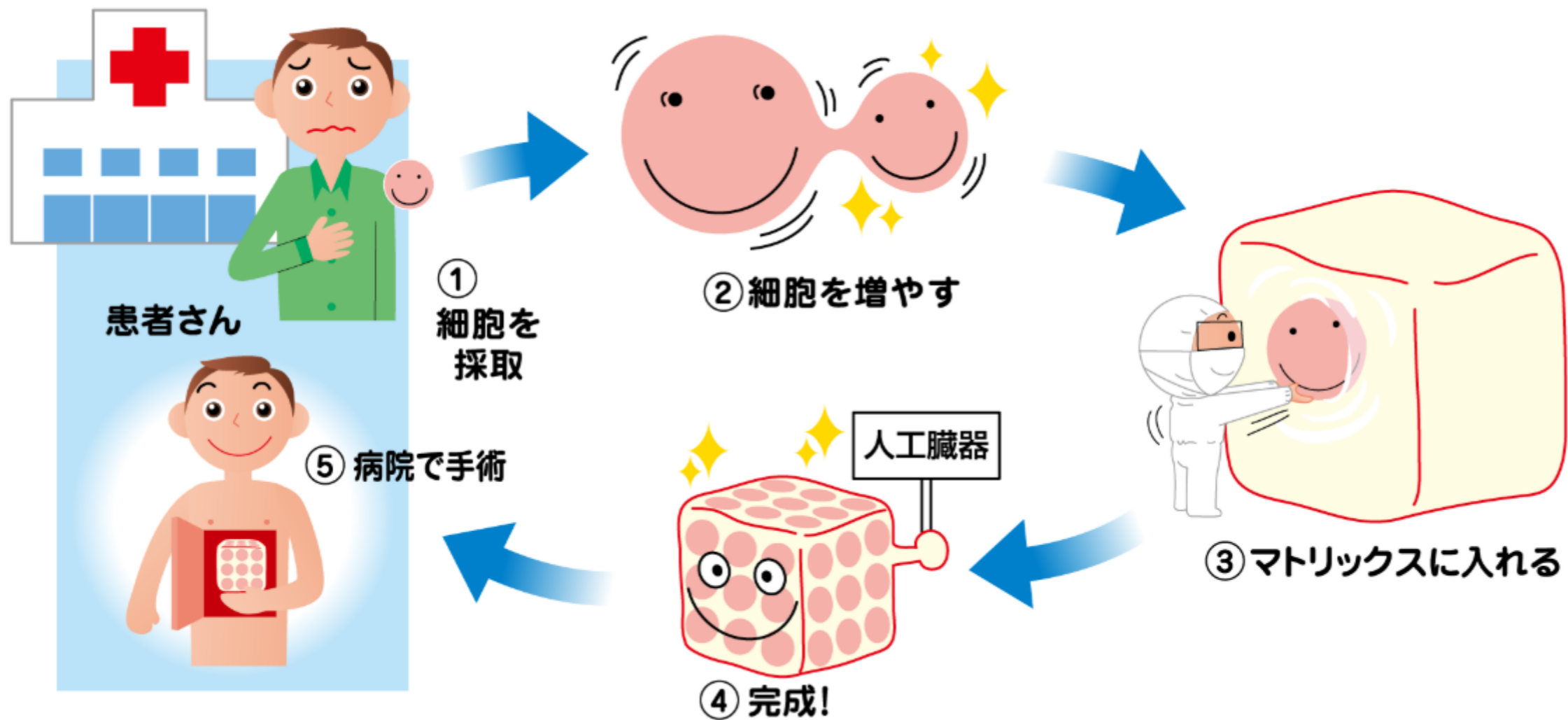


口腔粘膜上皮細胞シートの動画解析による非侵襲的細胞評価法

新潟大学 大学院医歯学総合研究科
歯学部 生体組織再生工学
教授 泉 健次

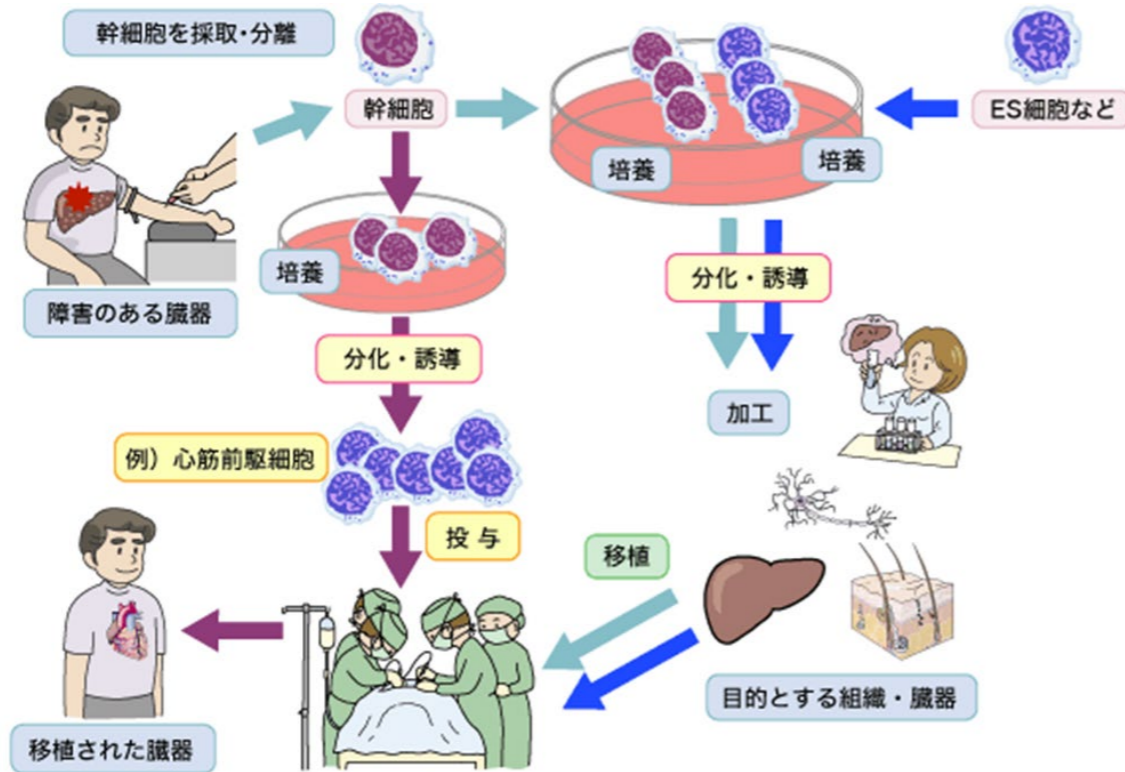
2026年1月22日

再生医療の流れ



細胞は加工される

ものづくり(工業・食品)



品質管理が求められる

同等か？

品質管理・質の比較

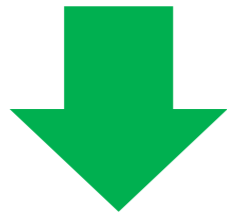
目的と深度が大きく異なる

細胞・組織製品

不可 = 破壊検査
侵襲的抜き取り検査

ドナー間、細胞反応の
ばらつきが大

- 全数検査の可否
- 原材料の変動性



現状の細胞品質管理の課題

一般的医薬品・注射器

全数検査可
代表的サンプル検査可

原材料が均質
規格化容易

その解決策

画像解析 →

“品質の見える化”

無菌的・非侵襲的・リアルタイム解析が可能

非侵襲的・定量的評価による細胞品質管理

リアルタイム・定量データはばらつきの大い細胞挙動を正確に捉える最も実践的な方法。
細胞製品の安全性・有効性を安定供給するために不可欠。

1. 全数検査が不可能な製品特性への根本的対応
2. 工程ばらつきや細胞挙動の“その場観察”が可能
3. 主観評価から客観評価へ：再現性・規制適合性の向上

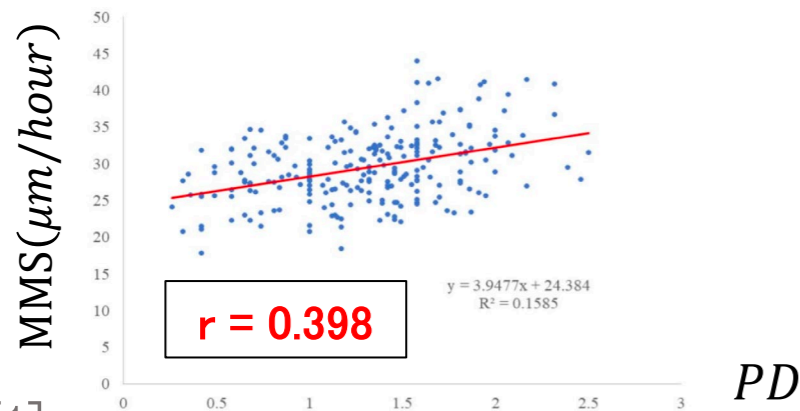
関連研究における取り組みの例

タイムラプス動画で撮影された細胞の画像解析より、**非侵襲的に特徴量**を取得
 >> 取得された**特徴量**から、品質特性の予測可能性を検討する。

移動速度

Noninvasive measurement of cell/colony motion (E.Hoshikawa+, 2019)

Optical flowにより、培養初期の口腔粘膜上皮細胞の移動速度を定量化(= MMS指標)
 ⇒ 増殖能との間に正の相関関係を見出した。

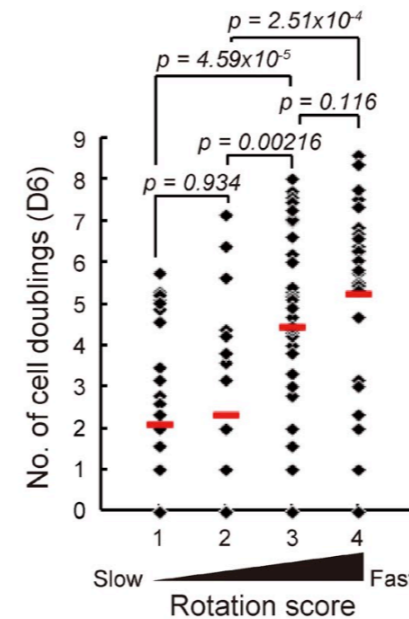


[1]

回転速度

Cell motion predicts human epidermal stemness (D.Nanba+, 2015)

ヒト表皮角化幹細胞の2細胞コロニ一段階における回転速度は、増殖能と正の相関がある。

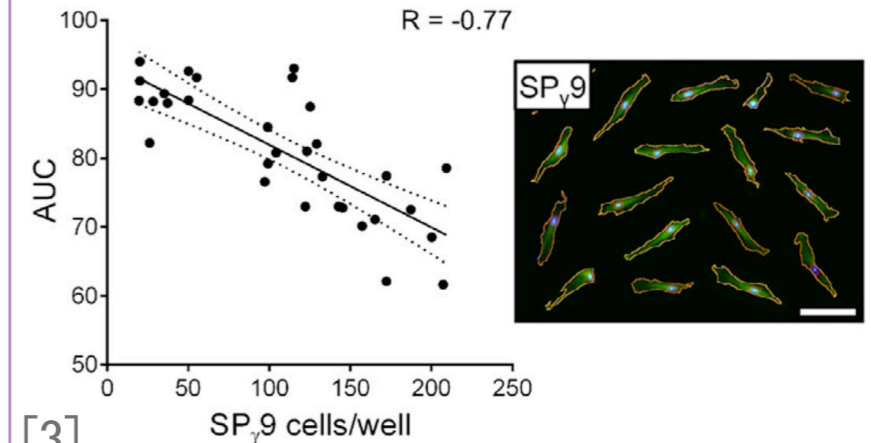


[2]

形態学情報

Morphological profiling using machine learning reveals emergent subpopulations (R.Marklein+, 2019)

間葉系幹細胞から21つの形態学情報を抽出
 ⇒ viSNEによる解析で免疫抑制能と強く相関する亜集団の同定に成功した。



[3]

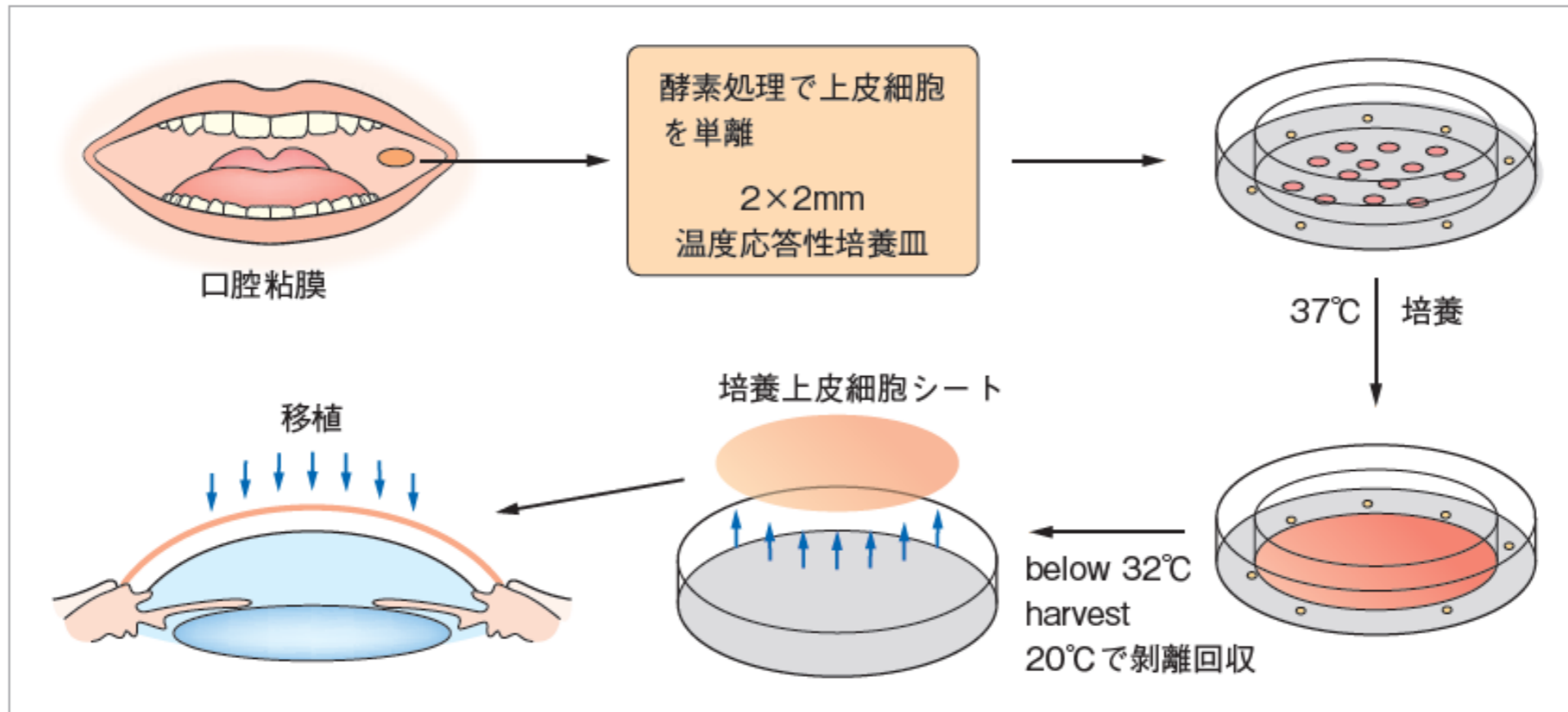
[1] Noninvasive measurement of cell/colony motion using image analysis methods to evaluate the proliferative capacity of oral keratinocytes as a tool for quality control in regenerative medicine (E.Hoshikawa et al.2019.)

[2] Cell motion predicts human epidermal stemness (D.Nanba et.al.2015.)

[3] Morphological profiling using machine learning reveals emergent subpopulations of interferon- γ -stimulated mesenchymal stromal cells that predict immunosuppression (R.Marklein et al. 2019.)

本技術で対象にする再生医療用等製品 培養口腔粘膜上皮細胞シート(COMECS)

角膜再生医療(培養口腔粘膜上皮細胞シート移植)



(培養)細胞の画像解析

静止画像(写真)から得られる情報

- 形態 (size, shape, colony structure)
- 増殖・動態 (cell count, confluence, motility)
- 細胞内構造 (核形状、テクスチャ)
- 組織構造 (均質性、厚み)
- 劣化・ストレスの予兆 (debris, adhesion loss)
- 機能の代理指標 (分化パターン)

観点	静止画像	タイムラプス動画
情報量	少ない(瞬間のみ)	多い(連続的・文脈を含む)
感度	変化の初期は捉えにくい	異常予兆を捉えやすい
重要品質特性の幅	主に形態・構造	動態・機能的代理指標まで拡張
QbDとの親和性	中程度	非常に高い
規制適合性	個別妥当性に依存	工程理解・再現性の向上で提出しやすい

本技術の内容説明

本発明は、血清不含培地を対照に、血清添加培地で作製したCOMECSのタイムラプス動画による集団的細胞運動能を、細胞品質として評価する方法

- ①無菌・非侵襲・リアルタイムに数値化
- ②短時間による多検体処理が可能
- ③同一シートの繰り返し測定が可能
- ④ラベルフリー

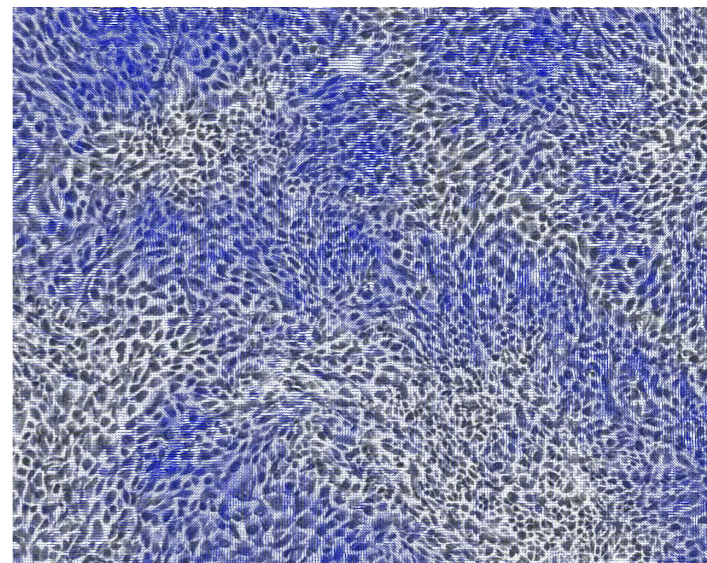
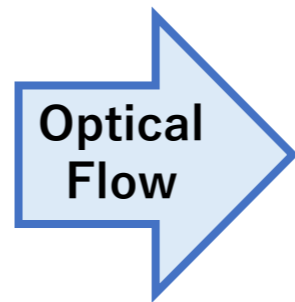
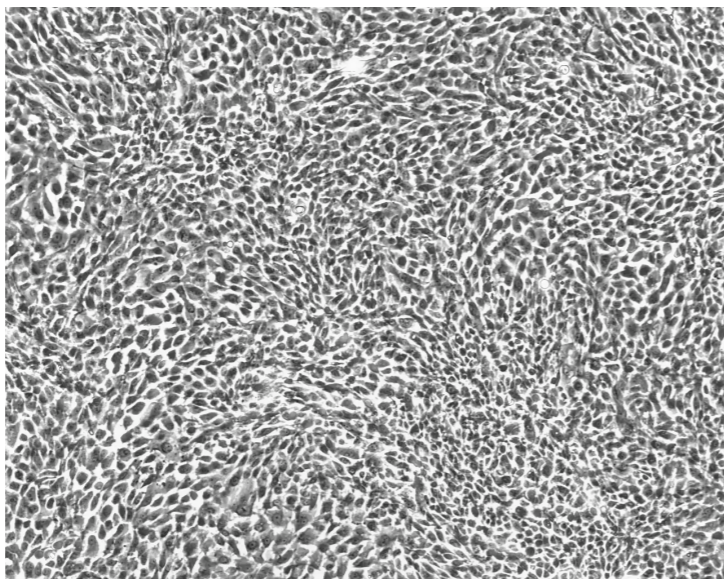
COMECSの細胞運動パターンをコンピュータで定量化し、微視的速度と巨視的速度の割合(粗視化解析)から非侵襲的に品質特性を評価、数値化する。データ蓄積により将来的に出荷基準となる品質指標の設定も可能となる。

OF:Optical Flow オプティカルフロー CG:Coarse-Grained 粗視化

発明の技術内容の素材（動画）

標準的COMECS 製造法

FBS群 = 10%血清
含有培地

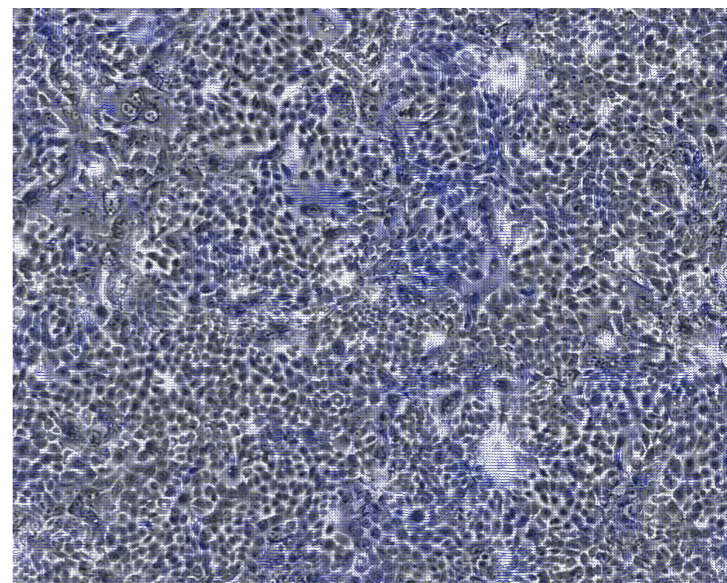
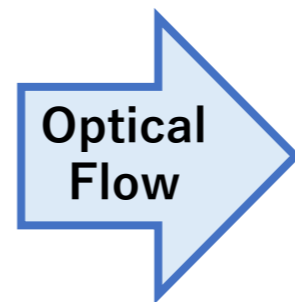
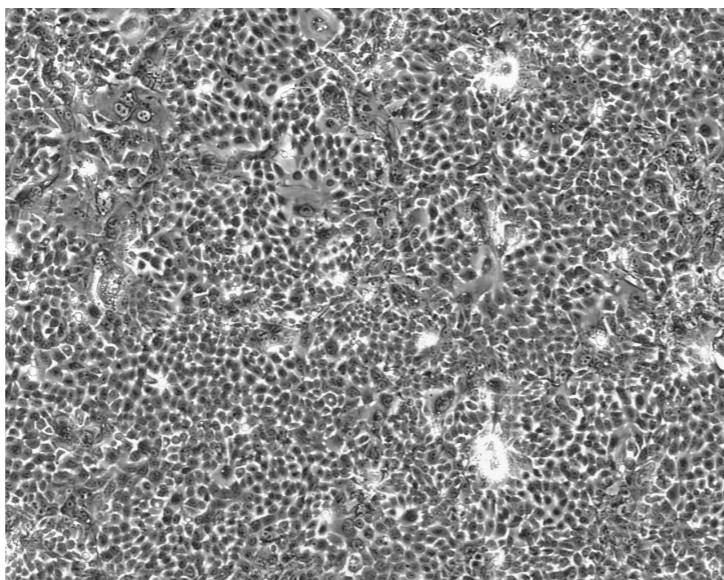


ピクセル毎に
速度算出

青線で速度場を可視化した動画

意図的な悪条件下 のCOMECS製造

High群 = 血清
不含培地

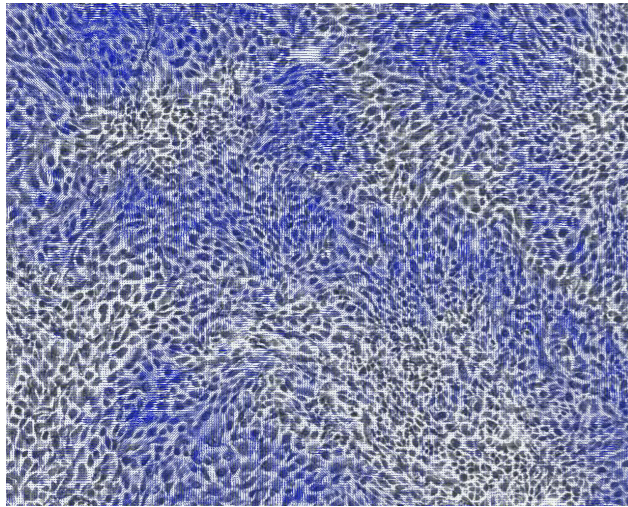


粗視化解析の流れ

OFによる速度場導出

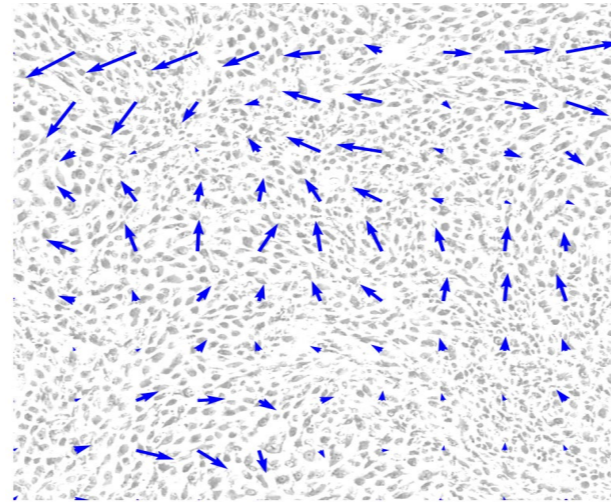
CG解析による運動方向同期性の数値化

① 微視的速度場の生成



空間スケール s で
モザイク処理

② 巨視的速度場の生成



③ 巨視的相対速度の導出

局所的な方向同期性を数値化

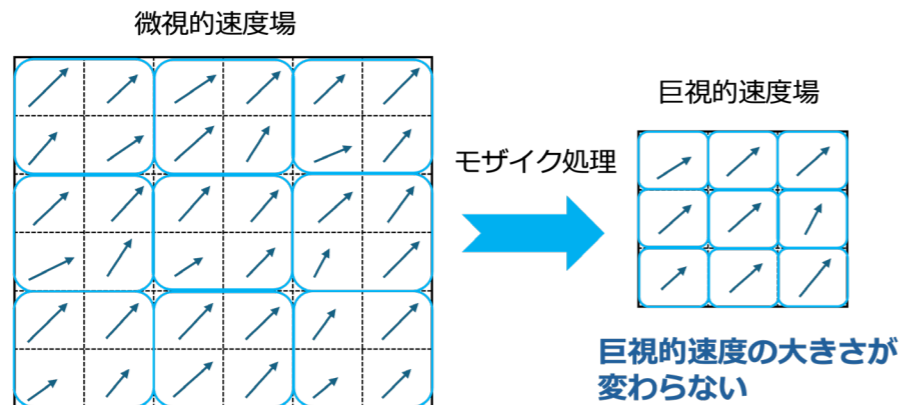
$$V_r(s) = \frac{\overline{V_m(s)}}{\overline{V_m(1)}}$$

$\overline{V_m(1)}$... 微視的速度場における全速度のノルム平均

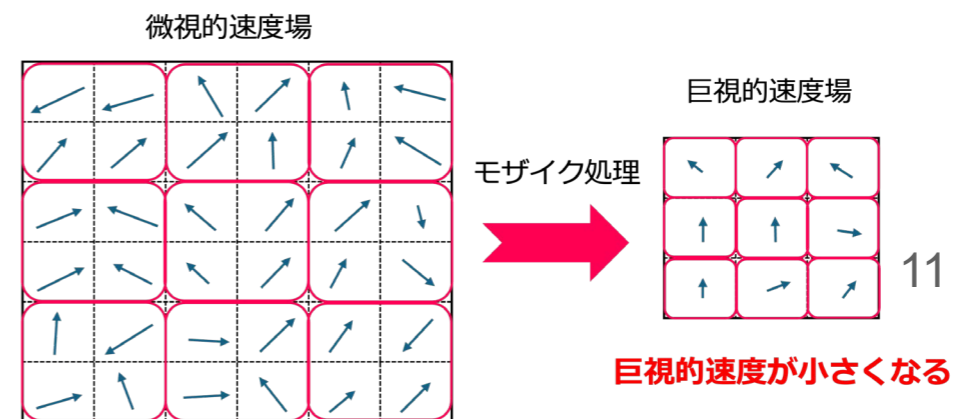
$\overline{V_m(s)}$... 巨視的速度場における全速度のノルム平均

CG解析のアイデア

局所的方向同期性が高い場合



局所的方向同期性が低い場合

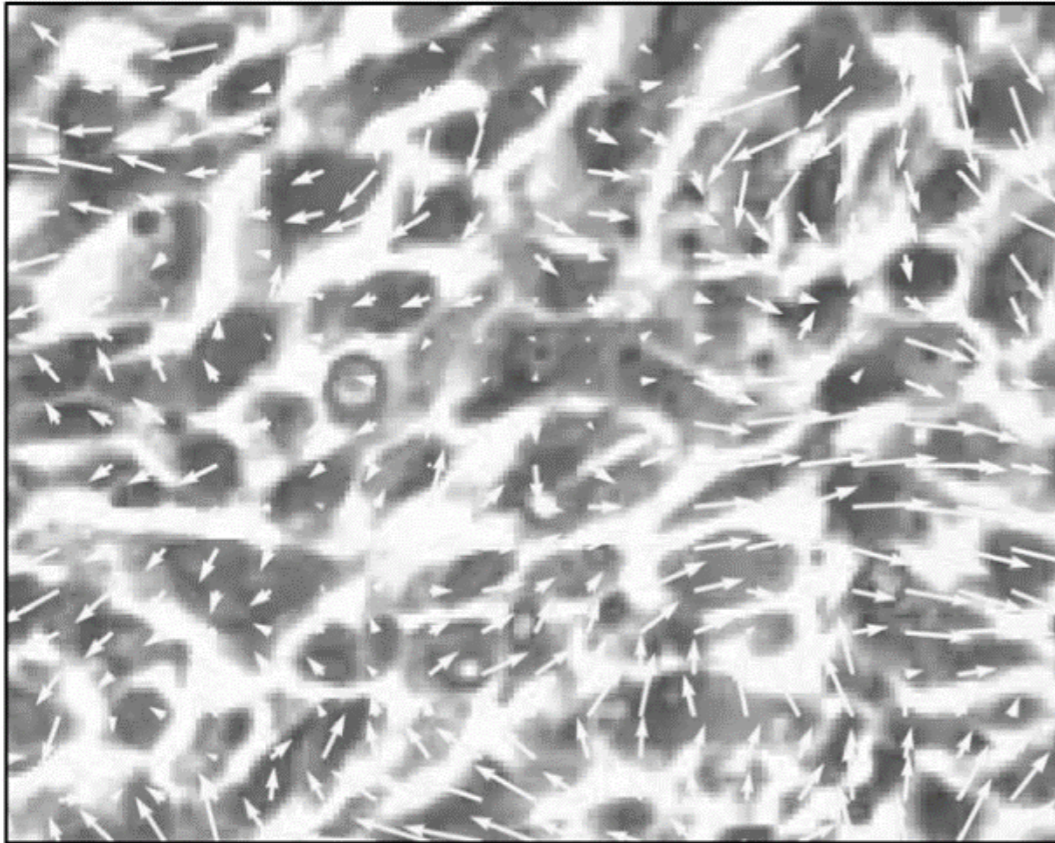


発明の技術内容

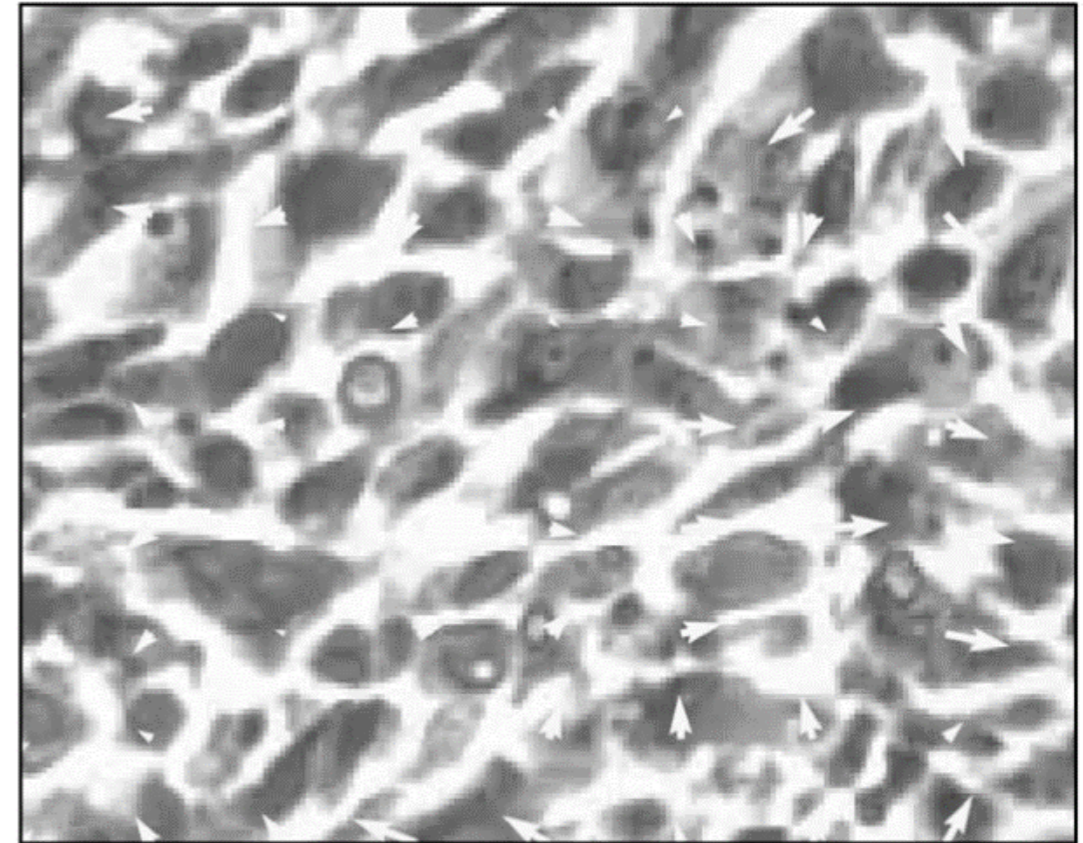
速度算出

連続する画像間の物体移動を、2次元速度場で表現する手法

- 本研究では、**運動解析に必要な速度場**の導出に用いる。
- 本研究で対象とする細胞は比較的密に詰まっており、個々の**細胞の認識が困難**。
⇒ **OFは物体認識を必要としないため**，本研究に適している。



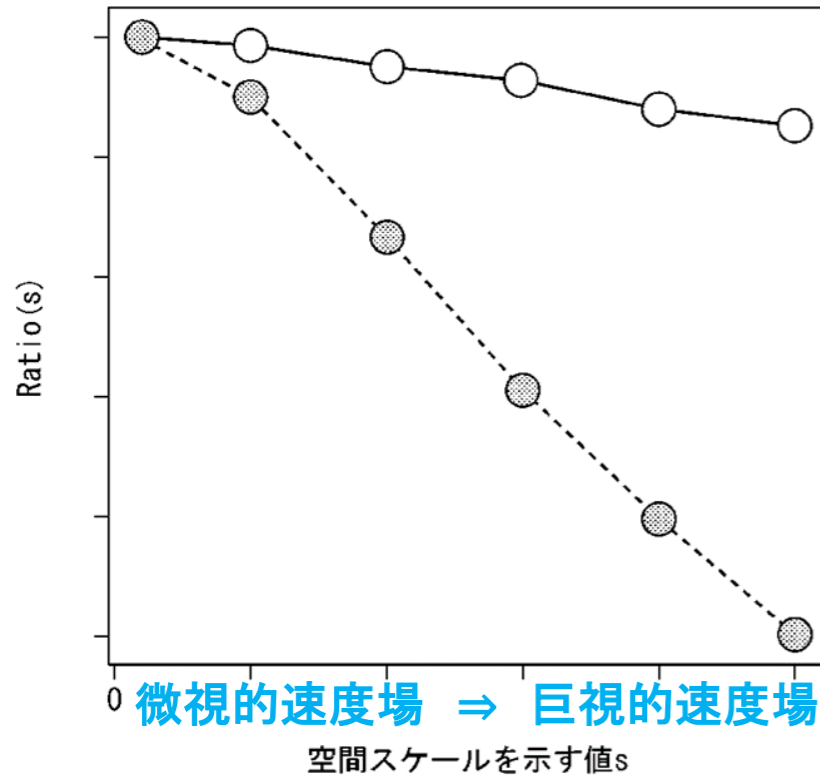
(a) 微視的な速度ベクトル



(b) 巨視的な速度ベクトル

発明の技術内容

COMECSの動きを差別化したら、数値化できて鑑別できた。



← 細胞の速度の向きにばらつきが少ない。
* 発明内容の素材で示した左側動画

FBS群 = 10%血清含有培地

High群 = 血清不含培地

← 細胞の速度の向きにばらつきが多い。
* 発明内容の素材で示した右側動画

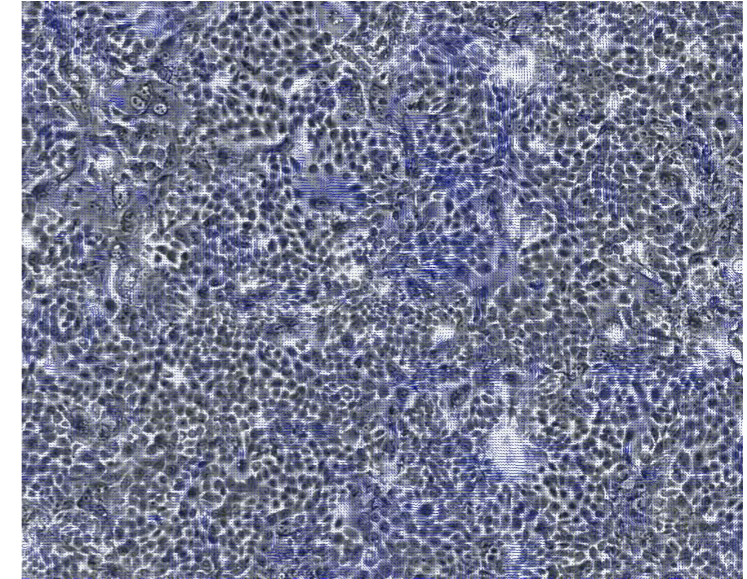
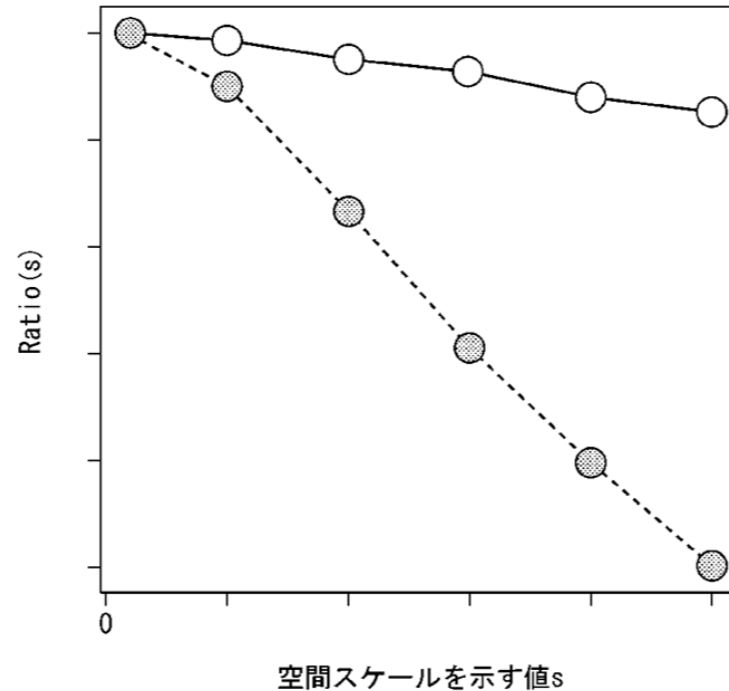
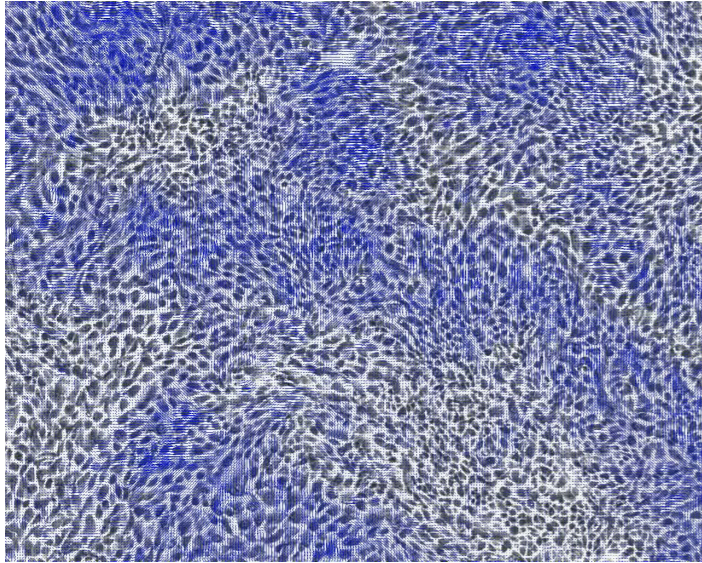
臨床的意義

血清有で培養したCOMECSの方が、無しのCOMECSより、扱いやすく、破れにくい。

⇒ FBS群で作製したCOMECSがHigh群で作製したCOMECSも接着している細胞同士の間隔が小さかった。以上から、COMECSの品質特性をCG解析で、非侵襲的に推定できることが示された。

- 実線で示すRatio(s)は、空間スケールを示す値sの変化に対して緩やかに減少する。
⇒ 細胞の速度の向きにばらつきが少ない。
- 破線で示すRatio(s)は、空間スケールを示す値sの変化に対して急速に減少する。
⇒ 細胞の速度の向きにばらつきが多い。

細胞シート運動の定量的指数を用いた血清添加有無に対する比較評価

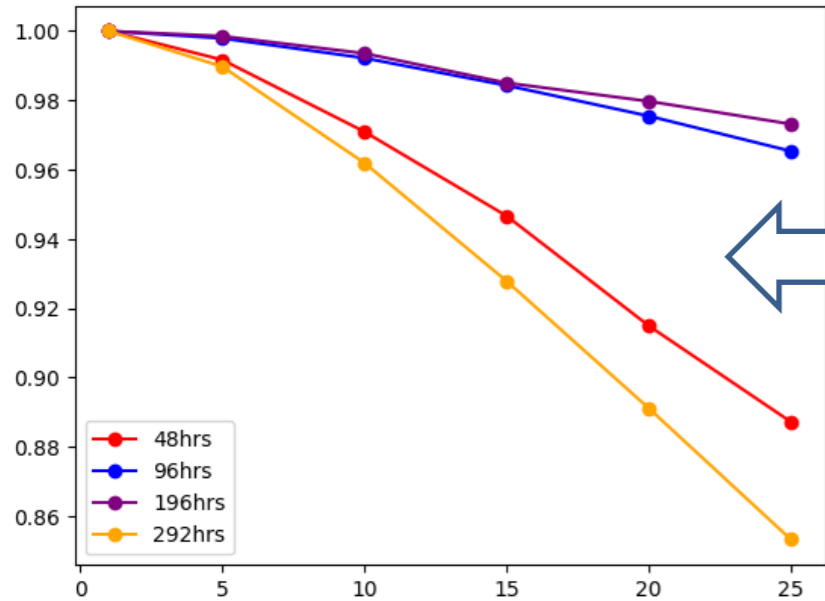


- ✓ CG解析により、血清添加有無によるCOMECSの特徴的細胞運動パターンが定量的に識別可能で、視認した集団的細胞運動の大小と一致した。



COMECSの運動パターンを定量評価するのに、CG化解析は有用である。

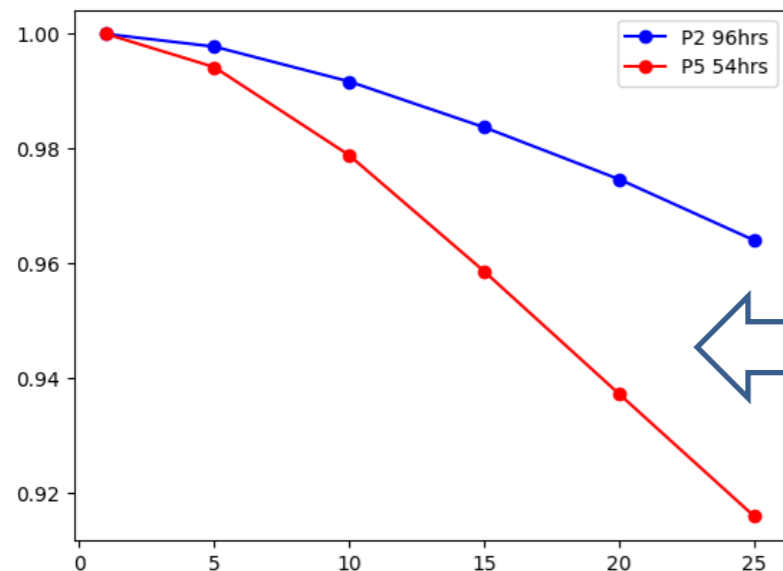
定量的指数による細胞シート運動の検出感度、鑑別能力



FBS群で作製した同じ細胞から構成されたCOMECSであっても、条件(培養日数)が異なるとグラフの傾きに差異が見られる。傾きが小さいCOMECSを良質、大きいシートを品質はやや品質が劣ると評価することができる。

培養期間が適度なCOMECSと若い細胞のCOMECSの定量値の傾きが小さく、そうでないCOMECSの定量値のばらつきは大きくなった。

傾き値が、品質管理する上の基準値として使用可能であることが示唆される。

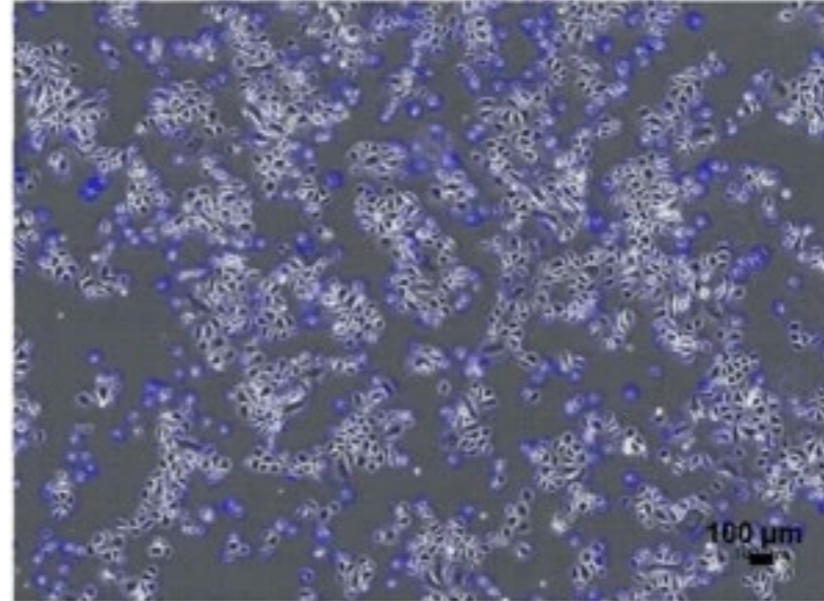
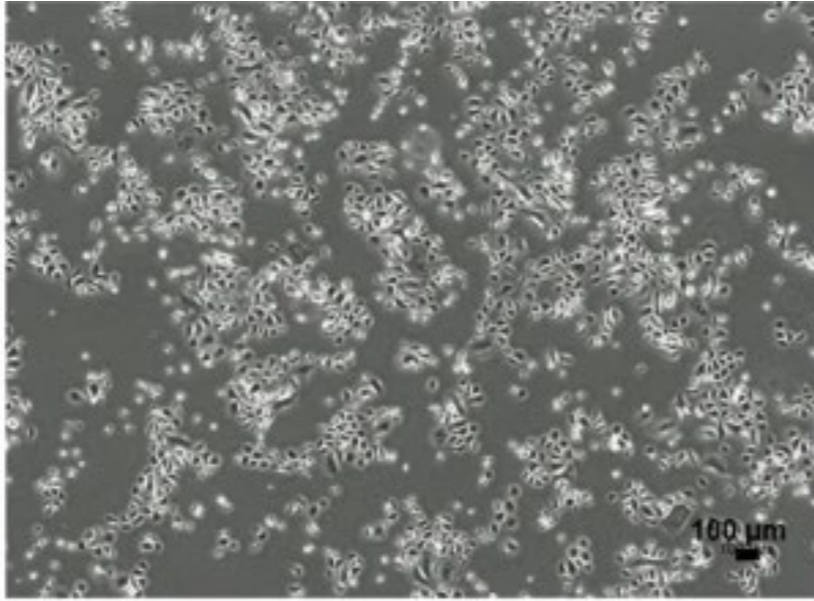


FBS群で作製した同じ細胞から構成されるCOMECSであっても、条件(継代数)が異なるとグラフの傾きに差異が見られる。傾きが小さいCOMECSを良質、大きいシートを品質はやや品質が劣ると評価することができる。

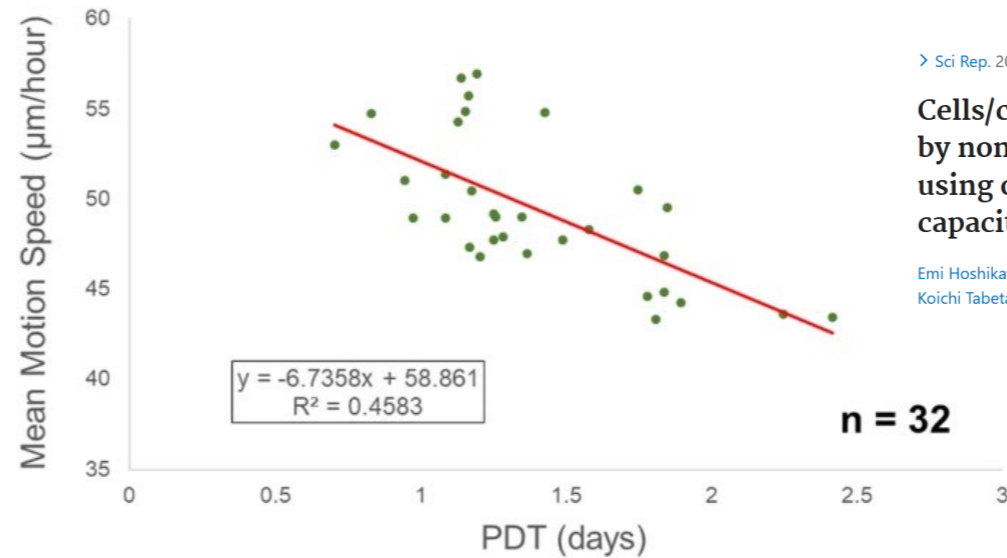
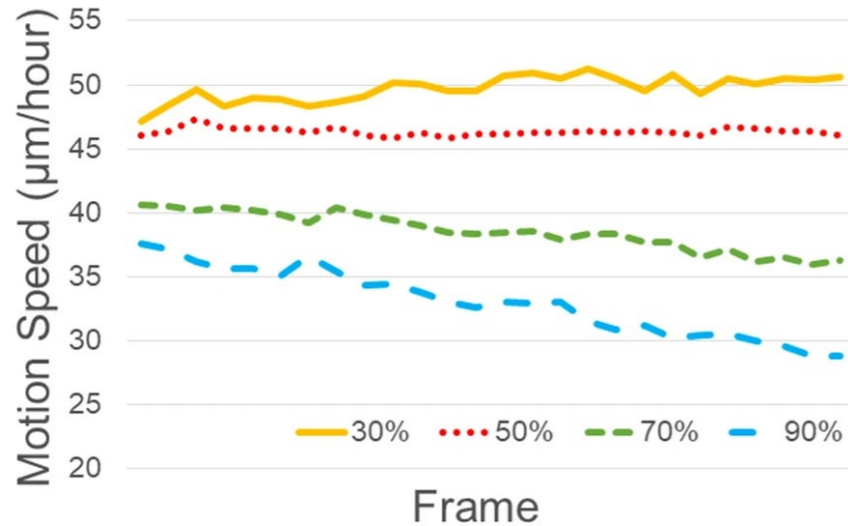
Manuscript submitted

細胞品質管理法先行例 競合技術1

泉ラボ
の成果



(B) Motion Speed



> [Sci Rep. 2021 May 17;11\(1\):10403. doi: 10.1038/s41598-021-89073-y.](https://doi.org/10.1038/s41598-021-89073-y)

Cells/colony motion of oral keratinocytes determined by non-invasive and quantitative measurement using optical flow predicts epithelial regenerative capacity

Emi Hoshikawa ^{#1,2}, Taisuke Sato ^{#3}, Kenta Haga ¹, Ayako Suzuki ^{1,4}, Ryota Kobayashi ¹, Koichi Tabeta ², Kenji Izumi ⁵

細胞品質管理法 競合技術1 の問題点

OFをタイムラプス動画に応用して、速度場のベクトルから平均細胞移動速度(MMS)を算出し、細胞増殖能との強い相関を見出した。

対象が**増殖期の細胞**であり、**コロニー間にスペースがある**ことから、ある程度細胞が自由に動き回れる状態が的確な画像解析法である。細胞が増えてスペースがなくなると、時間が経つにつれMMSは低下する。

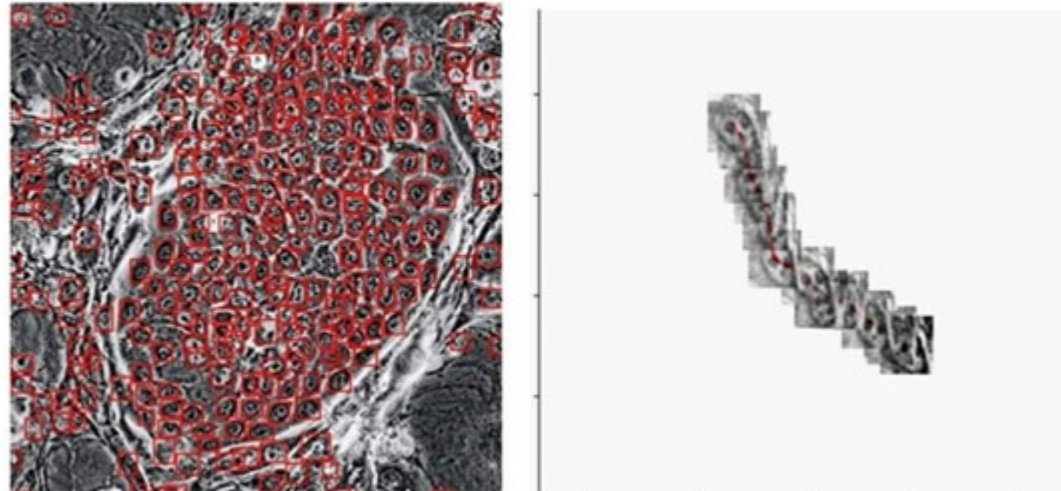


そもそも、密集状態での細胞運動(移動)は物理的に制限され、移動したくてもできない状態にある。従って、**細胞シートのような100%細胞が密集した状態では、細胞移動速度を算出すること自体にあまり意味がない。**

細胞品質管理法先行例 競合技術2

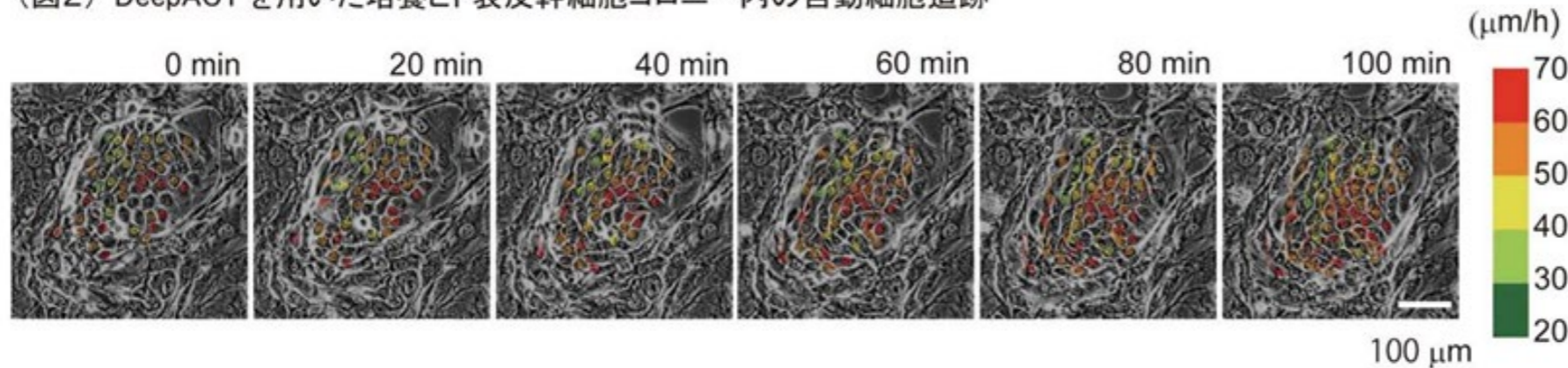
表皮(皮膚) → 細胞運動能による表皮幹細胞同定

(図1) 深層学習による細胞認識(左)とカルマンフィルタによる細胞追跡(右)



深層学習を用いた画像認識と状態空間モデルによる物体追跡アルゴリズムを組み合わせた自動細胞追跡システム(DeepACT)と培養ヒト幹細胞の品質管理法

(図2) DeepACTを用いた培養ヒト表皮幹細胞コロニー内の自動細胞追跡



> *Stem Cells*. 2021 Aug;39(8):1091-1100. doi: 10.1002/stem.3371. Epub 2021 Mar 30.

Label-free quality control and identification of human keratinocyte stem cells by deep learning-based automated cell tracking

Takuya Hirose¹, Jun'ichi Kotoku¹, Fujio Toki², Emi K Nishimura^{2,3}, Daisuke Nanba²

細胞品質管理法 競合技術2 の問題点

表皮細胞は、マウスフィーダー細胞と共培養される。

コロニーを構成する個々のヒト表皮細胞の認識が必要。

マウス細胞や重層化/密集化したヒト表皮細胞と区別するため、深層学習を利用して解析の自動化を図っている。そのために教師データが必要。

カルマンフィルター法を用いることで細胞追跡を行い、細胞1つ1つの運動速度を算出する。

技術の確立に手間がかかる。

細胞培養にフィーダー細胞が不要で、コロニーを構成する細胞の密着度が緩い口腔粘膜上皮細胞では、コロニーの集団的移動速度が効率よく算出できない。

新技術の特徴・競合技術との比較

	本技術 (泉ラボ)	競合技術1 (泉ラボ)	競合技術2
培養初期フェーズでの適用	△	◎	○
培養後期、出荷前検査利用	◎	△	△
導入障壁(深層学習)	◎	◎	△
導入障壁(画像処理の汎用性)	◎(OF+CG)	◎(OF)	△
技術導入の容易さ	◎	◎	×
適用細胞の拡張性	◎	△	○

想定される用途

- 本技術の応用は、 COMECSの製造中、出荷前の細胞シート品質評価に利用でき、現在主流の抜き打ち検査に代わり、非侵襲的品質管理法として**全数検査、複数回検査が可能**になる。
- 複数回検査が可能なので、培養が長期になった場合のシート品質の維持、劣化の評価も可能となる。

想定される市場性

- 過去10年で、12か国/19施設において、COMECESのヒト臨床応用（角膜、食道）の報告がある。
- 本邦では(株)J-TECが世界で唯一の製品販売を行っている。
- 画像解析に工夫を加えることで、紡錘形の細胞（間葉系幹細胞など）に展開することも可能。

実用化に向けた課題

- 現在、COMECESの動画が示す特徴的なうねりの運動パターン（協調的細胞運動：局所的方向同期性）について、定量的な数値化が可能なところまで開発済み。
- “うねり”と細胞生物学的な意義の連関は、1点の定点比較で上皮前駆/幹細胞マーカー（p63）の発現レベルと関連性が認められているのみで、複数の異なる培養期間や培養条件における相関性は未解決である。
- 今後、動物へCOMECESを移植した実験データを取得し、特徴的な運動パターンの数値とin vivoにおける創傷治癒との相関性を解析していく必要あり。

社会実装への道筋

生物学的意義を付帯することでより本技術の価値を高めたい。

時期	取り組む課題や明らかにしたい原理等	社会実装へ取り組みについて記載
基礎研究	・COMECS動画に対するOFとCGの適用性の実証完了	
現在	・COMECSが示す“うねり”の運動パターンの定量化、鑑別が実現	
2年後	・“うねり”の分子生物学的メカニズムの解明 ・上皮細胞以外の細胞シートへの展開	AMEDのシーズAなどの再生医療実用化研究事業へ応募し研究資金獲得
4年後	・“うねり”強度のin vivo環境での評価(例:動物移植実験の実施) ・上皮細胞以外の細胞シートに適用可能な動画解析法の確立	評価基礎データの提供
6年後	・上皮細胞以外の細胞シートの動画解析法の生物学的意義の解明	試験サービスの実現

本技術のアピールポイント・産業界への提案

COMECsの非侵襲的品質管理技術は、再生医療業界に大きな価値をもたらす画期的なソリューションとなります。

- **生産性・効率性の向上**

全数検査による歩留まり改善 工程の迅速化とコスト削減（含人件費） 製造プロセスの自動化

- **製品の信頼性・安全性の向上**

客観的・定量的な品質評価 不良品発生の未然防止 トレーサビリティの確保

- **新製品開発への応用**

新規培養条件の迅速な探索 ドナー間の品質差の可視化

- **サービスモデルの構築**

解析ソフトウェアの提供 「クラウド品質評価サービス」の展開

- **連携・共同開発の推進**

大手企業との共同開発 受託製造機関（CMO）への導入提案 製薬・医療機器企業との連携

企業への期待

- 口腔粘膜上皮細胞シート製造技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- 基礎臨床の橋渡しを行いたい企業に貢献できると考えている。
- 上皮系細胞シートの開発、製造への展開を考えている企業への導入。
- COMECSで未解決である、特徴的細胞運動パターン（うねり）と細胞生物学的メカニズム解明について、阻害剤等を使いながら、各種マーカー発現を解析し、共同で検討を加えていきたい。

企業への貢献、PRポイント

- この非侵襲的な品質管理技術は、COMECsをはじめとする、再生医療製品の製造工程におけるボトルネック（品質評価）を解消し、生産性、信頼性、安全性を飛躍的に向上させる可能性を秘めています。
- 産業界にアピールするために、技術的な優位性だけでなく、具体的なコスト削減効果や品質向上効果を明確に提示し、サービスモデルや共同開発といった形で、企業が導入しやすいソリューションとして提供することを考えています。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 解析方法、解析装置及びプログラム
- 出願番号 : 特願2024-066110 R6.4.16
PCT/JP2025/014501 R7.4.11
- 出願人 : 国立大学法人新潟大学
- 発明者 : 泉健次、小林亮太、飯田佑輔、三沼蓮

産学連携の経歴

会社概要

株式会社CollaWind

新潟大学発 再生医療材料を用いたスタートアップ企業。食べる幸せ、話す楽しさを早く取り戻すお手伝いをします。

■ 会社概要

代表	泉 健次
設立	2023年6月27日
本社所在地	新潟市西区五十嵐二の町8050
関連会社	・多木化学株式会社 ・株式会社小松精機工作所
資本金	3,000,000円
決算期	3月

体制と事業内容

■ 体制図



■ 事業内容

- 魚うろこ由来コラーゲンを活用したバイオマテリアル製品の研究・開発及び関連商品の製造・販売に資する事業
- 魚うろこ由来コラーゲンを活用したバイオマテリアル製品製造時に必要な金型開発

■ 社名の由来

CollaWind

由来：Collagen+Wind
(Wind=「くねくね進む」の意味)

開発した生体材料の表面形状から会社名を決めた。

お問い合わせ先

国立大学法人新潟大学
社会連携推進機構

T E L 025-262-7554

F A X 025-262-7513

e-mail onestop@adm.niigata-u.ac.jp

参考資料

	本発明	競合技術①	競合技術②
構成	タイムラプス撮影によるラベルフリーで口腔粘膜上皮細胞シートの粗視化解析	タイムラプス撮影によるラベルフリーでコロニー内の細胞の平均移動速度の算出	タイムラプス撮影によるラベルフリーで、表皮細胞コロニー内の個々の細胞の運動速度測定
得られる特性	細胞シートを構成する細胞の特徴的運動パターン(局所的な方向同期性)の強弱を解析	口腔粘膜上皮細胞の細胞増殖能、再生能を外挿可能。	コロニーを構成する表皮細胞の運動速度解析による、表皮幹細胞の同定と割合が算出可能。
適用分野	細胞同士がお互いに接着して構成される培養口腔粘膜上皮細胞シート	口腔粘膜上皮細胞の培養初期のフェーズでみられるコロニー	表皮(皮膚)培養細胞の初期フェーズ、表皮細胞シート(フィーダー細胞あり)
その他	集団的細胞運動能を評価・定量。細胞同士の接着性とも相関する。	細胞移動速度の生物学的意義が明らかになっている	コロニー形成能を細胞生物学的裏付けとした表皮幹細胞の同定。