

技術の相乗効果で 実現を目指す卵巣がん検出

さまざまな技術を少しずつ改善して新たなアプリケーションが実現するときに、新たな可能性が生まれる。米ウイスコンシン大マディソン校 (University of Wisconsin-Madison)、PNPリサーチ社 (PNP Research Corporation)、その他の学術・産業パートナーからなる研究チームの最近の研究が、このパターンを体現している。彼らは、人工知能 (AI)、自動画像取得、プラズモン信号増強などの技術における発展を統合し、卵巣がんの検出方法の可能性を追求している。

米国がん協会によると、卵巣がんのうち早期に診断できるのはわずか20%程度である⁽¹⁾。卵巣がんでは、特定のタンパク質であるMUC-16が過剰発現しているが、血清中のMUC-16濃度は疾患と相関しない。今回の新しい研究では、MUC-16の免疫系細胞への結合パターンと卵巣がんの有無の相関性が示された⁽²⁾。

3つの問題

MUC-16はムチンファミリーに属する膜貫通型の糖タンパク質で、粘膜表面で感染物質の侵入を防ぐと考えられている分子だ。MUC-16は酵素によって膜から切り離されるため、高レベルの発現は血清中濃度の上昇につながると考えるのが妥当である。MUC-16は、CA125という名称の繰り返しエピトープがある。一般的な卵巣がんの検出方法では、CA125血清濃度としてこのエピトープを標的にしているが、疾患の進行との相関はあまりない。

ウイスコンシン大マディソン校のチームは、これまでの研究において、CA125が末梢血単核細胞 (PBMC) に高レベルで結合することを示してき

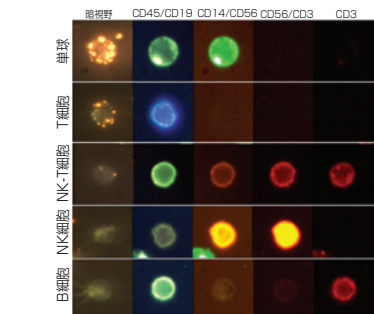


図 左列は卵巣がんマーカーであるCA125に結合する金ナノ粒子を示す。他の列は、免疫細胞の種類を特定するための多色蛍光ラベルを示す⁽²⁾。

た。PBMCは、ヒトの免疫系に不可欠な、さまざまな種類の細胞集団である。次のステップは、異なる細胞集団からなるPBMCの種類ごとに対する結合レベルを評価することだった。ここで、3つの問題に直面した。1つ目は、1つのPBMCに結合するMUC-16分子の量はわずかであること。2つ目は、意味のある統計をとるために大量の細胞を用いたサイトメトリーが必要であること。3つ目は、異なる細胞集団を確実に同定する必要があることである。

必要な検出限界に到達するために、彼らは80nmの金ナノ粒子を結合させた抗CA125抗体をサンプルとともにインキュベートした (図)。暗視野照明下では、金ナノ粒子は細胞内のバックグラウンド照明より13倍明るくなっている。以前の研究でチームは、細胞に結合した平均的なMUC-16鎖は3つ以下の金ナノ粒子と結合しやすいことを示している⁽³⁾。クラスタは赤方偏移するため、ナノ粒子1つとはスペクトル的に識別できる。これにより、各細胞で金ナノ粒子を数えるだけで済む。

実際には、さまざまな不定形の細胞集団の中で細胞の境界を識別するところから始まるという、複数の課題がある。

スクリーニングアッセイでは、人間が個々の細胞境界を識別することは現実的ではないため、AIを利用した。3192個のPBMCの境界を特定し、そのセットを用いてエリアマッチングモデルの学習、検証、テストを行った。撮影した画像はモデルによって処理された後、人工物や対象外の細胞である $16\mu\text{m}^2$ 未満または $400\mu\text{m}^2$ 以上の細胞を排除するためにスクリーニングを実施した。3つ目の問題である、異なるPBMCを細胞の種類によって分類することは、多重蛍光標識によって解決した。この解決策は、光学システム自体の設計と密接に関連する。

複数の光学機能による 自動スクリーニング

PBMCは、T細胞、B細胞、NK-T細胞、NK細胞、単球など、いくつかの種類からなる。それぞれ独自の分化抗原群 (CD) タンパク質マーカーを組み合わせて発現している。研究者は、CD45 (すべての白血球に存在するマーカー)、CD19、CD56、CD3、CD14に対してそれぞれ異なる蛍光ラベルとともにサンプルをインキュベートした。4チャンネルの励起・発光フィルタを連続的に回転させることで、5種類のラベルを識別して細胞を分類した。自動画像取得プロセスでは、まずサンプルを移動させて105の異なる視野で撮影する。自動で特定し、4つのカラーバンドそれぞれで最適なイメージング面に焦点を合わせる。そして、視野照明に切り替え、 $0.5\mu\text{m}$ のz軸単位で移動させて40スライスの画像ス

タックを作成した。完全な105視野の3Dイメージスタックを取得するには58分を要する。蛍光(すなわち細胞の種類)の識別、細胞境界の描画、ナノ粒子のカウントは自動化されており、適切なスクリーニングプロセスが作成されている。

今回の原理実証実験では、漿液性卵巣がん患者14名と健常者7名の血清サンプルを評価した。B細胞に結合したナノ粒子の平均値は、患者では10個以上、健常者では5個前後だった。また、T細胞

に結合したナノ粒子は、患者では4個以上だったが健常者では約1個だった。細胞結合は、血清CA125濃度とは相関していなかった。このレベルの高度な自動サイトメトリ分析が、他では得られない臨床的洞察をもたらすことを示している。

研究者は、「完全に自動化されたこの顕

微鏡システムにより、疾患の経過中におけるこのような細胞表面分子の関連性を調べる、新しい研究が可能となった」と述べる。今回の研究で実証されたような卵巣がんのみならず、「疾患の経過に関連する他の細胞表面分子の定量化にも容易に適応できる」としている。(Richard Gaughan)

参考文献

- (1) <https://bit.ly/Gaughan-Ref1>.
- (2) G. González et al., *Cancers*, 13, 2072 (2021); doi:10.3390/cancers13092072.
- (3) S. Jeong et al., *ACS Sens.*, 5, 9, 2772-2782 (2020); doi:10.1021/acssensors.0c00567.

イメージング

スマートフォンの充電速度を加速させる新イメージング法

新たな研究室ベースの技術は、スマートフォンやラップトップパソコンのバッテリーをわずかに数分で充電するのに役立つ可能性がある。

英ケンブリッジ大(University of Cambridge)の研究者によって開発された新たな方法は、干渉散乱顕微鏡によって、リチウムイオンバッテリーの内部を調べる。それはサブ波長オブジェクトによって散乱された光を参照ライトフィールドに干渉させることで、サブ波長オブジェクトを検出、画像化できる。これにより、リチウムイオンの内部構造を観察し、充電及び放電時をリアルタイムで追うことができた⁽¹⁾。

チームは散乱光の量を測定することにより、コバルト酸リチウム(Lithium Cobalt Oxide : LCO)の個々の粒子を調べることができた。新たな技術の顕微鏡は、バッテリー内で起こっていた非常に高速なプロセスのキャプチャ記録を保証しつつ、数時間にわたってプロセスを観察する必要があった。

「新たな材料でよりよい電池を作ったり、すでに使用している電池の性能を改善し

たりするためには、電池の内部で何が起きているのかを理解する必要がある」と研究の共著者であるケンブリッジ大キャベンディッシュ研究所(Cavendish Laboratory)のクリストフ・シュネダーマン博士(Christoph Schnedermann)は言う。

研究者らによると、LCOが充放電サイクルにおいて一連の相転移を経る様子を、この顕微鏡技術で確認できたということだ。「LCO粒子内の相境界は、リチウムイオンが出入りするにつれて移動及び変化する」。チームは、バッテリーが充電中か放電中かによって、境界の移動がどのように異なるかを発見した。

「充電速度は、リチウムイオンが活物質の粒子をどれほど素早く通過できるかに依存している」と研究を主導したキャベンディッシュ研究所物理学部門のアクシャイ・ラオ博士(Akshay Rao)は言う。「放電時の速度は、イオンが境界に挿入される速度に依存する。これらの2つのメカニ

ズムを制御できれば、リチウムイオンバッテリーの充電速度は大幅に速くなる」。

新たな技術は、本質的に速度を制限するプロセスを、研究者らが明らかにするのに役立った。翻って考えると、この研究は「ほとんどのスマートフォンとラップトップパソコンのバッテリーを、わずか5分で充電できるようにする可能性もありうる」ことを示している。

現在、シンクロトロンX線及び電子顕微鏡技術を用いて、リチウムイオンバッテリーの理解と性能向上が行われている。これらのバッテリーは高エネルギーと長寿命を売り物にする一方で、製造コストがかかることから、「電気自動車と太陽光発電のグリッドスケールストレージという2つの主要なクリーンテックで広く使用されるには不適切である」と研究者らは述べている。(Justine Murphy)

参考文献

- (1) A. J. Merryweather, C. Schnedermann, Q. Jacquet, C. P. Grey, and A. Rao, *Nature*, 594, 522-528 (2021); <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03584-2>.