ownCloud というシステムを導入した。通常の商用クラウドサービスが、どこにデータを置いているのかわからないという、セキュリティ上の不安を抱えているのに対して、このオープンソースのソフトウェアでは、自前の計算機システム内部で専用のオ

ンラインストレージを実現するものであり、安全性の点で優れている。ただし、本格的運用を行うためには、単にハード的な設定を整えるだけではならず、運用体制の充実や規則の整備などが必要であるため、研究打ち切りまでに実際の運用実験を行うことはできなかった。「つくしの会」なる幹細胞若手研究者の会との交流を通して、本プロジェクトへの積極的参加を希望する若手研究者を数名スカウトした。また、将来少しでも自律的運用に近づけていくためには、企業会員に有料で参加してもらう形が望ましいと考え、再生医療イノベーションフォーラム (FIRM) や iPS 細胞ビジネス協議会の関係者との交流を通して、関連企業のニーズを調査した。その結果、今後の国のガイドライン策定のための基礎データ収集という点では、我々と企業の関心が大きくオーバーラップすることを見出した。

6. データマイニングその他

たとえば、体内の種々の細胞の遺伝子発現パターンを多次元空間に投影し、がん細胞のそれと合わせて表示してみたところ、別班員提供の論文未発表の幹細胞の一部ががん細胞と似ていることが予想外に発見された。これは今後の幹細胞やその誘導細胞の移植を行う際の造腫瘍性をあらかじめ遺伝子発現情報から予測できる可能性を示すもので、新しい共同研究として展開中である。

7. 実験ノートの電子アーカイブ化推進

中核拠点に比較的安価なスキャナーを導入し、部屋の照明の具合などを含む条件検討を行い、学生がアルバイトなどでノートのスキャンを行った場合でも一定の品質が得られるような手順を策定した。これに基づき、提供を受けた実験ノートのスキャン実験を行い、A4 サイズで合計 6324 ページ分のスキャンデータを蓄積した。

8. プロジェクト終了後の現状

平成 27 年 3 月 27 日に、翌月からの研究の打ち切りを告知された。それまではプロジェクトの当初計画通りの実施を全力で目指していたため、その後処理の目処が立たず、本報告書執筆時点でも大変苦勞している。本研究費で雇用させていただいた研究員については、無理をして別予算で首をつないでもらったり、やむを得ず、雇用をあきらめたりといった事態になったと聞いている。また、札幌のデータセンターの契約解除は 2 ヶ月以上前に告知が必要であり、サーバ類の輸送費も、やむなく中核機関の上層部に補填していただくよう依頼した。各拠点に設置していたサーバ類も、ほとんどは一旦中核拠点で引き取ることになった。さらに、一部のソフトウェアの保守契約は 1 年単位になっており、契約の切れ目が年度初めではないので、やむなく（支払いは平成 27 年度予算で行う予定で）平成 27 年度にまたがる形で契約せざるを得なかった。それらの経費は合計 2000 万円近くにもものぼり、我々の研究成果が厳しい評価を受けたことは反省しなければならないと思うし、

平成 26 年度の進捗によっては打ち切りもあり得るということは、何度もきかされていたが、年度途中でこちらから継続を断念する以外は年度の終わりまで継続を目指して全力を尽くすしかなく、最終的にはこのような金銭的ペナルティまで受けなければならないのは制度的に欠陥があるのではないかと考える。ちなみに本報告書の製本費用なども、あらかじめ準備しておくことは不可能だったので、別予算をあてるしか仕方がない状況である。これまでに本プロジェクトのためにかけた予算を少しでも有効利用するためには、少額でも予算をつけて、研究成果をできるだけ公開・発展させていく支援を行うべきではないかと思う。

D. 考察

平成 27 年度継続申請に対する評価委員会からは大変厳しいコメントを頂戴している。各方面からの期待に十分こたえられなかったことについては、反省しなくてはならない点多々あることは事実である。しかし、単なる言い訳に聞こえてしまうかもしれないが、通常の再生医療系の厚生労働省プロジェクトとは非常に異色なプロジェクトであったので、その点を以下でプロジェクト成立の経緯も含めて記録に残しておきたい。

まず、このプロジェクトは、厚生労働省からの指定研究として、研究内容もメンバーもあらかじめ決まっていたということを再度確認しておきたい。さらに、最初の 2

の中で相応の役割を果たせたと考えている。今回のプロジェクトの成果は、平成 27 年 12 月に神戸で開催予定の BMB2015（日本分子生物学会年会、日本生化学会大会合同大会）のワークショップ「情報共有型再生医療研究の夜明け」（オーガナイザー：末盛博文、中井謙太）の提案が採択されたため、その場にて発表する予定である。このプロジェクトで起こした灯を消すことのないよう、聴衆に訴えていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表（研究代表者が含まれるもののみ記す）

Sung-Joon Park, Terumasa Umemoto, Mihoko Saito-Adachi, Yoshiko Shiratsuchi, Masayuki Yamato, and Kenta Nakai, Computational promoter modeling identifies the modes of transcriptional regulation in hematopoietic stem cells, *PLoS One*, **9**(4), e93853 (2014).

Yosvany López, Alexis Vandebon, and Kenta Nakai, A Set of Structural Features Defines the *Cis*-Regulatory Modules of Antenna-Expressed Genes in *Drosophila melanogaster*, *PLoS One* **9**(8), e104342 (2014).

Sung-Joon Park, Katsuhiko Shirahige, Miho Ohsugi and Kenta Nakai,

DBTMEE: a database of transcriptome in mouse early embryos. *Nucl. Acids Res.*, **43**, D771-776 (2015).

Ayako Suzuki, Hiroyuki Wakaguri, Riu Yamashita, Shin Kawano, Katsuya Tsuchihara, Sumio Sugano, Yutaka Suzuki, and Kenta Nakai, DBTSS as an integrative platform for transcriptome, epigenome and genome sequence variation data. *Nucl. Acids Res.*, **43**, D87-91 (2015).

Sung-Joon Park and Kenta Nakai, Computational inference of gene regulation from whole-transcriptome analysis of early embryos (review). In I. Ivanov, X. Olan, and R. Pal eds., “*Emerging Research in the Analysis and Modeling of Gene Regulatory Networks*”, IGI Global, in press.

2. 学会発表(研究代表者が含まれるもののみ、研究会での発表も含む)

Sung-Joon Park, Terumasa Umemoto, Masayuki Yamato, Kenta Nakai, Inferring gene regulatory network from RNA-seq data of mouse hematopoietic stem and progenitor cells. The 8th International Symposium of the Institute Network, P1, Shiran Kaikan, Kyoto, Japan

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Sung-Joon Park and Kenta Nakai	Computational inference of gene regulation from whole transcriptome analysis of early embryos (review)	I. Ivanov, X. Olan, and R. Pal	Emerging Research in the Analysis and Modeling of Gene Regulatory Networks	IGI Global	in press		

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sung-Joon Park, Terumasa Umemoto, Mihoko Saito, Yoshiko Adachi, Yoshiko Shiratsuchi, Mami Asayuki Yamato, and Kenta Nakai	Computational promoter modeling identifies transcriptional regulation in hematopoietic stem cells	PLoS One	9(4)	e93853	2014
Yosvany López, Alexis Vandenberg, and Kenta Nakai	A Set of Structural Features Defines the Cis-Regulatory Modules of Antenna-Expressed Genes in <i>Drosophila melanogaster</i>	PLoS One	9(8)	e104342	2014
Sung-Joon Park, Katsuhiko Shirahige, Miho Ohsugi, and Kenta Nakai	DBTMEE: a database of transcriptome in mouse early embryos	Nucl. Acids Res.	43	D771-776	2015

III. 研究成果の刊行物・別刷り



Computational Promoter Modeling Identifies the Modes of Transcriptional Regulation in Hematopoietic Stem Cells

Sung-Joon Park¹, Terumasa Umemoto², Mihoko Saito-Adachi¹, Yoshiko Shiratsuchi², Masayuki Yamato², Kenta Nakai^{1*}

¹ Human Genome Center, the Institute of Medical Science, the University of Tokyo, Tokyo, Japan, ² Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

Abstract

Extrinsic and intrinsic regulators are responsible for the tight control of hematopoietic stem cells (HSCs), which differentiate into all blood cell lineages. To understand the fundamental basis of HSC biology, we focused on differentially expressed genes (DEGs) in long-term and short-term HSCs, which are closely related in terms of cell development but substantially differ in their stem cell capacity. To analyze the transcriptional regulation of the DEGs identified in the novel transcriptome profiles obtained by our RNA-seq analysis, we developed a computational method to model the linear relationship between gene expression and the features of putative regulatory elements. The transcriptional regulation modes characterized here suggest the importance of transcription factors (TFs) that are expressed at steady state or at low levels. Remarkably, we found that 24 differentially expressed TFs targeting 21 putative TF-binding sites contributed significantly to transcriptional regulation. These TFs tended to be modulated by other nondifferentially expressed TFs, suggesting that HSCs can achieve flexible and rapid responses via the control of nondifferentially expressed TFs through a highly complex regulatory network. Our novel transcriptome profiles and new method are powerful tools for studying the mechanistic basis of cell fate decisions.

Citation: Park S-J, Umemoto T, Saito-Adachi M, Shiratsuchi Y, Yamato M, et al. (2014) Computational Promoter Modeling Identifies the Modes of Transcriptional Regulation in Hematopoietic Stem Cells. PLoS ONE 9(4): e93853. doi:10.1371/journal.pone.0093853

Editor: Connie J. Eaves, B.C. Cancer Agency, Canada

Received: December 18, 2013; **Accepted:** March 7, 2014; **Published:** April 7, 2014

Copyright: © 2014 Park et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was supported by Research on Applying Health Technology, Health and Labour Sciences by the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: knakai@ims.u-tokyo.ac.jp

Introduction

Hematopoiesis is a complex and dynamic process, which generates mature blood cells throughout the life of organisms. In the adult bone marrow, long-term hematopoietic stem cells (LT-HSCs) maintain a balanced pool of stem cells, which also differentiates into more mature short-term hematopoietic stem cells (ST-HSCs), multipotent progenitors with a lower self-renewal capacity. It is believed that the blood lineage choice of HSCs is governed by a stepwise cell fate decision [1,2]. However, recent studies have raised questions about the hierarchical hematopoietic system [3,4]. Many studies based on genome-wide gene expression profiling [5–9] have demonstrated that specific extrinsic and intrinsic regulators play key roles in hematopoiesis [10–12]. Recently, high-throughput sequencing techniques have been applied widely [13–15], which have provided new insights into *in vivo* transcription factor (TF) binding and epigenetic modifications [16–18]. Systems biology approaches are also enhancing our understanding of the regulatory dynamics of hematopoiesis [19].

Despite the biological importance of the formation of all blood cells via a transition from LT-HSC to ST-HSC, little is known about the mechanism that underlies this early differentiation. A major explanation for this deficiency is a lack of comprehensive genome-wide identification studies and characterizations of the

regulatory elements that govern gene expression in HSCs. The profiling of potential key regulators [8,17,20] and the large-scale integration of datasets [21,22] have improved our understanding greatly. However, these studies are limited to a small number of factors that function in heterogeneous HSCs, which were isolated using different combinations of monoclonal antibodies. Therefore, unconsidered key regulators may exist at this early stage of hematopoiesis. Indeed, novel key factors [23,24] and new multipotent progenitors [3,4,25] have been identified recently.

To address these deficiencies, we developed a computational method on the basis of novel transcriptome data from adult mouse bone marrow HSCs; CD34⁻KSL (c-kit⁺Sca1⁺Lin⁻) LT-HSCs and CD34⁺KSL ST-HSCs, a widely used strategy to isolate HSCs at high purity [26,27]. Our method uses a regression-based approach [28–30] to model the linear relationships between gene expression and the characteristics of regulatory elements compiled from a database. In the present study, we extended this regression modeling-based approach using large-scale log-linear modeling (LLM) [31], which considered the combinatorial nature of TFs. Thus, our method can systematically infer the regulation modes exerted by TFs that are probably necessary for gene expression, as well as suggesting synergistic TF modules. Using our transcriptome profiles and this novel method, we characterized transcriptional regulatory modes related to HSCs, which suggested the