

72 細胞傷害性を指標とした1細胞選別技術の開発	山口 哲志
--------------------------	-------

**【目的】** 免疫システムを利用してがんを殺傷する「がん免疫療法」は、次世代のがん治療法として期待されている。近年、一般的ながん抗原を認識する受容体を発現させた遺伝子改変 T 細胞が、がん細胞を選択的に認識して殺傷できる治療用細胞として実用化されている。しかし、患者ごとに治療効果が異なり、治癒率は低いのが現状である。そこで、患者ごとに個別に最適な治療用細胞を用意する必要があるが、がん細胞傷害性の高い治療用細胞を探索する時間とコストが大きな問題となっている。そこで、本研究では、細胞傷害性の免疫細胞とがん細胞の相互作用を大規模に1細胞観察した後、がん細胞傷害性の高い免疫細胞を迅速簡便に選別し、その遺伝子発現を1細胞解析する技術を開発することを目的とした研究を行った。

**【方法】** ガラス基板にビトロネクチンをコーティングした後、我々が開発した独自の光活性化型細胞附着剤（光活性化 PEG 脂質）を修飾した。マスクレス露光装置を用いて、基板表面に1細胞サイズの光を照射した後、ヒトのナチュラルキラー（NK）細胞株である KHYG-1 細胞を播種し、1つずつ並べた。次に、同様の方法で、ヒト子宮頸がん細胞株である HeLa 細胞を KHYG-1 細胞の隣に配置した後、培養環境下で顕微鏡観察を行った。HeLa 細胞は予め Calcein-AM で蛍光染色しておき、KHYG-1 細胞との相互作用によって細胞傷害を受け、蛍光を失う様子を観察した。さらに、顕微鏡観察後、流路内に光応答性のゲル化剤を導入し、回収したい細胞のみに光を照射してゲルで固めてピンセットで回収した（図 A）。

**【結果】** がん細胞傷害性の大規模 1細胞解析のモデル実験として、マイクロ流路の底面基板に上記の方法で KHYG-1 細胞と HeLa 細胞のペアを数千個並べ、蛍光顕微鏡で両者の相互作用を観察した。その結果、KHYG-1 細胞が HeLa 細胞を殺傷する様子を観察することができた（図 B）。観察後、観察結果を指標にして選別した細胞ペアに対して、対物レンズを通してくさび型の光を照射し、細胞ペアを一つだけゲルで固める条件の検討を行った。光の波長や強度といった照射条件、ゲル化剤の種類や濃度、細胞を配置する際の間隔などを最適化したところ、ピンセットで回収するのに十分なサイズのゲルで固めることに成功し（図 C）、選択的に回収することができた（図 D）。現在、この方法で回収した細胞の遺伝子配列を解読する実験を進めている。

免疫細胞によるがん細胞傷害性を指標に細胞を選択的に回収するワークフローと実験結果

