

## 機械学習を用いた循環器疾患創薬基盤技術の開発

湯浅慎介

慶應義塾大学医学部 循環器内科

### 【研究の背景】

心血管病は世界中で4億人以上が罹患し主要な死因となっており、今後もその傾向は続くことが予測されている。心血管病の疾病負担を減らすため、心血管病の革新的治療方法開発に注力していく必要性が広く指摘されている。一方、近年の心血管病に関する創薬開発の成功確率は高くなく、新たな研究手法の開発が期待されている。

### 【目的】

本研究では、機械学習を用いて微細な細胞形態変化を自動で検出するシステムを構築し、心血管病の病態解明・創薬研究への基盤技術として開発・応用することを目的とする。

### 【方法】

機械学習は性能と汎用性が劇的に向上し、様々な問題が解決可能となり、社会的に重要性が増している。これまでに我々は、細胞顕微鏡画像を用いて機械学習を行うことにより、様々な課題の解決を試みてきた。多能性幹細胞は細かな条件の違いにより目的とする細胞への分化誘導効率は大きく異なり、分化が適切に誘導されていることや細胞が良好な状態にあるかなどを毎回確認する必要がある。我々は、ヒト iPS 細胞を血管内皮細胞へ分化誘導し、70%は非血管内皮細胞が存在する培養皿上において、機械学習により位相差顕微鏡画像から血管内皮細胞を同定するシステムの開発に成功した<sup>1)</sup>。また細胞は様々なストレスに応じて形態や機能が変化し、病的細胞は疾患発症の中心的役割を担う。特に心血管疾患において、疾患発症における老化血管内皮細胞の果たす役割は大きい。血管内皮細胞はストレスに応答して老化表現型を獲得し、細胞の微細構造にも違いが生じるが、人間が顕微鏡で観察しても定量的な判別は不可能である。一方、機械学習においては微細な形態の違いも判別可能であり、また相当数の細胞評価が可能であることから、病的細胞の自動検出システムを構築した。さらに学習済みネットワークを応用し、老化細胞と薬剤ライブラリーを用いることにより、老化を抑制する薬剤スクリーニングシステムを構築し実行することに成功した<sup>2)</sup>。本研究においては、病的心筋細胞の自動判別系を構築し、薬剤スクリーニングシステムを構築し、実行することを目的とする。

ラット新生仔の心筋筋初代培養細胞を用いて、ET-1 および Ang2 を用いて病的心筋細胞を誘導する。コントロール心筋細胞と病的心筋細胞の位相差顕微鏡画像を大量に取得する。セグメンテーションモデルを用いるための教師データとして、位相差顕微鏡画像における心筋細胞の全体および中心を定義した画像を作成する。セグメンテーションモデルにより、自動で心筋細胞が抽出できることを確認して、同心筋細胞の大きさと周囲長を自動で計測するシステムを構築する。

### 【結果】

自動計測された細胞の面積及び周囲長において、病的心筋細胞はコントロール心筋細胞に比べて大きく肥大していることが示された。同肥大心筋細胞に対して FDA 認可薬剤ライブラリーを添加することにより、心筋細胞肥大を抑制する薬剤をスクリーニングするシステムを構築し実施した。その結果、肥大心筋細胞において面積及び周囲長ともに低下させる薬剤を

同定することに成功し、さらに同薬剤はコントロール心筋細胞においては大きな影響を及ぼさないことが確認された。また、心不全モデルである大動脈縮窄モデルマウスにおいて、同薬剤を注射することにより心不全の発症が抑制されることが確認された<sup>3)</sup>。

## 【考 察】

心筋細胞肥大は古くから心肥大のマーカーとして用いられてきたが、免疫染色をした個々の心筋細胞を研究者が計測することに評価されてきた。同評価系は、研究者が選別した心筋細胞を対象に、限られた細胞数を計測することで評価されており、客観性とロバストネスにかけるものであった。本研究においては、評価対象に用いる心筋細胞を選別する際に研究者は直接的には関与せず、また人が評価するのに比べて圧倒的に多くの細胞を用いることが可能である。さらに同評価系を、そのまま薬剤スクリーニングに用いることが可能であり、今後の応用範囲は広いと考えられる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

心血管病の中でも心不全は患者数も多く、末期心不全に至っては極めて予後も悪く、根本的な治療方法は心臓移植しかない。本研究においては、新規治療方法の探索のための薬剤スクリーニング系を開発しており、様々な薬剤ライブラリーを用いて実行できる。また既存薬の心筋細胞に対する直接的な効果の検証や、分子標的薬などの新規薬剤の心筋細胞への影響を検討する安全性試験にも用いることが可能である。人工知能の進歩は著しく、これまでに行われてきた様々な研究手法が大きく入れ替わる可能性があり、積極的に同技術を応用していくことで、飛躍的に医学研究が進むことが期待される。

## 【参考・引用文献】

1. Kusumoto D, Lachmann M, Kunihiro T, Yuasa S, Kishino Y, Kimura M, Katsuki T, Itoh S, Seki T, Fukuda K. Automated Deep Learning-Based System to Identify Endothelial Cells Derived from Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2018. Jun 5;10(6):1687-1695.
2. Kusumoto D, Seki T, Sawada H, Kunitomi A, Katsuki T, Kimura M, Itoh S, Komuro J, Hashimoto H, Fukuda K, Yuasa S. Anti-senescent drug screening by deep learning-based morphology senescence scoring. *Nat. Commun*. 2021 Jan 11;12(1):257. doi: 10.1038/s41467-020-20213-0.
3. Komuro J, Tokuoka Y, Seki T, Kusumoto D, Hashimoto H, Katsuki T, Nakamura T, Akiba Y, Kuoka T, Kimura M, Yamada T, Fukuda K, Funahashi A, Yuasa S. Development of non-bias phenotypic drug screening for cardiomyocyte hypertrophy by image segmentation using deep learning. *Biochem Biophys Res Commun*. 2022 Dec 3;632:181-188. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.09.108. Epub