

## 細胞のヒソヒソ話を聞くために

山口 哲志

多細胞生物では、細胞が分子を介して互いにコミュニケーションを取り合い、恒常性を保っている。コミュニケーションの形態はさまざまあるが、異なる種類の細胞がくっついて、その表面間で直接情報を交換するタイプのものが近年注目されている。たとえば、免疫細胞とがん細胞の接触面で情報を交換する免疫チェックポイントと呼ばれる分子についての研究に対し、本庶佑先生がノーベル賞を受賞されたことが記憶に新しい。このような至近距離の細胞間コミュニケーションを、我々のコミュニケーションに例えるならば、耳元に口を近づける「ヒソヒソ話」と言えよう。本稿では、細胞のヒソヒソ話を解明するために開発されてきたツールについて紹介したい。

異種細胞間の接触を介したコミュニケーションは、複数種類の細胞を単純に混ぜて共培養した際に、たまたま異種細胞が隣接したところを観察することによって調べられてきた。しかし、近年の1細胞解析研究によって、細胞の不均一性が明らかにされ、がんなどの疾患において、細胞集団の中にある少数の集団が、疾患の発生や病態、治療効果を決定することも分かってきた。したがって、疾患やその治療法のメカニズムを理解するには、どのような振る舞いをする細胞がどれくらいの割合で存在するのか、を1細胞レベルで網羅的に調べることが必要である。そこで、細胞間コミュニケーションについても、できるだけ均一な条件下で、多くの細胞ペアのヒソヒソ話を定量的に調べるツールが求められている<sup>1)</sup>。

このような要件を満たすために、強制的に異種細胞を隣接させるツールが開発されてきた。もっとも簡便で古くから用いられている方法が、マイクロウェルアレイを用いる方法である。微細加工技術を用いて、細胞が丁度2個入るサイズの穴(ウェル)を高密度に並べたものをガラス板の上に作製し、異種細胞の懸濁液をその上に流して、重力で細胞をウェル内に落とす。確率は高くないが、異種細胞のペアが入ったウェルが観察できる。異種細胞のペアをより高効率に準備するために、ガラス板の代わりに透明電極を用い、電気的な引力(誘電泳動)を

用いて順次細胞をウェルに落とし込む方法が報告されている<sup>2)</sup>。一方、微細な柱をマイクロチップの流路内に無数に配置したデバイスを用い、異種細胞ペアを確実に作る方法も報告されている<sup>3)</sup>。柱には細胞を捕捉するための窪みがあり、流れてきた細胞を窪みの中に順次閉じ込め、異種細胞を水平方向に隣接させるという仕組みである(図1a)。

水平方向だけでなく、垂直方向に異種細胞を積み上げる技術も報告されている。1細胞が丁度入る直径のウェルに誘電泳動を用いて順番に異なる細胞を落とし込む方法や<sup>4)</sup>、マイクロ流路内の微細な柱の前にあるウェルに一つ目の細胞を落とし込み、二つ目の細胞は柱に引っ掛けて一つ目の上に載せる方法が報告されている(図1b)<sup>5)</sup>。顕微鏡観察において、垂直方向の解像度は、水平方向に比べて著しく低い。したがって、水平方向に並べた細胞ペアを観察した際に、垂直に広がる接触面上で分子がどのように配置され、どのように動いているのかを可視化するのには困難である。一方、細胞を垂直方向に積み上げた場合、接触面は水平方向に広がるため、接触面における分子動態を高解像度に観察できる。実際に、免疫細胞とがん細胞との接触面で、免疫チェックポイントの分布を可視化し、両者の接触面での集合と離散を追跡した結果が報告されている<sup>5)</sup>。このように、目的に応じて接触させる方向を変えることも大事である。

以上のように、細胞のヒソヒソ話を網羅的に調べるツールが盛んに開発されており、ヒソヒソ話の中身がつまびらかにされ始めている。しかし、同じ入口から狭い空間に二つの細胞を押し込めるという原理のため、既存のツールの応用例は、ほぼ同じサイズの浮遊系細胞のペアに限られる。また、狭い空間で強制的に長時間接触させられ続けるという環境が、細胞間コミュニケーションにバイアスをかけている可能性も否定できない。広い空間で自由に伸展している接着細胞同士のヒソヒソ話や、接触時間に応じたヒソヒソ話の変化など、既存の方法では知り得ないヒソヒソ話の中身を明らかにできるツールの開発が望まれる。

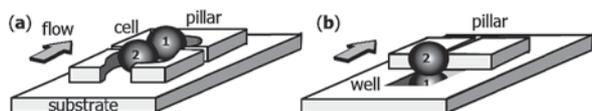


図1. マイクロ流路内の微細な構造体を用いる方法

- 1) Vu, T. Q. *et al.*: *Lab Chip*, **17**, 1009 (2017).
- 2) Sen, M. *et al.*: *Lab Chip*, **13**, 3650 (2015).
- 3) Dura, B. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, E3599 (2016).
- 4) Yoshimura, Y. *et al.*: *Anal. Chem.*, **86**, 6818 (2014).
- 5) Jang, J. H. *et al.*: *J. Immunol.*, **195**, 1320 (2015).