

日本患者由来がんモデル学会
日本ヒト細胞学会
合同学術集会2024

抄録集

会期 2024年8月21日(水)～23日(金)

会場 国立がん研究センター 新研究棟1階
〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

会長 近藤 格(国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野)



ヒトとマウスのプロテオーム解析技術

SomaScan Assay

～1本鎖改変DNAアプタマーで

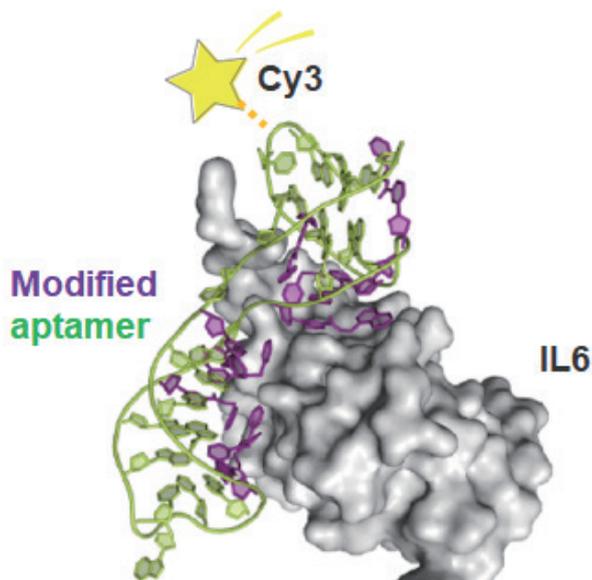
11,000個のタンパク質を相対定量～

2024年8月23日(金)

時間：11:30-12:00 会場：がんセンター新研究棟 1F 大会議室

演者：唐澤毅 Director, SomaLogic Operating Co., Inc.

お問い合わせ： sales-somascan-foneslife@foneslife.com

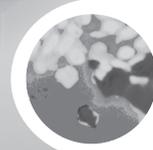
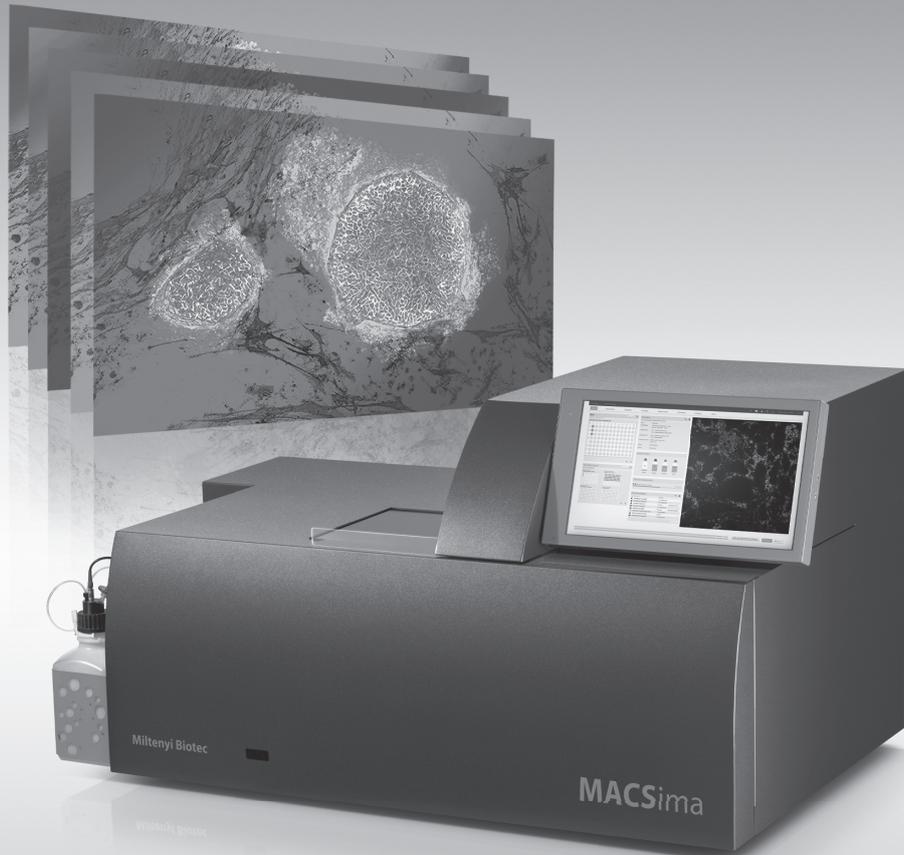


IL-6 に結合した SOMAmer 試薬のX線結晶構造

微量(55uL)の血漿・血清、組織・尿などの生体試料から約**11,000種**のタンパク質を測定
シグナル増幅無しで検出下限**187fM (約8.6pg/mL)**、日差再現性 **CV5%** を実現。
マウスタンパク質での検出率：88%

Stanford Univ. Prof. Tony Wyss-Corayが Dec.2023 Natureで発表した血液からヒトの臓器毎の老化タンパク質を検出した例と、マウスモデルとの相関をご紹介します。

<https://somalogic.com/>



UNDERSTAND
NATURE'S
COMPLEXITY

MACSima™ Platform

1つの切片、100+マーカーの検出、限りない解析オプション

- 免疫蛍光染色・撮影・シグナル消去サイクルの繰り返しの完全自動化および100種類以上のマーカーの検出
- 組織片、接着細胞、浮遊細胞など、どのような種類の固定サンプルでも解析対象
- サンプルサイズによってフレキシブルに選択できるイメージングフレーム
- ミルテニーバイオテックのすぐに使用できる幅広い抗体ポートフォリオ
- RNA (~20種類)とタンパク質 (100+種類)の発現を同一サンプルで検出
- フローサイトメトリー感覚で運用できる優れたユーザービリティの解析ソフトウェア

特に記載がない限り、Miltenyi Biotecの製品およびサービスは試験研究用です。治療・診断目的で使用することはできません。MACSima、Miltenyi Biotec ロゴは、Miltenyi Biotec およびその関連会社の登録商標または商標です。商品のデザイン、仕様、価格等は予告なく変更する場合がありますのでご了承ください。Copyright © 2024 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.



Miltenyi Biotec

ミルテニー バイオテック株式会社

〒135-0041 東京都江東区冬木16-10 NEX永代ビル5F 学術的お問い合わせ | 機器修理のご相談 | 代理店様専用番号 | www.miltenyibiotec.com
TEL: 03-5646-8910 (代) FAX: 03-5646-8911 03-5646-9606 0120-03-5645 03-5646-8566 macsjp@miltenyi.com

CROWN BIOSCIENCE

Together with **MBL**[®]

創薬支援
サービス

In partnership with:

VitroScan
PREDICTING TREATMENT OUTCOME

3D *Ex Vivo* 患者組織 プラットフォーム

ネイティブTMEが保存されている患者の腫瘍を用いた
がん治療薬の評価

ユニークな3D *Ex Vivo* 患者組織プラットフォーム

- 患者からアッセイプレートまで24時間以内
- 内因性免疫細胞、線維芽細胞、およびその他の間質成分を含むネイティブTMEを維持
- 患者に特化した専用プレート:50-300の患者腫瘍組織を384ウェルフォーマットのハイドロゲルマトリックスに直接播種
- in vitroでICI評価を含む単剤および併用療法の評価
- フローサイトメトリー、IHC、サイトカイン解析、および次世代シーケンシングを通じて、更なるサンプル特性評価が可能

株式会社 Crown Bioscience & MBL

<https://crownmbl.co.jp/>

〒105-0012 東京都港区芝大門2丁目11番8号 住友不動産芝大門二丁目ビル Tel: 03-4363-1361



A JSR Life Sciences Company

ACHIEVE WITH



The Jackson
Laboratory

CONTACT US

TECHNICAL INFORMATION SERVICES

技術専門問い合わせ窓口

✉ micetech@jax.or.jp



MOUSE GENOME INFORMATICS

マウスデータベース

informatics.jax.org



JAX MOUSE SEARCH

モデルマウス検索

mice.jax.org



PATIENT DERIVED XENOGRFT SEARCH FORM

PDXデータベース

tumor.informatics.jax.org/mtbwi/pdxSearch.do



EVOSEP ONE

キャリアオーバーのない多検体プロテオミクス

Evosep Oneは、「臨床プロテオミクスを100倍強固に、10倍高速化」という信念のもと、従来のHPLCとは異なるコンセプトを持つ革新的なHPLCとして開発されました

Evotip sample Preparation

専用のステージチップ「Evotip」を使用
不純物はEvotipに留まり、キャリアオーバーなしでSPEダイレクト注入

Methods

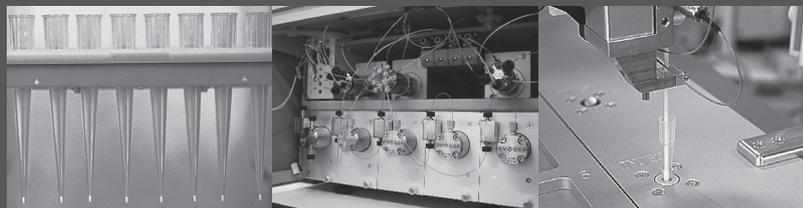
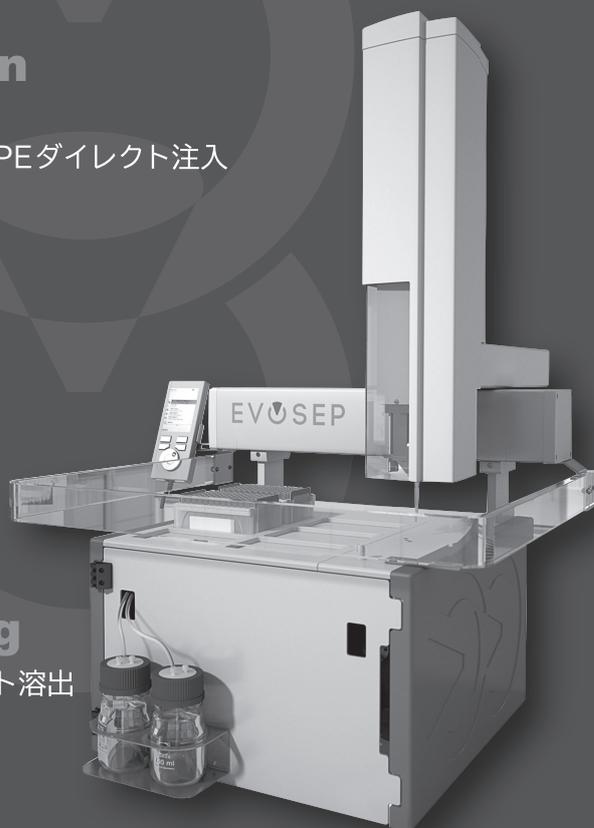
5つのプリセットメソッドから選択
1日あたり最大300サンプル処理可能

Workflow

従来よりも手動のステップを減らした
シンプルなワークフロー
ドライダウンおよび再溶解の工程を削除

Gradient Offset Focussing

35%アセトニトリル水溶液でEvotipからグラジエント溶出
独自のPre-formedグラジエントで
分析カラムやMSの汚れが少なく高いシステム稼働率



Evosep One
製品ページはこちら

EVOSEP

その他取り扱い製品

自動前処理装置「PAL RTC」
自動化システム「CHEMSPEED」
大気圧イオンソース「DART」「SICRIT」
アジレント社製高温&常温GPCシステム、
GPC/SEC用カラム、ポリマースタンド、
プロテオミクス関連製品 他

エーエムアール株式会社

〒152-0031 東京都目黒区中根2-13-18
Tel 03-5731-2281/Fax 03-5731-2283

<https://www.amr-inc.co.jp/>

エーエムアール



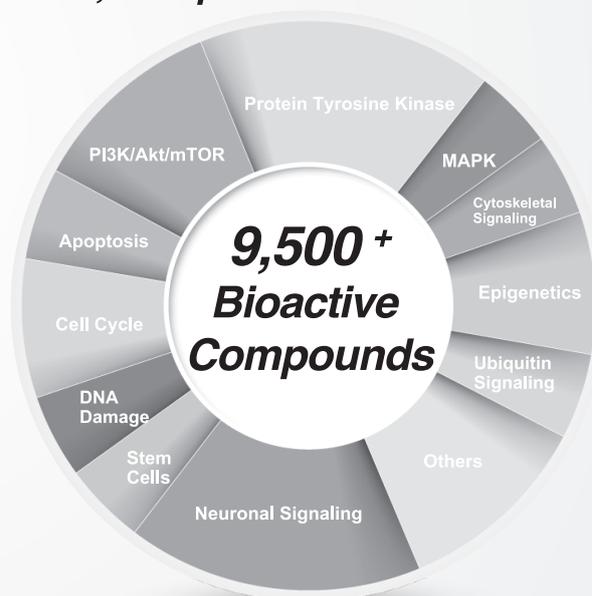
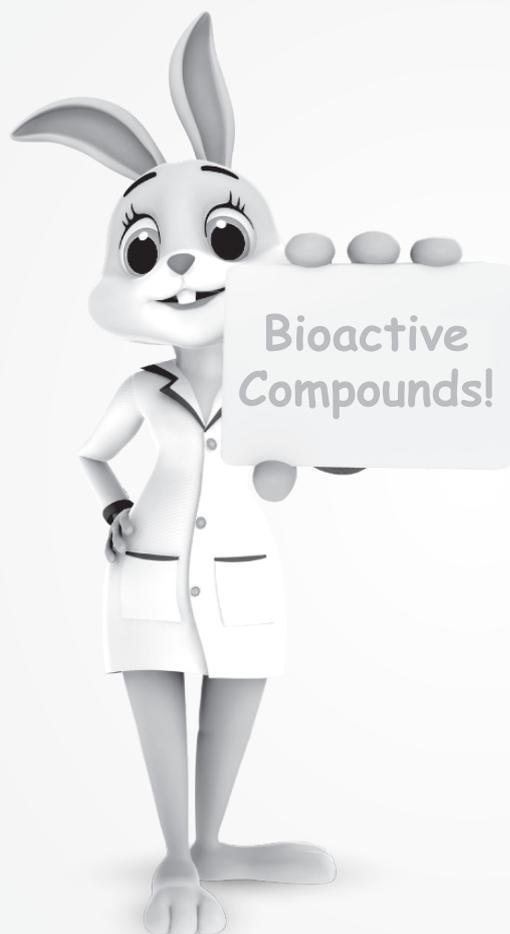
AMR

AMR INCORPORATED

Selleck.co.jp

Bioactive Compounds

Selleck supplies over 9,500 Bioactive Compounds and diverse molecular libraries targeting various cell signaling pathways. We have established network of sophisticated warehouse system in America, Europe and Asia.



Popular Compound Libraries

FDA-approved Drug Library
2943 Compounds

FDA-approved & Passed Phase I Drug Library
3256 Compounds

Preclinical/Clinical Compound Library
2971 Compounds

Bioactive Compound Library-I
7989 Compounds

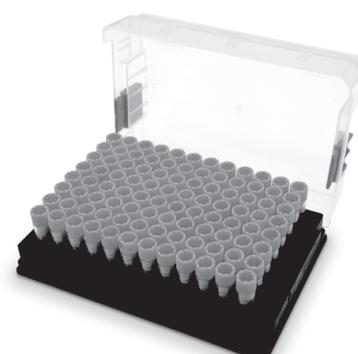
Bioactive Compound Library-II
5076

Kinase Inhibitor Library
1712 Compounds

Express-Pick Library
2895 Compounds

Natural Product Library
2634 Compounds

Human Endogenous Metabolite Compound Library
1054 Compounds



Customize your library by selecting compounds of interest.

please visit our website for details

selleck



SCREEN

細胞イメージング、定量解析を すべてラベルフリーで。

平面培養からスフェロイドやオルガノイドのような三次元培養細胞まで、非標識のまま、独自の明視野・画像処理技術で、形態観察・解析して定量化できます。SCREENは再生医療・細胞治療研究分野の伸展と課題解決をサポートします。



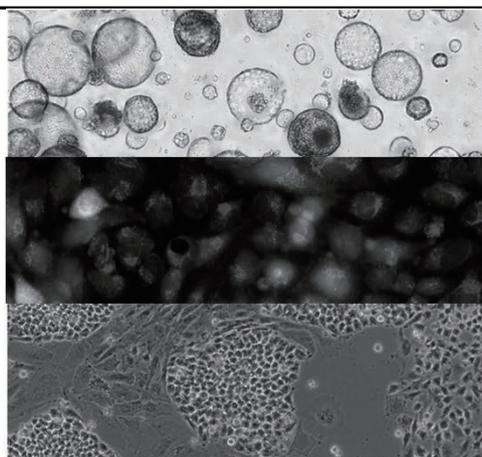
ハイスループットスクリーニングから 高倍率レンズによる生物学的研究まで

コストパフォーマンスに優れた多機能・超高速セルイメージングシステム

Cell3iMager NX

特長

- | 96ウェル全面を44秒でスキャン
- | DI対応の直感的なインターフェースで簡単操作
- | 複雑な条件もDeepLearning(AI)解析に対応
- | 小型インキュベータ搭載によるタイムラプス観察・動画化可能



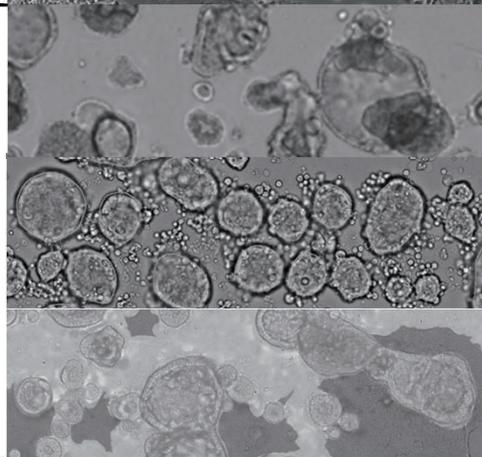
幹細胞研究やバイオセルライン開発 各種の培養方法での薬剤感受性評価に

プレート静止撮像方式の高クオリティ・高速セルイメージングシステム

CELL3IMAGER DUOS 2

特長

- | 96ウェル全面を59秒でスキャン
- | プレート静止方式によりゲル包埋培養の他、浮遊培養など様々な培養法、プレートに対応
- | 複雑な条件もDeepLearning(AI)解析に対応
- | カラーカメラ搭載



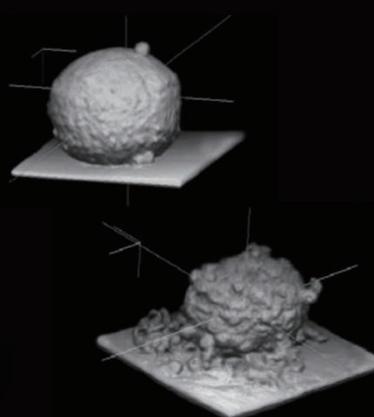
“生きたままリアルに”細胞凝集塊や 細胞シートを近赤外線で3Dイメージング

光干渉式断層撮像システム

CELL3IMAGER ESTIER

特長

- | 3次元形態と内部構造、断面のイメージング
- | 体積・表面積・厚み等の計測が可能
- | 小型インキュベータ搭載によるタイムラプス観察・動画化可能



株式会社 SCREENホールディングス

京都(本社) / 〒602-8585 京都市上京区堀川通寺之内上る四丁目天神北町1番地の1

お問い合わせ先: screen_lifescience@screen.co.jp

ライフサイエンス事業室

京都(洛西) / 〒612-8486 京都市伏見区羽束師古川町322

Tel: 075-931-7824 Fax: 075-931-7826

東 京 / 〒135-0044 東京都江東区越中島一丁目2-21 ヤマトネビル7階

Tel: 03-4334-7977 Fax: 03-4334-7978

www.screen-cell3imager.com

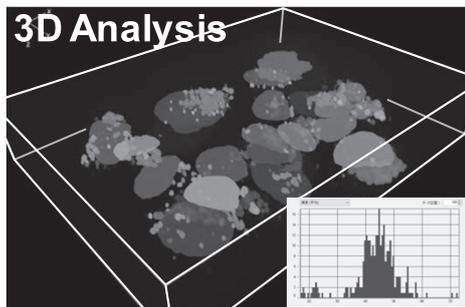
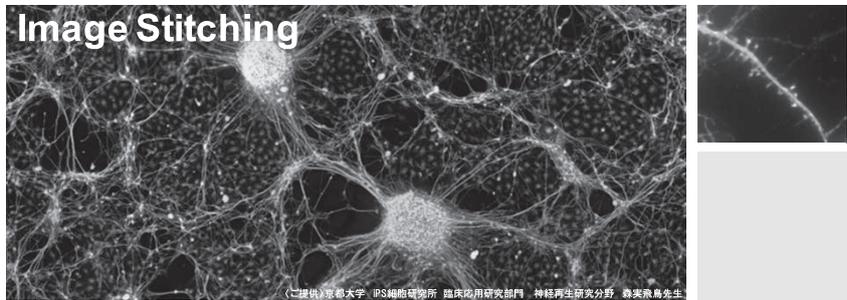
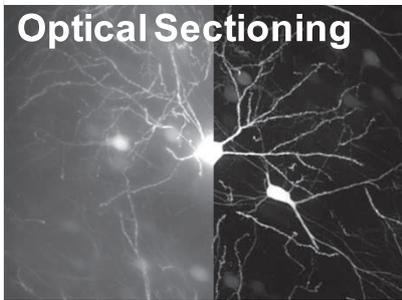
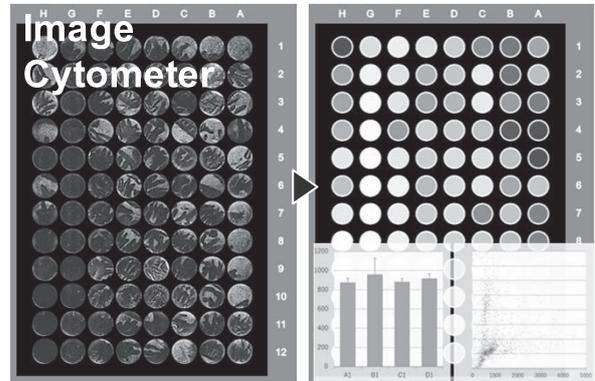
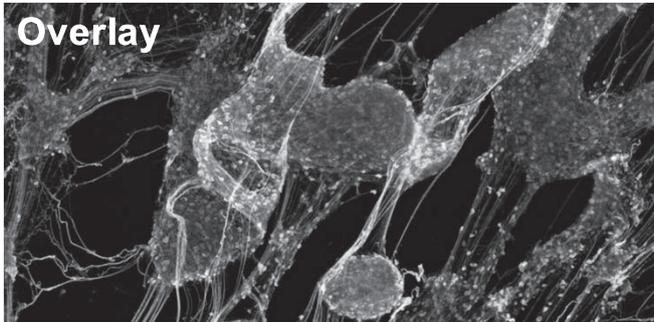
データ撮りや
デモのご依頼は
こちらまで



KEYENCE

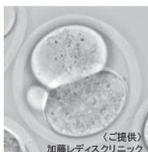
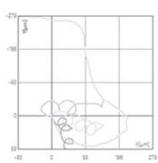
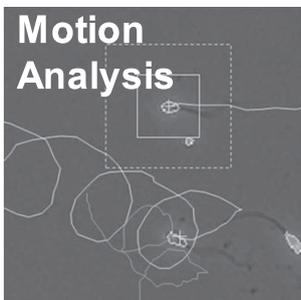
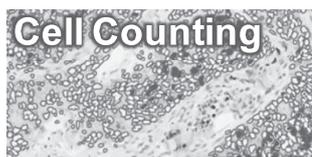
オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X シリーズ

1台で何役も。進化する顕微鏡。



データ撮りの
ご依頼は
こちらまで

www.keymsp.jp/BZ



株式会社 キーエンス

本社・研究所／マイクロSCOPE事業部
〒533-8555 大阪市東淀川区東中島1-3-14 Tel 06-6379-1141

顕微鏡
お客様相談窓口 **0120-739-007**

Copyright© 2023 KEYENCE CORPORATION. All rights reserved.

世界最高精度の トランスクリプトーム解析技術のがん研究への応用



日時：8月22日(木)
12:10 ~ 13:00

会場：国立がん研究センター研究所 大会議室

演者：團野宏樹（株式会社ナレッジパレット代表取締役 CEO）

株式会社ナレッジパレットは、世界最高精度の1細胞レベルの全遺伝子発現解析技術を応用して、様々な種類の薬剤や培地で処理した細胞の状態を大規模データとして取得し、その情報を使って細胞を高度に制御することにより、難病克服を目指すスタートアップ企業である。近年、がん研究においてトランスクリプトームを活用した新規創薬ターゲット探索や病態メカニズム解明が盛んにおこなわれている。本公演では当社のトランスクリプトーム解析技術や新しい培養最適化技術の紹介に加え、当社技術のがん研究への応用例を紹介する。



株式会社ナレッジパレット

神奈川県川崎市川崎区殿町三丁目 25 番 22 号

<https://www.knowledge-palette.com/>

お問い合わせ：info@knowledge-palette.com



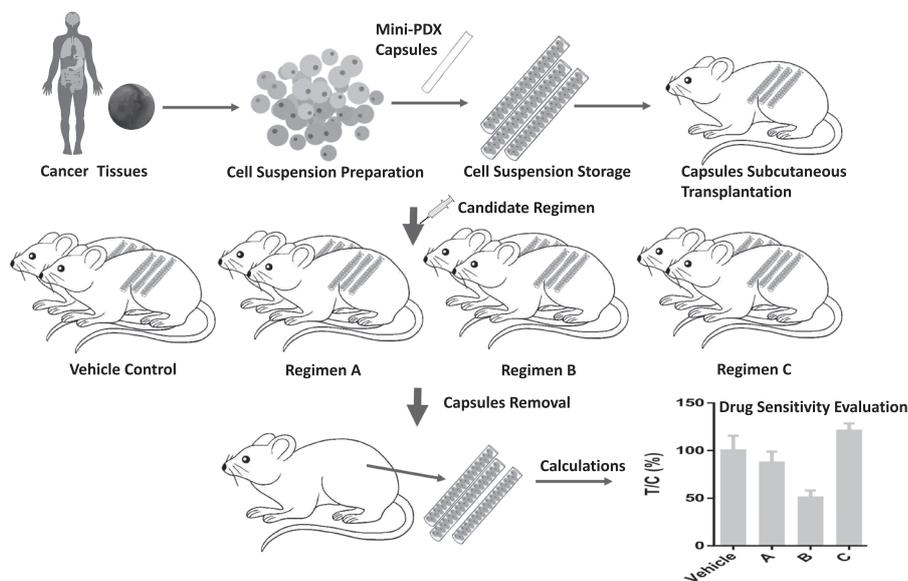
シヤンハイ エルアイディーイー バイオテック カンパニー リミテッド

MiniPDX® の臨床的適応症の同定と抗腫瘍薬の開発への応用イトル

MiniPDX® – In Vivo Organoid

OncoVee MiniPDX®, 7日間の体内薬効試験

- organoidアッセイの体内バージョン
- PDXとの相関: 92%
- 臨床との相関: 82%



長所:

高速: 体内投与7~10日間, 12日以内に研究報告書を出ます

用途: 標的薬、血管新生、ADC、PROTAC、化学薬品、IO薬

サンプルタイプ: 生検、胸水、手術

成功率: 24時間以内にQCを通過した場合、成功率は約100%

臨床との相関: 82%

特許: OncoVee MiniPDX® は特許製品

用途: 補助療法; 2~5ライン治療; 薬剤効果の順位付け



400-821-0176
www.lidebiotech.com

生命を科学する 明日の医療を切り拓く

実験医学

月刊	毎月1日発行 B5判 定価 2,530円 (本体 2,300円+税10%)
増刊	年8回発行 B5判 定価 6,160円 (本体 5,600円+税10%)

<定期購読のご案内>

冊子のみ	■通常号(月刊)	→ 30,360円
	■通常号(月刊)+増刊	→ 79,640円
冊子+WEB版	■通常号(月刊)+WEB版(月刊)	→ 35,640円
	■通常号(月刊)+増刊+WEB版(月刊)	→ 84,920円

※表示価格は税10%込みです

スマホで読める 実験医学

「実験医学」を記事ごとに購入できる!



がん関連線維芽細胞CAFの正体が みえてきた

腫瘍の進展を促進するのか?抑制するのか?
多様なCAFの姿を知り、新たな治療戦略へ
榎本 篤/企画

月刊
2024年
7月号

オルガノイドがもたらすライフサイエンス革命

あなたの研究に、どう使う?進化と深化を生む未来型研究30選
武部貴則/編

増刊
Vol.42
No.5



新刊

会長 近藤 格先生 ご執筆!

がんゲノム ペディア

77のキーワードで理解する
ゲノム医療とゲノム研究



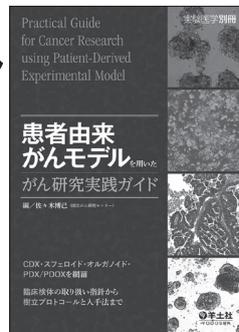
柴田龍弘/編

■定価 7,480円 (本体 6,800円+税10%)
■B5判 ■255頁 ■ISBN 978-4-7581-2130-9

実験医学別冊

患者由来がんモデル を用いたがん研究実践ガイド

CDX・スフェロイド・オルガノイド・
PDX/PDOXを網羅
臨床検体の取り扱い指針から
樹立プロトコルと入手法まで



佐々木博己/編

■定価 15,400円 (本体 14,000円+税10%)
■B5判 ■294頁 ■ISBN 978-4-7581-2242-9

実験医学別冊

ヒト生体試料・ データ

取扱い実践ハンドブック

適切なサンプル・データ取得から
バイオバンク利活用、法規制まで、
必須知識と標準フローをこの1冊に凝縮

森崎隆幸, 西原広史, 宮地勇人/監,
日本生物資源産業利用協議会, 荻島創一/編

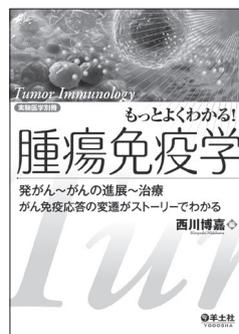
■定価 11,000円 (本体 10,000円+税10%)
■B5判 ■270頁 ■ISBN 978-4-7581-2265-8



実験医学別冊 もっとよくわかる!シリーズ

もっとよくわかる! 腫瘍免疫学

発がん〜がんの進展〜治療
がん免疫応答の変遷がストーリーでわかる



西川博嘉/編

■定価 5,500円 (本体 5,000円+税10%)
■B5判 ■167頁 ■ISBN 978-4-7581-2212-2

実験医学別冊 最強のステップUPシリーズ

ライトシート 顕微鏡実践ガイド 組織透明化& ライブイメージング

臓器も個体も“まるごと”観る!
オールインワン型からローコストDIY顕微鏡まで
洲崎悦生/編

■定価 9,900円 (本体 9,000円+税10%)
■B5判 ■203頁 ■ISBN 978-4-7581-2268-9



実験医学別冊 最強のステップUPシリーズ

空間オミクス解析 スタートアップ実践ガイド

最新機器の特徴と目的に合った選び方、
データ解析と応用例を学び、
シングルセル解析の一步その先へ!



鈴木 稜/編

■定価 8,580円 (本体 7,800円+税10%)
■B5判 ■244頁 ■ISBN 978-4-7581-2261-0

発
行
羊土社
YODOSHA

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町2-5-1 TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212
E-mail : eigyo@yodosha.co.jp URL : www.yodosha.co.jp

ご注文は最寄りの書店、または小社営業部まで

日本患者由来がんモデル学会
日本ヒト細胞学会
合同学術集会2024

抄録集

目次

ご挨拶	2
Time Schedule	3
プログラム	4
特別講演	10
オーガナイザー	16
シンポジウム1	18
シンポジウム2	24
シンポジウム3	32
シンポジウム4	38
シンポジウム5	48
シンポジウム6	54
シンポジウム7	60
企業講演	70
一般講演	75

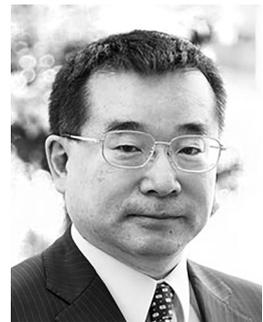
ご挨拶

開催にあたって

このたび日本患者由来がんモデル学会と日本ヒト細胞学会の合同学術集会を2024年8月21-23日(水、木、金)に国立がん研究センター研究所にて開催する運びとなりました。日本患者由来がんモデル学会には主に臨床検体を使ったがんモデルの樹立や応用に携わる研究者が参加し、日本ヒト細胞学会には主にモデル系の臨床応用に向けた研究を行っている研究者が参加し、日ごろの研究の成果を発表してきました。研究の考え方やアプローチそして段階に違いはあるものの、最終的には研究成果を臨床に還元するという点では二つの学会は共通しています。このようなことから、今年は二つの学会が合同で学術集会を開催し、議論をより発展させたいと考えています。培養細胞、オルガノイド、ゼノグラフトなどのモデル系の開発は、樹立方法に加えて目的や使用方法も多様です。本学術集会では、がんの本態解明や治療成績の向上につながる成果を目指して、基礎から臨床まで最新的话题を取り上げ、基礎研究者から臨床医までさまざまな背景をもつ方々が御講演されます。多分野の研究者が集まり議論することで、思いがけないアイデアを得たり新しい共同研究を開始したりできることを期待しています。

末筆ながら、皆様の臨床・研究・ビジネスの益々のご発展をお祈り申し上げます。

近藤 格
国立がん研究センター研究所
希少がん研究分野 分野長



Time Schedule

8月21日(水) 1日目

9:10	開催の挨拶	近藤 格(国立がん研究センター研究所)
9:20	施設長より挨拶	間野 博行(国立がん研究センター研究所)
9:30	シンポジウム1	「培養細胞、オルガノイド、PDX:改めて、その使い方」 宮城 洋平(神奈川県立がんセンター)
10:50	休憩	
11:00	特別講演1	「創薬、診断に有用な「がん悪液質Patient-Derived Xenograft (PDX)モデル」 の樹立とその利活用」 上園 保仁(東京慈恵会医科大学)
11:50	休憩	
12:10	企業講演1	ミルテニーバイオテック株式会社
13:00	休憩	
13:10	一般講演	(日本ヒト細胞学会)
15:10	休憩	
15:20	シンポジウム2	「学際的な研究の場を提供するがんモデル」 近藤 格(国立がん研究センター研究所)
16:40	休憩	
16:50	ポスターセッション1・企業展示1	
18:00	一日目終了	

8月22日(木) 2日目

9:00	シンポジウム3	「オルガノイド試験による治療選択」 井上 正宏(京都大学)
10:20	休憩	
10:30	シンポジウム4	「がん三次元培養研究から実臨床へ」 後藤 典子(金沢大学)
11:50	休憩	
12:10	企業講演2	株式会社ナレッジパレット
13:00	休憩	
13:10	特別講演2	「疾患特異的iPS細胞を用いた研究の現状と展望」 林 洋平(理化学研究所)
14:00	休憩	
14:10	シンポジウム5	「CAMモデルの現状と将来」 玉野井 冬彦(京都大学)、宇都 義浩(徳島大学)
15:30	休憩	
15:40	企業講演3	Shanghai Lide Biotech Co., Ltd.
16:30-18:00	ポスターセッション2・企業展示2	
17:30	日本ヒト細胞学会・総会・評議委員会	
18:00	二日目終了 移動	
19:00	懇親会	

8月23日(金) 3日目

9:00	シンポジウム6	「患者由来オルガノイドを活用した癌研究の展開」 筆宝 義隆(千葉県がんセンター研究所)
10:20	休憩	
10:30	特別講演3	「がんモデルから考える肉腫の発生機構と治療開発」 田中 美和(がん研究会)
11:20	休憩	
11:30	企業講演4	Somalogic/フォーネスライフ
12:00	休憩	
12:10	企業講演5	株式会社Crown Bioscience & MBL
13:00	休憩	
13:10	ポスターセッション3・企業展示3	
14:10	休憩	
14:20	シンポジウム7	(日本ヒト細胞学会) 野口 玲(国立がん研究センター研究所)
16:50	休憩	
17:00	表彰式(両学会)	
17:20	閉会の挨拶	

プログラム

特別講演

特別講演 1

創薬、診断に有用な「がん悪液質Patient-Derived Xenograft (PDX)モデル」の樹立とその利活用

上園 保仁

東京慈恵会医科大学 疼痛制御研究講座/国立がん研究センター東病院支持緩和研究開発支援室

特別講演 2

疾患特異的iPS細胞を用いた研究の現状と展望

林 洋平

国立研究開発法人理化学研究所バイオリソース研究センターiPS細胞高次特性解析開発チーム/
筑波大学医学医療系(連携大学院)&グローバル教育院(協働大学院)

特別講演 3

がんモデルから考える肉腫の発生機構と治療開発

田中 美和

公益財団法人がん研究会 がん研究所がんエピゲノムプロジェクト

シンポジウム1: 培養細胞、オルガノイド、PDX: 改めて、その使い方

座長: 宮城 洋平 (神奈川県立がんセンター 臨床研究所)

シンポジウム1-1

細胞株の特性変化に応じた細胞情報のアップデート

笠井 文生

理化学研究所 バイオリソース研究センター 細胞材料開発室

シンポジウム1-2

ヒトiPS細胞由来-肺オルガノイド創薬/毒性評価 -空間オミックス配備型プラットフォーム-

鈴木 敏夫

HiLung Inc. Head of Translational Science/千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学

シンポジウム1-3

患者由来モデルを基軸とした悪性脳腫瘍に対するトランスレーショナル研究

立石 健祐

横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科/横浜市立大学大学院生命医科学研究科 創薬再生科学研究室

シンポジウム2: 学際的な研究の場を提供するがんモデル

座長: 近藤 格 (国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野)

シンポジウム2-1

Air-liquid interface法を用いた肉腫オルガノイドモデルの開発

若松 透

大阪国際がんセンター 骨軟部腫瘍科

シンポジウム2-2

がんの自然発症動物モデルとして「イヌ」を用いたComparative Oncology

前田 真吾

東京大学 獣医臨床病理学研究室

シンポジウム2-3

黎明期研究に学ぶオルガノイドの活用法

佐々木 伸雄

群馬大学生体調節研究所 粘膜エコシステム制御分野

シンポジウム2-4

肉腫である私のこと

今井 央子

肉腫(サルコーマ)の会たんぽぽ

シンポジウム3:オルガノイド試験による治療選択

座長:井上 正宏 (京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究 開発講座)

シンポジウム3-1

BMP経路を標的とした大腸がん新規治療の可能性

近藤 純平

大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学講座

シンポジウム3-2

患者由来がん幹細胞スフェロイドを利用した個別化併用療法の探索

三好 弘之

京都大学医学部附属病院 先端医療研究開発機構 大腸がん新個別化治療プロジェクト

シンポジウム3-3

極性状態に焦点を当てた大腸がん細胞集団の機能解析と治療戦略

小沼 邦重

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座

シンポジウム4:がん三次元培養研究から実臨床へ

座長:後藤 典子 (金沢大学 がん進展制御研究所 分子病態研究分野)

シンポジウム4-1

卵巣がん・乳がんの患者由来三次元培養モデルの確立とその応用

井上 聡

東京都健康長寿医療センター研究所システム加齢医学/埼玉医科大学医学部ゲノム応用医学

シンポジウム4-2

FXYD3陽性祖先がん幹細胞は抗がん剤ならびに放射線に対する tolerant persistersである

後藤 典子

金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野

シンポジウム4-3

患者由来癌モデルを用いたがんエコシステム解明

関根 圭輔

国立がん研究センター研究所 がん細胞システム研究ユニット

シンポジウム4-4

患者由来肺癌オルガノイドライブラリーを用いた肺癌不均一性の分子理解

安田 浩之

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

シンポジウム4-5

がん三次元培養と空間的オミクス解析の統合によるがん難治性の解明

岡本 康司

帝京大学 先端総合研究機構

シンポジウム5: CAMモデルの現状と将来

座長: 玉野井 冬彦 (京都大学高等研究院 物質一細胞統合システム 拠点所)

宇都 義浩 (徳島大学大学院 社会産業理工学研究部・生物資源産業学域/
京都大学大学院医学研究科)

シンポジウム5-1

患者由来鶏卵モデル「歴史から未来を創造する」

大豆本 圭

徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野

シンポジウム5-2

膵癌Classicalサブタイプ研究とCAMモデル

馬場 泰輔

名古屋大学 腫瘍外科

パネルディスカッション

CAMアッセイの全国展開

渡部 隆義

千葉がんセンター研究所発がん制御部

土岐 俊一

静岡県立静岡がんセンター整形外科

斎藤 伴樹

京都大学医学部附属病院腫瘍内科

シンポジウム6: 患者由来オルガノイドを活用した癌研究の展開

座長: 筆宝 義隆 (千葉県がんセンター研究所)

シンポジウム6-1

患者由来オルガノイドモデルを用いたHPV発癌の検討

田口 歩

大阪大学免疫学フロンティア研究センター

シンポジウム6-2

Patient-derived organoids を用いた同所移植モデルマウスの利用

山崎 昌哉

公益財団法人がん研究会 がん研究所 発がん研究部

シンポジウム6-3

患者由来胆管癌オルガノイドを用いたNCYM標的薬の開発

末永 雄介

千葉県がんセンター研究所 進化腫瘍学研究室

シンポジウム7 (日本ヒト細胞学会)

座長:野口 玲 (国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野)

シンポジウム7-1

脳卒中・神経外傷の疾患モデルによる創薬開発と再生医療

丸島 愛樹

筑波大学医学医療系 脳神経外科 臨床再生医療研究室

シンポジウム7-2

ヒトの尿酸値に影響する遺伝子変異とモデル系

中山 昌喜

防衛医科大学校 分子生体制御学講座

シンポジウム7-3

希少がん細胞株を用いた新規治療標的の探索

吉松 有紀

栃木県立がんセンター 研究所

シンポジウム7-4

歯髄MSC:自家幹細胞ソースとしての応用可能性

中原 貴

日本歯科大学生命歯学部 発生・再生医科学講座

シンポジウム7-5

市中病院のバイオバンクにおけるオンデマンド型利活用:促進するがんモデル

岩屋 啓一

佐々木研究所附属杏雲堂病院病理部 サンプルセンター

企業講演

企業講演 1

空間情報を駆使したマルチプレックスイメージャーMACSima™ System

中山 創平

ミルテニーバイオテック株式会社 マーケティング部

企業講演 2

1世界最高精度のトランスクリプトーム解析技術のがん研究への応用

團野 宏樹

株式会社ナレッジパレット

企業講演 3

MiniPDX® の臨床的適応症の同定と抗腫瘍薬の開発への応用イトル

キャンディス・タン

Shanghai Lide Biotech Co., Ltd.

企業講演 4

アプタマーによるプロテオーム解析

唐澤 毅

Somalogic

企業講演 5

がん免疫サイクル(CIC)に対する治療効果を精査するための先進的なin vitroテクノロジー

市川 克臣

株式会社Crown Bioscience & MBL

一般講演

* 研究奨励賞対象

演題1

成人T細胞白血病 (ATL) のプロテオーム解析; 同定タンパク質と病態進展因子Taxの発現相関

須藤 遥¹、殿山 泰弘²、池辺 詠美³、長谷川 寛雄⁴、伊波 英克⁵、石田 洋一¹

¹ 湘南医療大学薬学部 生化学研究室 ² 湘南医療大学薬学部 実習センター

³ 国立感染症研究所 ⁴ 長崎大学病院 検査部 ⁵ 大分大学医学部 微生物学講座

演題2

Curcumin derivatives (PGV-1 and CCA-1.1) induce JNK-mediated apoptosis and decrease MYCN and NCYM protein levels in neuroblastoma

Ummi Maryam Zulfin¹, Kazuma Nakatani¹, Daisuke Muto¹, Rohmad Yudi Utomo³,

Edy Meiyanto³, Yoshitaka Hippo^{1,2}, Yusuke Suenaga¹

¹ Laboratory of Evolutionary Oncology, Chiba Cancer Center Research Institute

² Laboratory of Precision Tumor Model Systems, Chiba Cancer Center Research Institute

³ Cancer Chemoprevention Research Center, Yogyakarta, Indonesia

演題3

ニオイコブシの香りによる乳癌治療の研究

長田 拓哉、岡 由希、佐々木 彩、渡邊 学、斉田 芳久

東邦大学医療センター大橋病院

演題4

大腸がんの個別化医療に向けての薬剤探索: 網羅的キナーゼ活性解析と薬剤感受性試験を用いて

野口 玲¹、安達 雄輝¹、小野 拓也¹、吉松 有紀²、佐々木 一樹³、近藤 格¹

¹ 国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野 ² 栃木県立がんセンター研究所

³ 佐々木研究所附属佐々木研究所 ペプチドミクス研究部

演題5

家族性腺腫性 (FAP) の大腸がん発がんにおける腸内細菌の関連性

水谷 紗弥佳

東京工業大学 生命理工学院室

演題6

*

世界初の再発骨巨細胞腫 (Giant Cell Tumor of Bone: GCTB) 細胞株樹立と特性評価: 薬物治療の最適化を目指して

安達 雄輝

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野

演題7

*

不死化遺伝子非導入WHO grade 1 良性髄膜腫細胞株の 低酸素培養による樹立

石川 隆昭¹、松田 真秀²、石川 博³、豊村 順子³、大山 晃弘³、坂本 規彰⁴、
Alexander Zaboronok²、石川 栄一²

¹ 筑波大学大学院人間総合科学学術院医学学位プログラム ² 筑波大学医学医療系脳神経外科

³ 筑波大学脳神経外科臨床再生医療研究室 ⁴ 筑波大学医学医療系診断病理学

演題8

*

非胸膜由来の孤立性線維性腫瘍 (Solitary Fibrous Tumor: SFT) の世界初の細胞株樹立と特性評価

岩田 秀平

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野

演題9

*

異なる制御性T細胞様免疫抑制活性を有するCD13陽性およびCD13陰性ペアHTLV-1感染T細胞株の樹立

江川 優貴

高知大学大学院修士課程医科学専攻2年 (高知大学医学部微生物学講座)

- 演題10** * **融合遺伝子をもつ肉腫に対する新規治療法開発：
患者由来がんモデルを用いたpharmaco-proteomics**
大崎 珠理亜
国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野
- 演題11** * **LRP11はUBA7発現を抑制し、肺腺癌の増殖を亢進させる**
木脇 拓道、川口 真紀子、福島 剛、佐藤 勇一郎
宮崎大学医学部 病理学講座 腫瘍形態病態学分野
- 演題12** * **臍帯 MSC におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの脱硫酸化による
石灰化の促進**
小林 朋子¹、望月 真衣^{1,2}、中原 貴¹
¹日本歯科大学生命歯学部発生・再生医科学講座 ²日本歯科大学生命歯科学講座
- 演題13** * **Tumor-microvessel on-a-chipによる
がん細胞クラスターの血管侵入現象の解析**
近藤 誠¹、池田 行徳¹、末弘 淳一²、大島 浩子³、高橋 和樹^{1,4}、渡部 徹郎⁴、
大島 正伸³、松永 行子¹
¹東京大学 生産技術研究所 ²杏林大学 医学部
³金沢大学 がん進展制御研究所 ⁴東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
- 演題14** * **比較腫瘍学による新しい治療法開発に向けた試み
イヌ肺がんオルガノイドにおける分子異常と分子標的薬の同定**
塩田 よもぎ
東京農工大学大学院農学研究院/国立がん研究センター希少がん研究分野
- 演題15** * **ヒトのビタミンC輸送体による尿酸輸送：分子特性の特定および
新規実験系開発に向けた応用**
豊田 優^{1,2}、宮田 大資²、松尾 洋孝^{1,3}、高田 龍平²
¹防衛医科大学校 分子生体制御学講座 ²東京大学医学部附属病院 薬剤部
³防衛医科大学校 防衛医学研究センター バイオ情報管理室
- 演題16** * **Functional analysis of de novo gene NCYM in the human brain**
中谷 一真
千葉県がんセンター 進化腫瘍学研究室
- 演題17** * **内視鏡検体を用いた患者由来胃癌細胞株の樹立と有効薬剤の検索
～新規治療法の開発を目指して～**
林 雅人¹、野口 玲²、大崎 珠里亜²、安達 雄輝²、岩田 秀平²、佐々木 一樹¹、
近藤 格²、吉松 有紀¹
¹栃木県立がんセンター ²国立がん研究センター 希少がん研究分野
³佐々木研究所付属杏雲堂病院 ペプチドミクス研究部
- 演題18** * **Differentiation of the motor neurons from reprogrammed DPSC**
Arnela Mujagić, Aiki Marushima, Hiroshi Ishikawa, Yuji Matsumaru, Eiichi Ishikawa
Laboratory of Clinical Regenerative Medicine, Department of Neurosurgery and Stroke, Faculty of
Medicine, University of Tsukuba

創薬、診断に有用な「がん悪液質 Patient-Derived Xenograft (PDX)モデル」の樹立とその利活用

上園 保仁

東京慈恵会医科大学 疼痛制御研究講座 特任教授

がん悪液質は、「通常の栄養サポートでは完全に回復することができず、進行性の機能障害に至る、骨格筋量の持続的な減少（脂肪量減少の有無を問わない）を特徴とする多因子性の症候群」と定義される。確立された成因はなく、おそらく多因子による発症であると考えられている。成因が不明であるため治療としては対症療法がメインであり、現在グレリンアゴニスト、アナモレリンのみが治療薬として承認されている。その他、ステロイド製剤、漢方薬の補剤である人参養栄湯や、グレリンシグナルエンハンサーとして知られる六君子湯などが食欲促進等を目的としてがん悪液質の症状改善に用いられている。がん悪液質における新薬開発が急務であることは論を待たないが、がん悪液質の本態解明、それに基づく新薬開発における最大の障壁は、「ヒトの臨床症状を示すがん悪液質モデルの欠如」である。

がん治療薬の開発において問題となるのは、臨床研究の際の新薬の効果と細胞を用いた非臨床試験の結果との乖離である。昨今ではこの谷間を埋めるため、患者由来の組織を用いた患者情報を有している動物モデル、いわゆる Patient-derived Xenograft (PDX) モデルの開発およびその利活用が注目を浴びている。

PDX モデルの開発ならびにその収集事業が国立がん研究センターにおいて行われている。私たちは国立がん研究センターと協働して、収集された数百におよぶ PDX モデルの中に持続的体重減少をきたす 8 例が存在することに注目し、この 8 例を用いてヒト悪液質診断基準を満たす、いわゆる「がん悪液質 PDX モデル」の樹立をめざすこととした。幸いにしてこのプロジェクトは AMED 革新的がん医療実用化研究事業領域1「ヒトがん悪液質を反映する独自樹立悪液質モデルを用いての悪液質の本態解明、ならびに創薬、診断に有用な「がん悪液質 PDX モデル」の確立とその活用」(2022～2024 年度)として採択され、現在「がん悪液質 PDX モデル」の樹立ならびに同モデルを用いたがん悪液質の本態解明および新薬開発研究を進めているところである。

本会では、同研究において 8 例のモデルが「がん悪液質 PDX モデル」として樹立できたのか等について、今まに行われている研究の進捗を紹介する。

【社会活動】

日本薬理学会 理事（2016年～2020年） 監事（2022年～2024年）、日本緩和医療学会 会員（2007年～）、日本癌学会 会員（2009年～）、日本サポーターティブケア学会 評議員（2017年～） 漢方部会副部会長（2016年～）、国際個別化医療学会 理事（2023年～）、Asian Working Group for Cachexia (AWGC) 日本癌学会代表委員（2021年～）

【研究費】

国立がん研究センター研究開発費シーズ選定：抗がん剤による心毒性を改善するデスアシルグレリンの受容体同定並びに構造 - 活性相関解析に基づく心毒性予防・治療薬を開発できるプラットフォーム構築（代表、2018年度）

日本医療研究開発機構：革新的がん医療実用化研究事業：外科的がん切除後のデクスメトミジンによる鎮静に不応な重症せん妄発症を予測するバイオマーカーの開発（代表、2018-2020年度）

日本医療研究開発機構：革新的がん医療実用化研究事業：ヒトがん悪液質を反映する独自樹立悪液質モデルを用いての悪液質の本態解明、ならびに創薬、診断に有用な「がん悪液質 PDX モデル」の確立とその活用（代表、2022-2024年度）

【論文】

1. Terawaki K, Uezono Y, et al. New cancer cachexia rat model generated by implantation of a peritoneal dissemination-derived human stomach cancer cell line. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 306 (4): E373-E387, 2014.
2. Terawaki K, Uezono Y, et al. Leukemia inhibitory factor via the Toll-like receptor 5 signaling pathway involves aggravation of cachexia induced by human gastric cancer-derived 85As2 cells in rats. *Oncotarget*, 9 (78): 34748-34764, 2018.
3. Sudo Y, Uezono Y, et al. Differential metabolic responses to adipose atrophy associated with cancer cachexia and caloric restriction in rats and the effect of rikkunshito in cancer cachexia. *Int J Mol Sci*, 19 (12): 3852, 2018.
4. Nonaka M, Uezono Y, et al. Cancer treatment-related cardiovascular disease: current status and future research priorities. *Biochem Pharmacol*, 190: 114599, 2021.
5. Arai H, Uezono Y, et al. Diagnosis and outcomes of cachexia in Asia: Working consensus report from the Asian Working Group for Cachexia. *J Cachexia, Sarcopenia Muscle*, 14 (5): 1949-1958, 2023.



上園 保仁

東京慈恵会医科大学 疼痛制御研究講座 特任教授

- 1985年 産業医科大学卒業、医師免許取得
1989年 産業医科大学大学院修了、医学博士取得
1991年 米国カリフォルニア工科大学留学
2004年 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内臓薬理学 助教授
2009年 国立がんセンター研究所がん患者病態生理研究部 部長
2015年 同センター先端医療開発センター支持療法開発分野 分野長 兼任
2020年 東京慈恵会医科大学疼痛制御研究講座 特任教授
2020年 国立がん研究センター東病院支持・緩和研究開発支援室 特任研究員 併任

疾患特異的iPS細胞を用いた研究の現状と展望

林 洋平

理化学研究所バイオリソース研究センター
iPS細胞高次特性解析開発チーム チームリーダー

これまで国のプロジェクトで、厚生労働省指定の難治性疾患を中心として、多数の罹患者から疾患特異的 iPS 細胞を作製された。現在、私が所属している理研バイオリソース研究センター (BRC) における細胞材料開発室 (細胞バンク) が寄託を受けている疾患特異的 iPS 細胞は、423 疾患をカバーし、934 人の罹患者に由来する、3,609 株に達している。また、日本人健常者由来 iPS 細胞も 130 名分、718 株が寄託されている。これらの疾患特異的 iPS 細胞は、従来の実験動物モデルを代替、あるいは補完する汎用実験ツールとして、疾患研究や創薬研究に活用されている。

私が主宰する「iPS 細胞高次特性解析開発チーム」は、これらの難病患者由来の疾患特異的 iPS 細胞の活用を促進するため、2018 年4月に設立された。それまでに寄託された疾患特異的 iPS 細胞の多くは、その基本的な特性が解析されていないこと、希少疾患に関しては、十分な患者数の iPS 細胞株が確保できていないこと、疾患症状の対象となる細胞種を分化誘導する技術が未熟であること、それらの課題を解決を目指しながら、iPS 細胞株の特性解析と病態モデル解析を行っている。

また、昨今のゲノム編集技術の発展を受け、当チームでは、以下のゲノム編集 iPS 細胞株の作製、技術開発を行っている。(1) 原因遺伝子が特定されている疾患の iPS 細胞に関して、ゲノム編集技術等を用いて原因遺伝子を正常遺伝子に置換し、比較対照細胞 (isogenic control cells) を作製している。(2) 原因遺伝子が特定されている疾患であり、寄託細胞数 (由来患者数) が少ない疾患に関して、ゲノム編集技術を用いて正常遺伝子を病因遺伝子に置換し、疾患特異的 iPS 細胞を人工的に作製している。(3) 特定の分化状態や細胞状態より簡便に検出できるよう、組織特異的および (または) 分化段階特異的プロモーターによってマーカー (蛍光タンパク質等) を発現するレポーター iPS 細胞を作製している。

さらに、疾患特異的 iPS 細胞を用いた独自の難病研究・創薬研究を推進するために、その培養・操作・解析技術を開発している。これらの研究開発を通じて、疾患特異的 iPS 細胞をより汎用的な研究ツールとして普及させるとともに、急速に進歩する AI (人工知能) 技術、光学技術、材料化学技術などを取り入れ、解析方法を用いて、従来は困難であった難病の病態機構の解明や治療法の創出を目指している。

【表彰】

茨城県科学技術振興財団 「つくば奨励賞 若手研究者部門」(2019 年)、筑波大学若手教員特別奨励賞 (2018)、平成 30 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞 (2018 年)、日本組織培養学会奨励賞 第 78 回日本組織培養学会大会 (2005 年)、Young Investigator Award 第 52 回マトリックス研究会大会 (2005 年)

【社会活動】

日本再生医療学会 代議員、チーム U45 メンバー（若手研究者の会）、産業推進委員会委員・書記（2021 -）、日本組織培養学会：理事、細胞培養指導士、また、これまで複数の国際ジャーナルのエディターを務めている。

【研究費（現在のみ）】

日本医療研究開発機構：再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム：疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明・創薬研究課題「疾患特異的 iPS 細胞の樹立・特性解析・加工の高度化・効率化・情報公開」（代表、2024 年度 -2026 年度）、「患者由来 iPS 細胞を用いた胆道異常の病態モデリングと治療法開発」（代表、2024 年度 -2025 年度）

【論文】

1. Nakade K, Tsukamoto S, Nakashima K, An Y, Sato I, Li J, Shimoda Y, Hemmi Y, Miwa Y, **Hayashi Y**. Efficient selection of knocked-in pluripotent stem cells using a dual cassette cellular elimination system. *Cell Rep Methods*. 2023 Dec 18;3(12):100662.
2. Song D, Takahashi G, Zheng YW, Matsuo-Takasaki M, Li J, Takami M, An Y, Hemmi Y, Miharada N, Fujioka T, Noguchi M, Nakajima T, Saito MK, Nakamura Y, Oda T, Miyaoka Y, **Hayashi Y**. Retinoids rescue ceruloplasmin secretion and alleviate oxidative stress in Wilson's disease-specific hepatocytes. *Hum Mol Genet*. 2022 Oct 28;31(21):3652-3671.
3. Borisova E, Nishimura K, An Y, Takami M, Li J, Song D, Matsuo-Takasaki M, Luijckx D, Aizawa S, Kuno A, Sugihara E, Sato TA, Yumoto F, Terada T, Hisatake K, **Hayashi Y**. Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency. *iScience*. 25(1):103525, 2021.
4. **Hayashi Y**, Matsumoto J, Kumagai S, Morishita K, Xiang L, Kobori Y, Hori S, Suzuki M, Kanamori T, Hotta K, Sumaru K. "Automated Adherent Cell Elimination by a High-Speed Laser Mediated by a Light-Responsive Polymer." *Communications Biology*, 1: 218, 2018
5. Bershteyn M*, **Hayashi Y***, Desachy G, Hsiao EC, Sami S, Tsang KMJ, Weiss LA, Kriegstein AR, Yamanaka S, Wynshaw-Boris A. "Cell-Autonomous Correction of Ring Chromosomes in Human Induced Pluripotent Stem Cells." *Nature* 507(7490): 99-103, 2014. (*Equally contributed)



林 洋平

理化学研究所バイオリソース研究センター
iPS細胞高次特性解析開発チーム チームリーダー

- 2004年 東京大学教養学部生命・認知科学科卒業
- 2009年 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻 修了
- 2009年 米国Gladstone Institute of Cardiovascular Diseases, Yamanaka Lab 博士研究員
- 2015年 株式会社iPSポータル 主任
- 2016年 筑波大学医学医療系 遺伝子制御学研究室 助教
- 2018年 理化学研究所バイオリソース研究センター
iPS細胞高次特性解析開発チーム チームリーダー
- 2023年 筑波大学グローバル教育院 教授（協働大学院）

がんモデルから考える肉腫の発生機構と治療開発

田中 美和

公益財団法人がん研究会
がん研究所がんエピゲノムプロジェクト主任研究員

肉腫のゲノム・エピゲノム異常の情報は、近年の技術革新によって、疾患の本態解明や診断、治療の進歩に大きく貢献している。多彩な間葉系幹・前駆細胞が獲得したゲノム異常は、肉腫発生の根本原因となっているが、個々の腫瘍型における変異プロファイルは肉腫の多様性を反映している。成人の肉腫の大半は、腫瘍型特異的な変異が乏しく、Common Cancerと同様にMYC、TP53、RB等のドライバー変異の蓄積が認められる。一方で、染色体の構造異常に起因する融合遺伝子の陽性率は全肉腫中30%と、全がんの中で肉腫に突出して高い。EWS-FLI1、FUS-DDIT3、SS18-SSX1/2、ASPSCR1-TFE3などの融合遺伝子は、腫瘍型特異的で診断的価値が高く、発生起源と深く関係している。肉腫で見られる融合遺伝子の大部分は、異常な転写因子をコードするドライバー変異であり、エピゲノム異常を誘導して発症と悪性化の鍵となっている。

我々はこれまでに、発生起源と考えられる幼若なマウス間葉系細胞にヒト融合遺伝子を導入して、ヒトの肉腫の形質をよく模倣するモデルマウス（Ewing肉腫、CIC再構成肉腫、胞巣状軟部肉腫、滑膜肉腫、間葉性軟骨肉腫）を確立してきた。モデルマウスを樹立し解析することにより、「発生起源の同定」「鑑別に有用なバイオマーカーの特定」「がん微小環境形成機構の解明」「前臨床モデルとしての治療薬の開発や評価」等、様々な情報を得ることができる。モデル動物から得られた知見は臨床検体やin vitro実験で検証し、臨床検体から得られた知見をin vivoで証明するといったサイクルを回しながら、少しでもがんの本態解明に近づきたいと考えている。

モデルマウスの解析を通じて、胞巣状軟部肉腫（ASPS）と間葉性軟骨肉腫において、原因融合遺伝子ASPSCR1-TFE3とHEY1-NCOA2が腫瘍細胞の特性を決めるスーパーエンハンサーをダイナミックに改変し、細胞増殖や未分化性の維持とがん微小環境の構築に深く関与していることを明らかにした。さらにASPSにおいては、腫瘍と微小環境の形成に必須な分子として、RAB27AとSYTL2をCRISPR/dCas9エピゲノムスクリーニングで同定した。現在、RAB27AとSYTL2との結合を狙ったがん微小環境の形成を阻害する新規治療法の開発を進めている。

肉腫において分子標的治療が有効な対象となる異常は、消化管間質腫瘍のKITや、NTRK再構成肉腫のNTRK1/2/3など少数に限られている。このようにシグナル分子の変異が少なく、既存のエピゲノム治療薬は特異性が低いことから、肉腫のゲノム・エピゲノム異常の情報を活かす治療法の開発が望まれる。そこで、cis因子を狙ったエピゲノム編集技術を用いた遺伝子治療など先端技術の開発についても紹介したい。

【学会賞】

2017年日本病理学会学術研究賞(A演説)、2024年日本がん転移学会女性研究者がん転移研究グラント賞

【社会活動】

日本病理学会・評議員(2015年～)、日本癌学会・評議員(2019年～)・広報委員(2020年～2023年)、日本サルコーマ治療研究学会・評議員(2020年～)、日本がん転移学会・評議員(2024年～)、日本血管生物医学会・評議員(2024年～)、日本学術会議・連携会員(2024年～)など

【論文】

1. Chuaychob S, Lyu R, Tanaka M, Haginiwa A, Kitada A, Nakamura T, Yokokawa R. Mimicking angiogenic microenvironment of alveolar soft-part sarcoma in a microfluidic coculture vasculature chip. *Proc Natl Acad Sci USA*, 121(13): e2312472121, 2024.
2. Tanaka M, Homme M, Teramura Y, Kumegawa K, Yamazaki Y, Yamashita K, Osato M, Maruyama R, Nakamura T. HEY1::NCOA2 expression modulates chondrogenic differentiation and induces mesenchymal chondrosarcoma in mice. *JCI Insight*, 8(10): e160279, 2023.
3. Tanaka M, Chuaychob S, Homme M, Yamazaki Y, Lyu R, Yamashita K, Ae K, Matsumoto S, Maruyama R, Qu W, Miyagi Y, Yokokawa R, Nakamura T. ASPSCR1::TFE3 orchestrates the angiogenic program of alveolar soft part sarcoma. *Nat Commun*, 14(1):1957, 2023.
4. Tanaka M and Nakamura T. Targeting epigenetic aberrations of sarcoma in CRISPR era. *Genes Chromosomes Cancer*, DOI: 10.1002/gcc.23142, 2023.
5. Tanaka M and Nakamura T. Modeling fusion gene-associated sarcoma: Advantages for understanding sarcoma biology and pathology. *Pathol Int.*, 71:643-654, 2021.



田中 美和

公益財団法人がん研究会
がん研究所がんエピゲノムプロジェクト主任研究員

2002年 名古屋大学大学院医学系研究科修了
2002年 名古屋大学大学院医学系研究科法医生命倫理学特任助手
2004年 朝日大学歯学部歯学科口腔病理学助教
2006年 財団法人癌研究会癌研究所発がん研究部博士研究員
2014年 公益財団法人がん研究会がん研究所発がん研究部研究員
2022年 公益財団法人がん研究会がん研究所がんエピゲノムプロジェクト主任研究員、東京医科大学医学総合研究所・客員准教授

シンポジウム1



宮城 洋平

神奈川県立がんセンター
臨床研究所

シンポジウム2



近藤 格

国立がん研究センター研究所
希少がん研究分野

シンポジウム3



井上 正宏

京都大学大学院医学研究科
クリニカルバイオリソース研究
開発講座

シンポジウム4



後藤 典子

金沢大学
がん進展制御研究所
分子病態研究分野

シンポジウム 5



玉野井 冬彦

京都大学高等研究院
物質-細胞統合システム
拠点



宇都 義浩

徳島大学大学院
社会産業理工学研究部・
生物資源産業学域/
京都大学大学院医学研究科

シンポジウム 6



筆宝 義隆

千葉県がんセンター研究所

シンポジウム 7



野口 玲

国立がん研究センター研究所
希少がん研究分野

細胞株の特性変化に応じた細胞情報のアップデート

笠井 文生

理化学研究所 バイオリソース研究センター 細胞材料開発室

細胞株は患者由来がんモデルとして長い歴史がある。細胞レベルの実験材料として共有でき、汎用性が高い。そのような細胞株の多くは初期の時代に樹立され、40 - 50 年以上も世界中で広く利用されている。がん細胞株は無限増殖能を有する不死化細胞として大きな魅力がある。それとは対照的に、がん細胞は増殖に伴い進化するため、細胞株では細胞培養を通じて意図せず細胞特性が変化するリスクがある。その結果、細胞特性は初期の細胞情報と相違が生じ、細胞名が同じでも細胞特性が異なるケースがある。近年、細胞株の解析結果がデータベースに多数登録されているが、同一名の細胞株間にみられる不一致に反映される。

がんのモデルとしては、採取組織と細胞株の状態における細胞特性の類似性が高いことが前提になるだろう。一方、がん細胞株は、がんの治療・診断研究に限定されることなく、特定の性質に着目して他の分野においても活用されている。研究目的次第では、採取組織と細胞株の状態が一致していることが必須ではない。細胞株の変化による新たな細胞特性の獲得は、新たな細胞モデルになり得る。培養を通じて細胞特性が変化することは、必ずしもダメではない。

臨床の現場では、1年前の検査データに基づいて診断・治療をすることはなく、患者の状態に対応した情報が必要になるはずである。健康診断書に有効期間があるように、細胞株の利用にも、有効なデータに基づく細胞特性の確認と細胞情報の更新が求められる。

細胞バンクを通じた細胞株提供数は増加傾向にある。新規樹立細胞株の追加によりがん細胞株のライナップが充実することが期待される。細胞株は活用されることによりデータが蓄積され、樹立時は未知であった特性が発見されるかもしれない。実験に最適な細胞株を選択するためには、使用時の細胞特性とその細胞情報が一致することが望まれる。

【論文】

1. Kasai F, Hirayama N, Ozawa M, Iemura M, Kohara A.
Changes of heterogeneous cell populations in the Ishikawa cell line during long-term culture: Proposal for an in vitro clonal evolution model of tumor cells.
Genomics. 2016;107(6):259-66.
2. Kasai F, Hirayama N, Fukushima M, Kohara A, Nakamura Y.
THP-1 reference data: Proposal of an in vitro branched evolution model for cancer cell lines.
Int J Cancer. 2022;151(3):463-472.
3. Kasai F, Mizukoshi K, Nakamura Y.
Variable characteristics overlooked in human K-562 leukemia cell lines with a common signature.
Sci Rep. 2024;14(1):9619.
4. Kasai F, Fukushima M, Miyagi Y, Nakamura Y.
Genetic diversity among the present Japanese population: evidence from genotyping of human cell lines established in Japan.
Hum Cell. 2024;37(4):944-950.



笠井 文生

理化学研究所 バイオリソース研究センター 研究員

1995年 埼玉大学理学部生体制御学科卒業
2000年 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士課程修了
2000年 ケンブリッジ大学獣医学部
2004年 神奈川県立がんセンター臨床研究所
2007年 埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所
2010年 ケンブリッジ大学獣医学部
2014年 医薬基盤健康・栄養研究所JCRB細胞バンク
2020年 理化学研究所バイオリソース研究センター細胞材料開発室

ヒトiPS細胞由来-肺オルガノイド創薬/毒性評価 -空間オミックス配備型プラットフォーム-

鈴木 敏夫

HiLung Inc. Head of Translational Science
千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学 特任講師

がん疾患、非がん疾患を問わず、呼吸器疾患の多くは時空間的に不均一な病理学的特徴を有し、単一時点や単一箇所を生検では病態全体像を把握することが困難である。このような状況において、呼吸器疾患の創薬研究開発にはいくつかの課題が存在する。まず、ヒト肺固有の性質を反映する適切な動物モデルが欠如していること、次に呼吸器領域における細胞培養が困難であり、複雑な肺構造を再現できる *in vitro* モデルが不足していることである。そのため、特に呼吸器疾患における key effector cell とそのニッチの相互作用の全容解明が遅れている。

肺がん診療領域においては、①がん細胞とその背景ニッチを構成する細胞の相互作用に基づくがんの難治化や薬剤耐性化、②上皮や血管内皮細胞と線維芽細胞の相互作用に基づく抗がん剤による薬剤性肺障害や組織異常リモデリングを1細胞レベルでスケラブルに評価できるプラットフォームの開発が急務である。

本発表では、そのプラットフォーム開発のファーストステップとして、組織異常リモデリング / 癌という現象論を上皮細胞の修復再生異常 / 癌化と周囲間質細胞との interaction として捉え、3D 肺オルガノイド疾患モデルの spatial transcriptome を元に、上皮 / 癌細胞とその Niche-ome を経時的に評価するプラットフォームを立案したので本発表にて提示する。

具体的には、ヒト iPS 細胞由来の肺泡オルガノイドを用いた抗癌剤肺毒性モデル系と、ヒト iPS 細胞由来の非がん肺オルガノイドを背景に、その上皮細胞の一部を患者肺癌サンプル由来の肺癌細胞と置換することで作成した肺がんオルガノイドによる drug-tolerant persister モデル系を作成、さらに、それぞれ複数のタイムコースで spatial transcriptome による Niche-ome 解析を実施し、既知の病態形成パスウェイに加えて新規創薬ターゲットを明らかにした。

米国では新薬開発における動物実験の義務付けを撤廃する FDA 近代化法案が 2022 年に可決されたが、本プラットフォームは非臨床試験における解決案となる可能性を秘めており、その概要について当日説明する。



鈴木 敏夫

HiLung Inc. Head of Translational Science
千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学 特任講師

- 2008年 千葉大学医学部卒業、東京都済生会中央病院初期研修医
- 2010年4月 東京都立多摩総合医療センター呼吸器科 医員
- 2016年9月 千葉大学大学院医学薬学府先端医学薬学専攻 修了
- 2017年4月 Vanderbilt University Medical Center Research Fellow
- 2019年4月 千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学 特任助教
- 2020年3月 筑波大学医学医療系臨床腫瘍学/腫瘍内科 専任講師
- 2024年4月 HiLung Inc. Head of Translational Science
千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学 特任講師

患者由来モデルを基軸とした悪性脳腫瘍に対する トランスレーショナル研究

立石 健祐

横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科
横浜市立大学大学院生命医科学研究科 創薬再生科学研究室

患者由来腫瘍モデル (patient-derived xenograft, PDX) は表現型や遺伝型など患者腫瘍の特性を
広範に模倣することから、臨床の再現モデルとして広くがん研究で活用されている。脳腫瘍領域におい
ても、腫瘍形成・進展機序の解明や薬効解析、バイオマーカー探索などの面で重要な役割を担っている。
また PDX を用いて薬剤耐性モデルなどを作成することで、現状の治療法の課題を克服する治療法を創
出することなども可能となる。今回、我々の中枢神経系悪性腫瘍 PDX モデルを基軸とした臨床—研究プ
ラットフォームの概要について、これまでの経験を示すとともに、臨床面、研究面双方での有用性につ
いて具体例を提示する。実際のフローとしては臨床と研究を繋ぐべく、術前検査に始まり、術中遺伝子解
析、術中迅速免疫組織化学検査を通じた手術中の統合診断化により手術計画をも含めた集学的な治療
方針の立案を開始している。術中に採取した検体は解析用に凍結保存するとともに、初代培養細胞を全症例
(400 例超) で作成している。初代培養細胞は凍結保存するとともに、免疫不全マウス脳内に移植を行い、
PDX モデル化を試みており、これまでに 160 以上の PDX を樹立した。また初代培養細胞を用いて薬剤
感受性試験を行い、その後の治療指針に活用している。PDX の樹立や再発の際には次世代シーケンサー
を用いた遺伝子解析を行い、遺伝子異常を同定するとともに、治療標的分子を含めた網羅的薬剤感受性
試験などを行っている。このような手法を通じて臨床面では手術術式の個別化や抗がん剤の選択や分子
標的治療の導入など、一方研究面としては新規治療法の開発に向けた基礎研究データの取得を図ってい
る。また研究素材については産学連携や国内外の研究機関との共同研究などに活用している。我々が独
自に樹立した悪性脳腫瘍研究素材を通じて、学会に参加されている先生方との共同研究につながることを
願う。

【学会賞】

2016 年日本脳腫瘍学会賞 星野賞

【社会活動】

Neuro-Oncology Editorial Board (2022年～)、日本分子脳神経外科学会学術運営委員 (2023年～)、
日本脳神経外科コンgres理事 (2024年～)

【論文】

1. Hayashi, T., **Tateishi, K.**, . . . Yamamoto, T. (2024). Intraoperative integrated diagnostic system for malignant central nervous system tumors. *Clin Cancer Res.*
2. Sasame, J., Ikegaya, N., . . . **Tateishi, K.** (2022). HSP90 Inhibition Overcomes Resistance to Molecular Targeted Therapy in BRAFV600E-mutant High-grade Glioma. *Clin Cancer Res*, 28(11), 2425-2439.
3. **Tateishi, K.**, Miyake, Y., . . . Yamamoto, T. (2020). A Hyperactive RelA/p65-Hexokinase 2 Signaling Axis Drives Primary Central Nervous System Lymphoma. *Cancer Res*, 80(23), 5330-5343.



立石 健祐

横浜市立大学大学院医学研究科脳神経外科学・
生命医科学研究科創薬再生科学研究室 准教授(兼任)

2001年 香川大学医学部卒業
2008年 横浜市立大学脳神経外科助教
2012年 国立がん研究センター脳腫瘍連携研究分野 外来研究員
2013年 マサチューセッツ総合病院
脳神経外科 博士研究員
2016年 横浜市立大学脳神経外科助教
2021年 同診療講師
2022年 現職

Air-liquid interface法を用いた肉腫オルガノイドモデルの開発

若松 透

大阪国際がんセンター 骨軟部腫瘍科

骨軟部腫瘍（肉腫）は希少がんに含まれる。本邦で希少がんは『人口10万人あたり6例未満の「まれ」な「がん」、数が少ないがゆえに診療・受療上の課題が他に比べて大きいがん種』と定義され、実臨床でも診断や治療に難渋することがしばしばあり、予後も一般的に悪い。肉腫領域の治療成績向上のためにはやはり基礎研究が基盤となるが、希少であるが故にそれを行うためのバイオリソースは十分ではない。オルガノイド培養は腫瘍微小環境を再現する3次元培養法であり、従来の2次元培養より成功率が高いとされる。そこで大阪国際がんセンターではAir-liquid interface (ALI) オルガノイド培養法を用いてヒト肉腫組織からオルガノイドモデルを開発し、それらを用いた新規治療法の開発を目的とし研究を行っている。

当院で外科的切除後に残存した様々な組織型の肉腫標本をALIオルガノイド培養法に従って培養した。数回の継代後、これらのオルガノイドをNSGマウスに移植し腫瘍形成を確認した。オルガノイドの樹立は、この手順を2度以上繰り返し、腫瘍形成が一貫して観察された場合と定義した。形成した腫瘍を用いて組織学およびゲノム解析、薬剤感受性試験などを実施した。

これまで200検体以上の腫瘍サンプルから樹立を試みた。類上皮肉腫、脱分化型脂肪肉腫、滑膜肉腫、軟骨肉腫など、様々な肉腫からオルガノイドを樹立することに成功した。それらの組織学および遺伝的特性は元の腫瘍と十分に一致していた。またそれぞれの組織型ごとに、遺伝子変異などから有効性が期待される薬剤を用いて薬剤感受性試験を行っている。さらに当院では他の希少がんも治療しており、対象疾患の拡大、および大規模薬剤スクリーニングのための実験方法などを検討中である。

ALIオルガノイド培養は肉腫に関して有望な培養方法であり、様々なタイプの肉腫のオルガノイドモデルを開発することができる。これらの肉腫オルガノイドモデルは、新規治療法の開発において重要なツールとなる可能性を有する。

【研究費】

1. 2020-2023, 科研費若手研究、新規治療開発を目指した肉腫由来オルガノイドパネルの構築
2. 2023-2025, 科研費基盤研究 (C)、新規治療開発を目指した肉腫由来オルガノイドパネルの構築

【業績】

1. Suzuki, R., **Wakamatsu, T.**, Yoshida, K., Matsuoka, Y., Takami, H., Nakai, S., ... & Takenaka, S. Genetic characterization of a novel organoid from human malignant giant-cell tumor, Journal of Bone Oncology, 2023, 41, 100486.
2. **Toru Wakamatsu**, Hisataka Ogawa, Keiichi Yoshida, Yukiko Matsuoka, Kazuko Shizuma, Yoshinori Imura, Hironari Tamiya, Sho Nakai, Toshinari Yagi, Shigenori Nagata, Yoshihiro Yui, Satoru Sasagawa and Satoshi Takenaka. Establishment of organoids from human epithelioid sarcoma with the air-liquid interface organoid cultures, Frontiers in oncology, 2022, 12, 893592.
3. **Wakamatsu, T.**, Imura, Y., Tamiya, H., Yagi, T., Yasuda, N., Nakai, S., ... & Takenaka, S. 18FFluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Is Useful in the Evaluation of Prognosis in Retroperitoneal Sarcoma. Cancers, 2021,13(18), 4611.



若松 透

大阪国際がんセンター 骨軟部腫瘍科

- 2005年 大阪大学医学部医学科卒業
- 2005年 兵庫県立西宮病院
- 2007年 大阪医療センター整形外科
- 2008年 市立伊丹病院整形外科
- 2014年 大阪大学大学院医学系研究科卒業
- 2014年 Memorial Sloan Kettering Cancer Center Research Fellow
- 2016年 神戸掖済会病院整形外科
- 2018年 大阪国際がんセンター骨軟部腫瘍科

がんの自然発症動物モデルとして「イヌ」を用いた Comparative Oncology

前田 真吾

東京大学 獣医臨床病理学研究室

従来のがん研究の動物モデルとして、ゼノグラフトモデルや遺伝子改変モデルといったマウスモデルが多用されてきたが、近年デメリットも指摘されるようになった。マウスモデルのデメリットとして、遺伝的要因・環境要因が均一であるため多様性が存在しないこと、がんのフェノタイプや治療効果の評価法がヒトと大きく異なること、免疫不全マウスでは免疫療法の評価が困難であることなどがあり、研究結果をヒトに外挿する際の大きな障壁となっている。伴侶動物であるイヌは様々ながんを自然発症し、その症状や転移様式、病理、免疫システムはヒトと類似する。またイヌでは血液検査や画像検査、病理組織検査といったヒトと同じ検査方法で長期的な評価が可能である。さらにはがん種によってはイヌとヒトで遺伝子発現パターンが類似していることも近年明らかになってきた。そこで我々の研究グループは、イヌの臨床症例を「がんの自然発症動物モデル」として捉え、がんの進行メカニズムの解明および新規治療法の確立を目指した Comparative Oncology をライフワークとしている。本講演では、イヌに自然発症したがん症例に対する制御性 T 細胞 (Treg) をターゲットとした研究について、我々の取り組みを紹介したい。

Treg は炎症の収束や免疫寛容に関わる重要なリンパ球であるが、がんにおいては抗腫瘍免疫を抑制することでがんの進行に促進的な役割を果たすことが知られている。はじめに、様々なイヌのがん組織における Treg の浸潤を検討したところ、前立腺癌、膀胱癌、乳癌、肺腺癌、扁平上皮癌、悪性黒色腫といった固形がん組織で多数の Treg が浸潤しており、さらに Treg 浸潤が予後不良因子であるがわかった。次に Treg 浸潤に関わる分子を詳細に解析したところ、上記のがん組織では CCL17 と呼ばれるケモカイン発現が顕著に増加しており、がん組織内に浸潤している Treg が CCL17 の受容体である CCR4 を高発現していることを明らかにした。そこで前立腺癌のイヌに対する CCR4 阻害による抗 Treg 療法の獣医師主導臨床試験を実施した。その結果、CCR4 阻害により血液中およびがん組織内の Treg が減少し、腫瘍体積の縮小や腫瘍内部の融解が認められた。さらに従来の治療法と比較して、CCR4 阻害療法を実施した症例では生存期間が約 3 倍に延長した。最後にヒトの公開データベースおよびがん組織を用いた免疫組織化学により、CCL17/CCR4 経路がヒトの前立腺癌においても Treg 浸潤や予後と関連するかを検討した。その結果、前立腺癌の一部の患者において CCL17 発現が高発現していること、CCL17 発現が高い患者は予後不良であること、がん組織に浸潤している Treg が CCR4 を高発現していることを見出し、イヌとヒトの前立腺癌では共通のメカニズムで Treg 浸潤が引き起こされていることを明らかにした。



前田 真吾

東京大学 獣医臨床病理学研究室

2009年 岐阜大学農学部獣医学科卒業

2013年 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻博士課程修了

2013年 東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医薬理学研究室 特任研究員

2013年 東京大学大学院農学生命科学研究科 放射線動物科学研究室 特任助教

2015年 東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医臨床病理学研究室 特任助教

2016年 東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医臨床病理学研究室 助教

2022年 東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医臨床病理学研究室 准教授

黎明期研究に学ぶオルガノイドの活用法

佐々木 伸雄

群馬大学生体調節研究所 粘膜エコシステム制御分野 教授

これまでも国内外の多くの研究者によって、ガン研究は精力的に推進されてきたが、我々は未だにガンを完全に制圧することはできていない。その1つの理由として、腫瘍組織は複数種類のガン細胞によって構成される“腫瘍内不均一性”の問題が挙げられる。近年のシーケンス技術の向上により、単一腫瘍組織を構成するガン細胞について、シングルセルレベルで体細胞突然変異パターン、または網羅的遺伝子発現を解析することが可能になり、腫瘍内不均一性についても理解が深まるようになってきた。しかし、これらのシングルセルシーケンス技術においても、正常細胞のコンタミネーション、少量ゲノム検体におけるシーケンス深度（データの質）などの問題が存在する。さらに、シングルセルから遺伝子（発現）情報を取得するためには、その細胞を破壊し、DNA/RNAを抽出する必要があるが、たとえ高精度の遺伝子情報（genotype）を取得できたとしても、これらの細胞がどのような振る舞い（phenotype）に関する研究を実施することが不可能である。このように私が本研究を開始した時点では、シングルセルレベルでの解析研究もまだまだ発展途上であった。その中で私は、シングルセルから臓器を作出できるといったオルガノイド技術のアドバンテージを活用することで、この腫瘍内不均一性研究の律速になる問題を解決できるのではないかと気がついた。実際に、大腸癌手術検体を入手し、酵素処理を施すことで単一細胞を取得し、それら単一のガン細胞をオルガノイド培養法で培養することにした。その際に、使用するオルガノイド培地に改良を加えることで、ほぼ100%の割合で癌オルガノイドを樹立する方法を確立した。この方法により樹立されたクローン化オルガノイドを用いることで、全ゲノムシーケンスを実施するのに十分なDNAを入手できただけでなく、全ゲノムメチル化（メチローム）解析や、RNAを入手することでRNA-seqなどの、多階層オミックス解析を実行することができた。さらに、残りのオルガノイドを用いて、細胞増殖率や抗癌剤感受性試験など、癌細胞のphenotype解析を実施し、世界で初めて単一細胞レベルでgenotypeとphenotypeを結びつけた研究パイプラインを構築することに成功した。本研究成果は、個別化医療を推進するためのマイルストーン研究として取り上げられ、今では様々な大学や製薬会社などで使用されている。本セミナーでは、そんなオルガノイドの開発研究から発展した様々な応用研究について発表するとともに、オルガノイドの今後の可能性について一緒に討論したいと思う。

【受賞歴】 2017年 ロッテ重光学術賞、2022-2023年 クラリベイト・アナリティクス Highly Cited Researchers 選出

【社会活動】 2022年 - 現在 腸内デザイン学会・評議員

【研究費】 科研費基盤研究 (B)、挑戦的研究 (開拓)、JST 創発的研究事業、AMED マイクロバイオーム創薬 (代表)



佐々木 伸雄

群馬大学生体調節研究所 教授

2006年 東京理科大学基礎工学研究科生物工学科博士課程・卒業

2006年 国立遺伝学研究所発生工学研究室・研究員

2011年 オランダ国立Hubrecht研究所 Cleversグループ・研究員

2016年 慶應義塾大学医学部内科学(消化器)教室・特任助教

2021年 群馬大学生体調節研究所・教授

現在に至る

肉腫である私のこと

今井 央子

肉腫(サルコーマ)の会たんぽぽ

自分を特別ななんて思ったことのない、ただただ平凡な私が肉腫を患った。そんな「肉腫である私」の事実とその想いを、隠すことなく伝えたいと思う。

きっかけは、テレワーク中の慣れない椅子のせいで整形外科に行ったことだ。医師の「なんかちょっと気になる」の言葉がなかったら、今の私はどうなっていたのだろうかと恐ろしくなる。紹介された大学病院に丁寧に見捨てられ、訪れた国立がん研究センター中央病院で「手術をしましょう、大きい手術だけど、なんとか取れると思います」この病気になって初めて、きちんと目を見てはっきりとした口調で伝えてもらった。もうどこにも逃げ隠れしないぞ、闘うのだ！そうして私の肉腫人生が幕を開けた。

手術は7つの科を跨ぐ大手術。術後はいろんな形のドレーンを首からぶら下げて、上半身を起こすことさえできない自分に、事の重大さを実感した。退院後は放射線を25回照射し、やっと落ち着いた生活を送れると思ったら大間違い。腹部ゆえの胃腸不全や体力低下による感染で入院すること3回。更には5年前から患っているMDS(骨髄異形成症候群)の免疫抑制剤が効かなくなるオマケがついた。赤血球自己造血が不能となり、輸血に頼らざるを得なくなってしまった。それでもなんとか目標の復職を果たした。にもかかわらず3か月後に局所再発。さすがに心が折れ、退職。

「あれ？私の人生、絶望しかない？」どんなに頑張ってもどうにもならないことが、自分の身体と人生に巻き起こっている現実打ちのめされ、もがき、絶望を体感した。望みがないという刃は、私の全てを貫き、私を粉々にした。肉腫になったらそこで全てが終わり。今まで頑張ってきたことも家族の中の役割も「はい、GameOver、暗転でEndRolls」…それなのに容赦なく続く人生。その惨さが、どんなに苦しかったか。

それでも心の変化は訪れた。休職中に学んだカウンセリングで心の療法に触れ、新しい仲間に救われた。努力ではどうにもならない事実を認め、自分から排出することは、私を癒してくれた。共同体感覚でつながるといことが、いかに大切かを実体験として学んだ。その想いは、患者会たんぽぽの活動においてさらに確信に変わっていった。いつでも当事者のような気持ちでつながる、心落ち着く居場所が、私にも同志にも不可欠なのだ。

自分の努力ではどうにもならない私達に、微かな希望を見せてくれる研究と医学の進歩。海より深い感謝を込め、どうか未来にたくさんの希望の種が芽吹くようにと、ただただ…願うばかりだ。こんな私の言葉が、少しでもその推進力になればいいと思う。



今井 央子

肉腫(サルコーマ)の会たんぽぽ

略歴

東京都大田区出生

1995年 大学で心理学を専攻し、某銀行に就職

2001年 結婚を機に退職、二児の母となり、育児とパートの両立を開始

2016年 某介護サービス会社で職中にMDS罹患

2021年 後腹膜脂肪肉腫(脱分化型)罹患、手術

2023年 腹腔内局所再発手術、退職

2023年 肉腫(サルコーマ)の会たんぽぽに入会

2024年 現在4か月ごとの経過観察中

BMP経路を標的とした大腸がん新規治療の可能性

近藤 純平

大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学講座 准教授

転移・進行大腸癌に対する EGFR を標的とした分子標的治療薬は、既存の化学療法との併用により奏効率の向上をもたらしたが、KRAS・BRAF 遺伝子変異などによる耐性例への新規治療法や診断・治療バイオマーカーの開発など課題も残されている。TGF- β ファミリーに属するリガンドタンパクである BMP の大腸がん病態における意義については、腫瘍促進的である、あるいは腫瘍抑制的であると相反する報告が存在し一定の見解が得られていなかった。

近年、我々は CTOS (cancer tissue-originated spheroid) 法で調製した患者由来大腸癌オルガノイドを用い、in vitro および in vivo における BMP 受容体阻害剤 LDN193189 (LDN) の作用およびその機序を解析した。まず、18 例の大腸癌オルガノイドを用いて、in vitro における LDN (10nM ~ 10 μ M) の作用を検討したところ、増殖抑制効果は患者間で多様性を示し IC50 は最大で約 1000 倍の差を認めた。細胞内シグナル活性の評価では、LDN により EGFR タンパク量が減少し、MEK/ERK 経路が抑制される症例の存在を認めた。さらに、BMP 阻害による EGFR 減少の機序を検討したところ、EGFR の遺伝子発現とは相関を認めなかった一方、EGFR のユビキチン化亢進による分解が関与すると考えられた。EGFR 分解を誘導する因子として、腸上皮幹細胞マーカーでもある LRIG1 が知られている。我々は、BMP 阻害により LRIG1 発現が誘導されること、また LRIG1 をノックダウンすると増殖抑制効果ならびに MEK/ERK 経路の阻害効果が減弱し、LDN の増殖抑制効果は LRIG1 誘導を介した EGFR シグナルの抑制が機序の一つであることを見出した。

上述のように大腸癌オルガノイドに対する LDN の効果は症例間多様性を認めるが、KRAS・TP53 などの主要な遺伝子変異との相関は認めなかった。一方で、LDN による LRIG1 誘導はオルガノイド増殖抑制と有意な正の相関を示した。さらに LDN 有効例では、MEK 阻害剤 trametinib が増殖抑制効果を示し、LDN と trametinib の併用効果も認められ、MEK/ERK 経路に依存した増殖をする症例では BMP 阻害の効果が期待されることが示された。In vivo でも、オルガノイド移植腫瘍モデルマウスを LDN で治療したところ、in vitro における LDN 有効例において trametinib との併用効果を認めた。

以上より、大腸がん症例の一部において、BMP/MEK 阻害剤の併用が新しい治療法となる可能性が示唆された。さらに、オルガノイドを用いた in vitro のアッセイや LRIG1 誘導をバイオマーカーとして有効群を予測できる可能性が示された。



近藤 純平

大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学講座
准教授

- 2002年 大阪警察病院 消化器内科
- 2007年 大阪大学大学院医学系研究科内科系臨床医学専攻消化器内科学
博士課程 (2011年修了)
- 2011年 大阪大学医学部附属病院未来医療センター 医員
- 2013年 ヴァンダービルト大学医療センター 消化器・肝・栄養学部門
博士研究員
- 2016年 ヴァンダービルト大学医療センター 消化器・肝・栄養学部門
リサーチインストラクター
- 2017年 大阪国際がんセンター研究所 生化学部門 主任研究員
- 2018年 京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座
特任助教
- 2021年 現職

患者由来がん幹細胞スフェロイドを利用した 個別化併用療法の探索

三好 弘之

京都大学医学部附属病院 先端医療研究開発機構
大腸がん新個別化治療プロジェクト

近年、がん治療薬として多くの分子標的薬の開発が進んでおり、今後さらに薬物療法の選択肢が増えることが期待されている。分子標的薬の奏効性は DNA 変異や mRNA 発現量といった遺伝子情報からある程度予測できるが、必ずしも期待する薬効が得られるとは限らない。この理由の一つとして、標的分子を介する経路と共通の下流因子に収束する並行経路の存在が挙げられる。これら複数の経路を同時に標的とする併用療法は単剤治療に対する抵抗性を克服する有効な方法であるが、多くの薬剤から最適な組み合わせを選択するためには個々のがんにおいてどのシグナル経路が優勢であるかを把握する必要がある。私たちは、これまでに 200 人以上の大腸がんおよび 50 人以上の胃がん患者からがん幹細胞スフェロイド株を樹立し、それらの増殖因子に対する反応性と薬剤感受性について研究を進めてきた。

大腸がん幹細胞スフェロイド培養における培地の主な構成成分は、基礎培地 (DMEM/F12)、FBS、ROCK 阻害薬、および TGF- β 受容体阻害薬であるが、多くの細胞株では高増殖率維持のために追加の増殖因子を必要とする。RAS/RAF 遺伝子に変異がない場合は主に EGF および FGF が増殖を促進したが、それぞれのリガンドに対する反応性は株によってまちまちであった。そこで EGFR 阻害薬と FGFR 阻害薬に対する感受性を調べると、多くの株で両者の併用により強い抗増殖効果が得られた。近年開発が進んでいる KRAS G12C 阻害薬についても他の薬剤との併用が有効で、KRAS G12C 変異を持つ大腸がん幹細胞スフェロイド株では、EGFR 阻害薬および FGFR 阻害薬との 3 剤併用や、SHP2 阻害薬との併用が単剤よりも強い薬効を示した。さらに、Heregulin (ERBB3 リガンド) の添加で増殖が促進される株では PI3K 阻害薬との併用も有効であった。

スフェロイド移植がんマウスモデル (PDSX: patient-derived spheroid xenograft) でもこれらの併用療法の効果が確認されたことから、患者由来がん幹細胞培養を用いた薬剤感受性試験が、最適な薬剤の組み合わせを選択するがん個別化医療開発の強力なツールになることが示された。今後、分子標的薬が効きにくい胃がんについても同様の戦略で併用療法の探索を進める予定である。

【論文】

1. Morimoto et al. *Cancer Sci.*, 114: 3259-3269, 2023
2. Matsubara et al. *Mol. Cancer Ther.*, 22: 529-538, 2023
3. Yamamoto et al. *Cancers*, 12: E2010, 2020
4. Maekawa et al. *Mol. Cancer Ther.*, 17: 2187-2196, 2018
5. Miyoshi et al. *Oncotarget*, 9: 21950-21964, 2018



三好 弘之

京都大学医学部附属病院 先端医療研究開発機構
大腸がん新個別化治療プロジェクト

- 1997年 北海道大学獣医学部卒業
2002年 京都大学大学院医学研究科 助手
2008年 ワシントン大学(セントルイス)医学部 博士研究員
2013年 ワシントン大学(セントルイス)医学部 インストラクター
2014年 京都大学医学部附属病院 消化管外科 特定准教授
2017年 京都大学産官学連携本部 特任准教授
2019年 京都大学医学部附属病院 先端医療研究開発機構 准教授

極性状態に焦点を当てた大腸がん細胞集団の機能解析と治療戦略

小沼 邦重

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座 特定助教

我々はこれまでにオルガノイドを用いて、細胞集団を単位としたがんの特性解析を進めてきた。その中で、大腸がん細胞集団に共通する特徴として、細胞外基質に囲まれた状態では内腔に apical 面を形成し (apical-in)、浮遊状態では外周に apical 面を形成する (apical-out) ことを報告 (Okuyama 2016 Am J Pathol) して以来、がんの極性に着目した研究を行っている。本発表では、最近明らかにした極性状態が関与する様々な病態の新しい知見を紹介する。

まず、大腸がんオルガノイドでは、apical-out の極性状態は apical-in と比較して、転移能が高いことを明らかにした。これは、肝内皮細胞への接着能やクリアランス能は apical-in と比較して apical-out で高く、活性酸素の産生を阻害することで減弱することから、外周に形成された apical 面から放出される活性酸素が関与している可能性がある。さらに、apical-out は自然免疫細胞の活性を減弱させることも明らかにしており、がん細胞集団が血中を循環したり、体腔を浮遊したりする場合に、apical-out の極性状態が転移の成立に重要な役割をしていることが示唆される。

Micropapillary carcinoma (MPC) はリンパ管腔様の空隙内に微小乳頭状構造が浮遊する組織学的特徴を持ち、1993 年に浸潤性乳がんの亜型として報告されてから、さまざまな臓器のがんで検出されている。リンパ管侵襲やリンパ節転移率が高く予後不良であるが、特別な治療法は確立されていない。MPC は、「極性反転 (Inside-out pattern)」を特徴とし、EMA や MUC1 ががん胞巣 (がん細胞集団) の外側に発現する。発表者は MPC をがん細胞集団の病態として捉え、「極性」に着目した。MPC は細胞外基質に囲まれているにも関わらず、apical 面が腫瘍細胞集団の外周に形成されることから「極性転換不全」であると言える。Apical 面には、薬剤排出機能を持つ複数の ABC トランスポーターが局在しているので、apical-out の極性状態を消失させることが、MPC の薬剤感受性の亢進につながると仮説を立てた。そこで、MPC の病態を保持するオルガノイドを MPC 大腸がんから調製し、腫瘍組織内と同様に、ECM 存在下で apical-out の極性状態を保持していることを確認した。MPC 細胞集団が apical-out を保持するメカニズムには RhoA-ROCK 経路が関与することを明らかにした (Onuma 2021 J Pathol)。ただし、ROCK 阻害剤は細胞外基質と接触するより前から処理しておく必要があり、既に MPC 様になった極性を反転させることはできなかったことから、治療薬としては機能しないと考えられる。一方、apical 面の維持には tight-junction (TJ) が重要であり、TJ の機能を阻害することで apical 面を消失させることができることを見出した。MPC の apical 面を消失させる候補薬として、IFN- γ に着目した。IFN- γ は MPC-オルガノイド外周の apical 面を消失させ、抗がん剤 (5-FU、L-OHP、doxorubicine、gemcitabine) の薬剤感受性を亢進させた。大腸がん MPC において、極性の消失を誘導することは新たな治療標的になり得ると予想される。

【学会賞】

2020年 第一回日本がん学会若手の会ポスター最優秀賞受賞

【研究費】

2020-2022 科学研究費（基盤研究（C））：がん転移におけるがん細胞集団が示す極性転換の機能的意義の解析

2023-2026 科学研究費（基盤研究（C））：Micropapillary carcinomaの極性転換を標的とした治療戦略

【論文】

1. Onuma K, Sato Y, Okuyama H, Uematsu H, Homma K, Ohue M, Kondo J, Inoue M.
Aberrant activation of Rho/ROCK signaling in impaired polarity switching of colorectal micropapillary carcinoma. J Pathol. 255(1):84-94, 2021
2. Onuma K, Inoue M.
Abnormality of apico-basal polarity in adenocarcinoma. Cancer Sci. 113(11):3657-3663, 2022.



小沼 邦重

京都大学大学院医学研究科

クリニカルバイオリソース研究開発講座 特定助教

2008年 日本学術振興会 特別研究員(グローバルCOE)

2010年 山形大学医学系研究科 生命環境医科学専攻 博士後期課程 修了

2010年 財団法人がん振興財団 リサーチレジデント

2012年 独立行政法人がん研究センター研究所 発がんシステム研究分野
がん研究特別研究員

2012年 鳥取大学医学部生命科学科 生体情報機能学講座 病態生化学分野 助教

2019年 京都大学大学院医学研究科クリニカルバイオリソース研究開発講座
研究員

2021年 京都大学大学院医学研究科クリニカルバイオリソース研究開発講座
特定助教

卵巣がん・乳がんの患者由来三次元培養モデルの 確立とその応用

井上 聡

東京都健康長寿医療センター研究所システム加齢医学 研究部長
埼玉医科大学医学部ゲノム応用医学 客員教授

患者由来の腫瘍組織より、治療抵抗性をはじめとするがん悪性化に重要な役割を担うとされるがん幹細胞様細胞 (CSC) 分画を濃縮できる三次元スフェロイド培養系を用いて、がん細胞培養とそのマウスへの異種移植により腫瘍形成させるシステムが前臨床モデルとして注目されている。我々は、女性がんと男性がんを中心に患者由来がん細胞 (Patient-Derived cancer Cells: PDC) 培養とそれら由来のがん移植モデル (PDC-derived Xenografts: PDCX) を樹立し、新たながん悪性化メカニズムの解明、治療標的の探索や、治療モデルとしての活用について探求している。

ここでは、女性がんの実例として乳がん、卵巣がんを取り上げて、直近の研究成果について報告する。これらの女性がんは、本邦でも患者数・死亡者数が増加し、大きな臨床上的問題となっている。治療抵抗性の獲得に対する対策が課題となっており、病態メカニズムの解明、診断・治療標的の同定とその介入が求められている。我々は、女性がん患者由来組織から三次元スフェロイド培養を行い複数の長期培養可能な PDC および PDCX を樹立した。病理学的に、PDCX 腫瘍は患者腫瘍組織と同様の組織学的特徴を模倣していた。卵巣がんモデルにおいては腹水を形成する PDCX モデルを確立し、長鎖非コード RNA を標的とした核酸創薬の治療モデルとしての意義、ならびにそのがん悪性化とがん代謝における役割を示した。乳がんにおいては、スーパーエンハンサー解析からがん悪性化に重要な転写因子等を抽出しており、トリプルネガティブ乳がんにおける役割を明らかにしている。これらの結果を併せ、がん三次元スフェロイド培養系は実臨床におけるがん病態に近いモデル系として、新たな診断・治療法の開発に役立つことが期待される。

【文献】

1. Obinata D, Takayama K, Lawrence MG, Funakoshi D, Hara M, Niranjana B, Teng L, Taylor RA, Risbridger GP, Takahashi S, *Inoue S: Patient-derived castration-resistant prostate cancer model revealed CTBP2 upregulation mediated by OCT1 and androgen receptor. *BMC Cancer*. 24(1):554, 2024.
2. Takayama K, Matsuoka S, Adachi S, Honma T, Yoshida M, Doi T, Shin-ya K, Yoshida M, Osada H, *Inoue S: Identification of small-molecule inhibitors against the interaction of RNA-binding protein PSF and its target RNA for cancer treatment. *PNAS nexus* 2(6):pgad203, 2023.
3. Kobayashi A, Azuma K, Takeiwa T, Kitami T, Horie K, Ikeda K, *Inoue S: A FRET-based respirasome assembly screen identifies spleen tyrosine kinase as a target to improve muscle mitochondrial respiration and exercise performance in mice. *Nat Commun* 14(1):312, 2023.
4. Takayama K, Kosaka T, Suzuki T, Hongo H, Oya M, Fujimura T, Suzuki Y, *Inoue S: Subtype-specific collaborative transcription factor networks are promoted by OCT4 in the progression of prostate cancer. *Nat Commun* 12(1):3766, 2021.
5. Azuma K, Ikeda K, Suzuki T, Aogi K, Horie-Inoue K, *Inoue S: TRIM47 activates NF- κ B signaling via PKC ϵ /PKD3 stabilization and contributes to endocrine therapy resistance in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118(35):e2100784118, 2021.
6. Kamada S, Namekawa T, Ikeda K, Suzuki T, Kagawa M, Takeshita H, Yano A, Okamoto K, Ichikawa T, Horie-Inoue K, Kawakami S, *Inoue S: Functional inhibition of cancer stemness-related protein DPP4 rescues tyrosine kinase inhibitor resistance in renal cell carcinoma. *Oncogene* 40(22):3899-3913, 2021.
7. Shiba S, Ikeda K, Suzuki T, Shintani D, Okamoto K, Horie-Inoue K, Hasegawa K, *Inoue S: Hormonal regulation of patient-derived endometrial cancer stem-like cells generated by three-dimensional culture. *Endocrinology* 160(8):1895-1906, 2019, and *Highlighted* in “eNews”.
8. Ikeda K, Horie-Inoue K, Suzuki T, Hobo R, Nakasato N, Takeda S, *Inoue S: Mitochondrial supercomplex assembly promotes breast and endometrial tumorigenesis by metabolic alterations and enhanced hypoxia tolerance. *Nat Commun* 10:4108, 2019.
9. Takayama K, Suzuki T, Suzuki T, Fujimura T, Takahashi S, *Inoue S: COBLL1 modulates cell morphology and facilitates androgen receptor genomic binding in advanced prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, 4975-4980, 2018a.
10. Takayama K, Suzuki T, Fujimura T, Yamada Y, Takahashi S, Homma Y, Suzuki Y, *Inoue S: Dysregulation of spliceosome gene expression in advanced prostate cancer by RNA-binding protein PSF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 10461-10466, 2017.



井上 聡

東京都健康長寿医療センター システム加齢医学

東京大学医学部医学科卒業、同附属病院で内科研修、老年病科に入局。

女性ホルモン研究で学位取得後、米国ソーク研究所に留学して核内受容体研究。

帰国後、東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座老化制御学講師・医局長、抗加齢医学講座・特任教授、埼玉医科大学ゲノム医学研究センター遺伝子情報制御部門・部門長兼務を経て、東京都健康長寿医療センター研究所システム加齢医学研究部長。

性ホルモン受容体、ビタミンK、RNA-蛋白質複合体、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体研究を進めている。

FXVD3陽性祖先がん幹細胞は抗がん剤ならびに放射線に対する tolerant persisters である

後藤 典子

金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野

乳がんのうち、ホルモン受容体及び HER2 受容体ともに陰性のトリプルネガティブサブタイプ症例に対する良い分子標的薬は存在しない。そのため従来型の抗がん剤で治療されるものの、再発転移を起こしやすい。再発転移がんは治療抵抗性のため、患者予後は不良である。近年、がん幹細胞集団が治療抵抗性のがん細胞を含むことがわかってきて、真の標的として世界的に注目されている。別の研究から、抗がん剤投与後に少数残存する薬剤抵抗性のがん細胞は Drug tolerant persisters (DTPs) と呼ばれ、再発転移の温床と報告され、DTPs を標的とすれば再発転移を防げると期待されている。しかし DTPs の実態は不明な部分が多い。がん幹細胞と DTPs の関連も不明であった。最近私どもは、膜タンパク質の Neuropilin (NRP) 1 や Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) に濃縮されるがん幹細胞集団を、もう一つの膜タンパク質 FXVD3 を用いてさらに濃縮した亜集団が治療抵抗性であることを見出した。このがん幹細胞亜集団は、トリプルネガティブ乳がんの起源細胞である乳腺前駆細胞と性質が似ているため、「祖先がん幹細胞 ancestor-like cancer stem cells (CSCs)」と名付けた (Li, Gotoh et al, J Clin Invest, 2023)。さらに、祖先がん幹細胞の多くが DTPs 集団と重なることを見出した。つまり、FXVD3 陽性の祖先がん幹細胞は、DTPs そのものであることが示唆された。

トリプルネガティブ乳がんは、再発転移が多いため、手術後に局所放射線照射を行うことが標準治療になっている。しかし数年後に再発転移を起こす症例が一定程度あって、問題になっている。放射線照射後に少数残存する放射線抵抗性のがん細胞 Radio-resistant persisters が、再発転移の温床になると考えられている。しかし、放射線抵抗性がん細胞を標的とする良い分子標的薬は存在しない。私どもは、トリプルネガティブ乳がんの患者由来がん細胞を放射線照射すると、FXVD3 陽性の祖先がん幹細胞が放射線抵抗性がん細胞として残存することを見出した。放射線照射後に、FXVD3 陽性の祖先がん幹細胞が生存するメカニズムを解析した。その結果、抗がん剤抵抗性を賦与するメカニズムとは異なるメカニズムが主に使われており、そこがアキレス腱になりうることが示されている。

【文献】

1. Li M, Nishimura T, Takeuchi Y, Hongu T, Wang Y, Shiokawa D, Wang K, Hirose H, Sasahara A, Yano M, Ishikawa S, Inokuchi M, Ota T, Tanabe M, Tada K-I, Akiyama T, Cheng X, Liu C-C, Yamashita T, Sugano S, Uchida Y, Chiba T, Asahara H, Nakagawa M, Sato S, Miyagi Y, Shimamura T, Nagai LAE, Kanai A, Katoh M, Nomura S, Nakato R, Suzuki S, Tojo A, Voon VC, Ogawa S, Okamoto K, Foukakis T, **Gotoh N.**: FXYD3 functionally demarcates an ancestral breast cancer stem cell subpopulation with features of drug-tolerant persisters. *J Clin Invest*, 2023 Nov 15;133(22):e166666, 2023.
2. Takeuchi Y and **Gotoh N.**: Inflammatory cytokines-enriched microenvironment plays key roles for the development of breast cancers. *Cancer Sci*, May, 114(5):1792-1799, 2023.
3. Takeuchi Y, Kimura N, Murayama T, Machida Y, Iejima D, Nishimura T, Terashima M, Wang Y, Li M, Sakamoto R, Yamamoto M, Itano N, Inoue Y, Ito M, Yoshida N, Inoue J-I, Akashi K, Saya H, Fujita K, Kuroda M, Kitabayashi I, Voon D, Suzuki T, Tojo A, **Gotoh N.**: The membrane-linked adaptor FRS2beta fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 118(43), e2103658118, 2021.
4. Reheman Y, Takeuchi Y, Nishimura T, Li M, Wang Y, Meguro-Horike M, Kohno T, Horike S, Nakata A, **Gotoh N.**: MUSASHI-2 confers resistance to third-generation EGFR-tyrosine kinase inhibitor osimertinib in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 112(9), 3810-3821, 2021.
5. Murayama T, Takeuchi Y, Yamawaki K, Natsume T, Mengjiao L, Marcela N R-C, Nishimura T, Kogure Y, Nakata A, Tominaga K, Sasahara A, Yano M, Ishikawa S, Ohta T, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S, Seki M, Suzuki Y, Sugano S, Enomoto T, Tanabe M, Tada K, Kanemaki T M, Okamoto K, Tojo A, **Gotoh N.**: MCM10 compensates for Myc-induced DNA replication stress in breast cancer stem-like cells. *Cancer Sci*, 112(3), 1209-1224, 2021
6. Tominaga K, Minato H, Murayama T, Sasahara A, Nishimura T, Kiyokawa E, Kanauchi H, Shimizu S, Sato A, Nishioka K, Tsuji E, Yano M, Ogawa T, Ishii H, Mori M, Akashi K, Okamoto K, Tanabe M, Tada K, Tojo A, **Gotoh N.**: Semaphorin signaling via MICAL3 induces symmetric cell division to expand breast cancer stem-like cells. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 116, 625-630, 2019.
7. Nishimura T, Nakata A, Chen X, Nishi K, Meguro-Horike M, Sasaki S, Kita K, Horike S-I, Saitoh K, Kato K, Igarashi K, Murayama T, Kohno S, Takahashi C, Mukaida N, Yano S, Soga T, Tojo A, **Gotoh N.**: Cancer stem-like properties and gefitinib-resistance are dependent on purine synthetic metabolism mediated by the mitochondrial enzyme MTHFD2. *Oncogene*, 38, 2464-2481, 2019.
8. Tominaga K, Shimamura T, Kimura N, Murayama T, Matsubara D, Kanauchi H, Niida A, Shimizu S, Nishioka K, Tsuji E, Yano M, Sugano S, Shimono Y, Ishii H, Saya H, Mori M, Akashi K, Tada K, Ogawa T, Tojo A, Miyano S, **Gotoh N.**: Addiction to the IGF2-ID1-IGF2 circuit for maintenance of the breast cancer stem-like cells. *Oncogene*, 36,1276-1286, 2017.
9. Murayama T, Nakaoku T, Enari T, Nishimura T, Tominaga K, Nakata A, Tojo A, Sugano S, Kohno T, **Gotoh N.**: Oncogenic fusion gene CD74-NRG1 confers cancer stem cell-like properties in lung cancer through a IGF2 autocrine/paracrine circuit, *Cancer Res*, 76, 974-983, 2016.



後藤 典子

金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野

1989年 金沢大学医学部卒業
1993年 東京大学大学院医学系研究科博士課程修了
1993年 東京大学医科学研究所助手
1998年 ニューヨーク大学医学部 Department of Pharmacology,
2005年 東京大学医科学研究所助教授
2007年 東京大学医科学研究所特任准教授(独立)
2013年 現職

患者由来癌モデルを用いたがんエコシステム解明

関根 圭輔

国立がん研究センター研究所
がん細胞システム研究ユニット 独立ユニット長

癌オルガノイドモデルは患者癌を再現する癌モデルとして有用であることに加え、患者由来癌細胞を効率よく培養出来るという利点がある。このことから、異なる遺伝的背景を持つ複数の患者由来の細胞を利用できることに加え、膀胱癌など遠隔転移が有る場合は手術適応外となり、転移巣の解析が難しい場合に転移モデルを作製出来ること、希少癌など患者数が少なく臨床的な知見が得られにくい癌種などにおいて、樹立した癌オルガノイドを用いて薬剤評価が実施可能であることなど、患者由来のがんモデルとしての威力を発揮すると考えられる。

我々は、極めて予後が悪い難治がんの一つである膀胱癌において、膀胱癌細胞 - 間質の相互作用の解析を進め、原発巣のみならず癌モデルを用いて肝転移巣における癌細胞 - 間質の相互作用に着目し解析を進めている。一方、これまでの検討から、針生検や鉗子生検、鉗子洗浄液などごく僅かな臨床検体からでも癌オルガノイドを樹立可能な体制を整え、いくつかの希少癌の癌オルガノイドの樹立に成功している。これら希少癌の癌オルガノイドの特性解析を進めるとともに、癌オルガノイドをもちいて薬剤スクリーニングを行うことで、臨床的研究が困難な癌種に対する新たな治療法の提供を目指し研究を進めている。

【文献】

1. Otomo K, Omura T, Nozawa Y, Edwards SJ, Sato Y, Saito Y, Yagishita S, Uchida H, Watakabe Y, Naitou K, Yanai R, Sahara N, Takagi S, Katayama R, Iwata Y, Toshiro Shiokawa, Hayakawa Y, Otsuka K, Watanabe-Takano H, Haneda Y, Fukuhara S, Fujiwara M, Nii T, Meno C, Takeshita N, Yashiro K, Rocabado JMR, Kaku M, Yamada T, Oishi Y, Koike H, Cheng Y, **Sekine K**, Koga JI, Sugiyama K, Kimura K, Karube F, Kim H, Manabe I, Nemoto T, Tainaka K, Hamada A, Brismar H and Susaki EA. *Nature Commun.* **15**, 4941 (2024) (33/44) doi: 10.1038/s41467-024-49131-1
2. Kometani T, Kamo K, Kido T, Hiraoka N, Chibazakura T, Unno K, **Sekine K**. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 658: 1-9 (2023) doi: 10.1016/j.bbrc.2023.03.061
3. Krumm J, **Sekine K**, et al., *Cell Reports*. 38(13):110604. (2022)
4. Yasui R, Matsui A, **Sekine K***, et al., *Stem Cell Rev Rep*. 10.1007/s12015-022-10402-3
5. **Sekine K**. *Front Genet*. 12:759366.(2021)
6. Yasui R, **Sekine K***, et al., *Stem Cells* 39(4):429-442. (2021)*corresponding authors
7. **Sekine K***, et al., *Scientific Reports* 10, Article number: 17937 (2020)*corresponding authors.
8. **Sekine K***, et al., *Scientific Reports* 10, Article number: 10293 (2020)*corresponding authors.
9. Takada K, **Sekine K**, et al., *Int J Cancer* 148(1):193-202.(2020)



関根 圭輔

国立がん研究センター研究所
がん細胞システム研究ユニット 独立ユニット長

2000年 東京大学大学院農学生命科学研究科修了 博士(農学)
2000年 東京大学分子細胞生物学研究所 助手
2009年 横浜市立大学大学院医学研究科 助教
2018年 同 講師
2019年 東京大学医科学研究所 准教授
2020年より現職

患者由来肺癌オルガノイドライブラリーを用いた 肺癌不均一性の分子理解

安田 浩之

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

肺癌は、癌死因一位の予後不良の疾患である。近年、癌組織を用いた分子プロファイリングにより肺癌の不均一性が明らかになってきている。例えば、肺癌における最も代表的な組織型である腺癌の中にも、EGFR、KRAS、ALKといった様々なドライバー遺伝子を有する肺腺癌サブグループが存在する。このような肺癌の不均一性の分子理解は、それぞれのサブグループにおける発癌機序を明らかにするとともに、肺癌にとって重要な遺伝子あるいはシグナル経路を明らかにした。さらに、それら遺伝子あるいはシグナル経路を標的とした治療が開発され、患者予後の改善をもたらした。今後、さらに肺癌治療を進歩させ患者予後改善につなげるには、肺癌不均一性の分子理解の深化が喫緊の課題である。

我々のグループでは、臨床現場で経験する肺癌の不均一性を理解するために、患者由来肺癌オルガノイドライブラリーの構築を行ってきた。患者から書面での同意を取得後に様々な患者検体から効率的に肺癌オルガノイドを樹立する方法を開発した。特に、胸水、喀痰、CTCなどからの樹立法を開発することで、患者負担少なく検体を採取し、オルガノイド樹立が可能になった。現在までに約240ラインのオルガノイドを樹立した。樹立した肺癌オルガノイドが、病理組織学的に患者検体と同様の組織形態、タンパク発現パターンを有する事、同様のゲノム異常を有する事を確認した。また、*in vitro*での薬剤感受性解析によって、臨床における薬剤感受性とオルガノイドの薬剤感受性が同様のパターンを示すことを確認した。

樹立したオルガノイドライブラリーに対して、生物学的検証を行い、肺癌不均一性の理解をすすめた。その中で、特定の分子異常を有する肺癌サブグループが増殖・生存に依存するシグナル経路を同定した。具体的には、NKX2-1陰性肺腺癌がWNT経路に依存すること、POU2F3あるいはYAP1陽性の小細胞肺癌がIGF1R経路に依存することを明らかにした。また、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤耐性化後のオルガノイドを用いて、腺癌と扁平上皮癌の中間体への転化を示すことでEGFRチロシンキナーゼ阻害剤への耐性を獲得するサブグループを同定した。

患者由来肺癌オルガノイドは、肺癌の不均一性を理解する上で強力なツールであり、そこからの治療標的の同定を通して肺癌医療の進歩に貢献できる可能性がある。

【受賞歴】

- 2003年 Best Resident (慶應義塾大学医学部内科学教室)
- 2006年 Best Presentation Award in session, 11th Annual Congress of Asian Pacific Society of Respiriology
- 2010年 Kyorin Respiratory Award
- 2011年 組織的若手研究者海外派遣プログラム
- 2015年 日本呼吸器学会 学会奨励賞
- 2015年 日本肺癌学会 若手奨励賞
- 2018年 日本肺癌学会 研究奨励賞
- 2023年 日本呼吸器財団 研究助成

【所属学会】

- 日本内科学会、日本呼吸器学会、日本癌学会、
日本肺癌学会、日本呼吸器内視鏡学会、日本臨床腫瘍学会
American Association for Cancer Research (AACR)
International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)



安田 浩之

慶應大学医学部呼吸器内科

- 2001年4月 慶應義塾大学医学部内科学教室入局 内科研修医
- 2006年9月 慶應義塾大学医学部クリニカルリサーチセンター
- 2011年1月 Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School
- 2012年4月 慶應義塾大学医学部呼吸器内科 助教
- 2016年10月 慶應義塾大学医学部呼吸器内科 専任講師
- 2022年7月 慶應義塾大学医学部呼吸器内科 准教授

がん三次元培養と空間的オミクス解析の統合によるがん難治性の解明

岡本 康司

帝京大学 先端総合研究機構

臨床がんの抗がん剤抵抗性や転移能等の難治性獲得には、がん細胞と非がん細胞が構成する細胞ネットワークの関与が指摘されている。がん組織中には、がん関連繊維芽細胞（CAF）、内皮細胞、マクロファージ等の非がん細胞が存在するが、がん細胞はこれらの非がん細胞との相互作用により、自らの生存増殖に有利なニッチ空間を構築する。とりわけ、CAF やマクロファージ等は、がん細胞との相互作用を通じて難治性獲得に関与していると考えられる。

近年、網羅的な遺伝子発現・タンパク発現の解析を組織標本上で行う、空間的オミクス解析技術の進歩が著しい。我々のグループでは、難治性ニッチの解析に向けた難治がん組織の空間的オミクス解析を進めている。とりわけシングルセル遺伝子発現解析と組む合わせる事により、難治性を担う細胞間のネットワークを組織切片上で可視化する事を目指している。このような解析で明らかになったがん細胞、非がん細胞との相互作用については、スフェロイド、オルガノイド等のがん三次元培養を用いて、*in vitro* 培養系における検証を試みている。

本演題では、大腸がん、卵巣がんを対象としたこれまでの解析について紹介する。卵巣明細胞がんの手術検体を用いて、シングルセル解析と空間的トランスクリプトーム解析との統合解析を行った所、抗がん剤抵抗性ニッチにおいてHIF-1 α 陽性の抵抗性がん細胞群とCancer-associated fibroblast (CAF)との共局在が認められた。そこで、CAFとがんスフェロイドとの共培養系を樹立した所、CAFによりがん細胞におけるHIF-1 α 発現及び抗がん剤抵抗性の上昇が認められた。これらの結果より、CAFががん細胞におけるHIF-1 α 活性誘導を介して治療抵抗性を亢進すると考えられた（文献1）。さらに、多重抗体イメージング（Codex）および組織1細胞解析（Xenium）により、CAFによる治療抵抗性亢進メカニズムのさらなる検証を行っている。

マウス移植モデルを用いた解析として、大腸がん由来スフェロイドの移植腫瘍の解析も行っている。シングルセル解析と空間的トランスクリプトーム解析の統合により、腫瘍と間質の境界部において、myCAFと近接し転移性を担う細胞群の存在を明らかにした。共培養系を用いた解析により、CAFの存在下で浸潤性を獲得するがん細胞群を同定したが、転移能獲得の過程を再構成したと考えられ、共培養系を用いたメカニズム解析を進めている。

【文献】

1. Targeting PDGF signaling of cancer-associated fibroblasts blocks feedback activation of HIF-1 α and tumor progression of clear cell ovarian cancer. Mori Y, Okimoto Y, Sakai H, Kanda Y, Ohata H, Shiokawa D, Suzuki M, Yoshida H, Ueda H, Sekizuka T, Tamura R, Yamawaki K, Ishiguro T, Mateos RN, Shiraishi Y, Yatabe Y, Hamada A, Yoshihara K, Enomoto T, Okamoto K. * *Cell Rep. Med.* doi: 10.1016/j.xcrm.2024.101532. 2024
2. PROX1 induction by autolysosomal activity stabilizes persister-like state of colon cancer via feedback repression of the NOX1-mTORC1 pathway. Ohata H, Shiokawa D, Sakai H, Kanda Y, Okimoto Y, Kaneko S, Hamamoto R, Nakagama H, Okamoto K. *Cell Rep.* doi: 10.1016/j.celrep.2023.112519, 2023
3. Integrative analyses of gene expression and chemosensitivity of patient-derived ovarian cancer spheroids link G6PD-driven redox metabolism to cisplatin chemoresistance. Yamawaki K, Mori Y, Sakai H, Kanda Y, Shiokawa D, Ueda U, Ishiguro T, Yoshihara K, Nagasaka K, Onda T, Kato T, Kondo T, Enomoto T, Okamoto K. *Cancer Lett.* doi: 10.1016/j.canlet.2021.08.018, 2021
4. Shiokawa D, Sakai H, Ohata H, Miyazaki T, Kanda Y, Sekine S, Narushima D, Hosokawa M, Kato M, Suzuki S, Takeyama H, Kambara H, Nakagama H, Okamoto K. Slow-cycling cancer stem cells regulate progression and chemoresistance in colon cancer. *Cancer Res.* canres.0378.2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0378, 2020
5. Ohata H, Shiokawa D, Obata Y, Sato A, Sakai H, Fukami M, Hara W, Taniguchi H, Ono M, Nakagama H, Okamoto K. NOX1-dependent mTORC1 activation via S100A9 oxidation in cancer stem-like cells leads to colon cancer progression. *Cell Rep.* 28, 1282-1295, 2019.
6. Shiokawa D, Sato A, Ohata H, Mutoh M, Sekine S, Kato M, Shibata T, Nakagama H, Okamoto K. The Induction of Selected Wnt Target Genes by Tcf1 Mediates Generation of Tumorigenic Colon Stem Cells. *Cell Rep.* 19, 981-994, 2017
7. Ishiguro T, Sato A, Ohata H, Ikarashi Y, Takahashi R, Ochiya T, Yoshida M, Tsuda H, Onda T, Kato T, Kasamatsu T, Enomoto T, Tanaka K, Nakagama H, Okamoto K. Establishment and characterization of an in vitro model of ovarian cancer stem-like cells with an enhanced proliferative capacity. *Cancer Res.* 76, 150-160, 2016
8. Masuda M, Uno Y, Ohbayashi N, Ohata H, Mimata A, Kukimoto-Niino M, Moriyama H, Kashimoto S, Inoue T, Goto N, Okamoto K, Shirouzu M, Sawa M, Yamada T. TNIK inhibition abrogates colorectal cancer stemness. *Nature Commun.* 7, 12586, 2016



岡本 康司

帝京大学 先端総合研究機構

1986年 東京大学医学部卒
1986年 東京大学附属病院研修医
1991年 コールドスプリングハーバー研究所博士研究員
1992年 東京大学医学系大学院博士課程卒(生化学)
1996年 コロンビア大学博士研究員
2000年 国立がんセンター研究所 放射線研究部 室長
2010年 国立がん研究センター研究所 がん分化制御解析分野 分野長
2022年 帝京大学 先端総合研究機構 教授

患者由来鶏卵モデル「歴史から未来を創造する」

大豆本 圭

徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野

日本は超高齢社会を迎えている。がん患者数の急増に伴い新規薬物療法の開発が進む一方で、国民医療費は過去最高の46兆円に達しており、臨床・研究のあり方の再考を迫られている。患者一人ひとりに合わせた個別化医療を実現するためには、有用な薬剤スクリーニング法の開発が急務である。現在、個別化医療に向けて使用されている動物モデルはマウスが主流ですが、「コスト」と「時間」の面で課題を抱えている。一方、鶏卵を用いたがん移植モデルは「低コスト」であることに加え、移植した腫瘍が鶏卵の血管を利用して安定的に増殖し、がん移植後約7日間で評価が終了するという「時間」のメリットも大きい点が特徴である。さらに、患者由来の微小環境を維持したまま培養できるため、個別化医療に適したスクリーニングモデルと言えるだろう。

当教室では、がん患者様への還元を目指し、個別化医療を掲げ患者由来組織を用いた免疫不全マウスへの皮下移植モデル(PDXモデル)の研究に取り組んできた。鶏卵を用いたがん移植モデルの薬剤スクリーニング法としての有用性に着目し、宇都研究室(徳島大学大学院社会産業理工学研究部)と共同で、個別化医療を目指した鶏卵PDXモデルを開発している。さらに、実臨床での免疫チェックポイント阻害薬の普及に伴いヒト免疫を移植した鶏卵を作製し免疫チェックポイント阻害薬を評価できる「新規ヒト免疫鶏卵モデルの開発」も進めている。

本シンポジウムでは、患者由来鶏卵モデル「歴史から未来を創造する」と題し、以下の内容で解説・紹介する。

1. 鶏卵研究の歴史
2. 現在の医療発展
3. 鶏卵と最新医療との融合
4. 鶏卵モデルの現状の課題と今後の展望

【研究費、学会賞、受賞歴】

科研費

1. 2019年度～2020年度 若手研究 19K18612
尿路上皮癌の多段階進展機構の先進的病態解明と革新的治療開発
2. 2019年度～2020年度 挑戦的研究（萌芽）19K22689
鶏卵を用いた次世代患者由来がんモデルの作製と薬剤スクリーニング法の確立
3. 2021年度～2022年度 若手研究 21K16755
「DDX31」遺伝子改変による尿路上皮癌自然発癌モデルによる免疫複合治療の開発
4. 2023年度～2025年度 基盤C 23K08758
Mutant p53 - DDX31 axis から紐解く Cancer Immunology Research

受賞歴

- | | | |
|----------|-------------|------------------------|
| 2015年6月 | 日本がん分標的治療学会 | 優秀演題賞 |
| 2016年2月 | 泌尿器分子細胞研究会 | 研究奨励賞 |
| 2019年4月 | 日本泌尿器科学会 | 学会賞 |
| 2021年2月 | 泌尿器分子細胞研究会 | 研究奨励賞 |
| 2021年4月 | 日本泌尿器科学会 | ヤングリサーチグラント |
| 2022年10月 | 日本癌治療学会学術集会 | Young Oncologist Award |
| 2024年4月 | 日本泌尿器科学会 | Best Poster Award |
| 2024年6月 | 日本がん転移学会 | 若手奨励賞 |

【文献】

1. A DDX31/Mutant-p53/EGFR Axis Promotes Multistep Progression of Muscle-Invasive Bladder Cancer. Cancer research 78(9) 2233-2247 May 2018
2. Insulin receptor expression to predict resistance to axitinib and elucidation of the underlying molecular mechanism in metastatic renal cell carcinoma Br J Cancer. 2023 Aug;129(3):521-530.



大豆本 圭

徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野

- | | |
|---------|--|
| 2010年3月 | 徳島大学医学部医学科卒業 |
| 2013年5月 | 徳島大学先端酵素学研究所 ゲノム制御学分野
片桐豊雅研究室で基礎研究に従事 |
| 2019年4月 | 徳島大学病院泌尿器科・特任助教 |
| 2020年4月 | 徳島大学大学院医歯薬学研究部 泌尿器科学分野 助教 |

資格 泌尿器科学会専門医・指導医
泌尿器腹腔鏡技術認定医
性機能学会専門医
da Vinci Surgical System certificate
hinotori™ certificate

膵癌Classicalサブタイプ研究とCAMモデル

馬場 泰輔

名古屋大学 腫瘍外科

癌が非常に多様な疾患であることは以前から認識されてきた。近年、RNA-seqなどの網羅解析によって、腫瘍の遺伝子発現パターンに基づき患者がいくつかのサブタイプに分類されることが明らかとなっている。特に膵癌においては、Moffittらが提唱したClassicalとBasal-likeの二つのサブタイプがコンセンサスとして広く受け入れられている。Classicalサブタイプは化学療法感受性が高く予後が良好である一方、Basal-likeサブタイプは増殖および転移しやすく予後不良であることが特徴とされる。膵癌患者の約1/4から1/3がBasal-likeサブタイプであるとされているが、培養された細胞株はほぼ全てがBasal-likeサブタイプであり、患者の多様性を反映していないことがわかっている。以前所属していた研究室では、膵癌PDX腫瘍とその腫瘍から樹立した低継代細胞株のライブラリを保有していた。この細胞株ライブラリも、先行研究と同様にほぼ全てがBasal-likeサブタイプであったが、樹立元のPDX腫瘍を解析したところ臨床同様の多様性があることが明らかとなった。つまり、Basal-likeな腫瘍だけが生着していると考えられてきたが、実際にはClassicalな腫瘍も生着し細胞株となっており、ただしその表現型はBasal-likeに切り替わってしまっていたのである。さらに、これらの細胞株を再度マウスに移植して腫瘍を形成させると、一部の腫瘍がClassicalに戻ることがわかった。このように膵癌細胞株はClassicalとBasal-likeの間を環境に応じて柔軟に切り替えることができるのである。

化学療法感受性や予後を規定するほどの遺伝子発現パターンの違いがエピジェネティックに切り替わるのであれば、その因子を見つけることで全ての膵癌を化学療法感受性の良いClassicalサブタイプにすることができるのではないかと考え、その制御因子候補を複数同定した。これらの因子をノックダウンし、膵癌細胞への影響を解明しようと計画したが、細胞株が全てBasal-likeであるため、Classical遺伝子の発現に対する影響の検証は2次元培養細胞株のノックダウン実験では不可能であることに気づいた。

そこで、迅速かつ安価にin vivoの結果が得られるCAMモデルについて学び、最近はこれを活用して実験を重ねている。期待通り、細胞株ではほぼ発現のないClassical関連遺伝子がCAM上では高発現していることが確認された。早い・安い・うまい(?) CAMモデルの利点について具体例を示しながら、今後の可能性について議論したい。



馬場 泰輔

名古屋大学 腫瘍外科

2019/03 名古屋大学大学院 総合医学専攻 卒業 (博士号取得)

2019/04~2022/03 Harvard Medical School/Massachusetts General Hospital(米国) Department of Surgery, Liss Lab (Research Fellow)

2022/04 ~現在 名古屋大学医学部附属病院 消化器・腫瘍外科 病院助教

CAMアッセイの全国展開

鶏卵のCAM膜を利用したCAMアッセイはその簡便さ、迅速さ、安価さで有用ながんモデルである。特に患者由来のがんサンプルを用いたCAMアッセイは重要な情報をもたらすと期待されプレシジョンメディシンの開発に大事な役割をはたしうと考えられる。最近、様々な研究所や病院でCAMアッセイが開発されてきた。こうした活動にかかわってこられた研究者にそれぞれの経験を語っていただき、聴衆を含めた活発なディスカッションを行いたい。



渡辺 隆義

千葉がんセンター研究所発がん制御部



斎藤 伴樹

京都大学医学部附属病院腫瘍内科



土岐 俊一

静岡県立静岡がんセンター整形外科



患者由来オルガノイドモデルを用いた HPV発癌の検討

田口 歩

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 特任研究員

子宮頸癌の約95%はヒトパピローマウイルス（HPV）感染が原因である。HPVワクチンが導入されているが、その普及が遅れているため、子宮頸癌の撲滅にはまだ時間がかかると考えられる。HPVは子宮頸部の扁平円柱接合部（SCJ）の細胞に感染し、持続感染を経て、HPVゲノムがヒトゲノムに組み込まれ、ヒト遺伝子に変異が蓄積することで発癌に至る。しかし、HPVが標的とする細胞の詳細や各症例における発癌のメカニズムは十分に解明されていない。

近年、オルガノイド培養技術の進歩により、患者モデルを用いた薬剤感受性試験が比較的容易に行えるようになり、臨床応用が期待されている。本研究の目的は、患者由来のオルガノイド培養を用いて、1. HPV関連子宮頸癌の個別化治療ワークフローの開発、2. SCJオルガノイドを用いたHPV標的細胞の特徴解明である。

まず、最も悪性度の高い組織型である小細胞癌のオルガノイドを樹立した。ゲノム解析の結果、KRAS p.G12D変異が見つかり、KRAS経路に関わるMEK阻害剤が治療候補として特定された。RNAシーケンス解析では、8番染色体のMYCの上流にHPVが組み込まれ、MYCの発現が上昇していることが判明した。オルガノイド培養を用いた薬剤感受性試験では、MEK阻害剤trametinibが高い抗腫瘍効果を示し、IC₅₀は6.7 nMであった。さらに、オルガノイド由来のマウスモデルでtrametinibの治療効果が確認された。

次に、HPVの標的細胞の同定とその特徴を解析するために、SCJオルガノイドにHPV18型の転写調整領域制御性GFP発現レンチウイルスベクター（HPV18-LCR-GFP）を導入した。これにより、HPV18型が複製可能な細胞を単離し、単一細胞解析を行った。その結果、GFP陽性細胞で細胞分裂や分化に関わる89個の遺伝子が発現上昇していることが分かった。さらに、siRNAノックダウン法により、これらの遺伝子の中からクロマチンリモデリングに関わるNPM3がHPVの複製を阻害することが確認された。NPM3は子宮頸部腺癌で発現が上昇しており、子宮頸部腺癌の発生に関与している可能性が示唆された。

以上のように、患者由来のオルガノイド培養を用いることで、HPV関連子宮頸癌の個別化治療ワークフローの樹立が可能となり、さらにSCJオルガノイドを活用することで、HPV関連子宮頸癌の発癌メカニズムの解明が期待される。

【研究費】

日本医療研究開発機構：新興・再興感染症研究基盤創生事業（多分野融合研究領域）：単一細胞解析技術の統合による HPV18 型幹細胞発癌機構の解明（代表、2023-2025）

日本医療研究開発機構：新興・再興感染症研究基盤創生事業（多分野融合研究領域）：新規培養技術を用いた、扁平腺接合部細胞における高悪性度 HPV18 型の潜伏持続感染および発癌機構の解明（代表、2020-2022）

日本医療研究開発機構：感染症研究革新イニシアティブ（J-PRIDE）：組織前駆細胞（幹細胞）における潜伏感染・持続感染維持機構と細胞分化に伴うウイルス再活性化の分子機構の解明（代表 2017-2019）

【学会賞、受賞歴】

1. MSD Life Science Foundation 特別奨励賞 2018 年
2. Yoon-Seok Chang Endowment Award, *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40: 770, The Asia & Oceania Federation of Obstetrics & Gynaecology (AOFOG) 2015 年

【文献】

1. Toyohara Y, Taguchi A, Ishii Y, Yoshimoto D, Yamazaki M, Matsunaga H, Nakatani K, Hoshi D, Tsuchimochi S, Kusakabe M, Baba S, Kawata A, Ikemura M, Tanikawa M, Sone K, Uchino-Mori M, Ushiku T, Takeyama H, Oda K, Kawana K, Hippo Y, Osuga Y. Identification of target cells of human papillomavirus 18 using squamocolumnar junction organoids. *Cancer Sci.* 2024 Jan;115(1):125-138.
2. Kusakabe M, Taguchi A, Tanikawa M, Hoshi D, Tsuchimochi S, Qian X, Toyohara Y, Kawata A, Wagatsuma R, Yamaguchi K, Yamamoto Y, Ikemura M, Sone K, Mori-Uchino M, Matsunaga H, Tsuruga T, Nagamatsu T, Kukimoto I, Wada-Hiraike O, Kawazu M, Ushiku T, Takeyama H, Oda K, Kawana K, Hippo Y, Osuga Y. Application of organoid culture from HPV18-positive small cell carcinoma of the uterine cervix for precision medicine. *Cancer Med.* 2023 Apr;12(7):8476-8489.
3. Kusakabe M, Taguchi A, Tanikawa M, Wagatsuma R, Yamazaki M, Tsuchimochi S, Toyohara Y, Kawata A, Baba S, Ueno T, Sone K, Mori-Uchino M, Ikemura M, Matsunaga H, Nagamatsu T, Wada-Hiraike O, Kawazu M, Ushiku T, Takeyama H, Oda K, Kawana K, Mano H, Osuga Y. Cells with stem-like properties are associated with the development of HPV18-positive cervical cancer. *Cancer Sci.* 2023 Mar;114(3):885-895.



田口 歩

大阪大学免疫学フロンティア研究センター 特任研究員

- 2008年 東京大学医学部卒業
2015年 東京大学大学院 生殖発達加齢医学専攻 修了
2015年 東京大学医学部附属病院 産婦人科 助教
2016年 がん感染症センター 都立駒込病院 婦人科 医員
2019年 東京大学医学部附属病院 産婦人科 助教
2022年 大阪大学免疫学フロンティア研究センター James Wing lab 特任研究員

Patient-derived organoids を用いた 同所移植モデルマウスの利用

山崎 昌哉

公益財団法人がん研究会 がん研究所 発がん研究部

近年、がんは不均一な細胞から構成される社会であることが明らかとなってきた。また、超免疫不全マウスの開発により、この患者がん組織の細胞多様性を模倣するモデルとして patient-derived xenograft (PDX) が広く利用できるようになった。さらに、*in vitro* で臓器の三次元構造を模倣するオルガノイド培養技術の応用により樹立された patient-derived organoid (PDO) も、がん研究の場で広く用いられるようになってきている。特に PDO は、PDX では困難であった遺伝子改変技術の適用が容易であるため、遺伝子機能の解析や特定のシグナル伝達経路の役割を解明するためのツールとして有用である。

従来のマウス異所移植モデルでは、がんサンプルを皮下に移植する方法が用いられたが、腫瘍が本来存在する臓器と異なる環境に置かれるため、特に臓器特異的な微小環境や転移、免疫応答の影響を評価することが困難な場合があった。これに対して同所移植モデルは、腫瘍を元の臓器に移植することで前述の課題を克服する、より生理的な *in vivo* がんモデルとして期待されている。

我々の研究室では、膵がん、大腸がんの PDO を樹立し、免疫不全マウスの同所移植モデルを用いたがん進展の解析を行ってきた (Yamazaki ら . *EMBO J.* 2023; 大腸がんモデルについては投稿準備中)。また、肺がんや胃がんのシンジェニックマウス同所移植モデルを利用し、がん微小環境におけるがん関連線維芽細胞とがん細胞の相互作用について報告した (Semba ら . *Cancers.* 2020; Wei ら . *FEBS J.* 2022; Zhang ら . *Cancer lett.* 2024)。

以上のように、PDO を用いた同所移植モデルマウスは、さまざまながんにおける進展や治療効果を *in vivo* で評価するための強力なツールとなりうる。さらに、この同所移植モデルにおいてヒト血液・免疫モデルマウスを利用することは、将来的な臨床応用に向けた基盤情報取得のための重要な役割を果たすことが期待される。本講演では、我々が作製した同所移植モデルを紹介し、またその利用法について議論したい。

【受賞歴】

1. 2024年 研究奨励賞（日本がん分子標的治療学会）
2. 2024年 花王科学奨励賞（公益財団法人花王芸術・科学財団）
3. 2023年 膵臓病奨励賞（公益財団法人日本膵臓病研究財団）
4. 2023年 ベストプレゼンテーション賞（NGS EXPO 2023）
5. 2022年 若手ベストアブストラクト賞（日本がん転移学会）
6. 2021年 Young Poster Award（日本癌学会）
7. 2019年 学術奨励賞（公益財団法人肥後医育振興会）

【文献】

1. Yamazaki M*, Hino S, Usuki S, Miyazaki Y, Oda T, Nakao M, Ito T, Yamagata K. YAP/BRD4-controlled ROR1 promotes tumor-initiating cells and hyperproliferation in pancreatic cancer. *EMBO J.* (2023) PMID: 37096681.
2. Semba T, Sato R, Kasuga A, Suina K, Shibata T, Kohno T, Suzuki M, Saya H, Arima Y. Lung Adenocarcinoma Mouse Models Based on Orthotopic Transplantation of Syngeneic Tumor-Initiating Cells Expressing EpCAM, SCA-1, and Ly6d. *Cancers (Basel).* (2020) PMID: 33348616.
3. Wei F, Uchihara T, Yonemura A, Yasuda-Yoshihara N, Yasuda T, Semba T, Fukuda M, Akiyama T, Kitamura F, Bu L, Hu X, Fu L, Zhang J, Kariya R, Yamasaki J, Aihara K, Yamashita K, Nagano O, Okada S, Baba H, Ishimoto T. A novel tdTomato transgenic mouse model to visualize FAP-positive cancer-associated fibroblasts. *FEBS J.* (2023) PMID: 36565059.
4. Zhang J, Fu L, Wang H, Yonemura A, Semba T, Yasuda-Yoshihara N, Nishimura A, Tajiri T, Tong Y, Yasuda T, Uchihara T, Yamazaki M, Okamoto Y, Yamasaki J, Nagano O, Baba H, Ishimoto T. RAC1-mediated integrin alpha-6 expression in E-cadherin-deficient gastric cancer cells promotes interactions with the stroma and peritoneal dissemination. *Cancer Lett.* (2024) PMID: 38641311.



山崎 昌哉

がん研究会 がん研究所 発がん研究部

2008年 筑波大学 医学専門学群看護・医療科学類 医療科学主専攻 卒業
2013年 株式会社未来創薬研究所 技術員
2022年 熊本大学 医学教育部医学専攻 修了、博士(医学)
2022年 熊本大学 大学院生命科学研究部 病態生化学講座 学術研究員
2023年 公益財団法人がん研究会 がん研究所 発がん研究部 博士研究員

患者由来胆管癌オルガノイドを用いた NCYM標的薬の開発

末永 雄介

千葉県がんセンター研究所 進化腫瘍学研究室 室長

がん遺伝子 *MYCN* のアンチセンス転写産物である *NCYM* はヒトにおいてのみタンパク質をコードする。小児がんである神経芽腫において *NCYM* は *GSK3β* の抑制を介して *MYCN* を安定化させ遠隔転移を促進する。成人がんにおいては *NCYM* 高発現が胆管癌の予後不良と関連することは示されていたが、その発がんへの寄与は明らかにされていなかった。本研究において我々はオルガノイドモデルを用いて、*NCYM* の胆管発がんへの寄与を検証した。

ヒト胆管癌検体において *NCYM* 発現量が *Ras* シグナルと相関することに基づき、*Kras*^{G12D} を発現するマウス胆管オルガノイドに *NCYM* 野生型および SNP を過剰発現させヌードマウス皮下における腫瘍形成率を比較した。野生型 *NCYM*+ *Kras*^{G12D} では腫瘍形成率が 79% と *Kras*^{G12D} 単独 (52%) に比較し発がんを促進したのに対し、日本人型 *NCYM* SNP + *Kras*^{G12D} では 36% とむしろ発がんが抑制された。さらに野生型 *NCYM*+ *Kras*^{G12D} オルガノイドの Long-read RNAseq 解析の結果、*Kras*^{G12D} 単独に比較しオートファジー関連遺伝子の発現が上昇した。実際に DALGreen 染色および電子顕微鏡解析により、野生型 *NCYM* がオートリソソーム形成を促進することが示された。一方で日本人型 *NCYM* SNP+ *Kras*^{G12D} オルガノイドでは p62 の発現上昇とオートリソソームの凝集塊形成を伴うオートファジーの抑制が観察され細胞死が誘導された。さらに患者由来胆管癌オルガノイド (PDO) において *NCYM* ノックダウンは細胞死を誘導したことから、*NCYM* が胆管癌の治療標的になることが示唆された。そこで既存薬から *NCYM* 結合化合物を *in silico* においてスクリーニングし候補化合物を PDO に添加することで *NCYM* 過剰発現に合成致死を誘導する化合物を同定した。これら化合物のうち酢酸リジンおよびクルクミン類似体は *NCYM* と直接結合し、PDO への添加により *NCYM* 発現量依存的にオートリソソーム形成を抑制し p62 発現を誘導した。

以上の結果から野生型 *NCYM* は *Kras*^{G12D} と協調してオートファジーを活性化し胆管発がんを促進するのに対し、日本人型 *NCYM* SNP はむしろオートファジーを阻害し発がんを抑制することが示された。この SNP は胆管癌が好発する日本において進化的に有益な変異として日本人集団に蓄積した可能性がある。さらに野生型 *NCYM* の阻害は *Ras* シグナルの活性化を伴う胆管癌に対する有望な新規治療戦略となる可能性が示唆された。

【研究費】

1. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 (C) : NCYM によるオートファジー制御とその胆管発がんへの寄与の解明 (代表、2024-2027)
2. 日本医療研究開発機構 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業 戦略的国際共同研究プログラム (SICORP) e-ASIA 共同研究プログラム : 肝がんに対する MYCN/NCYM 標的治療薬の開発 (分担、2022-2025)
3. 日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 (C) : NCYM による分裂期制御機構とその神経芽腫発がんへの寄与の解明 (代表、2021-2024)

【文献】 *corresponding authors

1. Mouhand A, Nakatani K, Kono F, Hippo Y, Matsuo T, Barthe P, Peters J, **Suenaga Y***, Tamada T*, Roumestand C*. 1H, 13C and 15N backbone and side-chain resonance assignments of the human oncogenic protein NCYM. *Biomol NMR Assign.* 2024 Jun;18(1):65-70.
2. Nakatani K, Kogashi H, Miyamoto T, Setoguchi T, Sakuma T, Kugou K, Hasegawa Y, Yamamoto T, Hippo Y, **Suenaga Y***. Inhibition of OCT4 binding at the *MYCN* locus induces neuroblastoma cell death accompanied by downregulation of transcripts with high-open reading frame dominance. *Front Oncol.* 2024 Feb 8; 14:1237378.
3. Yamamoto S, Kono F, Nakatani K, Hirose M, Horii K, Hippo Y, Tamada T, **Suenaga Y****, Matsuo T*. Structural characterization of human de novo protein NCYM and its complex with a newly identified DNA aptamer using atomic force microscopy and small-angle X-ray scattering. *Front Oncol.* 2023 Nov 23; 13:1213678.
4. **Suenaga Y***, Kato M, Nagai M, Nakatani K, Kogashi H, Kobatake M, Makino T. Open reading frame dominance indicates protein-coding potential of RNAs. *EMBO Rep.* 2022 Jun 7;23(6): e54321.
5. Matsuo T, Nakatani K, Setoguchi T, Matsuo K, Tamada T*, **Suenaga Y***. Secondary Structure of Human De Novo Evolved Gene Product NCYM Analyzed by Vacuum-Ultraviolet Circular Dichroism. *Front Oncol.* 2021 Aug 23; 11:688852.
6. **Suenaga Y***, Nakatani K, Nakagawara A*. De novo evolved gene product NCYM in the pathogenesis and clinical outcome of human neuroblastomas and other cancers. *Jpn J Clin Oncol.* 2020 Aug 4;50(8):839-846.
7. **Suenaga Y**, Islam SM, Alagu J, Kaneko Y, Kato M, Tanaka Y, Kawana H, Hossain S, Matsumoto D, Yamamoto M, Shoji W, Itami M, Shibata T, Nakamura Y, Ohira M, Haraguchi S, Takatori A, Nakagawara A*. NCYM, a Cis-antisense gene of MYCN, encodes a de novo evolved protein that inhibits GSK3 β resulting in the stabilization of MYCN in human neuroblastomas. *PLoS Genet.* 2014 Jan;10(1): e1003996.



末永 雄介

千葉県がんセンター研究所 進化腫瘍学研究室 室長

2005年 千葉大学理学部生物学科卒業
2007年 千葉大学大学院医学薬学府修士課程医科学専攻修了
2010年 千葉大学大学院医学薬学府博士課程先端生命科学専攻修了
2010年 千葉県がんセンター研究所 研究員
2017-2020年 東京理科大学薬学部 客員准教授
2022年 千葉県がんセンター研究所 上席研究員
2024年 現職

脳卒中・神経外傷の疾患モデルによる創薬開発と再生医療

丸島 愛樹

筑波大学医学医療系 脳神経外科 臨床再生医療研究室

脳卒中や神経外傷では、脳虚血や物理的衝撃による一次損傷と、その後の生体反応によって生じる二次損傷に分けられる。医薬品開発は主に二次損傷に対して行われており、炎症細胞、サイトカイン、酸化ストレス、免疫、神経伝達物質と受容体などを標的とした研究開発が行われている。再生医療は、細胞医薬やオルガノイドなどの移植技術と移植細胞の生着と神経ネットワークを再構築させるための足場材料の研究開発が進んでいる。脳卒中や神経外傷に対する神経機能回復と ADL 改善を目的とした新たな医薬品や再生医療等製品の開発には、標的疾患に対する適切な疾患モデルの構築と、薬物や細胞投与方法、薬物動態評価、安全性評価が必要である。

我々は虚血性脳卒中や外傷性脳損傷の酸化ストレスを解決する神経保護薬として、高分子ラジカル消去剤（レドックスナノ粒子：RNP）の開発を行っている。マウス一過性脳虚血モデルを用いた *in vivo* 実験では、脳虚血再灌流障害後に RNP を頸動脈から投与することで、RNP は虚血再灌流障害を受けた中枢神経系の細胞に取り込まれ、ミトコンドリアなどから生じる各種フリーラジカルを消去することで脳神経血管ユニット保護効果を示した。これらの細胞とげっ歯類を用いた実験成果を基に、現在、脳血管内治療の技術を用いてサル脳梗塞モデルを作成し、RNP の大動物 PoC 取得に向けた研究開発を行っている。また、これらの実験過程の中で、RNP で処理した神経系細胞は、再生医療の課題を解決できると着想した。歯髄幹細胞から分化誘導した神経系細胞を用いて、フリーラジカルを発生させる低酸素低栄養培養+再灌流 (OGD-R) 障害の *in-vitro* の脳虚血モデルを作成し、RNP が細胞内に取り込まれて細胞内に局在し、ラジカル消去作用を発揮することで、神経細胞を保護することを明らかにした。脳梗塞モデルマウスに対して、脳内にレドックスナノ粒子と神経系細胞を混和して移植した実験では、RNP は移植細胞の生存率の向上を示し、脳梗塞病変部においてアストロサイトや神経細胞の生着が確認できた。

本発表では、脳卒中と神経外傷に対する医薬品と再生医療等製品の開発のために、我々が用いている歯髄幹細胞や疾患特異的 iPS を用いた *in-vitro* モデル、げっ歯類と大動物モデルを用いた基礎研究と実用化に向けた研究開発戦略について紹介する。



丸島 愛樹

筑波大学医学医療系 脳神経外科 臨床再生医療研究室

- 1999年 筑波大学附属病院 及び関連病院 脳神経外科
- 2002年 東京都神経科学研究所 研究生
- 2007年 筑波大学附属病院 Clinical & Teaching fellow
- 2008年 産業技術総合研究所ナノテクノロジー研究部門研究生
- 2011年 ドイツ学術交流会奨学生, シャリテー医科大学病院ベルリン脳神経外科
- 2013年 筑波大学医学医療系 講師 脳神経外科、脳卒中科、救急・集中治療科
- 2021年 CrestecBio株式会社(筑波大学発ベンチャー) 代表取締役
- 2023年 筑波大学医学医療系 准教授 脳卒中科、救急・集中治療科、脳神経外科、

ヒトの尿酸値に影響する遺伝子変異とモデル系

中山 昌喜

防衛医科大学校 分子生体制御学講座

激的な関節痛を特徴とする痛風の患者は日本に125万人いるとされ、血清尿酸値が高い (> 7.0 mg/dL) 状態である「高尿酸血症」が持続することが原因である。

ヒポクラテスが2,500年前に指摘した通り、痛風の主な原因には「性別 (男性)」「年齢 (中年以降)」「肥満」「多量飲酒」がある。加えて、近年の遺伝子研究の進展により、痛風・高尿酸血症の原因としての「遺伝」の詳細が明らかになってきた。その主要なものに、ヒト細胞膜上に存在する尿酸輸送体 (トランスポーター) をコードする遺伝子の変異がある。

尿酸輸送体遺伝子の研究は日本を中心に発展してきた。最初に同定された2つの尿酸輸送体遺伝子 *URAT1/SLC22A12* と *GLUT9/SLC2A9* は、いずれも尿酸値が低いことを特徴とする「腎性低尿酸血症 (RHUC)」という遺伝性疾患をもつ日本人患者から見い出されている (Enomoto, 2002; Matsuo, 2008)。RHUCは世界的には稀少疾患であるが、例外的に日本人には多く、人口の約0.3%に存在する。RHUCの病態は腎臓における原尿中の尿酸の再吸収不全であり、上述の尿酸再吸収輸送体遺伝子に存在する機能消失型変異が原因である。

さらに、生活習慣病としての痛風・高尿酸血症の主要な病因遺伝子として *ABCG2/BCRP* が同定された (Matsuo, 2009)。抗がん剤治療抵抗性の原因となる薬剤排泄輸送体としても知られるこの尿酸排泄輸送体をコードする遺伝子に機能消失型変異や機能低下型変異が存在すると、尿中への尿酸排泄が低下し、血清尿酸値の上昇をもたらす。ヒトの痛風リスクを3~10倍程度上昇 (Matsuo, 2014) させるこの変異は日本人に多く、人口寄与危険度割合は約30%と高値を示した (Nakayama, 2014)。すなわち、日本人集団における「*ABCG2* 遺伝子をもたらす高尿酸血症発症への影響」は「喫煙をもたらす全がん発症への影響」 (Inoue, 2022) とほぼ同じ大きさであることが明らかになった。近年ではゲノムワイド関連解析といった網羅的な手法により、*ABCG2* 以外にも多くの関連遺伝子が同定されている (Nakayama, 2020 他)。

ヒトおよび *Abcg2* ノックアウトマウスにおける研究からは、*ABCG2* の変異は腸管からの便中尿酸排泄の低下である「腎外尿酸排泄低下型」をもたらすという、痛風・高尿酸血症の新規発症機序が明らかになった (Ichida, 2012)。サルからの進化の過程でヒトは尿酸酸化酵素を失ったため、尿酸はヒトにおけるプリン体の最終代謝産物である。そのためヒト (尿酸値 3.0-7.0 mg/dL 程度) はマウス (1.0 mg/dL 程度) といった、霊長類の一部以外の動物と尿酸代謝経路が大きく異なっており、これは尿酸のモデル系を考えるうえで重要な点である。当日はこの点についても触れたい。



中山 昌喜

防衛医科大学校 分子生体制御学講座

- 2006年 防衛医科大学校(防医大)卒、初任実務研修(防医大病院・自衛隊中央病院)
- 2008年 航空自衛隊(空自) 下甕島分屯基地 医務室
- 2009年 空自 入間基地 航空医学実験隊
- 2010年 専門研修(防医大分子生体制御学講座)
- 2012年 空自 硫黄島分屯基地 医務室
- 2013年 防医大 医学研究科(防医大分子生体制御学講座)
- 2017年 空自 春日基地 医務室
- 2020年 防衛医大 分子生体制御学講座 講師(のち准教授)、現在に至る

希少がん細胞株を用いた新規治療標的の探索

吉松 有紀

栃木県立がんセンター 研究所

「年間発症数が10万人あたり6例未満であり、かつ症例数が少ないがゆえに診療・受療上の課題が他に比べて大きいがん」を希少がんと定義している。この定義にあてはまるがんは200種類ほど存在するが、発症数によって定義される疾患群なので、希少がんには共通の病理学的特徴や分子背景そして臨床症状や治療法がない。一方、症例数が少ないことに起因する種々の問題が、希少がん全般に共通して存在する。端的には、新しい治療法の開発が進まないことである。トランスレーショナル・リサーチに関連したところでは、研究に使用できる臨床検体が得難いため、患者由来がんモデルに代表される研究基盤が弱い弱であることである。

肉腫の中にはチロシンキナーゼ (TK) の融合遺伝子をもつタイプが存在する。このような融合遺伝子は、がん種横断的に治療標的になりバイオマーカーにもなるため、個別化医療・精密医療の実現のための研究対象として興味深い。融合遺伝子の多くはドライバーとしてがんの悪性形質に関わっており、融合遺伝子を有するがんはゲノム異常が少ない。このことは、融合遺伝子がない肉腫が様々な遺伝子異常を蓄積して発症していることと対照的である。我々は、「融合遺伝子がドライバーとして働く肉腫においては少ない症例からでも有用な知見を導き出せる可能性がある」と考えている。また、がん細胞に対して特異性が高い TK 阻害薬が得られれば、正常細胞への影響を最小限に抑えながらがん細胞の増殖や生存を阻害する治療法を開発できるかもしれない。

TK の融合遺伝子をもつ肉腫として、隆起性皮膚線維肉腫 (Dermatofibrosarcoma protuberans : DFSP) が挙げられる。DFSP は肉腫の1%を占め、緩やかに進行し、転移再発率は5%未満である。小児に見られる巨細胞線維芽腫 (giant cell fibroblastoma) と類縁疾患である可能性が示唆されているが、DFSP の起源細胞は特定されていない。DFSP では COL1A1-PDGFB 融合遺伝子が共通して存在する。COL1A1-PDGFB 融合遺伝子により、PDGF 受容体およびその下流の分子パスウェイが活性化され、DFSP の発症や進行が促進される。DFSP の治療においては TK 阻害剤であるイマチニブが有効である。イマチニブは TK が活性化されているがんに対して効果を示すが、長期間の使用により耐性が発生する。実際、DFSP 患者の50%がイマチニブに対する耐性を示すことが臨床的に問題になっている。

我々は、イマチニブに耐性を示す患者では、代替 TK 経路が活性化している可能性を検討した。耐性に寄与する TK とその活性化経路を明らかにすることで、DFSP における治療効果予測バイオマーカーや治療標的を発見できる。イマチニブへの感受性が異なる DFSP 細胞株を用いて TK 活性を調べるため、DFSP 症例5例の腫瘍組織から樹立された細胞株を5株使用した。イマチニブ暴露後の細胞の生存率より抑制効果を算出した。ポナチニブに感受性の高い細胞株があること、それらはポナチニブの標的 TK の活性化状態およびイマチニブの効果に有意な差異があることがわかった。すなわち、ポナチニブはイマチニブ治療への耐性を示す患者に対する新しい治療法につながる可能性がある。

「融合遺伝子がドライバーとして働く肉腫においては少ない症例からでも有用な知見を導き出せる可能性がある」とはいえ、DFSPの臨床像は一様ではなく症例ごとに治療応答性は異なる。臨床的な多様性に対応する患者由来がんモデルを樹立するためには、細胞生物学の深い理解に加え、疾患の臨床的な特性と分子背景を結びつける慧眼が必要である。そのうえで、細胞株だけでなくオルガノイドやゼノグラフトなど多種多様な患者由来がんモデルの樹立、そしてそれらの可能性と限界をみきわめるための解析が必要である。そのような研究の要となる臨床検体が得難いという根本的な希少がん研究には存在する。単一施設・単一国ではこの問題は解決が難しく、国際共同研究を含めた多施設共同研究、そして医工学連携に代表される学際的な取り組み、さらには国境を超えて臨床検体や研究データを効率よく共有できる仕組みを構築していきたい。

【受賞】

優秀演題賞 平滑筋肉腫の細胞株の樹立とその性状の解析および薬効評価スクリーニング
日本ヒト細胞学会 (2023)

ポスター賞「患者由来「肉腫」モデルの構築」
患者由来がんモデル学会 (2021)

【社会活動】

日本患者由来がんモデル学会 (理事)

日本ヒト細胞学会 (理事)

【論文】

Yoshimatsu Y, Noguchi R, Tsuchiya R, Sei A, Nakagawa M, Yoshida A, Kawai A, Kondo T. Establishment and characterization of NCC-DFSP3-C1: a novel patient-derived dermatofibrosarcoma protuberans cell line. Hum Cell. 2020 Jul;33(3):894-903. doi: 10.1007/s13577-020-00365-3. Epub 2020 Apr 30.

【研究費】

日本学術振興会：科学研究費助成事業 基盤研究 (C)：がんモデルとプロテオゲノミクスを用いた隆起性皮膚線維肉腫 DFSP の新規治療法の開発 (代表、2022-2025)



吉松 有紀

栃木県立がんセンター 研究所

2010年 Fred Hutchinson Cancer Research Center, Postdoctoral Fellow

2012年 University of Washington Medicine, Senior Fellow

2016年 国立がん研究センター 研究所

2022年 栃木県立がんセンター 研究所

歯髄MSC:自家幹細胞ソースとしての応用可能性

中原 貴

日本歯科大学生命歯学部 発生・再生医科学講座 教授

歯科では、小児・成人の抜歯治療で生じる乳歯や智歯などの抜去歯は、日常的に医療廃棄物として処分されている。こうした抜去歯の種々の組織からは、2000年以降に次々と間葉系幹細胞（MSC）の存在が報告され、骨髄や脂肪のMSCとならんで、自家幹細胞ソースの一つに挙げられている。自家幹細胞ソースとして抜去歯を活用する利点は、骨髄や脂肪のように再生医療のためにわざわざ組織を採取する必要がなく、抜歯という必要な歯科治療のなかで、患者自身の組織が得られる点である。また、抜去歯は医療廃棄物なので、廃棄される歯を再生医療に活用することに倫理的問題はなく、さらに廃棄物の再利用は現代のSDGsのコンセプトにもマッチする。したがって抜去歯は、いわば理想的な幹細胞ソースと言える。

私たちの研究グループは、広範な年代の抜去智歯から4種類の歯性幹細胞を分離し、骨髄幹細胞と比較解析することによって、いずれの歯性幹細胞も高い増殖能と同等の多分化能を有することを明らかにした【1, 2】。次いで、再生医療における代表的なリスクの一つであるウシ胎仔血清（FBS）を使用しない無血清培養によって、歯髄由来のMSC（歯髄幹細胞:歯髄MSC）の分離と拡大培養に成功した【3, 4】。さらに、歯髄MSCは、FBS存在下では単層のコンフルエントにとどまるどころ、無血清培養下では自律的に多層化（自己多層化）して細胞シートを形成するユニークな能力を有することを見出し、「自己多層化細胞シート」と命名した【特許出願中】。この新規細胞シートは、ピンセットでも破れない高い機械的強度により良好な操作性を有するので、さまざまな組織・臓器の細胞シート医療への応用が期待される。

他方、私たちは、歯髄MSCを将来の再生医療に応用するため、抜歯治療を必要とする患者の歯髄MSCを培養・保管する「歯の細胞バンク」にも取り組んでいる。治療抜歯した歯から歯髄MSCを分離培養して凍結保管することで、患者自身の再生医療に安全に用いることをめざす先進的な取り組みである。いまでは、歯の細胞バンク認定医（1,270名超）が在籍する歯科医院であれば、全国から抜去歯を「歯の細胞バンク」に送ることができる。さらに最近、京都大学iPS細胞研究財団との共同研究により、バンキングした歯髄MSCから自家iPS細胞を作製する研究開発をスタートした。

本講演は、歯髄MSCを用いた無血清培養による安全かつ効果的な細胞培養法と新規細胞シート技術に基づく体性幹細胞としての応用可能性、ならびにバンキング歯髄MSCからの自家iPS細胞の作製による多能性幹細胞としての応用可能性を提起し、自家幹細胞ソースとしての歯髄MSCの魅力的なポテンシャルについて紹介したい。

【主な受賞】

- 2017年 Odontology Prize (受賞論文: *Odontology* 101(2): 121-132, 2013)
2017年 平成29年度「科研費」審査委員表彰
2010年 第55回日本口腔外科学会総会・学術大会 李春根賞 (最優秀口演発表賞)
2010年 日本ヒト細胞学会学術論文賞 (受賞論文: *Hum Cell* 20(3): 63-70, 2007)
2003年 第23回日本炎症・再生医学会 発表優秀賞

【主な学会等委員】

厚生労働省再生医療等安全性確保法の見直しに係るワーキンググループ 構成員
日本歯科大学 特定認定再生医療等委員会 委員長
新潟大学 特定認定再生医療等委員会 委員
日本歯科医学会 歯科学術用語委員会 委員
日本ヒト細胞学会 副理事長
日本再生医療学会 代議員
日本抗加齢医学会 評議員
Human Cell 誌 Associate Editor-in-Chief
Odontology 誌 Associate Editor

【認定医資格】

日本再生医療学会 細胞培養加工施設管理士
日本再生医療学会 再生医療認定医
日本抗加齢医学会 日本抗加齢医学専門医
日本歯科大学 歯の細胞バンク認定医

【主な参考文献】

1. Tamaki Y, **Nakahara T***, Ishikawa H, Sato S. In vitro analysis of mesenchymal stem cells derived from human teeth and bone marrow, *Odontology* 101(2): 121-132, 2013 (Published online: 7 July 2012).
2. Odontology Prize 2017, *Odontology* 105(4): 391, 2017.
3. Mochizuki M & **Nakahara T***. Establishment of xenogeneic serum-free culture methods for human dental pulp stem cells using clinically oriented in-vitro and in-vivo conditions. *Stem Cell Res Ther* 9(1):25, 2018.
4. Mochizuki M, Sagara H, **Nakahara T***. Type I collagen facilitates safe and reliable expansion of human dental pulp stem cells in xenogeneic serum-free culture. *Stem Cell Res Ther* 11(1):267, 2020.



中原 貴

日本歯科大学生命歯学部 発生・再生医科学講座 教授

1999年 日本歯科大学歯学部 卒業
2003年 東京医科歯科大学大学院 博士課程修了 博士(学術)取得
京都大学再生医科学研究所 特別研究生(99年7月~02年6月)
2003年 日本歯科大学歯学部発生・再生医科学 助手
2005年 日本歯科大学歯学部発生・再生医科学 講師
2008年 日本歯科大学生命歯学部発生・再生医科学 准教授
2010年 日本歯科大学生命歯学部発生・再生医科学 教授
2016年 東京慈恵会医科大学大学院 博士課程修了 博士(医学)取得
2017年 日本歯科大学 副学長 併任
2024年 日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター センター長 併任

市中病院のバイオバンクにおけるオンデマンド型 利活用:促進するがんモデル

岩屋 啓一

佐々木研究所附属杏雲堂病院病理部 サンプルセンター

地域住民の治療を適切に行い、癌を中心とした加齢に伴う疾病の予防に役立ててほしいと願う患者さんの希望を実現するためにバイオバンク（サンプルセンター）が患者さんのご寄付により病院内に設置された。バイオバンクでは、ゲノム医療を確実に実施するために、病理検査室と連携して質のよいホルマリン固定パラフィンブロック（FFPE）を作成している。来院する患者さんに個別化医療を実施するために、コンタミネーション防止対策を特別に施し品質管理が厳密になされた FFPE が、バイオバンク内に 4°C で保存されている。特別な FFPE を遺伝子診断検査に提供することにより、個別化治療におけるプレアナリシスの役割を果たしている。バイオバンクには、通常の消化器癌、乳癌、婦人科癌とともに乳腺の葉状肉腫、腹腔に発生した骨肉腫、子宮頸部に発生した稀少がんが急速冷凍され -80°C で保存されている。治療方法の定まらない癌患者さんを助けるよりよい医療を行うために、保存されたバイオマテリアルを利活用して研究に繋げる努力が必要である。バイオバンクでは、隣接する佐々木研究所と協働し、オンデマンド型利活用方法を模索している。

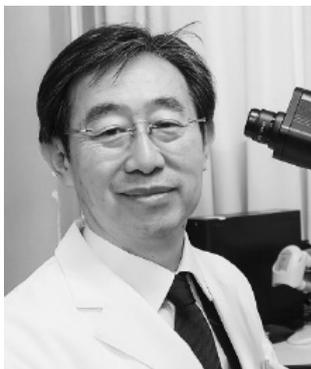
癌の腹膜播種モデルでは、マルチカラー蛍光染色にて色とりどりのがん細胞クラスターが腹腔内に形成され、腹膜に付着する。バイオバンクでは、癌患者の新鮮な腹水を提供し、腹水中の癌細胞が抗凝固剤によってクラスタリング形成が阻害された。In vitro および in vivo で形成されたがん細胞クラスターは、フィブリン形成に関連した。がん細胞の組織因子をノックアウトすると、がん細胞のクラスタリング、腹膜付着、および腹膜転移を抑制した。がん細胞が組織因子を介して凝固カスケードを活性化し、腹膜付着を促進することが証明された。

糖鎖は、癌の発生、あるいは浸潤・転移、そして細胞分化に係わるが、糖鎖の多様性を可視化して検討することは今まで難しかった。今回、PDX を用いた糖鎖の構造解析、そして可視化が、細胞染色と組織染色の双方から詳細な条件設定を重ねて、FFPE での可視化に繋がった。病理組織学的データや臨床データに基づいた病態の解明への糸口が、糖鎖構造変化の変化を細胞レベルから組織レベルへ可視化することにより繋がり、今後の translational research への道筋が明らかになってきた。

PDX などのがんモデルが、バイオバンクのオンデマンド型の様々なバイオマテリアル活用を促進し、研究者に提供する際に、凍結組織、あるいは FFPE を介した臨床データを繋げるために、translational research へと繋がる機会を広げた。

【論文】

1. Iwaya K, Arai H, Takatou N, Morita Y, Ozeki R, Nakaoka H, Sakamoto M, Kouno T, Soma M. A sheet pocket to prevent cross-contamination of formalin-fixed paraffin-embedded block for application in next generation sequencing. PLoS One. 2022 May 4;17(5):e0266947.
2. Miyazaki M, Nakabo A, Nagano Y, Nagamura Y, Yanagihara K, Ohki R, Nakamura Y, Fukami K, Kawamoto J, Umayahara K, Sakamoto M, Iwaya K, Yamaguchi H. Tissue factor-induced fibrinogenesis mediates cancer cell clustering and multiclonal peritoneal metastasis. Cancer Lett. 2023 Jan 28;553:215983.



岩屋 啓一

佐々木研究所附属杏雲堂病院病理部 サンプルセンター

- 1986年 防衛医科大学校医学科卒業
- 1987年 国立がん研究センター研究所病理部 (-1993年)
- 1994年 防衛医科大学校医学部医学科(病理学専攻)卒業
海上自衛隊勤務
- 1998年 東京医科大学病理学第一講座講師
- 2008年 東京医科大学病院病理部准教授を経て東京医科大学茨城医療センター教授
- 2009年 防衛医科大学校病理学講座准教授 東京医科大学乳腺外科兼任教授
- 2016年 佐々木研究所附属杏雲堂病院病理部長・サンプルセンター長 現在に至る

空間情報を駆使したマルチプレックスイメージャー MACSima™ System

中山 創平

ミルテニーバイオテク株式会社 マーケティング部

腫瘍の多様性を理解するためには、マーカーを用いて構成する細胞種を同定することが必要になります。しかし、従来の顕微鏡観察では3-5マーカーの検出が限界ですし、次世代シーケンサーを用いた単一細胞遺伝子発現解析 (scRNA-seq) では、多数の遺伝子発現情報は得られますが、組織内における空間情報は失われてしまいます。

MACSima™ System では、蛍光標識抗体による染色、顕微鏡撮影、そして蛍光の消去というサイクルを自動で繰り返すことにより、100種類を超えるマーカーを検出することが可能です。また、専用の解析ソフトウェア MACS® iQ View – Spatial Biology を用いることで、得られた画像データをフローサイトメトリー感覚で操作し、このスタック画像をもとに細胞ひとつひとつから蛍光強度だけでなく、核や細胞の形態、特定領域からの距離などの情報を得ることができます。scRNA-seq や空間トランスクリプトームで得られたデータのタンパク質レベルでのバリデーションやタンパク質発現から得られる細胞の機能性、細胞外マトリクスと細胞の関係性の探索に最適な解析システムです。

本講演では、MACSima™ Platform の周期的免疫蛍光染色の原理のほか、当社による検証済み一次標識抗体ポートフォリオ、特にヒト FFPE 腫瘍サンプル用の乾燥抗体プレートキットを用いた活用例を紹介いたします。また、新製品として、同一サンプル片から RNA 発現とタンパク質発現を検出するキットを発売いたします。このキットの特徴につきましても、合わせて紹介したいと思います。



中山 創平

ミルテニーバイオテク株式会社 マーケティング部

2012年 国立遺伝学研究所
研究員

2016年 ミルテニーバイオテク株式会社 フィールドサポート部
スペシャリスト

2019年 ミルテニーバイオテク株式会社 マーケティング部
マネージャー

1世界最高精度のトランスクリプトーム解析技術の がん研究への応用

團野 宏樹

株式会社ナレッジパレット

株式会社ナレッジパレットは、世界最高精度の1細胞レベルの全遺伝子発現解析技術を応用して、様々な種類の薬剤や培地で処理した細胞の状態を大規模データとして取得し、その情報を使って細胞を高度に制御することにより、難病克服を目指すスタートアップ企業である。ビッグデータを用いた新しい表現型創薬と再生医療用細胞の高品質化に取り組んでいる。

当社では、独自のトランスクリプトーム解析技術を基盤として、細胞、オルガノイド、組織等から、質が高く、量の多いデータを取得・解析するプロジェクトを数多く進めている。コア技術の一つとして、理化学研究所で開発されたシングルセルレベルの全遺伝子発現解析技術(Quartz-Seq2)を実用化している。Quartz-Seq2は、フローサイトメトリーを用いて正確な1細胞サンプリングを行ったのち、特徴的な分子生物学的ステップにより、バイアスの低い核酸増幅と次世代シーケンスライブラリ合成を経て、精度の高い遺伝子発現定量を可能とする。国際Human Cell Atlasプロジェクトでのベンチマーキングにおいて、13の競合する技術のうち、総合スコア1位の評価を得た(Mereu et al. Nature Biotechnology)。本技術を超多検体のバルクトランスクリプトーム解析へと応用することで、多くの検体の解析が必要となる、創薬スクリーニングやヒト臨床検体の解析を目的とするプロジェクトにおいても、トランスクリプトーム解析を活用可能にした。

また、トランスクリプトーム解析技術等で得た細胞ビッグデータを用いた高効率な培養最適化プラットフォームを開発中である。本技術のがんモデルへの適用も期待できる。

本研究会では、当社技術の紹介やその応用事例を紹介しつつ、細胞集団の表現型として得られる高精度なトランスクリプトームデータを、患者由来がんモデル研究へどのように活用可能か、議論したい。



團野 宏樹

株式会社ナレッジパレット

- 2009年 東京大学 総合文化研究科 博士課程修了 学術博士
- 2009年 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 2011年 理化学研究所 基礎科学特別研究員
- 2014年 理化学研究所 バイオインフォマティクス研究開発ユニット センター研究員
- 2018年 株式会社ナレッジパレット 創業
- 2020年 同 代表取締役CEO 現在に至る (2024年7月現在)

MiniPDX[®] の臨床的適応症の同定と抗腫瘍薬の開発への応用イトル

キャンディス・タン

株式会社 LIDE, Director of Bio

MiniPDX[®] (Mini 患者由来の xenograft) は、in vivo での薬品感受性試験のための新しい、迅速 (7 ~ 10 日間)、そして正確な方法です。これは in vivo の organoid として言及されています。試験材料には、新鮮な患者の腫瘍サンプルまたは PDX モデルからの組織が使用されます。私たちは、3 種類のがんにわたる 26 の PDX モデルで MiniPDX[®] アッセイと PDX アッセイの反応率を系統的に評価し、12 種類の臨床関連の化学および標的薬剤の治療プランとの比較を行いました。結果は、両方のアッセイの薬剤反応性に高い相関があり、感度は 80%、特異性は 93% であることを示しています。ますます多くの研究が、MiniPDX[®] の薬剤感受性試験の結果がほとんどの患者の臨床反応と一致していることを示しており、これは MiniPDX[®] モデルが個別化医療を導く大きな可能性を持っていることを示唆しています。

LIDE は、臨床精密医療のために 3,000 件以上の MiniPDX[®] テストを成功裏に実施しており、50 以上の適応症をカバーしています。MiniPDX[®] の応用は治療選択にとどまらず、承認された薬理介入の優先順位付けを促進し、新規エージェントの発見パイプラインに情報を提供します。

特に、クリニックから得られた新鮮な腫瘍サンプルを使用した MiniPDX[®] マウス試験は、潜在的な臨床適応症の決定に有益です。MiniPDX[®] から残った数千の新鮮な細胞だけで、OncoVee[®] K-cell 技術を用いてゲノムおよび転写データを得ることができます。MiniPDX[®] アッセイとオミクスデータの組み合わせは、特定の適応症を持つ人々の中で、反応者と非反応者を区別する潜在的バイオマーカーの決定に非常に有用であり、臨床試験デザインにおける患者の層別化と選択基準に活用されるです。

さらに、免疫不全マウスに植え付ける前に、新鮮な患者の癌細胞と自己免疫細胞を使用し、人間の腫瘍微小環境を最大限に模倣する新バージョンの MiniPDX[®] アッセイ (IO-FIVE、Immuno-Oncology Fast In Vivo Efficacy test) を開発しました。このアッセイは、治療前後の細胞の生存率と表現型を追跡することができ、2 週間以内に体内免疫治療の効果を評価するための信頼性の高い指標を提供します。



キャンディス・タン

株式会社 LIDE

2022 年 東京大学 応用動物専攻 博士課程修了 学術博士

2022 年 株式会社 Crown Bioscience Study director

2022 年 株式会社 LIDE Director

アプタマーによるプロテオーム解析

唐澤 毅

Somalogic

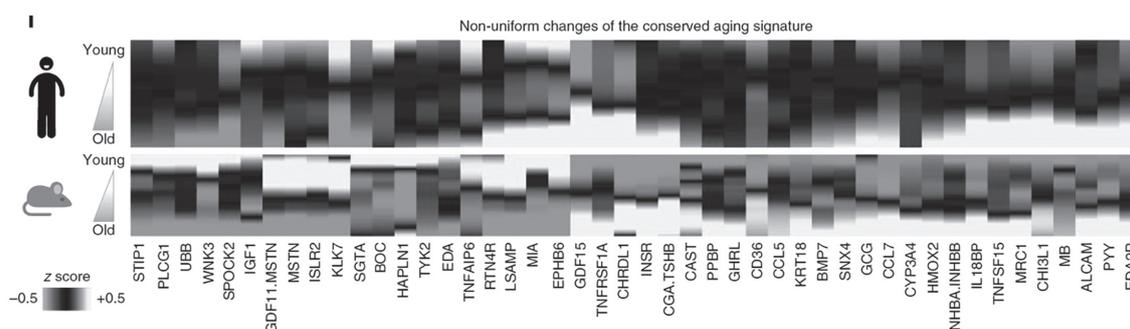
【目的】 いつ、どこで、計っても同じ結果が得られ、データをそのまま比較出来るプロテオーム解析プラットフォームを構築してプリシジョン・プロテオミクスを実現すること。

【方法】 ランダムに合成した 50mer の 1 本鎖 DNA (アプタマー) は多様性のある 3 次元構造を有し、抗体の様に標的タンパク質に対して高い特異性と適度な結合力を持つ分子をスクリーニング出来ます。この事からアプタマーは「核酸抗体」とも呼ばれます。更に側鎖修飾で結合力 (Kd 値) を改善すると抗体とほぼ同じ機能を持つ分子量 15KDa の扱いやすい安定分子となります。アプタマーに蛍光ラベルして生体試料と混合すれば標的タンパク質と強固に結合し、非特異的な結合タンパクはポリアニオン洗浄でほぼ完璧に排除されます。最後はマイクロアレイでラベルの蛍光を定量します。アプタマーは標的捕捉とシグナル生成の 2 役をこなし、尚且つ 1 万を超えるマルチプレクスアッセイでも高い再現性を示します。

【結果と考察】 ヒト血液の場合は標的の濃度別に 3 つのポットに分けますが、サイトカインやケモカインの低濃度タンパク質は 8,800 アッセイを同時に行います。この 8,800 アッセイが CV5% で行けると外部のデータベースを使ったノーマライズによってバッチが変わっても同じ数値に帰着出来るのです。日米で同じプール血漿を測定した結果の比較は発表時にお見せします。

データのノーマライズに加えて SomaLogic では血漿や血清の前処理時間の違いでどのタンパク質がどの程度増減するかのデータベースを構築してデータ納入時にその評価もお伝えしています。

下の図は Stanford の Tony Wyss Corey 教授の論文データです。2023 年 12 月に Nature で臓器が出す血中の老化マーカータンパク質を発表しました。続く論文 (<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0673-2>) ではヒト (上段) とマウス (下段) のタンパク質発現を同一のプラットフォームで比較しました。アプタマーでのアッセイではマウスタンパク質の 88% を有意なシグナルとして検出します。



唐澤 毅

SomaLogic Operating Co., Inc

1985年 慶応大学工学部機械科修士卒

1985年 住友商事(株) CIPHERGEN, Metabolon, Pyrosequencing等を導入

2017年 シミックホールディングス(株)

2019年 Olink Proteomics カントリーマネージャー

2022年 SomaLogic Sr. Director

がん免疫サイクル(CIC)に対する治療効果を精査するための先進的なin vitroテクノロジー

市川 克臣

Crown Bioscience & MBL

生体内において免疫系によりがん細胞を排除する仕組みは、がん免疫サイクルとして7つのステップで説明されている (D. S. Chen, et al. Immunity 2013; 39:1-10)。このサイクルが正常に機能している場合は、免疫によるがんの監視機構が効果的に働き、体内で発生したがんを抑制することができる。がん細胞が死滅すると、がん抗原が遊離される。例えば、腫瘍変異数の多い腫瘍やマイクロサテライト不安定性のある腫瘍は、より優れた抗腫瘍免疫応答を引き起こすことが知られている。次に、がん抗原は抗原提示細胞によって取り込まれ、リンパ節に運ばれる。そこで、がん抗原はナイーブ T 細胞に提示され、T 細胞が活性化される。活性化された T 細胞は血液を介して腫瘍部位に移動し、がん細胞を認識して排除する。さらに、新たな抗原が遊離され、サイクルが再始動し、最終的には腫瘍の根絶につながる。

しかし、がん患者ではこのサイクルが何かしらのステップで障害され、抗腫瘍免疫が機能なくなると、がんの発生と進行を許す環境が生じる。がん細胞が免疫に逃れるための免疫逃避という現象も知られており、免疫から逃れることに成功したがん細胞は増殖を増強する。

がん免疫サイクルは非常に複雑であり、薬剤標的となる要素も多く存在し、様々な治療の機会を提供する。このサイクルを活性化したりする分子は、がんを治療する潜在的な標的となる。臨床ではすでに複数の免疫チェックポイント阻害剤が使用され、良好な結果が得られている。しかし、抑制的な腫瘍微小環境 (TME) が形成された場合、これまでの免疫ベースの治療の効果も減弱し最終段階の腫瘍死滅に大きな影響を及ぼす。抑制的 TME において、新しい免疫治療薬・併用薬の効果やがん免疫の新たな標的を検証するための適切な前臨床モデルが必要である。

本講演では、免疫サイクルにおける認識のステージの抑制的 TME に対するオルガノイドや *ex vivo* 患者由来組織を用いた最新の評価方法について紹介する。



市川 克臣

Crown Bioscience & MBL

- 2005年 Pfizer: 生物科学第二研究部 部長
- 2011年 Pfizer: 臨床薬理部 部長
- 2013年 旭化成ファーマ: 医薬研究センター 薬理研究部 部長
- 2016年 Bristol-Myers Squibb: トランスレーショナル リサーチ 統括部長
- 2021年 JSR: プロフェッショナル (現職)
- 2023年 医学生物学研究所: 執行役員 新規事業開発 部長(現職)
- 2023年 Crown Bioscience & MBL: 副社長(現職)

成人T細胞白血病 (ATL) のプロテオーム解析; 同定タンパク質と病態進展因子Taxの発現相関

須藤 遙¹、殿山 泰弘²、池辺 詠美³、
長谷川 寛雄⁴、伊波 英克⁵、石田 洋一¹

¹湘南医療大学薬学部 生化学研究室、²湘南医療大学薬学部 実習センター、
³国立感染症研究所、⁴長崎大学病院 検査部、⁵大分大学医学部 微生物学講座

【目的】 成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (Adult T-cell leukemia/lymphoma: ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (Human T-cell leukemia virus type-1: HTLV-1) の感染によって引き起こされる難治性の血液がんである。ウイルス感染後、数十年の潜伏期を経て一部のウイルスキャリアが ATL を発症するが、病態進展に関わるウイルスタンパク質として知られているのは、潜伏期の初期に高発現して後期に発現抑制・不活化される Tax と潜伏期全体にわたって恒常的に発現して白血病化に働く HBZ である。しかし、発症に至る過程で生じるウイルス/宿主因子の相互作用や病態進展の具体的分子機構については未だ不明な点が多い。これまで、ATL のバイオマーカー探索には、主にトランスクリプトーム解析が活用されてきたが、mRNA の発現量が、翻訳産物 (タンパク質) の発現量として反映されない場合があること、また、翻訳後修飾解析はタンパク質そのものの解析が必須であることから、我々は、以前からプロテオーム解析を活用した ATL 研究を進めてきた。本研究では、複数のサンプル調製法を組み合わせることでプロテオームの網羅性を向上させた手法と共に、この手法を用いて同定された ATL 特異タンパク質、さらにウイルス因子 Tax との相関分析について報告する。

【方法】 ATL 細胞株群 (11 種)、HTLV-1 感染細胞株群 (6 種)、および他の白血病細胞株群 (6 種) から、4 種類の方法により全タンパク質のトリプシン消化物を調製し、LC-MS/MS 分析によりタンパク質を同定した。同定タンパク質の定量は、Normalized spectral abundance factor (NSAF) を用いて行い、NSAF 値から ATL 細胞株群で有意に増加または減少するタンパク質を検索した。ウイルス因子 Tax と同定タンパク質の相関分析は、抗 Tax 抗体を用いたウェスタンブロットティングによって得られた定量値と NSAF 値を用いて行った。

【結果と考察】 4 種類のサンプル調製法を組み合わせることにより確かに網羅性が向上した。次に、同定された ATL 特異タンパク質の定量解析を行った結果、ATL 細胞株群で有意に増加 (Ratio ≥ 2.0 , $p < 0.05$) するタンパク質を 24 種類、有意に減少 (Ratio ≤ 0.5 , $p < 0.05$) するタンパク質を 27 種類同定することができた。これらの同定タンパク質の中には、すでに ATL での発現増加が報告されているケモカイン CCL3 や膜貫通糖タンパク質 CD30/TNFRSF8 が含まれていたことから、適切な実験系が構築されていると考えられた。さらに、Tax と同定タンパク質の相関分析を行った結果、Tax の発現と相関または逆相関を示すタンパク質が新規に見出された。以上の結果は、我々が同定した ATL 特異タンパク質には、Tax によって発現が制御される新規宿主タンパク質が存在することを示唆している。

Curcumin derivatives (PGV-1 and CCA-1.1) induce JNK-mediated apoptosis and decrease MYCN and NCYM protein levels in neuroblastoma

Umami Maryam Zulfin¹, Kazuma Nakatani¹, Daisuke Muto¹,
Rohmad Yudi Utomo³, Edy Meiyanto³,
Yoshitaka Hippo^{1,2}, Yusuke Suenaga¹

¹Laboratory of Evolutionary Oncology, Chiba Cancer Center Research Institute

²Laboratory of Precision Tumor Model Systems, Chiba Cancer Center Research Institute

³Cancer Chemoprevention Research Center, Yogyakarta, Indonesia

Curcumin derivatives PGV-1 and CCA-1.1 are highly effective in inhibiting the growth of various cancer types. Recently, it has been reported that these compounds exhibit potent cytotoxicity against hepatocellular carcinoma with high MYCN expression, although their role in *MYCN* regulation is still unknown. Noting the importance of *MYCN* as an oncogenic driver in neuroblastoma, where its amplification is correlated with a poor prognosis, there is an urgent need for novel treatment targeting *MYCN* in neuroblastoma. Using WST assay, this study showed that PGV-1 and CCA-1.1 effectively inhibited neuroblastoma cells proliferation. Specifically, *MYCN*-amplified neuroblastoma cells (CHP134 and IMR32) were more sensitive to PGV-1 and CCA-1.1 compared to non-*MYCN*-amplified neuroblastoma cells (SK-N-AS and SH-SY5Y). SimpleWestern and RT-qPCR revealed that treatment with these compounds decreased MYCN and NCYM protein levels in *MYCN*-amplified cells, while increasing the mRNA levels. Short-read RNA sequencing demonstrated overexpression of genes involved in the G2/M phase and JNK-mediated cell death pathway. Flow cytometry analysis showed cell cycle arrest in the G2/M and subG1 phases after PGV-1 and CCA-1.1 treatment. Moreover, JNK phosphorylation was observed and a JNK inhibitor was discovered to suppress PGV-1/CCA-1.1-induced apoptosis. Overall, our data strongly implied that PGV-1 and CCA-1.1 caused JNK-mediated apoptotic cell death in *MYCN*-amplified neuroblastoma cells while simultaneously decreasing MYCN and NCYM protein levels.

ニオイコブシの香りによる乳癌治療の研究

長田 拓哉、岡 由希、佐々木 彩、渡邊 学、斉田 芳久

東邦大学医療センター大橋病院

【目的】

乳癌に対する集学的治療は、新しいモダリティが追加される度に乳癌患者の生命予後の延長と QOL の改善に貢献してきた。しかしライフスタイルの変化とともに乳癌の罹患率は増加し、乳癌患者の死亡率も上昇していることから、さらに新しいブレイクスルーの出現が望まれている。我々は香りによる乳癌治療をテーマとして研究を続けており、これまでに同定された植物由来精油が持つ抗腫瘍効果について報告する。

【方法】

96well プレートの中心に精油を滴下し、精油周囲の well で乳癌細胞を培養する。各 well の上方には揮発成分が交通できる隙間が開いており、植物由来精油の揮発成分が周囲の乳癌細胞増殖能に及ぼす影響について、MTT アッセイや蛍光染色法を用いて検討した。また、精油中に存在する抗腫瘍因子について、ガスクロマトグラフィを用いて解析した。そしてウエスタンブロッティング法を用いて、抗腫瘍因子と反応させた乳癌細胞における各種タンパク質の変化について解析した。

【結果】

In vivo (マウスモデル)、および in vitro の実験から、強い抗腫瘍効果を持つ精油として、ニオイコブシ (*Magnolia Salicifolia*) が同定された。ニオイコブシは、その精油成分中に 25.8% のシトラールを含むことが示された。揮発させたシトラールは、乳癌細胞に対する強い増殖抑制効果を示したが、同時に正常細胞に対する細胞毒性を持つことが示された。一方、シトラール単独の場合と比較して、ニオイコブシの精油から得られた揮発性分の正常細胞に対する細胞毒性は低かった。ニオイコブシを反応させた乳癌細胞では、ミトコンドリア膜電位に関する Bcl-2、Bax、Chitochrome C タンパクの変化と Caspase3、9 の cleavage が認められた。

【結論】

シトラールを多く含むニオイコブシの精油は、ミトコンドリアの膜電位低下を介したアポトーシス誘導により、癌の増殖転移を抑制すると考えられた。またニオイコブシの精油中には、正常細胞に対するシトラールの細胞毒性を軽減させる因子が存在する可能性が示唆された。

大腸がんの個別化医療に向けての薬剤探索:網羅的キナーゼ活性解析と薬剤感受性試験を用いて

野口 玲¹、安達 雄輝¹、小野 拓也¹、吉松 有紀²、
佐々木 一樹³、近藤 格¹

¹ 国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野

² 栃木県立がんセンター研究所

³ 佐々木研究所附属佐々木研究所 ペプチドミクス研究部



【背景・目的】 大腸がんは分子背景が多種多様であり、単一の疾患とはとらえ難いため、症例それぞれに対応した治療を行う必要がある。昨今、大腸がんの分子背景を解明するために、治療標的候補の遺伝子変化を同定するべくゲノム解析が行われているが、同定された変化に対応する薬剤が必ずしも奏効するわけではない。さらに、大腸がんの個別化医療を行うために、症例の腫瘍組織を用いて薬剤感受性試験を行い、薬剤を同定するのが理想的であるが、多種類の抗がん剤を試すには腫瘍量が大量に必要であり、現実的には不可能である。すなわち、大腸がんの治療薬の探索には、ゲノム解析や腫瘍組織を用いた薬剤感受性試験とは異なるアプローチを行う必要がある。そこで我々は、大腸がんの個別化医療に向けた薬剤探索を行うために、3段階のアプローチを考えた。①ゲノム解析の代わりにキナーゼ活性解析で治療標的を同定する ②腫瘍組織の薬剤感受性試験の代わりに細胞株を用いて薬剤感受性試験を行い、薬剤を探す ③キナーゼ活性異常と薬剤感受性が相関するバイオマーカーを探す このアプローチにて、大腸がんの治療標的・標的薬剤・薬剤応答予測バイオマーカーを同定することを目的とした。

【方法】 6種類の大腸がん細胞株、16症例の大腸がんの腫瘍とペアの正常組織において、三次元ペプチドアレイを用いて、網羅的キナーゼ活性解析を行った。腫瘍と正常組織の基質ペプチドシグナル値を比較し、腫瘍特異的なキナーゼの推測を Kinase-substrate enrichment analysis (KSEA) で行った。FDA承認されたチロシンキナーゼ阻害薬60剤を用いて、細胞株において薬剤感受性試験を行った。キナーゼ活性プロファイルと薬剤感受性データを統合し、標的キナーゼと対応するキナーゼ阻害薬を同定し、薬剤応答について調べた。

【結果】 網羅的キナーゼ活性解析から181基質ペプチドのシグナル値が得られた。KSEAを行い、43キナーゼを推定した。正常組織に比較して、VEGFR1、PDGFRB、JAK3、SYK、MAP2K4、INSRが有意に腫瘍組織で活性化していた。大腸がん正常・腫瘍組織・大腸がん細胞株から得られた基質ペプチドは、細胞株は正常組織に比べてより腫瘍組織と相関が高かった。細胞株の薬剤感受性データとキナーゼ活性プロファイルを統合したところ、EGFRのキナーゼ活性は3種類のキナーゼ阻害薬の薬剤感受性において高い相関関係を示した。

【結論】 腫瘍組織のキナーゼ活性プロファイルは細胞株に保持されていることを示した。また細胞株のキナーゼ活性プロファイルと薬剤感受性データを統合することで、チロシンキナーゼ阻害薬の薬剤応答予測バイオマーカーを同定できた。我々の統合的なアプローチは個別化医療に有用な薬剤応答予測バイオマーカーを同定し、キナーゼ活性プロファイルの潜在的な可能性を示した。

家族性腺腫性(FAP)の大腸がん発がんにおける腸内細菌の関連性

水谷 紗弥佳

東京工業大学 生命理工学院



【目的】

家族性腺腫性 (familial adenomatous polyposis, FAP) は、*APC* 遺伝子の生殖細胞系列変異によって引き起こされる遺伝性の希少疾患で、100 個以上の大腸腺腫の発生を特徴とし、60 歳までにはほぼ 100% 大腸がんを発生することが知られている。遺伝要因以外に、食生活環境などの環境要因も発がんリスクになる可能性が示唆されている。腸内細菌は、大腸がんの発がんや進行に関わる因子として注目されており、便検体を用いたオミクス解析用いた観察研究が世界中で行われている。我々のグループはこれまでに、散发性の大腸がん患者 325 名と健常者 251 名の便検体を収集し、メタゲノム解析とメタボローム解析を実施した結果、発がんの前段階に多く検出される腸内細菌種ならびに細菌由来の代謝物や、大腸がんのステージの進行に伴い割合が上昇する細菌種を特定した (Yachida et al., *Nature Medicine* 2019)。

本研究では、FAP 患者の大腸がんにおける腸内細菌の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】

FAP 患者に対する標準的ながん予防手法は大腸 (亜) 全摘術であるが、石川秀樹らは定期的に内視鏡を用いてポリープを徹底的に切除する徹底的ポリープ摘除術 (intensive endoscopic removal for downstaging of polyp burden, IDP) を開発した (Ishikawa et al., *Endoscopy* 2023)。本研究では、大腸 (亜) 全摘術を受けておらず、IDP による治療を受けた 130 人の FAP 患者から経時的に収集した便検体を用いたメタゲノム解析とメタボローム解析を実施した。

【結果と考察】

経時的サンプルを用いた縦断的解析では、ほとんどの FAP 患者が IDP 期間を通じて安定した腸内細菌群集を保持している一方、IDP 期間に腸内細菌群集の変化が大きい患者では、発がんのリスク要因である組織学的悪性度も同時に変化していることが明らかになった。

FAP 患者と健常者を比較した横断的解析では、FAP 患者群の便に大腸菌 *Escherichia coli* が有意に高い割合で存在することが明らかになった。また、メタボローム解析の結果、FAP 患者群の便には、アミノ酸や有機酸 (リンゴ酸、フマル酸、コハク酸) の高い濃度で検出されることが明らかになった。これは、多発腺腫による過剰な粘液分泌に起因し、腸内細菌の嫌気代謝のターゲットになる可能性が示唆される。FAP 患者を対象として得られた本知見により、非遺伝的大腸がんの発症機構においても腸内細菌の役割について理解が進むことが期待される (Mizutani et al., *Gut*, in press)。

世界初の再発骨巨細胞腫(Giant Cell Tumor of Bone: GCTB)細胞株樹立と特性評価:薬物治療の最適化を目指して

安達 雄輝

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野



【目的】 骨巨細胞腫 (Giant Cell Tumor of Bone: GCTB) は、マクロファージと破骨細胞様の巨細胞を伴う腫瘍性の単核間質細胞から構成される骨原発腫瘍である。臨床上は、良性と悪性の中間の悪性度であることを意味する“Intermediate (locally aggressive, rarely metastasizing)” に分類される。標準治療は外科的切除・搔把による完全摘出であり、一般に良好な経過を辿ることが多い。しかし、局所再発を繰り返す症例や遠隔転移をきたす症例も一部に存在し、予後不良であることが知られている。このような症例に対して、現時点で確立した薬物レジメンは存在しない。

患者由来細胞株は、前臨床研究や基礎研究の分野で広く用いられてきた。特に、患者数の限られる疾患においては、関連する遺伝子やタンパク質の機能解析を評価し、新たなバイオマーカーや治療標的を同定する上で貴重な研究材料となる。これまでに樹立された GCTB の細胞株は世界で 17 株にとどまっており、研究目的に入手が可能な数はより少なく、さらなる新規細胞株の樹立が期待されてきた。今回我々は世界で初めて、術後補助療法後の局所再発病変由来の GCTB 症例から患者由来細胞株を樹立することに成功し、NCC-GCTB10-C1 と命名した。

NCC-GCTB10-C1 の特性評価とこれまでに当研究室で樹立した 9 細胞株を含む網羅的な薬効評価を行い、GCTB の新規治療薬となる薬剤の同定を目指した。

【方法】 細胞増殖アッセイ (Cell counting Kit-8) や細胞遊走・浸潤アッセイ (xCELLigence DP system)、スフェロイド形成アッセイにより、細胞の性質を評価した。これまでに当研究室で樹立された 9 つの GCTB 細胞株を含めた合計 10 細胞株を対象として、214 種の抗がん剤を用いたハイスループットな薬効試験を行った。

【結果と考察】 NCC-GCTB10-C1 は既存 GCTB 細胞株と同程度の細胞増殖能と浸潤能を示した。しかし、薬剤への応答性に関しては、既存の原発由来の細胞株とは異なる反応を見せた。従来の原発巣由来の細胞株に対しては、HDAC 阻害薬とトポイソメラーゼ阻害薬による強い細胞増殖抑制作用が認められた。特に、ロミデプシン (HDAC 阻害薬) とミトキサントロン (トポイソメラーゼ阻害薬) の 2 剤はより強力な抗腫瘍効果を示し、GCTB に対する新規治療薬として臨床応用が期待される結果となった。一方で、再発病変である NCC-GCTB10-C1 はこれらの薬剤に対する感受性が低いことが明らかとなった。細胞株毎に薬剤応答性が異なる原因としては、放射線治療やゲノスマブ投与などの後治療によって、腫瘍の薬剤代謝に関する経路が変化した可能性が考えられた。

我々は再発症例から GCTB 細胞株を樹立し、網羅的な薬効試験を含む特性評価を行った。HDAC 阻害薬とトポイソメラーゼ阻害薬が GCTB に対する新規治療薬として期待される一方で、再発病変における適切な薬剤選択に関しては更なる検証が必要である。

不死化遺伝子非導入WHO grade 1 良性髄膜腫細胞株の低酸素培養による樹立

石川 隆昭¹、松田 真秀²、石川 博³、豊村 順子³、大山 晃弘³、
坂本 規彰⁴、Alexander Zaboronok²、石川 栄一²

¹筑波大学大学院人間総合科学学術院医学学位プログラム

²筑波大学医学医療系脳神経外科

³筑波大学脳神経外科臨床再生医療研究室

⁴筑波大学医学医療系診断病理学

【目的】

髄膜腫は最も多い原発性中枢神経腫瘍であり、約 80% は良性髄膜腫である。良性髄膜腫の多くは手術により根治を目指せるが、発生部位によっては完全切除が困難である。この残存病変の一部は再発し、現在、手術、放射線治療を除いて有効性が確立した治療はない。新たな治療法開発を困難にしている一因として適切な良性髄膜腫モデルが無いことが挙げられる。これまで不死化遺伝子を導入した良性髄膜腫細胞株についての報告はあるが、遺伝子導入せず樹立された細胞株については殆ど報告がない。本研究では良性髄膜腫患者検体由来の細胞株を、遺伝子導入せず樹立し、今後の新規治療法開発へ繋げることを目的とした。

【方法】

手術により摘出された良性髄膜腫細胞株 (transitional meningioma、WHO grade 1) 腫瘍検体を Hanks' solution で洗浄後スカルペルで細切し、これを 0.1%トリプシン -0.02%EDTA/PBS(-) 液で 30 分加温処理を行った。少量の牛胎児血清 (FBS) を添加したのち強くピペティング後、1,500rpm/5 分で遠心後、沈査に新鮮な DMEM / F12 培地 (10%FBS、0.1%MEM-NEAA、100 μ M GlutaMAX 添加) を加え、3% 低酸素環境下で静置培養を行った。樹立由来検体との免疫染色比較、樹立細胞における TERT promoter mutation sequence、CDKN2A/2B homozygous mutation、senescence について検討した。

【結果と考察】

3% 低酸素培養により不死化遺伝子を導入することなく継代回数 30 回以上、2 年以上安定に培養できる良性髄膜腫細胞株を樹立した。本細胞株は悪性髄膜腫の遺伝子診断的特徴である TERT promoter mutation や CDKN2A/2B homozygous mutation を有さず、免疫細胞染色では病理組織診断と同様に低い Ki-67 陽性率を呈した。樹立細胞株を 20% 酸素下で培養すると、低酸素培養細胞に比較して細胞形態の変化、SA- β -Gal activity の上昇と上清中 Il-6 上昇が見られ、細胞老化が示唆された。低酸素培養は生理的な脳の酸素状況と近似しており、これが細胞老化を阻止し臨床同様の持続的な増殖を可能にしたと考えられた。

非胸膜由来の孤立性線維性腫瘍(Solitary Fibrous Tumor: SFT)の世界初の細胞株樹立と特性評価

岩田 秀平

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野

【背景・目的】

孤発性線維性腫瘍 (Solitary fibrous tumor: SFT) は、NAB2-STAT6 遺伝子の再配列を特徴とする希少な線維芽細胞性の悪性腫瘍 (肉腫) であり、WHO classification of tumours で 2020 年から定義された新しい腫瘍である。SFT の治療は外科的切除が一般的であるが、20-30% では転移や再発をきたし、有効な治療薬はない。患者由来細胞株は治療法開発における重要なツールであるが、これまで樹立された SFT 細胞株は胸膜由来の 2 株にとどまっており、いずれも入手不可能であるためさらなる新規細胞株の樹立が期待されてきた。今回我々は非胸膜由来の SFT の世界初の患者由来細胞株を樹立することに成功したため、網羅的な薬効試験を含む特性評価の結果を明らかにすることを目的とした。

【方法】

49 歳女性の左臀部の SFT を外科的切除し、摘出した腫瘍組織を酵素処理し、患者由来細胞株を樹立した。樹立した細胞株を用いて細胞増殖アッセイ (Cell counting Kit-8) や細胞遊走・浸潤アッセイ (xCELLigence DP system)、スフェロイド形成アッセイにより、細胞の性質を評価した。また、既存抗がん剤 221 剤のハイスループットな薬効試験を行い、IC-50 を算出し増殖抑制効果を調べた。

【結果】

当研究室で非胸膜由来の世界初の SFT 細胞株の樹立を試み、樹立に成功した。胸膜由来の SFT の融合遺伝子は NAB2 exon4 - STAT6 exon2 が多いが、今回は臀部由来で NAB2 exon6 - STAT6 exon16 の融合遺伝子をサンガシーケンスで同定した。薬剤感受性試験の結果、SFT の標準治療薬であるドキソルビシンやイホスファミドは抵抗性を示した。一方で、エリブリン、フォレチニブ、ロミデプシン、チボザニブ、バルルビシンの IC-50 値は $0.1 \mu\text{M}$ 以下と特に高い増殖阻害効果を示した。

【考察】

本研究により非胸膜由来の SFT の新規細胞株の樹立に成功し、細胞株を用いて SFT に奏効する薬剤を見出すことに成功した。SFT は様々な exon の NAB2-STAT6 融合遺伝子があり、それぞれに最適な治療法同定のためにも本細胞株は有用であると考えられる。また本研究で奏効薬剤として同定された薬剤は他の癌ですでに承認されており、SFT の治療への適応拡大が期待できる。SFT の臨床的な多様性を考慮すると今後もさらなる細胞株の樹立とより詳細な研究が求められる。

異なる制御性T細胞様免疫抑制活性を有する CD13陽性およびCD13陰性ペアHTLV-1 感染T細胞株の樹立

江川 優貴

高知大学大学院修士課程医科学専攻2年(高知大学医学部微生物学講座)

成人T細胞白血病(ATL)はヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)の長期潜伏感染を経て発症するためHTLV-1感染細胞の免疫回避機構の存在が示唆されているが、その詳細は不明である。

我々は同一リンパ腫型ATL患者の末梢血単核細胞の独立培養により、2つのHTLV-1感染細胞株CD13陰性MT-50.1とCD13陽性MT-50.4を樹立し、その免疫抑制能を比較解析した。

両細胞株はHTLV-1感染非白血病細胞に由来し、制御性T細胞(Treg)様の免疫表現型を有していたが、MT-50.4細胞はMT-50.1細胞と比較してCD25とFoxp3の発現、免疫抑制性サイトカインIL-10とTGF- β の分泌能、活性化CD4⁺CD25⁻T細胞の増殖抑制能がより高レベルであった。さらに、CD13阻害薬はMT-50.4細胞の増殖のみを有意に抑制した。

これまでに、ヒト末梢血Tregの中にはより強い免疫抑制活性を有するCD13陽性Treg亜集団の存在が報告されている。今回の研究結果はCD13発現がHTLV-1感染細胞のTreg様活性の増強に関与する可能性を示唆しており、本ペア細胞株はCD13⁺Foxp3⁺HTLV-1感染細胞の研究に有用なツールである。

融合遺伝子をもつ肉腫に対する新規治療法開発： 患者由来がんモデルを用いた pharmaco-proteomics

大崎 珠理亜

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野



【背景】 肉腫は症例数が極めて少なく、分子生物学的に多彩な組織型が約 100 種類も存在する。そのため、研究に必要な臨床検体や患者由来がんモデルの入手が困難であり、治療法の開発が遅れている。また、肉腫は一般的に治療標的となる遺伝子変異が少ないことも、治療法の開発が遅れていることの一因である。例えば、滑膜肉腫 (SS) は *SS18-SSX* 融合遺伝子により発生するが、融合遺伝子以外に治療法開発に有用な遺伝子異常は報告されておらず、進行症例に対する有効な抗がん薬が存在しない。そこで我々は、肉腫の新規治療法開発に向けて、SS の患者由来がん細胞株を樹立し、その表現型解析とプロテオミクスを組み合わせたファーマコプロテオミクスを行うこととした。

【目的】 本研究の目的は、SS に対する新規治療法を開発することである。

【方法】 我々は、SS 患者の手術検体から 6 株の細胞株 (NCC-SS1-C1、NCC-SS2-C1、NCC-SS3-C1、NCC-SS4-C1、NCC-SS5-C1、NCC-SS6-C1) を樹立した。214 剤の抗がん薬からなる薬剤ライブラリーを用いて薬剤感受性試験を行った。DIA 質量分析を用いたプロテオーム解析を施行した。

【結果】 6 株全ての細胞株において、7 剤の抗がん薬が低濃度で細胞増殖を抑制した。この 7 剤には、ALK 阻害剤、c-Met 阻害剤、HDAC 阻害剤が含まれていた。元腫瘍組織と細胞株のプロテオームを比較することで、細胞株に保存された分子シグネチャーを明らかにした。薬剤感受性試験とプロテオーム解析の結果を統合し SS に有効な抗がん剤候補を同定した。

【考察】 約 200 種類もの抗がん剤ががんの治療に用いられているが、肉腫ではわずか数種類しか臨床的有用性が実証されていない。肉腫は症例が少なく新規に抗がん剤を開発しても利潤が期待できない。したがって、適応拡大可能な既存の抗がん剤を見つけることが現実的である。このような研究において、我々が樹立した患者由来がん細胞株は非常に重要な役割を果たす。また、融合遺伝子により発生する肉腫ではゲノム変異が乏しく分子背景が比較的均一であり、少ない症例で有効性が確認された抗がん剤であっても、多くの症例に適用できる可能性がある。今回同定した抗がん剤は SS への適応拡大の可能性を検討する価値がある。一方、我々の研究にはいくつかの課題がある。第一に、細胞株が元の腫瘍の表現型をどの程度正確に再現しているか、明確にする必要がある。第二に、薬剤感受性試験の結果を動物モデルなど他のがんモデルでも検証する必要がある。第三に、細胞株と元腫瘍組織のプロテオームを比較するにあたり、発現量だけでなく酵素活性やタンパク質相互作用など多面的に評価する必要がある。これらの課題に取り組むことで、患者由来がんモデルを用いた本研究アプローチは、ゲノム変異が乏しく、治療法開発が困難な希少がんに対して有用な治療法を見出すための強力な手段となるであろう。

LRP11はUBA7発現を抑制し、肺腺癌の増殖を亢進させる

木脇 拓道、川口 真紀子、福島 剛、佐藤 勇一郎

宮崎大学医学部 病理学講座 腫瘍形態病態学分野

【目的】

Low-density lipoprotein receptor related protein 11 (LRP11) は肺腺癌など複数の癌腫で高度に発現する膜貫通タンパクである。LRP11 にきわめて類似したドメイン構造を有する膜型セリンプロテアーゼインヒビター HAI-1 のがん抑制的機能が広く知られているのに対し、LRP11 のがんにおける役割はほとんど知られていない。そこで本研究では、培養細胞株および公共データセットを用いて、LRP11 が肺腺癌の悪性形質に与える影響およびその機序について解析を行った。

【方法】

肺腺癌細胞株 PC9 および VMRC-LCD を用い、プラスミドベクターで LRP11 を強制発現させた。また、肺腺癌細胞株 A549 を用い、CRISPR-Cas9 法で LRP11 ノックアウトを行った。これらの LRP11 発現改変細胞を用い、MTT assay と wound healing assay で細胞増殖能・遊走能を評価した。さらに、LRP11 発現改変細胞で RNA-seq を行い、発現変動遺伝子を同定した。発現変動遺伝子のうち、UBA7 を siRNA でノックダウンし、細胞増殖に与える影響を解析した。公共データセット (TCGA および OncoSG) を用い、肺腺癌の臨床検体における LRP11 発現と予後との関連および UBA7 発現との相関を検討した。

【結果と考察】

LRP11 強制発現細胞では増殖能の亢進がみられ、遊走能も亢進する傾向にあった。一方、LRP11 ノックアウト細胞では増殖能および遊走能が低下し、LRP11 強制発現によって増殖能は回復した。これらのことから、LRP11 が肺腺癌の増殖を亢進させることが明らかとなった。PC9 および A549 細胞で RNA-seq を行い、LRP11 と負に相関する共通発現変動遺伝子 7 つを同定した。発現変動遺伝子のうち、ユビキチン様タンパク修飾にかかわり腫瘍抑制的機能が知られている Ubiquitin like modifier activating enzyme 7 (UBA7) に着目した。LRP11 をノックアウトした A549 細胞において UBA7 発現を抑制すると、LRP11 ノックアウトによって低下した細胞増殖能が回復した。このことから、LRP11 による細胞増殖能の亢進は、少なくとも部分的には UBA7 を介してもたらされていることが示唆された。臨床検体の公共データセットを用いた解析により、肺腺癌患者において LRP11 高発現群は有意に予後不良であることが示され、LRP11 と UBA7 の発現には負の相関がみとめられた。LRP11 が UBA7 発現を抑制する機序は明らかではないが、本研究で同定された発現変動遺伝子はすべてプロモーター領域に C/EBP- β 結合領域を有しており、LRP11 が C/EBP- β を含むシグナル伝達系路を阻害している可能性が示唆される。

臍帯 MSC におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの脱硫酸化による石灰化の促進

小林 朋子¹、望月 真衣^{1,2}、中原 貴¹

¹日本歯科大学生命歯学部発生・再生医科学講座

²日本歯科大学生命歯科学講座

【目的】

臍帯は、非侵襲的かつ大量に採取できる間葉系幹細胞（MSC）ソースの一つである。本研究は、臍帯 MSC を用いた硬組織再生を目指し、網羅的遺伝子発現解析から石灰化を促進する条件を探索した。

【方法】

帝王切開時に医療廃棄された臍帯から細胞を分離し、継代数 3 - 4 で石灰化能、脂肪分化能、細胞表面抗原発現によって MSC 特性を評価した。RNA-seq により非誘導群を対照として、石灰化誘導群の遺伝子発現を網羅的に解析した。くわえて、パスウェイ解析で石灰化促進に関連する遺伝子を探索した。以上の解析結果から本研究は、ヘパラン硫酸プロテオグリカン（HSPG）に着目し、石灰化誘導培地に塩素酸ナトリウム（NaClO₃）を添加して脱硫酸化した際の石灰化能を評価した。

【結果と考察】

臍帯 MSC は多分化能と MSC 特異的表面抗原を有していた。網羅的遺伝子発現解析により、臍帯 MSC の石灰化に HSPG を脱硫酸化するスルファターゼの関与が示唆された。そこで、HSPG から 6-O-硫酸基を脱硫酸化する酵素である SULF2 の発現を qRT-PCR で解析すると、石灰化誘導群は非誘導群に比べて SULF2 の発現が亢進していることがわかった。さらに、HSPG の脱硫酸化作用を有する NaClO₃ の添加により、臍帯 MSC は石灰化が促進された。

以上より、臍帯 MSC を石灰化誘導すると、SULF2 の発現が亢進することで HSPG の 6-O-硫酸基が脱硫酸化されて、臍帯 MSC の石灰化が促進されることが明らかになった。今後は、HSPG の脱硫酸化により石灰化が促進される分子メカニズムを解明し、臍帯 MSC を用いた効率的な硬組織再生法の確立を目指す。

Tumor-microvessel on-a-chipによる がん細胞クラスターの血管侵入現象の解析

近藤 誠¹、池田 行徳¹、末弘 淳一²、大島 浩子³、
高橋 和樹^{1,4}、渡部 徹郎⁴、大島 正伸³、松永 行子¹

¹ 東京大学 生産技術研究所

² 杏林大学 医学部

³ 金沢大学 がん進展制御研究所

⁴ 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

【目的】 血中循環腫瘍細胞 (CTC: Circulating tumor cell) クラスターは、高悪性度腫瘍患者の血液サンプルからしばしば検出され、腫瘍の転移や予後不良と関連している。しかしながら、癌細胞クラスターが原発性腫瘍から血管の壁を越えて放出されるメカニズムは不明である。本研究では、遺伝的背景の異なる腫瘍オルガノイドを微小血管の周囲に配置することにより、腫瘍の浸潤を可視化する三次元 *in vitro* 培養系を開発し、その血管浸潤の様子の観察と、そのメカニズムを解析した。

【方法】 転移性の異なるマウス腸腫瘍由来細胞を用いた。Apc^{A716} (A), Kras^{G12D} (K), Tgfbr2^{-/-} (T), Trp53^{R270H} (P) の変異の組み合わせによる遺伝子型から、AP と AKTP の細胞を用いた。三次元腫瘍微小血管モデルは、ポリジメチルシロキサン (PDMS) のチップ (25 mm × 25 mm × 5 mm: 幅×長さ×高さ) を使用し、中和コラーゲン溶液 (2.4 mg/mL) と混合した腫瘍オルガノイドをデバイスの中央チャンバーに加え、直径 200 μm の針をチップに挿入し、37°C で 45 分間インキュベートしゲルを固めた後に針を引き抜くことで、コラーゲンゲルに管腔構造を作製した。ヒト臍帯静脈内皮細胞を管腔内に播種し、培養の継続は EGM-2 培地でおこなった。形態観察のため、Ulex Europaeus Agglutinin-I (UEA I) レクチンによる内皮の可視化、F-actin の phalloidin による染色、SM22 α 染色をおこなった。さらに、トランスフォーミング増殖因子 β (TGF-β) 及びアクチビン遺伝子群の発現解析及び、TGF-β とアクチビンシグナルの阻害実験をおこなった。

【結果と考察】 AKTP 遺伝子型のがんオルガノイドは、AP に比べ、高い浸潤能を持つこと、三次元微小血管をハイジャックすることを、タイムラプス観察で確認した。また、この浸潤能は、三次元微小血管との共培養により有意に増悪し、著しい血管側の形態変化も観察され、内皮間葉転換 (EndoMT: Endothelial-mesenchymal transition) マーカーの SM22 α が高発現していた。さらに、微小血管における EndoMT を伴う腫瘍細胞の浸潤には、腫瘍細胞における TGF-β の発現と、それに続く内皮におけるアクチビンの発現誘導が重要であることが示された。今回我々が開発した Tumor-microvessel on-a-chip システムにより、微小血管周囲のコラーゲンゲル内でのがんクラスターの集団移動、血管共役、CTC クラスターの放出など、クラスター単位での腫瘍浸潤を可視化することができた。本システムは、CTC クラスターを標的とした腫瘍転移の治療戦略の開発に有用であると考えられる。

比較腫瘍学による新しい治療法開発に向けた試み イヌ肺がんオルガノイドにおける分子異常と 分子標的薬の同定

塩田よもぎ

東京農工大学大学院農学研究院／国立がん研究センター希少がん研究分野

【背景】 新しい抗がん剤は例外なく高額であることが社会的な問題になっている。抗がん剤の臨床試験の成功率が極端に低く、開発費が膨大にかかることがその原因である。効率のよい臨床試験のためには前臨床試験で使われるがんモデルが重要である。マウスを用いた薬効評価試験と臨床試験の結果が一致しないことが指摘されている。ヒトの臨床試験の結果を予測できる優れたモデル系を開発することが求められている。我々は前臨床試験のモデルとしてイヌに着目している。イヌとヒトはゲノム配列や生活環境が類似しており、実際にイヌのがん治療ではヒトに用いられる抗がん剤が使用されている。一方、ヒトとイヌにおける薬効と分子背景の類似性はごく一部の分子標的薬についてのみ調べられており、さらなる研究が必要である。

【目的】 分子標的薬の薬効およびその分子背景をイヌにおいて明らかにし、イヌのがんモデルとしての有用性を検討すること。

【方法】 肺腺がんと診断された4頭のイヌから手術によって得られた腫瘍・正常組織を使用した。摘出組織からオルガノイドを樹立し、RNA-seqによりmRNAの発現解析を行った。GSEAにより活性亢進している分子パスウェイおよびそれを抑制する分子標的薬候補を同定した。同定した分子標的薬候補を用いてオルガノイドおよびゼノグラフトの増殖および分子パスウェイの抑制効果を調べた。

【結果】 RNA-seqを用いた解析から、肺がんオルガノイドでMEKパスウェイが亢進していた。ヒト臨床で使われるMEK阻害剤・トラメチニブは肺がんオルガノイドの生存率を濃度依存的に減少させた。そしてMEK下流分子（ERKリン酸化、c-Myc発現）を抑制した。肺がんオルガノイドのゼノグラフトにおいてトラメチニブは顕著な腫瘍縮小効果を示した。

【考察】 トラメチニブはヒト肺がんの治療において、多剤併用療法で使用されている。一方、イヌ肺がんでは、単剤での有効性が示唆された。標的となる分子の下流パスウェイについては、予測通りイヌ肺がんオルガノイドにおいてトラメチニブで抑制された。イヌとヒトの類似性および相違性については、引き続き検討が必要である。オルガノイドは薬効評価、スクリーニング、分子機能解析に有用であり、引き続きその有用性を高めていきたい。今回は肺がんを一例として提示した。同様の研究をさまざまながん種・治療薬において展開し、前臨床試験のモデルとしてのイヌの有用性を確立する計画である。

ヒトのビタミンC輸送体による尿酸輸送:分子特性の特定および新規実験系開発に向けた応用

豊田 優^{1,2}、宮田 大資²、松尾 洋孝^{1,3}、高田 龍平²

¹ 防衛医科大学校 分子生体制御学講座

² 東京大学医学部附属病院 薬剤部

³ 防衛医科大学校 防衛医学研究センター バイオ情報管理室



【目的】 生理的条件下でアニオンとして存在する尿酸およびビタミンC (VC) は、受動的に細胞膜を透過できない。そのため、これらの物質の体内動態制御には各物質を基質とする膜輸送体が必須となるが、その全容は依然として不明である。これまでに我々は、SLC2A12 が尿酸のみならず VC 輸送体としても生理的に重要な役割を担うことを明らかとしてきた。VC の経細胞輸送過程において、排出を担う SLC2A12 と対となり、細胞への取り込みを担う分子として Sodium-dependent vitamin C transporter 2 (SVCT2/SLC23A2) が知られていることを踏まえ、SVCT2 が尿酸輸送体としても機能する可能性を検討することを本研究の目的とした。

【方法】 SVCT2 を一過的に発現する哺乳類培養細胞を用いて、放射標識尿酸を利用した *in vitro* 尿酸輸送実験を行った。新たに見出された尿酸輸送体としての SVCT2 の分子特性を利用して、哺乳類培養細胞からの尿酸排出活性を測定するための新たな実験系を構築した。

【結果と考察】 SVCT2 発現細胞において、非発現細胞よりも高い尿酸取り込み活性が認められた。この違いは、実験時の培地から Na⁺ を除いた場合には認められなかった。すなわち、SVCT2 が Na⁺ 依存的な取り込み型の尿酸輸送体であることが新たに見出された。SVCT2 による尿酸輸送の Km 値は 3.86 mM と算出され、ヒトの血液中における生理的な尿酸濃度域では SVCT2 による尿酸輸送は飽和しないことが明らかとなった。ただし、SVCT2 の尿酸輸送に関する VC の IC₅₀ 値は 37 μM と算出され、SVCT2 による尿酸輸送は血液中の VC (健常者で数十~100 μM) による影響を受けうる可能性が示唆された。次に、新規実験系の検討においては、ABCG2 (既知の尿酸排出輸送体) を陽性対照として SVCT2 と共発現させた。SVCT2 を導入したヒト由来の培養細胞 (尿酸分解酵素をもたない) に放射標識尿酸を十分にプレロードした後、Na⁺ 非含有バッファー (導入した SVCT2 が機能しない条件) に切り替え、細胞内からバッファー中に放出された放射活性を経時的に測定した。その結果、ABCG2 共発現細胞では、SVCT2 のみを導入したコントロール細胞よりも高い尿酸排出活性が認められた。今回構築することに成功した尿酸排泄活性測定系は、未知の排出型尿酸輸送体の探索やその機能評価などに応用できるものと期待される。

【参考文献】 Toyoda, Miyata, Shigesawa, Matsuo, Suzuki, Takada; *J Biol Chem.* 2023, PMID: 37390985

Functional analysis of de novo gene NCYM in the human brain

中谷 一真

千葉県がんセンター 進化腫瘍学研究室

NCYM, the antisense transcript of the oncogene *MYCN*, encodes a human de novo evolved protein. After the divergence with Orangutan subfamily, ancestral human genomes obtained two frameshift mutations in the *NCYM* transcript that created the entirely novel reading frame in *MYCN* promoter region. We and others have shown that *NCYM* contributes to tumor progression in neuroblastoma, bladder cancer, and cholangioscarcinoma by stabilizing *MYCN* and b-catenin via direct inhibition of GSK3b. However, the physiological functions of *NCYM* in humans and the significance of the new gene birth in human evolution remain elusive. In this study, we investigated the role of *NCYM* in the human brain. The *MYCN/NCYM* locus is deleted in Feingold syndrome, a genetic disease associated with reduced brain size, and germline mutations in the phosphorylation site of *MYCN* by GSK3b cause neuroblastoma and megalencephaly in humans. Furthermore, we found that *NCYM* and *MYCN* were co-expressed in neurons of the adult brain. In developing human brains, the expression level of *NCYM* was significantly correlated with that of *PTPRZ1*, a marker gene for outer radial glia that contributes to the evolution of brain size. Knockdown of *PTPRZ1* in human glioblastoma cells suppresses downstream target genes of *MYCN* and inhibits outer radial glial cell-like movements, so-called mitotic somal migration. In this symposium I will discuss the contribution of *NCYM* to human brain development and glioblastoma pathogenesis.

内視鏡検体を用いた患者由来胃癌細胞株の樹立と有効薬剤の検索～新規治療法の開発を目指して～

林 雅人¹、野口 玲²、大崎 珠里亜²、安達 雄輝²、
岩田 秀平²、佐々木 一樹¹、近藤 格²、吉松 有紀¹

¹ 栃木県立がんセンター

² 国立がん研究センター 希少がん研究分野

³ 佐々木研究所附属杏雲堂病院 ペプチドミクス研究部

【背景】 胃癌の予防・治療はここ十年で急速に発展してきたが、進行胃癌の予後は未だに不良である。切除可能進行胃癌の標準治療は手術＋術後補助化学療法であるが、術前化学療法の研究が近年盛んである。術前化学療法の有用性を示唆する臨床試験があるが、対象によっては有用性が示されていない。術前化学療法のメリットは、腫瘍縮小を図り、予後の改善を図ることだが、デメリットとして、薬剤抵抗性により逆に予後悪化を招く可能性が挙げられる。この点から、薬剤感受性を事前に予測することは予後改善に重要と思われる。今回、われわれは治療前の内視鏡検査の際に採取した胃癌の生検検体から患者由来胃癌細胞株樹立を試み、薬剤感受性試験を実施したため報告する。

【目的】 内視鏡生検検体から患者由来胃癌細胞株を作成し、薬剤感受性試験により、患者個々の薬剤感受性を推定する。

【方法】 精査内視鏡の際に、研究目的で生検した腫瘍部分から得られた検体を2分割して片方を培養し、患者由来胃癌細胞株を作成した。培養は Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 に非働化ウシ胎児血清を添加したものを基礎培地として使用した。基礎培地に 抗菌薬 (penicillin/streptomycin), 増殖因子として hydrocortisone, bFGF, EGF, insulin, KBM, Y-27632 を添加した。増殖因子の添加は最初の1回とし、3日ごとに継代を実施した。Single nucleotide polymorphism (SNP) array を用いてコピー数多型 (CNV) やヘテロ接合性の喪失 (LOH) などの異常を検出し、正常細胞と癌細胞の区別をした。214種類の抗癌剤を用いて各々の細胞増殖抑制率を計測し、上位24剤においてIC50値を計測した。得られたIC50値を Genomics of Drug Sensitivity in Cancer が提供する情報等と比較し、有効薬剤の推定を行った。

【結果と考察】 81歳男性、胃癌、poorly differentiated adenocarcinoma, LMU cType3, cT4aN3M1(HEP, PER) cStageIVB より得られた生検検体から胃癌細胞の樹立に成功した。IC50値が1μM以下だった薬剤は10種類あった。中でもFGFR阻害剤であるErdafitinibのIC50値は0.083μMであり、既存情報ではFGFR阻害剤の最低IC50値が0.114μMであったところからErdafitinibは本症例において有効である可能性が示唆された。今後、このような事例を増やし、in vitroのデータと臨床情報を比較解析し、治療方針を決定できるin vitro化学療法感受性試験の検査系を開発したい。また、この方法により、胃癌への適応拡大が可能な抗がん剤を同定できると考えている。

Differentiation of the motor neurons from reprogrammed DPSC

Arnela Mujagić, Aiki Marushima, Hiroshi Ishikawa,
Yuji Matsumaru, Eiichi Ishikawa

Laboratory of Clinical Regenerative Medicine, Department of Neurosurgery and Stroke, Faculty of Medicine, University of Tsukuba



Background: Dental pulp stem cells, with their neuronal crest origin, present an efficient source for the induction and differentiation of several neuronal cell lines. In this research we have efficiently reprogrammed adult DPSC into the iPSC, that we used for the induction of motor neurons.

Methods: In this research we reprogrammed DPSC obtained from the dental pulp of a 22-year-old male using the SRV™ iPSC-1 Vector and established an iPSC line. Using a serum-free STEMdiff™ Motor Neuron System we successfully reprogrammed our iPSC into motor neurons.

Results: We confirmed the successful reprogramming of the motor neurons using the following primary antibodies: on the Day 14, Class III β -tubulin, ISL-1 and Homeobox protein NKX6.1 were used, and on the Day 32, Class III β -tubulin, ISL-1, MNR2/HB9/Mnx1 and Choline acetyltransferase were used.

Conclusion: We established the protocol and reprogrammed adult DPSC into iPSC using the SRV™ iPSC-1 Vector and differentiated these iPSC into high-quality motor neurons. In the future we plan to use induced motor neurons for the regeneration of injured or damaged peripheral neurons.

Key words: DPSC, iPSC, motor neurons.

協賛企業

講演

ミルテニーバイオテック株式会社
株式会社ナレッジパレット
株式会社Crown Bioscience&MBL
Shanghai Lide Biotech Co., Ltd.
SomaLogic/フォーネスライフ

展示

株式会社医学生物学研究所
インビボサイエンス株式会社
Cytiva
ジャスコインタナショナル株式会社
Shanghai Lide Biotech Co., Ltd.
株式会社スクラム
株式会社SCREENホールディングス
ストレックス株式会社
セルインク株式会社
SomaLogic/フォーネスライフ
株式会社東海ヒット
株式会社東陽テクニカ
株式会社ナレッジパレット
株式会社Biospecimen Laboratories
阪神化成工業株式会社
株式会社ファーマフーズ
水戸工業株式会社
ミルテニーバイオテック株式会社
MedChemExpress Japan
ローツェライフサイエンス株式会社
株式会社ワールドインテック

広告

エーエムアール株式会社
株式会社キーエンス
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社
株式会社SCREENホールディングス
セレックバイオテック株式会社
SomaLogic/フォーネスライフ
株式会社羊土社

※五十音順
2024年8月6日現在