



細胞の状態の変化を 生きたまま高精度に評価できる！

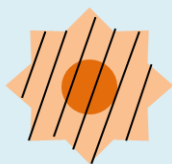
芝浦工業大学
システム理工学部生命科学科
中村奈緒子

- 本技術は、
AIを用いた「細胞の状態の変化を生きたまま高精度に評価できるシステム」
である。
- 細胞トラッキングにより取得した「経時的な細胞形態の三次元データおよび位置データ」を利用することで、「個々の細胞の状態の変化の一連の流れ」を評価することが可能である。

細胞の遊走データと3次元形態データ

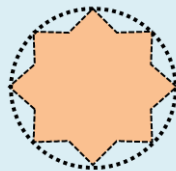
➤ Area

細胞の面積



➤ Irregularity

細胞の円周が、真円からどれだけずれているか
0...細胞が真円形



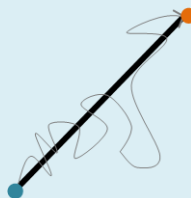
➤ Optical thickness

細胞の体積と面積から求められる平均細胞厚



➤ Migration

移動軌跡の始点と終点の間の最短距離



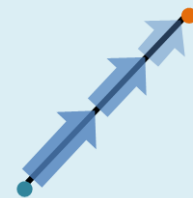
➤ Motility

移動経路の始点と終点の間に実際に移動した距離

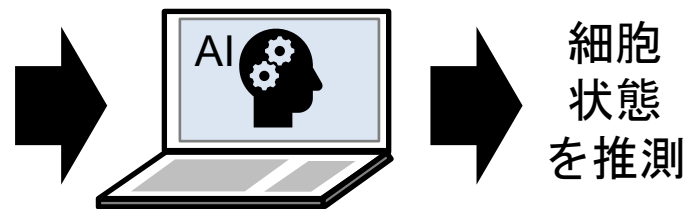


➤ Motility speed

Motilityを終点までの移動に要した時間で割ったもの



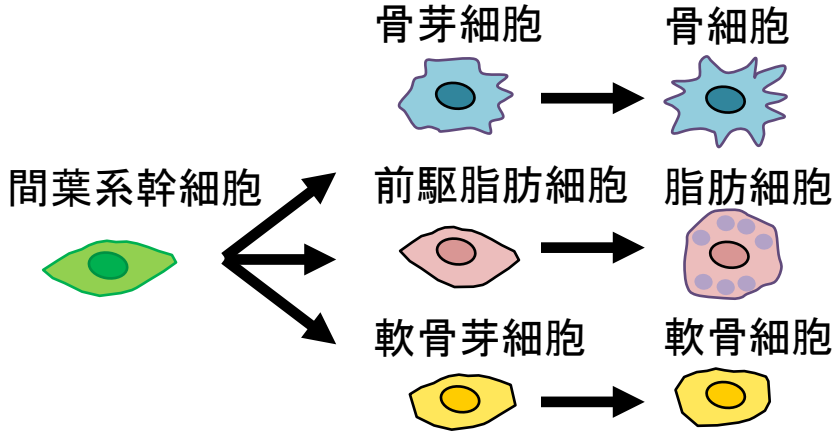
機械学習による細胞状態の識別



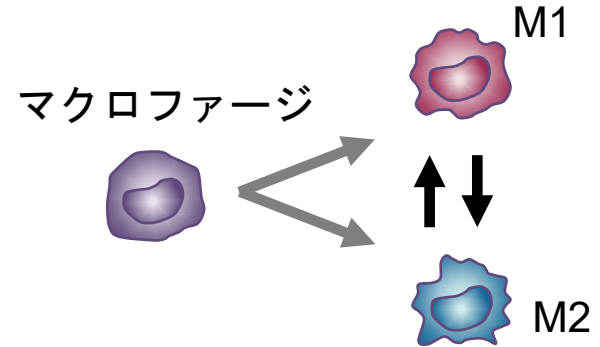
パッケージ : Python Scikit Learn
アルゴリズム : 多層パーセプトロン

細胞の状態の変化 1

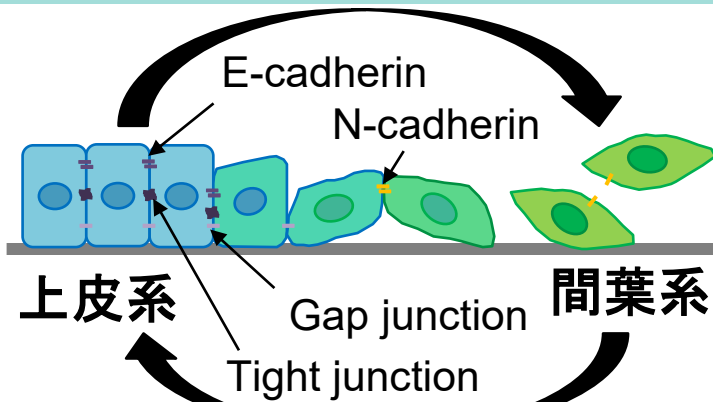
分化 Differentiation 不可逆的



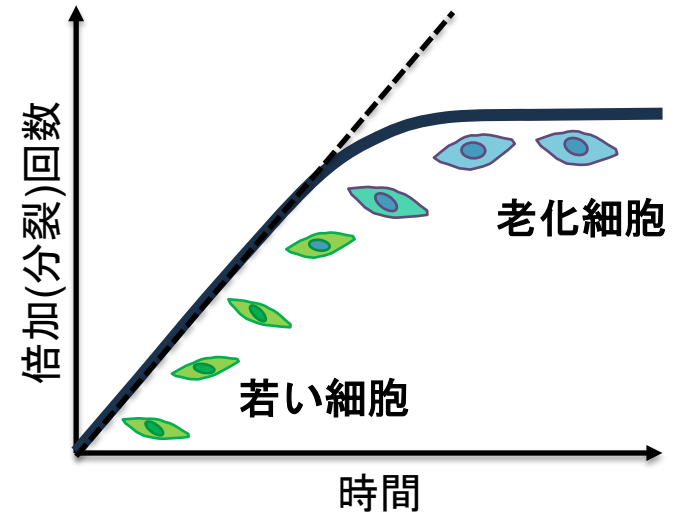
分極 Polarization 可逆的



上皮間葉転換 EMT 可逆的



老化 Senescence 不可逆的

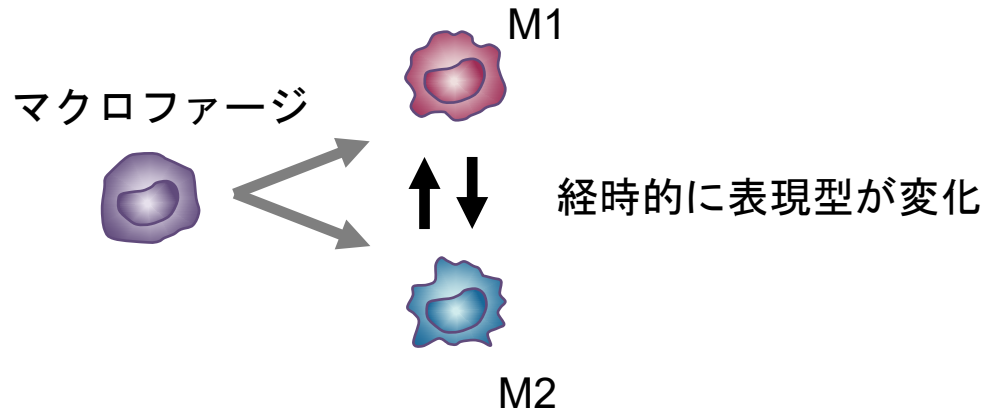


間葉上皮転換 MET 可逆的

細胞の状態の変化 2

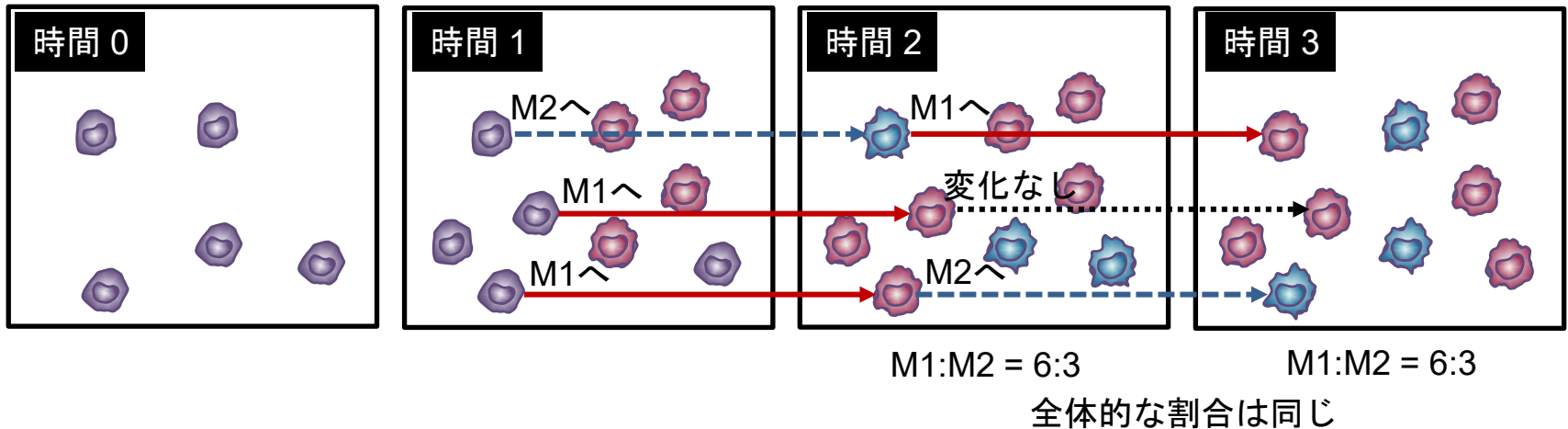
分極 Polarization

可逆的






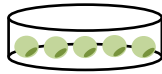
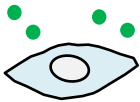

細胞接着

増殖・分極




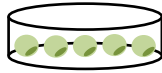
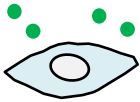


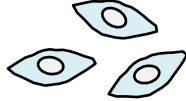


細胞の状態の可逆的な変化を明らかにするためには、
個々の細胞を経時的に評価する必要がある

従来技術とその問題点

評価手法	経時的観察の可否	個々の細胞の評価の可否
免疫蛍光染色	 <p>細胞を処理 (生存不可) → 経時的評価不可</p>	 <p>個々の細胞</p>
遺伝子発現解析	 <p>細胞を処理 (生存不可) → 経時的評価不可</p>	 <p>培養皿全体 (総合的・平均的)</p>
サイトカイン定量	 <p>培養液を回収 (生存可)</p>	 <p>培養皿全体 (総合的・平均的)</p>

従来技術（従来の評価方法）では、
個々の細胞の変化を経時的に捉えることができない

評価手法	経時的観察の可否	個々の細胞の評価の可否
免疫蛍光染色	 <p>細胞を処理 (生存不可) → 経時的評価不可</p>	 <p>個々の細胞</p>
遺伝子発現解析	 <p>細胞を処理 (生存不可) → 経時的評価不可</p>	 <p>培養皿全体 (総合的・平均的)</p>
サイトカイン定量	 <p>培養液を回収 (生存可)</p>	 <p>培養皿全体 (総合的・平均的)</p>
新技術	 <p>細胞を観察 (生存可)</p>	 <p>個々の細胞</p>

- 培養皿内の細胞の総合的・平均的な評価ではなく、細胞を個々に評価可能
- 細胞を処理をせずに、生細胞を経時的に評価可能

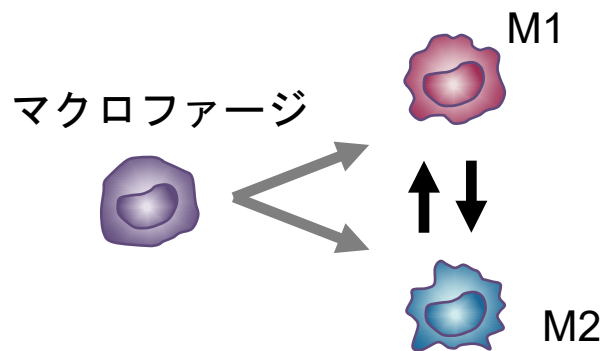
評価手法	評価試薬	評価機器
免疫蛍光染色	抗体・染色液 等	蛍光顕微鏡 等
遺伝子発現解析	PCR試薬・プライマー 等	PCR装置・サーマルサイクラー 等
サイトカイン定量	ELISA 等	プレートリーダー 等
新技術	不要 (顕微鏡の種類によっては 蛍光染色試薬)	3次元計測可能な顕微鏡 (ホログラフィック・共焦点 レーザー・蛍光 等)

- 評価試薬のコスト削減が可能
- 実験者の作業時間の短縮が可能

- 評価試薬不要でノーダメージで評価可能
- 三次元形態データを取得可能な様々な顕微鏡で利用可能
- 種々の細胞状態の評価に応用可能
- 高精度に評価可能

実施例【マクロファージの分極（表現型）の識別】

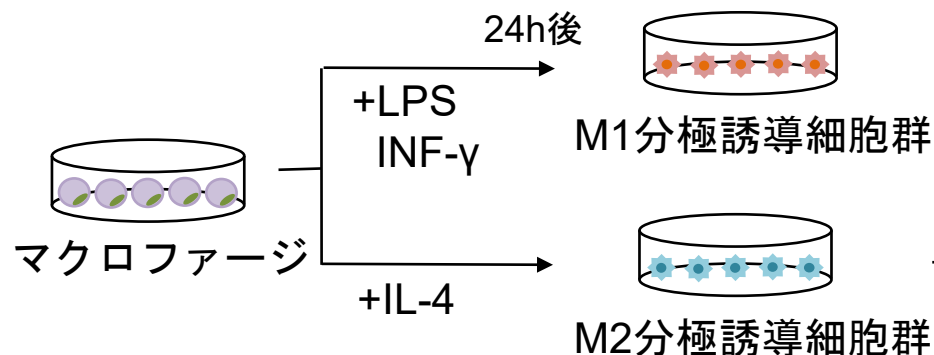
分極 Polarization 可逆的



HoloMonitor®M4
(Phase Holographic Imaging社)

- 非侵襲的に細胞観察可能
- タイムラプス撮影可能
- 遊走・3次元形態を取得可能

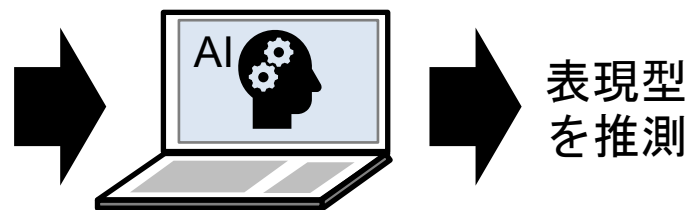
<既知の方法で分極誘導>



タイムラプス観察
↓
遊走・3次元形態
データの取得

実施例【マクロファージの分極（表現型）の識別】

マクロファージ細胞株A：約15000 cells（M1: 約8000 cells・M2: 約7000 cells）



パッケージ：Python Scikit Learn
アルゴリズム：多層パーセプトロン

結果※

Actual	M1	7800	280
	M2	310	6800
		M1	M2
		Predicted	

Accuracy（正確性）：>95%

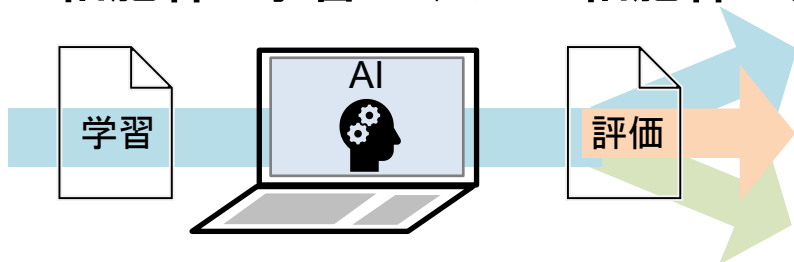
Precision（精度）：>95%

個々の細胞状態（表現型）を
経時的かつ高精度に評価可能

※数値はおおよその値

識別に対する細胞株の影響の検討

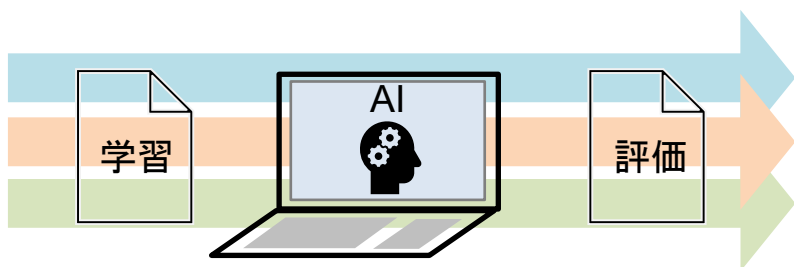
- 細胞株A学習モデルで細胞株Bを評価
- 細胞株A学習モデルで細胞株Cを評価



	細胞株A	細胞株B	細胞株C
正確性	>95%	>60%	>40%
精度	>95%	>65%	>45%

※数値はおおよその値

- 細胞株B学習モデルで細胞株Bを評価
- 細胞株C学習モデルで細胞株Cを評価



	細胞株A	細胞株B	細胞株C
正確性	>95%	>95%	>95%
精度	>95%	>95%	>95%

※数値はおおよその値

- 細胞株によって同じ表現型でも形態や遊走性に違いがあるため、学習と評価の細胞株は合わせる必要がある

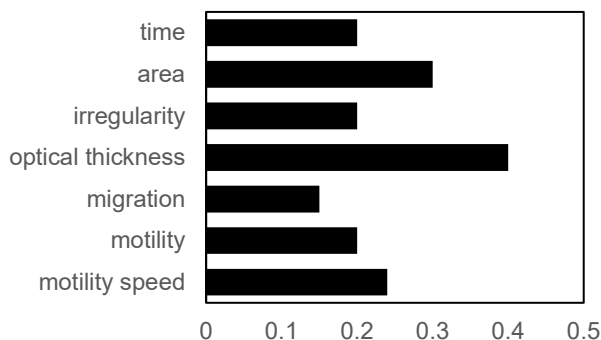
細胞の状態を特徴付ける要素の解明

特徴量重要度（各特徴量の細胞状態識別への寄与度）の算出手法：Permutation importance

細胞株A

※グラフはダミー

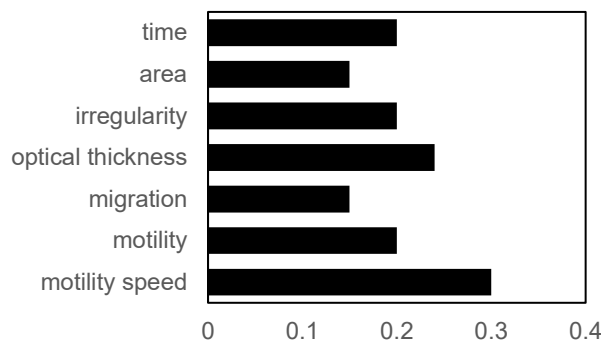
Feature importance



細胞株B

※グラフはダミー

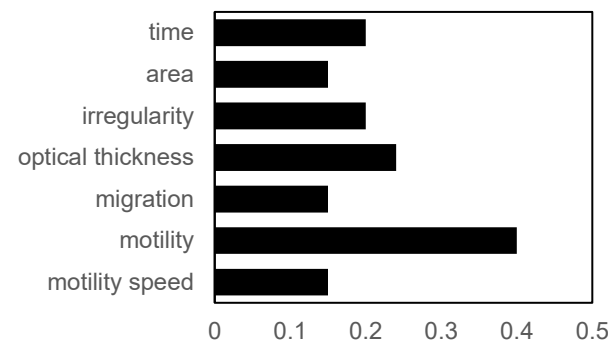
Feature importance



細胞株C

※グラフはダミー

Feature importance



特徴量重要度の比較により、どの要素（特徴量）が細胞の状態を特徴づけているかを明らかにすることが可能である

- 細胞の自動タイムラプス観察により、多数の細胞を一度に評価できる
→ スクリーニング検査等に有効
- 従来技術では不可能であった個々の細胞の経時的な状態変化を評価可能
→ 新たな知見の獲得を目指す基礎研究に有効

<具体例>

- 新薬開発等におけるスクリーニング検査
- 再生医療等における細胞の状態変化の経時的評価
- 医療機器開発等における細胞応答性の経時的評価
- 生命科学・医学分野の基礎研究における細胞の経時的評価

- 顕微鏡の機種によって取得可能なデータの形式が異なる
→ 種々の顕微鏡に対応するには、データセット作成のためにデータ形式の統一化が必要である
- 現時点ではデータセット作成時に手動の工程が一部ある
→ 自動化することで、より簡易なシステムとなりうる
- 現時点では事前に使用する細胞株の学習用データを取得する必要がある
→ 種々の細胞のデータを収集してデータベース化することで、汎用的な細胞を用いる場合は事前の学習が不要なシステムとして導入が可能となる

- 本技術の技術移転を希望
- 細胞評価の自動化は創薬や再生医療分野において必須の技術となりつつあり、顕微鏡等をはじめとするバイオ関連機器を開発・応用を考えている企業には本技術の導入が有効と考える
- 細胞を3次元観察できる顕微鏡は現時点では少ないものの、細胞の3次元培養の必要性に伴い、今後開発がますます進むものと思われる

- 従来技術では不可能であった個々の細胞の経時的な評価を可能とする
 - 細胞に関する新たな知見を得ることになる
- 分子生物学的な実験手技不要である
 - コスト削減
 - 実験者の作業時間の削減
 - 大量サンプルの解析が簡易になる

**生命科学・医学・創薬研究の加速に有用であり、
社会実装が期待される技術であると考え**

発明の名称：

細胞の状態の推論装置、細胞の表現型の推論装置、細胞の分化状態の推論装置、細胞の状態の推論方法、細胞の表現型の推論方法および細胞の分化状態の推論方法

出願番号：特願2024-143343号

出願人：芝浦工業大学

発明者：中村奈緒子、澁谷優里佳

芝浦工業大学 研究推進部研究企画課

TEL 03-5859-7180

FAX 03-5859-7181

E-mail sangaku@ow.shibaura-it.ac.jp