

平成28年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：再生医療実現拠点ネットワークプログラム

(幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム)

Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine

(Stem cell & Regenerative medicine research fund program for innovation)

研究開発課題名：Prime型ヒトiPS細胞のNaïve化/腫瘍化/分化指向性を規定する境界エピゲノムネットワークの解析

Analysis of boundary epigenome networks that regulate Naïve/tumorigenic/differentiation property of primed human iPS cells

研究開発担当者 国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科

所属 役職 氏名：准教授 西野光一郎

Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine/

Faculty of Agriculture, University of Miyazaki,

Associate Professor Koichiro Nishino

実施期間：平成28年11月15日～平成29年3月31日

分担研究 ヒトiPS細胞のDNAメチル化解析とビッグデータの統合・解析

開発課題名： Analysis of big data of DNA methylation in human iPS cells

研究開発担当者 国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科

所属 役職 氏名：准教授 西野光一郎

Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine/

Faculty of Agriculture, University of Miyazaki,

Associate Professor Koichiro Nishino

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

(和文)

ヒト多能性幹細胞研究は、再生医療の実現を見据えた社会的期待の大きい分野であるが、克服すべき課題が多く存在する。課題克服の基盤となるのが、ヒト多能性幹細胞の性質を正確に理解、検証、規格化することである。しかし、ES細胞、iPS細胞、間葉系幹細胞を含む各ヒト幹細胞株の性質を正確に理解、評価し、安全性を保證する評価スタンダードは未だ確立していない。マイクロアレイや次世代シーケンサーによる解析が一般化されつつあり、iPS細胞の内包する遺伝子発現やエピゲノムの広大な総合ネットワークの網羅的情報が利用できるようになってきた。しかし、これら膨大なデータを利用した

iPS 細胞評価法の大部分は一部の特異的マーカーの取得に限った選択的な利用法であり、ビッグデータのほとんどが活用されていない。しかし、幹細胞の性質は、限られた遺伝子の働きのみで規定されるものではなく、細胞固有の広大なゲノム・エピゲノムネットワークで規定されているのは異論のないところである。すなわち多能性幹細胞の性質を正確に理解、評価するには、このネットワークに関わる多様な因子を包括的に解析、検定、評価することが必要であり、そのためにはバイオビッグデータの解析方法の創生が必須となる。本研究では、iPS 細胞から得られる様々なバイオビッグデータ（DNA メチル化、遺伝子発現、ヒストン修飾、クロマチン高次構造、ユビキチン修飾）から細胞の持つ遺伝子・ゲノムネットワークを包括的に解析し、最新の人工知能（AI）技術である機械学習技術を用いてヒト iPS 細胞の腫瘍化、分化指向性などの特性を判別する新たな細胞評価システムを開発し、さらにヒト iPS 細胞の特性を規定するエピゲノムネットワークを同定することを目的として研究開発を進めている。平成 28 年度は、これまでに、研究開発代表者である西野准教授（宮崎大学）は、ヒト体細胞、胚性がん細胞（EC 細胞）、iPS 細胞のサンプル調整、研究開発分担者への分配を行った。さらに、ヒト体細胞、EC 細胞、iPS 細胞サンプルを用いて、5 株の網羅的 DNA メチル化データを取得した。研究開発分担者である堀家准教授（金沢大学）は、宮崎大学より分配されたヒト体細胞、EC 細胞、iPS 細胞サンプルを用いて、3 株の網羅的な遺伝子発現解析データを取得した。研究開発分担者である犬塚准教授（東北大学）は、宮崎大学より分配されたヒト体細胞、EC 細胞、iPS 細胞サンプルを用いて、3 株の網羅的なユビキチン化タンパク質解析データを取得した。研究開発分担者である堀家准教授（金沢大学）と岡村室長（国立成育医療研究センター）は宮崎大学より分配されたヒト体細胞、EC 細胞、iPS 細胞サンプルを用いて、3 株の ChIP-Seq を用いたヒストン修飾解析データを取得した。平行して研究開発代表者である西野准教授（宮崎大学）および研究分担開発者である岡村室長（国立成育医療研究センター）は既存のバイオビッグデータをオンライン機械学習プラットフォームに導入し、機械学習のパラメーターの設定を完了した。網羅的 DNA メチル化データに基づくパイロット版学習モデルによって、ヒト体細胞と iPS 細胞を精度よく判別することができた。各研究分担者により得られたバイオビッグデータは宮崎大学、国立成育医療研究センターへ提供し、機械学習による細胞判別システムの構築へフィードバックした。本年度計画していたバイオビッグデータの取得を達成し、加えてビッグデータに基づく機械学習の環境基盤が整った。次年度以降も継続して蓄積されるヒト体細胞、EC 細胞、iPS 細胞のビッグデータを集約し、機械学習による新規の細胞評価システムの構築を進めていく。

(英文)

Human pluripotent stem cells including ES cells and iPS cells are considered to be powerful tool for drug discovery and regenerative medicine, but there are many problems to be overcome. To resolve the problems, we have to understand, verify and standardize the characteristic of human pluripotent stem cells. However, evaluation criteria for accurately understanding, evaluating, and ensuring safety the characteristic of each human stem cell lines including ES cells, iPS cells, and even though mesenchymal stem cells have been established yet. Due to growing analyzing technologies such as microarray and next generation sequencer, bio-big data including gene expression profiles and comprehensive information on epigenome networks in the cells have become available. Unfortunately, most of the evaluation methods of iPS cells using these huge amounts of data are used for selective applications only for acquiring some specific markers, and most of the big data is not utilized. It is undeniable that the character of stem cells is determined not only by the function of limited genes, but also by cell type-specific genome and/or epigenome networks. Thus, in order to accurately understand and evaluate the characteristics of pluripotent stem cells, it is necessary to comprehensively analyze, test and evaluate various factors related to genome and/or epigenome networks. Therefore, development of a method for analyzing bio-big data becomes needed. In this study, we comprehensively analyze the genome networks based on various bio-big data (DNA methylation, gene expression, histone modification, chromatin conformation, ubiquitin modification) obtained from iPS cells, and have developed a novel cell evaluation system that discriminates characteristics such as tumorigenesis and differentiation directivity of human iPS cells using machine learning technology which is one of the artificial intelligence (AI) technology. Furthermore, we are conducting research aiming to identify an epigenome network that determines the characteristics of human iPS cells. In FY2016, Associate Professor Nishino (University of Miyazaki), who is a research representative, has been working on sample preparation of human somatic cells, embryonic carcinoma cells (EC cells), and iPS cells. These samples have been distributed to research shareholders. In addition, genome-wide DNA methylation data of five samples (human somatic cells and/or EC cells, and/or iPS cells) were obtained. Associate Professor Horike (Kanazawa University), who is a research shareholder, obtained gene expression profile of three samples (human somatic cells and/or EC cells, and/or iPS cells) distributed from University of Miyazaki. Associate Professor Inuzuka (Tohoku University), who is a research shareholder, obtained comprehensive ubiquitinated protein profile of three samples (human somatic cells and/or EC cells, and/or iPS cells) distributed from University of Miyazaki. Associate Professor Horike (Kanazawa University) and head of office

Okamura (National Center for Child Health and Development), who are research shareholders, obtained comprehensive histone modification data of three samples (human somatic cells and/or EC cells, and/or iPS cells) distributed from University of Miyazaki using ChIP-Seq. In parallel, Nishino and Okamura introduced the existing bio-big data to the online machine learning platform, and had been completed the parameter setting. Based on the whole-genome DNA methylation data, human somatic cells and iPS cells could be accurately distinguished by use of the learning model of the pilot version. The bio-big data obtained by each research shareholder was fed back to University of Miyazaki and National Center for Child Health and Development for developing the machine learning system. In conclusion, our research team achieved the acquisition of bio-big data planned this year and the infrastructure for machine learning based on big-data has been prepared. In the next year, we will accumulate continuously the bio-big data of human somatic cells, EC cells, and iPS cells and will proceed with the construction of a novel cell evaluation system by machine learning.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1 件、国際誌 1 件）

1. Nishino K, Umezawa A. DNA methylation dynamics in human induced pluripotent stem cells. 2016, Hum Cell. 29(3): 97-100.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
無し

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
無し

(4) 特許出願  
該当なし

平成 28 年度 委 託 研 究 開 発 成 果 報 告 書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 再生医療実現拠点ネットワークプログラム (幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム) 研究事業  
(英語) Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine(Stem cell & Regenerative medicine research fund program for innovation)
- 研究開発課題名： (日本語) **Primed**型ヒトiPS細胞のNaïve化/腫瘍化/分化指向性を規定するエピゲノムネットワークの解析  
(英語) Analysis of boundary epigenome networks that regulate Naïve/tumorigenic/differentiation property of primed human iPS cells
- 研究開発担当者所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人宮崎大学農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科 准教授 西野 光一郎  
(英語) Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine/Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, Associate Professor Koichiro Nishino
- 実施期間： 平成 28 年 11 月 15 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究開発課題名： (日本語) ヒトiPS細胞のクロマチン高次構造解析  
(英語) Analysis of Higher order chromatin structure in primed human iPS cells
- 研究開発分担者所属 役職 氏名： (日本語) 国立大学法人金沢大学 学際科学実験センター 准教授 堀家 慎一  
(英語) Advanced Science Research Center, Kanazawa University, Associate Professor Shin-ichi Horike

## II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：宮崎大学・農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科・西野光一郎  
総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌0件、国際誌0件）  
該当なし
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当なし
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当なし
- (4) 特許出願  
該当なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : 再生医療実現拠点ネットワークプログラム (幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム) 研究事業  
Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine  
(Stem cell & Regenerative medicine research fund program for innovation)

研究開発課題名 : Prime 型ヒト iPS 細胞の Naive 化/腫瘍化/分化指向性を規定する境界エピゲノムネットワークの解析  
Analysis of boundary epigenome networks that regulate Naive/tumorigenic/differentiation property of primed human iPS cells

研究開発担当者 国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科  
所属 役職 氏名 : 准教授 西野光一郎  
Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine/  
Faculty of Agriculture, University of Miyazaki,  
Associate Professor Koichiro Nishino

実施期間 : 平成 28 年 11 月 15 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 ヒト iPS 細胞のビッグデータの統合と解析  
開発課題名 : Integrated analysis of big data obtained from human iPS cells

研究開発分担者 国立研究開発法人 国立成育医療研究センター  
システム発生・再生医学研究部 室長 岡村 浩司  
所属 役職 氏名 : Department of Systems BioMedicine,  
National Research Institute for Child health and Development  
Division chief Kohji Okamura

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者 : 宮崎大学・農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科・西野光一郎  
総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 3 件）

1. OKAMURA K, SAKAGUCHI H, SAKAMOTO-ABUTANI R, NAKANISHI M, NISHIMURA K, YAMAZAKI-INOUE M, OHTAKA M, PERIASAMY VS, ALSHATWI AA, HIGUCHI A, HANAOKA K, NAKABAYASHI K, TAKADA S, HATA K, TOYODA M, UMEZAWA A. Distinctive features of single nucleotide alterations in induced pluripotent stem cells with different types of DNA repair deficiency disorders. *Sci. Rep.* 2016, **6**, 26342.
2. HIGASA K, MIYAKE N, YOSHIMURA J, OKAMURA K, NIIHORI T, SAITSU H, DOI K, SHIMIZU M, NAKABAYASHI K, AOKI Y, TSURUSAKI Y, MORISHITA S, KAWAGUCHI T, MIGITA O, NAKAYAMA K, NAKASHIMA M, MITSUI J, NARAHARA M, HAYASHI K, FUNAYAMA R, YAMAGUCHI D, ISHIURA H, KO WY, HATA K, NAGASHIMA T, YAMADA R, MATSUBARA Y, UMEZAWA A, TSUJI S, MATSUMOTO N, MATSUDA F. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *J. Hum. Genet.* 2016, **61**, 6, 547–553.
3. OKAMURA K, KAWAI T, HATA K, NAKABAYASHI K. Lists of HumanMethylation450 BeadChip probes with nucleotide-variant information obtained from the phase 3 data of the 1000 genomes project. *Genom. Data*, 2016 **7**, 67–69.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ハイブリッドアセンブリによる健常日本人男性の全ゲノム配列決定, ポスター, 岡村浩司, 三浦巧, 中林一彦, 秦健一郎, 佐藤陽治, 梅澤明弘, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：再生医療実現拠点ネットワークプログラム（幹細胞・再生医学イノベーション創出プログラム）研究事業

Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine  
(Stem cell & Regenerative medicine research fund program for innovation)

研究開発課題名：Prime型ヒトiPS細胞のNaive化/腫瘍化/分化指向性を規定する境界エピゲノムネットワークの解析

Analysis of boundary epigenome networks that regulate Naive/tumorigenic/differentiation property of primed human iPS cells

研究開発担当者 国立大学法人宮崎大学 農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科  
准教授 西野 光一郎

所属 役職 氏名： Graduate School of Medicine and Veterinary Medicine/  
Faculty of Agriculture, University of Miyazaki,  
Associate Professor Koichiro Nishino

実施期間： 平成28年 11月 15日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 ヒトiPS細胞のユビキトーム解析

開発課題名： Human iPS ubiquitome analysis

研究開発分担者 国立大学法人東北大学 歯学研究科先端再生医学研究センター  
准教授 犬塚 博之

所属 役職 氏名： Center for Advanced Stem Cell and Regenerative Research  
Tohoku University Graduate School of Dentistry  
Associate Professor, Hiroyuki Inuzuka



## II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：宮崎大学・農学部獣医学科/医学獣医学総合研究科・西野光一郎  
総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
無し
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
無し
- (4) 特許出願