

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 長 坂 理 紗 子

論 文 題 目

産 業 応 用 に 向 け た 多 能 性 幹 細 胞 培 養  
工 程 質 評 価 技 術 の 開 発 情 報 解 析 を 用 い た

論 文 審 査 担 当 者

主 査	名古屋大学准教授	加 藤	竜 司
委 員	名古屋大学助教	蟹 江	慧
委 員	名古屋大学教授	饗 場	浩 文
委 員	名古屋大学教授	赤 池	昭 紀
委 員	名古屋大学教授	本 多	裕 之

## 論文審査の結果の要旨

長坂理紗子さん提出の論文「産業応用に向けた多能性幹細胞培養工程における画像情報解析を用いた品質評価技術の開発」は、近年再生医療研究および創薬開発において注目を集めている多能性幹細胞（Pluripotent Stem Cell: PS 細胞）の実用化において急速に社会からの要請が高まりつつある PS 細胞加工調製工程における品質管理技術としての細胞画像情報解析技術および解析法の開発について研究した成果である。

近年の発生学および幹細胞研究の発展により、「ES (Embryonic Stem) 細胞」や「人工多能性幹 (induced Pluripotent Stem: iPS) 細胞」は、基礎研究の細胞源のみに留まらず、細胞加工物という医薬品候補として大きく注目を集めている。特に iPS 細胞は、様々な系譜のヒト細胞を自在かつ大量に製造できる技術であるため、これまで良い動物モデルが無かった疾患の研究や、種差による薬物有効性や動態の違いに原因する開発後期でのドロップアウトの低下などに貢献する創薬研究のための革新的なツールとしても大きな期待を受けている。しかし現在、多くの細胞加工物や細胞製品の製造工程は手作業に依存しており、培養が難しくデリケートであるとされる PS 細胞の培養工程においては一層、細胞培養工程の機械化・自動化が強く求められつつある。現在、国の大きなプロジェクトが細胞培養技術、細胞評価技術などの開発を推進しており、複数の企業がその自動化の成功を報告はあるが、PS 細胞の培養工程における品質管理技術はいまだ有力なものがほとんど存在しない。産業化を実現するための細胞培養工程とは、医療などへの応用を視野にいたした細胞の安全性を担保するための「作業の安定性」を実現する必要があると共に、まだ発展途上にある産業として経済性が担保されなければならない。この点、現在の PS 細胞培養のための研究の多くは、機械化（自動化）や施設整備などが多いが、細胞品質管理のための「培養のインテリジェント化」を推進するための技術開発研究は少ない。長坂さんはこのような現状において、細胞培養工程の全てを制御するために従来経験や感覚に頼っていた作業工程の全てを定量的に扱うことが可能となる細胞画像情報解析技術の開発に取り組んでいる。PS 細胞に留まらず、ほとんど全てのヒト細胞の培養において、細胞の形態観察は現在もなお唯一無二の細胞品質を非破壊的にチェック可能な技術として世界中で実践されている。長坂さんの研究はこの歴史的に証明された「目利き」の技術を高度なコンピュータ解析によって実現しようとするものである。

第 1 章は序章として、PS 細胞の歴史的発展と現在の創薬研究・再生医療研究への発展、および、PS 細胞の産業応用に向けた製造技術とその課題と可能性、および、細胞画像情報解析の概要と可能性についてまとめている。

第 2 章は、PS 細胞の未分化維持培養工程の定量評価に焦点をあて、PS 細胞のコロニー形態を、画像情報解析によって客観的・簡便・迅速に評価するアルゴリズム開発について記している。長坂さんは、未分化培養維持という作業の中に存在する「経験と勘」に頼っている作業工程に着目し、これを意図的に変化させた培養条件における

コロニー形態情報を解析し、定量的かつ恣意性なく、作業工程の影響の良し悪しを比較・評価できる解析技術および可視化法を開発している。結果、これまでは定量的に比較評価することが不可能なため、根拠なく設定されていた手順や指示について、科学的なデータに基づいてその有効性と自動化への改良点を示唆している。

第3章では、細胞画像情報解析を用いたPS細胞の品質管理の生物学的意義および検出精度の検証のため、画像解析を応用しながらPS細胞のコロニーの形態を定量的に調節することが可能な実験系を構築し、細胞形態の特徴とバイオロジーを次世代シーケンス解析およびメタボロミクス解析によって検証している。この結果、画像を用いたPS細胞のコロニー形態情報の検出速度や感度が、他のオミクス手法に比べて極めて高いことを実証するとともに、細胞形態変化の起因となる代謝カスケードや細胞応答性現象について示唆に溢れるオミクスプロファイルを示し、より直接的な品質劣化の原因を示唆している。さらには、画像解析と組み合わせることによってより詳細な品質管理が可能となるメタボロミクス解析の有効性についても述べている。

第4章では、PS細胞の分化培養工程（肝細胞への分化工程）をより複雑なPS細胞由来細胞加工物製造工程のモデルとして、コンフレント状態で生じる細胞形態情報を画像処理によって定量的に評価・予測可能な解析法を開発を行っている。PS細胞の分化工程では、細胞がコロニーを形成していないために全く新しい画像処理技術の開発が必要であった。さらに、分化誘導効率の低さによって生じる様々な目的外の系譜の細胞についても、これらを非破壊のままに定量的に推定評価できるかについて、定量的・客観的な解析アルゴリズムを開発し、その有効性を示している。特に本研究では、画像処理解析としてテクスチャ情報を活用しており、これまでのテクスチャ画像解析等で課題とされてきていたテクスチャ評価の恣意性を排除する解析アルゴリズムを開発し、非破壊の顕微鏡画像から免疫染色による分化マーカー染色画像に類する推定領域のリアルタイム評価・可視化を可能とした技術開発に成功している。

第5章では、本論文を通じて構築されたPS細胞の製造加工工程における安定性と効率性の両方を実現する画像情報解析による品質評価法の有効性と課題について考察し、今後のPS細胞の産業応用の将来展望、および、ここで求められる品質評価法と画像品質評価の可能性についてまとめている。

本論文は、近年産業界からも実現のための技術開発が強く求められつつあるPS細胞の培養工程管理および品質管理技術として、細胞の顕微鏡画像を用いた画像情報解析の基礎技術および実践的アルゴリズムや解析法を、幹細胞研究・生物統計・バイオインフォマティクスなど複数の学術分野を横断した極めて先鋭的な知識と技術の融合によって構築しており、次世代を担う工学的創薬科学研究の発展に大きく寄与すると考えられる。よって、本論文の提出者である長坂理紗子さんは、博士（創薬科学）の学位を受けるのに十分な資格があると判断した。