



名古屋大学
NAGOYA UNIVERSITY



九州大学
KYUSHU UNIVERSITY

2024年12月3日

報道機関 各位

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学
国立大学法人九州大学

ディープラーニングにより
多能性幹細胞が分化する未来を予測することに成功
～視床下部-下垂体オルガノイドの
品質を判定するディープラーニングモデルを開発～

【本研究のポイント】

- ・近年、多能性幹細胞を使用して様々な組織への分化方法が開発されてきている。その分化培養技術は高度かつ専門的だが、一方で、熟練者の経験則に依存する面がある。
- ・本研究では、ヒト ES 細胞から視床下部-下垂体オルガノイド*¹への分化を対象として、分化の途中段階でその品質を判定するディープラーニングモデル*²を開発した。このモデルによる判定は、そのオルガノイドが将来発揮する機能に直結した。
- ・今回開発されたモデルは、最終的なオルガノイドの品質をその分化途中の見ただけで判別できる世界で初めてのモデルである。
- ・本研究成果は、今後、再生医療の分野での品質管理への応用や、発生研究などへの利用が期待される。

【研究概要】

名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学の浅野友良客員研究者、須賀英隆准教授および有馬寛教授らの研究グループは、九州大学 データ駆動イノベーション推進本部の新岡宏彦教授と共同し、ヒト ES 細胞から視床下部-下垂体へと分化中のオルガノイドの品質を判定するディープラーニングモデルを開発しました。

多能性幹細胞は体の様々な組織に分化する能力を持つ細胞です。現在までに数々の分化培養方法が開発され、今後の臨床応用が期待されています。その培養方法は高度かつ専門的である一方で、試験管内での分化が上手く進んでいるかどうかの判定は熟練者の経験に委ねられている面があります。

今回開発されたモデルは、分化途中の視床下部で一過性に発現する RAX 転写因子^{*3} に注目し、その発現の良し悪しを分化途中のオルガノイドの明視野画像^{*4} から推定して品質を判定するモデルです。約 70%の精度でオルガノイドのなかの RAX 転写因子発現を良・中・悪の 3 群に分類でき、細胞培養に従事する熟練者よりも優れた精度を示しました。さらにこの判定結果は、視床下部-下垂体オルガノイドが最終的に発揮すべき機能である ACTH^{*5} 分泌能の良し悪しに直結することが明らかになりました。最終的なオルガノイドの機能をその分化途中の見た目で見え目で予測可能なモデルは世界初のものとなります。

本成果により、分化途中のオルガノイドの外観で、望む方向に進んでいるか判定することができるようになると考えられます。また見た目のどこに注目して判定しているかわかるようにしたことから、こういった構造が発生の進展に重要なのか検討可能になるなど発生学分野に応用されることも期待されます。

本研究は日本医療研究開発機構 (AMED)・難治性疾患実用化研究事業 (研究課題名: ヒト多能性幹細胞を用いた下垂体前葉機能低下症への再生医療技術開発)、科学技術振興機構 (JST)・創発的研究支援事業 (JPMJFR200N)、科学研究費助成事業 (JP23K08005)、ハーモニック伊藤財団、名古屋大学医学部附属病院先端研究支援経費のサポートを受けて実施され、英国科学誌「Communications Biology」の 2024 年 12 月 6 日付オンライン版に掲載されました。

1. 背景

多能性幹細胞 (ES 細胞や iPS 細胞) は、人体の様々な組織に分化できる多分化能をもつ細胞です。近年多くの組織への分化方法が開発されており、視床下部-下垂体オルガノイドへの分化方法もそのうちの一つです。視床下部-下垂体オルガノイドは、人体の発生過程における視床下部と下垂体の相互作用を、三次元浮遊培養^{*6} を用いて試験管内で再現することが特徴です。下垂体機能不全マウスに視床下部-下垂体オルガノイドを移植すると、マウス体内の血中 ACTH 濃度を改善して生存期間を改善することが確認されており、今後の臨床応用が期待されています。

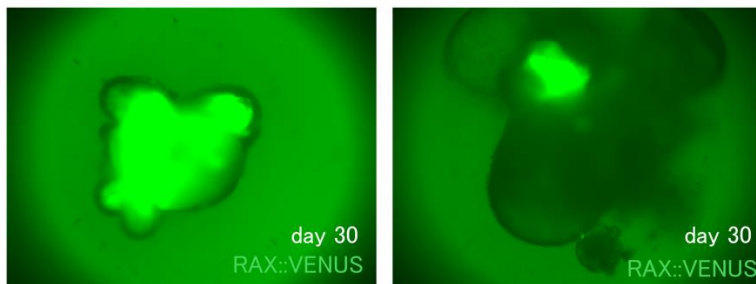
一般に、三次元浮遊培養によって多能性幹細胞を分化させると、オルガノイドの中に様々な細胞種が併存します。胎児での分化に倣った多様性が特徴で、だからこそよく分化した高機能な細胞が得られるわけですが、しかしその多様性は不均一であるとも言え、分化効率を一定に保つことは難しくなっています。分化段階で発現する因子に蛍光タンパクをノックインした細胞株を使用することで、分化途中に細胞を生かしたまま因子発現を確認する方法もありますが、このような遺伝子改変はヒト臨床で移植する細胞には用いることができません。本研究グループは、ディープラーニングの技術を用いることで多能性幹細胞の分化が順調に進んでいるのかをその分化中に確かめるモデルを開発しました。

2. 研究成果

本研究では視床下部の発生初期に一過性に発現する RAX 転写因子に着目しました。最初に、RAX に蛍光タンパク VENUS をノックインした細胞株を使用し視床下部-下垂体オルガノイドを作製しました。RAX が分化途中に広く発現しているオルガノイドは順調なものに相当すると考えて、RAX の発現に応じてオルガノイドを分類するディープラーニングモデルを作製しました。

すなわち、分化 30 日目(発生初期に相当する)の明視野画像と RAX::VENUS 蛍光画像とをそれぞれ撮影し、RAX::VENUS の発現割合によって良・中・悪の 3 段階に分類、明視野画像にその 3 段階の評価を紐付けた上で、ディープラーニングを実施しました。

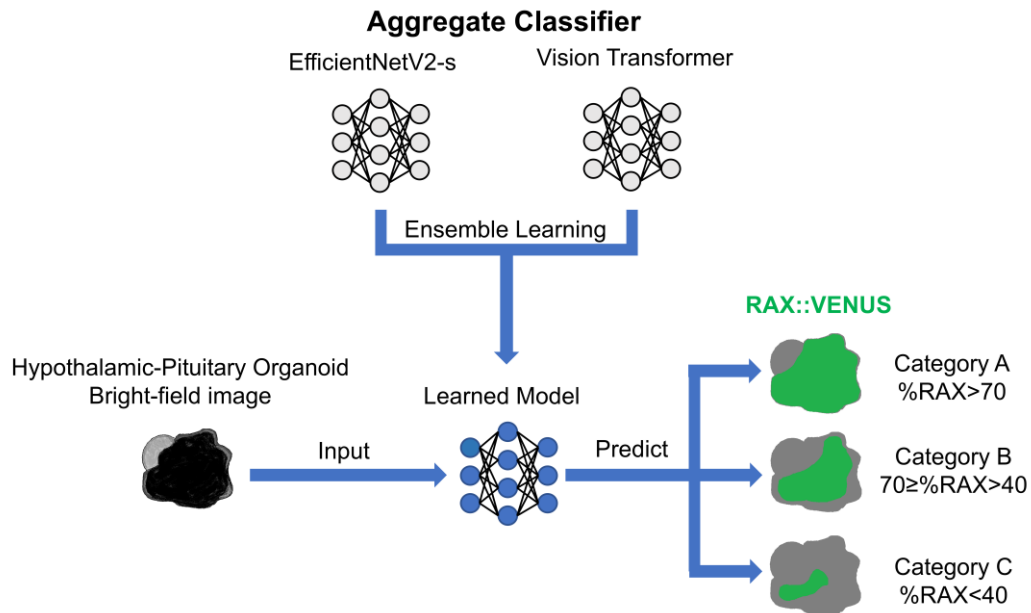
図 1



(図 1)RAX::VENUS の発現が広いオルガノイドと狭いオルガノイド
分化開始 30 日目で RAX が広く発現しているオルガノイドは、培養を継続することによってその後高い ACTH 分泌能を示す。

EfficientNetV2-S^{*7} と Vision Transformer^{*8} という 2 つのモデルを組み合わせたところ、オルガノイドの明視野画像をその RAX::VENUS 発現面積率によって、約 70%の精度で 3 段階に分類することが可能となりました。同じ問題を細胞培養熟練者にも解いてもらって成績を比較しました。このモデルは分類の精度・感度・特異度すべてにおいて、細胞培養に従事する熟練者よりも優れた結果を収めました。

図 2

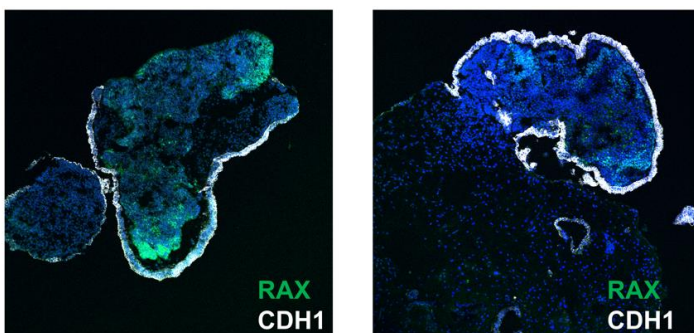


(図 2)モデルの概要

開発されたモデルは EfficientNetV2-S と Vision Transformer のアンサンブル学習^{*9} による。モデルはオルガノイドの明視野画像をその RAX::VENUS 発現面積率に応じて 70% の精度で 3 群に分類することが可能である。

最終目標は、遺伝子改変のない、完全に野生型の多能性幹細胞で見分けられるようになることでした。そこで、RAX::VENUS のノックインされていない野生型のヒト ES 細胞株から得られたオルガノイドについて、分化 30 日目の明視野画像を撮影し、同モデルで判定を行いました。高品質と予測されたオルガノイドをその後長く追跡して確認したところ、免疫染色で RAX が広く発現し、最終的な ACTH 分泌能も高いことが確認されました。これは、分化 30 日目のオルガノイドの外観写真のみでその後の分化の良し悪しが判断できることを示しています。

図 3



(図 3)RAX::VENUS のノックインされていない細胞株から得られたオルガノイドの分類モデルによって高品質と予測されたオルガノイド(左)は、低品質と予測されたオルガノイド(右)に比較して RAX が広く発現している。またオルガノイドの培養を継続すると、その後の ACTH 分泌能にも有意な差が生まれた。

3. 今後の展開

今回開発されたモデルは、最終的なオルガノイドの品質をその分化途中の見た目だけで判別できる世界で初めてのモデルです。このモデルを使用することで、オルガノイドの移植開発・臨床応用における品質向上やコスト削減が可能になると考えられます。また、モデルが注目した外見部位を特定したことで、分化進捗における必要不可欠な構造が明確になり、発生学における新しい知見を提供するツールにもなり得ると考えます。

4. 支援・謝辞

本研究は日本医療研究開発機構(AMED)・難治性疾患実用化研究事業(研究課題名:ヒト多能性幹細胞を用いた下垂体前葉機能低下症への再生医療技術開発)、科学技術振興機構(JST)・創発的研究支援事業(JPMJFR200N)、科学研究費助成事業(JP23K08005)、ハーモニック伊藤財団、名古屋大学医学部附属病院先端研究支援経費の助成を受けたものです。

【用語説明】

*1) オルガノイド

多能性幹細胞や組織幹細胞を三次元で培養して得られる組織。ヒト臓器の一部を再現しており生理機能を有する。再生医療、創薬、基礎研究など様々な分野で活用されている。

*2) ディープラーニング(Deep Learning)モデル

コンピューターが大量のデータからパターン学習する事によって、データ分析を行う事ができるモデル。人間の神経細胞を模したニューラルネットワークが多層化された構造を持つ。

*3) RAX 転写因子

Retina and anterior neural fold homeobox の略。視床下部や網膜の発生に関わる転写因子。最初に前神経領域に広く発現し、ついで網膜・視床下部・松果体などに限局して発現するようになり、最終的には消失する。

*4) 明視野画像

試料を明るい光で照らし観察する、最も一般的な観察方法。私たちの目を見たときと同じ見え方。蛍光タンパク質を捉えることはできない。

*5) ACTH

Adrenocorticotrophic hormone の略。下垂体前葉から分泌されるホルモンの一つで、副腎皮質から糖質コルチコイドなどのステロイドホルモンの分泌を促進する役割を担っている。生存に必須のホルモンのひとつ。

*6) 三次元浮遊培養

細胞を培地内に浮遊させる培養法。多能性幹細胞を分散し再凝集させ、発生過程を模倣した培養環境下で培養することで三次元的な組織への分化誘導が可能となる。

*7) EfficientNetV2-S

2021年にGoogle社が開発した画像認識モデル。畳み込み層を持ち、深さ、幅、解像度のバランスをとることで、少ないパラメータで優れたパフォーマンスを示す。

*8) Vision Transformer

2020年にGoogle社が開発した画像認識モデル。自然言語処理の分野で用いられるTransformerを画像分類に用いたモデルである。

*9) アンサンブル学習

複数のモデルを組み合わせてモデルの予測精度を向上させる手法。

【論文情報】

雑誌名: Communications Biology

論文タイトル: A deep-learning approach to predict differentiation outcomes in hypothalamic-pituitary organoids.

著者: 浅野 友良¹、須賀 英隆^{1,2}、新岡 宏彦^{3,4}、湯川 博^{2,5}、榊原 真弓¹、多賀 詩織^{1,6}、宗圓 美香¹、三輪田 勤¹、佐々木 博勇^{7,8}、関 友望⁹、長谷川 咲希¹⁰、村上 奏¹¹、安部 政俊¹²、安田 康紀¹、宮田 崇¹、小林 朋子¹、杉山 摩利子¹、尾上 剛史¹、萩原 大輔¹、岩間 信太郎¹、馬場 嘉信^{2,5}、有馬 寛¹

1. 名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学

2. 名古屋大学 未来社会創造機構

3. 九州大学 データ駆動イノベーション推進本部

4. 大阪大学大学院 情報科学研究科

5. 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所

6. 住友ファーマ株式会社 再生・細胞医薬神戸センター

7. 名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科学

8. 東京大学大学院 農学生命科学研究科

9. 名古屋大学大学院医学系研究科 産婦人科学

10. 名古屋大学大学院 生命農学研究科

11. 大阪大学 理学部

12. 大阪大学 医学部

DOI: [10.1038/s42003-024-07109-1](https://doi.org/10.1038/s42003-024-07109-1)

Press Release

【研究者連絡先】

名古屋大学 大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学

准教授 須賀 英隆(すが ひでたか)

TEL:052-744-2142 FAX:052-744-2211

E-mail: suga.hidetaka.v7@f.mail.nagoya-u.ac.jp

九州大学 データ駆動イノベーション推進本部

教授 新岡 宏彦(にいおか ひろひこ)

TEL:092-642-6475

E-mail: niioka.hirohiko.136@m.kyushu-u.ac.jp

【報道連絡先】

名古屋大学 医学部・医学系研究科 総務課総務係

TEL:052-744-2804 FAX:052-744-2785

E-mail: iga-sous@t.mail.nagoya-u.ac.jp

九州大学 広報課

TEL:092-802-2130 FAX:092-802-2139

E-mail: koho@jimu.kyushu-u.ac.jp



東海国立大学機構は、岐阜大学と名古屋大学を運営する国立大学法人です。
国際的な競争力向上と地域創生への貢献を両輪とした発展を目指します。

東海国立大学機構 HP <https://www.thers.ac.jp/>

