

2024年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

調査研究報告書(公開版)

【研究題目】

膠芽腫腫瘍内細胞不均一性を維持した細胞株の樹立法の開発

【整理番号】 24-筑波大2

【代表機関】 筑波大学

【調査研究代表者(氏名)】 三木 俊一郎

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】

杉浦 慎治

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

細胞分子工学研究部門 AIST-INDIA 機能性資源連携研究室

【TIA 外連携機関】

【報告書作成者】 三木俊一郎

【報告書作成年月日】 2025/2/21

【連携推進(具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等)】

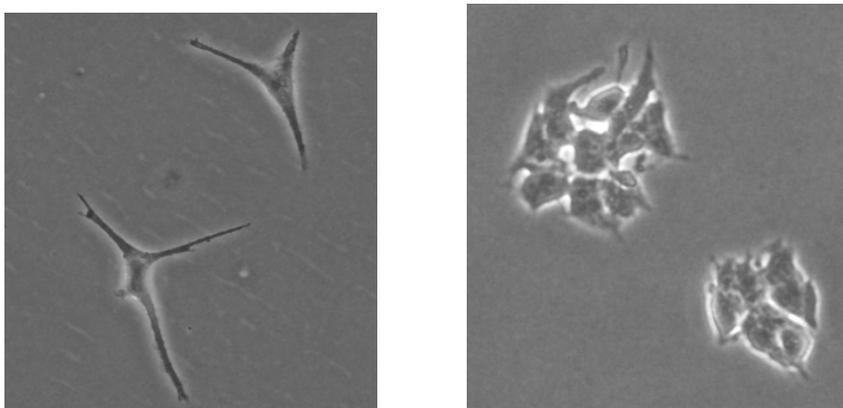
杉浦らは過去に光分解性ゲルへの局所光照射により三次元培養環境から特定の細胞を生きたまま単離・培養できる方法(共同研究者：産総研 杉浦慎治)と細胞分離法形態を指標として細胞を分類し、細胞の性質を予測する画像解析手法(共同研究者：名古屋大学)を組み合わせ、エンジニアリングシステム株式会社(以下 ESCO 社)とともに、NEDO の平成 25 年度イノベーション実用化ベンチャー支援事業において、画像解析、光照射、細胞回収プロセスを自動化した細胞分離装置「3D イメージングセルソーター」を開発しているものの患者由来のがん細胞株樹立は成功していなかった。我々脳神経外科グループと連携を行うことで悪性脳腫瘍の中でも予後の悪い膠芽腫を対象として細胞株樹立を目指す計画とした。

【調査研究内容(実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果)】

癌の性質は患者毎に異なり、同じ患者の同じ臓器の腫瘍組織自体も不均一な細胞集団であることが知られており、この「腫瘍内不均一性」が個別化医療の障壁となりうるものとして着目されている。一方研究で一般的に用いられる患者由来腫瘍細胞株は樹立後各サブクローンの増殖速度の違いから継代の度に不均一性が失われてしまう。不均一性の維持は通常の培養条件下では困難である。不均一性の喪失は細胞株を利用した膠芽腫の病態解明、テーラーメイド治療の確立に大きな障害となる。樹立時にシングルセルに分離し培養する方法もあり得るが、正常細胞も混在することから効率的ではない。

我々は2024年度TIA連携プログラム探索事業調査研究「かけはし」の援助を受け、約一年の予備実験を経てこのセルソーターを用いて悪性脳腫瘍の中でも予後の悪い膠芽腫を術同日に3D培養し1つの腫瘍検体から形態の異なる2種類の細胞株を樹立することに成功した

【同じ腫瘍から分離された2種類の細胞株】



【今後の活動予定】

2025年も研究費申請を行い以下のような実験を計画している。

研究計画・方法1

同様の方法で複数の患者検体を用いて一つの腫瘍サンプルから複数の細胞株を樹立する。(単離せずに継代し育てたコントロール細胞株も用意する)

研究計画・方法2

コントロール細胞株と単離した細胞株に対して

- ・ whole exon sequence
- ・ RNA sequence

を行い単離した細胞株それぞれが同一腫瘍細胞由来のサブクローンであることを証明する。

研究計画・方法3

コントロール細胞株と単離した細胞株それぞれ、及び単離した細胞株を共培養後に免疫不全マウス脳へ移植しマウスの生存を比較する。

抗がん剤治療群も用意し治療抵抗性に違いがあるかも検証する。移植マウス脳からの腫瘍の病理学的検証を行うと同時に一部の腫瘍をRNA sequenceを行い発現の変化を比較する。

研究計画・方法 4

複数の患者検体由来の細胞株で同様の 1-3 同様の実験を行い共通する共培養時の発現変化を同定する。これを標的とした治療を行うことで共培養時の増殖変化や発現変化、治療抵抗性の変化を検証し細胞不均一性に対する新規治療方針を開発する。