

2019年度研究実施報告書

(対象期間 2020年1月1日～2020年3月31日)

担当課題：新薬創出を加速する症例データベースの構築・拡充／創薬ターゲット推定アルゴリズムの開発
研究機関名：国立大学法人徳島大学
研究責任者：西岡 安彦

【1. 実施内容】

実施項目 1

1-1 研究目的

間質性肺炎合併肺癌特有の間質細胞プロファイルを見出し、その肺癌の病態との関りを検討すると同時にデータベース構築を行い AI を用いた新規創薬ターゲット探索の礎を作る。

1-2 計画概要

間質性肺炎合併および非合併肺癌患者の肺癌切除検体を用いて、①肺の健常部位、②肺癌部位、③間質性肺炎部位より得られた間質細胞のシングルセル解析を実施して遺伝子発現を網羅的に検討することで(図1)、間質性肺炎合併肺癌に特徴的な間質細胞プロファイルを明らかにするとともに、そのオミックス解析の結果からがんの進展に影響を与える可能性がある生体分子のデータベース構築を行う。

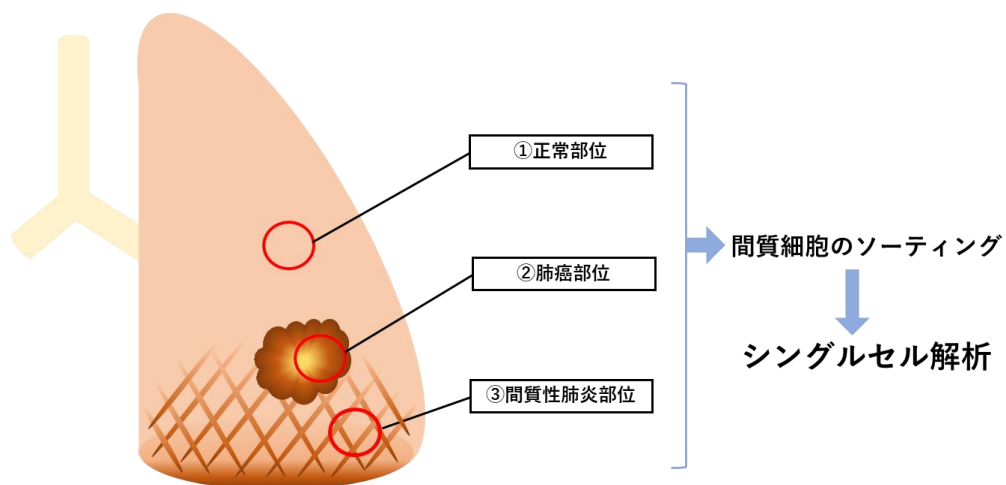


図1. 本検討の概要

1-3 実施内容

1-2で計画したヒト臨床研究を行うため研究計画書を作成し、2020年1月に徳島大学病院医学系研究倫理審査委員会に提出した。2020年2月17日に承認され（受付番号：3647）、ただちに研究を開始した。

シングルセル解析、とくに sc-RNA seq および sc-ATAC seq の技術を習得するため、マウス肺を検体として解析を行い、肺組織からの単細胞浮遊液の作成からはじまり、10x Genomics 社 Chromium システムを用いたライブラリー作成、シーケンス、Cell Ranger 解析までの一連の実験手法を検討した。この際にシングルセル解析の手法で、均一な emulsion が作成できない、サーマルサイクラーの使用上のトラブルがあり PCR ができない、作成したライブラリーの DNA 量に変動がみられるといった問題点があがり、それぞれ、実験中の温度管理やピペットチップの選択、サーマルサイクラーの使用機種を選択、死細胞の効率的な除去で解決できる可能性が考えられた。

またヒト検体においてシングルセル解析に向けた実験方法を検討した。肺がん手術検体より得られた組織を利用し、解析に必要な組織サイズを把握した。また線維芽細胞を含む間質細胞は既報告にあるように Epcam⁺CD45⁻CD31⁻細胞として採取することとした（Cell Rep. 2018; 22: 3625-40.）。肺がんの外科的切除検体を使用して Epcam⁺CD45⁻CD31⁻細胞をソーティングするための gating strategy を作成し、解析に必要な細胞数を Cell Sorter を用いて収集できることが分かった。

本年度のトラブルシューティングをしたシングルセル解析の手法の習熟により、次年度に向けて実際の肺がん手術検体でシングルセル解析を行う準備ができた。

1-4 結果、成果等

本年度は肺がん検体のシングルセル解析に向けた手法の確認を行った。また肺がん検体から間質細胞を Epcam⁺CD45⁻CD31⁻細胞として採取する gating strategy を確認した（図2）。これらにより次年度は具体的に肺がん検体のシングルセル解析を行い、間質性肺炎合併肺がん特有の間質細胞のプロファイル特定やデータベース構築を行い AI を用いた新規創薬ターゲット探索の礎を作る。

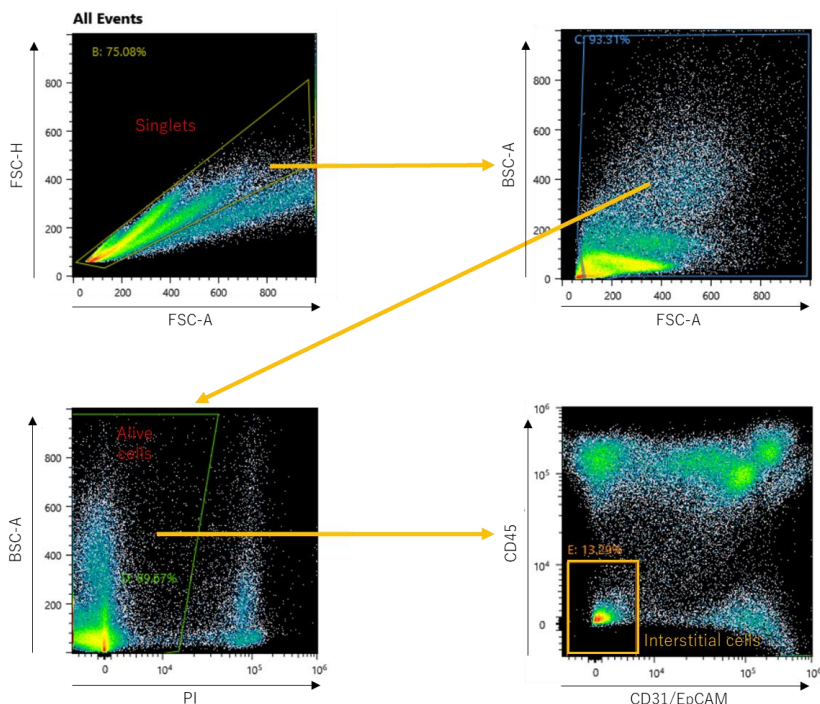


図2. ヒト肺サンプルからの間質細胞ソーティングのための Gating strategy

【2. 外部発表、論文投稿等】

本年度の外部発表および論文発表はない。

【3. 知財化について】

現時点で知財化に該当する成果はない。