

# 論文不正に関するデータ解析の概要

京都大学iPS細胞研究所 研究公正調査委員会

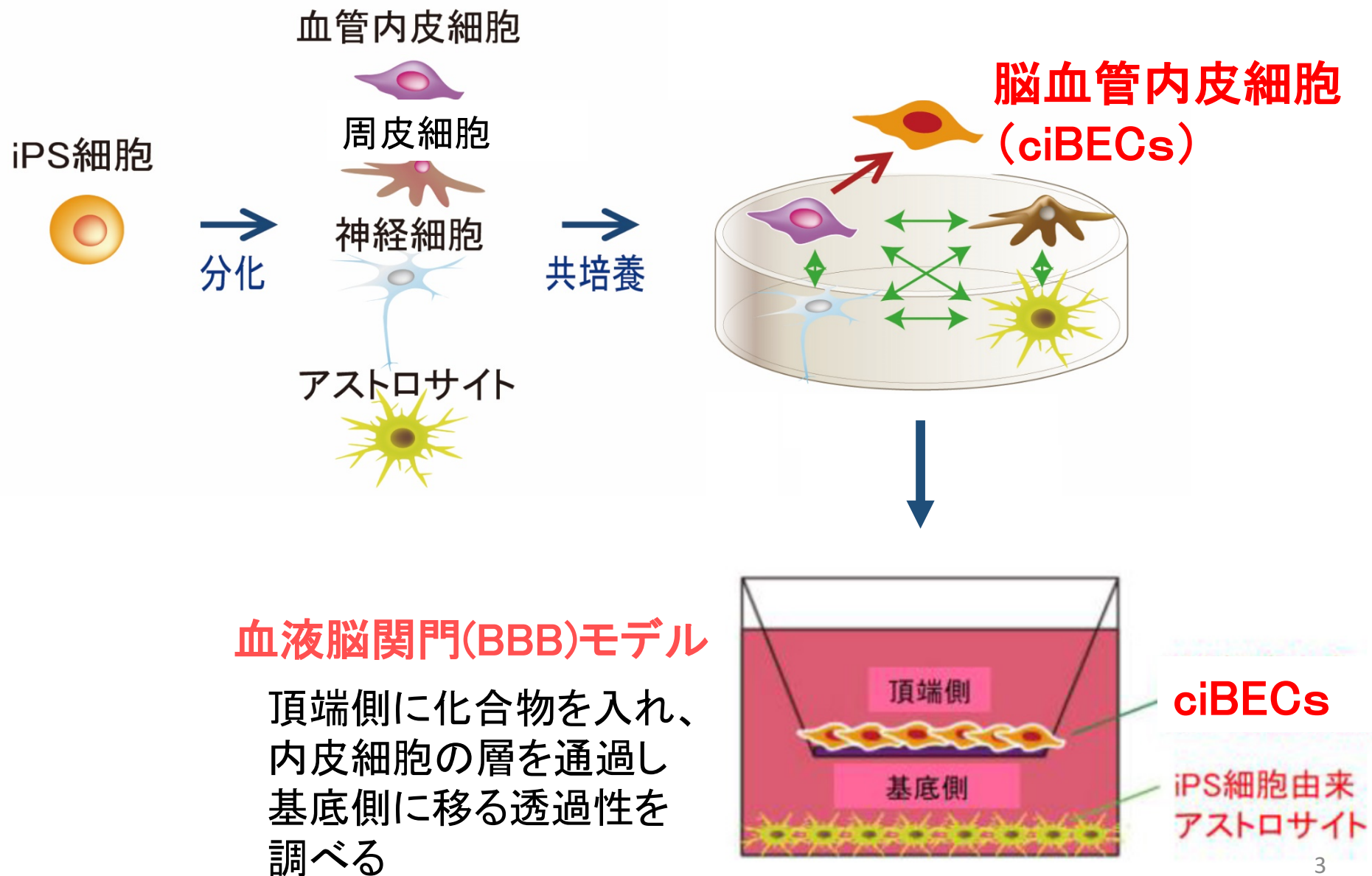
# 当該論文

**"In Vitro Modeling of Blood-Brain Barrier with Human iPS Cell-Derived Endothelial Cells, Pericytes, Neurons, and Astrocytes via Notch Signaling"**

「Notchシグナルを介したヒトiPS細胞由来血管内皮細胞、周皮細胞、神経細胞、アストロサイトによる血液脳関門モデルの作製」

Stem Cell Reports. 2017 Mar 14; 8(3):634-647

# 当該論文概要



# 認定した不正

論文を構成する

主要なFigure (図) 6個すべて、  
Supplementary Figure (補足図) 6個中5個  
に捏造や改ざんが認められた。

# 論文図の構成 (例: Figure 4)

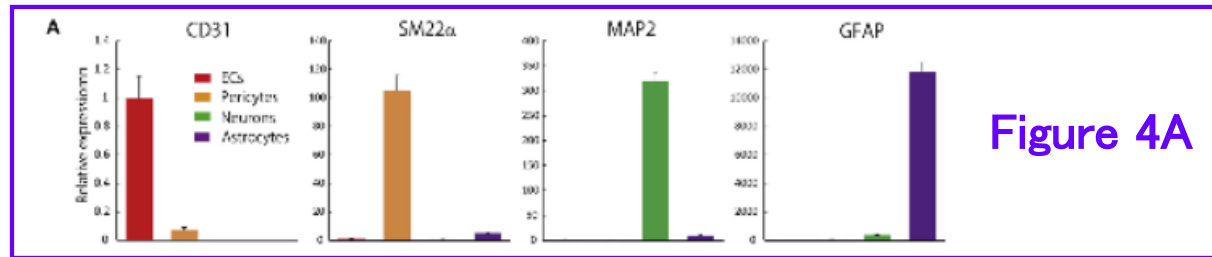


Figure 4A

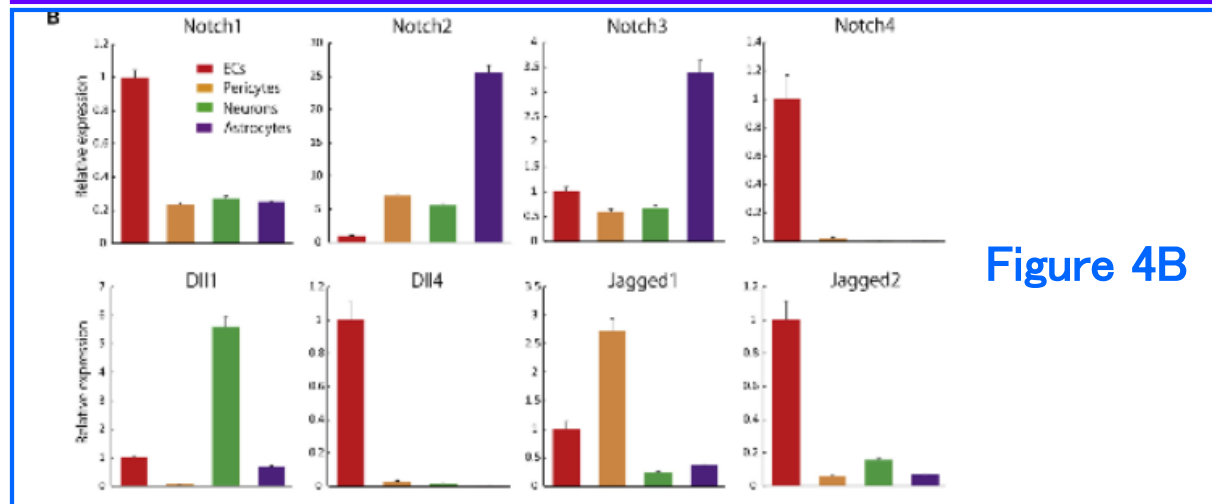


Figure 4B

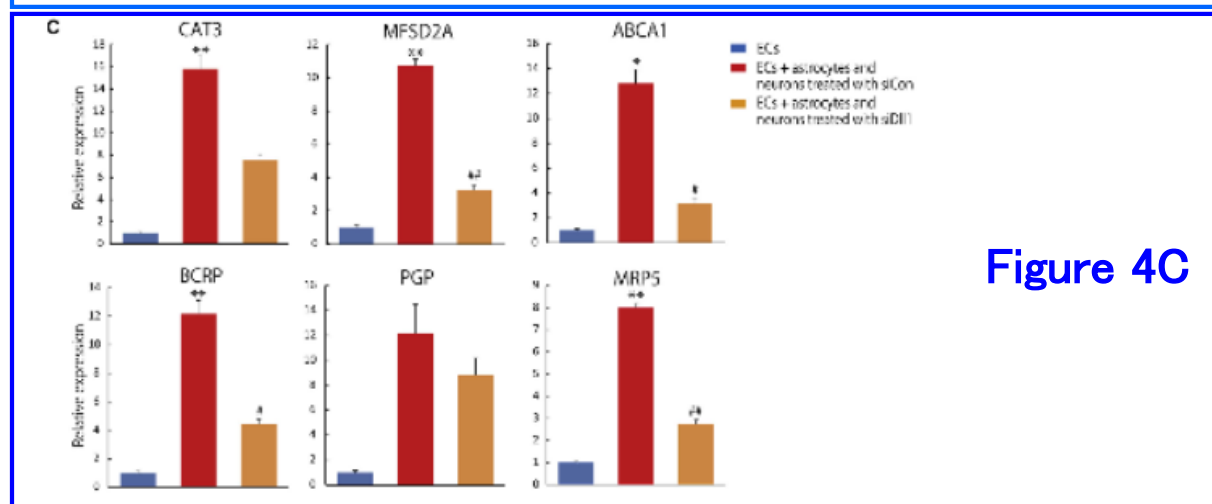


Figure 4C

3つのパネル(A, B, C) が  
1個の図(Figure 4) を  
構成している。

Figure 4. DLL1 in Neurons Activates Notch Signaling to Generate cBECs  
(A) qPCR for the mRNA expressions of *CD31*, *SM22α*, *MAP2*, and *GFAP* in purified ECs, pericytes, neurons, and astrocytes by FACS (n = 3 independent experiments). mRNA expression on ECs was set as 1.0.

# 不正認定箇所

Figure 1N: 捏造、改ざん

Figure 2D: 捏造、改ざん

Figure 3A: 捏造、改ざん

Figure 4A: 改ざん

Figure 4C: 改ざん

Figure 5E: 捏造、改ざん

Figure 6A: 捏造

Figure 6C: 捏造、改ざん

Supplementary Figure 2 : 捏造、改ざん

Supplementary Figure 3A: 捏造

Supplementary Figure 3B: 捏造

Supplementary Figure 4A: 改ざん

Supplementary Figure 5D: 改ざん

Supplementary Figure 6A: 捏造、改ざん

Supplementary Figure 6B: 捏造、改ざん

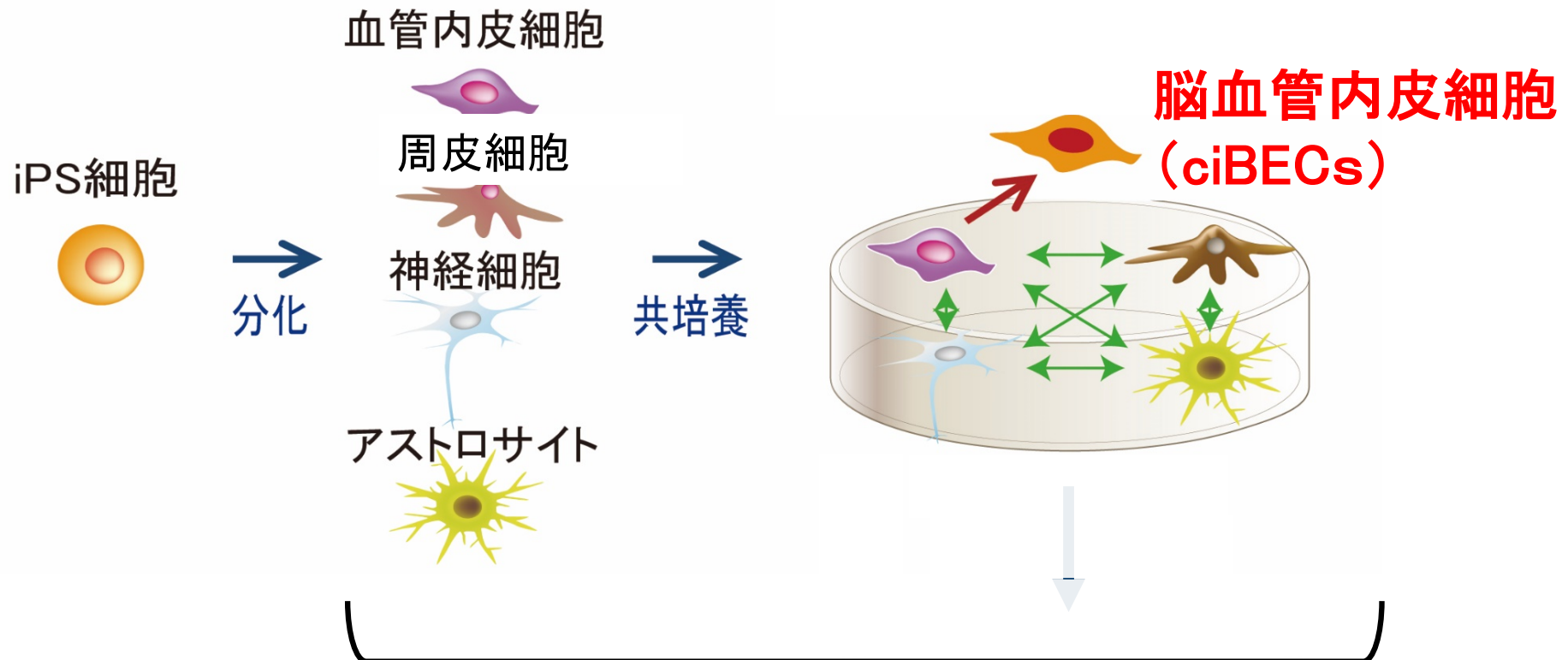
Supplementary Figure 6C: 捏造

Supplementary Figure 6D: 捏造、改ざん

遺伝子発現解析  
(調査結果①)

薬物透過性試験  
(調査結果②)

# 調査結果① — 遺伝子発現解析

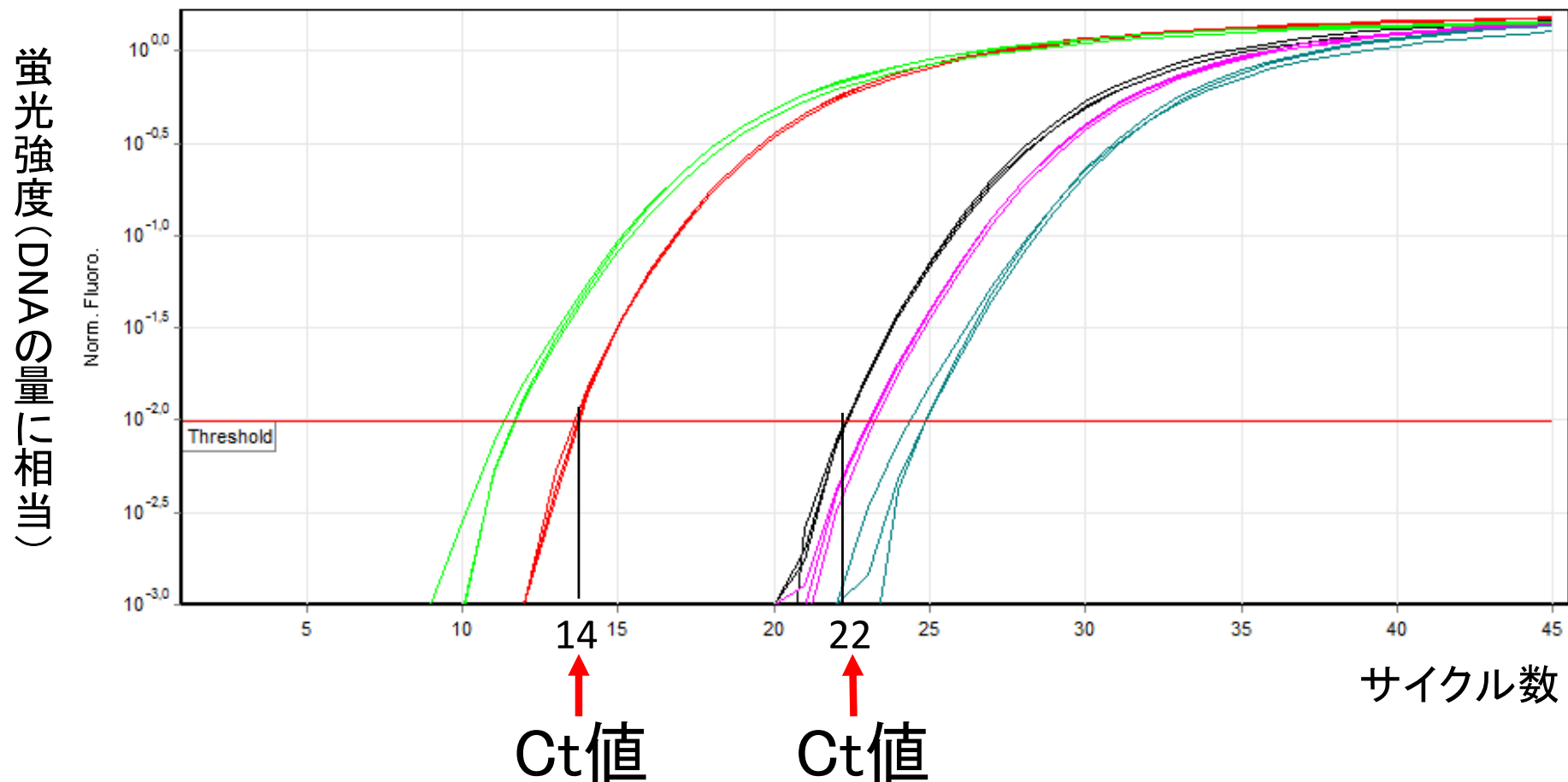


## ① 遺伝子発現解析

細胞に特異的な遺伝子の発現を調べ、  
目的の細胞を作製できたか確認する。

# 遺伝子発現量の解析法 — qPCR

qPCR (定量PCR: quantitative polymerase chain reaction)



Ct値はDNAの量を計算するための値。

# 調査方法

測定機器内のデータ  
(生データ・解析結果)

機器から取り出した  
解析結果

解析結果からグラフを  
作成したデータ

.eds ファイル  
(0次データ)



.xls ファイル  
(1次データ, Ct値)



.xls ファイル  
(2次データ, グラフ作成)

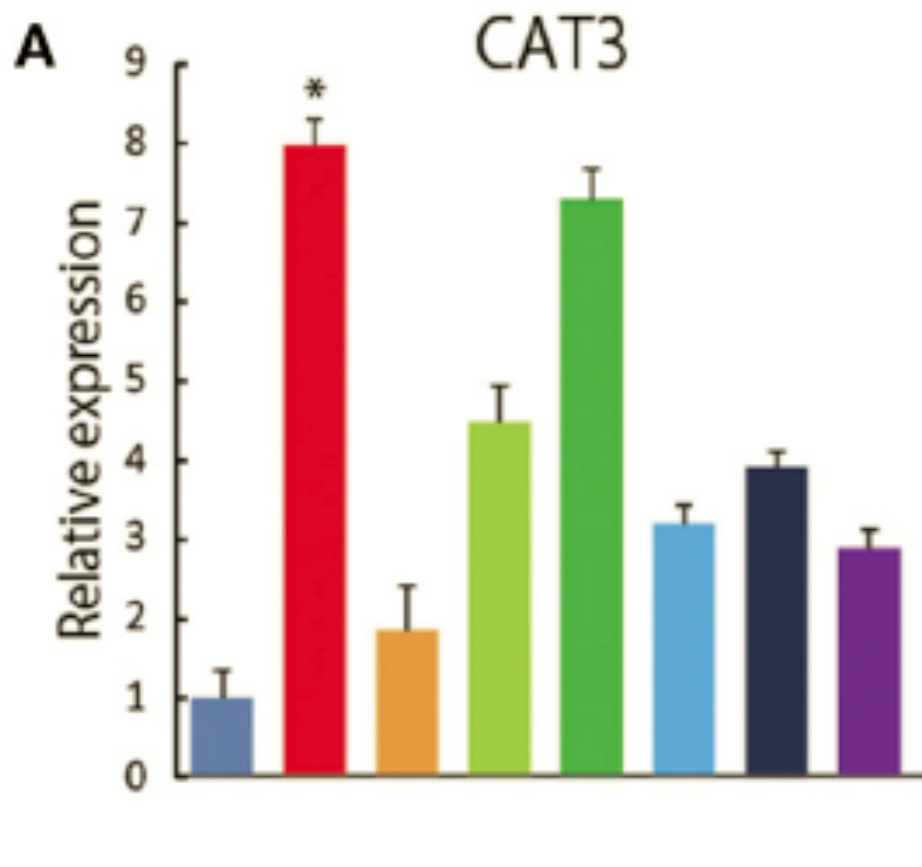


qPCRを行う機械(参考)

Ct値が一致するか  
グラフが適切に作成されているか

# 調査結果 (Figure 3A)

## 論文掲載グラフ



グラフ縦軸の数値  
= rRNA(18S rRNA)値で補正した  
CAT3遺伝子の発現量

\* rRNA(18S rRNA)値は、細胞に一定量  
ある遺伝子の発現量

CAT3は、脳血管内皮細胞において高く発現している遺伝子。

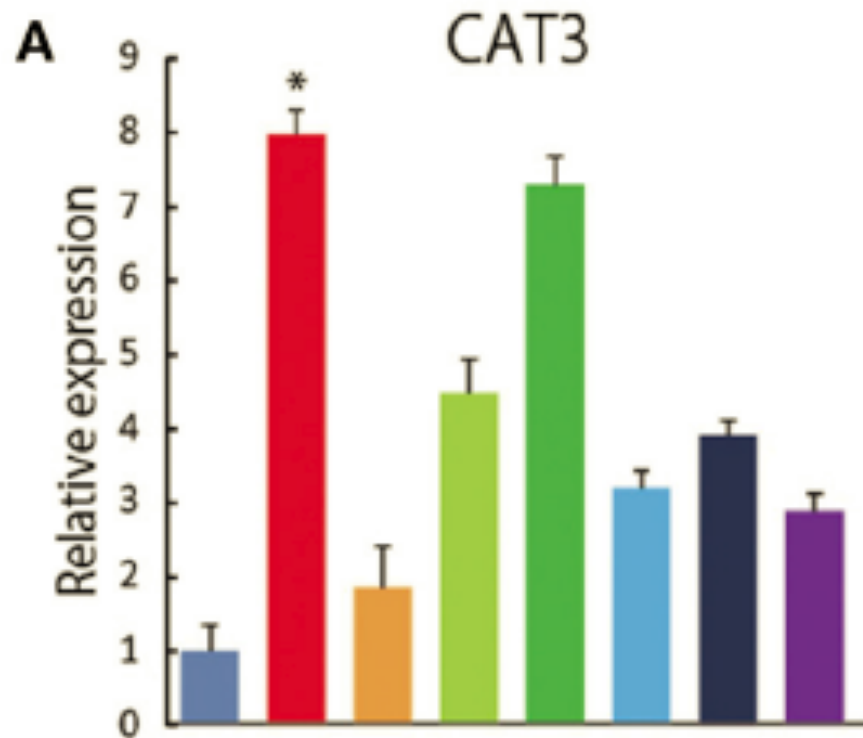
# 調査結果 (Figure 3A) — 解析データ(一部)

| サンプル名  | 1次データ (Ct値) |          | 2次データ (Ct値) |          | 2次データと1次データの差 |          |
|--------|-------------|----------|-------------|----------|---------------|----------|
|        | CAT3        | 18S rRNA | CAT3        | 18S rRNA | CAT3          | 18S rRNA |
| ECs    | 32.71100    | 14.29493 | 32.71100    | 11.29493 | 0.00000       | 3.00000  |
|        | 32.43420    | 14.19803 | 32.43420    | 11.19803 | 0.00000       | 3.00000  |
|        | 32.91655    | 14.11976 | 32.91655    | 11.11976 | 0.00000       | 3.00000  |
| ciBECs | 33.26499    | 11.88275 | 30.26499    | 11.88275 | 3.00000       | 0.00000  |
|        | 33.23380    | 11.93708 | 30.23380    | 11.93708 | 3.00000       | 0.00000  |
|        | 32.95747    | 11.89851 | 30.95747    | 11.89851 | 2.00000       | 0.00000  |

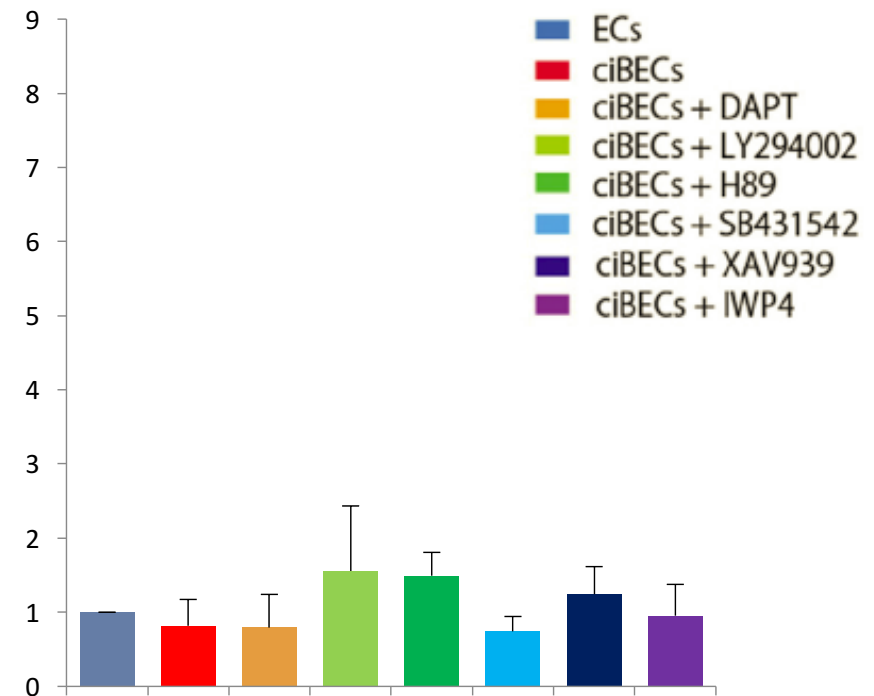
本来同じであるはずの、1次データと2次データのCt値が変化している

# 調査結果 (Figure 3A) — 再解析結果

## 論文掲載グラフ



## 1次データから再解析したグラフ

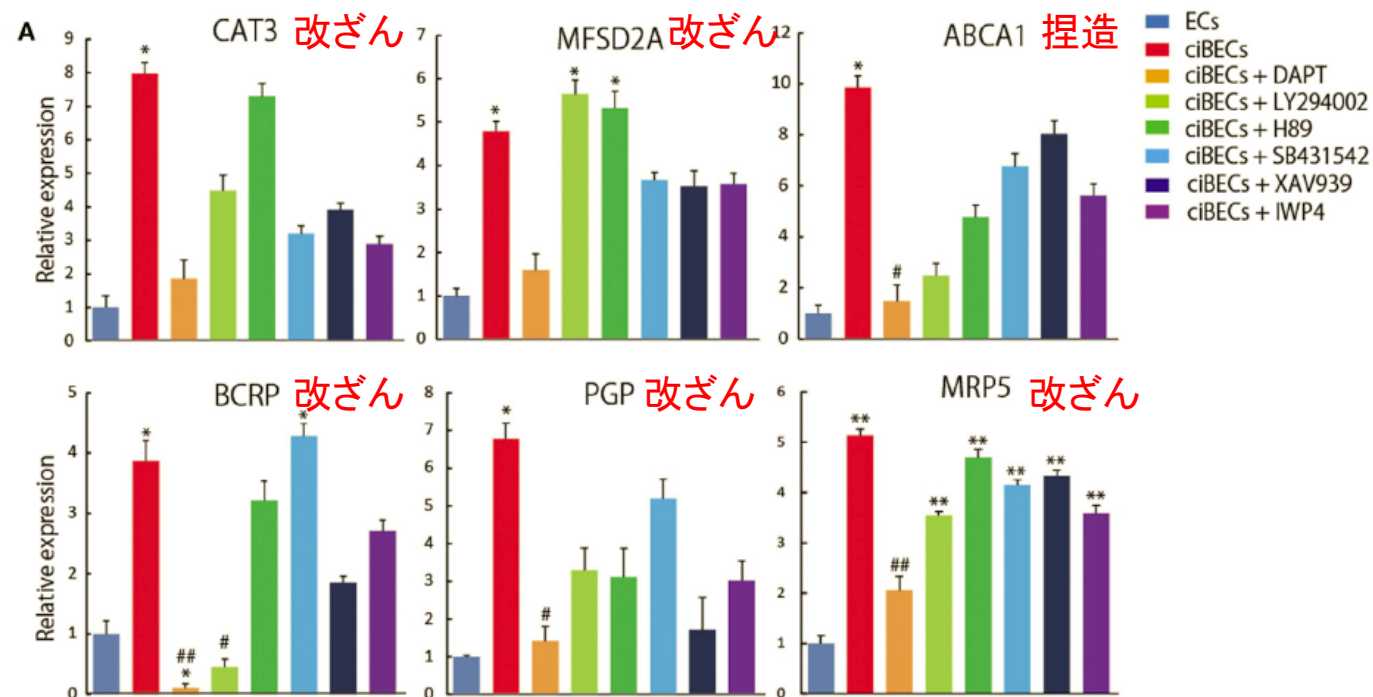


論文では、iPS細胞由来の脳血管内皮細胞 (ciBECs) で、CAT3 遺伝子の発現が有意に高いことが示された (左)。

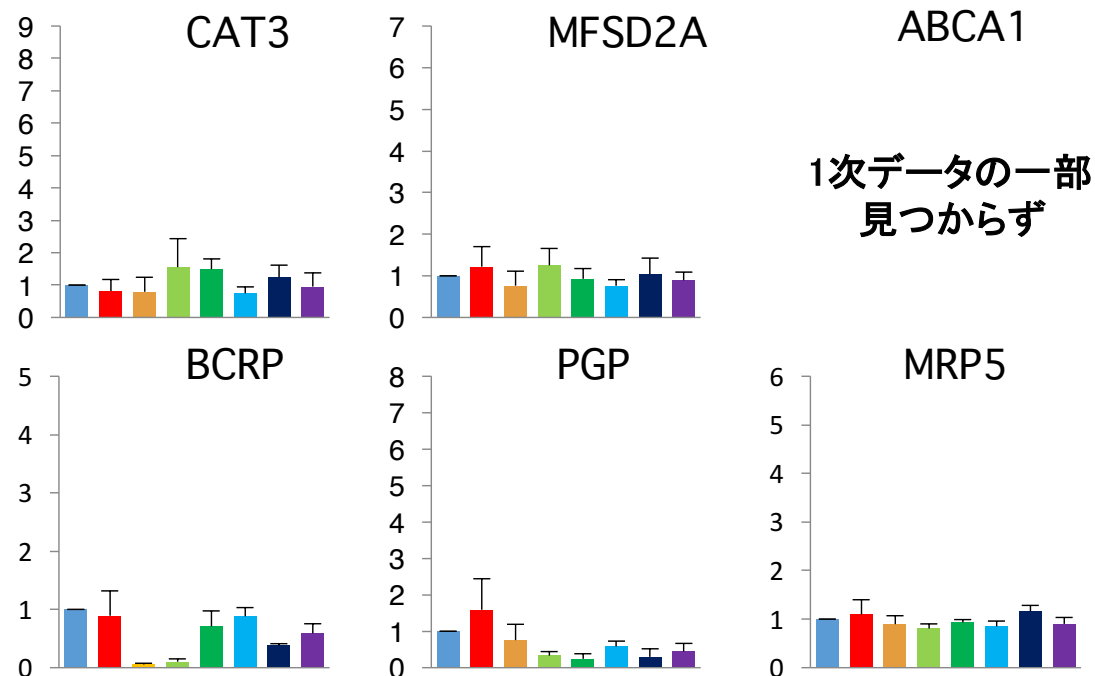
1次データ再解析では、その結果は認められなかった (右)。

# (Figure 3A)

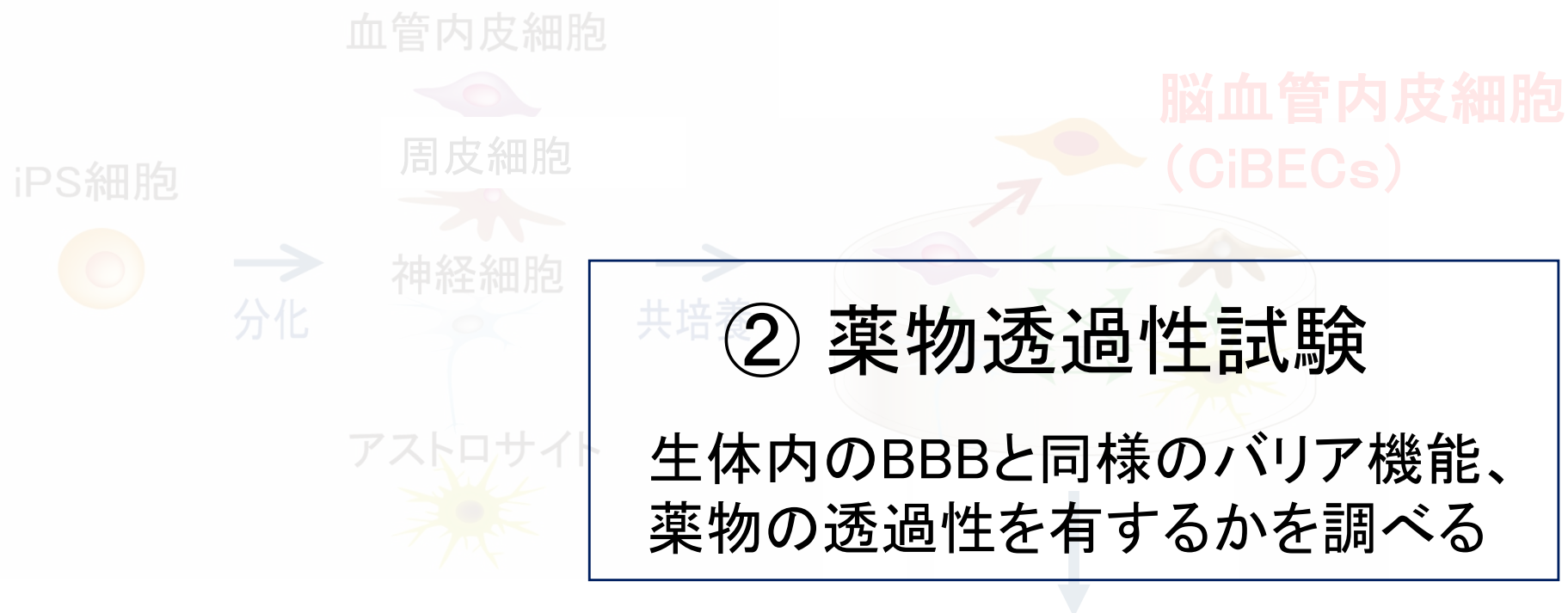
## 論文掲載グラフ



## 1次データから 再解析したグラフ

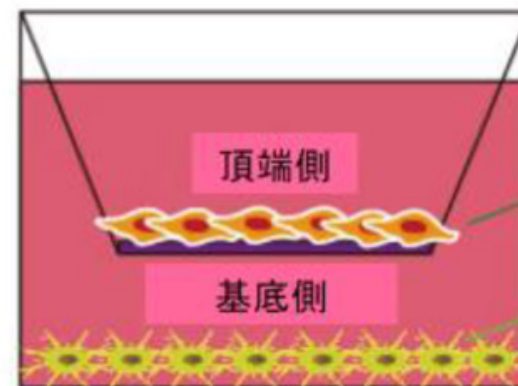


# 調査結果② — 薬物透過性試験



## 血液脳関門(BBB)モデル

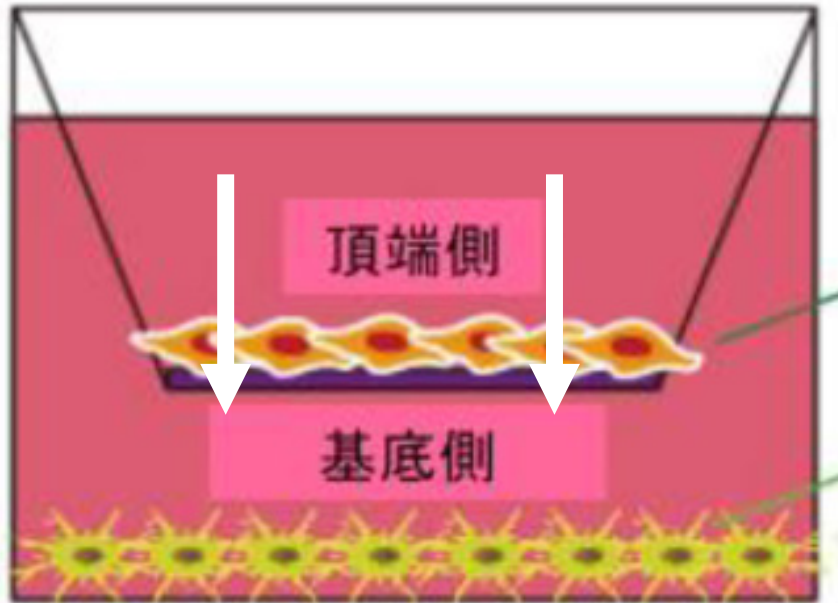
頂端側に化合物を入れ、  
内皮細胞の層を通過し  
基底側に移る透過性を  
調べる



iPS細胞由来  
脳血管内皮細胞  
(ciBECs)

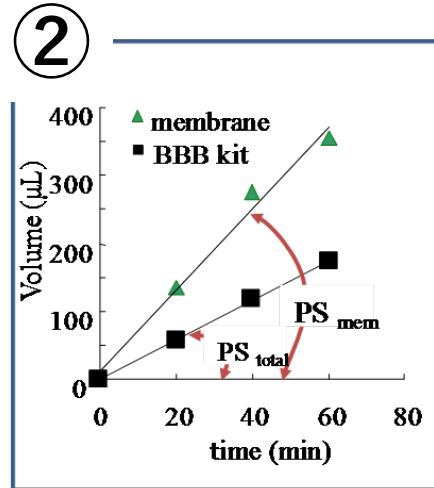
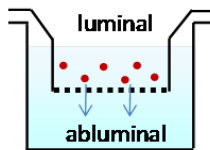
iPS細胞由来  
アストロサイト

# 薬物透過性試験



① 
$$\text{Volume } (\mu\text{L}) = \frac{[C]_A \times V_A}{[C]_L}$$

[C]<sub>A</sub> – abluminal tracer concentration  
V<sub>A</sub> – volume of abluminal chamber  
[C]<sub>L</sub> – initial luminal tracer concentration



計算式およびグラフはファーマコセル株式会社の資料より引用しました。  
(ただし、ファーマコセル株式会社は本論文不正と一切関係ありません。)

③ 
$$\frac{1}{PS_e} = \frac{1}{PS_{total}} - \frac{1}{PS_{mem}}$$

PS<sub>total</sub> – slope of the clearance curve for BBB kit  
PS<sub>membrane</sub> – slope of the clearance curve for cell-free filter  
PS dimension:  $\mu\text{L}/\text{min} = 10^{-9} \text{ m}^3/\text{min}$

④ 
$$P_e (\text{cm}/\text{min}) = \frac{PS_e (\mu\text{L}/\text{min})}{A (\text{cm}^2)}$$

A – 12  $\text{cm}^2$

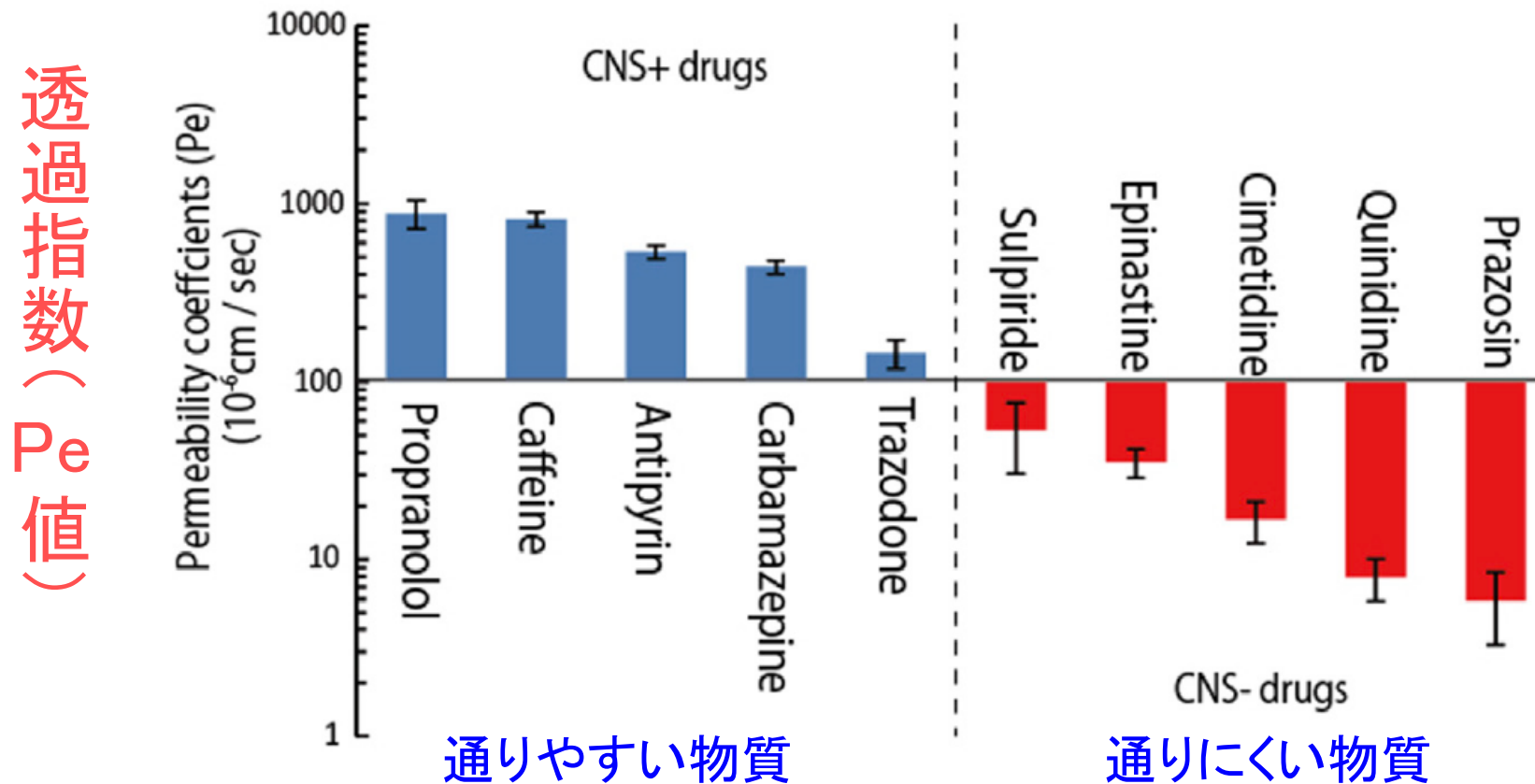
**透過指数 (Pe値)**  $\text{m}^2$

$Pe = PS_e (\mu\text{L}/\text{min}) / A (\text{cm}^2) = 10^{-9} \text{ m}^3/\text{min} / 10^{-4} \text{ m}^2$   
 $= 10^{-5} \text{ m}/\text{min}$   
 $= 10^{-3} \text{ cm}/\text{min}$   
 $= Pe / 60 = \text{cm}/\text{s}$

頂端側から基底側(生体内では血管側から脳側に相当)への物質の通りやすさを示す透過指数(Pe値)を計算する。

# 調査結果 (Fig. 6C)

## 論文掲載グラフ



生体内のBBBを通りやすい物質 (CNS+drugs) と通りにくい物質 (CNS-drugs) の、BBBモデルでの透過指数 (Pe値) を示している。

# 調査結果 (Figure 6C) — 解析データ(一部)

|       |                        |                       |                        |                        |
|-------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|       | Standard Curve         |                       | $y = 5E+07x - 2037$    |                        |
| 0.001 | 41102                  | 102754.7523           |                        |                        |
| 0.01  | 161377                 | 403441.7789           |                        |                        |
| 0.1   | 1878076                | 4695190.132           |                        |                        |
|       | Samples                |                       |                        |                        |
|       | C                      | 1B                    | 2B                     | 3B                     |
| 10    | 68188                  | 23488                 | 3459                   | 33031                  |
| 20    | 438550                 | 75603                 | 87556                  | 129696                 |
| 30    | 969477                 | 315737                | 246857                 | 500384                 |
| 40    | 1595103                | 779652                | 767698                 | 994902                 |
|       |                        |                       |                        |                        |
|       | 0.01                   | 0.01                  | 0.00                   | 0.01                   |
|       | 0.09                   | 0.02                  | 0.02                   | 0.03                   |
|       | 0.19                   | 0.06                  | 0.05                   | 0.10                   |
|       | 0.32                   | 0.16                  | 0.15                   | 0.20                   |
| Slope | $y = 0.0102x - 0.1016$ | $y = 0.005x - 0.0653$ | $y = 0.0049x - 0.0669$ | $y = 0.0065x - 0.0795$ |
| 1/PS  | 980.3921569            | 2000                  | 2040.816327            | 1538.461538            |
| Pe    |                        | 1019.607843           | 1060.42417             | 558.0693816            |
|       |                        |                       |                        |                        |
|       |                        |                       | 1019.607843            |                        |
|       |                        |                       | 1060.42417             |                        |
|       |                        |                       | 558.0693816            |                        |

# 調査結果 (Figure 6C) — 解析データ(一部)

|                |                     |
|----------------|---------------------|
| Standard Curve | $y = 5E+07x - 2037$ |
|----------------|---------------------|

計算式はファーマコセル株式会社の資料より引用しました。  
(ただし、ファーマコセル株式会社は本論文不正と一切関係ありません。)

$$\textcircled{3} \quad \frac{1}{PS_e} = \frac{1}{PS_{total}} - \frac{1}{PS_{mem}}$$

$PS_{total}$  — slope of the clearance curve for BBB kit

$PS_{membrane}$  — slope of the clearance curve for cell-free filter

PS dimension:  $\mu\text{l}/\text{min} = 10^{-9} \text{ m}^3/\text{min}$

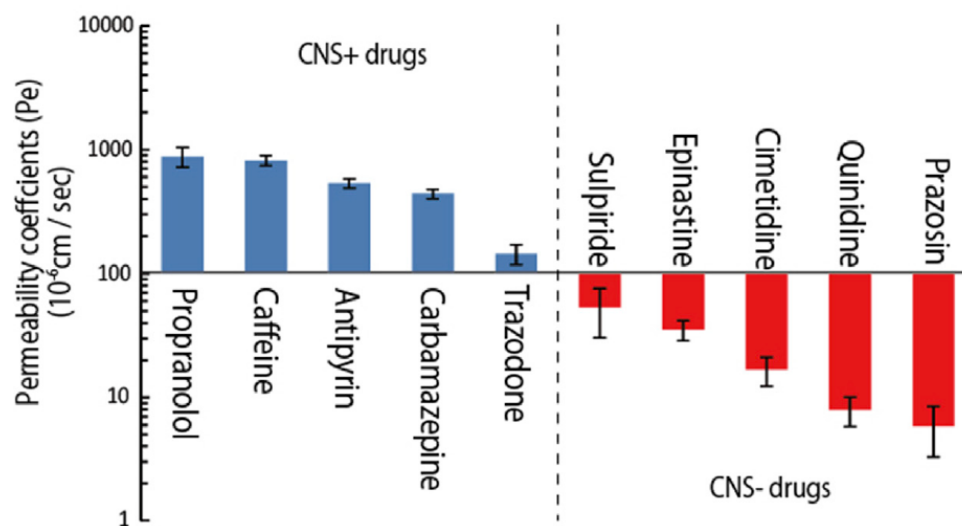
透過指数 (Pe値) を求める計算途中の  $1/PS_e$  値を、Pe 値としてグラフを作成している。

|       |                          |                       |                        |                        |
|-------|--------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Slope | $y = 0.0102x - 0.1016$   | $y = 0.005x - 0.0653$ | $y = 0.0049x - 0.0669$ | $y = 0.0065x - 0.0795$ |
| 1/PS  | $1/PS_{mem}$ 980.3921569 | $1/PS_{total}$ 2000   | 2040.816327            | 1538.461538            |
| Pe    |                          | $1/PS_e$ 1019.607843  | 1060.42417             | 558.0693816            |

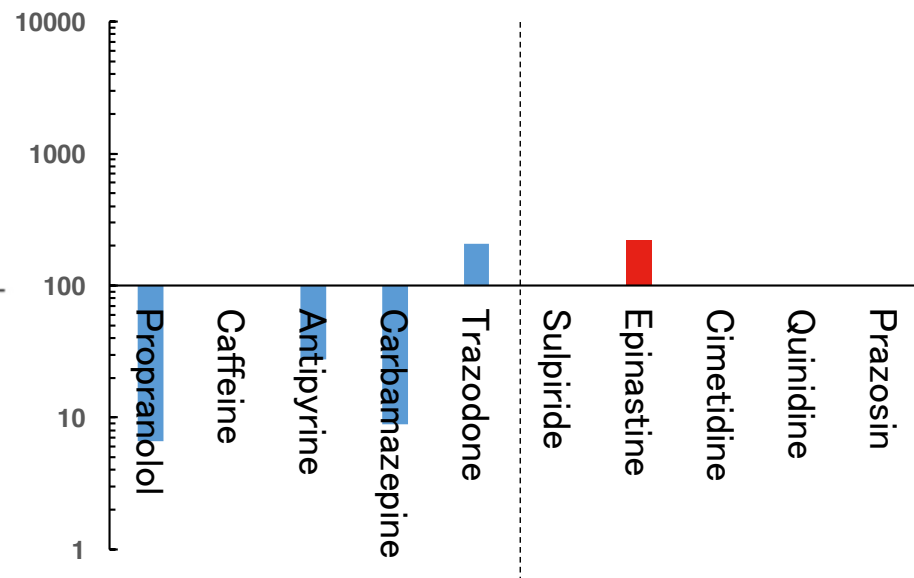
さらに、その誤った計算の中でも、論旨に有利なように数値を改ざんしている (例: 0.0102ではなく0.00102として計算している)。

# 調査結果 (Figure 6C) — 再解析結果

論文掲載グラフ



1次データから再解析したグラフ



表示されていないものは算出不能

1次データから再解析した結果、論文に掲載されたような透過指数 (Pe値) の傾向は再現できなかった。

# これまでのCiRAにおける 研究不正防止に向けた取り組み

## 1. 実験ノートの管理

3ヶ月に1度、実験ノートの定期的な検認を行ってきた。

## 2. 論文データの管理

論文発表の場合、論文の最終稿・数値データ・画像等の研究データの提出をルール化している。

## 3. 相談室の設置

# CiRAの再発防止策

## 1. 実験ノート管理の強化

- 各研究室の実験ノート提出率を100%にするために必要な措置を講じる。
- 知財グループが実験ノートを確認後、主任研究者(PI)が複層的に確認し、指導する。

## 2. 論文データの管理の強化

- データの形式を指定し、論文の図表の信憑性を裏付けるに足りるデータの提出を求める。
- 知財グループが、上記のデータが全て揃っていることを確認する。

## 3. 研究公正教育の徹底

- 実験ノートの書き方やデータ保管方法について、改めてPIを含め全研究者に指導を行う。
- 不正行為に対する倫理観を共有し意識を高めるべく、全研究者と指導する立場の者への指導・教育を徹底する。