

未来先端研究機構
遺伝子治療学研究部門長

教授

二村 圭祐

にむら けいすけ

がん増殖の背景にがん細胞とそれを取り巻く複雑な環境の存在 多因子間相互作用を時間と 空間で解き明かす

2001年名古屋大学理学部生命理学科卒業、2003年奈良先端科学技術大学バイオサイエンス研究科博士前期課程修了、2007年大阪大学大学院医学系研究科医学専攻博士後期課程修了、同年理化学研究所特任研究員、2008年大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学特任研究員、2010年大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学助教、2014年 National Institutes of Health, NIAMS (Dr. Rafarl Casellas 研究室) Visiting fellow、2014年大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学准教授、2023年群馬大学未来先端研究機構遺伝子治療学研究部門教授

がんの増殖や治療抵抗性の背景には、がん細胞そのものだけでなく、それを取り巻く複雑な環境の存在がある。

がん組織は、がん細胞だけでなく、その周囲にさまざまな正常細胞や非細胞成分が混在しており、がん細胞はこれらの正常細胞に増殖をサポートさせ、免疫系やがん治療薬から自分を守らせている。この複雑な構造を「腫瘍微小環境」と呼び、がんの進行や治療効果に重要な役割を果たしている。

群馬大学未来先端研究機構の二村圭祐教授は、自らが開発した Interaction Between Molecules (IBM) seq 法を用いて、腫瘍微小環境において細胞間・細胞内で生じる多因子間相互作用をネットワーク構造として解析する方法の確立を目指している。

キーワードはその相互作用を「空間的」と「時間的」に捉えること。すでに時間的な解析は実現している。この腫瘍微小環境の革新的な評価手法によりがん治療法開発の研究が前進するのか。

—— 現在の研究テーマ

私が取り組んでいるのは遺伝子発現制御機構の解明と、その成果を基にしたがんの新規治療法・診断法開発です。進行中のプロジェクトは以下の3つです(図1)。

① 腫瘍(がん)が進行する仕組みの解明……次世代シー

クエンスを用いた新規遺伝子発現解析法の開発

② がん治療法の開発……新規治療分子の開発

③ 腫瘍組織の評価法の開発……次世代シークエンスを用いた新規多因子間相互作用解析法の開発

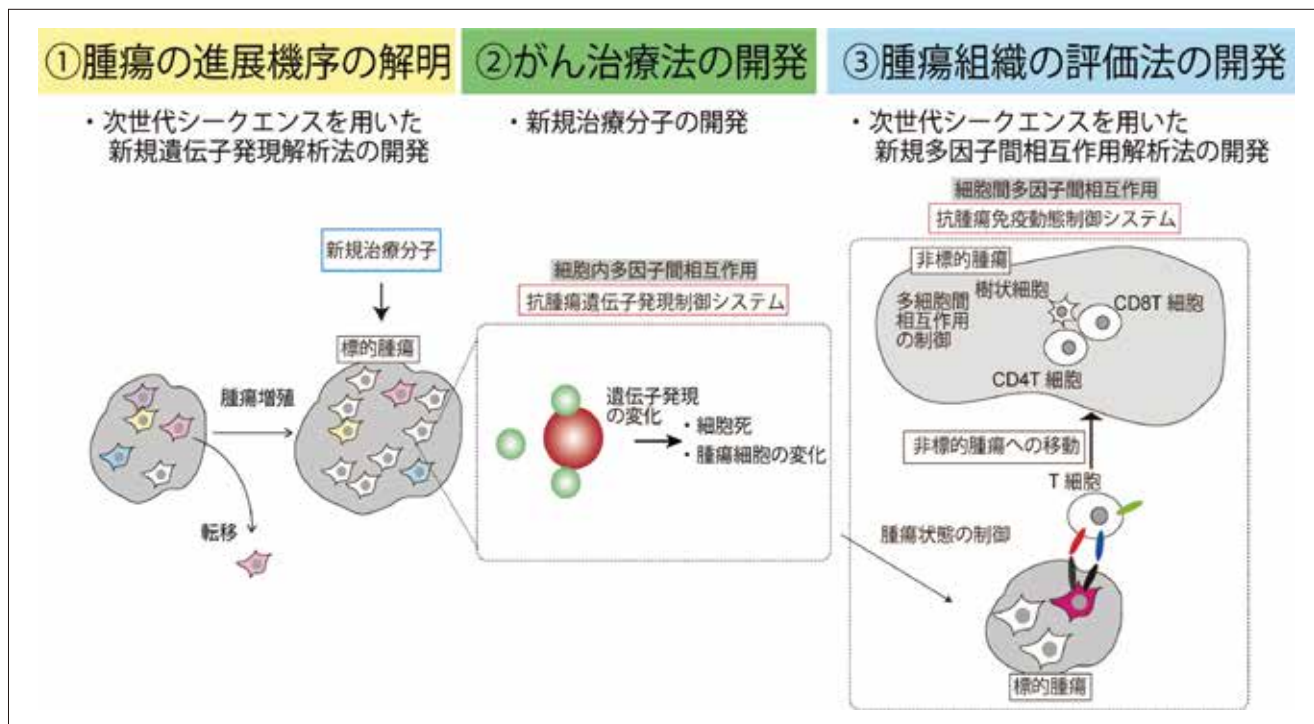


図1 現在、進めている研究プロジェクト

—— これまでの研究成果

専門的になりますが、これまでの研究では、データベーススクリーニングにより同定した新規ヒストンメチル化酵素 Whsc1 が転写因子 Nkx2-5 と協調して機能し、先天性心疾患を伴う Wolf-Hirschhorn 症候群の原因遺伝子であることを明らかにしました(Nature 2009、PLoS One 2014)。さらに、Nkx2-5 がクロマチン構造を規定し、転写終結因子 Xrn2 と連携して転写終結に関与することを報告しました。(eLife 2016)。

がん研究では、腫瘍の悪化に関わる選択的 RNA スプライシングの制御機構とその制御法の開発を行いました(Cancer Res. 2019、Tetrahedron Letters 2019、ACS Medicinal Chemistry Letters 2020、Cell & Bioscience 2022)。また、DNA バーコードと Cas9/self-target gRNA を用いた遺伝子発現記録法を活用し、幹細胞の形質に関わる転写因子の発現とがん細胞集団

内でのがん幹細胞の出現メカニズムの関係を明らかにしました。(Cellular and Molecular Life Sciences, 2022)。

現在は非増殖性ウイルス療法による抗腫瘍効果を誘導する遺伝発現制御機構の解明に取り組んでいます。

—— この記事では、先生の研究のうち、「腫瘍(がん)微小環境における細胞内・細胞間で生じる多因子間相互作用をネットワーク構造として解析する方法の確立」を取り上げますが、まず、腫瘍微小環境について教えてください。

腫瘍微小環境は、がん細胞、免疫細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞などの多様な細胞や、細胞外マトリックスなどの非細胞成分から構成される複雑な環境です。がん細胞は、周囲の正常な細胞を利用して栄養を得たり、免疫や治療薬から逃れたりします。腫瘍免疫やがんの進行を理解するうえで、細胞間での受容体とリガンド

の相互作用や、シグナル伝達に関わるタンパク質同士の相互作用は非常に重要です。このため、腫瘍微小環境は新たな治療標的として注目されています。

—— **なぜ新しい解析法が必要なのですか。**

腫瘍微小環境の解析には、空間的トランスクリプトーム解析や多重免疫染色による顕微鏡観察が用いられています。これらの方法は、組織の「空間情報」と遺伝子発現情報を同時に取得できる技術ですが、複雑な分子間相互作用を直接解析するには限界があります。腫瘍免疫応答や進展機構を解明するためには、多因子間相互作用を解析できる新しい手法が必要です。

—— **その解析に使用するのが、先生が開発している Interaction Between Molecules (IBM) seq 法ですね。どういうものですか。**

私たちが開発を進めている IBMseq 法は、細胞内で一時的に生じる複数分子の相互作用を、空間情報とともに捉えることを目指す解析技術です(図2)。生体内では、遺伝子制御に関わる酵素や転写因子、RNAなどが、複雑なネットワークを形成しながら機能しています。こうした一時的かつ多因子的な分子の結びつきを、どこで・どのように起こっているのかという空間的な文脈の中で記録・解析することは、従来の手法では困難でした。

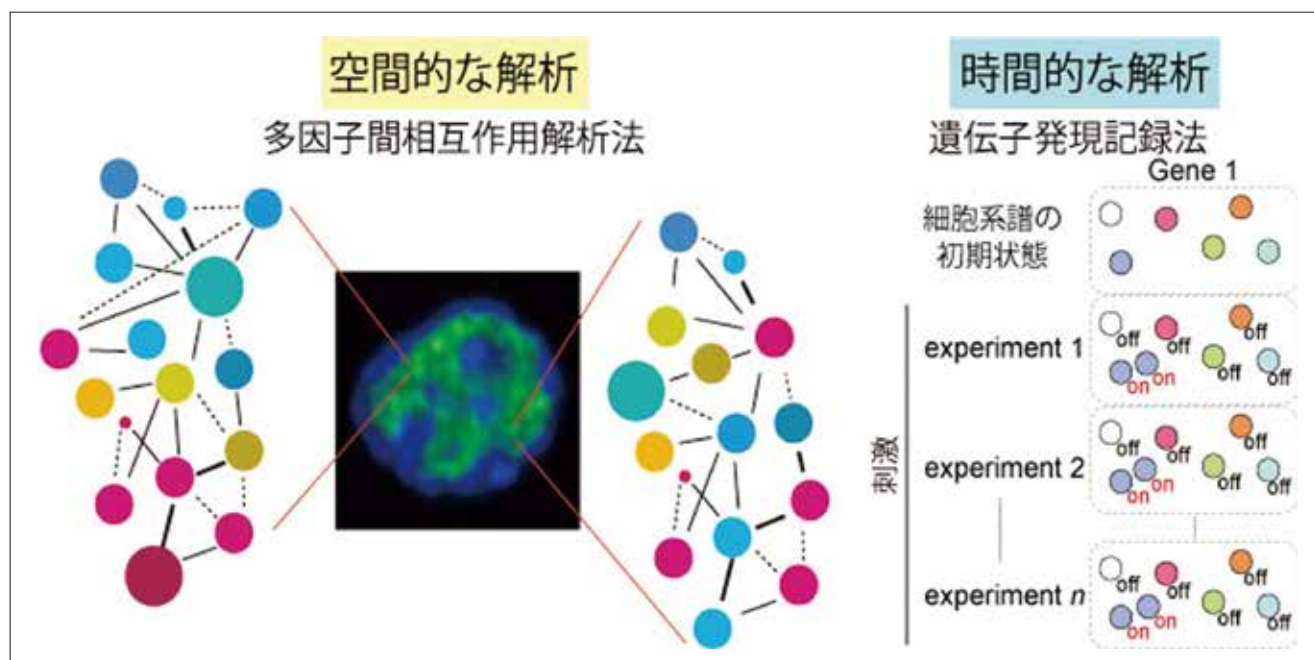


図2 腫瘍微小環境の空間的な解析法と時間的な解析法

❖ DNAバーコード技術活用の実験、検証

IBMseq 法では、DNAバーコードが付加された抗体を用いて、細胞組織内でのPCR反応により相互作用の情報をポリマー中に記録・連結し、読み取ることを目指しています。私たちは現在、この技術の確立に向けてDNAバーコード技術を活用した実験と検証を重ねており、2021年8月から2024年3月にかけては、科研費・学術変革領域研究Bの支援を受けて改良を進めてきました。

—— **「時間的」情報取得の実績は？**

がん細胞は遺伝的な要因だけでなく、時間的に変化

する微小環境との相互作用に影響されます。私たちは、DNAバーコードと Cas9/self-target gRNA を用いた遺伝子発現記録技術確立し、がん細胞が時間とともにどのように転写因子を発現し、幹細胞様性質を獲得していくかを捉えることができる手法を構築しました。これにより、がん幹細胞が確率的かつ動的に出現するメカニズムが明らかになり、がん細胞の進化や治療抵抗性の獲得メカニズムをより深く理解することができました。

—— **相互作用の「空間的」解析の研究手法、目標**

IBMseq 法は、腫瘍微小環境における分子間相互作用の空間的な特徴を解析する手法です。がん組織内の細胞

や分子が複雑に相互作用し、特有の分子ネットワークを形成しています。IBMseq法を用い、DNAバーコードを付加した抗体で相互作用の空間的配置を記録し、それを解析することで、がん組織特有の分子環境の理解を深めようとしています。この手法により、がん微小環境の複雑な相互作用を可視化・定量化し、治療法開発に貢献できることを目指しています。

—— がん治療を目指す研究において、先生のこうした研究の意義は何ですか。

がん治療を目指す研究において、私たちの研究の意義は、がん細胞単体ではなく「腫瘍微小環境」という全体像を捉える解析の可能性を示した点にあります。がんは、周囲の正常細胞との複雑な相互作用を通じて、生存や増殖、治療抵抗性を獲得しており、この相互作用を時間的に追跡することが重要です。私たちが開発した

IBMseq法は、これまで難しかった多因子間相互作用を空間的・時間的に捉える解析を可能にし、がん細胞とその周辺細胞との動的なネットワークを定量的に理解する手助けとなります。特に、時間的な解析を通じて、がん細胞の進化や治療に対する適応メカニズムを明らかにし、これにより治療戦略の向上が期待されます。この技術は、がんを単独の病変としてではなく、微小環境を含めた全体像として捉える新たな視点を提供し、将来的には個別化医療や新しい治療法の開発への応用が期待されます。

—— 抱負は？

複雑な生命現象を分子ネットワークとして捉え、可視化・定量化することで、がんの理解と制御に新たな論理を提示し、基礎と臨床をつなぐ橋を築いていきたいと考えています。

Interaction Between Molecules(IBM)seq法の概要

【操作法】

- ① 抗体に、1分子ずつを識別するためのランダム配列DNA(UMI1,2)を標識し、スライドガラスに貼り付けた細胞に作用させる。
- ② 抗体バーコード間を連結するためのPCRをハイドロゲルポリマー中で行う。その際、PCR反応を区別するためランダム配列を組み込んだプライマー(UEI1,2)の5'末端をポリマーに化学結合で固定しておく。これにより、PCR産物の空間的位置が保持される。
- ③ PCRの過程で、1つのポリマー結合プライマー(UEI)がPCR時に複数のUMIと連結する。

【結果】

UEI1とUEI2によるネットワーク構造が形成され、各UEIにそれぞれの抗体が結合した数の情報が付与される。B細胞の活性化過程をモデルに、転写制御因子に対する16種類の抗体を同時に用いたIBMseqの結果、以前見出した活性化に伴うH3K27アセチル化(H3K27ac)の増加や標的分子の増加に伴う分子間相互作用の増加を検出することに成功しました。本法を腫瘍組織に応用することで、腫瘍微小環境での多因子間相互作用を定量的に解析可能な手法を構築します。パラフィン切片においてもIBMseq法は実施可能であり、基礎研究としての新規性にとどまらず、病理組織の新規検査法になり得ます。



写真① GelPCR用サンプルスライドの準備



写真② スライドPCR装置