

主論文の要約

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

氏名

渋田 真結

近年、がん腫瘍は多様な細胞種から構成されるヘテロな細胞集団であることが報告され、そのヘテロ性のがん治療における薬剤耐性、転移、再発の一因である可能性が報告されている。近年のがん治療ではこのヘテロ性を加味し、患者ひとりひとりに合わせた治療法を提供する個別化医療が着目されている。特に分子標的薬など特定のターゲットにのみ作用する抗がん剤を用いた治療においては、ターゲットとなるタンパク質に関する遺伝子発現の有無が薬効に大きく寄与する。一方で特定の遺伝子発現の情報だけで正確に薬効を予測することは難しい。これは、がん腫瘍内の細胞について未知な機能性が多く存在し、特定の遺伝子発現だけではこれらの関係性を診断できていないからであると考えられる。そのため、創薬探索やがん研究等の分野において、組織や腫瘍を形成する細胞集団のヘテロ性の理解や制御が重要であることが示されつつある。

しかし、タンパク質マーカー等を用いた分類技術だけでは腫瘍を構成する細胞ヘテロ性の全貌を把握することは難しく、レーザーマイクロダイセクション技術等を用いて病理組織などの組織学的な評価によりがん組織の複雑性を確認することはできても、多くの場合で評価サンプルは組織切片などの死んだ組織由来であるため、腫瘍細胞の薬剤応答性や転移性、代謝など細胞の活性などを詳細に追試験することはできなかつた。そのため、がん腫瘍内のヘテロ性を生きたまま *in vitro* で再現する手法が求められている。

がん腫瘍内を再現するモデルとして、近年では三次元培養法が着目されている。三次元培養法は細胞外基質を足場材料として細胞を組織化させるゲル培養法や、浮遊培養による自己組織化を促す培養法などがある。このような三次元培養では、一般的な培養法である二次元培養と比較して、実際の組織を模倣した機能を発揮することが知られ、組織由来のがん細胞を 3 次元培養することによって、スフェロイドやオルガノイドとして生体内の立体組織構造や機能性を再現し、がんの特性を維持しながら *in vitro* で薬効評価試験などを行うことの有効性が見出されつつある。しかし、多様な三次元培養法に対し、を高いスループット性を維持しながら非侵襲的に培養中の細胞塊の質や機能性を評価・判別することは難しかった。

以上の背景から、本論文ではがん創薬における三次元培養細胞モデルの応用およびヘテロ性解明に向けた細胞凝集塊の非侵襲的定量評価手法の実現を目指し、従来では実験者の感覚的に判断されてきた細胞凝集塊の形態評価を、画像解析技術とバイオインフォマティクス解析技術との融合（画像情報解析）によって定量化・効率化し、細胞評価における新しいがん細胞凝集塊の評価技術の一つとして開発することを目指した。また、がんヘテロ性解明を目指し、画像情報解析技術と工学分野のロボティクスを用いた細胞クロニング技術とを組み合わせた技術プラットフォームの開発を目指した。本研究では、従来では二次元培養細胞の評価に用いられてきた画像情報解析をゲル培養・浮遊培養双方の培養法において

得られた細胞凝集塊の評価に用いるための技術開発を行った。また、形態情報による品質評価の妥当性を目指し示すため、がん細胞の性質をその形態から分類可能であるかについても検証した。

本論文は、がん細胞のヘテロ性と、三次元培養細胞を用いた創薬における問題点、技術的課題について序章として議論し（第一章）、画像解析による細胞評価のための基礎条件の検討（第二章）、細胞形態情報を用いたがんモデルの評価についての検証（第三章）、がん細胞ヘテロ性理解のためのがん細胞自動選別回収装置の開発（第四章）、今後のがん治療・診断・研究における三次元培養細胞評価技術としての形態評価法の可能性と課題（第五章）の全5章で構成されている。以下に各章の具体的な内容を述べる。

第一章

がん治療におけるヘテロ性解明の重要性と、評価手法の課題、三次元培養細胞を用いた腫瘍モデルの課題、および画像情報解析の概要と可能性について序章として議論した。

第二章

画像情報解析技術を三次元培養細胞凝集塊に応用するための技術的課題について検証した。具体的には、撮影時の焦点位置、培養容器、培養期間、播種細胞数、撮影期間、撮影倍率、形態評価指標についてである。その結果、従来の二次元培養下の細胞の形態評価においては培養器底面に合わせていた焦点位置が、ゲル培養時にはゲル表面の凹凸によりずれが生じることが判明し、ゲルを均一にコーティング可能な培養容器を開発した。その他の検証条件についても、形態評価に及ぼす影響を評価した。

第三章

最適化された培養条件下において細胞画像情報解析の有効性についてより深く検証するため、培養法・由来の異なる腫瘍由来がんモデル細胞株を用いて形態情報により同一細胞種モデルの検出および株の違いを評価・分類できるか検証した。

第四章

三次元培養細胞と画像情報解析による評価法の応用法の一つとして、がんのヘテロ性解明を加速するためのテクノロジーとして光分解性ゲルを用いたクローニング技術と画像解析技術を組み合わせた技術プラットフォームの開発を行った事例を紹介する。

第五章

本論文を通じて構築された三次元培養細胞評価のための画像情報解析の有効性と課題について考察し、今後のがん創薬やヘテロ性解明への応用に向けた画像情報解析による評価法の可能性について総括した。

本研究では、三次元培養細胞モデルの構築及びヘテロ性評価法における三次元培養細胞塊の定量的な形態評価法の有効性について情報解析的理論構築および実証検証を行い、非破壊的かつ効率的な評価のための基盤技術の確立に成功したと言える。また細胞培養技術(生物学)と画像情報解析(情報学)、ロボティクス技術(工学)と異分野を組み合わせることで、がんヘテロ性を解明する新しい基盤技術を構築することが出来たと考えている。本論文ががん創薬を中心として、がん研究や精密医療におけるがん診断などに向けた有用なテクノロジーとなることを期待している。