

パスウェイ解析の結果が 実験感覚と違う理由

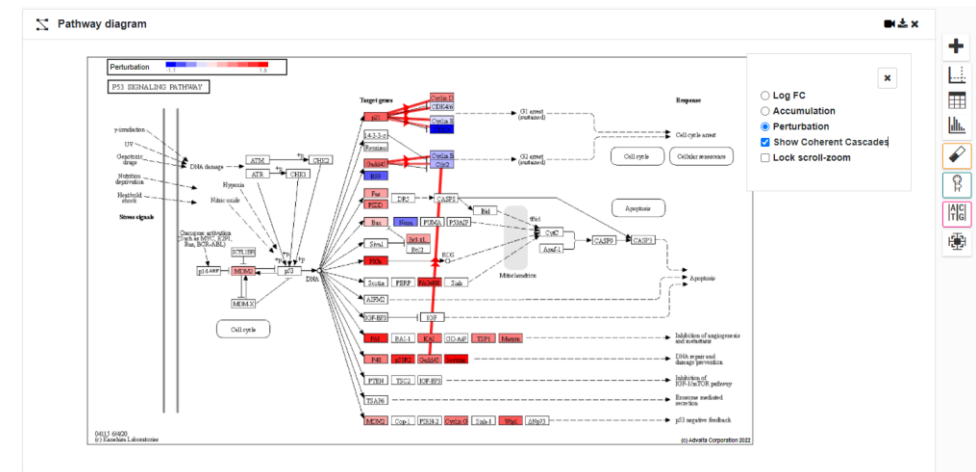
フィルジエン株式会社 バイオインフォマティクス部

-  **成果物**

iPathwayGuide

RNA-seqのDEG解析の結果を使用した パスウェイ解析ソフトウェア

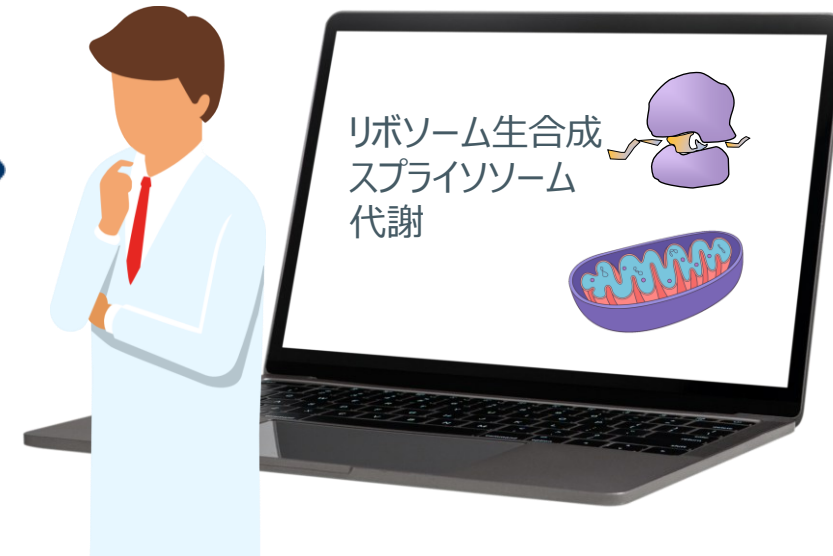
- 遺伝子相互作用を加味したパスウェイ結果
- 遺伝子発現比較データの解釈を手助け



期待される結果



実際の結果



パスウェイ解析結果に期待される表現型の変化に全く関係ない

パスウェイばかりヒットする

商用ソフトウェアとフリーのソフトウェアツールとの違い

Impact of outdated gene annotations on pathway enrichment analysis

To the Editor: Pathway enrichment analysis is a common technique for interpreting gene lists derived from high-throughput experiments¹. Its success depends on the quality of gene annotations. We analyzed the evolution of pathway knowledge and annotations over the past seven years and found that the use of outdated resources has strongly affected practical genomic analysis and recent literature: 67% of ~3,900 publications we surveyed in 2015 referenced outdated software that captured only 26% of biological processes and pathways identified using current resources.

706 | VOL.13 NO.9 | SEPTEMBER 2016 | **NATURE METHODS**

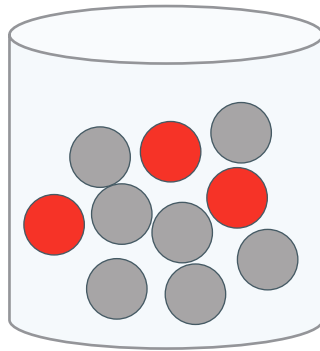


2015年に調査した約3,900の出版物のうち、67%が古いソフトウェアを参照しており、現在(2016)のリソースを使用して特定された生物学的プロセスとパスウェイのわずか26%しかカバーしていませんでした。

iPathwayGuide と他のソフトウェアとの違い

エンリッチメント解析

オープンソースツールや商用ソフト

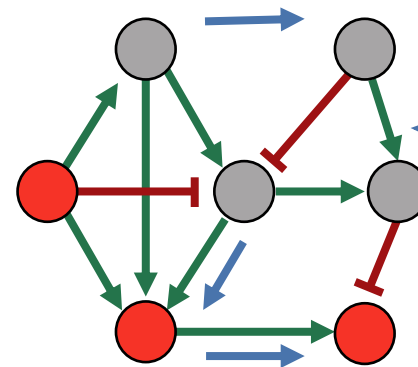


パスウェイ内の遺伝子が「互いに独立している」と仮定して計算

- 「そのパスウェイ上に、発現変動遺伝子（DEG）がいくつ含まれているか」という割合だけを見る。
- 欠点：遺伝子の位置や役割を無視
→実際には遺伝子は複雑に相互作用している。

Impact Analysis

iPathwayGuideのアプローチ



パスウェイのトポロジー（構造）と遺伝子の役割と位置を考慮

- 統計確率+経路全体への影響度(Impact)を計算
- 利点：遺伝子の位置や相互作用を加味
→生物学的に重要なパスウェイを発見

**iPathwayGuideは偽陽性（ノイズ）を減らし、
本当に生物学的な影響があるパスウェイ（真陽性）を正確に発見できます。**

マウスの IL1a 遺伝子をノックアウトした実験



IL1a に関連するパスウェイが本来検出されるべき

Pathway Name
Osteoclast differentiation
Cytokine-cytokine receptor interaction
Fluid shear stress and atherosclerosis
Graft-versus-host disease
Type I diabetes mellitus
MAPK signaling pathway
Pertussis
Tuberculosis
Influenza A
Rheumatoid arthritis
Salmonella infection
Prion diseases
AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications
Leishmaniasis
Inflammatory bowel disease (IBD)
Necroptosis
Cellular senescence
Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)
Measles

IL1a に関連するパスウェイリスト

エンリッチメント解析

Pathway Name	#Genes on Pathway	#DE Genes on Pathway	pFisher	pPert
Axon guidance	175	21	0.0067	0.3658
MAPK signaling pathway	293	31	0.0076	0.0160
Synaptic vesicle cycle	62	10	0.0079	Mediat
Leukocyte transendothelial migration	115	15	0.0099	0.2594
Fluid shear stress and atherosclerosis	142	17	0.0143	0.0040
Bacterial invasion of epithelial cells	76	10	0.0304	0.7026
Complement and coagulation cascades	87	11	0.0310	0.0170
Morphine addiction	92	11	0.0442	0.8496
Rap1 signaling pathway	213	21	0.0495	0.8066
Leishmaniasis	67	8	0.0797	0.5287

P値順のパスウェイ結果。IL1a に関連するパスウェイが強調表示されています。

- ・上位3つ中2つが IL1a と無関係（偽陽性）
- ・最も有意なパスウェイも IL1a と無関係



本当に重要なパスウェイを見逃す

Impact Analysis

Pathway Name	#Genes on Pathway	#DE Genes on Pathway	pFisher	pPert
Osteoclast differentiation	128	10	0.3617	0.0025
Cytokine-cytokine receptor interaction	271	23	0.1476	0.0030
Fluid shear stress and atherosclerosis	142	17	0.0143	0.0040
GnRH signaling pathway	89	8	0.2501	0.0095
Graft-versus-host disease	65	2	0.9400	0.0115
Type I diabetes mellitus	70	2	0.9551	0.0150
MAPK signaling pathway	293	31	0.0076	0.0160
Complement and coagulation cascades	87	11	0.0310	0.0170
Olfactory transduction	1122	27	1.0000	0.0185
Taste transduction	88	8	0.2406	0.0210

P値順のパスウェイ結果。IL1a に関連するパスウェイが強調表示されています。

- ・上位3つすべてが IL1a を含む正解パスウェイ
- ・上位7つ中6つが IL1a 関連

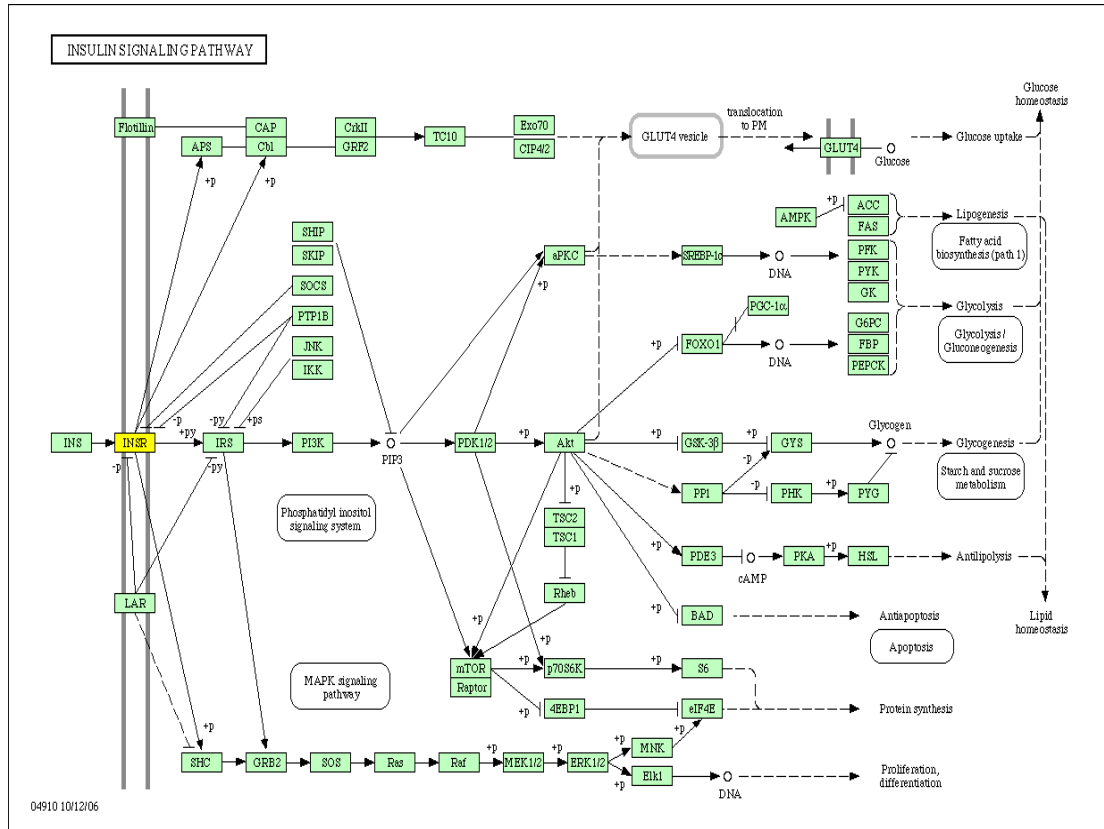


原因遺伝子 IL1a に関連する経路を非常に高精度で特定

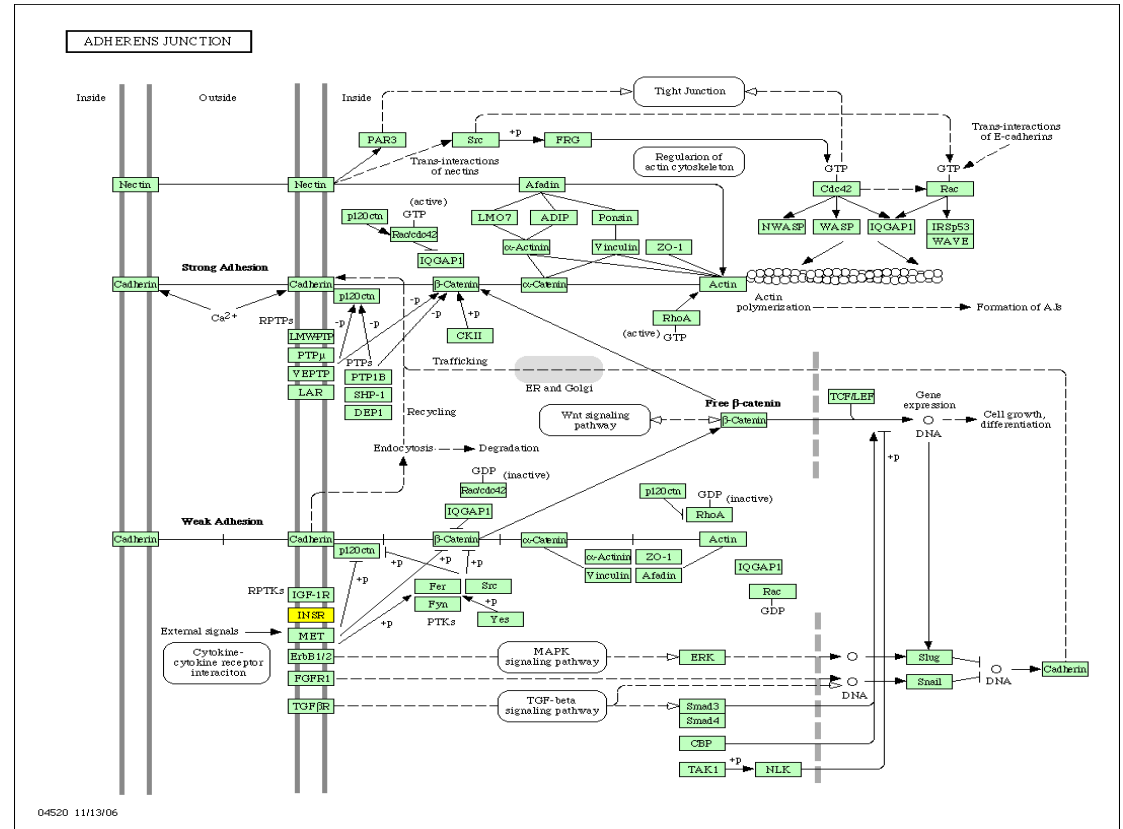
Impact Analysis は偽陽性を大幅に削減し、IL1a ノックアウトに関連する本来のパスウェイを高精度に復元できる。

遺伝子の位置や相互作用を加味するメリット

インスリンシグナル伝達経路



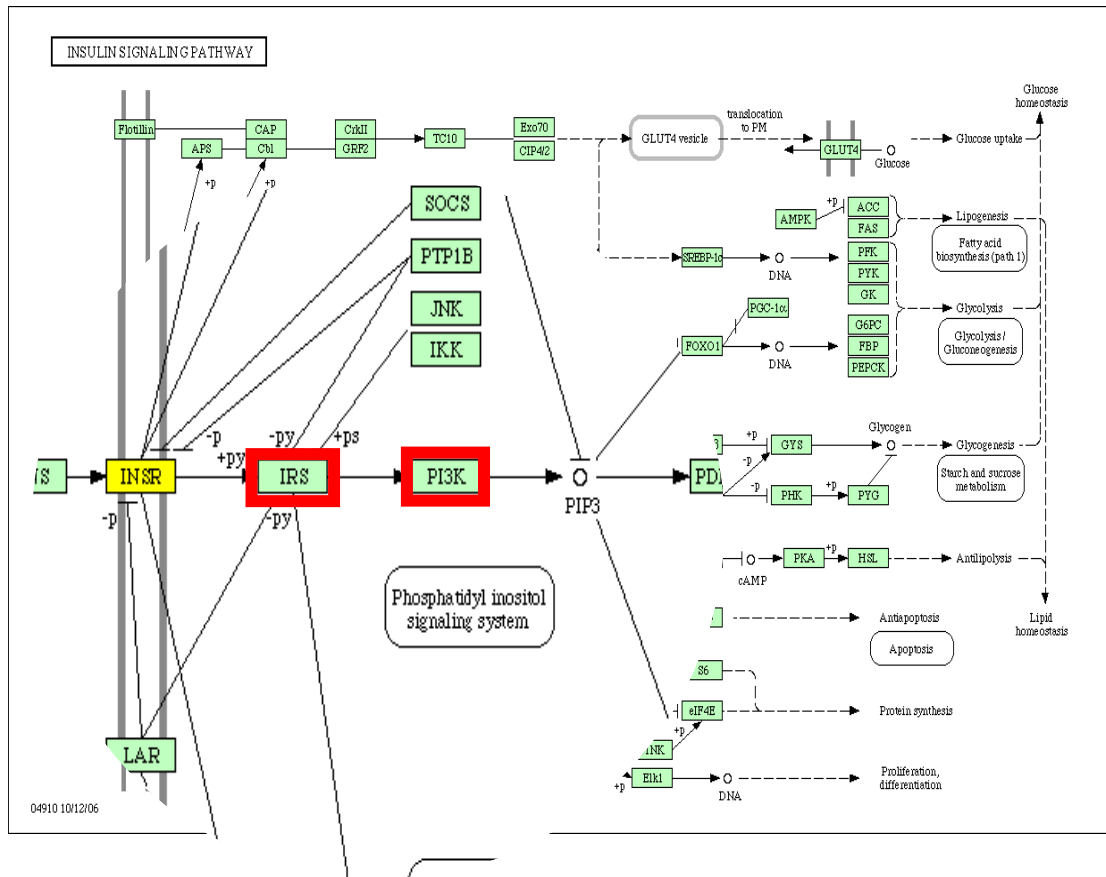
Adherens junction 経路



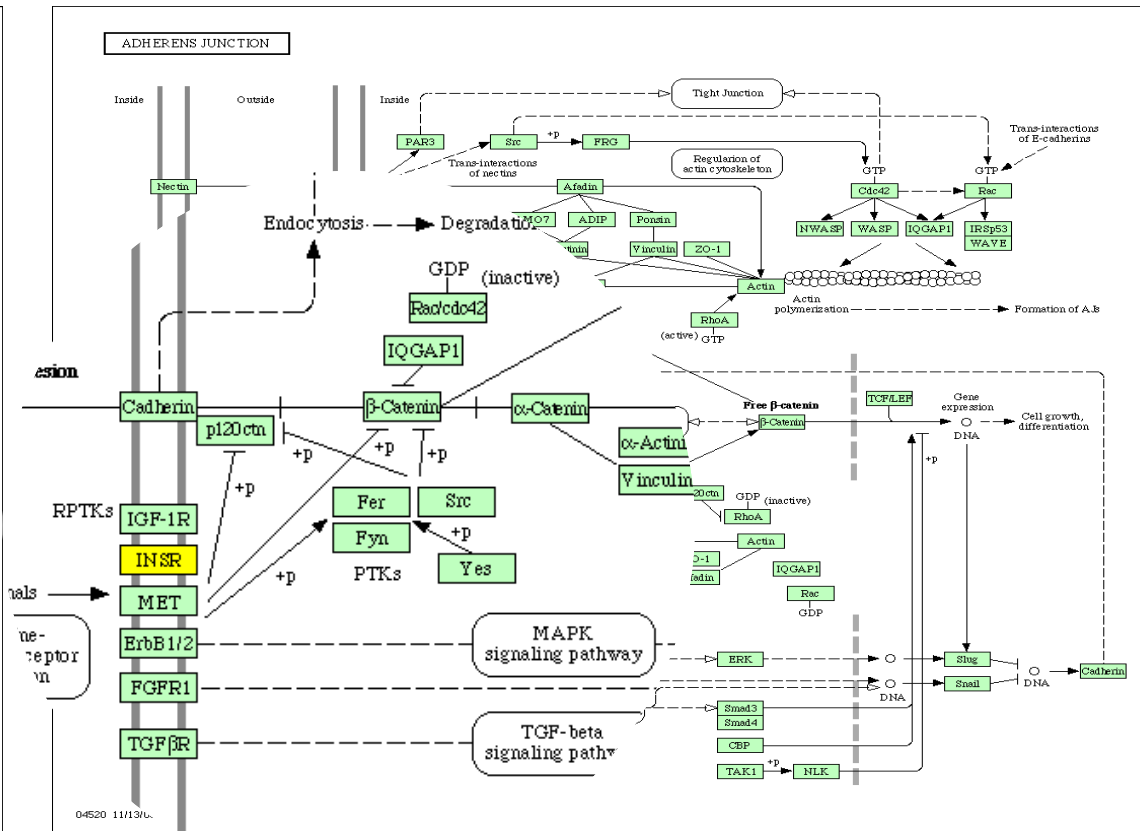
2つのパスウェイで発現変動が認められたのは **INSR** のみ

遺伝子の位置や相互作用を加味するメリット

インスリンシグナル伝達経路



Adherens junction経路

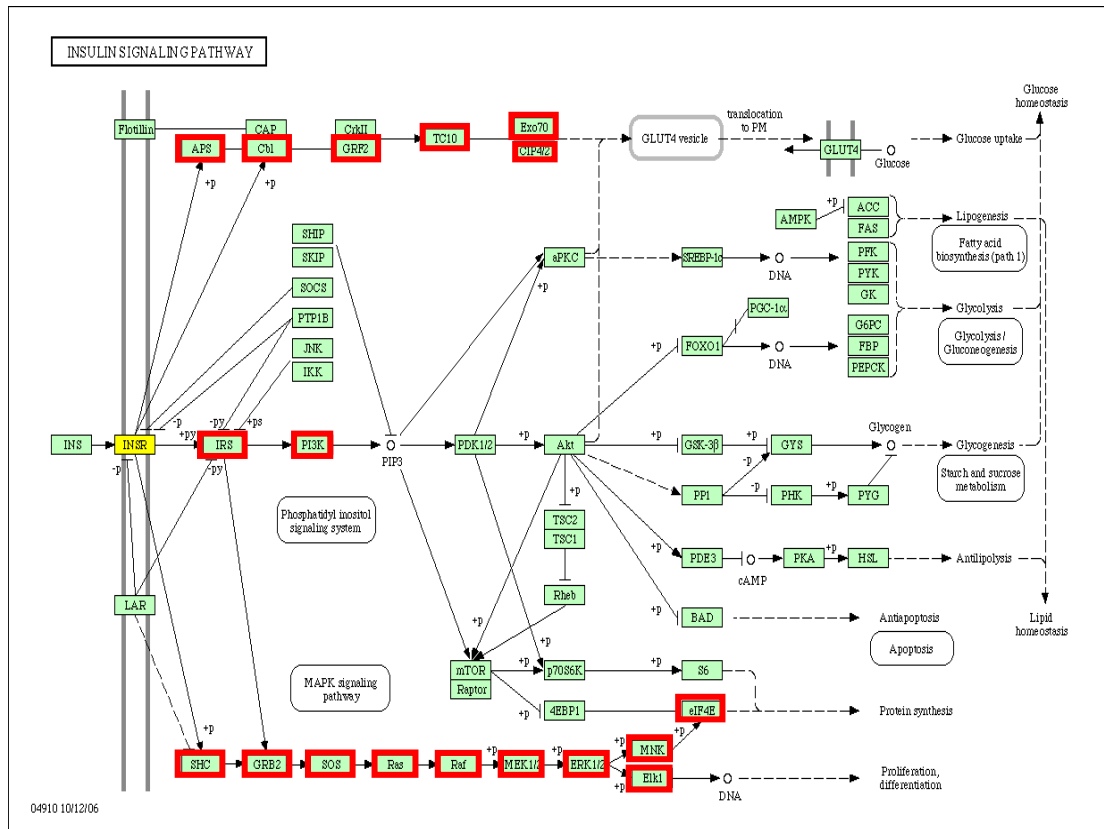


2つのパスウェイで発現変動が認められたのは **INSR** のみ

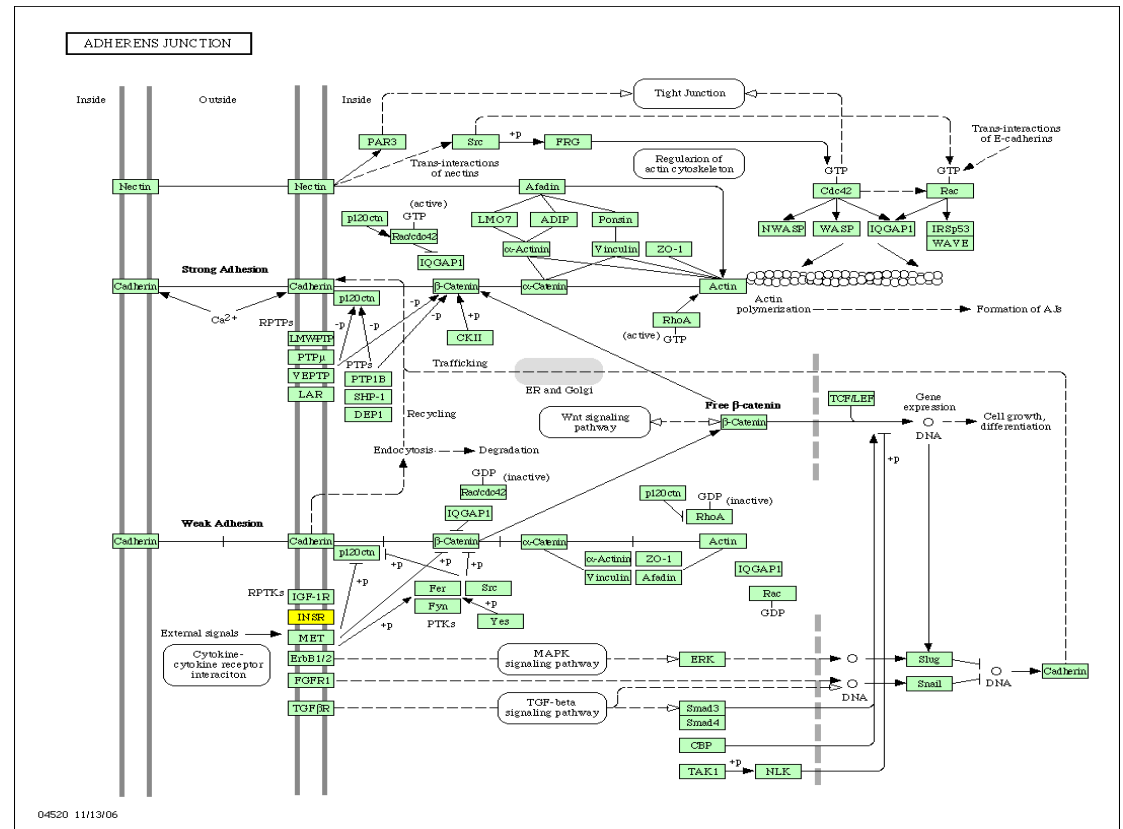
- インスリンシグナル伝達経路では **INSR** は下流に影響を及ぼす重要なエントリーポイント
- 対してAdherens junction経路では **INSR** は下流に影響を与えない

遺伝子の位置や相互作用を加味するメリット

インスリンシグナル伝達経路



Adherens junction 経路



エンリッチメント解析：

✗ **INSR** の役割が考慮されず、遮断しても両パスウェイは「影響なし」と誤判定。

Impact Analysis：

✓ インスリン経路における**INSR** を主要エントリーポイントとして評価し、Adherens junction は影響小と特定。

パスウェイ解析結果の解釈方法①

Gene details

Title: MDM2 proto-oncogene
Identifier: [4193](#)
Symbol: MDM2
Aliases: HDMX, hdm2, ACTFS, LSKB
Summary: This gene encodes a nuclear-localized E3 ubiquitin ligase. The encoded protein can promote tumor formation by targeting tumor suppressor proteins, such as p53, for proteasomal degradation. This gene is itself transcriptionally-regulated by p53. Overexpression or amplification of this locus is detected in a variety of different cancers. There is a pseudogene for this gene on chromosome 2. Alternative splicing results in a multitude of transcript variants, many of which may be expressed only in tumor cells. [provided by RefSeq, Jun 2013]

Literature references for MDM2

Filter by typing atleast 3 characters ...

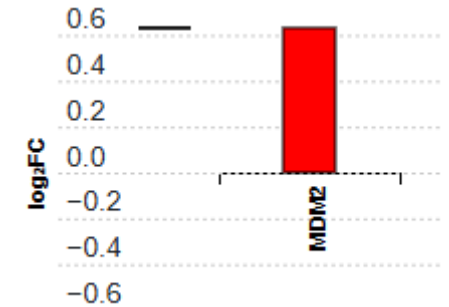
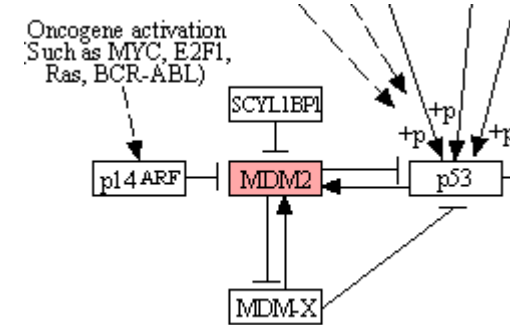
Any association sources

References were last updated on Dec 22, 2025

← Newer

Older →

- Moleri, S. et al., 2025. A TAp63alpha truncating variant associated with primary ovarian insufficiency lowers the cellular apoptotic rate. Journal of ovarian research, 18(1), p.292. [TA more details](#)
- Yu, L., He, L. & Zhang, N., 2025. BCOR Mutations Identify a Clinically Aggressive Subset of Pediatric Rhabdomyosarcoma. Fetal and pediatric pathology, pp.1–6. [TA more details](#)
- Tian, S. et al., 2025. ACSL5 Regulates Glucose Metabolism and Chemotherapy Sensitivity in Colorectal Cancer Cells under Glutamine Deficiency. Advanced science (Weinheim, Baden-Wurtemberg, Germany), p.e10801. [TA more details](#)
- Wang, H. et al., 2025. E3 Ubiquitin Ligases: Structures, Biological Functions, Diseases, and Therapy. MedComm, 6(12), p.e70528. [TA more details](#)
- Kalpokas, A., Mackey, M. & Michel, J., 2025. Accurate Prediction of Drug Resistance for Intrinsically Disordered Protein Regions. Journal of chemical theory and computation. [TA more details](#)
- Hao, D. et al., 2025. Exposure to polystyrene nanoparticles induce disruption of mitochondrial homeostasis and impairs trophoblast

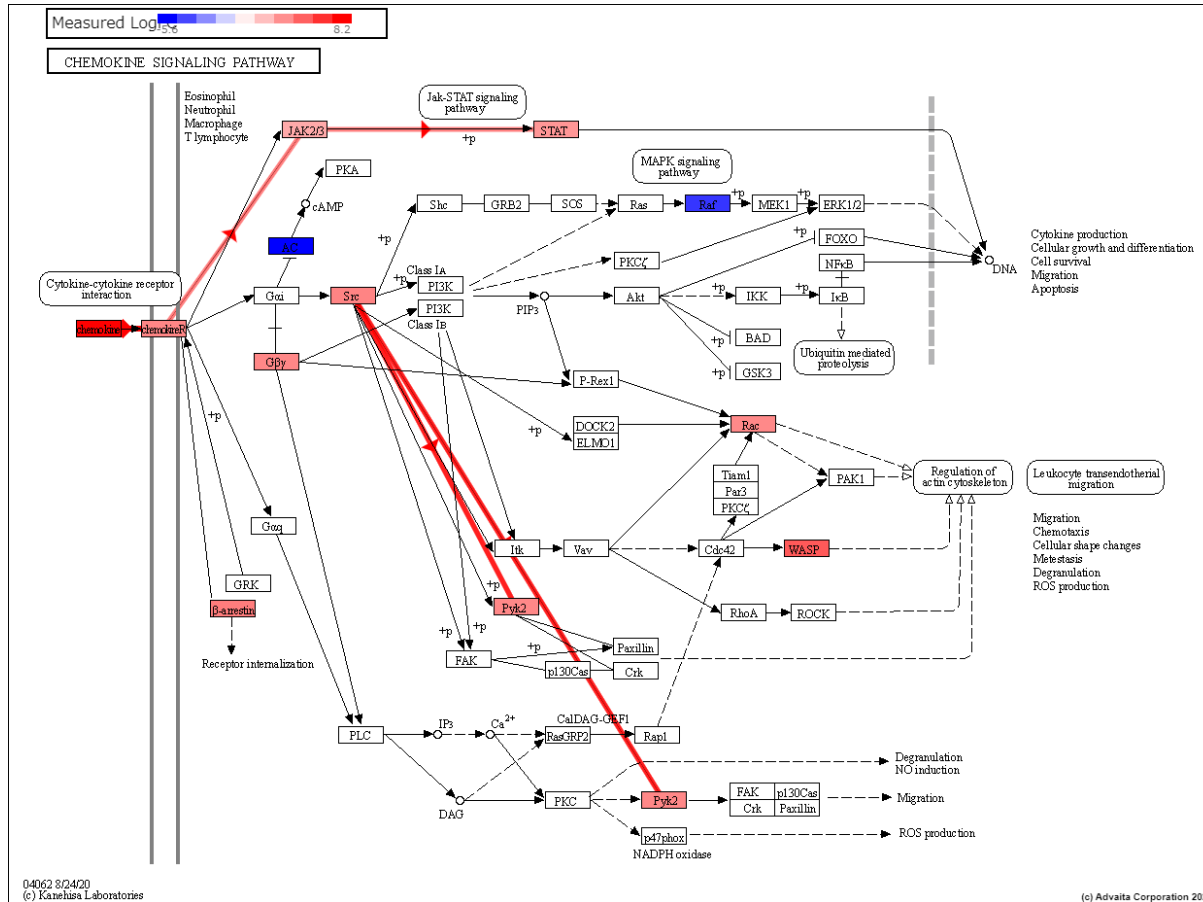


パスウェイ上に気になる遺伝子がある

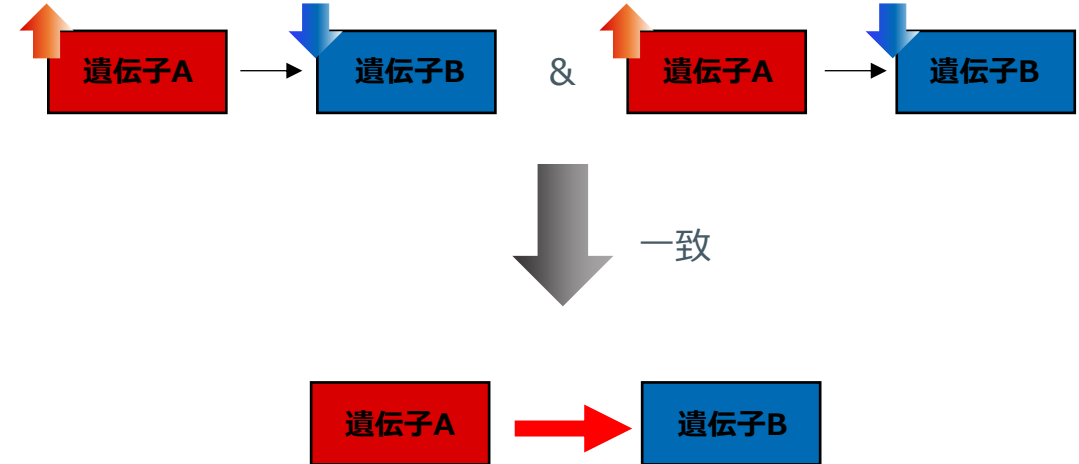
遺伝子の詳細情報や
最新の研究論文へアクセス
検索窓から特定のワード（例：cancer）を入力して絞り込みも可能

関連する文献を調べる必要はありません
検出された遺伝子に関する最新の論文情報にアクセスできるため、
迅速に研究を進めることに役立ちます。

パスウェイ解析結果の解釈方法①

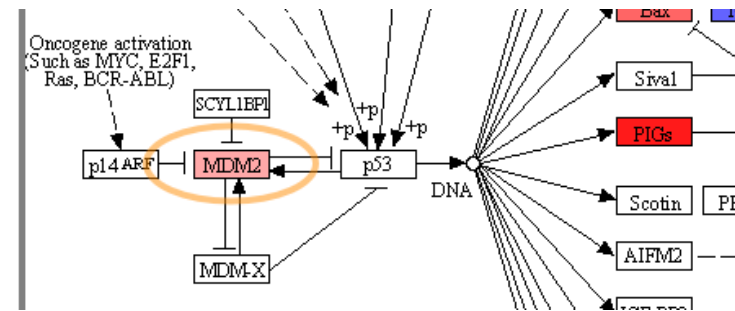
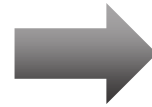
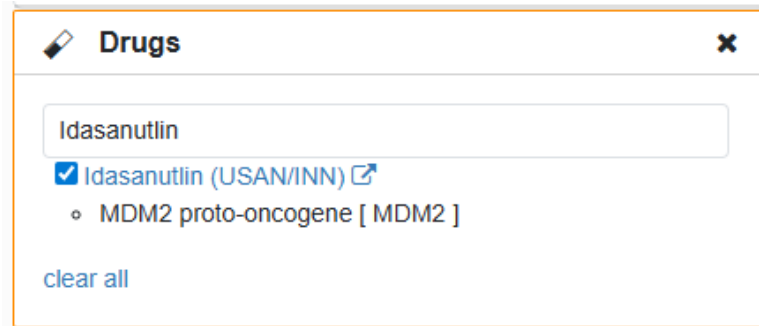
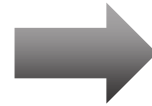
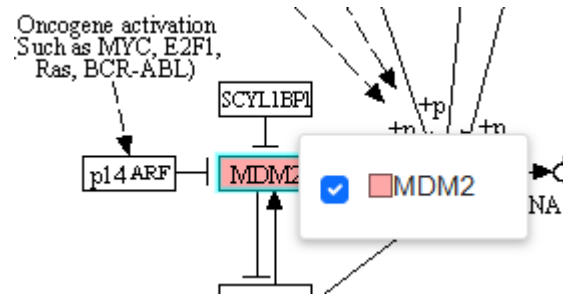


実際の結果



パスウェイで定義された相互作用と、実測の遺伝子発現の整合性を可視化。
例：A が B を抑制 → $A \uparrow \cdot B \downarrow$ のように発現が一致した場合、Coherent Cascades として強調表示。

パスウェイ解析結果の解釈方法②



パスウェイ上で標的遺伝子に作用する薬剤を検索可能。
逆に、指定した薬剤がどの遺伝子に作用するかも検索可能。
パスウェイ単位で薬剤作用点を把握し、候補薬剤の絞り込みに活用。

```

graph TD
    A[Cellular processes] --> B[biological regulation]
    A --> C[regulation of biological processes]
    B --> C
    C --> D[cell population proliferation]
    C --> E[negative regulation of biological...]
    D --> F[regulation of cell population...]
    D --> G[negative regulation of cell population...]
    F --> H[negative regulation of cell...]
    G --> H
    style A fill:#90EE90
    style B fill:#90EE90
    style C fill:#90EE90
    style D fill:#90EE90
    style E fill:#90EE90
    style F fill:#90EE90
    style G fill:#90EE90
    style H fill:#FFFF00
  
```

表現型に影響する上流の制御因子（遺伝子・薬剤・化学物質）の有無や、その表現型や遺伝子変化を治療・阻害できる薬剤・化学物質を調べることができます。

```

-----caga      nuc   GS    UCA          -A   C
UUUUCACAGC     UCSS  AUCA  UUUCACAGS  WFC  #
|||||         ||||  ||||  |||||       |||  |
aggagatgacg    agGC   UAGG  ACAGUGUguc  gWc  S
CUUUCUUCUCCCG      gAA   AA    UAG        ac   u

```

Percentage (%)

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0

Bacteroidetes Firmicutes Proteobacteria Actinobacteria Fusobacteria Chloroflexi Cyanobacteria Gemmatimonadetes Acidimicrobiales Gemmatimonadetes

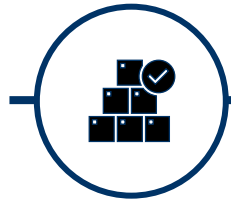
1000 Japanese

1000 Japanese

複数の遺伝子発現データを横断的に解析し、共通または特異的な遺伝子・パスウェイ・GO・疾患を迅速に特定できます。

解析結果を「研究ストーリー」として昇華させる

iPathwayGuideによる思考の統合とメカニズムの具現化



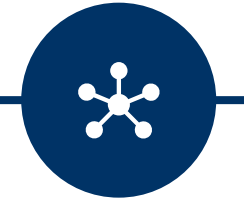
解析結果の蓄積

GO・パスウェイなどの
統計データの断片



研究者の問い

「MAPK経路に關与する、発現変動遺伝子はアポトーシスにどのように影響するのか」
「被験者を薬剤Xで治療することにしたら、このメカニズムはどう影響するのか」

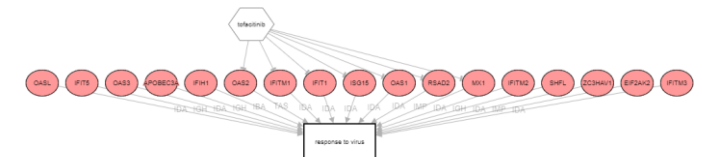
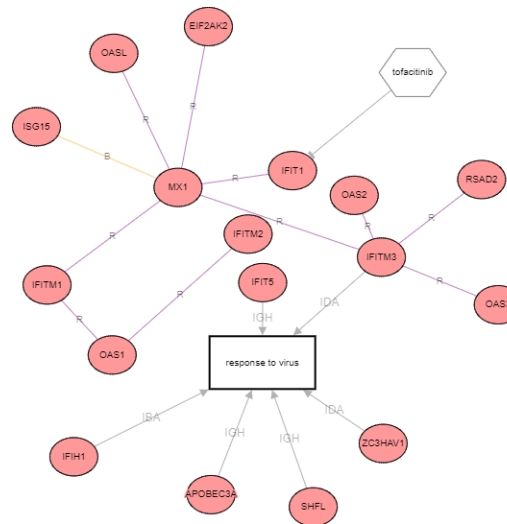


メカニズムの特定

薬剤影響予測を含む
一貫したストーリー

iPathwayGuide

点在する統計結果を、研究者の「**思考（ストーリー）**」と同期させ、**一元的なネットワーク図**とし描き出します。



お問い合わせ先：フィルジェン株式会社

TEL 052-624-4388 (9:00～17：00)

FAX 052-624-4389

E-mail: support@filgen.jp