

細胞形態評価 AI アルゴリズムの開発

研究分担者：加藤竜司 名古屋大学大学院創薬科学研究科 准教授

研究要旨

本研究の目標は「**神経細胞の形態解析に着目した AI モデルの開発**」であり、名古屋大学・加藤の有する技術を応用することで、国衛研・安彦らの取得した神経細胞の定量数値化技術および細胞品質管理のための AI モデル化技術の開発を行うものである。より具体的には、(1) 細胞形態背景データの取得及び MPS 品質管理への AI 活用、(2) 神経毒性物質による神経細胞形態変化の捕捉及び指標抽出、を実施する。令和 4 年度は特に開発項目 (1) において、MPS 品質管理・再現性確保への活用を主眼に、AI による細胞画像解析のための基礎データ集積を進め、試作 MPS 上での神経細胞培養画像と MEA データの集積データセットを用いたコンフレント状態にある細胞状態の特微量化アルゴリズムの開発と、画像に紐づけられた MEA データの情報をを用いた細胞品質の安定した培養環境の画像評価における技術基盤（培養条件、焦点条件、画像枚数等）の構築を行う。本年度は蓄積された画像データと MEA データにおける多次元特微量の安定性分析を行うと共に、画像データからのテクスチャ情報抽出・学習アルゴリズムを構築した。

A. 研究目的

本研究では、神経毒性（特に急性毒性）の安定かつ定量的な *in vitro* 評価モデルとしてのヒト iPS 細胞由来神経細胞 MPS 評価を安定化・効率化するため、評価材料である神経細胞の品質評価技術として次の 2 つの技術開発を目指し、従来の神経毒性試験や発達神経毒性試験を代替して国際的な化学物質管理の取り組みに貢献する試験法確立に貢献する。

開発項目 (1) ではヒト iPS 細胞由来神経細胞の品質判定画像 AI 解析技術を目指し、研究分担者・加藤がこれまで様々な細胞の非破壊的画像品質判定を実現してきた非破壊的画像細胞品質判定技術『細胞形態情報解析』を応用し、MPS 薬剤評価を安定に実現するための神経細胞品質を判定する画像 AI 解析技術を開発する。

開発項目 (2) では、神経毒性物質への神経細胞応答表現型の定量化を実現する画像 AI 解析技術を目指し、MPS 中で薬剤に応答する神経細胞の形態応答変化の特微量解析から、MEA 解析を補完する深い生物学的理解のための情報として細胞毒性及び細胞機能障害と連動する表現型特微量の抽出技術開発と、特微量の分析・特定を行う。

本年度は特に、開発項目 (1) において MPS 品質管理・再現性確保への活用を主眼に、AI による細胞画像解析のための基礎データ集積を進め、試作 MPS 上での神経細胞培養画像と MEA データの集積データセットを用いて、コンフレント状態にある細胞状態の特微量化アルゴリズムの開発と、画像に紐づけられた MEA データの情報をを用いた細胞品質の安定した培養環境の画像評価における技術基盤（培養条件、焦点条件、画像枚数等）の構築を目指す。

B. 研究方法

本年度は、研究代表者・安彦と連携し、MPS 上での画像撮影条件・画像蓄積共有方法の構築を第一に進めた。次に、MPS プレート上において培養された SynFire の顕微鏡画像データおよび MEA データの提供を受け、得られたデータの分析および画像データからの特微量抽出技術の開発を行った。技術開発としては、MPS 上から得られる画像データのフォーカス得点化アルゴリズム、画像データからの特徴抽出・モデル化技術としての U-net モデルの構築を行った。

（倫理面の配慮）

本研究では、市販細胞を用いた培養データの解析を行うだけであるため、倫理面で配慮が必要な事項は無い。

C. 研究結果

(a) MPS プレート上で培養された神経細胞画像の焦点得点化アルゴリズムを開発し、結果、画像特微量（テクスチャ情報）の最も安定化する撮影条件の探索と、最適化が可能となった（図1）。

(b) MPS プレート上で培養された神経細胞からの MEA データの蓄積（図2）と、得られる MEA データの分析を行い、実験間での安定性の高い計測特微量の絞り込みを行った。現在まだデータ蓄積を繰り返しているため、特微量データの完全な絞り込みには至っていないが、多次元 MEA データの教師なし学習解析により、ほとんど同じ意味しか有しない特微量の絞り込みや、計測安定性の低い特微量候補をリスト化した。

(c) 深層学習モデル U-net を用いたコンフレント画像からの細胞セグメントモデルの開発を行い、コンフレン

ト画像の特徴量抽出アルゴリズムの一つとして、U-netモデルを用いた密集細胞セグメンテーションアルゴリズムの開発を行った。具体的にはU-netモデルの実装・稼働状態を構築し、単純な画像データそのものとMEA特徴量データとのデータセット学習モデル構築も行える体制が整った。実際の密集画像には現状はマニュアルで細胞輪郭教師値を与え、できるだけ少ない教師データ画像でコンプレント画像中の細胞セグメンテーションがどこまで行えるかを検証した。この検証結果、初期に取得していた数枚の画像では細胞領域の認識ができたが、残念ながら実験日が違う場合や、違う画像になった場合、ロバストな細胞抽出が難しいことがわかった。この課題については引き続きロバスト性向上のための検証の必要がある。この一つの解決法としては、GANなどの他のモデルを用いて細胞領域の区分を行うのではなく、状態としての認識を行うことや、新規テキスト特徴量を導入することで「不均質領域」「均質領域」を見分けることができないかトライする予定である。

D. 考察

本年、研究代表者・安彦との連携によって、AI開発のためのデータ蓄積基盤体制の確立と、撮影条件の絞り込み、神経細胞画像からの独自特徴量抽出のためのアルゴリズムとAIモデルの基礎技術開発を実施した。

実験の進捗とデータ蓄積の結果、そもそもMPS上で培養された3種類の細胞は形態的にも局所的ヘテロ性が高いことが示唆された。即ち、細胞播種手技や条件によって、各ウェル内の細胞局在性や密集の偏りが制御しきれない可能性があり、それが計測MEAデータ不安定化につながっているリスクがある。このため、今後は細胞播種の均質性をどこまで安定化できるかを、画像解析およびロボット分注機などを用いた最適播種混合条件を見出す検証を行う必要があると考えられた。

また、MEAデータの蓄積・分析からは、同じプロトコルで培養された神経細胞であっても、異なるウェル間・異なる実験日間で、大きくMEA計測データの安定性が変わることがわかった。即ち、想像以上にSynFireの細胞状態および計測環境にはまだ「未知のバラツキリスク」が大量に存在する可能性が高かった。

現状では、世界的にもまだMEA多次元特徴量の中で何が安定計測データかは特定されていないため、今後は複数のデータ（特に薬剤応答時に神経細胞の画像とMEAデータ）の蓄積を進め、MEAデータの計測安定性およびSN比の観点と、ここに関連する培養中の細胞画像特徴量のバラツキの観点から、どのウェル（どの状態の神経細胞）が安定なMEA計測に紐づくかを定量的な予測モデルへと実装することを目指したい。

今年度はまだAIモデル構築にはデータ蓄積量が少なかったため、品質判定モデル確定には至ることができなかった。またU-netなどのセグメンテーションアルゴリズムの導入を行ったが、データ内のバラツキが大きく安定なロバスト処理の構築には至らなかった。今後はデータ蓄積を重ね、より良い画像・MEAデータを分析によって特定し、高品質データを用いた細胞品質判定モデルの構築を行う。特に学習データ数が少な

くても異常値検出が可能となるAnomaly Detection Model (MT法)を応用することで、異常計測に繋がる細胞状態を初期判定する技術開発を目指す。

E. 結論

本研究を通じて、現状の神経細胞を用いたMPS薬剤評価系における「計測不安定化リスク」の項目出しと、リスク低減に向けた基盤画像解析アルゴリズムの開発に成功したと言える。基盤技術が構築できた今後としては、解析用データの蓄積・分析・改善のPDCAサイクルを回すことで、画像解析ならではの効率的なリスク低減培養条件の決定と、AI開発のための効果的データ蓄積が行えると考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

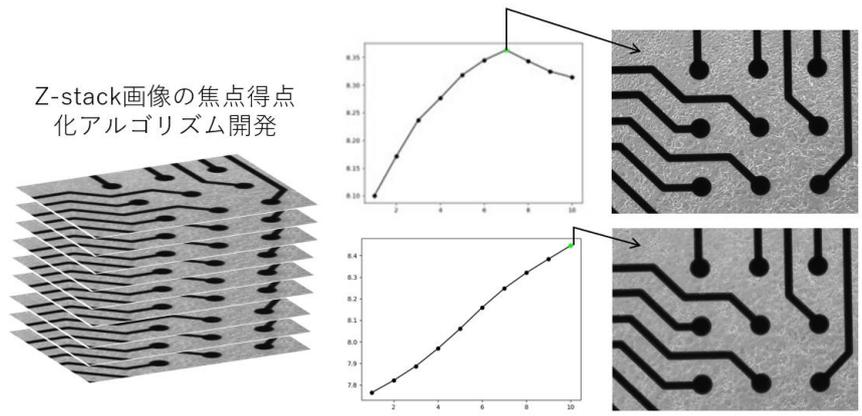


図1：神経細胞撮影条件最適化アルゴリズムの開発

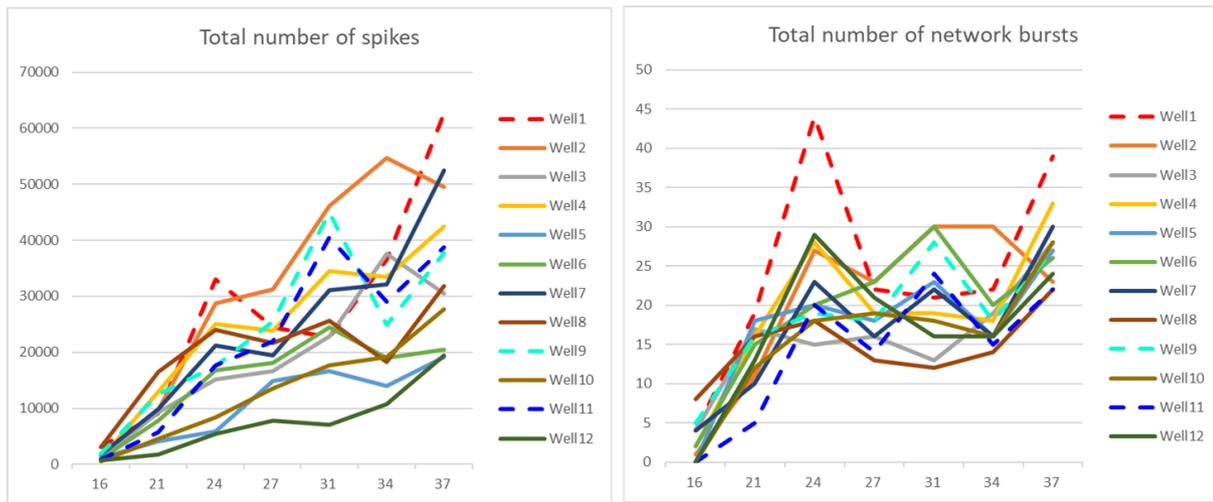


図2： MEA多次元特徴量の蓄積と分析