

統合1細胞解析のための革新的技術基盤
2016年度採択研究代表者

2020年度 年次報告書

民谷 栄一

大阪大学 産業科学研究所
特任教授

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およびこれらを用いた診断応用検討に取り組んでいる。

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(GZMB)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、健常人並びに肺癌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抗体治療患者の治療前後の末梢血単核球の比較評価を行い、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。引き続き検体評価数の積み上げを進めている。また、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としてのCa²⁺フラックスによる活性化評価と、活性化T細胞の1細胞発現解析による評価に成功し、表現型と遺伝子発現系の結び付ける新規デバイスツールとしての可能性得ることができた。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 取得と任意の認識分子取得コンセプトが機能することを確認した。今後、これらの技術と臨床知見をさらにリンクさせ、実用的な1細胞診断解析手法へ展開していく予定である。

§ 2. 研究実施体制

(1) 民谷グループ

- ① 研究代表者: 民谷 栄一 (大阪大学産業科学研究所、特任教授)
- ② 研究項目
 - ・免疫1細胞フェノーム解析技術の構築

(2) 齋藤グループ

- ① 主たる共同研究者: 齋藤 真人 (大阪大学大学院工学研究科、助教)
- 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

(3) 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

(4) 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・免疫内科学、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

【代表的な原著論文情報】

Profiling T cell interaction and activation through microfluidics-assisted serial encounter with APCs, Hiroki Ide, Wilfred Villariza Espulgar, Masato Saito, Taiki Aoshi, Shohei Koyama, Hyota Takamatsu, Eiichi Tamiya, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 330 (2021) 129306

Cauliflower-like nanostructured localized surface plasmon resonance biosensor chip for cytokine detection, Xi Luo, Chen Zhu, Masato Saito, Wilfred Villariza Espulgar, Xiaoming Dou, Yuhei Terada, Ain Obara, Sachiyo Uchiyama, Eiichi Tamiya, *Bull Chem Soc Jpn* 93(2020)1121

Neuronal subclass-selective proteomic analysis in *Caenorhabditis elegans*, Shunsuke Aburaya, Yuji Yamauchi, Takashi Hashimoto, Hiroyoshi Minakuchi, Wataru Aoki & Mitsuyoshi Ueda, *Scientific Reports* 10(2020)13840

The future of microfluidics in immune checkpoint blockade, Jonathan Briones, Wilfred Espulgar, Shohei Koyama, Hyota Takamatsu, Eiichi Tamiya & Masato Saito, *Cancer Gene Therapy* (2020) <https://doi.org/10.1038/s41417-020-00248-7>