

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 渋 田 真 結

論 文 題 目

がん創薬に向けた三次元培養細胞モデル  
の画像情報解析法の開発

論 文 審 査 担 当 者

主 査	名古屋大学准教授	加 藤	竜 司
委 員	名古屋大学教授	饗 場	浩 文
委 員	名古屋大学教授	大 嶋	篤 典
委 員	名古屋大学助教	蟹 江	慧

## 論文審査の結果の要旨

渋田真結さんの提出論文「がん創薬に向けた三次元培養細胞モデルの画像情報解析法の開発」は、近年がん細胞の本質的な機能理解に向けて発展しつつある三次元培養方法下における画像情報を活用した評価・解析技術を研究した成果である。

創薬研究において、がん治療は常に最も注力される研究対象である。しかしながら、がん研究におけるがんのメカニズムおよび、がん治療のための画期的な新薬の開発数は低下の一途を辿っている。この原因の一つに、がんが極めて複合的な要因による疾患であるがゆえに大きな多様性を有しており、*In vitro*での研究が生体内のがんの性質を理解するには限定的な環境でしかないことが挙げられる。このため、通常2次元的に培養される細胞を、3次元的な「塊（スフェロイド）」として培養することにより、そのがんとしての機能性が生体機能に近づき、がんの薬剤耐性メカニズムや発症メカニズムをより深く理解できるということが期待されている。しかしながら、3次元的に培養したがん（がんスフェロイド）を理解するための評価技術は、極めて限定的である。がんの多様性を理解しようとするときには、マーカーなどの有名かつ限定された分子に注目するだけでは、がんの応答性やメカニズムを理解するための情報が少ないことが知られる。また、詳細なメカニズムを理解するために様々な染色や分析を行おうとすると、破壊的な試験となってしまう経時的な細胞変化を追うことができなくなってしまう。このようながんスフェロイドを理解するためのジレンマを解消すべく、本研究では画像解析に基づく「形態的」「画像情動的」ながんスフェロイドの定量評価および詳細理解の可能性について工学的なアプローチで技術開発が研究されている。

第一章は、序章としてスフェロイドを用いた創薬における問題点、技術的課題について過去の知見を紹介するとともに、がんスフェロイドの評価技術の課題や現状について議論している。

第二章では、がんスフェロイドの1つのタイプである「足場材料を用いないスフェロイド」が創薬スクリーニングで多用されることを受け、これを対象とした画像解析の可能性について検証している。具体的には、悪性度の異なるマウス由来乳がん細胞 Jyg-MC(A)と Jyg-MC(B)、およびヒト乳がん細胞 MCF-7とヒト線維芽細胞 NHDF、不均一な細胞集団 4T1を親株として単離された11種類のサブクローン株を用いて、足場材料を用いないスフェロイドには画像解析により検出可能な形態の違いがあるか検証した。このように腫瘍内に含まれるがん種想定し、多様な細胞種を使用することで、形態により判別できるスフェロイドの性質についても検証している。

第三章では、より複雑ながんスフェロイドのタイプとして「足場材料を用いたがんスフェロイド」について、画像解析を用いた評価の有用性について検証している。足場材料を用いた三次元培養では、播種された細胞のゲル内での空間的配置や他の細胞との距離関係などにより様々なスフェロイドが構築されるため、画像解析を適応するためには物理的な障壁や画像評価のノイズの原因となるゲル培養からどのように安定

に画像を取得するか、どのように評価したあとのスフェロイドを分離・評価するかまで、画像解析に留まらない基盤培養技術の構築からこれを評価するための解析システムの開発までを研究している。特に本研究では、画像解析と光分解性ゲルを用いたクローニング技術を組み合わせた新しいスフェロイド評価法を開発し、すべての操作を全自動で実行可能な「がん細胞自動選別回収装置(Image cell picker)」の開発へとつなぎ、がんスフェロイドの画像解析というコンセプトを実装した総合的な解析システム開発という実用的な実証研究に取り組んでいる。

第四章では、もっとも複雑かつ培養の難しいとされるがんスフェロイドの1タイプである「がんオルガノイド」の画像解析の可能性について検証している。がんオルガノイドは生体腫瘍から採取した細胞を用いて構築される「より生体に近いスフェロイド」であるが、その培養状態が組織に近いことから、培養中のスフェロイドには複数の細胞が混在する可能性があり、各スフェロイドのサイズや位置の制御なども難しい。しかし、患者組織に最も近いスフェロイドであるために、これを解析できる技術を構築することは患者の診断等にも応用発展できる可能性を有している。本研究ではオルガノイドの性質を評価するためのモデル解析事例として、遺伝子改変マウスから取得したがんオルガノイドの画像解析を実施し、その解析能および解析の課題について検証している。

第五章ではこれらの結果をまとめ、スフェロイド評価系としての画像解析の有用性と課題について議論するとともに、今後の画像解析を用いたがんスフェロイド解析の可能性と展望について論じている。

本論文は、創薬研究において今後新しい医薬品創出に大きく寄与すると考えられるがんスフェロイド評価のため、非破壊的な画像評価が「新しいマーカー」としていかにスフェロイドの性質や応答性を理解するための定量情報として有用かを丁寧に検証かつ証明している。特に、各種スフェロイドのタイプに応じて、様々な培養方法の確立という初期段階から、画像撮影、データ処理、そして、最終的には装置開発に至るような総合的な研究の組み立てと実行を行った研究力および、研究により解明した工学的な技術範囲は広く実用的であり、多分野融合研究を見事に完遂した研究成果であると評価できた。よって、本論文の提出者である渋谷真結さんは、博士（創薬科学）の学位を受けるのに十分な資格があると判断した。