

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：31303

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17998

研究課題名（和文）神経細胞集団のCa輝度変化情報の機械学習による医薬品の痙攣毒性予測法の開発

研究課題名（英文）Predicting Seizure Liability of Pharmaceuticals Using Machine Learning on Ca Imaging

研究代表者

松田 直毅（Matsuda, Naoki）

東北工業大学・工学部・助教

研究者番号：80909490

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ハイスループット計測が可能なCaイメージングデータから、機械学習を用いた痙攣リスク予測法の開発を目的とした。Caオシレーションを正確に検出するために、SVMを用いたCaオシレーション検出法を検討し、97%の精度でオシレーションを検出可能なモデルを開発した。次に、検出したオシレーション波形画像を作成し、CNNモデルを用いて痙攣毒性予測モデルを作成した。作成したCNNモデルは5種類の陰性化合物と27種類の痙攣陽性化合物を87%の精度で予測した。陰性化合物を偽陽性なく判定し、痙攣陽性化合物の毒性を用量依存的に検出した。Caイメージング法における痙攣毒性予測法としての有効性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ハイスループット性の高いCaイメージング法による痙攣毒性予測法は、創薬開発の探索段階における毒性検出を可能とし、化合物の選別、薬剤の有効性、副作用の評価や作用機序、リード化合物におけるリスクの順位付け、リスクを回避する為の化合物の修飾等が可能となり、創薬開発におけるコストと時間の大幅な削減につながると思われる。また、本開発技術は、痙攣毒性のみならず、他の神経毒性および薬効への適用も期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a method for predicting seizure risk using machine learning on high-throughput Ca imaging data. To accurately detect Ca oscillations, we explored a Ca oscillation detection method using SVM, and developed a model capable of detecting oscillations with 97% accuracy. Next, we created images of the detected oscillation waveforms and developed a seizure toxicity prediction model using a CNN. The CNN model predicted 5 types of negative compounds and 27 types of seizure-positive compounds with 87% accuracy and detected the toxicity of seizure-positive compounds in a dose-dependent manner. There were no false detections of negative compounds, demonstrating the effectiveness of this method for predicting seizure toxicity using Ca imaging.

研究分野：生体医工学

キーワード：機械学習 脳・神経 in vitro カルシウムイメージング 神経毒性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

医薬品開発の前臨床試験において、神経毒性を高い精度で検出できる評価系の構築が求められている。薬剤性神経毒性の中で痙攣は、最も重篤な毒性であり、医薬品開発の前臨床試験およびスクリーニングの段階において、痙攣リスクの順位付け、およびその作用機序を検出できれば、化合物の選別、薬剤の有効性、副作用の評価や作用機序、リード化合物におけるリスクの順位付け、リスクを回避する為の化合物の修飾等が可能となり、創薬開発におけるコストと時間の大幅な削減につながる。光計測 (Ca イメージング) 法は 384 ウエルおよび 1536 ウエルを同時に計測可能であり、ハイスループット性が高く、創薬現場での応用を考えた場合、Ca イメージングの需要が高い。しかし、Ca イメージングから得られるデータは、神経ネットワーク全体の Ca 輝度の変化であり、空間分解能および時間分解能において情報量が落ちる。情報量が少ない Ca イメージングの時系列データから、医薬品の痙攣毒性予測を可能とする解析法の構築が求められている。

2. 研究の目的

Ca イメージングにおける中枢神経ネットワークの電気活動は、ある時刻にシナプス伝播を介して同期的に活動する現象「同期バースト発火」が Ca オシレーションとして観察され、Ca オシレーションの変化に化合物の特徴が現れる。現状課題になっているのは、Ca オシレーションのピーク検出法と算出されたパラメータを用いた痙攣毒性予測法の開発である。ピーク検出に用いる輝度に閾値を設ける方法では、化合物応答によってはピーク検出が難しい。また、閾値設定は研究者毎の判断に任されている為、統一的な検出法が確立していない問題もある。更に、神経ネットワーク活動の場合、算出された単一パラメータの比較では、毒性検出が難しいことがわかっている。そこで、本研究では、まず熟練の研究者が判断するピークを検出でき、研究者に依存せず統一的なピーク検出法の開発を行った。次に、検出したピークから算出したオシレーションパラメータを用いた多変量解析・機械学習による痙攣毒性予測法の検討、さらに、パラメータよりも情報量の多い Ca オシレーション波形を使った痙攣毒性予測 AI の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) SVM を用いた Ca オシレーション検出法の開発

FDSS を用いて、24 種類の痙攣陽性化合物および 5 種類の陰性対照化合物における用量依存的なデータを取得した。取得した輝度値の時系列データから目視で Ca オシレーションを判定し、機械学習に用いる教師データを作成した。教師データを学習に用いて、2 クラス分類の線形識別関数を構築する SVM を作成した。SVM が検出したオシレーションデータから、薬剤痙攣毒性の判別に用いるオシレーションの高さや幅、それらの変動係数といった 7 パラメータを求め、7 パラメータを用いて主成分分析を行った。主成分分析で算出された第一主成分および、第二主成分で陰性対照と各薬剤を有意差検定し、毒性判別に有効なパラメータの組み合わせを探索した。導出したパラメータを用いた主成分分析の結果から、陰性対照の標準偏差 (SD) 範囲を算出し、SD 範囲内を低リスク、SD 範囲から 2SD 範囲を中リスク、2SD 範囲外を高リスクとして、各薬剤の毒性判別を実施した。

(2) オシレーションパラメータを用いた痙攣毒性検出法の検討

培養 3 週目の Rat 皮質神経細胞の化合物投与前後の神経活動時の Ca オシレーションを取得した。化合物には Sigma-Aldrich 社が販売する薬理活性化合物ライブラリー (LOPAC1280) を使用し、濃度 $1\mu\text{M}$ および、 $30\mu\text{M}$ を投与した際のデータを取得した。SVM モデルを用いて検出したオシレーションから 40 個の Ca オシレーション関連パラメータを算出した。オシレーションパラメータを用いて、溶媒である DMSO の各パラメータの 2 倍の標準偏差 (SD) 範囲を用いたシングルパラメータによる毒性検出法、DMSO の 40 パラメータを学習した One-Class-SVM モデルによる毒性検出法、パラメータのヒートマップ画像を学習した画像認識モデルによる毒性検出法を検討し、予測精度を比較した。

(3) Ca オシレーション波形を使った痙攣毒性予測 AI の開発

培養 35DIV のヒト iPS 細胞由来皮質神経細胞の化合物投与後の 20 分間の神経活動時の Ca オシレーション波形のデータを取得した。化合物は、痙攣陽性化合物 27 種類および、陰性化合物 5 種類を投与した。取得した輝度値時系列データからオシレーション波形画像を作成し、画像認識モデルである Inception V1 を用いて痙攣毒性予測モデルを作成した。

4. 研究成果

輝度値の時系列データから算出したオシレーションのピーク関連パラメータを用いて機械学習を行い、オシレーションと非オシレーションを分類するオシレーション検出モデルを作製した。作製したモデルは 97% の精度でオシレーションを検出した。とくに Amoxapine と Kainic acid において、従来の閾値法では検出できなかったオシレーションを検出可能であった。次にモデルが検出したピークに基づき算出されたパラメータの主成分解析を行い、陰性化合物の主成分得

点の SD 範囲を基準とした毒性判定を行った。その結果、24 痙攣陽性化合物のうち 23 化合物の毒性を検出できたが、DMSO を含む 5 つの陰性化合物のうち 2 つの陰性化合物が毒性と判定された (図 1)。

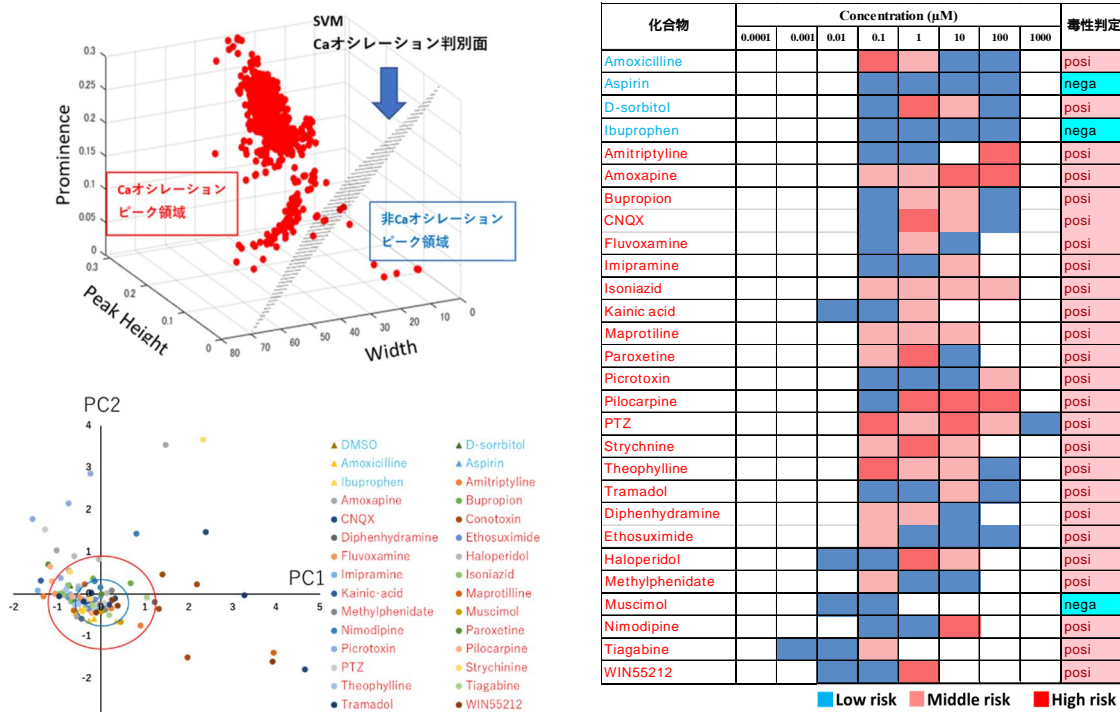


図 1. SVM を用いたオシレーション検出とパラメータの主成分解析による毒性検出

次に、阻害薬、リガンド、承認薬等の化合物ライブラリーである LoPac1280 化合物のデータから、開発したオシレーション検出モデルを用いて検出したオシレーション波形から 4 0 種類のパラメータを算出し、陰性化合物と痙攣陽性化合物のパラメータを学習した痙攣毒性予測モデルを作製した。モデルには One-Class-SVM (OCSVM) と CNN の 2 種類を検討した。作製した OCSVM モデルは未学習の痙攣陽性化合物の毒性を 62.2% の精度で予測し、CNN モデルは 89.2% の精度で予測した。次に、より高精度で毒性を検出できた CNN モデルを用いて痙攣陽性化合物以外の阻害薬、リガンド、承認薬等のデータの毒性予測を行った。痙攣報告のある化合物、副作用報告のある化合物、市販薬の 3 分類を CNN モデルの予測結果から分類できるかを検討したが、明確に分類されず、特に市販薬の偽陽性が課題となった (図 2)。

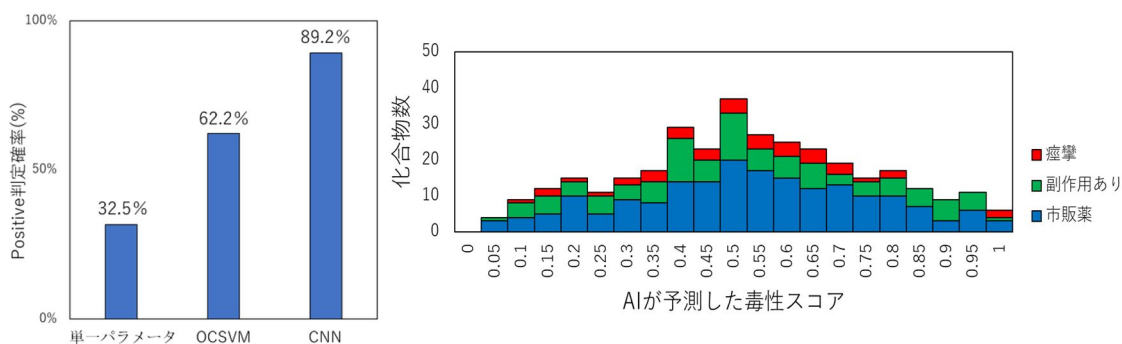


図 2. 3 種類の痙攣毒性判定方法の毒性検出精度の比較と未学習化合物における CNN モデルの予測結果

そこで、パラメータよりも情報量の多いオシレーション波形を学習した CNN モデルを作製した。作製した CNN モデルは 5 種類の陰性化合物と 27 種類の痙攣陽性化合物を 87% の精度で予測した。痙攣陽性化合物の毒性確率は用量依存的に上昇し、生体痙攣濃度が既知である 3 化合物の痙攣濃度における毒性確率を基準とすることで、21 種類の痙攣陽性化合物の毒性を検出し、陰性化合物の偽陽性確率は 0% であった (図 3)。オシレーション波形を学習した CNN モデルは偽陽性なく、痙攣毒性を検出できるモデルであることが分かった。本研究で開発したオシレーション検出モデルと、オシレーション波形を学習した CNN モデルは、Ca イメージング法における痙攣毒性予測法として有効であることが示された。また、本開発技術は、痙攣毒性のみならず、他の神経毒性および薬効への適用も期待できる。

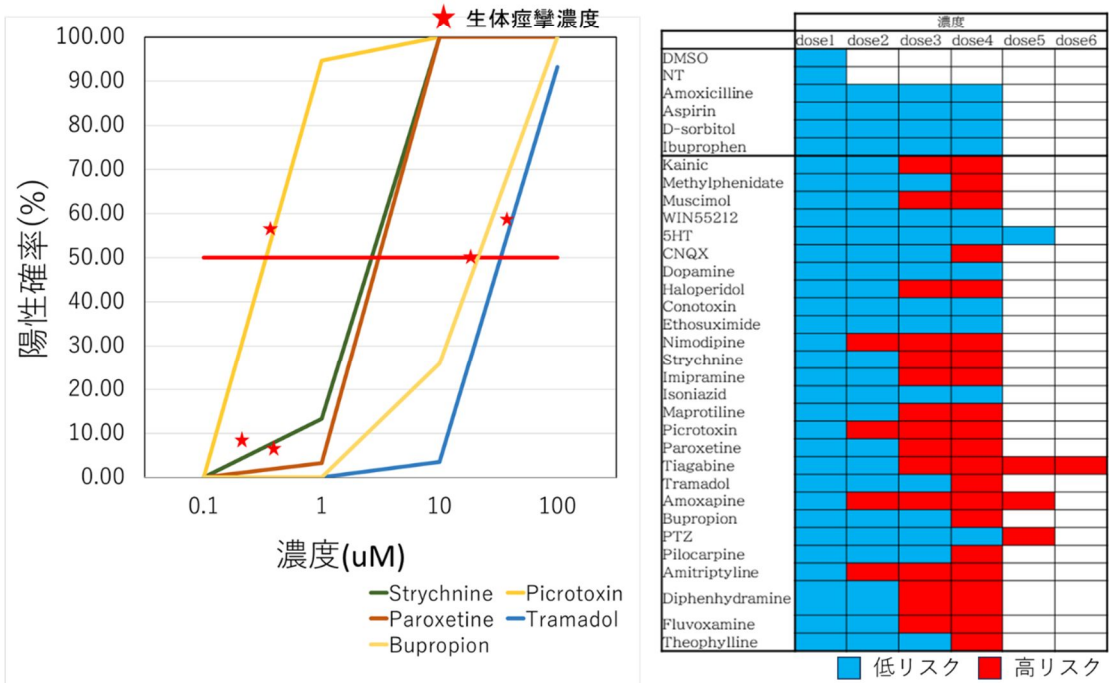
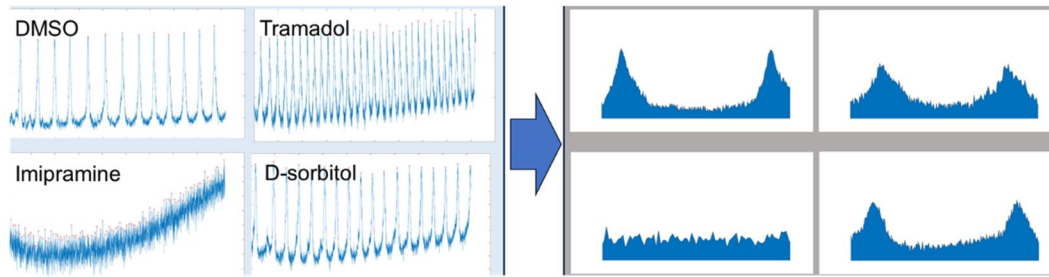


図3 作成した分割オシレーション波形画像と生体痙攣濃度が既知の化合物に対する予測結果および、生体痙攣濃度における毒性確率を基準としたリスク判定

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------