

解説

世界と日本における Human Cell Atlas への取り組み

安藤 吉成 Shin Jay W. Carninci Piero

Key words : Human Cell Atlas (HCA), HCA Data Portal, Single Cell Medical Network in Japan (SC-Med)

ヒトの体は、様々なタイプの37兆個を超える細胞から構成され、それぞれの細胞が相互に作用しながら、様々な機能を果たしていると考えられている。Human Cell Atlas (HCA)は、“生体の基本単位”である個々の細胞を、種類・状態・系統などを分類・カタログ化・位置情報を明確化することにより、ヒトの健康状態を理解し、病気の診断・検査・治療に用いることができる、人体のリファレンスアトラス「ヒト細胞アトラス」の作成を目的とした、世界的なイニシアチブ(構想)である。「ヒト細胞アトラス」はオープンアクセスリソースとして誰でも利用でき、臓器、組織、システム、細胞と、各細胞タイプの位置と分子の詳細を順に参照することができるようになる。研究者はヒトの生物学をよりよく理解し、医療関係者は疾患ごとに变化する細胞タイプを特定し、新しい診断と治療法の発見を導くことが期待される。本稿では、世界と日本における Human Cell Atlas への取り組みを紹介したい。

I Human Cell Atlas

現在の主流である遺伝子発現解析法で得られるデータは、培養細胞や組織・臓器から採取した多数の細胞集団をまとめて分析した細胞集団の平均値であり、個々の細胞およびその相互作用の情報

は失われる。同じ組織・臓器から採取された細胞群であり、形態学的に類似であっても、それぞれの細胞で発現している遺伝子の種類と数が異なることが明らかになっており、細胞集団を構成する個々の細胞および形成される組織・臓器の再定義が重要視されている¹⁾。

近年の解析技術の進歩により、1万-10万個の個々の細胞の、RNA転写産物、タンパク質、クロマチン状態などの分子成分解析(1細胞解析)を、ハイスループットでリーズナブルに作成することが可能となった。また、得られた1細胞解析データをもとに細胞系列の再構築が可能となり、形状の異なる細胞を互に関連づけて解析することができるようになった²⁾。それにより、異なる組織・臓器においても、同じ種類の細胞が存在することが明らかになっている。更に、様々なRNAや複数のタンパク質を細胞・組織上に可視化することができるようになり、それらの分子を組織切片上のそれぞれの位置にマッピングする、空間的発現解析が可能となった^{3,4)}。これらの解析技術を組み合わせ、個々の細胞における分子的・空間的特性のプロファイルをもとに、コンピューター解析を駆使して細胞の種類と状態を分類することにより、組織ごとの1細胞レベルの解像度の「細胞地図」を作成することができる。

Collaborative effort to create the Human Cell Atlas in the world and Japan

Ando Yoshinari, Shin Jay W., Carninci Piero: 理化学研究所生命医科学研究センター(〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22)

0370-9531/12/¥500/論文/JCOPY

これらの「細胞地図」は、細胞の運命や系統、細胞周期や過渡応答などの動的状態、細胞内および細胞間応答を形成する分子メカニズム、疾病研究および病理学のための基礎情報など、様々な分野の生物学的に重要な問題に対する答えを示すことができるかと期待される。実際に、複数の臓器や組織(肺, 脳, 腸, 肝臓, 網膜, 免疫系など^{1,5-11)})において新しい種類の細胞が発見されており, 新たな知見は免疫系の未知の機能¹²⁾や, 腫瘍でのエコシステムのダイナミクス¹³⁾に関する洞察をもたらしている。また, これらの成果は橋渡し研究として, 既に診断や臨床研究に影響を与えている。

それぞれの組織・臓器を構成する細胞に関する知見は集まりは始めているが, 個々の細胞の機能が組織・臓器全体でどのように関連づけられているかについては, まだ包括的に捉えられていない。また, 形態学的に同一の細胞であっても, 細胞の機能および細胞間の相互作用は組織・臓器ごとに異なる場合もあり, ヒトの体がどのように健康状態を維持し, 疾患時にどのように機能不全に陥るかについて理解するためには, ヒト全身の「細胞地図」をカタログ化した「ヒト細胞アトラス」が必要となる。健康なヒトにおいて, すべての細胞がどこでどのように機能しているかを示すリファレンスアトラスがあれば, 患者の疾患組織と比較することにより, 問題箇所の特定を容易に行うことができる。

普遍的な“正常”リファレンスアトラスとしての「ヒト細胞アトラス」を作成するためには, より多くの検体数が必要となる。更に, 地域間のヒトゲノムの違いを包含するためには, それぞれの地域で採取した細胞サンプルを使って分析する必要がある。例えば, 欧米人のサンプルだけを分析してつくったヒト細胞アトラスでは, アジア人特有の疾患の原因解明に直接つながらないケースが想定される。しかしながら, 1細胞レベルの解像度で複数の人種の「ヒト細胞アトラス」を作成することは, 単独の研究室や研究所が取り組むプロジェクトとしてはあまりに大きすぎる。それぞれの地域・機関で検体を採取し, 各研究者が興味のある組織・臓器の細胞を解析し, 世界中のデータを統合後に数理的に処理を行い, いわゆる“数

(n)の力”で個々の細胞のタイプを包括的に捉えることにより, 普遍的な“正常”リファレンスアトラスの作成が可能になる。一方で, 統合的かつ体系的な解析を行うためには, 高品質で一貫性のある相互運用可能なサンプル調製法および解析データが不可欠となる。また, 解析した細胞の分類には, 生物学および臨床の様々な分野の専門家の意見が必要となり, 多くの研究者が利用する価値のあるデータリソースを生成するためには, より多くの研究チームが統合的かつ体系的に協力する必要がある。

生物学者, インフォマティシャン, エンジニア, および医療関係者などの多様な専門家が, 国境を越えて, それぞれの知識を共有し協力するための学際的なネットワークとして, 2016年にサンガー研究所(Wellcome Sanger Institute)のSarah Teichmann博士とブロード研究所(Broad Institute)のAviv Regev博士を中心として, 国際研究コンソーシアムHCAが発足された^{14,15)}。日本の理化学研究所(理研)はサンガー研究所, ブロード研究所, カロリンスカ研究所(Karolinska Institutet)と共に, プロジェクトの中核機関として位置づけられている。現在(2020年3月), 70か国の1,000以上の大学・研究機関が参画している(<https://www.humancellatlas.org/join-hca/>)。HCAの運営方針は, 世界的に著名な研究者約30名から構成されるOrganizing Committee(OC)により決定され, Analysis Working Group(AWG), Ethics Working Group(EWG), Standards and Technology Working Group(STWG), Equity Working Group(EqWG)などの様々な専門的なワーキンググループの支援のもと, 科学的, 技術的, 倫理的な卓越性および統一性が維持されている。1年に1-2回開催される総会での議論は, 最新の研究成果・知識の共有のためにライブストリーミングおよび録画され, 全世界に公開されている(<https://www.youtube.com/channel/Uck7wBjw53JdpLYBCvzHosWA>)。また, ヒトを構成する多様な細胞の情報を共有するため, USAのHuBMAP(<https://hubmapconsortium.org>)やEUのLifeTime Initiative(<https://lifetime-fetflagship.eu>)とも協力体制を整えており, 2020

年 3 月末には HuBMAP と HCA との合同会議である NIH-HCA 2020 Joint “Virtual” Meeting (<https://hubmapconsortium.org/nihhca2020/>) が開催された。

ヒト全体の細胞アトラスを作成するためには、より多様で高品質な組織サンプルが必要となる。生きているドナーからは得られない臓器・組織サンプルに関しては、可能な限り死後に得られた標本サンプルも使用し、更に入手困難な臓器・組織に関しては、iPS 細胞由来の分化細胞集団やオルガノイドなどを用いる必要もある¹⁶⁾。サンプルの採取時には、現時点における最高の倫理基準に従い、サンプル提供者から十分なインフォームドコンセントを取得し、その同意の条件を遵守し、必要最大限の範囲で提供者のプライバシーを確保している。また、多種の貴重なドナーサンプルを用いるため、解析が困難な臓器・組織サンプルも存在する。サンプルの採取・調製法に関しては、世界中の HCA コミュニティによって構築されているサンプル調製法のデータベース (Protocols.io, <https://www.protocols.io/groups/hca/publications>) を介して、臓器・組織ごとに標準化した方法の確立、共有が進められている。

HCA では、様々な臓器や組織の 1 細胞解析および空間的発現解析のデータを、独自のオープンデータプラットフォーム (HCA Data Portal, <https://data.humancellatlas.org>) に統合・共有することを目指している。並行して、各臓器システムや胎児発生などの複雑な性質を更に深く掘り下げる解析に特化した研究ネットワークの構築、および各臓器の研究コンソーシアムとの連携も行っている (例: HCA Biological Networks, <https://www.humancellatlas.org/coordinators/>; Allen Brain Map, <https://portal.brain-map.org>; NIH Brain Initiative, <https://braininitiative.nih.gov>; Human Developmental Cell Atlas, <https://hdca-sweden.scilifelab.se> など)。また、HCA の構想に賛同する世界中の非営利団体や政府機関より、HCA にデータを提供することを前提とした様々な研究プロジェクトに対し、複数年にわたる研究資金の提供が行われ、「ヒト細胞アトラス」の作成がサポートされている (例: Seed Networks for the

Human Cell Atlas, <https://chanzuckerberg.com/science/programs-resources/humancellatlas/seednetworks/>; Gut Cell Atlas, <https://www.gutcellatlas.helmsleytrust.org>; EU Horizon 2020, <https://www.humancellatlas.org/euh2020/>; Medical Research Council, <https://mrc.ukri.org/news/browse/funding-boost-for-initiative-mapping-entire-human-body/initiative-mapping-entire-human-body/> など)。

II HCA のデータ公開ポリシー

HCA は、ヒトゲノムプロジェクトや 1,000 人ゲノムプロジェクトなどの先駆的なゲノムプロジェクトと同様に、倫理的および法的なコンプライアンスで認められる範囲内で、可能な限り迅速かつ正確なデータの公開を目指している。HCA Data Portal では、登録されたデータの保管だけでなく、データを解析パイプラインで自動処理し、インフォマティクス解析が不得手な研究者も利用できる形のデータに可視化することも可能である。各データセットには、DOI およびアクセッション番号が割り振られ、当該データの使用時には、これらの番号を引用する必要がある。

HCA Data Portal に登録されたデータは、フォート・ローダーデール協定 (<https://www.sanger.ac.uk/legal/assets/fortlauderdalereport.pdf>) の「論文で公表される前に、研究者コミュニティがゲノム配列データを自由に利用できるようにすること (pre-publication data release)」に従って公開される。ゲノム配列データの公開に関するサンプル提供者の同意および法的規制が、国や研究計画ごとに異なることを考慮して汎用性が高いデータプラットフォームになっているが、可能な限り制限の少ないデータの公開と使用を目指している。データ利用者は HCA Data Portal に登録されたデータの一部またはすべてを解析することができるが、データ生産者もしくは登録者が当該データを用いたグローバル解析の論文を公表するまで、データ利用者はグローバル解析の公表は控えなければならない。一方で、データ利用者が、特定の遺伝子ネットワークにおける限られた数の遺伝子を解析するために HCA データを使用

する場合には、そのデータをグローバル解析に用いない限り、データ生産者もしくは登録者にデータの使用を通知し、データの引用元を明示することにより、発表および論文公表することが可能である。データ生産者もしくは登録者が各自のグローバル解析の論文を公表後に、データ利用者が当該データをグローバル解析の論文に用いる際には、データ生産者もしくは登録者に対し、オープンシップなどの敬意が払われる必要がある。

III Single Cell Medical Network in Japan (SC-Med)

日本における HCA の活動の一つとして、理研が研究ハブとなり、Single Cell Medical Network in Japan (SC-Med) を立ち上げている。SC-Med では、理研や各大学で様々な組織・臓器の疾患研究を行う研究者が窓口となり、倫理委員会などでの承認を受けた研究計画に基づいて、患者の同意のもと、医療機関の臨床医から細胞サンプルの提供を受けている。データ解析は理研が中心となり、RNA の 5' 末端からのシーケンシング (5'-RNA-seq) による 1 細胞解析および空間的発現解析を行っている。この活動のために、サンプルの採取方法や品質、データ解析法、データ共有システムなどを標準化し、全国の臨床医および研究者との連携を促進するための枠組みを確立している。

SC-Med では、健常ドナーだけでなく疾患ドナーのサンプルも収集しており、得られたデータは、SC-Med のデータベースに統合すると共に、医療研究に利用できる形のデータに可視化して、サンプル提供元の大学や医療機関にフィードバックし、個々の研究者または臨床医が主導する研究の促進を目指している。また、HCA のオープンデータと組み合わせた解析を行うことにより、海外の他の人種のデータとの比較ができ、日本人特有の疾患の発症原因となる細胞種や遺伝子の特定が期待される。健常ドナーサンプルから得られたデータに関しては、ドナーの同意のうえ、可能な限りオープンデータとして HCA コミュニティと共有する予定である。

ヒトの体を構成する個々の細胞はほぼ同じゲノ

ム DNA を持つが、細胞ごとに異なる RNA が広範に転写され、機能的多様性を示している。近年の 1 細胞解析技術の進歩により、タンパク質をコードするメッセンジャー RNA だけでなく、エンハンサー RNA を含むノンコーディング RNA の転写開始部位を正確にマッピングすることが可能となり、1 細胞レベルの解像度で各遺伝子のプロモーターやエンハンサーのような発現制御領域を明らかにすることができる¹⁷⁾。SC-Med の最初の取り組みとして、日本人の健常および疾患ドナーから提供される、比較的小規模の臓器・組織のサンプルセットから、プロモーターやエンハンサーの情報を含む 1 細胞レベルの遺伝子発現データを収集・解析し、実用性の高いアトラス (Human Cell Regulatory Atlas) の作成を目指している。個々の遺伝子の発現レベルに基づいた細胞の多様性の情報に、1 細胞レベルの遺伝子発現制御の情報を加味することによって、より正確かつ多様な細胞の種類と動的応答を定義することが可能となり、研究者・医療関係者にとって実用性の高いデータリソースとなり得る。

おわりに

それぞれの臓器や組織を再定義した「細胞地図」をカタログ化し、普遍的な「ヒト細胞アトラス」を作成することにより、ヒト全体を俯瞰的に解析することが可能となる。それにより、個々の臓器・組織の研究では明らかにすることができなかった、異なる臓器間のネットワークの解明が期待される。正確かつ多様な臓器や組織のデータを包含する、日本人の「ヒト細胞アトラス」を作成するために、より多くの様々な分野の日本人研究者・医療関係者の協力が不可欠である。

●文 献

- 1) Smillie CS, Biton M, Ordovas-Montanes J et al : *Cell*. 178 : 714-730.e22, 2019
- 2) Stubbington MJT, Rozenblatt-Rosen O, Regev A, Teichmann SA : *Science*. 358 : 58-63, 2017
- 3) Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S et al : *Science*. 353 : 78-82, 2016
- 4) Vickovic S, Eraslan G, Salmén F et al : *Nat Methods*. 16 : 987-990, 2019
- 5) Plasschaert LW, Žilionis R, Choo-Wing R et al :

- Nature*. **560** : 377–381, 2018
- 6) Lake BB, Ai R, Kaeser GE et al : *Science*. **352** : 1586–1590, 2016
- 7) Hodge RD, Bakken TE, Miller JA et al : *Nature*. **573** : 61–68, 2019
- 8) Aizarani N, Saviano A, Sagar et al : *Nature*. **572** : 199–204, 2019
- 9) Popescu DM, Botting RA, Stephenson E et al : *Nature*. **574** : 365–371, 2019
- 10) Lukowski SW, Lo CY, Sharov AA et al : *EMBO J*. **38** : e100811, 2019
- 11) Villani AC, Satija R, Reynolds G et al : *Science*. **356** : pii : eaah4573, 2017
- 12) Lönnberg T, Svensson V, James KR et al : *Sci Immunol*. **2** : pii : eaal2192, 2017
- 13) Tirosh I, Izar B, Prakadan SM et al : *Science*. **352** : 189–196, 2016
- 14) Regev A, Teichmann SA, Lander ES et al : *Elife*. **6** : pii : e27041, 2017
- 15) Rozenblatt-Rosen O, Stubbington MJT, Regev A, Teichmann SA : *Nature*. **550** : 451–453, 2017
- 16) Regev A, Teichmann S, Rozenblatt-Rosen O et al : <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2018arXiv181005192R>, 2018
- 17) Kouno T, Moody J, Kwon AT et al : *Nat Commun*. **10** : 360, 2019