

2025/12/18

AJACS「空間トランスクリプトーム解析を知って・学

Pythonによる空間解析 + 解析事例（腫瘍微小環境/SKNY

¹国立がん研究センター 先端医療開発センター
トランスレーショナルインフォマティクス分野

²東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻

酒井 俊輔



国立がん研究センター
先端医療開発センター
National Cancer Center
Exploratory Oncology Research & Clinical Trial Center



GRADUATE SCHOOL OF
FRONTIER SCIENCES
THE UNIVERSITY OF TOKYO



QINDAO
Quantitative INDEX of Alpha diversity Over

<https://qindao.hgc.jp>

SpatialKNife

<https://github.com/s>



<https://aimmeditech.co.jp/inte>

講師について

略歴 1998年生まれ・東京出身

2017年～2021年	東京理科大学 基礎工学部 生物工学科
2021年～2023年	東京大学大学院 新領域創成科学研究科 修士課程
2023年～現在	東京大学大学院 新領域創成科学研究科 博士課程
2024年～現在	日本学術振興会 特別研究員DC2
2023年～現在	国立がん研究センター東病院 放射線治療科 特任研究員
2021年～現在	国立がん研究センター 先端医療開発センター 連携大学院生 指導教員：土原 一哉 分野長・山下 理宇 ユニット長



QINDAO

Quantitative INdex of Alpha diversity Overview

<https://qindao.hgc.jp/cgi-bin/>

SpatialKNife

<https://github.com/shusakai/skny>



空間オミクス解析を使用した論文

Oyoshi, Du, **Sakai et al.** *Sci Adv.* 2023
Sakai et al. *Cancer Immunol Res.* 2025
Sakai et al. *PLOS Comput Bio.* 2025
Sakai et al. *Brit J Cancer.* 2025



<https://aimmeditech.co.jp/internist/ncc/>

空間オミクス解析の基礎と応用に加え、
実際に手を動かし、論文作成をしてわか
空間オミクスの使い所を紹介したい

「講義の目的・ゴール」 「想定する受講者」

講義の目的・ゴール

1. Scanpyを用いたシングルセル空間オミクス解析を理解する。
2. SpatialKNifeY (SKNY) を用いてできる解析と応用例を知る。

※今回はハンズオン形式では
(講義に用いたコードは公開し

想定する受講者

- ① シングルセル空間オミクスの**基礎的な解析方法を知りたい方**
(基本的知識、ツール紹介、前処理、クラスタリング、細胞アノテーション)
- ② 空間オミクス解析によって**何ができるかを知りたい方**
(空間情報を活かすことで迫れる生物学的な知見は何か)
- ③ シングルセル空間オミクスの**応用解析を知りたい方**
(SKNYを用いたニッチ解析、Ligand-receptor解析、 trajectory解析)

前半の講義

1. Scanpyを用いたシングルセル・空間オミクス解析を理解する。
2. SpatialKNifeY (SKNY) を用いてできる解析と応用例を知る。

シングルセル空間オミクスの**基礎的な解析方法を知りたい方**

(基本的知識、ツール紹介、前処理、クラスタリング、細胞アノテーション)

参考コード：

<https://colab.research.google.com/drive/16DeL7kyQbuz9AQjGdWMPsArF1cn9debz?usp=s>

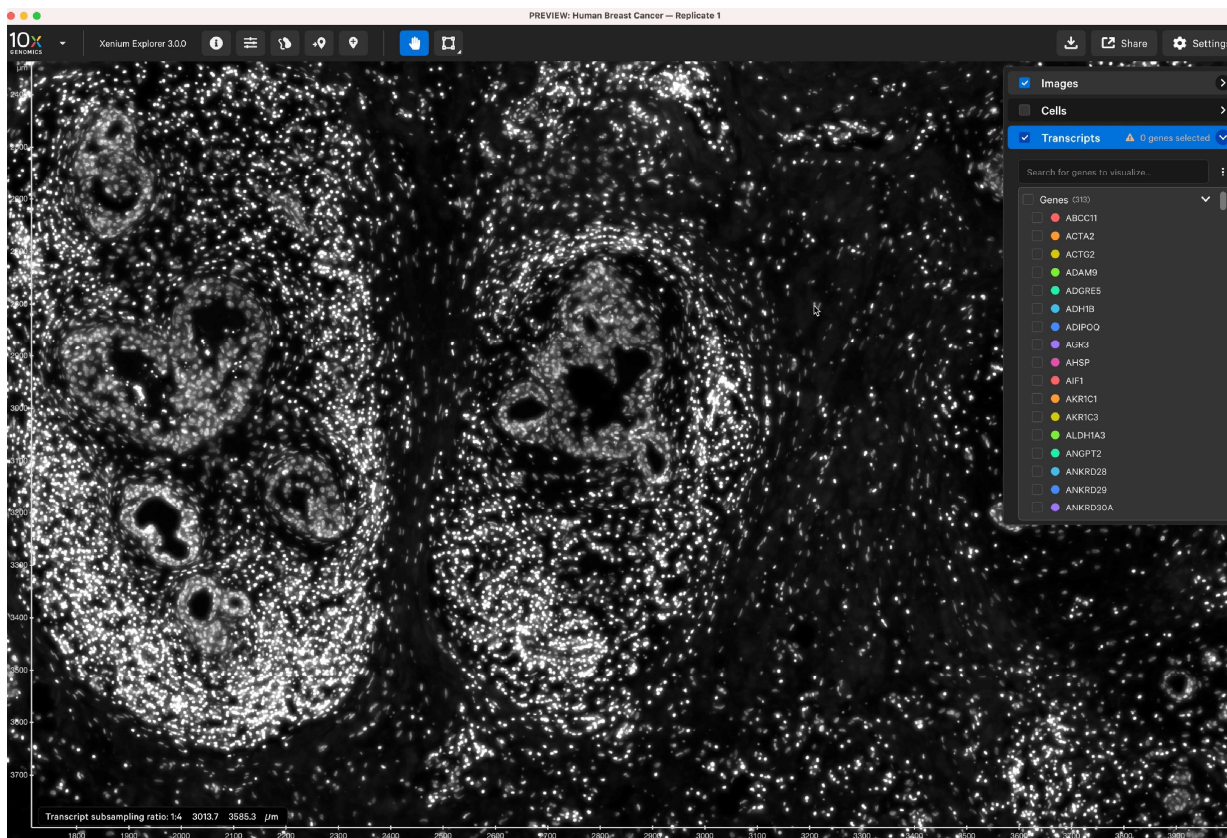


Zoomに共有

空間トランスクリプトームとは

Spatial transcriptomics (Xenium)

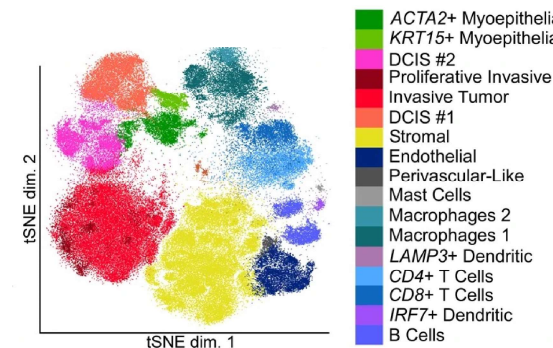
組織上の細胞の遺伝子発現を
空間的に可視化



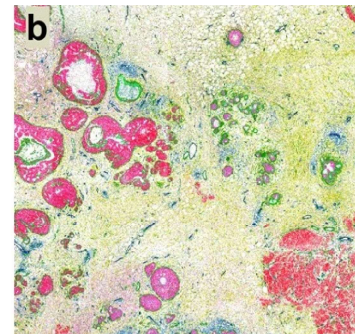
Janesick et al. Nat Commun. 2023



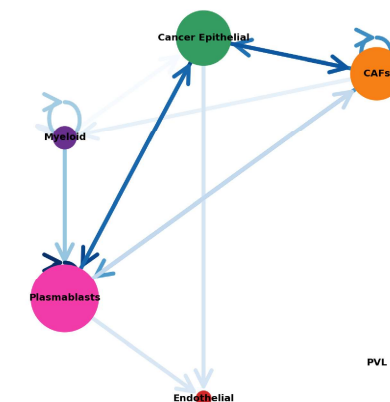
細胞種同定



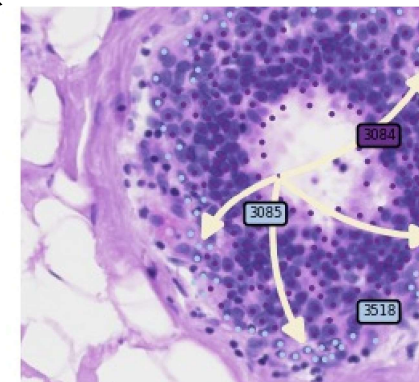
空間上にマッピング



細胞間相互作用



分



1細胞レベルで、遺伝子発現の空間的発現解析が可能

空間トランスクリプトーム解析の発展の背景

シングルセル

Method of the Year
2013



空間トランスクリプトーム

Method of the Year
2020



空間プロテ

Method of the Year
2023

Chromium

2016

ドロップレット内の単一細胞のRNA発現解析

VISium

2020

55μmスポット内のRNA発現解析

PhenoCycler

2022

100前後の抗体とDNAバーコードを用いた多重免疫染色

Xenium

2023

~5000のRNA発現
多重 in situ hybridization

2015 2016 2017

2018

2019

2020

...

2016

2020

2022.1~

2023.3~



Chromium scRNA-seq

VISium

PhenoCycler

単一細胞レベル!

Xenium

単一細胞

10X Genomics社

10X Genomics社

Akoya社

10X Genomics社

→ 解析ツールもシングルセル解析がベースとなってい

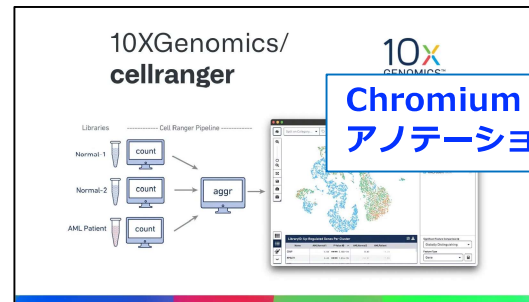
シングルセル/空間解析のためのツール・マップ

scRNA-seq

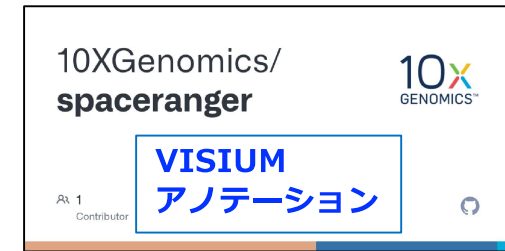
空間解析

(10X) 公式ツール

- リードのアノテーション
- 簡単なQC
- 空間情報の可視化



処理済みの
データが納品



Loupe Browser.app

VISION 可視化



サードパーティ製

- QC
- フィルタリング
- クラスタリング
- 細胞アノテーション
- その他下流解析

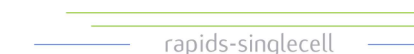


Hao et al. Nat. Biotechnol. 2023



Wolf et al. Genome. Biol. 2018

QC、クラスタリング等

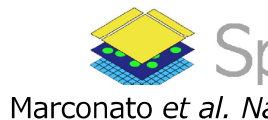


<https://zenodo.org/records/12533399>

GPU版
scanpy



空間統計量、
neighborhood解析



セク
ポリ



オールインワン



LR解析



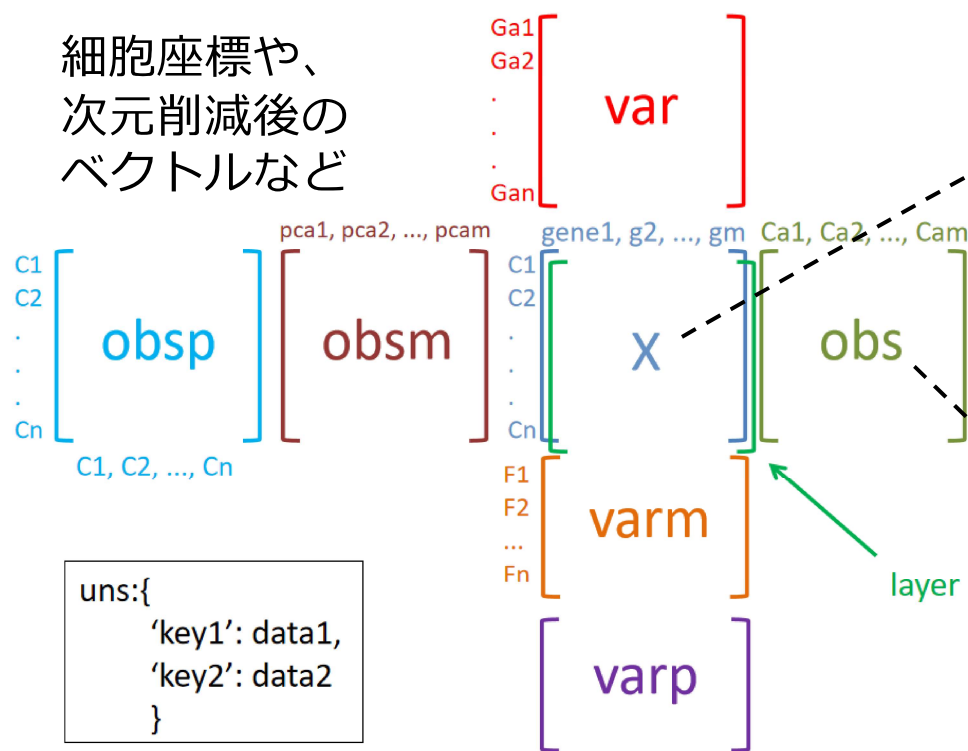
細胞塊、距離解析

解析方法の前に、Pythonで扱うオブジェクト

Annotated data (AnnData)

遺伝子×細胞の行列+各種アノテーション

細胞座標や、
次元削減後の
ベクトルなど



その他情報、画像など

Virshup et al. Nat Biotechnol. 2023

X

	Gene_0	Gene_1	Gene_2	Gene_3	Gene_4	Gene_5	Gene_6
Cell_0	1.098612	0.693147	0.000000	0.693147	0.693147	0.000000	1.386294
Cell_1	0.000000	1.098612	0.693147	0.000000	0.693147	0.693147	0.693147
Cell_2	0.693147	0.693147	0.000000	0.693147	1.098612	0.693147	0.693147
Cell_3	0.000000	1.098612	0.000000	0.693147	1.791759	0.693147	0.000000
Cell_4	0.693147	0.000000	0.693147	0.000000	0.693147	0.693147	0.000000
...	...	...	...	...	...	...	...
Cell_95	0.693147	0.693147	0.000000	1.098612	0.693147	1.098612	0.000000
Cell_96	0.693147	1.098612	1.386294	0.693147	1.098612	0.000000	1.609438
Cell_97	0.000000	0.693147	1.098612	0.693147	0.000000	0.000000	0.000000
Cell_98	0.693147	1.098612	0.000000	0.693147	0.693147	0.000000	0.693147
Cell_99	0.693147	0.693147	0.000000	1.791759	0.000000	1.098612	0.000000

obs

	cell_type
Cell_0	B
Cell_1	B
Cell_2	B
Cell_3	Monocyte
Cell_4	Monocyte
...	...
Cell_95	Monocyte
Cell_96	B

細胞のアノテーション
細胞の座標
細胞種
クラスターなど

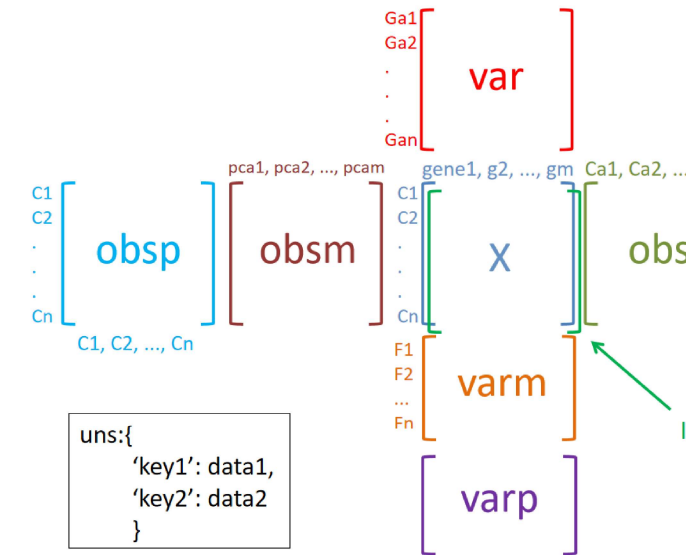
var

	gene_ids	feature
ABCC11	ABCC11	Gene Ex
ACTA2	ACTA2	Gene Ex
ACTG2	ACTG2	Gene Ex
ADAM9	ADAM9	Gene Ex
ADGRE5	ADGRE5	Gene Ex
...	...	...
VWF	VWF	Gene Ex
WARS	WARS	Gene Ex

AnnDataオブジェクトとして読込、step by stepに関数を掛け
→ オブジェクト型プログラミング

シングルセル/ST解析のルーティン

1. AnnDataオブジェクト読込
2. 細胞・遺伝子のフィルタリング
3. 正規化、対数変換
4. PCA→UMAPによる次元削減
5. 細胞クラスタリング
6. 細胞アノテーション
7. 下流解析 (後半)



```
1. adata = sc.read_10x_h5(filename="path/to/
2. sc.pp.normalize_total(adata, inplace=True)
3. sc.pp.log1p(adata)
4. sc.pp.pca(adata)
4. sc.pp.neighbors(adata)
4. sc.tl.umap(adata)
5. sc.tl.leiden(adata)
```

※コードは公開

ここまでは一気通貫で実行できます！

ちなみに、GPUバージョンも実装されています

コードはscanpyとほぼ同じ

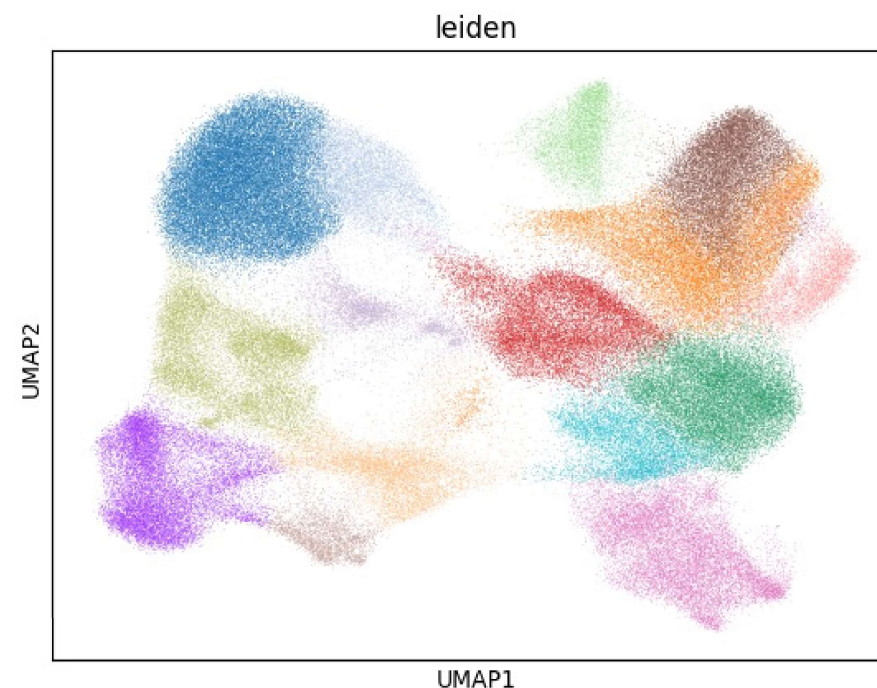
```
[22] # クラスタリング (GPU version)
adata.layers["counts"] = adata.X.copy()
rsc.get.anndata_to_GPU(adata) # moves `.X` to the GPU
rsc.pp.normalize_total(adata, inplace=True)
rsc.pp.log1p(adata)
rsc.pp.pca(adata)
rsc.pp.neighbors(adata)
rsc.tl.umap(adata)
rsc.tl.leiden(adata)
rsc.get.anndata_to_CPU(adata) # moves `.X` to the CPU
```

```
[23] ✓ 1秒 # UMAP plot
sc.pl.umap(
    adata,
    color=["leiden"],
    wspace=0.4,
)
```

※コードは公開いたします

rapids-singlecell

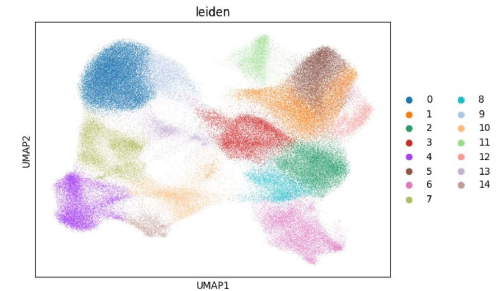
クラスタリングまで高速化



大規模解析にはrapid-singlecellがオススメ

細胞アノテーションのフロー

細胞アノテーションは細かい作業が必要！



1. AnnDataオブジェクト読込
2. 細胞・遺伝子のフィルタリング
3. 正規化、対数変換
4. PCA→UMAPによる次元削減
5. 細胞クラスタリング
6. **細胞アノテーション**
7. 下流解析…

1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現を確認
4. クラスターごとの空間的局在の確認
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)

状況によって取捨選択・前後するが、基本はこの方法

Next: 乳がんのXeniumデータの解析例

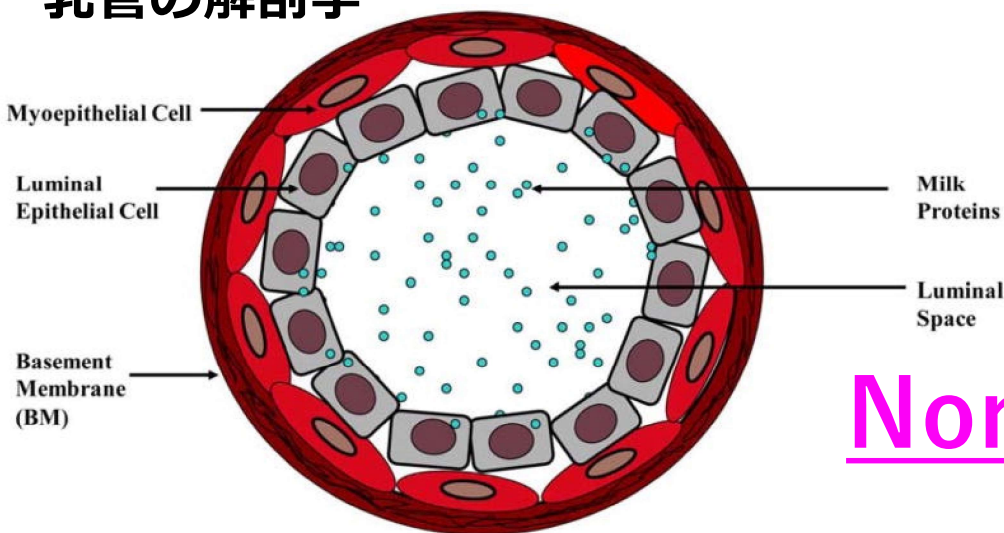
1. 組織に存在する細胞の確認 (文献的に確認)

1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現確認
4. クラスターごとの空間的局在の確認
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)

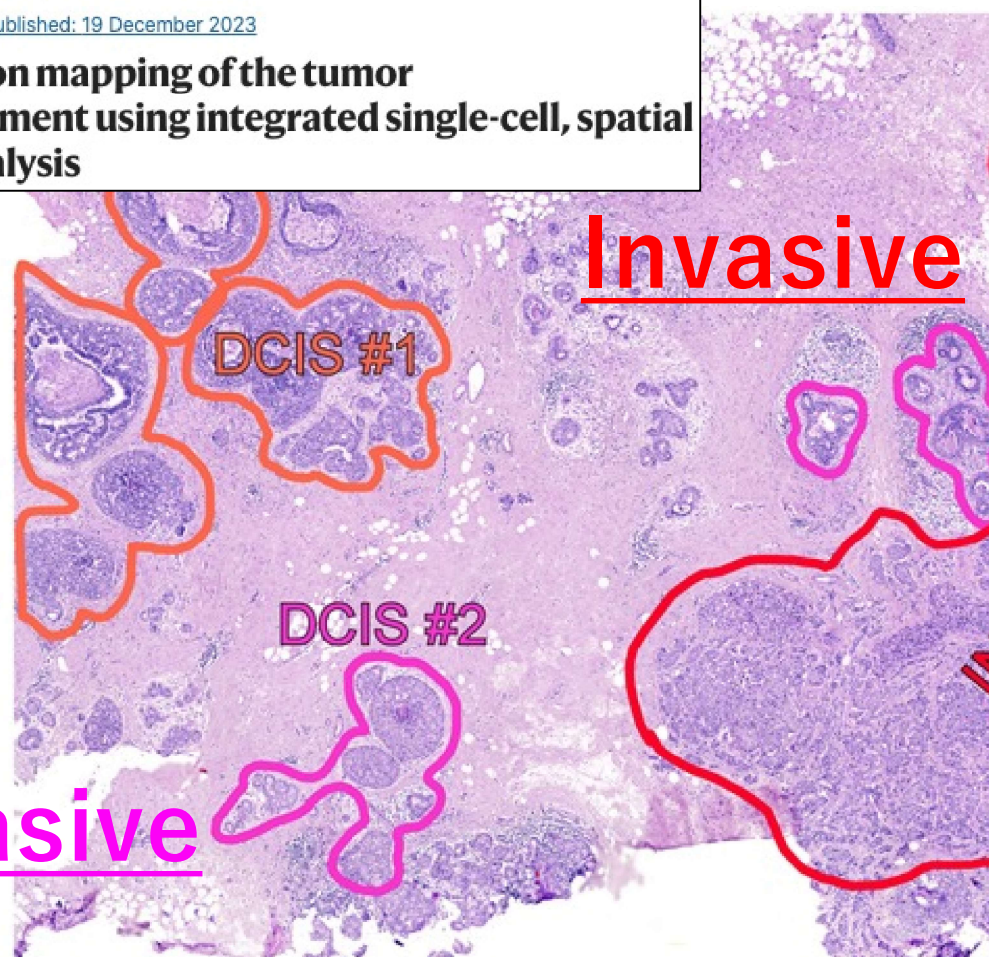
Article | [Open access](#) | Published: 19 December 2023

High resolution mapping of the tumor microenvironment using integrated single-cell, spatial and in situ analysis

乳管の解剖学



Non-invasive

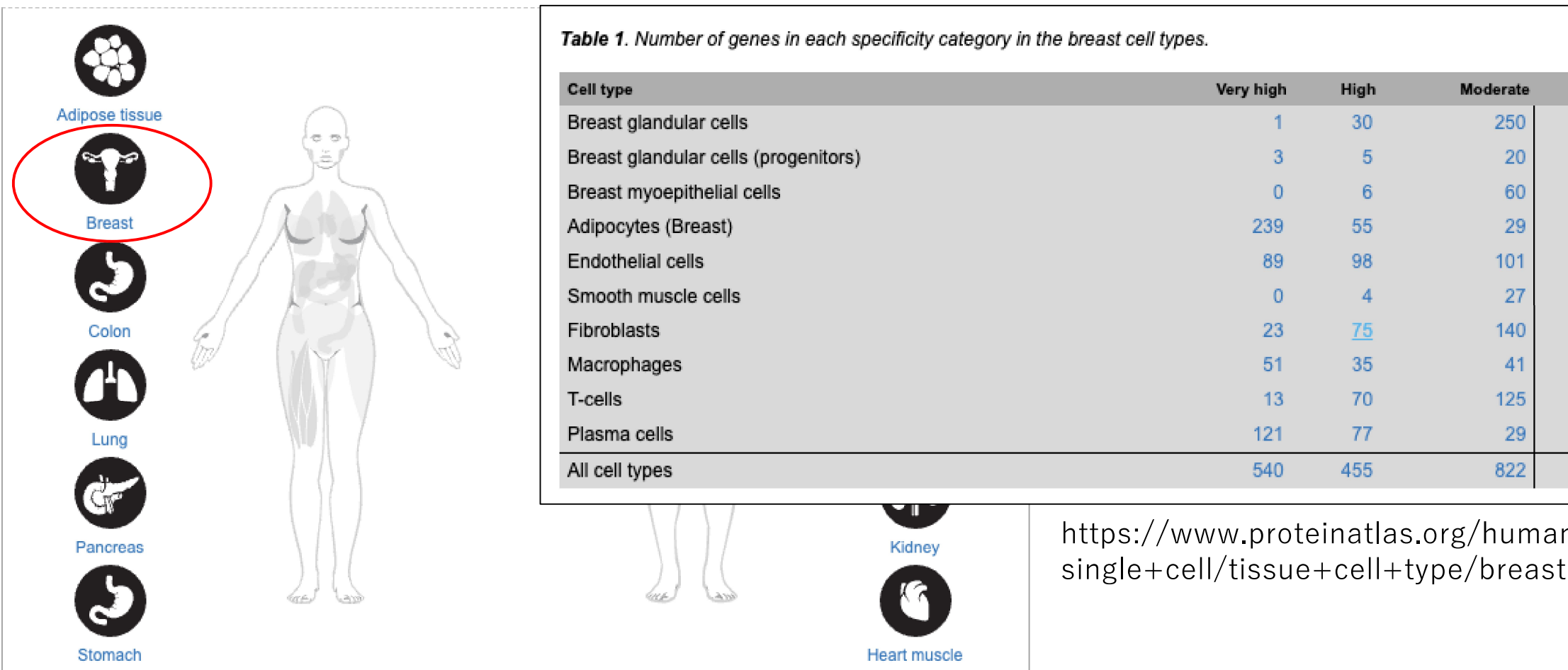


Janesick, et al. Nat. C

**乳腺細胞 (IDC成分、DCIS成分)、乳管上皮細胞 +
TME (マクロファージ、T細胞、B細胞、線維芽細胞、内皮細胞)**

1. 組織に存在する細胞の確認 (データベースで確認)

Human Protein Atlas (Uhlén *et al.* Science. 2015)



乳腺細胞 (IDC成分、DCIS成分)、乳管上皮細胞、脂肪細胞
TME (マクロファージ、T細胞、B細胞、線維芽細胞、内皮細胞)

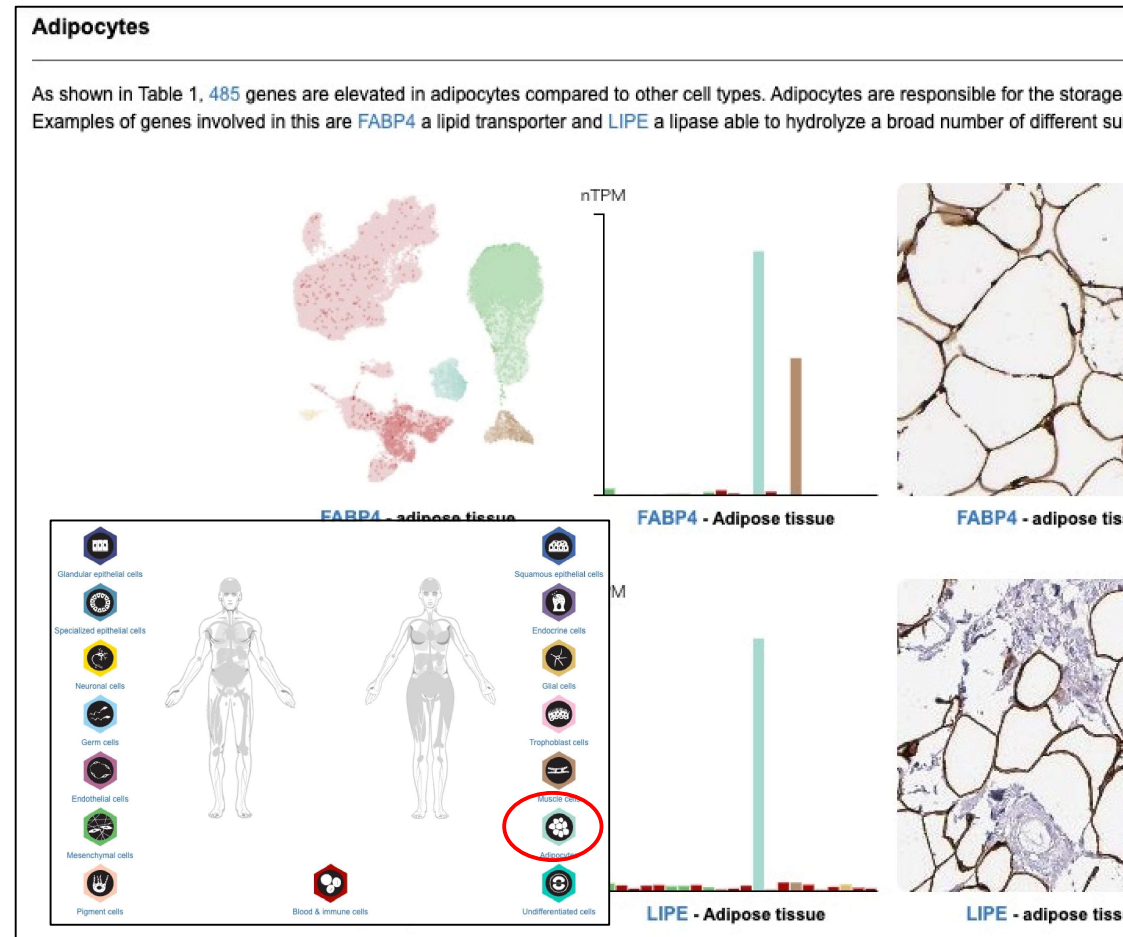
2. 各細胞のマーカー遺伝子の確認

1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現確認
4. クラスターごとの空間的局在の確認
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)

基本的な遺伝子 (覚えておくくと便利)

上皮細胞 (*EPCAM*、*CDH1*)、
進行乳がん (*Ki67*、*ERBB2*)
T細胞 (*CD3E*、*CD8A*、*CD4*)
B細胞 (*CD19*、*MS4A1*)
マクロファージ (*CD68*、*CD163*)
内皮細胞 (*PECAM1*、*VWF*)
繊維芽細胞 (*FAP*、*COLs*)

知らないマーカーはhuman protein a



<https://www.proteinatlas.org/humanproteome/single+cell/single+cell+>

Next: クラスターごとにどのマーカーがupregulationしているか

3. 各細胞のマーカー遺伝子の確認

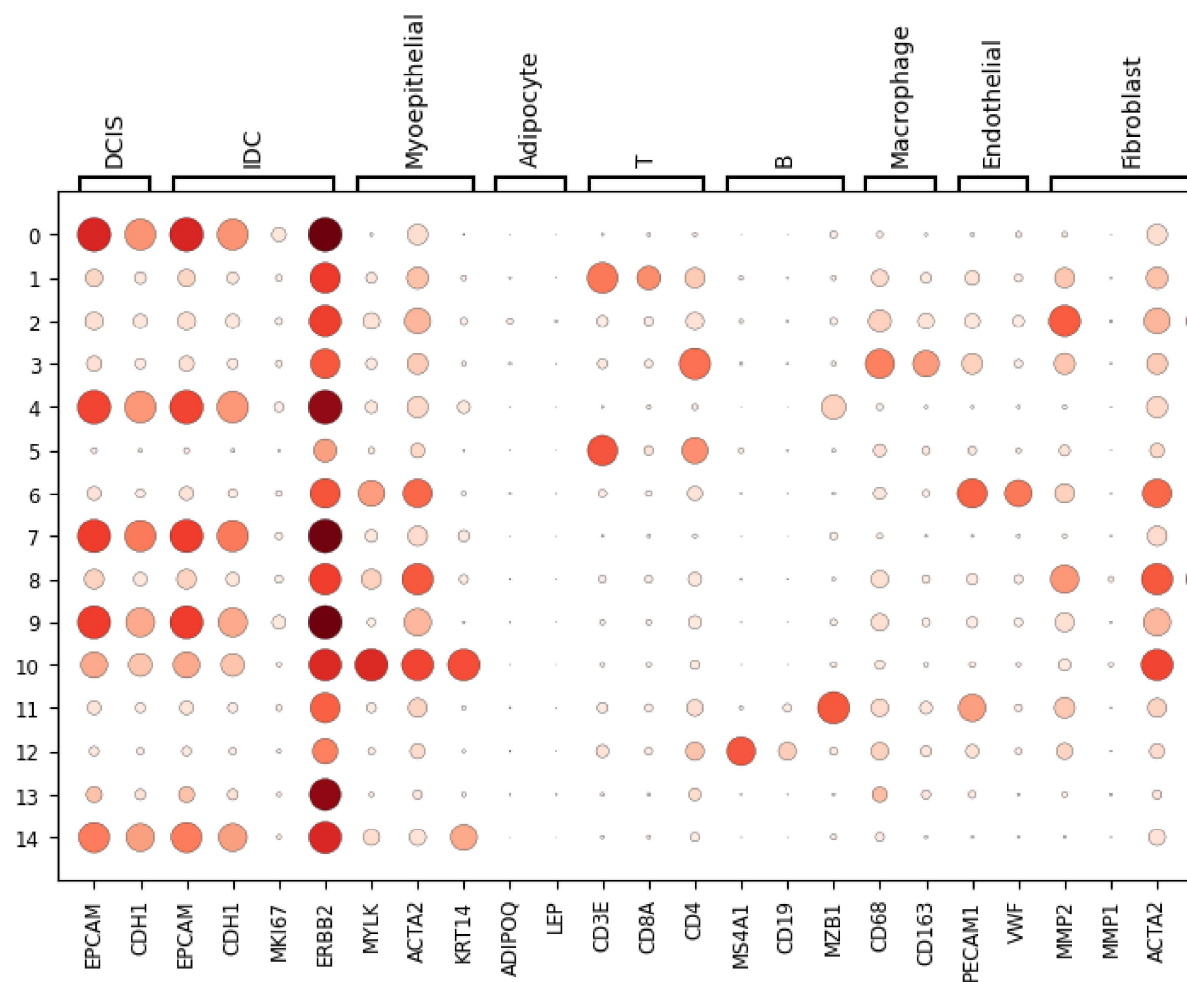
1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
- 3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現確認**
4. クラスターごとの空間的局在の確認
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)

※参考コード

```
marker_genes = {  
    # 乳腺  
    "DCIS": ["EPCAM", "CDH1"],  
    "IDC": ["EPCAM", "CDH1", "MKI67", "ERBB2"],  
  
    # myoepithelial  
    "Myoepithelial": ["MYLK", "ACTA2", "KRT14"],  
  
    # Adipocyte  
    "Adipocyte": ["ADIPOQ", "LEP"],  
  
    # T cell  
    "T": ["CD3E", "CD8A", "CD4"],  
    ...  
}
```

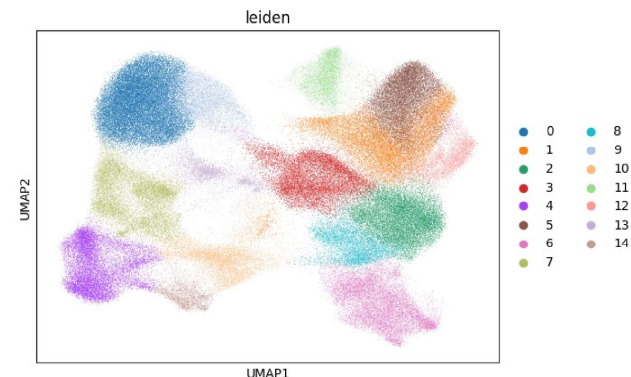
```
# plot gene expression per cluster  
sc.pl.dotplot(adata, marker_genes, groupby="leiden")
```

クラスターごとの平均発現量+発現細胞



4. クラスターごとの空間的局在確認

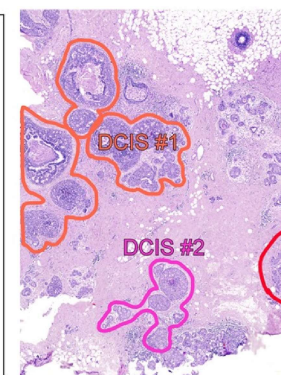
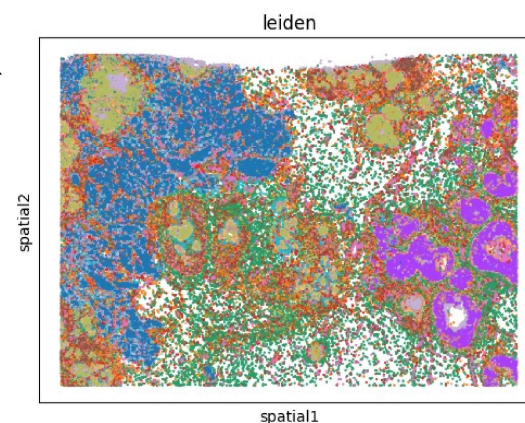
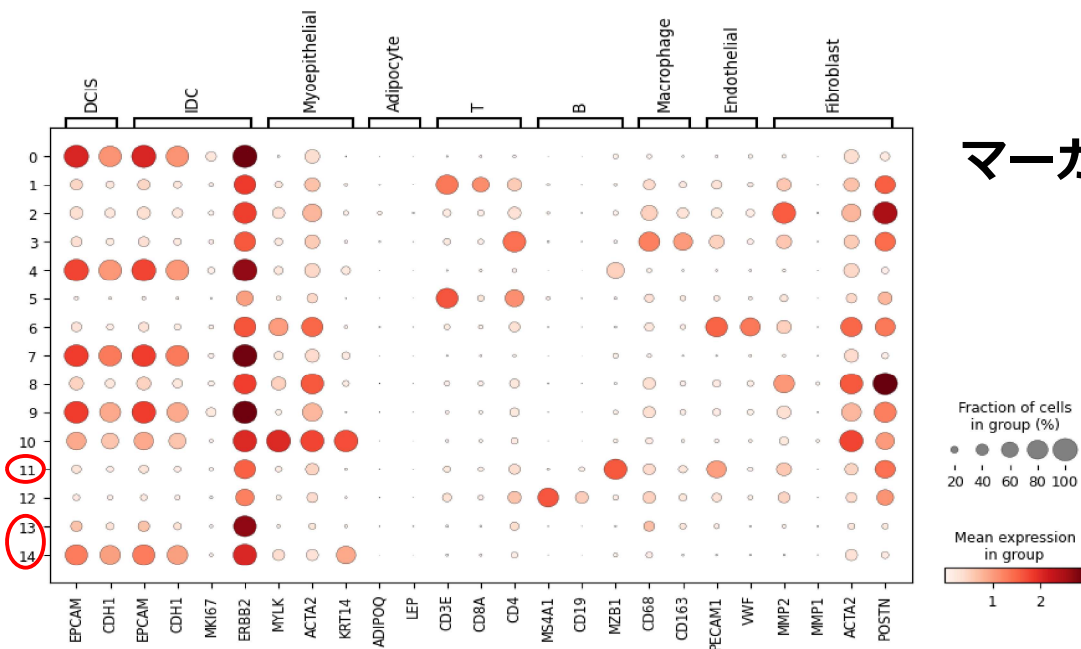
1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現確認
- 4. クラスターごとの空間的局在の確認**
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)



類似したクラスターがUMAP空間上で近い

マーカーの確認

クラスターの分かれ方がH&E画像と



マーカー・UMAP・組織画像の相互確認

5. 細胞アノテーション

1. 対象組織に存在する細胞を確認
2. 各細胞のマーカー遺伝子を調べる
3. クラスターごとのマーカー遺伝子の発現確認
4. クラスターごとの空間的局在の確認
5. 細胞アノテーション
6. (病理専門医によるバリデーション)

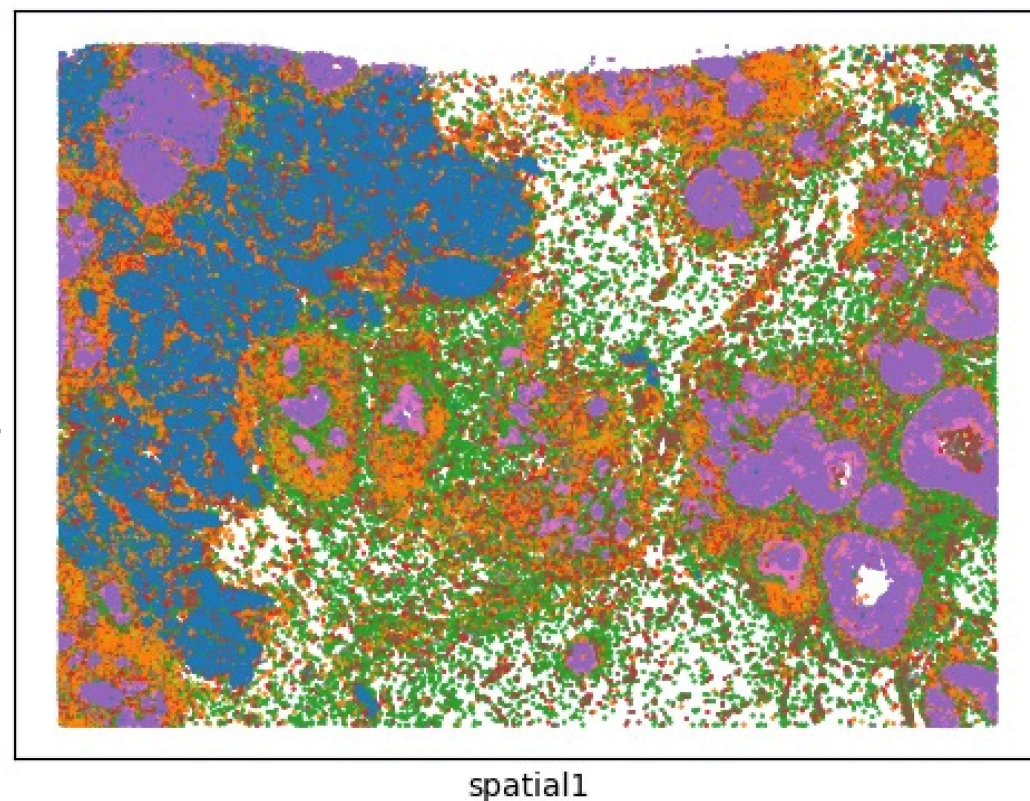
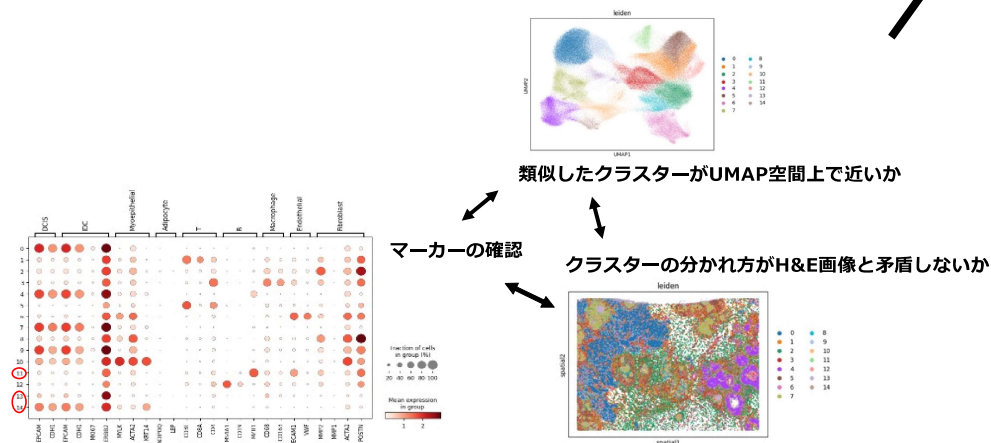
cell annotation

```
adata.obs["Cell"] = adata.obs["leiden"].replace({  
    "0": "IDC",  
    "9": "IDC",  
    "4": "DCIS",  
    "7": "DCIS",  
    "14": "DCIS",
```

空間プロット

```
sq.pl.spatial(  
    adata,  
    library=  
    shape=No  
    color=[  
        "Cel  
    ],  
    wspace=0  
)
```

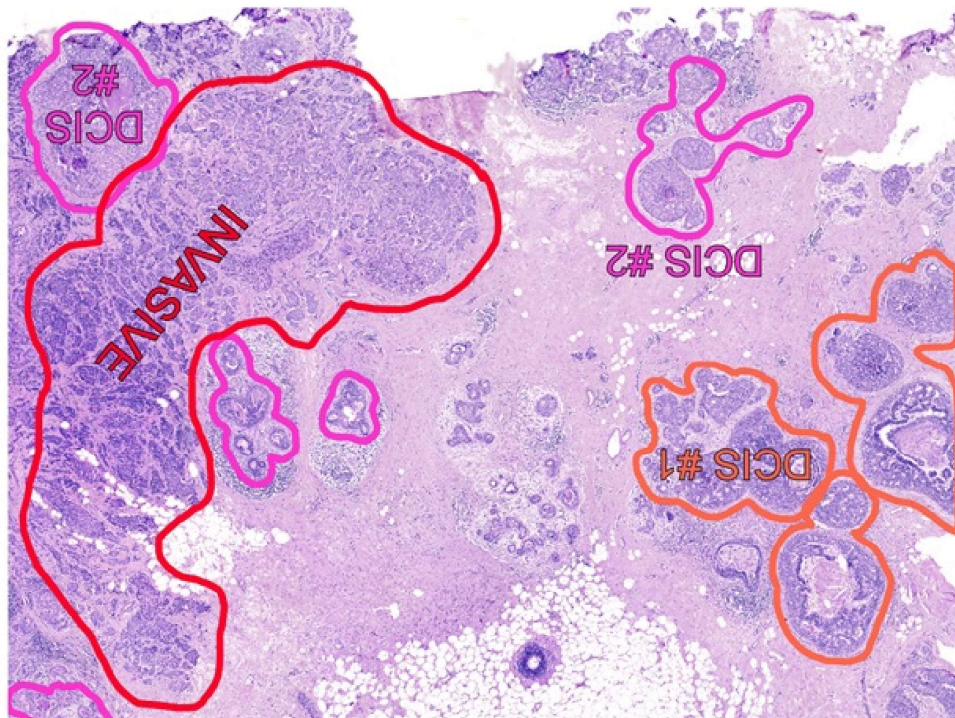
マーカー・UMAP・組織画像の総合的な判断により、
クラスターごとに細胞種を当てはめていく



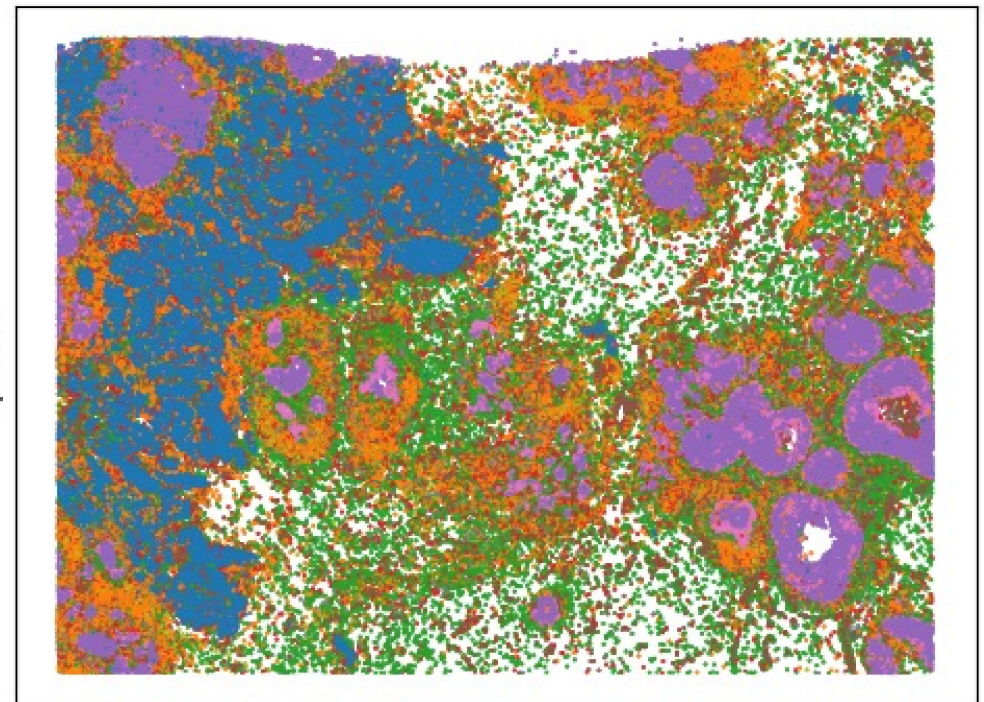
6. 病理専門医によるバリデーション



病理専門医「OKだと思います」



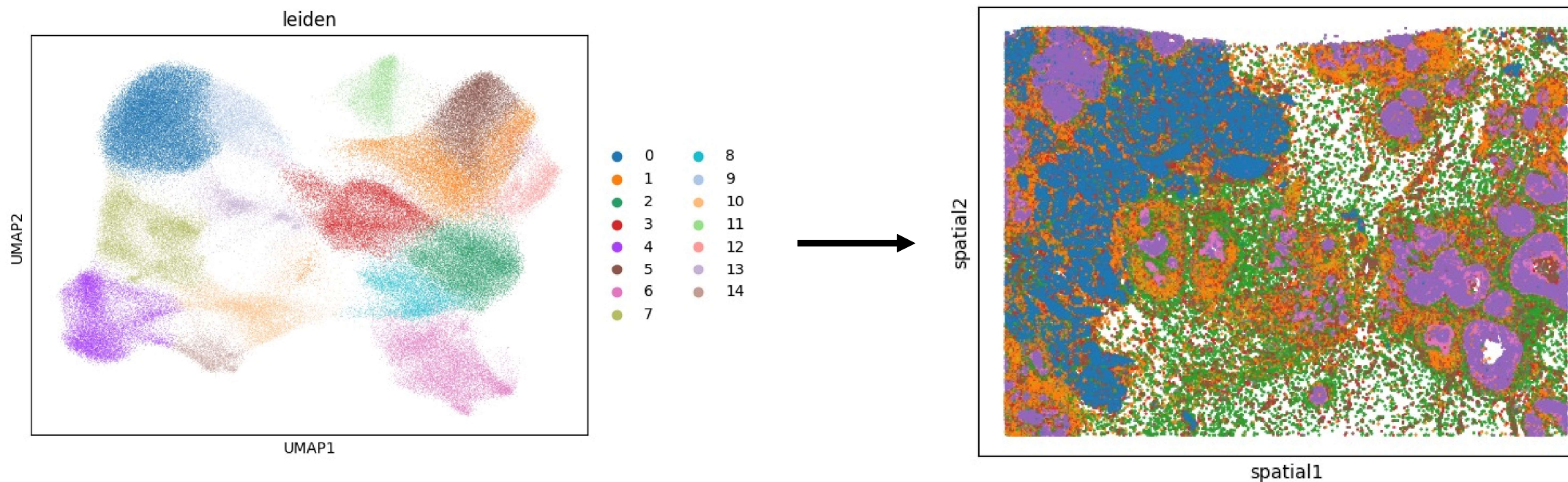
spatial2



spatial1

前半のまとめ

1. Scanpyを用いたシングルセル・空間オミクス解析を理解する。
2. SpatialKNifeY (SKNY) を用いてできる解析と応用例を知る。



生データから細胞種を同定できるようになった！