

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23717

研究課題名（和文）機械学習を用いた細胞内エンドソーム輸送とモータータンパク質挙動の解明

研究課題名（英文）Understanding the intracellular transport of endosomes using machine learning approach

研究代表者

Lee Seohyun (Lee, Seohyun)

東京大学・情報基盤センター・特任研究員

研究者番号：00847973

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：細胞内での物質輸送に関する研究は新薬の開発及び検証において必修的な基礎情報を提供するものの、ナノスケールで行う物質輸送の観測や解析が難しいため、その輸送のパターンはいまだに知られていない。本研究は、機械学習の用いて細胞内物質輸送のパターンを解明することを目標とし、細胞内物質輸送を担当する小胞と細胞骨格との相互作用を物理的な特徴量に基づいて約90%の正解率で分類するアルゴリズムを開発することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、今までの伝統的な生物物理学の接近法では分析が難しかった細胞内物質輸送のパターンを、小胞と細胞骨格との相互作用の物理特性に着目し、機械学習アルゴリズムに基づいて解明した最初の接近法である。尚、社会的意義において、本研究で解明された細胞内の物質輸送のパターンは薬物伝達プロセスに関する研究にも繋がるため、今後新薬の開発や検証を促進させる重要な基礎研究になると期待される。

研究成果の概要（英文）：The movement of the intracellular vesicle, which carries important information from the extracellular area, includes essential information for developing and inspecting the mechanism of pharmaceutical delivery. However, because the movement of the vesicle occurs on a nanometer scale which hinders accurate observation and analysis, the pattern of vesicle movement has not yet been clearly understood. In this study, we aimed to elucidate the patterns of intracellular motions of vesicles based on machine learning. Using a supervised learning algorithm, we succeeded in the classification of vesicle transfer among a cytoskeletal network with the physical properties extracted from the interaction between the vesicles and cytoskeletons.

研究分野：生物物理学

キーワード：細胞内物質輸送 小胞 細胞骨格 機械学習

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内の物質輸送は抗がん剤など薬物伝達に関する最も重要な物理情報を持つため、細胞の外部から内部まで情報を直接に運ぶ役割を担当する小胞(Vesicle)という細胞内器官の運動を理解する研究が最近行っている。平均 100 nm のサイズを持つ小胞はナノスケールで動くため、小胞の運動を正確に観測・追跡するためには高精度イメージング技術が必須的になり、最近開発された様々な超解像イメージングテクニックによって小胞の位置を3次元で追跡することまでは研究が進んできた。しかし、小胞は細胞内で細胞骨格ネットワーク構造との相互作用によって運ばれるが、既存のイメージングや分析観点では小胞がどの細胞骨格と相互作用しどのようなパターンで細胞骨格のネットワークを通り抜けるのかは今まで知られていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究は、小胞が細胞内で細胞骨格ネットワーク構造と相互作用するパターンを解明することを目指す。特に、今までの伝統的な生物物理学からの接近法に機械学習アルゴリズムを加えた新しいアプローチで小胞がどのように細胞骨格を乗換えしながら細胞内情報を運ぶのかを解明する。

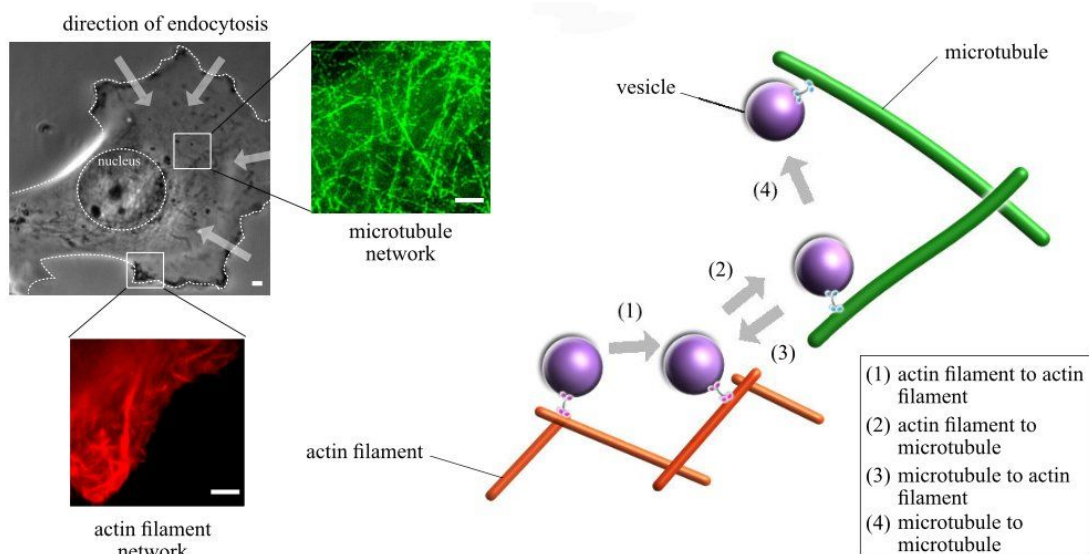


図1。本研究の目的：細胞内物質輸送を小胞と細胞骨格の相互作用による「乗り換え」の観点から解析し、その「乗り換え」の種類を機械学習に基づいて解明する。(Figure is from Lee, et al., ICAIIC, 2019)

### 3. 研究の方法

本研究では、細胞骨格の種類を微小管とアクチンフィラメントの2種類で制限し、小胞とその細胞骨格が相互作用した区間の軌跡を数値分方法で取り出した上、その区間で検出された小胞運動の物理特性に基づき、教師あり機械学習を行う。

- (1) 小胞と細胞骨格との相互作用が行った部分の抽出：本研究では、人乳がん細胞の一種類である KPL-4 細胞にナノスケール蛍光物質である量子ドットを入れることで細胞内の小胞を蛍光ラベリングし、Dual focus optics (Watanabe et al., BBRC, 2007)を用いて蛍光の3次元位置を追跡した。小胞の運動を蛍光イメージングで観測したイメージデータを数値分析法 (Lee et al., Optics Express, 2018)により小胞と細胞骨格が相互作用した区間を全体の3次元座標データから分離した。

- (2) 座標データから小胞の物理特性を抽出：小胞と細胞骨格との相互作用があった区間として取り出された座標データから小胞の速度、進行距離、乗り換えにかかる時間、乗り換えの角度などの物理的な運動特性を抽出した。具体的に、相互作用の区間は PCA (Principal Component Analysis) によりリニア的に検出されるため、小胞の座標からリニア区間に垂線の足を求め、その座標から速度と進行距離を計算する。また、一つのリニア区間から次のリニア区間に移行することを「乗り換え」と定義し、そのリニア区間の前後に観測された時間差と3次元角度をそれぞれ乗り換えにかかる時間及び乗り換えの角度としてデータを用意した。

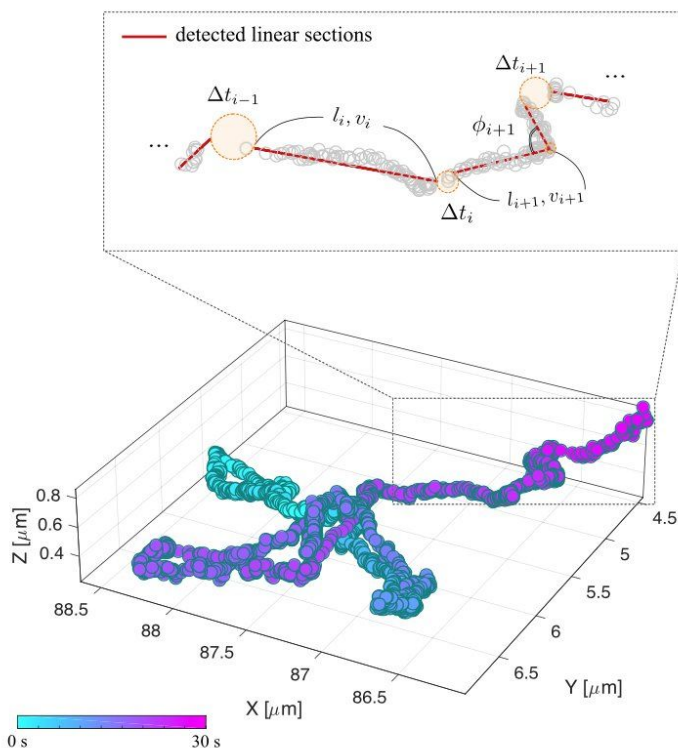


図2. 小胞と細胞骨格との相互作用が行った部分をリニア区間として抽出し、軌跡データの中  $i$  番目の「乗り換え」の物理的な特徴量を速度 ( $v_i$ )、進行距離 ( $l_i$ )、乗り換えにかかる時間 ( $t_i$ )、そして乗り換えの角度 ( $\phi_i$ ) のデータセットとして作成し、トレーニングデータセットとして用意する。(Figure is from Lee, et al., ICAIIC, 2019)

- (3) 機械学習トレーニング：上記で述べた4つの物理特性（速度、進行距離、乗り換えにかかる時間、乗り換えの角度）を特徴量データセットとして確保し、蛍光ラベリングされた小胞、微小管、アクチンフィラメントのイメージデータからそれぞれのデータセットの正しいラベルを付ける。様々な学習アルゴリズムを適用し、最も高い予測率を達成するアルゴリズムで機械学習モデルを立てる。

#### 4. 研究成果

上記述べた方法によって、小胞と2種類の細胞骨格（微小管、アクチンフィラメント）との相互作用を定義し、相互作用に伴う物理量を小胞が細胞骨格ネットワークの中を「乗り換え」する際に得られる特徴量としてデータセット化した。

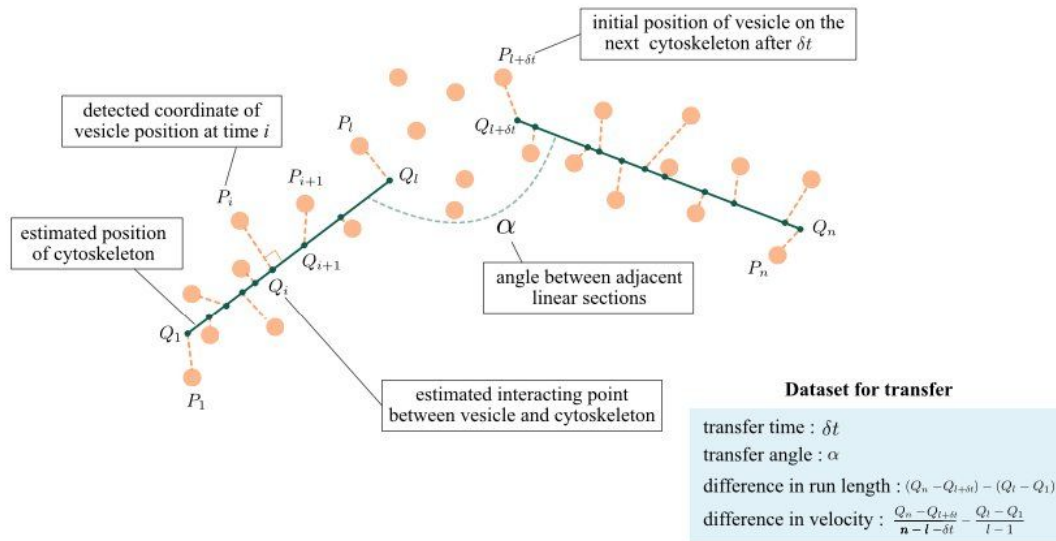


図 3。物理的な特徴量の抽出方法と機械学習のための特徴量データセットの構成 (Figure is from Lee, et al., SPIE, 2021)

その物理量データを教師あり学習のアルゴリズムに適用させ、高い予測率を見せる機械学習アルゴリズムを作成するためには、データの数が多ければ多いほど良い。教師あり学習は用意した物理量データに正解ラベリングを付けることが先行されないといけないため、小胞の「乗り換え」のラベリングは小胞・微小管・アクチンフィラメントのイメージングにより確保した。尚、小胞と細胞骨格との相互作用による「乗り換え」のクラスは4つの可能性に制限した：アクチンフィラメントからアクチンフィラメントへ、アクチンフィラメントから微小管へ、微小管からアクチンフィラメントへ、そして微小管から微小管へ。用意された4つの特徴量データセットの中では、速度と進行距離が最も関連性の高い特徴量データであることが判明され、その2つのデータセットがトレーニングデータセットとして学習に利用された。

本研究では、教師あり学習で使われる代表的なアルゴリズムである linear regression、k-nearest neighbors classifier、support vector machine などの方法を検討した結果、その中で linear kernel を適用した support vector machine アルゴリズムが最も高い正解率で小胞の乗り換えの種類を予測することが分かった。linear regression と k-nearest neighbors classifier を適用した場合は予測の正解率が70%を下回る反面、support vector machine を利用した場合は90%程度の正解率で小胞の乗り換えクラスを予測することが可能であった。

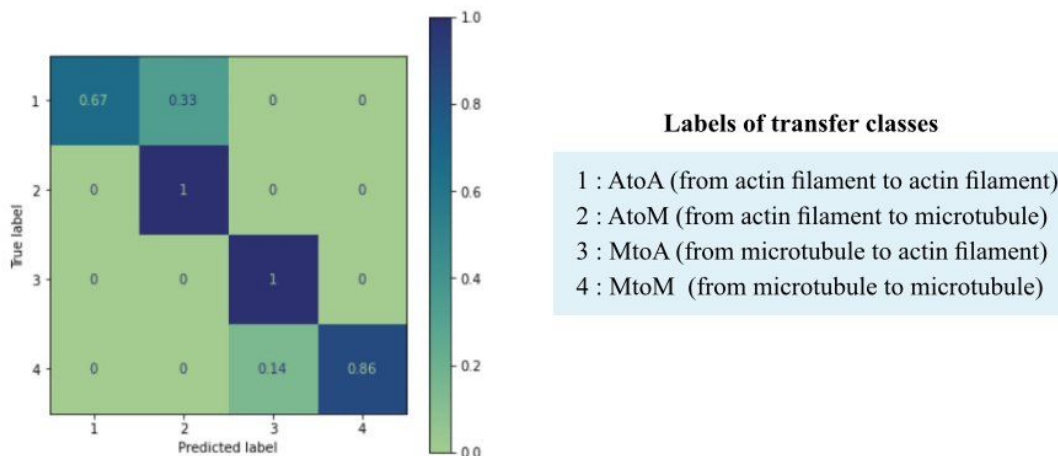


図 4。Support vector machine アルゴリズムを適用した機械学習の結果、90%程度の正解率で小胞の乗り換えの種類を予測することが可能となった。(Figure is from Lee, et al., SPIE, 2021)

特に、小胞の乗り換えのクラスの中、アクチンフィラメントから微小管、または微小管からアク

チンフィラメントの場合は、全体のデータが正しく分類された。この結果は、小胞は微小管とアクチンフィラメントそれぞれの相互作用を媒介するモータータンパク質の種類が異なるため、伝統的な生物物理の観点からも理解可能である。

本研究は、細胞内物質輸送を担当する小胞の運動を小胞と細胞骨格との相互作用の観点からデータセットを作成し、機械学習を用いて小胞が運ばれた細胞骨格の種類を分類する初めての研究である。本研究は小胞が細胞骨格ネットワークの中を乗り換えする際に観測される速度と進行距離が最も重要な物理特徴量であることを証明し、support vector machine アルゴリズムを用いた機械学習で小胞の細胞内運動パターンを約 90% の正解率で予測することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Lee Seohyun, Kim Hyuno, Higuchi Hideo	4. 巻 10
2. 論文標題 Extended Dual-Focus Microscopy for Ratiometric-Based 3D Movement Tracking	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app10186243	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lee Seohyun, Kim Hyuno, Higuchi Hideo, Ishikawa Masatoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Visualization Method for the Cell-Level Vesicle Transport Using Optical Flow and a Diverging Colormap	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s21020522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Seohyun Lee, Hyuno Kim, Masatoshi Ishikawa, Hideo Higuchi
2. 発表標題 Categorization of transfer type for endosomes in complex cytoskeletal network
3. 学会等名 64th Annual Meeting of the Biophysical Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seohyun Lee, Hyuno Kim, Hideo Higuchi, Masatoshi Ishikawa
2. 発表標題 Optical flow of vesicles: Computer vision approach for endocytosis of nanoparticles in a living cell
3. 学会等名 SPIE Photonics West BiOS 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seohyun Lee, Hyuno Kim, Hideo Higuchi, Masatoshi Ishikawa
2. 発表標題 Visualization and Data Analysis for Intracellular Transport using Computer Vision Techniques
3. 学会等名 2020 IEEE Sensors Applications Symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seohyun Lee, Hyuno Kim, Hideo Higuchi, Masatoshi Ishikawa
2. 発表標題 Estimation of Vesicle Transport near the Cellular Membrane using Image Processing
3. 学会等名 2020 OSA Imaging and Applied Optics Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seohyun Lee, Hyuno Kim, Hideo Higuchi, Masatoshi Ishikawa
2. 発表標題 A machine learning approach to transport categorization for vesicle tracking data analysis
3. 学会等名 SPIE Photonics West BiOS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------