

未来社会創造事業 探索加速型
「共通基盤」領域
終了報告書(探索研究)

令和2年度 終了報告書

平成 30 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：吉野 知子]

[国立大学法人 東京農工大学 大学院工学研究院生命機能科学部門・教授]

[研究開発課題名：力学特性を指標とした細胞プロファイリングの基盤技術創
出]

実施期間：平成 30 年 11 月 15 日～令和 3 年 3 月 31 日

§ 1. 研究実施体制

(1)「農工大」グループ(東京農工大学)

1. 研究開発代表者: 吉野 知子 (東京農工大学大学院工学研究院生命機能科学部門、教授)
2. 研究項目
 - ・高精度 Microcavity array (MCA)の開発
 - ・細胞のイメージング解析による力学特性計測法の確立
 - ・力学特性情報及び遺伝子発現情報の統合解析によるがん細胞判別の原理検証

(2)「駒込病院」グループ(都立駒込病院)

1. 主たる共同研究者: 下山 達 (がん・感染症センター都立駒込病院腫瘍内科、医長)
2. 研究項目
 - ・がん患者血液を用いた実証試験

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、細胞捕捉フィルターMicrocavity array (MCA)にて捕捉した血中循環腫瘍細胞(Circulating tumor cell: CTC)の力学的特性情報を用いたリキッドバイオプシー技術基盤を確立することを目的としている。具体的には、3D イメージング等で取得した細胞の力学特性情報と遺伝子発現情報を単一細胞レベルで結びつけた統合データセットを構築し、統合的解析による CTC のプロファイリング技術を確立することを計画している。探索研究期間では上記目的の達成に向け、力学特性解析の基盤技術の確立、及びそれを用いた細胞プロファイリングの概念実証を行うことを目的として研究開発を進めた。高精度な MCA の開発として、多段階フィルトレーションによる CTC の濃縮方法を検討するとともに、3D イメージングに適した MCA の材質、孔間隔、孔数を決定し、MCA 内蔵型デバイスを試作した。力学特性情報の 1 つである細胞の変形能計測においては、微細貫通孔部位をイメージング計測することで細胞サイズ非依存的な変形能計測法を確立した。10 万の孔をもつ MCA 上に悪性度の異なる上皮系および間葉系細胞を捕捉し、変形能計測の実証試験を行った結果、単一細胞レベルでの変形能の差異を数値化することが可能であった。また悪性度の高いがん細胞株においては、変形能の増大が確認された。さらに、3D 画像取得のハイスループット化に向けて、ニポウディスク方式によるイメージングと MCA を組み合わせた細胞アレイ解析を行った。その結果、MCA 全面の 3D イメージング時間の大幅な短縮が可能となり、ハイスループット化が達成された。さらに、単一細胞の 3D イメージング画像の取得後、単一細胞の分離、全トランスクリプトーム増幅、及び遺伝子発現解析までのパイプラインを構築し、同一細胞における力学特性情報と遺伝子発現情報の取得が可能となった。また、がん患者血液を用いた実証試験においては、複数のがん種を対象とした臨床試験を実施し、CTC のオミックス情報の取得により CTC の細胞特性に関する基礎的な知見の蓄積を行った。トランスクリプトーム解析の結果から、力学特性に影響を及ぼす上皮間葉転換に関連した経路の特定を含め、力学特性情報との統合解析の原理検証を実施し、その有効性を示すことができた。

主な発表論文

R. Negishi et al. "Gel-based Cell Manipulation Method for Isolation and Genotyping of Single-adherent Cells" *Analyst* (2018)

R. Negishi et al. "Performance Evaluation of a High - Throughput Separation System for Circulating Tumor Cells Based on Microcavity Array" *Eng. Life Sci* (2020)