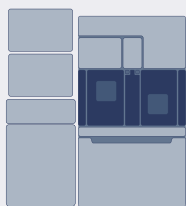


ヒト間葉系幹細胞のラベルフリー判別



VisionSortについて

ThinkCyteのVisionSortプラットフォームは、従来の蛍光フローサイトメトリーの機能と、新しい細胞形態の分析手法を組み合わせたものです。このデュアルモードの分析能力に、機械学習の技術を組み合わせて、表現型で定義された細胞集団をラベルフリーで判別および分類することができます。

はじめに

ヒト間葉系幹細胞（hMSCs）を用いた治療法は、広く入手可能であること、*in vitro*での拡大培養が比較的容易であること、いくつかの異なる細胞種に分化する能力があること、免疫原性が限定的であることなどから、さまざまな疾患の治療において有望な新しいアプローチとなっています。ヒト間葉系幹細胞を用いた効果的な細胞治療の開発には、拡大能力や治療効果の指標となる表現型の非破壊的評価が必要です。その表現型の一つが細胞増殖です。ヒト間葉系幹細胞*in vitro*で治療可能な量まで増殖させるには、初期段階で増殖性の高い細胞集団が必要です。細胞の増殖能がその形態に反映されることがあることから、ヒト間葉系幹細胞を用いた細胞治療を開発する初期の段階において、VisionSortにより取得した形態学的プロファイルを基に、増殖能力の高いヒト間葉系幹細胞を判別および分離することができるかどうかを評価しました。VisionSortを使用することで、増殖能の高い、特定の表現型を持つヒト間葉系幹細胞をラベルフリーで分離することができ、細胞治療製品の生産を最適化するための研究開発に利用可能であることを示しました。

結果

凍結した正常骨髄由来のヒト間葉系幹細胞を4週間培養し、細胞増殖率を評価するためのサロゲートとして使用される蛍光レポーター色素のCFSE（Carboxy Fluorescein Succinimidyl Ester）で染色しました（増殖率が高い細胞ほど、細胞分裂の過程で色素が希釈されるため、CFSE強度が低くなります）。機械学習による細胞増殖率の判別器は、CFSEで染色したヒト間葉系幹細胞を用いた教師あり学習によってVisionSort上でトレーニングしました（図1）。この判別器は、急速に増殖する細胞（CFSE強度が全細胞の下位20%の細胞）と、より緩やかに増殖する細胞（CFSE強度が全細胞の上位20%の細胞）を判別するために作成されました。分類装置のROC-AUCスコアは0.971 +/- 0.002であり、増殖能の表現型を判別するのに優れた性能を示しています（図2A）。個々の細胞から得られたラベルフリーの形態学的プロファイルをUMAP（Uniform Manifold Approximation and Projection）で可視化すると、急速に増殖する集団とより緩やかに増殖する集団を分ける2つの異なるクラスターが確認されました（図2B）。VisionSortの高分解能な形態学的プロファイリングと教師なし学習（UMAP）を使用して判別された各集団の細胞は、CFSE染色が大きく異なることを確認できましたが、明視野画像で示された形態からは、視覚的に識別することはできませんでした（図2C）。

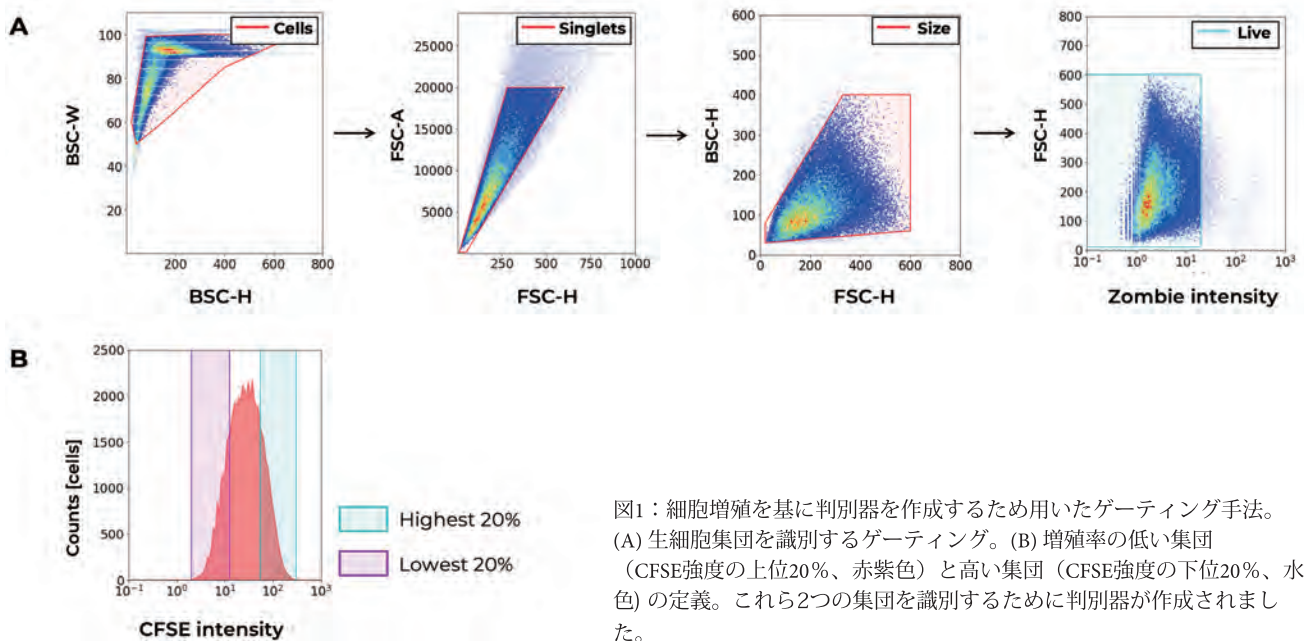


図1：細胞増殖を基に判別器を作成するため用いたゲーティング手法。
(A) 生細胞集団を識別するゲーティング。(B) 増殖率の低い集団（CFSE強度の上位20%、赤紫色）と高い集団（CFSE強度の下部20%、水色）の定義。これら2つの集団を識別するために判別器が作成されました。

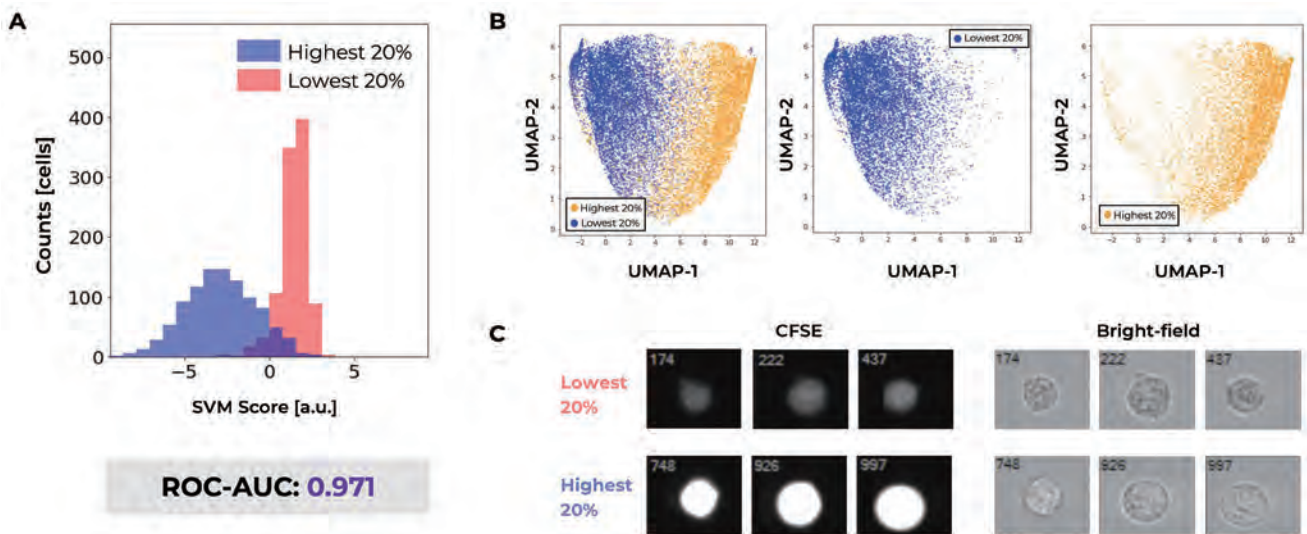


図2：ヒト間葉系幹細胞の増殖能表現型における機械学習モデルの構築と検証。(A) ラベルフリーの形態学的プロファイルから増殖能表現型に関する判別器を構築しました。この判別器は、テスト細胞集団で評価したところ、ROC-AUCが0.971 (+/- 0.002)と高い性能を示しました。(B) 個々の細胞の形態学的プロファイルをUMAPで可視化すると、急速に増殖する細胞（CFSE染色の下部20%、青色）とより緩やかに増殖する細胞（CFSE染色の上位20%、黄色）が明確に識別できました。(C) 単一細胞画像（イメージングサイトメーターを用いて撮影）では、急速に増殖する細胞（CFSE染色の下部20%、上段）とより緩やかに増殖する細胞（CFSE染色の上位20%、下段）のCFSE染色に明確な違いが認められましたが、明視野画像で示された形態は類似していました。

まとめ

ヒト間葉系幹細胞を用いた治療に最適な細胞を選択するには、細胞増殖のような生産能力に関連する表現型を非破壊的に評価する必要があります。ここでは、VisionSortを使用した形態学的プロファイリングにより、増殖率に基づいてヒト間葉系幹細胞をラベルフリーで判別できることを示しました。ここで説明した手法は、初期の細胞治療の開発ワークフローにおいて、外部マーカーやラベルに影響されることなく、増殖率が高い細胞を分離するために使用することができます。



THINKCYTE INC.

UNITED STATES
1100 Island Drive, STE 203
Redwood City, CA 94065

JAPAN
7-3-1 Hongo,
Bunkyo, Tokyo

CONTACT@THINKCYTE.COM WWW.THINKCYTE.COM

FOR RESEARCH USE ONLY. © Copyright 2023. All rights reserved. ThinkCyte, VisionSort and Ghost Cytometry are trademarks of ThinkCyte K.K. All other trademarks are the property of their respective owners. AN-013.23.1-US
Unauthorized posting of this material in the public domain is prohibited.