

民谷 栄一

大阪大学大学院工学研究科
教授

細胞膜レセプタータンパクの1細胞統合解析技術の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、細胞が1細胞ずつ配置されたその場でダイナミクスを捉えるナノバイオセンシングを活用した1細胞フェノーム解析技術の創成を目指している。特に腫瘍や自己免疫疾患など、個々の病因・病態とその1細胞レベルの機能を、病的細胞への攻撃能や遊走能、認識能の解析と統合的な評価・理解によって治療効果向上への展開を目指している。そのため、網羅的に1細胞操作とその場バイオセンシングできるマイクロ流体細胞デバイスの開発、さらにはペプチドバーコードを用いたレセプタータンパク認識抗体ライブラリの構築、シグナル分子としてのペプチド探索のためのプラットフォームの開発、各種チップと連動したイメージング計測システムの開発、およびこれらを用いた診断応用検討に取り組んでいる。

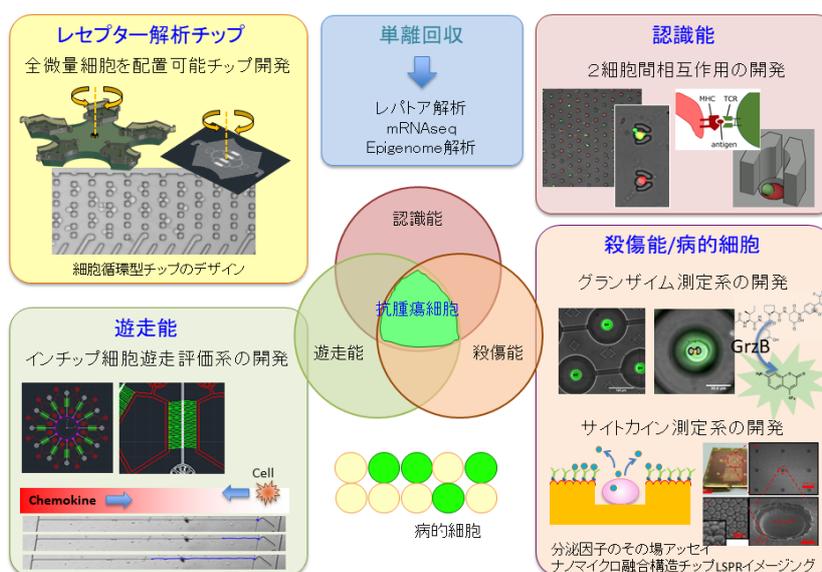


図. 1 細胞フェノーム解析に向けたチップデバイスシステム開発

これまでに、阪大工・民谷 G において、腫瘍攻撃の際に重要な Granzyme B 活性を 1 細胞ごとに評価可能なチップを開発し、阪大医・高松 G と連携して NK 細胞、T 細胞などの個々の 1 細胞ごとに GZMB 活性差が生じていることを確かめた。さらに、健常人並びに肺がん患者の末梢血単核球から、1細胞ごとに GZMB 活性を測定できることを実証した。また、抗 PD1抗体治療患者の末梢血単核球では、PD1抗体が結合した抑制性シグナルが阻害されている細胞において1細胞レベルの産生する GZMB 活性が高いことを認め、治療効果を予測しうることを明らかにした (Theranostics, doi:10.7150/thno.37728)。すでに治療効果等の臨床情報と紐づいた免疫チェックポイント抗体治療患者の治療前後の末梢血単核球を数十検体収集・保存しており、1細胞 GZMB 活性測定の臨床的意義について POC を行う準備を進めている。そのほか、細胞間伝達の機能解析を行うためのチップデバイスも開発し、T 細胞と抗原提示細胞 (APC)との特異的相互作用にともなう活性化も捉えることなどにも成功した。

一方、京大・植田 G において、酵母ライブラリによる機能的 Nanobody 取得を実証し、さらに高感度カラムの開発によって Nanobody に付与したペプチドバーコードのスクリーニング評価も確立した。これにより我々の任意の認識分子取得コンセプトが機能することを確かめた。今後、1 細胞デバイスへの展開を検討していく予定である。また、デバイス開発に先立ち、臨床面 (阪大医・高松 G) では、レポーター細胞を用いた SLE 増悪因子である IFN- γ 活性評価や膜小胞による IFN- γ 誘導メカニズムの解明、免疫療法をうけた肺癌患者検体を用いて治療抗体が結合した T リンパ球のみを回収し、解析する技術を報告している。今後、これらの臨床より得られた知見を現在開発中のチップデバイスにリンクさせ、1 細胞レベルの解析へ展開していく予定である。

【代表的な原著論文】

1. Jonathan C. Briones, Wilfred V. Espulgar, Shohei Koyama, Hiroyuki Yoshikawa, JeongHoon Park, Yujiro Naito, Atsushi Kumanogoh, Eiichi Tamiya*, Hyota Takamatsu, and Masato Saito*, "A Microfluidic Platform for Single Cell Fluorometric Granzyme B Profiling", *Theranostics* 2020; 10(1):123-132. doi:10.7150/thno.37728
2. Chen Zhu, Wilfred Villariza Espulgar, Woosik Yoo, Shohei Koyama, Xiaoming Dou, Atsushi Kumanogoh, Eiichi Tamiya, Hyota Takamatsu, and Masato Saito, "Single Cell Receptor Analysis Aided by a Centrifugal Microfluidic Device for Immune Cells Profiling", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 92, 1834-1839 (2019), Selected Paper, doi:10.1246/bcsj.20190175
3. Miyamoto K, Aoki W, Ohtani Y, Miura N, Aburaya S, Matsuzaki Y, Kajiwara K, Kitagawa Y, Ueda M., "Peptide barcoding for establishment of new types of genotype-phenotype linkages". *PLoS One*. 2019, 14, e0215993. doi: 10.1371/journal.pone.0215993.

§ 2. 研究実施体制

(1) 民谷グループ

- ① 研究代表者: 民谷 栄一 (大阪大学大学院工学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・細胞膜レセプタータンパクの1細胞機能解析マイクロ流体デバイスの構築

(2) 植田グループ

- ① 主たる共同研究者: 植田 充美 (京都大学大学院農学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・レセプター探索のための抗体タンパク創成に関する研究およびリガンド探索に関する研究

(3) 高松グループ

- ① 主たる共同研究者: 高松 漂太 (大阪大学医学部呼吸器・免疫内科 助教)
- ② 研究項目
 - ・1細胞計測システムを用いた癌や免疫細胞特性の非侵襲的計測方法の確立