



腫瘍内不均一性を可視化する次世代がんイメージング開発と臨床応用



研究者所属・職名： 医学部・助教

ふりがな たなか のぶゆき

氏名：田中 伸之

主な採択課題：

- [基盤研究\(B\) 「腎癌幹細胞ニッチを掌握する解析基盤の構築とがん組織不均一性の理解」\(2019-2021\)](#)
- [挑戦的研究\(萌芽\) 「腫瘍内不均一性を可視化する次世代がんイメージングを用いた薬剤感受性の予測モデル構築」\(2018-2020\)](#)
- [新学術領域研究\(研究領域提案型\) 「シングルセルレベルの腫瘍内不均一性をターゲットとする革新的な創薬研究」\(2018-2019\)](#)

分野：腫瘍学、泌尿器科学

キーワード：がんイメージング、ライトシート顕微鏡、微小環境、分子標的治療、免疫療法

課題

● なぜこの研究をおこなったのか？（研究の背景・目的）

生体内で癌をとりまく環境(すなわち微小環境)は、癌の成長に不可欠な栄養供給を支える血管や炎症細胞の浸潤に加えて、癌自身に起こる上皮間葉転換で、絶え間なく変化し続けている。この「癌は1細胞/マイクロレベルで異なる」という性質、いわゆる腫瘍内不均一性の克服は、癌根絶に欠かせない重要なテーマである。我々は、癌の異質な立体構造を保持したまま、タンパク/RNAレベルで腫瘍内不均一性を可視化するイメージング法の開発に取り組んできた。

● 研究するにあたっての苦労や工夫（研究の手法）

従来の顕微鏡は、得られた腫瘍組織を薄く切片に(2次元化)することで、タンパク/RNAの発現解析を行ってきた。しかし、これでは組織断面を描画するだけの2次元イメージングに留まり、実際は立体的な微小環境の3次元情報を得ることはできない。我々は、ライトシート顕微鏡と組織透明化を組み合わせ(図1)、組織深部まで3次元の可視化を試みた。

また、RNAの局在解析で重要なin situハイブリダイゼーション法は、従来RNAを包むタンパクを分解し、RNAを露出させる必要がある。しかし、この操作は微小環境の立体構造の破壊を伴ってしまう。我々は、微小環境の立体構造を維持したまま、タンパク/RNA発現の空間分布を1細胞レベルで解析可能な、新しい分子生物学的手法の開発を試みた。

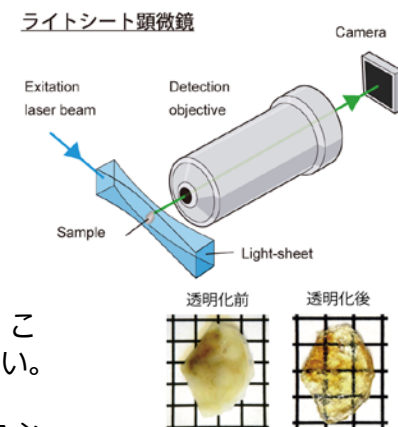


図1 ライトシート顕微鏡と組織透明化



腫瘍内不均一性を可視化する次世代がんイメージング開発と臨床応用

研究成果

●どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

我々は、ライトシート顕微鏡と組織透明化と組み合わせる新規がんイメージング「DIIFCO (Diagnosing In situ and Immuno-Fluorescence- labelled Cleared Onco-samples) Immuno-Fluorescence- labelled Cleared Onco-samples)法」を開発した。サンプルは溶媒の屈折率と一致することで透明になる。DIIFCO法では、組織を脱水・脱脂処理することで組織中の屈折率を均一化し、透明化処理を施すことが出来る。

DIIFCO法で採用される*in situ*ハイブリダイゼーション法には、短い配列のDNAをRNA検出に用いる新しいhybridization chain reactionを採用しており、RNA検出にタンパク分解の必要性がない。DIIFCO法で透明化される腫瘍塊では、免疫組織染色と*in situ*ハイブリダイゼーション法を同時に施行することが出来る。ライトシート顕微鏡を用いることで、組織塊の表面から深部まで解析範囲が広がり、微小環境の解析では、免疫染色される腫瘍血管と標的分子のRNAを持つ数百～数千万の癌細胞との位置関係が1細胞毎に可視化される。不均一な脈管構造や上皮間葉転換の空間分布、さらには血管からの距離も、ミクロなレベルで可視化される。このため、腫瘍空間で癌幹細胞が自らを育む環境(癌幹細胞ニッチ)も世界で初めて明らかになった(図2)。

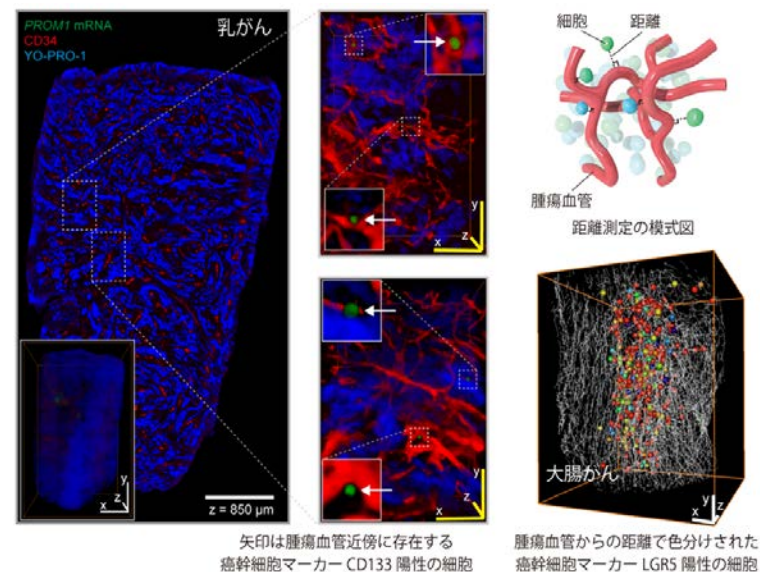


図2 DIIFCO法による癌幹細胞ニッチの可視化

今後の展望

●今後の展望・期待される効果

DIIFCO法の開発で、微小環境の立体構造を保持したまま、高解像度な1細胞毎のタンパク/RNA発現の同時解析が可能になった。さらに本手法は、ホルマリン・パラフィン固定された保存サンプルを利用することが出来る。つまり、病理診断後の組織やバイオバンクに存在する保存組織でも、1細胞レベルのタンパク/RNA同時発現解析が可能となった。保存サンプルが活用できるDIIFCO法は、「ライトシート顕微鏡と組織透明化の融合」を迅速化し、臨床現場への橋渡しが可能な新しいがんイメージングとして、臨床応用が期待される(図3)。

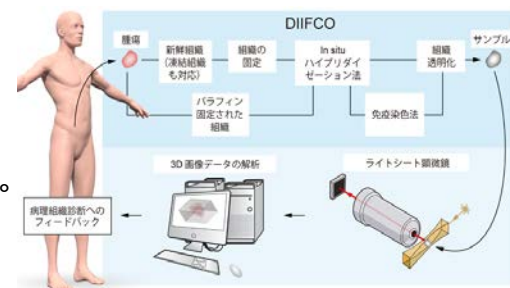


図3 DIIFCO法の概要