# スパコンを活用したがんゲノム配列データ解析手法の開発

愛知県がんセンター
システム解析学分野

# はじめに

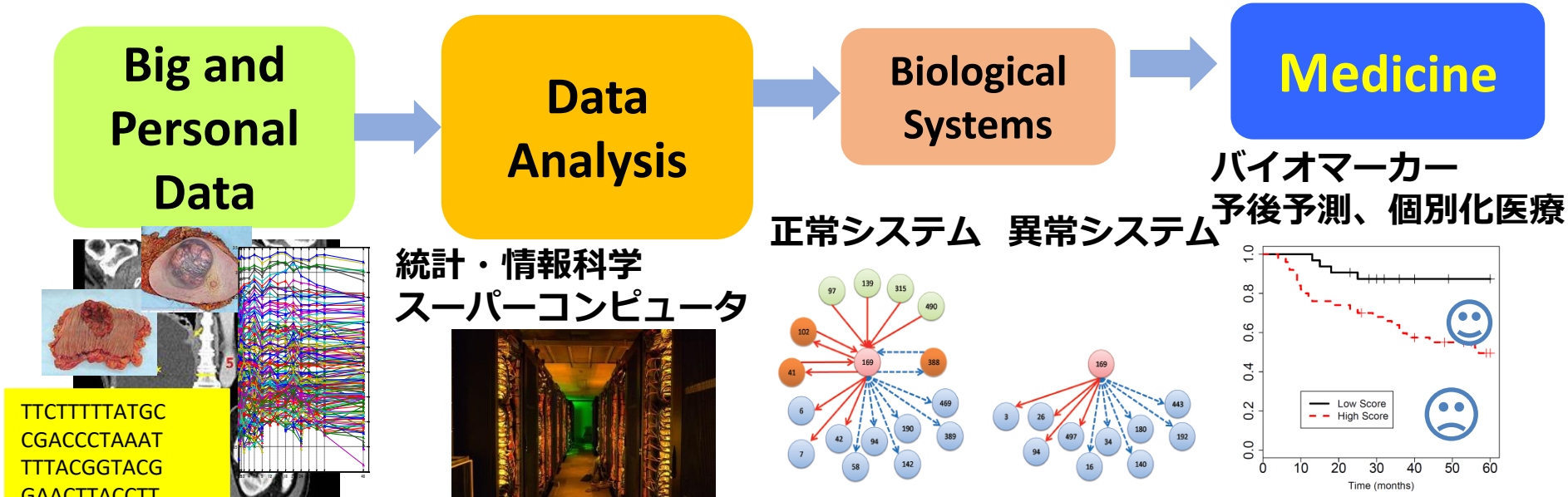
- がん細胞は、正常な細胞中の**DNA（ゲノム）配列**に変異が起きることにより、細胞が異常に増殖する能力などを獲得したものです
- 同種類のがんであっても、ゲノム上で変異の起きる場所や種類の頻度にバリエーションがあります
- 現在**ゲノム上の変異**に応じて治療法の選択を考える、**がんゲノム医療**が、本格化しつつあります
- ここではがんゲノムの変異を見つけるための**元となる観測データ**はどのようなものか、**どのような原理で変異を検出している**のか、また実際にはどのような難しさがあるのかなどを、
システム解析学分野での研究を交えて概説します

# **システム解析学分野**について（１）

- 2019年2月に研究所にできた新しい分野です
- がん細胞から得られた**ゲノムデータ**などの様々な**生体ビッグデータ**を**解析する方法**の研究を行っています
- そして実際に、患者さんのデータから、**がん細胞の複雑なシステム**に関わる情報を抽出し、それを基に**一人ひとりに合わせた医療**へつなげることを目指しています

# システム解析学分野について（２）

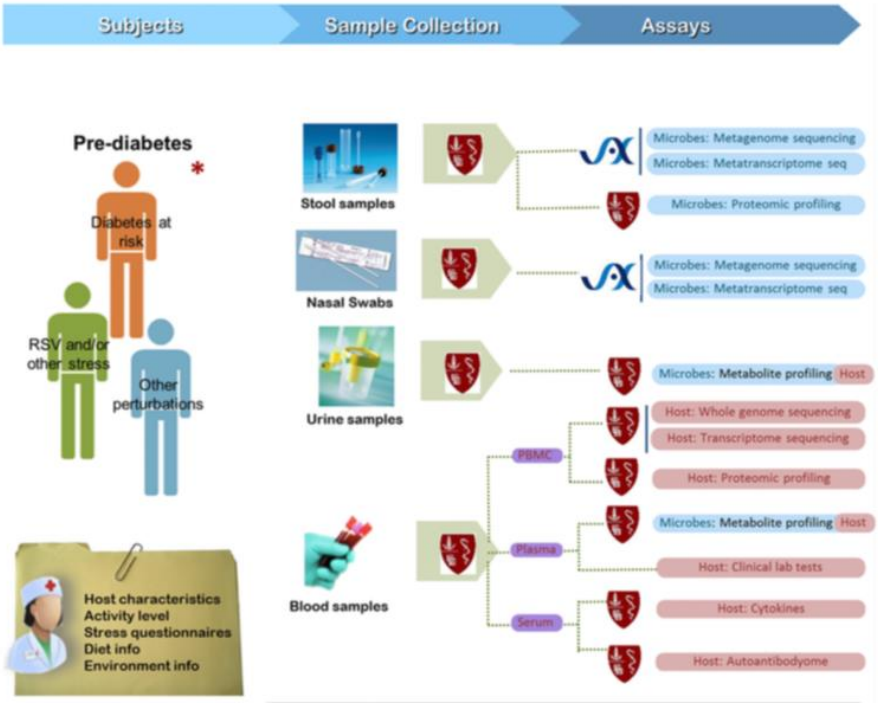
- 研究テーマ
  - メディカルバイオインフォマティクス
  - 大規模生体データからの有用情報抽出のための情報科学・統計科学的データ解析手法開発
  - 人工知能を活用した個別化医療のための情報解析基盤開発



# 近年様々な生体データの取得が可能になってきた

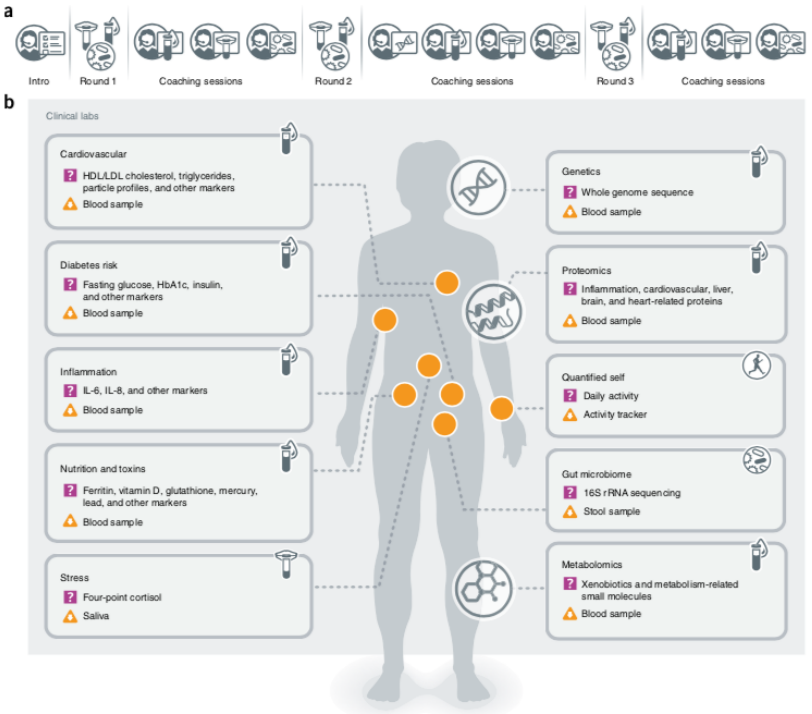
## DNA, RNA, タンパク、メタゲノム、、、

Integrative Human Microbiome Project




Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, *Cell Host & Microbe* , (2014).

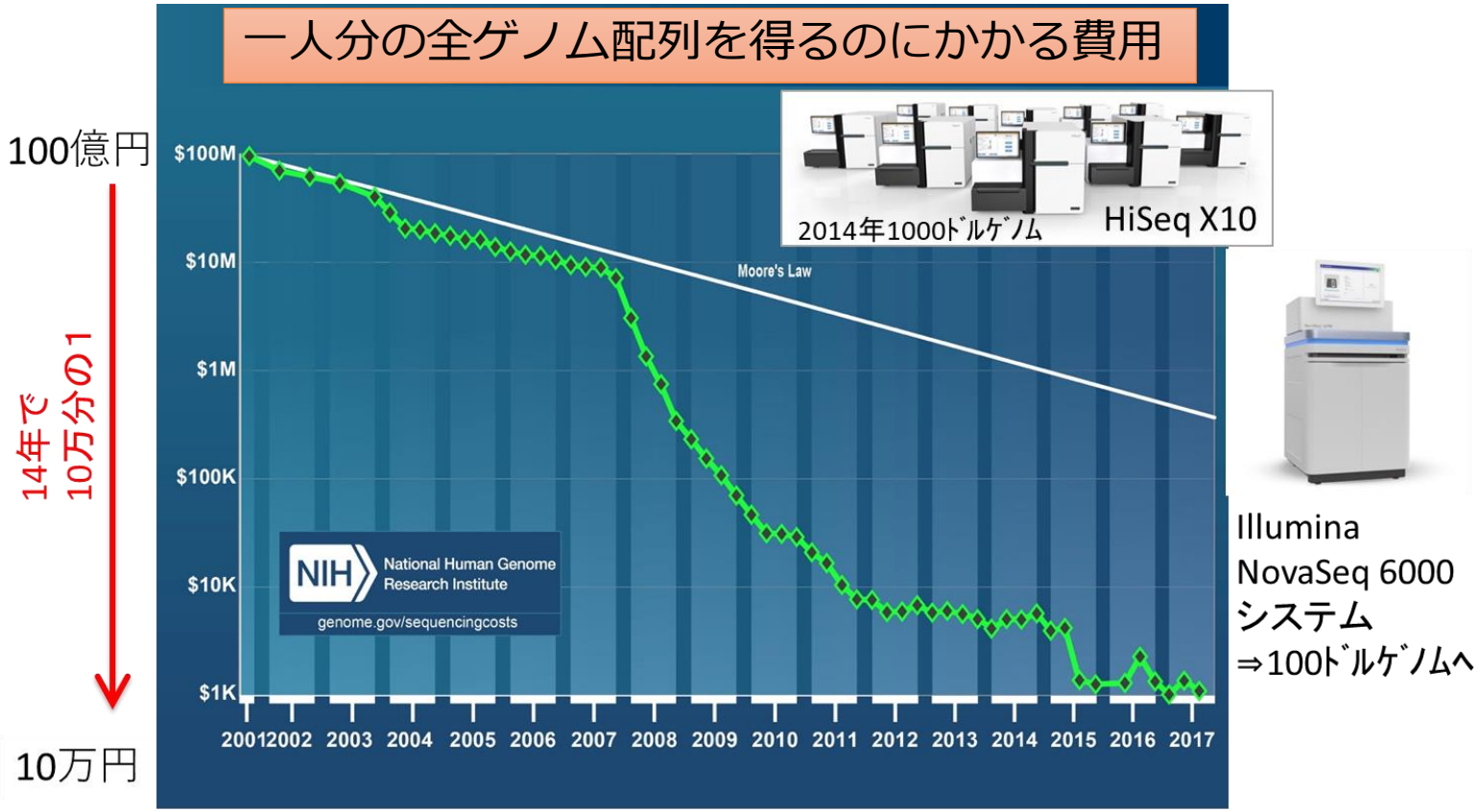
Pioneer 100 wellness project




Price *et al., Nat Biotechnol,* (2017)

# 様々な生体データが大量に取得できるようになった背景

## 計測装置の飛躍的性能向上・計測コスト低下




様々な生体データが大量に取得できるようになった背景には、**DNA**の塩基配列（**シークエンス**）などを計測する**次世代シークエンサー(NGS)**の飛躍的性能向上があります。**一人分の全ゲノム情報を得るのにかかるコストは14年間で10万分の1**になりました。**RNA**などもNGSで計測できます。**腸内細菌叢のゲノム**（メタゲノム）なども読むことができます。**これらのシークエンスデータからがん細胞特有の変異・変化を見つけることで、がんの原因や治療法に関する情報を得ることができます。**

# シークエンスデータって、どんなデータ？

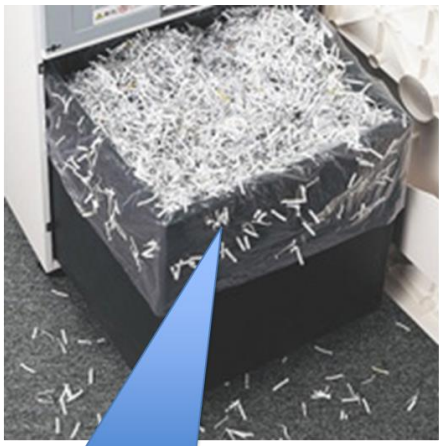
**生のサンプル**

DNAとして抽出
ATCGの4種の文字

次世代シークエンサー

**得られるデータ** ゲノムシュレッダー

100文字ぐらいの断片になった
**21億ピース**
の文字列断片がコンピュータに
吐き出される




※全ゲノムシークエンスを想定

一人分のゲノムは、**4種類の塩基**（A、T、G、C）からなる塩基対、**約30億個分**からなります。現在主流のシークエンサーでは、一度にはDNA中の**約100塩基対分**しか読めません。これは**ATGCの4文字からなる30億文字分の文章が書かれた書類**の束が、シュレッダーにかけられ**100文字ずつの断片**になって出てくるようなものです。通常、がん細胞特有の変異を見つける場合、**がん細胞由来の書類を40コピー分**、**正常細胞由来の書類を30コピー分**、シークエンサーで読み取ります。つまり**21億ピースの文字列断片**が得られます。**ここから各ピースがゲノム上のどこにあったかを正確に決定し、がん細胞と正常細胞の違いを見つけ出す（変異を検出する）必要があります。**

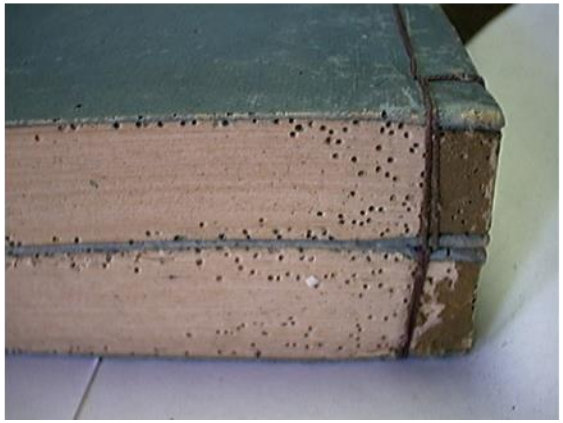
# 「変異」を探し出せ

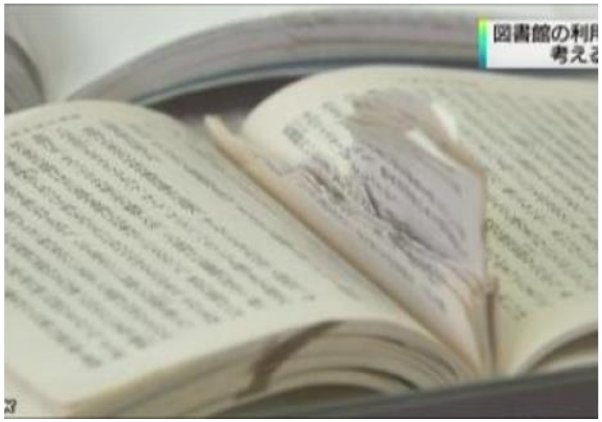
1文字変異

挿入や欠失

転座、逆位・・・

本にたとえれば





# 変異検出にチャレンジ

P53遺伝子（最も有名ながん抑制遺伝子）の一部分。**一文字だけ配列が異なります。**

## 正常細胞のDNA配列

```
gatgggattg gggttttccc ctcccatgtg ctcaagactg gcgctaaaag ttttgagctt
ctcaaaagtc tagagccacc gtccagggag caggtagctg ctgggctccg gggacacttt
gcgttcgggc tgggagcgtg ctttccacga cggtgacacg cttccctgga ttgggtaagc
tcctgactga acttgatgag tcctctctga gtcacgggct ctcggctccg tgtattttca
gctcgggaaa atcgctgggg ctgggggtgg ggcagtgggg acttagcgag tttgggggtg
agtgggatgg aagcttggct agagggatca tcataggagt tgcattgttg ggagacctgg
gtgtagatga tggggatgtt aggaccatcc gaactcaaag ttgaacgcct aggcagagga
gtggagcttt ggggaacctt gagccggcct aaagcgtact tctttgcaca tccacccggt
gctgggcgta gggaatccct gaaataaaag atgcacaaag cattgaggtc tgagactttt
ggatctcgaa acattgagaa ctcatagctg tatattttag agcccatggc atcctagtga
aaactggggc tccattccga aatgatcatt tgggggtgat ccggggagcc caagctgcta
aggtcccaca acttccggac ctttgtcctt cctggagcga tctttccagg cagcccccgg
ctccgctaga tggagaaaat ccaattgaag gctgtcagtc gtggaagtga gaagtgctaa
accaggggtt tgcccgccag gccgaggagg accgtcgcaa tctgagaggc ccggcagccc
tgttattgtt tggctccaca tttacatttc tgcctcttgc agcagcattt ccggtttctt
tttgccggag cagctcacta ttcacccgat gagaggggag gagagagaga gaaaatgtcc
tttaggccgg ttcctcttac ttggcagagg gaggctgcta ttctccgcct gcatttcttt
ttctggatta cttagttatg gcctttgcaa aggcaggggt atttgttttg atgcaaacct
caatccctcc ccttctttga atggtgtgcc ccaccccgcg ggtcgcctgc aacctaggcg
gacgctacca tggcgtgaga cagggaggga aagaagtgtg cagaaggcaa gcccggaggt
attttcaaga atgagtatat ctcatcttcc cggaggaaaa aaaaaaagaa tgggtacgtc
tgagaatcaa attttgaaag agtgcaatga tgggtcgttt gataatttgt cggaaaaaca
atctacctgt tatctagctt tgggctaggc cattccagtt ccagacgcag gctgaacgtc
gtgaagcgga aggggcgggc ccgcaggcgt ccgtgtggtc ctccgtgcag ccctccggcc
cgagccggtt cttcctggta ggaggcggaa ctcgaattca tttctcccgc tgccccatct
cttagctcgc ggttgtttca ttccgcagtt tcttcccatg cacctgccgc gtaccggcca
ctttgtgccg tacttacgtc atcttttcc taaatcgagg tggcatttac acacagcgcc
agtgcacaca gcaagtgcac aggaagatga gttttggccc ctaaccgctc cgtgatgcct
accaagtcac agacccttt catcgtccca gaaacgtttc atcacgtctc ttcccagtcg
attcccgacc ccacctttat tttgatctcc ataaccattt tgcctgttgg agaacttcat
atagaatgga atcaggctgg gcgctgtggc tcacgcctgc actttgggag gccgaggcgg
gcggattact tgaggatagg agttccagac cagcgtggcc aacgtggtga atccccgtct
ctactaaaaa atacaaaaat tagctgggcg tggtgggtgc ctgtaatccc agctattcgg
gagggtgagg caggagaatc gcttgaaccc gggaggcaga ggttgcagtg agccaagatc
```

## がん細胞のDNA配列

```
gatgggattg gggttttccc ctcccatgtg ctcaagactg gcgctaaaag ttttgagctt
ctcaaaagtc tagagccacc gtccagggag caggtagctg ctgggctccg gggacacttt
gcgttcgggc tgggagcgtg ctttccacga cggtgacacg cttccctgga ttgggtaagc
tcctgactga acttgatgag tcctctctga gtcacgggct ctcggctccg tgtattttca
gctcgggaaa atcgctgggg ctgggggtgg ggcagtgggg acttagcgag tttgggggtg
agtgggatgg aagcttggct agagggatca tcataggagt tgcattgttg ggagacctgg
gtgtagatga tggggatgtt aggaccatcc gaactcaaag ttgaacgcct aggcagagga
gtggagcttt ggggaacctt gagccggcct aaagcgtact tctttgcaca tccacccggt
gctgggcgta gggaatccct gaaataaaag atgcacaaag cattgaggtc tgagactttt
ggatctcgaa acattgagaa ctcatagctg tatattttag agcccatggc atcctagtga
aaactggggc tccattccga aatgatcatt tgggggtgat ccggggagcc caagctgcta
aggtcccaca acttccggac ctttgtcctt cctggagcga tctttccagg cagcccccgg
ctccgctaga tggagaaaat ccaattgaag gctgtcagtc gtggaagtga gaagtgctaa
accaggggtt tgcccgccag gacgaggagg accgtcgcaa tctgagaggc ccggcagccc
tgttattgtt tggctccaca tttacatttc tgcctcttgc agcagcattt ccggtttctt
tttgccggag cagctcacta ttcacccgat gagaggggag gagagagaga gaaaatgtcc
tttaggccgg ttcctcttac ttggcagagg gaggctgcta ttctccgcct gcatttcttt
ttctggatta cttagttatg gcctttgcaa aggcaggggt atttgttttg atgcaaacct
caatccctcc ccttctttga atggtgtgcc ccaccccgcg ggtcgcctgc aacctaggcg
gacgctacca tggcgtgaga cagggaggga aagaagtgtg cagaaggcaa gcccggaggt
attttcaaga atgagtatat ctcatcttcc cggaggaaaa aaaaaaagaa tgggtacgtc
tgagaatcaa attttgaaag agtgcaatga tgggtcgttt gataatttgt cggaaaaaca
atctacctgt tatctagctt tgggctaggc cattccagtt ccagacgcag gctgaacgtc
gtgaagcgga aggggcgggc ccgcaggcgt ccgtgtggtc ctccgtgcag ccctccggcc
cgagccggtt cttcctggta ggaggcggaa ctcgaattca tttctcccgc tgccccatct
cttagctcgc ggttgtttca ttccgcagtt tcttcccatg cacctgccgc gtaccggcca
ctttgtgccg tacttacgtc atcttttcc taaatcgagg tggcatttac acacagcgcc
agtgcacaca gcaagtgcac aggaagatga gttttggccc ctaaccgctc cgtgatgcct
accaagtcac agacccttt catcgtccca gaaacgtttc atcacgtctc ttcccagtcg
attcccgacc ccacctttat tttgatctcc ataaccattt tgcctgttgg agaacttcat
atagaatgga atcaggctgg gcgctgtggc tcacgcctgc actttgggag gccgaggcgg
gcggattact tgaggatagg agttccagac cagcgtggcc aacgtggtga atccccgtct
ctactaaaaa atacaaaaat tagctgggcg tggtgggtgc ctgtaatccc agctattcgg
gagggtgagg caggagaatc gcttgaaccc gggaggcaga ggttgcagtg agccaagatc
```

# 変異検出にチャレンジ（答え）

P53遺伝子（最も有名ながん抑制遺伝子）の一部分

正常細胞のDNA配列

```
gatgggattg gggttttccc ctcccatgtg ctcaagactg gcgctaaaag ttttgagctt
ctcaaaagtc tagagccacc gtccagggag caggtagctg ctgggctccg gggacacttt
gcgttcgggc tgggagcgtg ctttccacga cggtgacacg cttccctgga ttgggtaagc
tcctgactga acttgatgag tcctctctga gtcacgggct ctcggctccg tgtattttca
gctcgggaaa atcgctgggg ctgggggtgg ggcagtgggg acttagcgag tttgggggtg
agtgggatgg aagcttggct agagggatca tcataggagt tgcattgttg ggagacctgg
gtgtagatga tggggatgtt aggaccatcc gaactcaaag ttgaacgcct aggcagagga
gtggagcttt ggggaacctt gagccggcct aaagcgtact tctttgcaca tccacccggt
gctgggcgta gggaatccct gaaataaaag atgcacaaag cattgaggtc tgagactttt
ggatctcgaa acattgagaa ctcatagctg tatattttag agcccatggc atcctagtga
aaactggggc tccattccga aatgatcatt tgggggtgat ccggggagcc caagctgcta
aggtcccaca acttccggac ctttgtcctt cctggagcga tctttccagg cagccccccgg
ctccgctaga tggagaaaat ccaattgaag gctgtcagtc gtggaagtga gaagtgctaa

accaggggtt tgcccgccag gc[c]  agg accgtcgcaa tctgagaggc ccggcagccc
tgttattgtt tggctccaca ttt  tgcctcttgc agcagcattt ccggtttctt
tttgccggag cagctcacta ttca  gggag gagagagaga gaaaatgtcc
tttaggccgg ttcctcttac ttggcagagg  ttctccgcct gcatttcttt
ttctggatta cttagttatg gcctttgcaa aggca  tgttttg atgcaaacct
caatccctcc ccttctttga atggtgtgcc ccacccccgcg  tgc aacctaggcg
gacgctacca tggcgtgaga cagggaggga aagaagtgtg cag  ccccggaggt
attttcaaga atgagtatat ctcatcttcc cggaggaaaa aaaaaaag  acgtc
tgagaatcaa attttgaaag agt
atctacctgt tatctagctt tgc
gtgaagcgga aggggcgggc ccg
cgagccggtt cttcctggta gga
cttagctcgc ggttgtttca ttc
ctttgtgccg tacttacgtc atc
agtgcacaca gcaagtgcac agg
accaagtcac agacccttt cat
attcccgacc ccacctttat ttt
atagaatgga atcaggctgg gcg
gcggattact tgaggatagg agt
ctactaaaaa atacaaaaat tag
gagggtgagg caggagaatc gct
```

がん細胞のDNA配列

```
gatgggattg gggttttccc ctcccatgtg ctcaagactg gcgctaaaag ttttgagctt
ctcaaaagtc tagagccacc gtccagggag caggtagctg ctgggctccg gggacacttt
gcgttcgggc tgggagcgtg ctttccacga cggtgacacg cttccctgga ttgggtaagc
tcctgactga acttgatgag tcctctctga gtcacgggct ctcggctccg tgtattttca
gctcgggaaa atcgctgggg ctgggggtgg ggcagtgggg acttagcgag tttgggggtg
agtgggatgg aagcttggct agagggatca tcataggagt tgcattgttg ggagacctgg
gtgtagatga tggggatgtt aggaccatcc gaactcaaag ttgaacgcct aggcagagga
gtggagcttt ggggaacctt gagccggcct aaagcgtact tctttgcaca tccacccggt
gctgggcgta gggaatccct gaaataaaag atgcacaaag cattgaggtc tgagactttt
ggatctcgaa acattgagaa ctcatagctg tatattttag agcccatggc atcctagtga
aaactggggc tccattccga aatgatcatt tgggggtgat ccggggagcc caagctgcta
aggtcccaca acttccggac ctttgtcctt cctggagcga tctttccagg cagccccccgg
ctccgctaga tggagaaaat ccaattgaag gctgtcagtc gtggaagtga gaagtgctaa

accaggggtt tgcccgccag g[a]cgaggagg accgtcgcaa tctgagaggc ccggcagccc
tgttattgtt tggctcc  ttacatttc tgcctcttgc agcagcattt ccggtttctt
tttgccggag cagg  tcacccgat gagaggggag gagagagaga gaaaatgtcc
tttaggccgg  ac ttggcagagg gaggctgcta ttctccgcct gcatttcttt
ttctggatt  gttatg gcctttgcaa aggcaggggt atttgttttg atgcaaacct
caatcc  ttctttga atggtgtgcc ccacccccgcg ggtcgcctgc aacctaggcg
ga  tggcgtgaga cagggaggga aagaagtgtg cagaaggcaa gcccggaggt
  aga atgagtatat ctcatcttcc cggaggaaaa aaaaaaagaa tgggtacgtc
gtcgttt gataatttgt cggaaaaaca
tccagtt ccagacgcag gctgaacgtc
tgtggtc ctccgtgcag ccctccggcc
gaattca tttctcccgc tgccccatct
tcccatg cacctgccgc gtaccggcca
atcgagg tggcatttac acacagcgcc
ttggccc ctaaccgctc cgtgatgcct
acgtttc atcacgtctc ttcccagtcg
accattt tgcctgttgg agaacttcat
cgcctgc actttgggag gccgaggcgg
cgtggcc aacgtggtga atccccgtct
tgggtgc ctgtaatccc agctattcgg
aggcaga ggttgcagtg agccaagatc
```

答え
このような変異を、大量の文字列ピースデータから見つけ出す必要があります。
でも、どうやって見つけるのでしょうか？
人が手で並べて、目で見つける？
いえ、コンピューターで検出します。

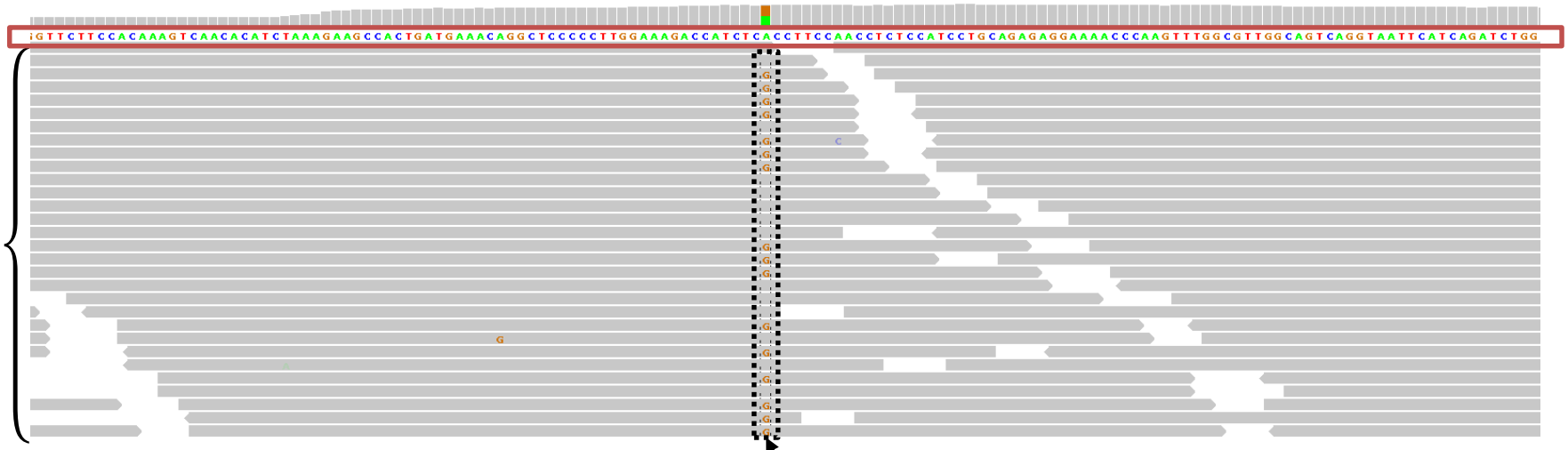
gcc>gac
アラニン>アスパラギン

# DNA文字列ピースデータからの変異検出原理

文字列ピースデータ
（約100文字；21億ピース）

ステップ1：
スーパーコンピュータを使って
ヒトゲノム標準配列（30億文字）
上でマッチする場所を探索します
（アライメント）。

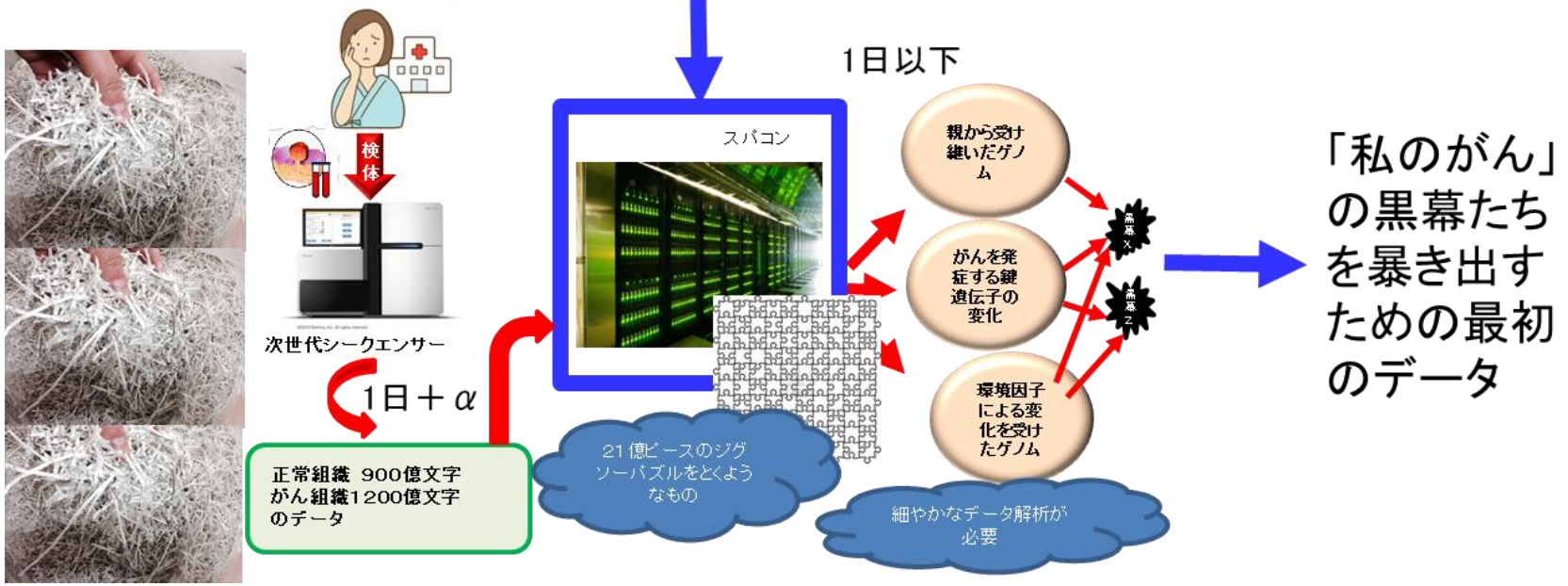
ヒトゲノム標準配列（30億文字）



アライメントされた文字列ピースデータ。
上段の標準配列と同じ文字（塩基）で
あれば灰色で表示。

ステップ2：
アライメントされた文字列ピースデータ中で、
標準配列と異なる文字が複数回観測されている場所を検出します。この例では標準配列がAのところが、Gに置き換わっています。
（一塩基変異）

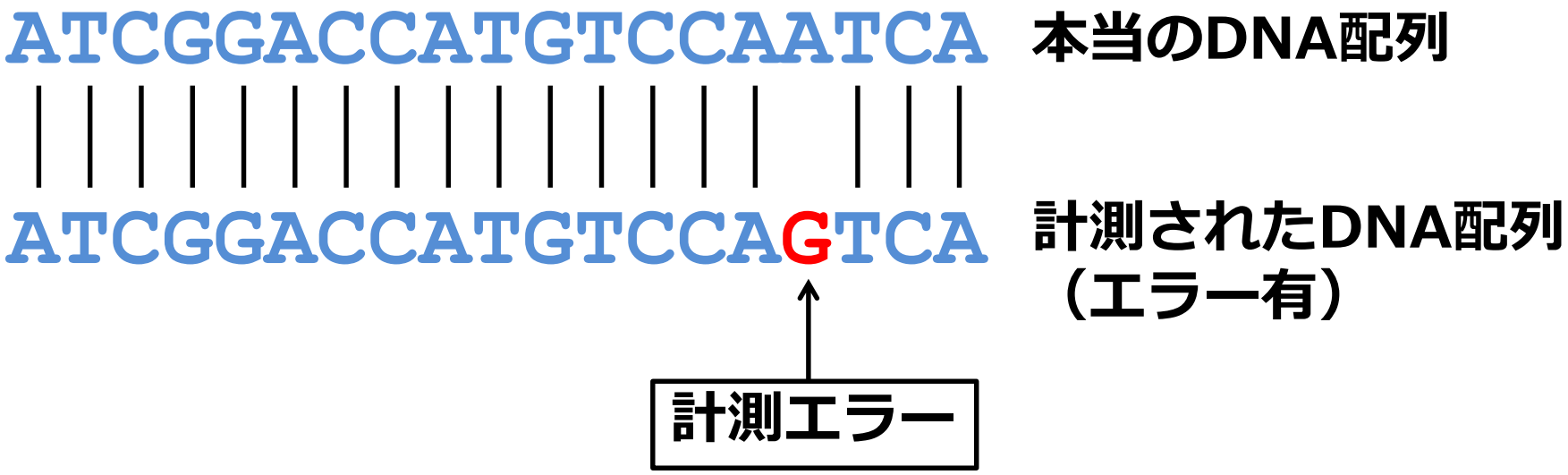
スパコンで21億ピースのジグソーパズルを解き、がんのシステム異常の原因を暴き出さねばならない！




一塩基変異だけでなく、欠失、増幅、転座などの変異もあります。それらをスーパーコンピュータと変異検出アルゴリズム（多くは統計的手法に基づく）を用いて、高精度かつ高速に検出する必要があります。
最近ではGPUと呼ばれる演算装置を活用した計算の高速化も進んでいます。

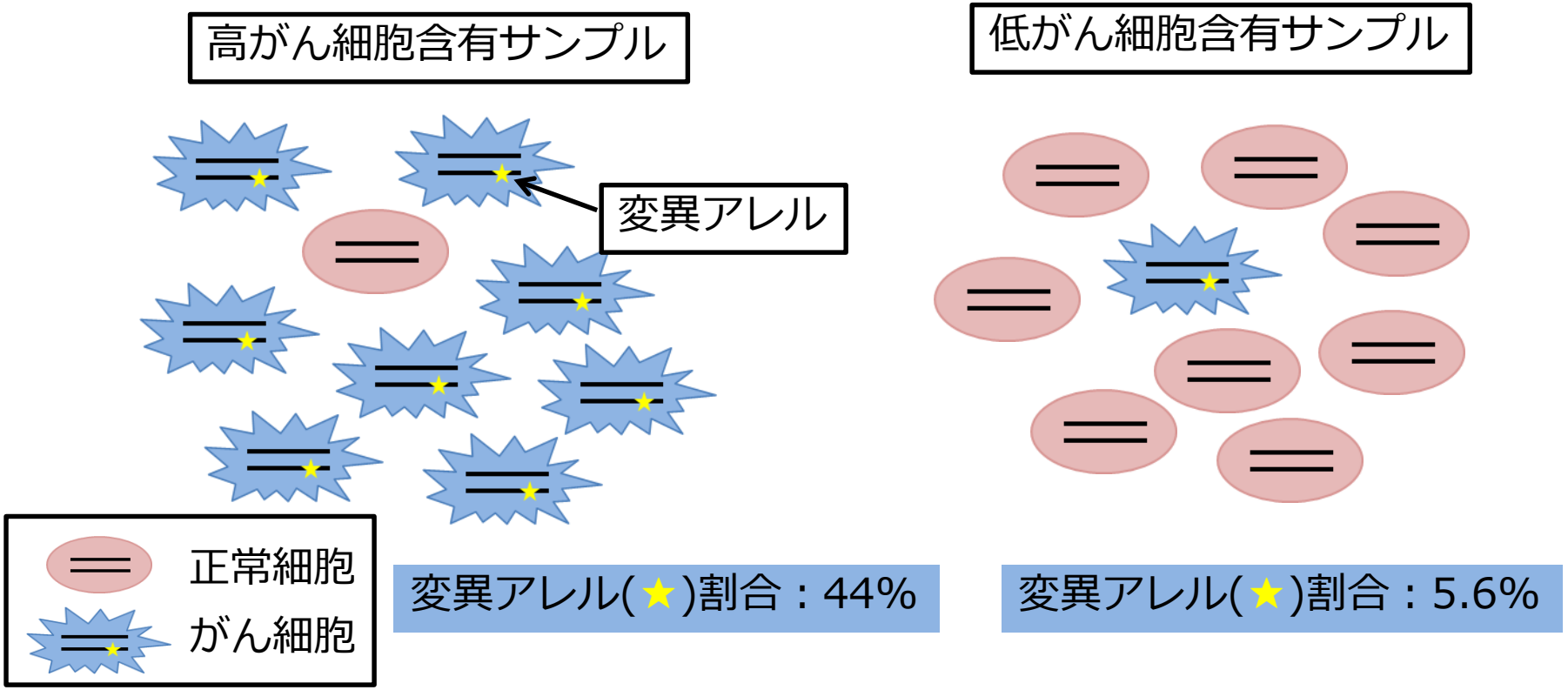
# 変異検出の難しい点（１）
## 計測エラーの混入

- DNA配列のシークエンサーでの計測時に**計測エラー**が入ることがあります
  - 本当の変異がある位置を検出する際のノイズとなります



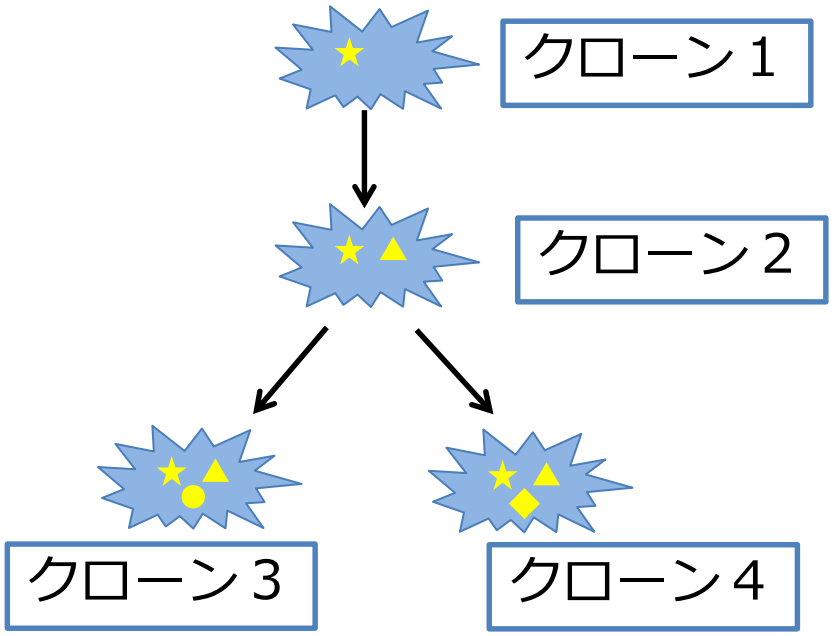
# 変異検出の難しい点（２）
## がん細胞含有率が低い場合

- サンプル中の**がん細胞含有量が少ない場合**があります
  - がん組織中には正常な細胞も含まれます
  - **変異アレル観測割合**が相対的に少なくなり、エラーとの区別が難しくなります



# 変異検出の難しい点（３）
## がん細胞クローンの存在

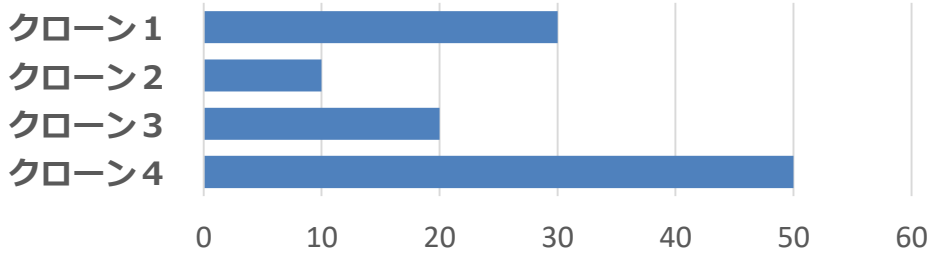
- がん細胞は**進化**します。新しい変異を獲得したがん細胞クローンが出現することがあります
  - 変異の獲得時期、クローンの存在量に応じて変異の観測頻度が変わります
  - 存在量の少ないクローン固有の変異の検出は難しい



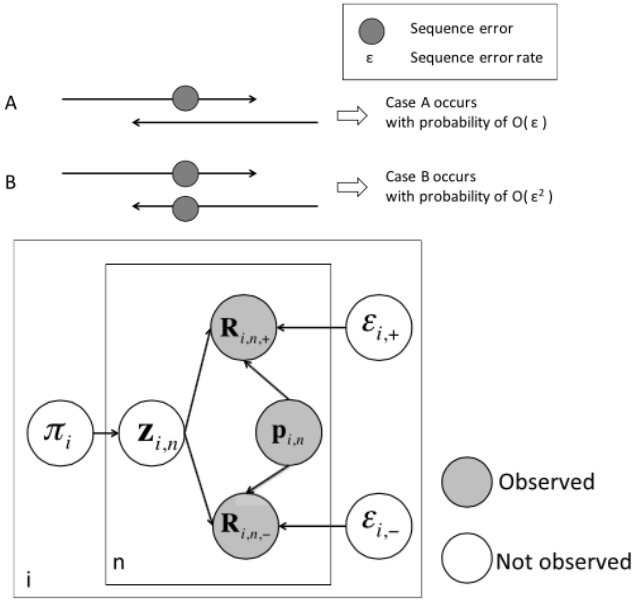

変異

| | ★ | ▲ | ● | ◆ |
|---|---|---|---|---|
| クローン１ | ✓ | | | |
| クローン２ | ✓ | ✓ | | |
| クローン３ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| クローン４ | ✓ | ✓ | | ✓ |

クローン存在量（例）



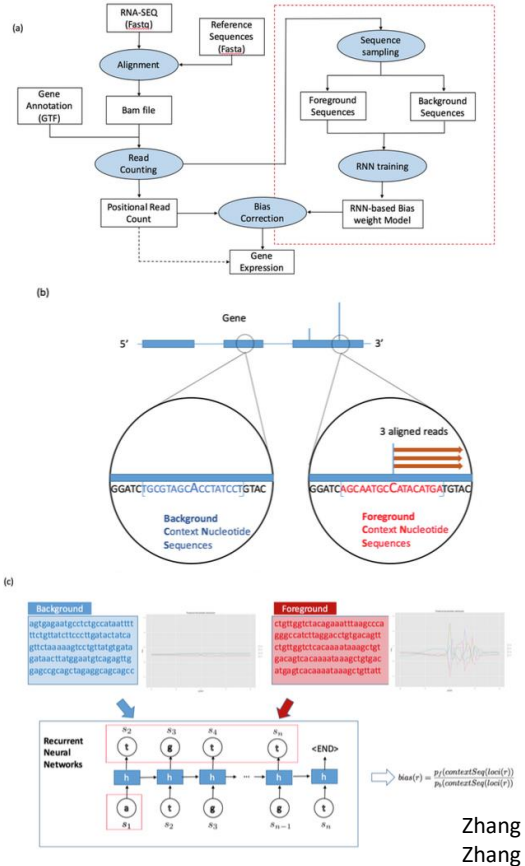
# ベイズ統計モデル




$$
\begin{aligned}
&p(\mathcal{R}_i, \mathcal{Z}_i|\boldsymbol{\gamma}_i, \boldsymbol{\alpha}_{i,+}, \boldsymbol{\alpha}_{i,-}) \\
&= p(\boldsymbol{\pi}_i|\boldsymbol{\gamma}_i)p(\epsilon_{i,+}|\boldsymbol{\alpha}_{i,+})p(\epsilon_{i,-}|\boldsymbol{\alpha}_{i,-}) \\
&\quad \cdot \prod_n p(\boldsymbol{R}_{i,n,+}, \boldsymbol{R}_{i,n,-}|\boldsymbol{z}_{i,n}, \epsilon_{\pm,i}, \boldsymbol{\pi}_{i,n}, \boldsymbol{p}_{i,n})p(\boldsymbol{z}_{i,n}|\boldsymbol{\pi}_i) \\
&= p(\boldsymbol{\pi}_i|\boldsymbol{\gamma}_i)p(\epsilon_{i,+}|\boldsymbol{\alpha}_{i,+})p(\epsilon_{i,-}|\boldsymbol{\alpha}_{i,-}) \\
&\quad \cdot p(R_{i,+}, Z_{i,+}|\epsilon_{i,+}, \pi_i) \cdot p(R_{i,-}, Z_{i,-}|\epsilon_{i,-}, \pi_i) \\
&\quad \cdot p(R_{i,\pm}, Z_{i,\pm}|\epsilon_{i,+}, \epsilon_{i,-}, \pi_i)
\end{aligned}
$$

Moriyama et al., IEEE Trans Nanobio, 2017
Hayashi et al., BMC Genomics, 2018
Hayashi et al., J Comput Biol, 2019
Moriyama et al., Bioinformatics, 2019
Moriyama et al., LNCS, (in press)

# 深層学習モデル




Zhang et al., BMC Genomics, 2017
Zhang et al., IEEE BIBM, 2017
Konishi et al., BMC Bioinfo, 2019
Zhang et al., BMC Bioinfo, (in press)

前のページで説明した困難を克服して、高精度に変異を検出する必要があります。
そのために、データの生成機構をモデル化した**ベイズ統計**に基づく変異検出手法や、
**深層ニューラルネットワーク**に基づく変異検出手法などの開発研究を行っています。

# おわりに

- がんゲノムの変異を検出するため用いる、観測データ、変異検出の原理、計算資源、困難な点、それを克服するためのデータ解析手法などについて概説しました
- 次世代シークエンサーによる観測データは、ゲノム変異の検出に加えて、個人の免疫遺伝子型決定や、免疫細胞クローンの多様性の推定にも用いられ、がん免疫療法の開発にとっても不可欠なものとなっています
- 今後もシークエンサーの性能向上に伴い、新たな種類のデータが産生されると期待されます。それに応じて、新たな解析手法の開発を行う必要があります
- また大量のデータ解析結果を、いかに医療に有用な情報へ翻訳し還元するかということも課題となっており、人工知能を活用する研究が進みつつあります
- それに関しては、また別の機会にご紹介できればと思います