

「非破壊」・「迅速」・「低コスト」に iPS 細胞の状態を 評価できる品質管理技術を開発

名古屋大学大学院創薬科学研究科（研究科長：人見清隆）基盤創薬学専攻創薬生物科学講座細胞分子情報学分野の加藤 竜司（かとう りゅうじ）准教授、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所ヒト幹細胞応用開発室の古江・楠田美保研究リーダー及び、株式会社ニコン マイクロスコープ・ソリューション事業部ステムセル事業開発室の清田 泰次郎室長の共同研究グループは、iPS 細胞などのヒト多能性幹細胞の培養工程における、画像評価によるリアルタイムの品質管理技術を開発しました。

iPS 細胞をなどのヒト多能性幹細胞は、無限の増殖能と多分化能を有することから再生医療や創薬研究等への実用化が期待されています。しかし、非常にデリケートな細胞であり、培養と品質管理は、熟練した作業者の目利きにより行われており、多大な時間と大きな労力を必要とします。

本研究では、非破壊的な画像情報を用いた検査法により、「非破壊」・「迅速」・「低コスト」に iPS 細胞の品質を評価することに成功しました。これにより、培養中の細胞の品質を容易に確認することができるようになり、高品質なヒト多能性幹細胞を大量かつ安定に製造するシステム開発に貢献することが期待されます。

この研究成果は、2016 年 9 月 26 日に英国 Nature Publishing Group の電子ジャーナル「Scientific Reports」に掲載されます。

本研究は、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構（AMED）の「再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業：再生医療の産業化に向けた細胞製造・加工システムの開発/ヒト多能性幹細胞由来の再生医療製品製造システムの開発（網膜色素上皮・肝細胞）（プロジェクトリーダー 紀ノ岡正博 大阪大学・教授）」の支援を受けて行われました。

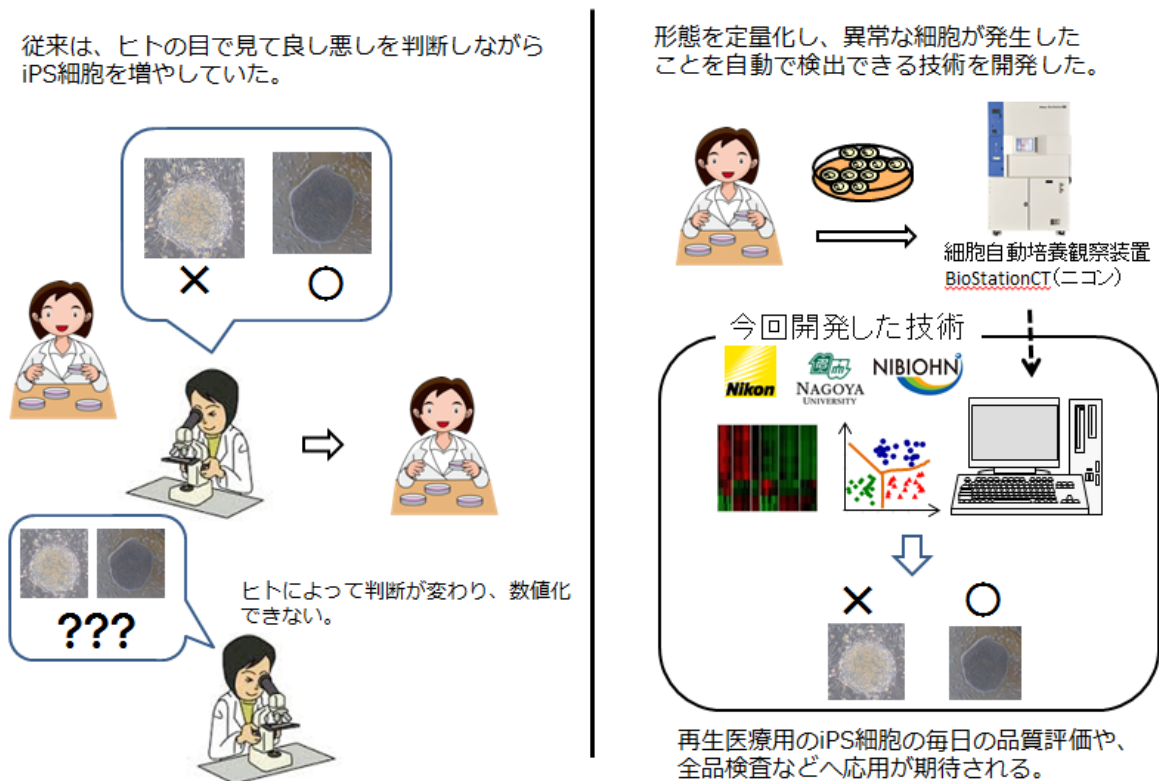
【ポイント】

- ・自動化された細胞の培養観察装置、細胞画像処理技術、大量の画像から得られる細胞形状データのバイオインフォマティクス解析を組み合わせることで、「非破壊」・「迅速」・「低コスト」に iPS 細胞などのヒト多能性幹細胞の培養工程における画像評価によるリアルタイムの品質管理技術を開発。
- ・培養中の細胞の品質を容易に確認することができるようになり、高品質なヒト多能性幹細胞を大量かつ安定に製造するシステム開発に貢献することに期待。

【概要】

iPS 細胞をなどのヒト多能性幹細胞は、無限の増殖能と多分化能を有することから再生医療や創薬研究等への実用化が期待されています。しかし、非常にデリケートな細胞であり、培養と品質管理は、熟練した作業者の目利きにより行われており、多大な時間と大きな労力を必要とします。

本研究では、非破壊的な画像情報を用いた検査法により、「非破壊」「迅速」「低コスト」に iPS 細胞の品質を評価することに成功しました。これにより、培養中の細胞の品質を容易に確認することができるようになり、高品質なヒト多能性幹細胞を大量かつ安定に製造するシステム開発に貢献することが期待されます。



【図 1 細胞形態情報を用いた iPS 細胞のコロニーにおける品質判定技術】

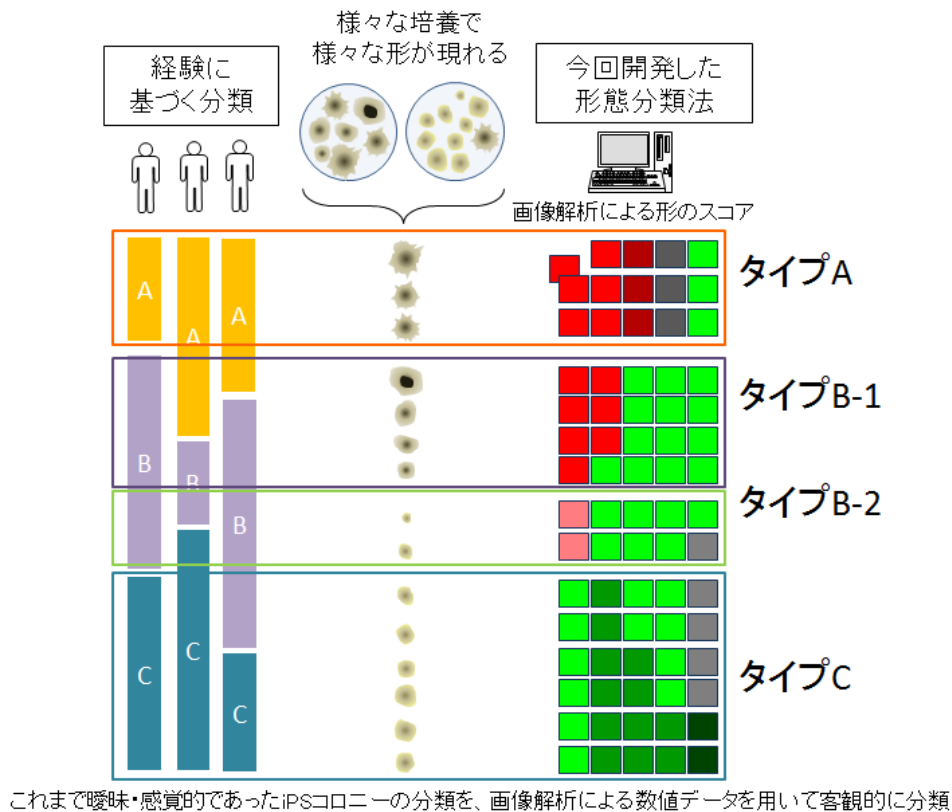
【研究方法】

① 画像解析による iPS 細胞のコロニーの形の評価

培養中の iPS 細胞の写真が撮影できるバイオステーション (ニコン) を用いて、良い iPS 細胞と悪い iPS 細胞について、8 時間毎に 6 日間、合計 2,300 枚の撮影し、解析を行いました。細胞は京都大学より分与された iPS 細胞を用いました。良い細胞としては「201B7」(参照 1) を用い、悪い細胞としては 201B7 を長期継代培養して異常となった「201B7-1A」を用いました。撮影した写真から iPS 細胞のコロニーの部分を 999 個取り出し、画像処理を行った後、大きさや形状など 120 個の項目を計測し、グループ分けしたところ、異常な形をしているコロニーのグループが見つかりました。異常な形をしているグループに入るコロニーは悪い iPS 細胞の中に多く見つかりました。

② 評価の検証

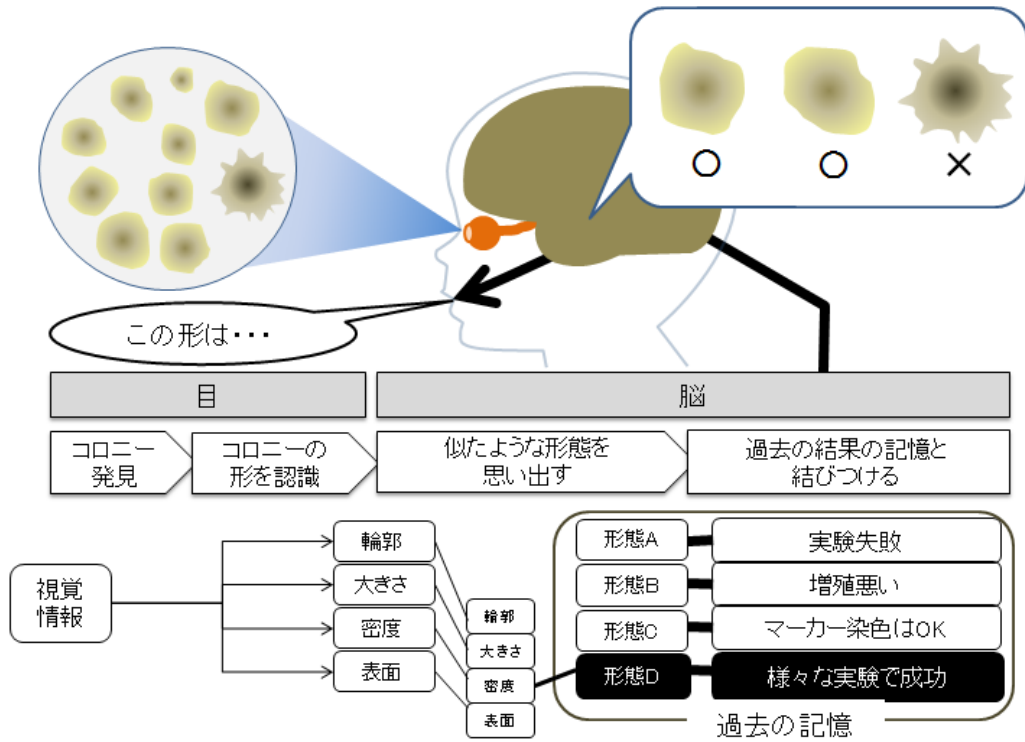
下記の画像解析によるグループ分けが正しいかどうかを確認するために、別に培養した iPS 細胞のコロニーの形の写真を撮ってグループ分けし、どんな遺伝子を発現しているのか、DNA アレイ解析を使って測定しました。測定した結果の統計解析を行ったところ、画像解析によるグループ分けと遺伝子によるグループ分けが同じ結果となり、画像解析によるグループ分けが有効であることがわかりました。また、この方法が、他の細胞株でも同様に使えるかどうか確認するために、別の iPS 細胞 Tic (JCRB1331, 成育医療センターにて樹立、医薬基盤栄養研細胞バンクより入手、参照 2) やウィスコンシン大学で樹立されたヒト ES 細胞 H9 (WiCell 研究所から入手、参照 3) の形の写真を撮って解析したところ、同様に異常な形をしているグループを見つけることができました。



【図 2 iPS 細胞のコロニー形態の数値解析による分類のイメージ図】

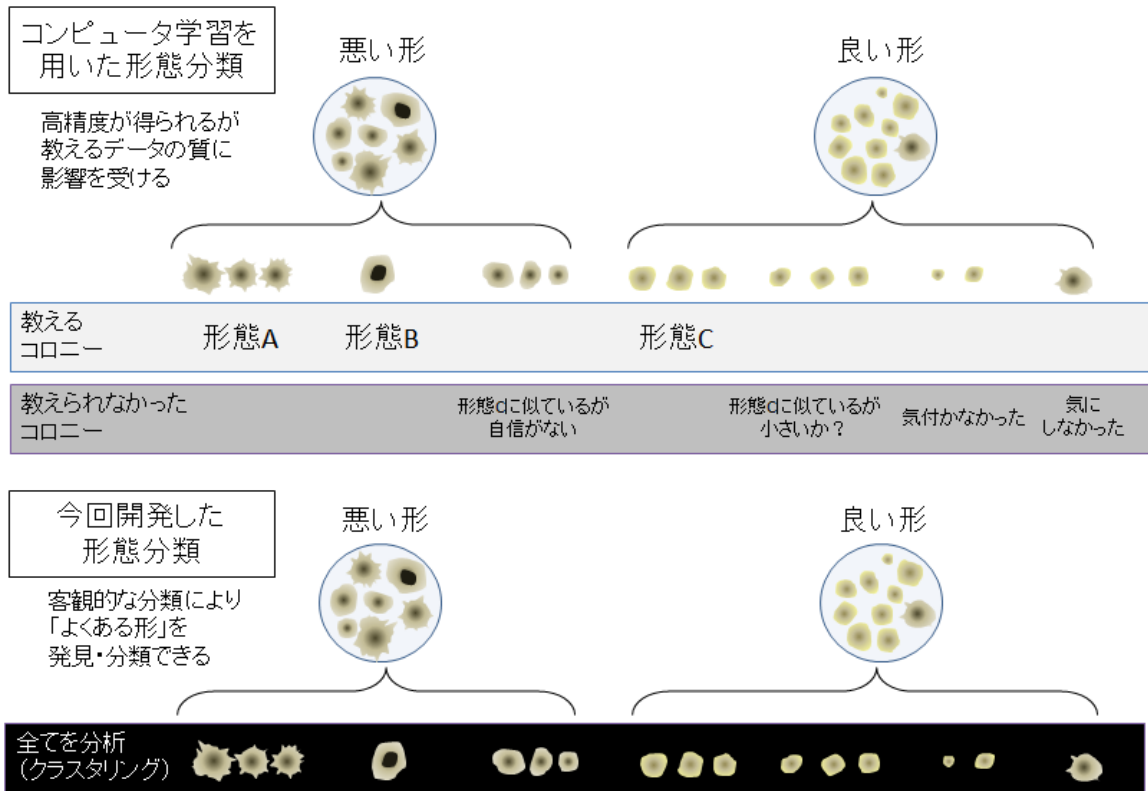
〈参照〉

1. Takahashi K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. Cell.131(5):861-72 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>
2. Nagata, S. et al. Efficient reprogramming of human and mouse primary extra-embryonic cells to pluripotent stem cells. Genes Cells 14, 1395-1404 (2009).
3. Thomson, J. A. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 282, 1145-1147 (1998).



人間は視覚から得た情報と、記憶の中の「良否」を比べている。
 今回開発した手法は、同様にiPSコロニーの画像データを蓄積し、これを検索して判断を行う

【図 3 培養熟練者が行っていた iPS 細胞コロニー形態の分類（目利き）の工程分解】



【図 4 iPS 細胞のコロニー形態の品質分類における従来の分類法と今回開発した手法の違い】

【成果の意義】

本研究では、非破壊的な画像情報を用いた検査法により、「非破壊」「迅速」「低コスト」にiPS細胞の品質を評価することに成功しました。これにより、培養中の細胞の品質を容易に確認することができるようになり、高品質なヒト多能性幹細胞を大量かつ安定に製造するシステム開発に貢献することが期待されます。

【用語説明】

iPS細胞：

人工多能性幹細胞（induced pluripotent stem cell）と呼ばれ、体細胞に複数の遺伝子を導入して作製される。ES細胞（embryonic stem cell）のように多くの種類の細胞に分化できる多分化能と自己複製能を有する。2006年に京都大学の山中伸弥教授らが最初に報告した。

【論文情報】

掲載雑誌：Scientific Reports（Nature Publishing Group 電子ジャーナル）

論文名： Parametric analysis of colony morphology of non-labelled live human pluripotent stem cells for cell quality control
コロニー形態の多変量解析を用いたヒト多能性幹細胞の非破壊かつライブな品質管理

著者： 名古屋大学

加藤 竜司、松本 恵、佐々木 寛人、長坂理 沙子、岡田 真衣、池田 友里圭、蟹江 慧、本多 裕之

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

古江 美保、菅 三佳、福田 隆之、内尾 こずえ、木根原 匡希、柳原 佳奈、劉 有容

株式会社ニコン

清田 泰次郎、魚住 孝之、紀伊 宏昭

URL：<http://www.nature.com/articles/srep34009>

