

患者由来がんモデル講演会抄録集

目次

ご挨拶	2
Time Schedule	3
Program	4
Summary	
シンポジウムセッション 1	8
シンポジウムセッション 2	14
シンポジウムセッション 3	20
シンポジウムセッション 4	28
シンポジウムセッション 5	34
シンポジウムセッション 6	40
シンポジウムセッション 7	46
技術セミナー	52
企業講演	56

ご挨拶

患者由来がんモデルは、がん研究においてその黎明期より重要なツールとして使われてきました。腫瘍細胞を身体から取り出して培養したり実験動物の体内で増やしたりすることで、我々はがんの発生や臨床的に重要な事象（転移、再発、治療抵抗性など）の分子背景を明らかにしてきました。新しい抗がん剤の開発においても、患者由来がんモデルは必須の道具として用いられてきました。近年では、ゲノム解析で同定される遺伝子の異常の生物学的・臨床的な意義を調べるために患者由来がんモデルがますます必要とされています。患者由来がんモデルはこれからもがん研究において重要な位置を占めていくでしょう。

一方で、長年の課題が依然として残されていることにも我々は目を向ける必要があります。たとえば、多くの場合モデルの樹立には時間がかかり、しかも100%の成功率は望めません。また、モデルでもって治療奏効性を予測できるという仮説が昔からありますが、その仮説に対する医学的に十分なエビデンスはありません。そして、モデルが入手できないがんがたくさんあり、バイオバンクはうまく機能していません。このような課題を解決していくことで、がん研究はさらに前進していくでしょう。

本講演会では、患者由来がんモデルに関わる研究を行っておられる研究者の方々にも御講演をお願いしました。また、希少がんの診療に携わる医師や患者会の方にも御講演をお願いしました。本分野に関係するトピックスをとりあげていただき、活発な議論が展開されることを期待しています。

本講演会が患者由来がんモデルに興味のある方々の交流の場となることを願い、皆様の御参加をお待ちしています。末筆ながら、皆様の臨床・研究・ビジネスの益々の御発展をお祈り申し上げます。

オーガナイザー 近藤 格

国立がん研究センター研究所

希少がん研究分野

患者由来がんモデル講演会

Time Schedule

29日 (木)

9:00 ~ 9:10	開演のあいさつ	
9:10 ~ 10:30	セッション 1	患者由来オルガノイドを用いたがんの本態解明
10:40 ~ 12:00	セッション 2	PDX モデルから探るがん細胞と間質の相互作用
12:10 ~ 13:30	企業展示・ポスター	
13:40 ~ 14:20	技術セミナー	PDX マウスの開発
14:30 ~ 15:50	セッション 3	患者由来希少がんモデルへの取り組み
16:00 ~ 17:00	企業講演	日本チャールスリバー株式会社
17:10 ~ 18:00	企業展示・ポスター	

30日 (金)

9:00 ~ 10:20	セッション 4	患者がん三次元培養技術を活用した病態解明の取り組み
10:30 ~ 11:30	企業講演	セレックバイオテック株式会社
11:40 ~ 12:50	企業展示・ポスター	
13:00 ~ 14:20	セッション 5	がんの鶏卵モデル
14:30 ~ 15:30	企業展示・ポスター	
15:40 ~ 17:00	セッション 6	がん免疫に関する in vitro アッセイ系
17:10 ~ 18:30	セッション 7	患者由来がんモデルとその先にあるもの
18:30 ~ 18:40	閉会のあいさつ	

Program

シンポジウムセッション 1

患者由来オルガノイドを用いたがんの本態解明

座長：筆宝 義隆 千葉県がんセンター研究所 発がん制御研究部

演題 1

患者由来オルガノイドを用いた大腸がんの発生、転移・再発機構の解明

がん研究会・がん研究所・細胞生物部
八尾 良司

演題 2

大腸がん由来オルガノイドと同一症例由来線維芽細胞の
共培養系を用いる相互作用解析

国立がん研究センター 研究所 動物実験施設
成瀬 美衣

演題 3

婦人科領域における患者由来オルガノイド研究の新展開

千葉県がんセンター研究所 発がん制御研究部
筆宝 義隆

シンポジウムセッション 2

PDX モデルから探るがん細胞と間質の相互作用

—がん微小環境の解析と新規治療開発を目指して—

座長：宮城 洋平 神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん分子病態学部

演題 1

PDX モデルを用いた遺伝子発現解析に基づく相互作用解析

東京大学 医学部 大学院医学系研究科 衛生学教室
石川 俊平

演題 2

膵癌間質プロテオミクスデータを用いた統合インタラクトーム解析

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん治療学部／がんゲノム診療センター
廣島 幸彦

演題 3

小児がん肺転移 PDX モデルの樹立とがん細胞間質相互作用解析
—肺転移に対する新規治療開発を目指して—

神奈川県立がんセンター臨床研究所
宮城 洋平

シンポジウムセッション 3

患者由来希少がんモデルへの取り組み

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

演題 1

希少がん肉腫、告知から現在に至る心の変化

肉腫（サルコーマ）の会たんぽぽ 運営委員
太田 之

演題 2

ミッシングリンクを繋ぐ ―患者由来希少がん・肉腫モデル―

国立がん研究センター中央病院 骨軟部腫瘍科
川井 章

演題 3

骨軟部腫瘍ゲノムコンソーシアムによる
オールジャパンでの希少がん研究への取り組み

東京大学大学院 新領域創成科学研究科
松田 浩一

演題 4

患者由来「希少がん」モデルの現状と展望

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野
近藤 格

シンポジウムセッション 4

患者がん三次元培養技術を活用した病態解明の取り組み

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

演題 1

シングルセル解析による難治がんの組織多様性及び治療抵抗性解明に向けた試み

国立がん研究センター研究所 がん分化制御解析分野
岡本 康司

演題 2

男性・女性がんの患者由来がん三次元培養・移植モデルと病態解明への応用

東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構システム加齢医学
埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター
井上 聡

演題 3

乳がん患者由来がん三次元培養からがん幹細胞の不均一性に迫る

金沢大学がん進展制御研究所 分子病態研究分野
後藤 典子

シンポジウムセッション 5

がんの鶏卵モデル

座長 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

演題 1

鶏卵モデル確立の変遷

金沢大学がん進展制御研究所
遠藤 良夫

演題 2

腫瘍移植鶏卵モデルを用いた癌の創薬研究と PDX モデルの開発

徳島大学大学院 社会産業理工学研究部
宇都 義浩

演題 3

消化器系がんと肉腫の鶏卵モデル

京都大学 高等研究院 物質－細胞統合システム拠点
玉野井 冬彦、小松 葵、松本 光太郎

シンポジウムセッション 6

がん免疫に関する in vitro アッセイ系

座長：高木 基樹 福島県立医科大学 医療－産業トランスレーショナルリサーチセンター

演題 1

患者由来がん細胞を用いた免疫細胞による細胞傷害性アッセイ

福島県立医科大学 医療－産業トランスレーショナルリサーチセンター
福島医大トランスレーショナルリサーチ機構
高木 基樹

演題 2

免疫細胞療法の評価を目的として iPS 細胞由来血管内皮細胞を用いた
Tumor-on-a-Chip の開発

筑波大学医学医療系 トランスボーダー医学研究センター (TMRC)
京都大学 iPS 細胞研究所
三嶋 雄太

演題 3

イメージングによる三次元細胞モデルの解析

オリンパス株式会社
石原 弘也

シンポジウムセッション 7

患者由来がんモデルとその先にあるもの

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

演題 1

AIによる細胞内遺伝子ネットワーク解析

京都大学大学院 医学研究科人間健康科学系専攻ビッグデータ医科学分野
玉田 嘉紀

演題 2

細胞外マトリックス工学による腫瘍間質の再構築

大阪大学大学院 工学研究科
松崎 典弥

演題 3

マイクロ流体デバイスによる血管化スフェロイドの構築と
電気化学的な機能評価法の開発

東北大学 学際科学フロンティア研究所 新領域研究創成部
梨本 裕司

技術セミナー

PDX マウスの開発

座長：岡田 誠治 熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野

演題 1

簡便な腫瘍移植針の開発と効率良い
患者由来腫瘍移植 (PDX) マウス樹立システムの構築

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野
刈谷 龍昇

演題 2

患者由来腫瘍移植 (PDX) マウス作成に最適化された超免疫不全マウスの開発

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野
岡田 誠治

企業講演

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

演題 1

Patient-derived tumor xenografts (PDXs) for preclinical development of anti-cancer therapy

Managing Director, Charles River Discovery Freiburg, Germany
Sabine Gorynia

演題 2

化合物ライブラリーとその利用

東京大学創薬機構
須藤 直樹

患者由来オルガノイドを用いた大腸がんの発生、転移・再発機構の解明

八尾 良司

がん研究会・がん研究所・細胞生物部

大腸がんは、ひとつの正常細胞にドライバー変異が生じることにより発生し、その蓄積により進展します。その結果、がん組織は、多様な細胞から構成され、それぞれの細胞のもつ自律的な運命と細胞間の相互作用により、細胞社会を維持しています。一部の細胞は、原発巣を離れ、血流を通過して遠隔臓器に到達し、転移巣を作ります。がんが一つの細胞から生じることを考えると、そこから派生した原発巣と転移巣は類似の特性をもつことが予想されます。一方、転移巣は、クローン進化過程を経ることから、原発巣とは異なる側面をもつことも予想されます。また、化学療法では、一時的にがん組織が退縮しても、再発することがあります。その過程が、増殖を一時的に停止した休止状態の細胞の増殖であれば、再発巣は、オリジナル組織と類似の特性を持つことが予想されますが、抗癌剤が選択圧となれば、その細胞集団は異なることとなります。

このようながんの発生や転移・再発過程の変化は、主に臨床検体の解析により明らかにされました。また、生物学的な検証には、培養細胞やがんモデルマウスを使われます。しかし、培養細胞は、細胞多様性をはじめとする様々な生体組織の特性を失っており、またモデル動物は、種の違いによる「壁」を超えることは難しいことが大きな課題となっています。

私達は、2012年から主に大腸がんを対象とし、手術検体からオルガノイドを樹立してきました。「発がんプロジェクト」では、家族性大腸選腺腫症（FAP）を研究リソースとし、同一患者に発生した腫瘍を個別に培養・解析することにより、腺腫からがんへの進展について解析を行ってきました。また、「転移・再発プロジェクト」では、ステージIVの患者の同時性・異時性切除検体からオルガノイドを樹立しました。これらの症例については、すべて経過観察を行い、再発をきたした場合には、新たなオルガノイドを樹立しています。その結果、同一患者由来の原発巣、転移巣に加え、化学療法が加わった再発巣のオルガノイドセットを得ることができています。これらのオルガノイドを使って、がんの発生と進展を理解することを目指しています。本講演では、これらのオルガノイドの細胞生物学的解析、ゲノム解析、トランスクリプトーム解析、さらにシングルセル解析により、がんの発生、転移、再発過程を明らかにする試みをご紹介します。治療法開発に向けた取り組みについて議論したいと思います。

【文献】

1. Sakahara, M., T. Okamoto, J. Oyanagi, H. Takano, Y. Natsume, H. Yamanaka, D. Kusama, M. Fusejima, N. Tanaka, S. Mori, H. Kawachi, M. Ueno, Y. Sakai, T. Noda, S. Nagayama and R. Yao (2019). "IFN/STAT signaling controls tumorigenesis and the drug response in colorectal cancer." *Cancer Sci* **110**(4): 1293.
2. Abe, Y., A. Tada, J. Isoyama, S. Nagayama, R. Yao, J. Adachi and T. Tomonaga (2018). "Improved phosphoproteomic analysis for phosphosignaling and active-kinome profiling in Matrigel-embedded spheroids and patient-derived organoids." *Scientific reports* **8**(1): 11401.
3. Osumi, H., Muroi, A., Sakahara, M., Kawachi, H., Okamoto, T., Natsume, Y., Yamanaka, H., Takano, H., Kusama, D., Shinozaki, E., Ooki, A., Yamaguchi, K. Ueno, U., Takeuchi, K., Noda, T., Nagayama, S., Koshikawa, N. and R. Yao (2020). "Evaluation of the RAS signaling network in response to MEK inhibition using organoids derived from a familial adenomatous polyposis patient." *Scientific reports* in press.



八尾 良司

がん研究会 がん研究所 細胞生物部 部長

1992年 ハーバード大学ダナファーバー研究所 研究員
1996年 がん研究会・がん研究所・細胞生物部 研究員
2003年 同 主任研究員
2016年 同 部長

大腸がん由来オルガノイドと同一症例由来線維芽細胞の共培養系を用いる相互作用解析

成瀬 美衣

国立がん研究センター 研究所 動物実験施設

近年、がん分子標的薬による個別化医療が推進され、創薬研究における評価系の高度化・高速化の必要性が高まっている。そのような中で、幹細胞を含む種々の分化段階の細胞を長期的に培養可能にした三次元細胞培養法の一つであるオルガノイド培養法による患者由来がんモデルは、生体内のがん組織を反映した薬剤評価系としてその利用が期待されている。

これまでに我々は、大腸がん手術余剰検体から、同一症例からのオルガノイドと CAF (cancer associated fibroblast) を樹立した。それらのがんモデルとしての特性を理解し、有用性を評価するため、オルガノイドに対し NCC オンコパネルによる遺伝子変異解析、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い元腫瘍とモデル間で比較を行った結果、腫瘍の臨床情報や変異遺伝子のパターンと樹立率の間に相関はなく、偏りのないモデルであることを示した。また、オルガノイドは元腫瘍の大部分の遺伝子変異を維持しており、継代 (passage 20) を重ねても各変異遺伝子の変異率がほぼ保たれていた。さらに、*LGR5* や *OLFM4* といった腸管幹細胞のマーカー遺伝子が示す患者毎の発現パターンがオルガノイドでも維持されており、患者の腫瘍の特性を維持したモデルであることが推測される。一方、免疫細胞や線維芽細胞がないことによる遺伝子発現の欠如の他に、上皮細胞で発現すべき一部の遺伝子の発現が著しく低下していることを明らかにした。

そこで、より生体内がん組織に近いモデルを目指し、オルガノイドまたは線維芽細胞の発現変化を個別に同定が可能な、チャンバーシステムを利用した CAF とオルガノイドの非接触型共培養法を確立した。今回は、3 症例の同一患者由来のオルガノイドと CAF の共培養を行い、共培養による影響を受ける遺伝子を同定した。オルガノイドにて発現変動を示す上位の遺伝子は、腫瘍の増殖に関連する *REG* ファミリー遺伝子、抗がん剤耐性に関連する *DUOX* ファミリー遺伝子が占めており、本来元腫瘍で発現すべきこれらの遺伝子がオルガノイド単独培養では発現せず、共培養により発現が戻ることがわかった。また CAF の多様性が報告されているように、今回の共培養においても組み合わせる症例により遺伝子発現の誘導能は異なっていた。これらの結果から、同一患者由来のがんオルガノイドと CAF との共培養系を利用することで、薬剤が生体内がん組織に近い反応性を示すことが期待され、耐性化の解析を含めた適用範囲の広い抗がん剤評価モデルになり得るのではないかと考えている。

【文献】

1. **Naruse M**, Masui R, Ochiai M, Maru Y, Hippo Y, Imai T.: An organoid-based carcinogenesis model induced by in vitro chemical treatment. *Carcinogenesis*. 2020 Feb 12
2. Ono R, Yoshioka Y, Furukawa Y, **Naruse M**, Kuwagata M, Ochiya T, Kitajima S, Hirabayashi Y.: Novel hepatotoxicity biomarkers of extracellular vesicle (EV)-associated miRNAs induced by CC14. *Toxicol Rep*. 2020 May 29; 7: 685–692.
3. **Naruse M**, Ono R, Irie M, Nakamura K, Furuse T, Hino T, Oda K, Kashimura M, Yamada I, Wakana S, Yokoyama M, Ishino F, Kaneko-Ishino T.: *Sirh7/Ldoc1* knockout mice exhibit placental P4 overproduction and delayed parturition. *Development*. 2014 Dec; 141(24): 4763–71.



成瀬 美衣

国立がん研究センター 研究所 動物実験施設

- 2004年 東京工業大学 生命理工学部卒業
 2006年 日本学術振興会特別研究員 (DC1)
 2009年 東京医科歯科大学 大学院生命情報科学教育部
 博士課程修了 博士 (理学)
 2009年 東京医科歯科大学
 難治疾患研究所エピジェネティクス分野 特任助教
 2014年 Full-time mother
 2016年 国立がん研究センター研究所動物実験部門 特任研究員
 2017年 国立がん研究センター研究所動物実験施設 研究員

婦人科領域における 患者由来オルガノイド研究の新展開

筆宝 義隆

千葉県がんセンター研究所 発がん制御研究部

マトリゲルを用いて行うオルガノイド3次元培養が約10年前に開発されて以来、成体幹細胞の長期培養を生理的な環境で実施可能な特性と、その高い成功率から様々な分野への応用が進んでいる。我々もマウス正常オルガノイドへの遺伝子導入による発がんモデルの作成を多数臓器で系統的に進めており、発がん機構への洞察を得ると同時に前臨床モデルとしても活用している。これらの研究の過程で蓄積したオルガノイド培養の技術的ノウハウを元に、同技術の適用が遅れていた婦人科腫瘍の患者由来検体の培養に最近取り組んでおり、本講演ではその概要を紹介する。

患者由来がん組織へのオルガノイド培養の応用は、大腸癌を中心とする消化器がんでも最早期に導入されたが、これは当該分野の研究者人口が多いことと、実際に培養自体が技術的に容易であることが影響していたと考えられる。一方、婦人科腫瘍に関してはごく最近までオルガノイド培養の報告自体がなかったため、当センターの婦人科と共同研究を行い、主に手術検体から卵巣癌の培養に着手した。我々は最初からマトリゲル内に細胞を埋め込まずに、固化したマトリゲル上に細胞を散布した上で生着した細胞に対してマトリゲルを重層する、Matrigel Bilayer Organoid Culture (MBOC法)という独自の手法により培養を行ってきた。この手法の利点は死細胞や分化細胞、組織片などのオルガノイド形成に貢献しない存在を効率的に排除する一方で、幹細胞や前駆細胞に相当する細胞集団をマトリゲル上に濃縮することが容易な点である。それでも、当初卵巣癌の培養成功率は50%以下であり、原因究明を行ったところ腫瘍が全般的に繊維性かつ硬度が高いことから、酵素処理等を行っても十分な数のがん細胞が組織から遊離できていないことが主要な原因と考えられた。そこで、2日に渡って緩徐にがん細胞を回収するプロトコルに改変し、培養開始時に十分な絶対数を確保することにより培養の成功率を90%程度に改善することに成功した。当センターの症例は比較的早期のものや境界悪性腫瘍が多いことを考えると、この高い成功率は特筆すべき成績と考えられる。その後、子宮体がんについても同程度の培養成功率を達成している。

得られたオルガノイドについて、元の腫瘍の性質がゲノム、組織、発現など様々な面で保持されていること、腫瘍内の不均一性についても複数部位からのオルガノイドとして再現できることを確認した。また、薬剤感受性の評価はマトリゲルを用いずにスフェロイド化してから実施することで、high throughputなアッセイが可能だった。その後、子宮頸がんの希少フラクションである明細胞がんの症例に遭遇した際に、その生検組織から特徴的な明るい胞体を有する充実性のオルガノイドを樹立し、世界初の成功例として報告した。同細胞においてはMET遺伝子の増幅と高発現を見出したことからMET阻害剤を投与したところ、非増幅症例と比較して明らかに高感受性なことから再発時の治療オプションとして有望と考えられた。また、通常の子宮頸がんの多くはヒトパピローマウイルス(HPV)の持続感染を背景とするが、HPV感染および発がんの高感受性領域である扁平円柱上皮境界領域(SCJ)について、これまで初代培養の成功は未報告だった。我々は、別の疾

患で子宮を切除した症例の頸部組織を用いて数例でオルガノイド培養に成功し、既知の SCJ マーカーの発現のみならず、一つのオルガノイドが円柱上皮と扁平上皮の二つの領域から構成されることを確認した。今後、HPV による発がん機構を解析する上で有用な細胞株となると考えられる。

このように、婦人科領域においてもオルガノイド培養技術は着実に浸透してきており、今後の研究の展開が期待される。

【文献】

1. Maru Y, Kawata A, Taguchi A, Ishii Y, Baba S, Mori M, Nagamatsu T, Oda K, Kukimoto I, Osuga Y, Fujii T, **Hippo Y**. Establishment and molecular phenotyping of organoids from the squamocolumnar junction region of the uterine cervix. *Cancers*. 12(3), 694. 2020
2. Maru Y, Tanaka N, Ebisawa K, Odaka A, Sugiyama T, Itami M, **Hippo Y**. Establishment and characterization of patient-derived organoids from a young patient with cervical clear cell carcinoma. *Cancer Sci*. 110(9); 2992–3005. 2019
3. Maru Y, **Hippo Y**. Current Status of Patient-Derived Ovarian Cancer Models. *Cells*. 8(5). 2019
4. Maru Y, Tanaka N, Itami M, **Hippo Y**. Efficient use of patient-derived organoids as a preclinical model for gynecologic tumors. *Gynecol Oncol*. 154(1): 189–198. 2019
5. Maru Y, Tanaka N, Ohira M, Itami M, **Hippo Y**, Nagase H. Identification of novel mutations in Japanese ovarian clear cell carcinoma patients using optimized targeted NGS for clinical diagnosis. *Gynecol Oncol*. 144(2): 377–383. 2017



筆宝 義隆

千葉県がんセンター研究所 発がん制御研究部 部長

-
- 1994年 東京大学医学部卒
 - 1996年 東京大学第三内科入局（消化器グループ）
 - 2000年 東京大学大学院医学系研究科修了、医学博士
 - 2002年 東京大学先端科学技術研究センター 助手
 - 2005年 コールドスプリングハーバー研究所 博士研究員
 - 2009年 国立がん研究センター研究所 ユニット長
 - 2014年 千葉県がんセンター研究所 部長
 - 2019年 千葉大学大学院医学薬学府 客員教授（兼任）

PDX モデルを用いた 遺伝子発現解析に基づく相互作用解析

石川 俊平

東京大学 医学部 大学院医学系研究科 衛生学教室

患者由来の PDX モデルは、腫瘍の成長、浸潤、転移に大きな影響を持つ微小環境 (TME) をよく再現した研究ツールである。我々は神奈川がんセンター、実験動物中央研究所と共同で樹立した 9 種のがん種よりなる 70 検体由来の PDX を樹立、がん-間質相互作用の解析を体系的に行う目的でトランスクリプトームシーケンスを行った。がん細胞 (ヒト) 由来及び間質細胞 (マウス) 由来のトランスクリプトを配列の特徴から解析段階で分離することで、がん細胞と間質細胞との発現プロファイリングを行なった。PDX の組織は臨床がん組織の持つ腫瘍の割合や、間質細胞の組成をよく表していることが発現プロファイルのうえでも確認され、各がん種ごとのがん細胞だけでなく間質細胞のシグナルの多様性が明らかになった。特に腎淡明細胞がんや膠芽腫の間質は、大腸がん、肺がん、膵がんなどの線維性間質を作るがんと比較して特徴的であり、腎がんでは低酸素シグナルや血管内皮の増加が明瞭であった。腎がん間質の特徴的トランスクリプトームを支配する上流レギュレーターシグナル伝達経路及び、そのトリガーとなるがん細胞側からの細胞間シグナルの統合解析を行なったところ、血管新生または低酸素関連反応を誘発する既知のパラクリンシステムに加え、これまで腎がんでは明らかになっていない新たな制御分子候補が明らかとなった。さらに腎がん PDX マウスに関するこの候補分子の阻害試験を行い、抗腫瘍効果を確認することが出来た。これらの一連の解析と実験により、PDX のゲノミクス解析を通じて癌間質相互作用に関わる分子標的を同定するフローの POC を示すことができたと考えられる。

【学会賞など】

第 61 回 日本病理学会学術賞 (A 演説)

「がんの包括的ゲノミクスによるゲノム病理学研究」

第 34 回 日本癌学会学術奨励賞

「びまん型胃癌におけるゲノムプロファイリングとドライバー遺伝子の同定」

第 2 回 ヤマト科学賞

「ゲノム病理学による難治疾患の発症メカニズムの解明」

【文献】

1. Defined Lifestyle and Germline Factors Predispose Asian Populations to Gastric Cancer.

Science Advances 2020 May 6; 6(19): eaav9778.

2. Machine Learning Methods for Histopathological Image Analysis.

Comput Struct Biotechnol J. 2018 Feb; 16: 34–42.

3. Immunogenetic Profiling for Gastric Cancers Identifies Sulfated Glycosaminoglycans as Major and Functional B Cell

Antigens in Human Malignancies.

Cell Reports 2017 Aug 1; 20(5): 1073–1087.

4. CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome.

BMC Genomics. 2016 Nov 9; 17(1): 899.

5. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma.

Nature Genetics 2014 Jun; 46(6): 583–7.



石川 俊平

東京大学 医学部・大学院医学系研究科 衛生学教室 教授

2000年 東京大学 医学部 卒業

2004年 東京大学 大学院医学系研究科 人体病理学・病理診断学 修了

2004年 東京大学 先端科学技術研究センターゲノムサイエンス部門 特任助手

2007年 東京大学 大学院医学系研究科 人体病理学・病理診断学 助教のち准教授

2013年 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 ゲノム病理学分野 教授

2018年～東京大学 大学院医学系研究科 衛生学分野 教授

膵癌間質プロテオミクスデータを用いた 統合インタラクトーム解析

廣島 幸彦

神奈川県立がんセンター臨床研究所 がん治療学部／がんゲノム診療センター

背景：癌の微小環境（Tumor microenvironment; TME）には CAF（cancer associated fibroblast）や TAM（Tumor associated macrophage）と称される活性化された線維芽細胞やマクロファージなどが存在し、癌の進展を多面的に促進させている。特に膵癌では TME の増生（desmoplasia）が顕著で、TME の構造は癌細胞によって積極的に構築され、様々な側面から癌の進展（増殖、生存、浸潤、転移）を促進させていることが知られており、**癌と間質との相互作用**は新たな標的として注目を集めている。本研究では、膵癌間質で有意に発現変動しているタンパク質をショットガンプロテオミクス解析で同定し、さらに公共データベースから同定した膵癌細胞における発現変動遺伝子リストと合わせて、独自に構築した「癌-間質相互作用データベース」に照会することにより、膵癌組織において鍵となる癌-間質相互作用を同定した。

方法と結果：膵臓の切除検体（膵癌：8 例、IPMA：6 例）から間質のみを LMD（Laser captured microdissection）を用いて分離し、間質に発現するタンパク質を網羅的に解析（LC FT-LTQ MS）した（1961 種類の蛋白質を同定）。膵癌間質と IPMA 間質に発現しているタンパク質を比較し、膵癌間質において有意に発現変動しているタンパク質を 102 種類同定した（R package_edgeR）。次に、公共データベース（The Cancer Genome Atlas database: TCGA、The Genotype-Tissue Expression database: GTEx）から膵癌（n=169）と正常膵（n=197）の遺伝子発現データを取得し、膵癌において有意に発現変動している遺伝子を 4131 種類同定した。膵癌細胞に発現している遺伝子に絞るため、膵癌細胞株に発現している遺伝子リストに照会し、1435 遺伝子にまで絞り込んだ。上記の①膵癌間質の発現変動分子：102 種類と②膵癌細胞の発現変動分子：1435 種類を独自に構築した癌-間質相互作用データベース（KEGG のリガンド受容体データベースをキュレーションし改変したもの）に照会し、8 つの重要な相互作用を同定した。TCGA のデータを用い、上記 8 つの相互作用に関連する遺伝子の発現と予後との関係を検討すると、FN1/ITGA3 と FN1/ITGA5 において有意に予後との相関を認めた。さらに、膵癌の切除検体から作成した tissue microarrays (TMAs; n=271) を用いて、膵癌間質における FN1 の発現と膵癌細胞における ITGA3, ITGA5 の発現を検討したところ、ITGA3 のみ膵癌細胞における発現が確認され、膵癌間質における FN1 の発現と膵癌細胞における ITGA3 の発現が独立した予後不良因子として選択された。

結語：膵癌間質のプロテオミクス解析データと膵癌公共データベースデータを統合し、インタラクトーム解析を施行した。8 つの相互作用を同定し、そのうち FN1/ITGA3 は、臨床検体を用いた裏付け実験で、組織における発現が独立した予後不良因子として選択され、治療の標的になり得る重要な相互作用であると考えられた。

【学会賞など】

平成 31 年度 科学研究費 基盤研究 C (No.19K09181)、代表
 「膵癌微小環境における TGF β シグナリングの制御と腫瘍免疫との関連」
 平成 30 年度、平成 28 年度 日本膵臓研究財団膵臓病研究奨励賞
 平成 26 年度 科学研究費 若手研究 B (No.26830081)、代表
 平成 25 年度 横浜医学振興財団 奨励研究助成
 平成 21 年度 横浜市立大学臨床コンペ最優秀賞

【文献】

Novel targets identified by integrated cancer-stromal interactome analysis of pancreatic adenocarcinoma. Hiroshima Y, Kasajima R, Kimura Y, et al.. *Cancer Lett.* 2019 Oct 24. pii: S0304-3835(19)30534-8.
 MiR-194-5p in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Peritoneal Washings is Associated with Peritoneal Recurrence and Overall Survival in Peritoneal Cytology-Negative Patients.
 Kubo H, Hiroshima Y, Mori R, et al.. *Ann Surg Oncol.* 2019 Dec; 26(13): 4506–4514.
 Role of the tumor microenvironment in pancreatic cancer. Murakami T, Hiroshima Y, Matsuyama R, et al.. *Ann Gastroenterol Surg.* 2019 Jan 4; 3(2): 130–137.
 Color-coded intravital imaging demonstrates a transforming growth factor- β (TGF- β) antagonist selectively targets stromal cells in a human pancreatic-cancer orthotopic mouse model.
 Murakami T, Hiroshima Y, Miyake K, et al.. *Cell Cycle.* 2017 May 19; 16(10): 1008–1014. doi: 10.1080/15384101.2017.1315489.
 Patient-derived mouse models of cancer need to be orthotopic in order to evaluate targeted anti-metastatic therapy. Hiroshima Y, Maawy A, Zhang Y, et al.. *Oncotarget.* 2016 Nov 1; 7(44): 71696–71702. doi: 10.18632/oncotarget.12322.



廣島 幸彦

神奈川県立がんセンター 臨床研究所
 がん治療学部 先進的医療開発・支援ユニット ユニット長

2003 年 浜松医科大学医学部卒
 2005 年 横浜市立大学第 2 外科入局
 2011 年 カリフォルニア大学サンディエゴ校 博士研究員
 2014 年 帝京大学ちば総合医療センター外科 助教
 2017 年 横浜市立大学臨床腫瘍科 助教
 2019 年 現職

小児がん肺転移 PDX モデルの樹立と がん細胞間質相互作用解析 — 肺転移に対する新規治療開発を目指して —

宮城 洋平

神奈川県立がんセンター臨床研究所

我々は、がんの本体解明に資する基礎的研究への利用はもとより、治療の分子標的の探索、新規治療の開発研究とその評価システムとして、超免疫不全マウスを用いた患者由来がん組織の移植片モデル（以下、PDX）の作製に力を入れている。免疫不全マウスを用いた PDX モデルは、樹立された培養がん細胞やオルガノイドと比較して、実際のがん組織に類似した間質組織があることが大きな利点とされる一方で、作製・維持の手技が煩雑で、またコストも高く、樹立成功率が他のモデル系と較べて低く、免疫系の関与が評価できないなどの問題点が指摘されている。NOG マウスを用いてがん種横断的に成人腫瘍の PDX モデル作製に取り組んだ先行研究では、原発巣からの PDX 樹立成功率凡そ 30% に対して、転移巣移植では 65% と高い成功率が得られた。この状況を鑑み、PDX モデル作製を基盤とした、がん細胞と間質の相互作用解析に着目した小児がん肺転移の治療開発研究に着目した。

小児悪性固形腫瘍の治療成績は著しく向上したものの、なお一部の腫瘍では満足な成績が得られていないのが現状で、特に肺転移で再発する患者に対する有効な治療法の開発が重要である。神奈川県立こども医療センターでは、肺転移で再発した小児固形腫瘍の転移巣を積極的に外科切除する治療を行っているが、外科切除のみでは十分な治療成績を得ることができないのが現状である。患者が小児であることを踏まえ、完治を目指した新規治療法の開発が喫緊の課題であるが、その際、患者由来の腫瘍組織を持つ動物モデルがあれば非常に有用である。高い PDX 作製の成功率が期待できること、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析を実施することで、がん細胞と間質細胞の遺伝子発現を明確に区別して、その相互作用が解析できること等の利点から、肺転移から作製した PDX モデルによる治療開発研究を開始している。

神奈川県立こども医療センターで小児固形腫瘍の肺転移巣切除時に得られた腫瘍組織を、神奈川県立がんセンター臨床研究所へ移送後、直ちに処理して、高度免疫不全マウス（NSG マウス）の皮下へ移植、生着した腫瘍（PDX）を採取し、一部を新規の NSG マウスへ移植し、残組織は viable の状態での凍結保存、病理組織学的解析、次世代シーケンシングを用いた遺伝子発現解析、全エクソン遺伝子変異解析に供し、また、凍結検体として保存した。現在までに 13 症例の小児固形腫瘍組織の PDX 作製に成功した。腫瘍組織の内訳と、現在までのマウス生着 / 非生着数は以下の通りで、骨肉腫（6/6）、肝芽腫（1/2）、ユーイング肉腫（1/1）、悪性筋上皮腫（1/1）、悪性ラブドイド腫瘍（1/1）、肝細胞癌（1/2）、卵黄嚢癌（1/1）、横紋筋肉腫（1/1）であり、13/15（87%）と高い PDX 作製成功率が得られた。この内、骨肉腫 1 例、ユーイング肉腫 1 例について、皮下 PDX より採取した腫瘍を新たな NSG マウスの尾静脈より注入して、肺転移モデルを作製することに成

功している。特に、ユーイング肉腫1例については、ヒト肺転移組織、マウス皮下腫瘍組織、マウス肺転移組織におけるRNA sequencingが終了しており、がん細胞—間質相互作用解析に着目し、肺転移に対する新規治療開発の視点から考察を加えたい。

【特記事項】

神奈川県立がんセンターで、2005年の包括同意に基づく腫瘍組織、研究用血液のがん種横断的なバイオバンク（腫瘍組織センター）の設立から、生体試料センターへの名称変更を経て現在に至るまで、その試料収集と研究利用に携わっている。2010年度からは、このバイオバンクを基盤に、文科省科研費・新学術領域研究（がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動→コホート・生体試料支援プラットフォーム）の分担研究者として、科研費獲得者を被支援者とする研究試料の提供事業、解析事業の一部を担っている。この様な経緯から、ヒト試料の研究利用、有用な患者がんモデルの基盤整備に興味を持っている。

【文献】

1. Koizume S, Miyagi Y. Lipid Droplets: A Key Cellular Organelle Associated with Cancer Cell Survival under Normoxia and Hypoxia. *Int J Mol Sci* 17(9). pii: E1430, 2016.
2. Chijiwa T, Kawai K, Noguchi A, Miyagi Ym et al. Establishment of patient-derived cancer xenografts in immunodeficient NOG mice. *Int J Oncol* 47(1): 61–70, 2015.
3. Komura D, Isagawa T, Kishi K, Ishikawa S, et al.. CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome. *BMC Genomics* 17(1): 899, 2016.



宮城 洋平

神奈川県立がんセンター臨床研究所
所長／生体試料センター長

1986 横浜市立大学医学部卒
1992 医学博士、横浜市立大学医学部病理学第2講座 助手
1990 国立がんセンター研究所生物物理部 リサーチレジデント
1994 スクリップス研究所 (San Diego) 免疫・血管生物学部 ポスドク
1996 横浜市立大学医学部病理学第2講座 助手、講師
2000 神奈川県立がんセンター臨床研究所腫瘍病理研究室 研究員
2012 神奈川県立がんセンター臨床研究所がん分子病態学部 部長
2018 神奈川県立がんセンター臨床研究所 所長

希少がん肉腫、告知から現在に至る心の変化

太田 之

肉腫（サルコーマ）の会たんぼぼ 運営委員

1. 異変

最初に異変に気付いたのが約6年前。

睾丸と肛門の間にしこりを感じたが、人には言えないような恥ずかしい場所のできもので厄介だと思いつつも、痛みはないしそのうちに治るだろうと放置していました。

しかし、その思いとは裏腹にしこりは日に日に大きくなり、得体の知れない恐怖に襲われながらも現実逃避していました。さすがに3センチくらいの大きさになった頃には不安でたまらず練馬総合病院の泌尿器科を受診しました。

エコー検査とMR検査をしてもらいましたが、総合病院では腫瘍の正体が判らず、不安を拭き去るにはいたりませんでした。

2. 診断

紹介して頂いた国立がん研究センター中央病院では、CT検査など更に詳しい検査をしてもらいましたが良性か悪性か分からず、腫瘍を全部摘出して病理検査をすることになりました。専門病院で診てもらえたので、これで安心と思っていましたが、まさか自分が希少がんであるとは夢にも思わず、病理検査の結果を聞かされた時の衝撃は今でも忘れられません。

「肉腫」という聞いたこともない病名。悪性の腫瘍であり適用する抗がん剤がないため、治療法は会陰部の広範切除しかなく睾丸、陰茎、場合によっては肛門も切除するといわれました。穴が開いた部分には背中からの皮弁移植、そして膀胱瘻設置と気が遠くなるような内容でした。担当の医師からは時間をかけて図解とともにとても丁寧な説明をして頂きましたが、頭の中は真っ白で何を言われているのか理解できず、あまりの衝撃にどこか他人事のような何も受け入れられない状態でした。

医師からの説明後、廊下で放心状態の私たち夫婦に看護師さんから「大丈夫ですか？先生の説明は理解できましたか？」「先生へ質問しづらいことは看護師から聞きますよ」などと優しく声をかけて頂きました。

ショックで頭の中が整理出来ず、なにも考えられない状態でしたが、看護師さんの優しい言葉に本当に心が救われました。

今思えば看護師さんに言われた言葉は自分のこととして受け入れられるきっかけを作ってくれた気がします。

3. 手術

手術を受け入れる決断をするまでの葛藤は本当に辛いものでしたので、手術以外に手立てはないか、とにかくこんな恐ろしい手術を避ける事ばかり考えていました。担当の医師には何度も相談に乗っていただき、手術は最善の方法であること、今後の人生を考えて自分が納得した上で手術を受けてもらいたいことなど真剣に向き合ってもらいました。

言い出しにくかったセカンドオピニオンに関しても快く勧めて頂き、この医師になら全てを安心

して任せられると思い手術を決断できました。

約12時間の手術はうまく行きましたが、術後は思っていた以上に大変で約2カ月の入院、そしてリハビリを行い仕事に復帰できたのは手術から9カ月後でした。

この間、社会復帰に向けてひたすら頑張りましたが、今まで当たり前に出ていた事が出来なくなる辛さや、本当に仕事に復職できるのかなどの悩み、そして一番心配なのは転移再発するのではないかと言う不安で常に心安らかにはいられませんでした。

4. 患者会

友人や家族の支えにより悩みや苦しみは徐々に薄らいできましたが、「肉腫の会たんぼぼ」との出会いによって安心感を得ることが出来ました。肉腫になった本人にしか分からない気持ちを共有でき、前向きに生きる姿にとっても勇気をもらえました。そして今度は自分が他の患者の方の支えになればと思い、現在では患者会のスタッフとして活動しています。

5. 現在

手術から丸5年が経ち転移再発もなく過ごせた事に感謝しています。手術によって障害者となり出来なくなった事を嘆くのではなく、新しい事にチャレンジしようと思えるようになりました。もう無理だと思っていたサーフィンも障害者サポート団体と知り合えて再挑戦しています。また、入院中に興味を持ったウクレレも始めました。

5年を無事に過ごしましたが、完治したわけではなく、常に転移再発の心配はつきませんが、自分を信じて今後も生きていきたいと思います。

I would like to thank all the people and things that lead me.



太田 之

肉腫（サルコーマ）の会たんぼぼ 運営委員

1980年 流通経済大学経済学部卒業
 同年 株式会社高橋書店入社
 1981年 同販売部へ配属
 1985年 同編集部企画課へ転属
 1995年 同販売部取次担当へ転属
 1998年 同販売部北海道地区担当転属
 2000年 同販売部北東北地区担当転属
 2002年 同特販部転属
 2015年 類上皮肉腫治療のため休職
 2016年 リハビリ期間を経て復職
 2018年 同社を退職
 2019年 佐倉市観光協会採用、現在に至る

ミッシングリンクを繋ぐ —患者由来希少がん・肉腫モデル—

川井 章

国立がん研究センター中央病院 骨軟部腫瘍科

2019年6月、2種類のがん遺伝子パネル検査が保険収載され、日本のがん診療はゲノム医療の時代に入った。目に見えない遺伝子の情報に従って、薬剤を選択し、高い確率でその効果を期待することができるようになった。一方、臨床の現場では、相変わらず、目に見える腫瘍に対して、切った張ったの戦いが繰り返されている。我々臨床医は、日々その間を行き来しながらがん診療にあたっているが、現場で生じる昔ながらの疑問（なぜ同じ薬がAさんには効いてBさんには効かないの？なぜ同じ腫瘍なのにこんなに形・経過が異なるの？）に対して、現在のゲノム医療は、残念ながら、未だ満足のいく答えはくれない。そして、どうもその傾向は、頻度の高いがんに比べて頻度の低いがん、いわゆる希少がんにおいてより顕著な状況がうかがわれる。これは、とりもなおさず、希少がんにおける基礎研究が立ち遅れていることの証左でもあるが、きわめて種類が多く（～190種類）多彩な臨床病理学的特徴を有する希少がんは、頻度の高いがんに比べて、それを研究する研究者も、資金も、研究を支えるインフラも圧倒的に不足している。せっかく新たな抗がん剤候補が見つかって、その薬効をスクリーニングし、前臨床におけるPOCを確保するためのモデル系すら存在しない状況では、特定の疾患に対する臨床開発を進めることは困難である。国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍科はわが国有数のhigh volume centerとして多くの骨軟部腫瘍/肉腫患者の治療をさせていただいているが、研究所と共同して、同意の得られた患者の腫瘍組織から患者由来肉腫モデルを作成する研究に参画している。シンポジウムでは、臨床からみた患者由来希少がん・肉腫モデルに対する期待と取り組みについてお話できればと考えている。

【研究費など】

がん対策推進総合研究事業（2020–22）：希少がんの情報提供・相談支援ネットワークの形成に関する研究（主任）

科学研究費補助金（2018–20）：プロテオゲノミクスによる悪性骨軟部腫瘍の新たなバイオマーカーの探索とその応用（主任）

国立がん研究センター研究開発費（2019–21）：希少がんの治療成績向上のための診療実態の把握と基盤整備に関する研究（主任）

革新的がん医療実用化研究事業（2020–22）：がんゲノム医療の限界を克服する患者由来「希少がん」モデルを用いた研究（分担）

革新的がん医療実用化研究事業（2019–21）：進行軟部肉腫に対する二次治療における標準治療の開発のための研究（分担）

革新的がん医療実用化研究事業（2020–22）：高悪性度骨軟部腫瘍に対する標準治療確立のための研究（分担）

【文献】

1. SYT-SSX gene fusion as a determinant of morphology and prognosis in synovial sarcoma. A Kawai, *et al.* N Engl J Med 338: 153–160, 1998
2. Trabectedin monotherapy after standard chemotherapy versus best supportive care in patients with advanced, translocation-related sarcoma: a randomised, open-label, phase 2 study. A Kawai, *et al.* Lancet Oncol. 16(4): 406–16, 2015
3. Current state of therapeutic development for rare cancers in Japan, and proposals for improvement. A Kawai, *et al.* Cancer Sci. 109(5): 1731–1737, 2018.
4. Rare cancers in Japan: Definition, Clinical features and Future perspectives. A Kawai, *et al.* Jpn J Clin Oncol. Jul 28m 2020.



川井 章

国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍・リハビリテーション科科長，希少がんセンター長

-
- 1985年 岡山大学医学部卒業
 - 1993年 岡山大学医学部整形外科助手
 - 1996年 Memorial Sloan—Kettering Cancer Center Fellow
 - 1998年 岡山大学医学部整形外科講師
 - 2002年 国立がんセンター中央病院整形外科
 - 2013年 国立がん研究センター希少がんセンター長
 - 2017年 国立がん研究センター中央病院骨軟部腫瘍・リハビリテーション科科長

骨軟部腫瘍ゲノムコンソーシアムによる オールジャパンでの希少がん研究への取り組み

松田 浩一

東京大学大学院 新領域創成科学研究科

骨軟部腫瘍におけるゲノム異常については染色体の転座などが明らかとなっているが、その病態の把握には網羅的な遺伝子産物の質的・量的変化を捉える必要がある。近年、様々な悪性腫瘍の発症、進展、治療抵抗性に重要なゲノム変異の存在が明らかとなってきたが、骨軟部腫瘍においてはその希少性のため十分な症例数での検討が行われていないのが現状である。我々は骨軟部腫瘍の希少性を克服すべく2014年に骨軟部腫瘍ゲノムコンソーシアムを設立した。これまで27の医療機関、10の研究機関が参加しており、統一プロトコールによる試料収集体制の整備を進めている。また中央病理診断を含めた標準化された検体を用いて、エクソーム解析、RNA シークエンス解析、プロテオーム解析などのオミックス解析が可能な体制を構築した。現在10以上の組織型を対象とした試料の収集と解析を実施している。

脱分化型脂肪肉腫についてはTCGA登録例を含む115例の大規模な解析を進めており、ゲノム解析の結果、TP53変異以外は特に脱分化型脂肪肉腫に特徴的な遺伝子変異は同定されなかった。一方、12番染色体長腕のほか、1p32、1q24、6q24などの領域で高頻度にコピー数増幅、及び11q、13q、9pなどで欠失が生じていることを確認された。さらにCTDSP2-DNM3OSやCTDSP1-DNM3OS融合遺伝子が高頻度に確認された。これらの融合遺伝子は高分化型脂肪肉腫には見られなかったことから、脱分化過程に特徴的なゲノム異常と考えられた。Fusion陽性の腫瘍では、DNM3OSおよびmir214の高発現も認められ、さらに細胞周期関連遺伝子の発現上昇が認められたことから、これらの遺伝子の発現制御を介して、悪性化に寄与していると考えられた。またコピー数異常の結果を元に、脱分化型脂肪肉腫症例が3つのクラスターに分類された。12q15と1p32.1の増幅を特徴するクラスター1は、12q15の増幅のみを認めるクラスター2に比べ有意に予後が不良であり、これらの分類は治療予後のマーカーとなりうると期待される。

腱鞘巨細胞腫のゲノム解析から、CBLの高頻度変異やCSFを含む新規融合遺伝子が同定され、CBL変異を有する症例は予後不良であること、またJAK2経路の活性化が見られたことから、JAK2阻害剤を用いた治療が奏効する可能性が示唆されたが示された。これらの他に、臨床研究登録例の生殖細胞系列DNAを対象とした、薬剤代謝関連遺伝子のゲノム解析も現在すすめており、薬剤副作用との関連を精査している。我々はこれらの解析を通じて、薬剤応答性や予後バイオマーカーの同定及び新規治療法の確立、個別化医療の実現を目指している。

【学会賞など】

2003年 日本骨代謝学会 奨励賞

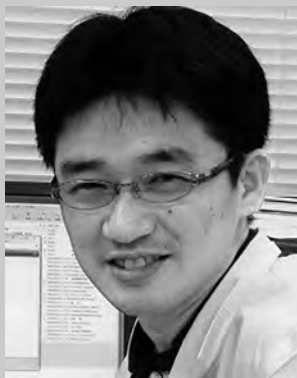
2003年 アメリカ骨代謝学会 Young Investigator Award

日本癌学会、日本がん疫学・分子疫学研究会：評議員

Cancer Science, Journal of Human Genetics, Scientific Reports: Associate editor

【文献】

1. M. Hirata, **K. Matsuda et al.** Integrated exome and RNA sequencing of dedifferentiated liposarcoma, *Nature communications*, 10 (2019) 5683.
2. Y. Tsuda, **K. Matsuda**, et al. Massively parallel sequencing of tenosynovial giant cell tumors reveals novel CSF1 fusion transcripts and novel somatic CBL mutations, *International journal of cancer. Journal international du cancer*, (2019)
3. Y. Tsuda, **K. Matsuda et al.** Identification of a p53 target, CD137L, that mediates growth suppression and immune response of osteosarcoma cells, *Scientific reports*, 7 (2017) 10739.
4. C. Tanikawa, **K. Matsuda et al.** A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population, *Nat Genet*, 44 (2012) 430-434



松田 浩一

東京大学大学院新領域創成科学研究科

-
- 1994年 東京大学医学部医学科卒業
東京大学医学部附属病院整形外科入局
- 2003年 東京大学大学院医学系研究科修了
米国、ペイラー医科大学、博士研究員
- 2004年 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター助手
- 2009年 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター准教授
- 2015年 東京大学大学院新領域創成科学研究科
クリニカルシーケンス分野 教授

患者由来「希少がん」モデルの現状と展望

近藤 格

国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野

希少がんとは症例数が極端に低い悪性腫瘍のことであり、本邦では、年間10万人あたりの発症数が6例未満の悪性腫瘍が希少がんとして定義されている。希少がんは、この定義からしてユニークである。悪性腫瘍はその発生する臓器や組織あるいは分子生物学的な背景、または臨床症状にしたがって定義されるのが普通である。一方、希少がんは患者の数によって定義される悪性腫瘍であり、希少がんの間で共通した病理学的な特徴、分子背景、臨床症状は存在しない。一方、症例数が少ないことに由来する遍く共通した問題が希少がんには存在する。臨床的には、臨床試験の実施が難しく新しい治療法の開発が進まないこと、診療できる機関が限られていることなどである。そして、基礎研究としては、臨床検体や患者由来がんモデルが入手できないことである。これらの課題に対しては、多施設共同で臨床試験を推進したり、学会を通じて情報の共有を図ったり、バイオバンクを構築したり、といった取り組みが行われており、成果を上げている。一方で、長らく忘れられていたのが、「患者由来がんモデルが入手できない」という問題である。

患者由来がんモデルとは、細胞株やゼノグラフトのことなのだが、これらが入手できないとなると、研究室で行われるほとんどの実験ができないことになる。肉腫を例に挙げると、公的なバイオバンクから細胞株やゼノグラフトが入手できるのはごく一部の組織型に限定されている。モデルが入手できない組織型については、新しい遺伝子やタンパク質の機能を調べたり、抗がん剤の効果を調べたりするなどの実験ができない。基礎データなしに臨床試験を行うわけにはいかず、基礎研究だけでなく治療法の開発も停滞している。このような背景があるために、希少がんでは新しい抗がん剤はきわめて希であり、治療成績は向上しない。

国立がん研究センター研究所・希少がん研究分野では、2014年から希少がんの患者由来がんモデルの作成を開始した。中央病院骨軟部腫瘍科および希少がんセンターの協力を得て、同意の得られた患者の腫瘍組織から患者由来肉腫モデルの作成に取り組み、現在までに約70種類の細胞株および40種類のゼノグラフトの樹立に成功した。また、昨年からは栃木県立がんセンターからも臨床検体を送っていただき、順調にモデル系の作成を進めている。作成したモデル系は、一つの研究室が独占するのではなく、可能な限り多くの方々に使っていただき、肉腫研究を推進していただきたい。そのような思いから、樹立した細胞株は可能な限り迅速に論文として発表し、国内外の研究者のリクエストに応じて無償で配布してきた。細胞株の配布を通じて、米国、カナダ、ドイツ、オーストリア、中国などの研究者と交流が始まり、国際共同研究に発展している。

肉腫には50種類以上の組織型があるが、そのすべてについて複数の細胞株を樹立し、誰でも使えるようにしたいと考えている。そのためには国立がん研究センターだけでなく、多施設の大勢の臨床医そして研究者の協力が必要である。今年から、日本肉腫ゲノムコンソーシアムの協力を得て、全国レベルの共同研究を開始しようとしている。

「患者由来がんモデルの不在」はあらゆる希少がんが存在する基本的かつ重要な問題である。肉腫の研究で得られる経験を、他の希少がんにも応用していきたい。患者由来がんモデルを作成し共

有することで、希少がんの研究は大きく発展していこう。

【研究費など】

革新的がん医療実用化研究事業（2020-22）：がんゲノム医療の限界を克服する患者由来「希少がん」モデルを用いた研究（代表）

【文献】

1. Kondo T. Current status and perspectives of patient-derived rare cancer models. Hum Cell. 2020 Jun 14. PMID: 32537685
2. Hattori E, Oyama R, Kondo T. Systematic review of the current status of human sarcoma cell lines. Cells. 2019 Feb 13;8(2):157. PMID: 30781855
3. Pan X, Yoshida A, Kawai A, Kondo T. Current status of publicly available sarcoma cell lines for use in proteomic studies. Expert Rev Proteomics. 2016; 13(2): 227–40. PMID: 26653594

【希少がん研究分野で細胞株、ゼノグラフトを樹立した肉腫の一覧】

- | | | |
|---|--------------------------------------|--|
| 1. Alveolar soft part sarcoma | 9. Liposarcoma | 16. Rhabdomyosarcoma |
| 2. Chondrosarcoma | - myxoid | - pleomorphic |
| - dedifferentiated | - dedifferentiated | - alveolar |
| - peripheral | - pleomorphic | - spindle-cell/sclerosing |
| 3. CIC-DUX4 sarcoma | 10. Low grade fibromyxoid sarcoma | 17. Solitary fibrous tumor |
| 4. Clear cell sarcoma | 11. Malignant peripheral nerve tumor | 18. Synovial sarcoma |
| 5. Dermatofibrosarcoma protuberans | - conventional | 19. Undifferentiated pleomorphic sarcoma |
| 6. Ewing's sarcoma | - bone-origin | 20. Unclassifiable sarcoma |
| 7. Giant cell tumor | 12. Myxofibrosarcoma | |
| - tenosynovial | 13. Osteosarcoma | |
| - bone | - conventional | |
| 8. Leiomyosarcoma (conventional, bone-origin) | - extra-bone | |
| - conventional | 14. Perineurioma | |
| - bone-origin | 15. Pleomorphic sarcoma | |



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

- 1992年 岡山大学医学部卒業 分子細胞医学研究施設 細胞生物学部門
 1996年 岡山大学医学部 助手
 1998年 ミシガン大学 小児血液腫瘍学部門 博士研究員
 2000年 岡山大学医学部 助手
 2001年 国立がんセンター研究所 腫瘍プロテオミクスプロジェクト 生物学部分子生物学 室長
 2006年 国立がんセンター研究所 プロテオーム・バイオインフォマティクス・プロジェクト リーダー
 2010年 国立がん研究センター研究所 創薬プロテオーム研究分野 分野長
 2014年 国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野 分野長

シングルセル解析による難治がんの組織多様性及び治療抵抗性解明に向けた試み

岡本 康司

国立がん研究センター研究所 がん分化制御解析分野

近年、臨床検体由来のがん組織を摘出し、オルガノイド、スフェロイド等による三次元培養により、がん細胞のインビトロ培養を行う方法論の重要性が増している。これらの培養細胞は、幹細胞性や分化能等のがん細胞本来の特性を保つと考えられるが、三次元培養細胞の免疫不全マウスへの移植により、オリジナル腫瘍の組織多様性を保持しうる腫瘍モデルを構築しうる。がんの組織多様性は、がん微小環境における細胞ネットワーク形成を介して、その治療抵抗性と密接な関係にあると考えられる。そこで我々のグループでは、ヒト大腸がんのマウス移植腫瘍をモデルとして用い、シングルセル解析によるがん組織多様性の解析を行っている。大腸がん組織中の LGR5 がん幹細胞マーカー陽性の細胞の解析を行った所、増殖の遅い休止型と増殖型のがん幹細胞に層別化された。Camptothecin 投与後の残存細胞の解析により、休止型がん幹細胞は抗がん剤抵抗性を示す事が示された。さらに、休止型がん幹細胞に特異的に発現する遺伝子群が同定されたが、これらの特異的遺伝子群の1つである PROX1 をノックアウトした移植腫瘍においては、抗がん剤抵抗性細胞の再増殖が抑制される事が示された。これらの所見より、休止型がん幹細胞は大腸がんの治療抵抗性と密接に関連する事が示唆された。現在、これらの細胞を標的とした治療法構築に向けた解析を行っている。又、卵巣がん臨床検体を対象とした、シングルセル解析を用いた解析についても、発表する。

【文献】

1. 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. in press.*
2. 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 Reports* 28, 1282–1295, 2019.
3. 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 Reports* 19, 981–994, 2017
4. 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
5. 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
6. Ohata H, Ishiguro T, Aihara Y, Sato A, Sakai H, Sekine S, Taniguchi H, Akasu T, Fujita S, Nakagama H, Okamoto K. Induction of the stem-like cell regulator CD44 by Rho kinase inhibition contributes to the maintenance of colon can-

cer-initiating cells. *Cancer Res.* 72, 5101–5110, 2012

7. Okamoto K, Ishiguro T, Midorikawa Y, Ohata H, Izumiya M, Tsuchiya N, Sato A, Sakai H, Nakagama H. miR-493 induction during carcinogenesis blocks metastatic settlement of colon cancer cells in liver. *EMBO J.* 31, 1752–1763, 2012



岡本 康司

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

-
- 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

男性・女性がんの患者由来がん 三次元培養・移植モデルと病態解明への応用

井上 聡

東京都健康長寿医療センター研究所 老化機構システム加齢医学
埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター

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、患者由来の腫瘍組織より、がん細胞培養と、そこからマウスへ移植して腫瘍形成させるシステムが注目されている。我々は、男性がん、また泌尿器がんと女性がんについて患者由来がん細胞 (patient-derived cancer cells: PDC) 培養とがん移植モデル (patient-derived xenografts: PDX) を樹立し、がんの病態の解明や新たな治療標的の探索、治療モデルとしての活用、患者の個性に合わせた精密医療への応用を目指している。本講演では、男性がんの代表として精巣腫瘍を、女性がんの代表として婦人科がんである子宮内膜がんを取り上げて、現在の研究成果について報告する。

精巣腫瘍は希少がんながら若年成人男性で最多の悪性腫瘍である。依然として難治例が存在し、その克服が臨床上の最重要課題である。精巣がん細胞の三次元培養を行い、長期培養可能な精巣がん PDC を複数確立した。これら PDC は、複数のがん幹細胞様細胞マーカーを高発現し、超免疫不全マウスへの異種移植において患者腫瘍の病理組織学的特徴を模倣する腫瘍を形成した。また、低酸素応答関連遺伝子群の発現が上昇し、実際に低酸素蛍光プローブを用いてスフェロイド中央部の低酸素状態を観察した。低酸素誘導に関わる転写因子 HIF-1 α に対する阻害作用をもつ 2-methoxyestradiol は、精巣がん PDC の増殖・スフェロイド形成と、マウスでの移植腫瘍形成を低下させ、PDC と移植腫瘍における低酸素シグナルを担う NRN1 遺伝子の発現を抑制した。

一方で、子宮内膜がんは、本邦でも患者数・死亡者数が増加し、対策が課題となっている。子宮内膜がんの多くは女性ホルモンと関連しており、がん細胞に対するホルモン作用の解析が必要とされる。しかしながら、ホルモン受容体の発現を維持した状態で継代培養できる細胞株は乏しく、実臨床に近いモデルが待ち望まれていた。我々は子宮内膜がん患者の組織から PDC とそれを超免疫不全マウスに移植した PDX モデルを複数樹立し検討した。いくつかの PDC において性ホルモン受容体の発現が保たれ、性ホルモン依存性の細胞増殖と遺伝子発現変化が観察された。スフェロイド形成能と細胞増殖性を低下させる薬剤も見出しており、ホルモン応答性と薬剤反応性のがん病態解析モデルとして役立つとされる。以上のように、がん三次元培養系は実臨床におけるがん病態に近い実験系として、病態の解明ならびに新たな診断・治療法の開発に役立つとともに、精密医療への応用が期待される。

【文献】

1. Namekawa T, Kitayama S, Ikeda K, Horie-Inoue K, Suzuki T, Okamoto K, Ichikawa T, Yano A, Kawakami S, Inoue S: HIF1 α inhibitor 2-methoxyestradiol decreases NRN1 expression and represses in vivo and in vitro growth of patient-derived testicular germ cell tumor spheroids. *Cancer Lett* 89: 79–86, 2020.
2. Namekawa T, Ikeda K, Horie-Inoue K, Suzuki T, Okamoto K, Ichikawa T, Yano A, Kawakami S, Inoue S: ALDH1A1 in patient-derived bladder cancer spheroids activates retinoic acid signaling leading to TUBB3 overexpression and tumor progression. *Int J Cancer* 146: 1099–1113, 2020
3. 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
4. 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: 1895–1906, and **Highlighted** in “eNews”.
5. Takayama K, 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, 2018
6. 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研究所老化機構システム加齢医学
埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

東京大学医学部医学科卒、東京大学医学部附属病院で内科研修後、同病院老年病科に入局。女性ホルモンに関する研究で博士号取得。その後、米国ソーク研究所に留学してがんと核内受容体研究（Ron Evans 研究室）。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・特任教授を経て、現在は、東京都健康長寿医療センター研究所・老化機構・システム加齢医学・研究部長。東京大学健康長寿医学・連携教授、埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 客員教授、日本大学医学部客員教授などを兼務。がんと老化・老年病・加齢性疾患に関して、ホルモンおよび代謝の研究を基盤として取り組んでいる。

乳がん患者由来がん三次元培養から がん幹細胞の不均一性に迫る

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

乳がんは、女性の罹患数が最も多いがんであり、近年益々増加、今や日本人女性 11 人に一人が一生に一回乳がん罹患する。乳がんの約 15% を占めるトリプルネガティブタイプは、再発や治療抵抗性のため予後が悪い。近年、がん組織は、少数の幹細胞性をもつがん細胞（いわゆるがん幹細胞）を頂点としたヒエラルキーを構成する極めて不均一な細胞集団からなり、このがん幹細胞が通常の治療に抵抗性で、再発の温床となることがわかっている。がん幹細胞を濃縮することはできるが、未だ 1 細胞のレベルまで純化されておらず、ヒエラルキーの頂点にあると考えられる親玉がん幹細胞の実体は不明である。親玉がん幹細胞の特徴がわかってくれば、そのアキレス腱となる分子を標的とした治療が可能になる。

私どもは、乳がん臨床検体由来の初代培養細胞を用いて、がん幹細胞を濃縮できるスフェロイド培養の系と、がん細胞を免疫不全マウスに移植した patient-derived xenograft (PDX) モデルを構築している。これらを用いた解析した結果、がん幹細胞を取り巻く腫瘍微小環境、いわゆる「がん幹細胞ニッチ」にある通常のがん細胞がサイトカインの一つセマフォリンを産生し、がん幹細胞特異的に発現する受容体ニューロピリン 1 (NP1) に結合して、がん幹細胞の対称性分裂を促進することを見いだした。セマフォリン-NP1 シグナルの下流では、がん幹細胞内で細胞内分子 MICAL3 が活性化される。この MICAL3 の分子内モノオキシゲナーゼの活性化が、がん幹細胞が対称性分裂を起こすために重要であることがわかった。また、insulin like growth factor 1 (IGF1R) も、がん幹細胞特異的に発現することを示してきた。

がん幹細胞ニッチとがん幹細胞は様々なサイトカインの産生を介して相互作用を行い、「がん幹細胞エコシステム」を構築している。がん三次元培養は、患者のがん組織由来のがん細胞に、サイトカインのカクテルを加えて培養することにより、がん幹細胞エコシステムを模倣することができる。この系を用いてシングルセル解析を行い、がん幹細胞のヒエラルキーの頂点にある親玉がん幹細胞を見出し、その特徴をとらえようと考えている。

【学会賞など】

- 1998 年 Human Frontier Science Program Organization (HFSP), Long Term Fellowship
- 1999 年 上原記念生命科学財団 長期フェロウシップ
- 2006 年 ノバルティス科学振興財団 研究奨励金
- 2007 年 内藤記念科学振興財団 研究助成金
- 2018 年 高松宮妃癌研究基金 研究助成金

【文献】

1. Murayama T, Gotoh N.: Patient-derived xenograft models of breast cancer and their application. *Cells*, 8, E621, 2019.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Hinorara K, Kobayashi S, Kanauchi H, Shimizu S, Nishioka K, Tsuji E, Tada K, Umezawa K, Mori M, Ogawa T, Inoue J, Tojo A. & Gotoh N.: ErbB/NF- κ B signaling controls mammosphere formation in human breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 109, 6584–6589, 2012.



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 金沢大学がん進展制御研究所教授 (分子病態研究分野)

鶏卵モデル確立の変遷

遠藤 良夫

金沢大学がん進展制御研究所

細胞生物学および分子生物学的研究技術が著しく発展した現在においても、がんの特性を明らかにし、優れた治療法を開発・確立するためには、がんの移植実験モデルは必要不可欠である。今日、患者由来のヒトのがん細胞や組織を免疫不全マウスに移植する実験系である Patient Derived Tumor Xenograft (PDX) モデルは、遺伝子改変技術の画期的な進歩を背景に、超免疫不全マウスなどの新しい宿主マウスが次々と開発され、抗がん剤の開発や個別化医療の研究分野において積極的に応用されるようになった。免疫系が未熟な鳥類の受精卵を動物組織の移植実験に用いる研究は、Rous (肉腫ウイルスの発見者) がニワトリの肉腫を受精卵 (発育鶏卵) の胚子 (鶏胚) に移植可能であることを発見したことにはじまる。Rous とともに研究を行っていた Murphy はマウスやラットの腫瘍のみならず、ヒトの肉腫が鶏胚に生着することを発見した。実に、今から 100 年前 (1910 年) のことである。その後、多くの研究者によりヒトを含めマウスやラットなどの様々な腫瘍の移植実験が行われ、1940 年代後半になると、転移実験にも発育鶏卵が用いられるようになった。移植免疫についての学問的裏付けがほとんどなかった 1900 年代初頭のがん研究においても、ヒトのがんを生体に近い状態で保存し、がん細胞が示す増殖性、転移や浸潤などの特有の生物現象を如何に再現するかが、最も重大な課題であった。そのような時代にあって、Murphy らの研究は、まさにヒト腫瘍の基礎研究の道を拓くものであった。1980 年代に入ると、我が国においても、患者由来の腫瘍を発育鶏卵に移植し、抗がん剤に対する感受性を評価する実験系の確立を目指した研究が行われるようになった。我々は 1990 年に鶏胚の肝臓や肺に転移したヒト腫瘍細胞を PCR により検出・定量する方法を報告して以来、様々なヒト腫瘍の転移能の評価や転移機構の解明研究にこの実験系を応用してきた。

本講演会では、異種移植の宿主としてヌードマウスよりも古い歴史を持つ発育鶏卵を用いる移植実験モデルについて、我々の知見も含めて紹介させていただきたい。

【文献】

1. Endo Y, Sasaki T, Harada F, Noguchi M. Specific detection of metastasized human tumor cells in embryonic chicks by the polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res.* Aug; 81(8): 723–6, 1990.
2. 遠藤良夫, 佐々木琢磨: “癌の悪性化と転移” 清木元治編, pp174–183, 中外医学社, 1993.
3. 遠藤良夫, 野口美香, 佐々木琢磨: 実験医学 (増刊) 12: 188–195, 1994.
4. 遠藤良夫, 佐々木琢磨: 日本臨床 (11月増刊号), 6 (Supple 8), 49-54, 2003.
5. 玉野井冬彦, 遠藤良夫, 宇都義浩, 楠橋由貴, 二若真菜, 松本光太郎: がんの個別化医療を切り拓く鶏卵モデル (Next Tech Review). *実験医学*, Jan; 37(1): 88–92, 2019.
6. Yoshio Endo: The history of the development of chick embryo tumor xenograft models. In “Chick Chorioallantoic Membrane Model and Precision Cancer Therapy,” Fuyuhiko Tamanoi (ed). *The Enzymes: ENZ Volume 46*, pp11–22, Elsevier, 22nd November 2019. <https://doi.org/10.1016/bs.enz.2019.08.005>



遠藤 良夫

金沢大学がん進展制御研究所中央実験施設 准教授

-
- 1996年 金沢大学がん研究所助手
 - 2002年 同研究所助教授
 - 2012年 同大学がん進展制御研究所准教授

腫瘍移植鶏卵モデルを用いた 癌の創薬研究と PDX モデルの開発

宇都 義浩

徳島大学大学院 社会産業理工学研究部

がんの発育鶏卵モデルは 1900 年代にはじまり、1980 年頃には我が国で先駆的な研究がなされてきたが、マウスの代替動物としての地位は未だ確立されていない。一方、欧米諸国では、マウス実験に対する厳しい規制のために発育鶏卵を用いた研究が活発に行われており、最近では、患者由来のがん組織を移植した Patient-Derived Xenograft (PDX) モデルの論文が報告されている。我々は、1998 年から開始した鶏卵漿尿膜 (CAM) 法を用いた血管新生阻害剤の創薬研究を皮切りに、2007 年以降は腫瘍移植鶏卵モデルを用いた種々の抗癌剤 / 制癌剤の創薬研究を行ってきた。本講演では以下に述べる創薬研究について概説する。

1) 抗転移剤の創製：低酸素微小環境は多くの固形腫瘍に見られる特徴であり、化学療法抵抗性、放射線療法抵抗性、血管新生、脈管形成、転移及び浸潤を引き起こす。また、セリンスレオニンキナーゼの AKT は多くのヒトがん細胞で過剰発現しており、細胞の運動、生存、アポトーシスの抵抗性、転移・浸潤等、がん細胞にとって重要な役割を持っている。そこで、低酸素サイトトキシン Tirapazamine に AKT 阻害能を付加した抗転移性低酸素サイトトキシンの創製を検討し、Tirapazamine 及び既知の AKT1/2 inhibitor をリードとして TX-2137 を設計・合成した。TX-2137 は種々の腫瘍細胞に対して強い細胞増殖阻害活性を示し、A549 細胞に対して強い低酸素細胞毒性を示した。また、AKT2 タンパク質のリン酸化を選択的に阻害し、AKT の下流標的である MMP9 産生を阻害した。さらに、腫瘍移植鶏卵モデルを用いた抗転移活性評価において、アドリアマイシンと同程度の抗転移活性を有することを明らかにした。

2) 放射線増感剤の創製：がん細胞では好気性 / 嫌気性に関わらず解糖系代謝が亢進してグルコースを多く消費する“ワールブルグ効果”に注目し、O- グリコシド結合を介してアセチルグルコースを導入したニトロイミダゾール誘導体 TX-2244 が高い放射線増感活性を示すことを明らかにした。そこで、放射線増感効果を有する上皮成長因子受容体 (EGFR) 阻害剤の Gefitinib にアセチルグルコースを修飾した誘導体 UTX-114、115、116 を設計・合成したところ、UTX-114 は Gefitinib と同等の EGFR 自己リン酸化阻害活性、高いグルコース取込み阻害活性、Gefitinib よりも強い放射線増感活性を有することを明らかにした。

3) 鶏卵 PDX モデルの開発：発育鶏卵を用いた PDX モデルの開発およびそのモデルを用いたがんの創薬研究を目標として、手術検体あるいはすでに免疫不全マウスで確立された PDX モデルの腫瘍組織を用いて移植法を検討した。転卵開始 11 日目の発育鶏卵を用いて、腫瘍組織のミンスを漿尿膜上に移植したところ、7 日後に腫瘍の形成を確認した。摘出後の HE 染色で腫瘍構造を評価したところ、鶏卵でも同じ構造が確認され、淡明型腎細胞癌及び尿路上皮癌で高い移植率を示した。また、ヒト上皮性腫瘍マーカーの CK AE1/AE3 の免疫染色によりヒト由来の腫瘍の形成が確認された。さらに、ゲムシタピン・シスプラチン併用の化学療法で効果が認められた患者さんの腫瘍を用

いて鶏卵 PDX を作製し、同様の薬剤投与を行い、増殖細胞マーカーである Ki-67 陽性細胞のカウントをしたところ、臨床での症例と同様にシスプラチンとゲムシタビンに抗腫瘍効果が認められた。

【学会賞】

2005 年 国際癌治療増感研究協会研究奨励賞

「P53 の阻害を介して正常細胞へのダメージを軽減する低酸素細胞放射線増感剤の分子設計」

2007 年 日本フリーラジカル学会学術奨励賞

「イソプレノミクスを基盤とするヒドロプレニル p-クマリン酸誘導体の分子設計と LDL 抗酸化活性」

2017 年 比較統合医療学会学会賞

「糖タンパク質由来マクロファージ活性化剤 MAF の開発」

【文献】

1. Uto Y, Abe C, Futawaka M, Yamada H, Tominaga M, Endo Y, In vivo drug screening method of radiosensitizers using tumor-bearing chick embryo, *Enzymes*, 46, 113–127, 2019.
2. Shiba I, Kouzaki R, Yamada H, Endo Y, Takino T, Sato H, Kitazato K, Kageji T, Nagahiro S, Uto Y, Design and Synthesis of Novel Anti-metastatic Hypoxic Cytotoxin TX-2137 Targeting AKT Kinase, *Anticancer Research*, 37(7), 3877–3883, 2017.



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 教授

1997 年 九州工業大学大学院情報工学研究科博士後期課程修了
1998 年 徳島大学工学部生物工学科 助手
2006 年 徳島大学大学院工学部生物工学科 助教授
2014 年 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部 教授
2017 年 徳島大学大学院社会産業理工学研究部 教授
2018 年 徳島大学産業院 教授
2018 年 株式会社藍屋久兵衛 代表取締役社長

消化器系がんと肉腫の鶏卵モデル

玉野井 冬彦、小松 葵、松本 光太郎

京都大学 高等研究院 物質-細胞統合システム拠点

ニワトリの有精卵を用いてヒトのがんを再現する鶏卵がんモデルは患者由来のサンプルを用いる簡便で有効な系として最近広く使われるようになってきた。がんのサンプルをトリの胚を覆うCAM膜上にのせると5-7日でがんを作ることができる。がんモデルとしては、マウスのモデルが広く使われているが、鶏卵モデルは高い生着率と短期間の腫瘍形成という点ですぐれている。私たちは今まで卵巣がんの手術後検体、消化器系がんの生検検体（京都大学、武藤研究室との共同実験）、患者肉腫由来のがん細胞（国立がんセンター、近藤研究室との共同研究）を用いてCAM腫瘍を形成して、生着率、できた腫瘍と元のがんとの類似性を検討した。

生着率に関しては広範ながん種でCAM腫瘍ができることが明らかになった。特に最近行った99のサンプルを用いたシステムティックな解析では60%の生着率が得られた。初期の解析によると、低分化のがんについて生着率が高いという傾向がみられる。形成されたCAM腫瘍がヒトのがんと類似な構造を持っていることを検討するためにH&E染色、抗体を用いた免疫染色、さらにゲノム解析により変異を持った遺伝子プロファイルの維持を検討した。その結果、CAM腫瘍の形成に用いた腫瘍サンプルの遺伝子プロファイルが高い頻度で維持されていることがわかった。また、この解析からCAM腫瘍が線維芽細胞、マクロファージなどを含むがんの微小環境を形成していることが明らかになった。

この研究のもう一つの目的は鶏卵にできた患者のCAM腫瘍を用いて抗癌剤感受性のテストを行うことである。一人の患者のがんを鶏卵に植えて多数のCAM腫瘍をつくり、このライブラリーを用いて抗癌剤感受性をテストすることを目指している。この方法が開発されれば、それぞれの患者に適した個別化治療（Personalized medicine）への展望が開ける。抗癌剤感受性テストを行う系として、CAM腫瘍を切り出し、バラバラにしてからオルガノイドを作る方法を最近検討している。

【学会発表など】

2020年 第18回ナノ学会大会

「量子ビームとナノ材料研究により拓ける量子ナノ医療研究」

2020年 医学と数理、第2回京大－ハイデルベルク大学－理研ワークショップ

「患者由来の鶏卵がんモデルと癌のオージェ治療」

【文献】

1. Vu BT, Shahin SA, Croissant J, Fatieiev Y, Matsumoto K, Doan, T, Yik T, Siargi S, Contreras A, Ratliff L, Jimenez CM, Raehm, L, Khashab N, Durand JO, Glackin C and Tamanoi F. (2018) Chick chorioallantoic membrane assay as an in vivo model to study the effect of nanoparticle-based anticancer drugs in ovarian cancer. *Sci Rep* **8**, 8524.
2. Komatsu A, Matsumoto K, Saito T, Muto M, Tamanoi F. (2019) Patient Derived Chicken Egg Tumor Model (PDcE Model): Current Status and Critical Issues. *Cells*. **10**; 8(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、特定教授

1977–1980 ポスドク (Harvard Medical School)
 1980–1985 コールドスプリングハーバー研究所、主任研究員
 1985–1993 シカゴ大学助教授、准教授
 1994– カリフォルニア大学、ロサンゼルス校、教授
 2017 京都大学、高等研究院、物質－細胞統合システム拠点、特定教授

患者由来がん細胞を用いた 免疫細胞による細胞傷害性アッセイ

高木 基樹

福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター
福島医大トランスレーショナルリサーチ機構

医療-産業トランスレーショナルリサーチセンターで行われている福島医薬品関連産業支援拠点化事業は、生体試料を収集・保存し、それらをそのまま研究機関等に提供する、いわゆる「バイオバンク事業」とは異なり、希少かつ微量な生体試料を、1) 情報に変換する、2) 加工して増やす（がん組織由来培養細胞や担がんマウスなど）、3) 極微量試料の解析技術を開発する（DNA マイクロアレイやタンパク質マイクロアレイなど）、ことにより最大限に活用することを目指している。さらに、これらの情報、生体由来加工試料、解析技術等を利用し、化合物の薬効・毒性評価システム開発や疾患マーカー探索にも取り組んでいる。

これらの研究の一環として、患者のがん組織を活用し、がん組織の状態を反映した抗がん剤評価モデルの開発を行っており、patient-derived tumor xenograft (PDX) モデルの作製、さらには長期培養が可能ながん組織由来培養細胞塊 (patient-derived tumor organoid, PDO) の作製を進めている。本事業における“樹立”とは、PDX では生着や維持、PDO では長期培養が可能であることに加えて、網羅的遺伝子発現解析により元のがん組織と、作製したモデルの遺伝子発現プロファイルの類似性の高さを指標に樹立の可否を判断している。現在までに、PDX モデルは 160 系統以上、PDO モデルは 90 系統以上の作製が完了している。本事業で樹立した PDX と PDO を、それぞれ F-PDX と F-PDO と名付けた。

本講演では、F-PDO と F-PDX を用いた免疫応答による細胞傷害性を検出する in vitro アッセイ系の構築について紹介する。現在、様々な腫瘍に対して、顕著な有効性を有する新規のがん免疫療法が使用されている。このため、免疫細胞と腫瘍細胞の複雑な相互作用をモデル化し、様々な免疫療法や抗体医薬の有効性を簡便かつ迅速に試験できる in vitro アッセイ法の開発が急務となっている。そこで、固形腫瘍由来 F-PDO を用いて、抗 EGFR 抗体の抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC 活性)、細胞傷害性 T リンパ球やナチュラルキラー細胞などのエフェクター細胞による細胞傷害活性の評価系を構築した。さらに、造血腫瘍由来の F-PDX を用いて、bi-specific T-cell engager による免疫応答を検出する in vitro アッセイ系を構築した。これらの結果から、F-PDO と F-PDX を用いた in vitro アッセイ系は、高い再現性と簡便なワークフローで、がん免疫に作用する抗がん剤や免疫療法の評価が可能であることを示した。今後、F-PDO や F-PDX の Tumor-on-a-Chip や共培養アッセイ系への活用を行い、がん免疫に関連する新規のアッセイ系の構築を目指している。

【文献】

1. Tamura H, Higa A, Hoshi H, Hiyama G, Takahashi N, Ryufuku M, Morisawa G, Yanagisawa Y, Ito E, Imai JI, Dobashi Y, Katahira K, Soeda S, Watanabe T, Fujimori K, Watanabe S, and Takagi M. Evaluation of anticancer agents using patient-derived tumor organoids characteristically similar to source tissues. *Oncol Rep.* 40, 635–646 (2018)
2. Takahashi N, Hoshi H, Higa A, Hiyama G, Tamura H, Ogawa M, Takagi K, Goda K, Okabe N, Muto S, Suzuki H, Shimomura K, Watanabe S, Takagi M. An in vitro system for evaluating molecular targeted drugs using lung patient-derived tumor organoids. *Cells*, 8, 481 (2019)



高木 基樹

福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター

福島医大トランスレーショナルリサーチ機構

-
- 2001年 東京大学大学院 農学生命科学科 博士後期課程修了
 2001年 東京大学 分子細胞生物学研究所 博士研究員
 2002年 株式会社ジーンケア研究所 主任研究員
 2006年 バイオ産業情報化コンソーシアム 特別研究員
 2012年 福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 准教授
 2014年-現在 福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 教授
 2020年-現在 一般財団法人福島医大トランスレーショナルリサーチ機構 副理事 (兼務)

免疫細胞療法の評価を目的として iPS 細胞由来血管内皮細胞を用いた Tumor-on-a-Chip の開発

三嶋 雄太

筑波大学医学医療系 トランスポーター医学研究センター (TMRC)
京都大学 iPS 細胞研究所

本演題では、現在開発中の免疫細胞療法の評価に用いる Tumor-on-a-Chip のデータのご紹介をさせていただきます。昨今のがん免疫療法の進歩はめざましく、「キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor: CAR) T 細胞」を用いた細胞治療は、血液がんの領域において明らかな有効性を示す治療法として、「免疫チェックポイント阻害剤」と並び、がん治療における第 4 の柱としてその存在感を増しています。しかしながら、固形がんに対する CAR-T 細胞をはじめとした養子免疫療法の効果は限定的であり、現在も多くの製薬企業やバイオテック企業が開発競争を行なっている状況です。固形がんは標的がシングルセルである血液がんと異なり、集団として 3 次元組織を構成しており、免疫抑制性のあるがん微小環境を構築していると考えられています。そのため、固形がんに対する T 細胞療法の検討を可能にする 3 次元モデルが求められています。

固形がんにおいて免疫細胞が治療効果を発揮するためには T 細胞が標的局所へ遊走、浸潤し、抗原と接触して刺激を受け、維持され、免疫抑制環境に負けずに傷害活性を示さなければなりません。激化する開発競争においては、上記の様々な障壁をクリアするために CAR-T 細胞に同時にサイトカイン放出や改変受容体によるスイッチング機構を導入する試みが行われています。キメラ抗原受容体そのものに工夫をしてゆく方向性もあり、それらの組み合わせにより、検証したい細胞製品の候補はかなりのものになります。非臨床試験データとして、担がんマウスを使ったデータは必要であるのが現状ですが、時間と費用がかかるため、その前に最終的な製品に取り入れる技術要素を絞り込むプロセスが今後さらに求められてくると考えられます。また、担がんマウスを使ったデータでは、がんの退縮や、個体の生存率、担がん組織を摘出してワンポイントで行う免疫組織染色などの限られた情報しか得られず、例えば遊走や浸潤、標的傷害作用の向上を目指して導入した技術要素をより詳細に検証するには制限があります。

そこで我々は、がんスフェロイドと血管内皮細胞をマイクロデバイス上で接続し、顕微鏡下で観察できる Tumor-on-a-Chip の開発をしています。これまでに血管内皮細胞として HUVEC を用いた Tumor-on-a-Chip は開発されていましたが、免疫細胞の評価に使うにあたっては、他人の細胞である HUVEC の HLA のミスマッチによる影響を排除できないため、血管との相互作用を正しく観察できない可能性がありました。そこで評価する T 細胞と同じドナー由来の iPS 細胞から分化誘導した血管内皮細胞 (iPSC-EC) を使用して autologous な血管網を備えた Tumor-on-a-Chip を構築することに成功しました。さらに評価系としての拡張性を考え、HLA を発現しないように遺伝子改変した iPS 細胞由来血管内皮細胞 (iPSC-EC HLA KO) を用いることで、他人の細胞由来であっても、アロ反応を回避しながら T 細胞評価を行えるシステムを構築することができました。このマイクロデバイスと共焦点顕微鏡による 3 次元解析により実際に CAR-T を導入した細胞で評価を行い、CAR の導入によりがんスフェロイドに対する浸潤度を定量化することができました。また、細胞傷害性や、血管とがんスフェロイドの接触面における T 細胞の挙動のタイムラプス観察など、これまで得ることができなかった情報が取得可能になりました。今回ご紹介するシステムは、固形が

んにおける評価モデルとしての応用に限らず、固形がんに対する T 細胞の抗腫瘍機序を詳細に理解する基礎研究にも有用なツールであると考えています。

【学会賞など】

- 2019年11月 CiRA International Symposium 2019, Best poster award
- 2013年6月 上原記念生命科学財団 海外留学助成ポストドクトラルフェローシップ
- 2013年3月 千葉大学大学院 医学薬学府長賞（首席）
- 2012年12月 千葉大学 G-COE プログラム Annual Best Research Award
- 2012年3月 日本薬学会 優秀発表賞（第13回 Pharmaco-hematology シンポジウム）
- 2012年3月 日本薬学会 学生優秀発表賞（日本薬学会 132 年会）
- 2011年7月 日本血液学会 学術奨励賞（第71回 日本血液学会学術集会）

【文献】

1. Developing thymus-on-a-chip and cancer-on-a-chip for cancer immunotherapy
Yu-suke Torisawa, **Yuta Mishima**, Shin Kaneko
Impact 3 2019
2. Histone acetylation mediated by Brd1 is crucial for Cd8 gene activation during early thymocyte development
Yuta Mishima, Changshan Wang, Satoru Miyagi, Atsunori Saraya, Hiroyuki Hosokawa, Makiko Mochizuki-Kashio, Yaeko Nakajima-Takagi, Shuhei Koide, Masamitsu Negishi, Goro Sashida, Taku Naito, Tomoyuki Ishikura, Atsushi Onodera, Toshinori Nakayama, Daniel G. Tenen, Naoto Yamaguchi, Haruhiko Koseki, Ichiro Taniuchi, Atsushi Iwama
Nature Communications 5 12 2014
3. Dependency on the polycomb gene Ezh2 distinguishes fetal from adult hematopoietic stem cells
Makiko Mochizuki-Kashio, **Yuta Mishima**, Satoru Miyagi, Masamitsu Negishi, Atsunori Saraya, Takaaki Konuma, Jun Shinga, Haruhiko Koseki, Atsushi Iwama
Blood 118(25) 6553–6561 12 2011
4. The Hbo1-Brd1/Brpf2 complex is responsible for global acetylation of H3K14 and required for fetal liver erythropoiesis
Yuta Mishima, Satoru Miyagi, Atsunori Saraya, Masamitsu Negishi, Mitsuhiro Endoh, Takaho A. Endo, Tetsuro Toyoda, Jun Shinga, Takuo Katsumoto, Tetsuhiro Chiba, Naoto Yamaguchi, Issay Kitabayashi, Haruhiko Koseki, Atsushi Iwama
Blood 118(9) 2443–2453 9 2011



三嶋 雄太

筑波大学医学医療系 トランスボーダー医学研究センター
(TMRC) 助教／京都大学 iPS 細胞研究所 研究員

- 2020年3月 筑波大学 医学医療系 トランスボーダー医学研究センター (TMRC) 助教
 - 2017年4月 京都大学 iPS 細胞研究所 特定研究員／湘南分室 Cell Therapy 金子研究室グループ長 (T-CiRA KanekoPJ Sub-PI)
 - 2016年4月 日本学術振興会 特別研究員 (PD)
 - 2015年6月 京都大学 iPS 細胞研究所 特定研究員
 - 2013年6月 ハーバード大学医学部 ベイスラエルディーコネス医療センター 血液／腫瘍講座 リサーチフェロー
 - 2013年4月 千葉大学 医学研究院 先端部門高次機能治療学研究講座 特任研究員
- LinkedIn: <https://www.linkedin.com/in/yutamishima/>
researchmap: <https://researchmap.jp/yutamishima/>

イメージングによる三次元細胞モデルの解析

石原 弘也

オリンパス株式会社 生体評価基盤技術

近年がんスフェロイドやオルガノイドといった三次元細胞塊の作製技術と、それを用いた薬剤評価系が注目を浴びている。三次元細胞塊は生体の複雑な微小環境を *in vitro* で再現することが出来るため、生体反応に近い薬剤評価が可能である。特にがん研究や再生医療研究の分野では三次元細胞集塊の開発・利用が進んでおり、比較的均一な培養細胞株を集塊化することによって得られるモデルから、多能性幹細胞由来や患者組織由来の細胞からなる複雑で高度な機能を有するモデルへと拡がりを見せつつある⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾。三次元細胞集塊は、様々な特徴を示す細胞が立体的な構造体を形成しており、集塊の中で医薬品が真にターゲットとするような細胞からの情報を高い精度で定量化する方法が求められる。そこで我々は、三次元細胞塊中のヘテロな細胞集団の振る舞いを理解する、スクリーニング向けの新たな細胞解析技術として、三次元細胞解析ソフトウェア NoviSight™ を開発した。本発表では、共焦点レーザー走査顕微鏡 FV3000 で得られた画像を NoviSight™ で解析することによって、三次元細胞塊の 1 細胞レベルでの細胞解析と薬剤評価を可能にした三次元細胞解析プラットフォームを紹介する。

【三次元解析プラットフォーム】

細胞集塊中の個々の細胞を三次元的にイメージングするためには深部観察技術が必要になる。共焦点レーザー走査顕微鏡 FV3000 による高精細な撮像技術と、オリンパス独自の高開口数対物レンズや透明化試薬を組み合わせることによって、より深部の観察が実現できる。また、開発した三次元細胞解析ソフトウェア NoviSight™ は、細胞集塊内部の空間的な局在を認識、定量化するに留まらず、ヒートマップ表示やバッチ処理機能を有しているため、複数のサンプルに対して直感的な解析操作が可能になっている。この解析プラットフォームを利用することで腫瘍内部の細胞の振る舞いの理解が進み、がん研究を加速させることが期待できる。

【患者由来がんオルガノイド (F-PDO) の形態解析】

福島県立医科大学が提供する患者由来肺癌オルガノイドについて、NoviSight™ による形態解析を実施した。NoviSight™ では核染色や抗体染色などのシグナルを元に、オルガノイドの体積や細胞数、特異的シグナルを定量化することができる。これにより、オルガノイド中の増殖細胞の部位や割合、細胞密度、蛍光ラベルした抗体医薬の評価などを三次元的に行うことができた。

【Tumor-on-a-Chip を用いた T 細胞浸潤解析】

京都大学では、がんスフェロイドと iPS 細胞由来の血管内皮細胞を共培養し、人工的な血管ネットワークを形成させて、免疫細胞が血管を通過して移動できるようにした Tumor-on-a-chip マイクロシステムを開発している。このシステムを用いて、がんスフェロイドと T 細胞などの免疫細胞との相互作用について、NoviSight™ による定量解析を行った。その結果、スフェロイド内に浸潤した T 細胞を三次元的に抽出し、浸潤率などの算出を行うことができた。

【学会賞など】

- 2015年 新学術領域環境記憶統合若手の会 優秀賞
「Analysis of epigenetic factors involved in de novo shoot regeneration」
- 2016年 千葉県私立学校知事賞
- 2017年 Tiwan-Japan 2017 Plan Biology Conference Presentation Award
「Aquisition of shoot regenerative competency is regulated by histone demethylation in Arabidopsis」
- 2019年 植物形態学会 平瀬賞
「Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency」

【文献】

1. Dutta D, Heo I, Clevers H. Disease Modeling in Stem Cell-Derived 3D Organoid Systems. Trends Mol Med. 2017; 23(5): 393–410.
2. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, Lampis A, Eason K, Huntingford I, Burke R, Rata M, Koh D, Tunariu N, Collins N, Hulkki-Wilson S, Ragulan C, Spiteri I, Moorcraft S, Chau I, Rao S, Watkins D, Fotiadis N, Bali M, Darvish-Damavandi M, Lote H, Eltahir Z, Smyth E, Begum R, Clarke P, Hahne J, Dowsett M, Bono J, Workman P, Sadanandam A, Fassan M, Sansom O, Eccles S, Starling N, Braconi C, Sottoriva A, Robinson S, Cunningham D, Valeri N. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. Science. 2018: 920–926.
3. Tamura H, Higa A, Hoshi H, Hiyama G, Takahashi N, Ryufuku M, Morisawa G, Yanagisawa Y, Ito E, Imai J, Dobashi Y, Kitahira K, Soeda S, Watanabe T, Fujimori K, Wanatabe S, Takagi M. Evaluation of anticancer agents using patient-derived tumor organoids characteristically similar to source tissues. Oncol Rep. 2018; 40(2): 635–646.



石原 弘也

オリンパス株式会社 生体評価基盤技術

2018年 東京理科大学 理工学研究科 応用生物科学専攻 修了

2018年 オリンパス株式会社 生体評価基盤技術 入社

LinkedIn: <https://www.linkedin.com/in/hiroyaishihara/>

AIによる細胞内遺伝子ネットワーク解析

玉田 嘉紀

京都大学大学院 医学研究科人間健康科学系専攻ビッグデータ医科学分野

遺伝子ネットワークとは、細胞内における遺伝子間の発現の依存関係を、遺伝子を表す点とそれを結ぶ矢印（エッジ）で表現したものである。著者は、人工知能（Artificial Intelligence: AI）技術を用いて、マイクロアレイやRNA-Seqで計測される遺伝子発現データから、この遺伝子ネットワークを解き明かす研究を行っている。個人ごとやがんの種類ごとに、あるいは細胞ごとにこの遺伝子ネットワークは異なっており、これを解明することは、がんの機序解明や個人に応じた治療法の開発、さらには新規薬剤標的遺伝子の発見に有効であると考えられている。

一般に、AIは大量のデータから計算機が自動的にルールや特徴を学習することで、人間によらず病気の診断や分類を可能にするものであるが、機械による判断理由を人間が理解することが困難という欠点がある。医療への応用を考えた時、この性質は好ましいものではない。したがって人間が解釈可能なAIを用いた方法の研究も進んでおり、それらは「explainable（説明可能）AI」と呼ばれている。著者らは遺伝子ネットワーク解析にベイジアンネットワークを用いており、これは説明可能AIの一つである。ベイジアンネットワークは多変量の統計モデルでもあり、確率変数間の条件付き独立性を考えることで、多変量同時確率が直感的に理解可能なネットワークとして表現されるものである。これを遺伝子発現データの解析に応用したものがベイジアンネットワークによる遺伝子ネットワーク推定・解析で、遺伝子発現データから遺伝子発現の関係性がネットワークとして分かりやすく示されるのが特徴となっている。

このような統計モデルによる解析は、一般に特定の集団に対する共通の特徴を機械によって学習させるものであるため、個人ごとのデータの解析に用いることはできない。またベイジアンネットワークを用いた遺伝子ネットワーク解析はヒト全遺伝子に適用可能であるが巨大な毛玉のようなネットワークが得られるため、そこから重要な部分を抽出することが難しいという欠点があった。著者らは最近になってベイジアンネットワークを用いて個人ごと、あるいはサンプルごとに遺伝子ネットワークを定量化する方法を開発した。これを応用することで巨大なネットワークから特定のサンプル間で違いのある重要な部分ネットワークを抽出することができるようになった。またネットワーク構造を利用することで、大量のデータを必要とせず、個人ごと、あるいはサンプルごとの遺伝子ネットワークの違いを説明することが可能になった。本講演では本手法とそれを肺がんデータへと適用し有用性の検証を行った以下の解析事例を紹介する [文献2]。

使用したデータは肺がんモデル細胞株へのTGFβ投与により上皮間葉転換（EMT）を誘導した18サンプルの公開されている遺伝子発現データである。まず、このデータセットからベイジアンネットワークを用いて遺伝子ネットワークを推定した。ここで得られるのは15万エッジからなる巨大なネットワークである。次に、controlとTGFβ投与サンプル間でのサンプルごとの遺伝子ネットワークの比較により、TGFβ投与によって変化した150遺伝子411エッジからなる遺伝子ネットワークを同定した。この遺伝子ネットワークをThe Cancer Genome Atlas（TCGA）が提供している肺がん患者データに適用し、個人ごとにネットワークを数量化しクラスタリング解析を行ったとこ

ろ、大きく2群に別れ、この2群で生存時間に有意な差が生じることが確認できた。EMTはがん転移に重要であると考えられていることから、開発した新手法により同定した遺伝子ネットワークが、患者個人ごとのEMT遺伝子ネットワークの違いを特徴付けることができていると示唆される結果となった。

【文献】

1. Tanaka, Y., Higashihara, K., Nakazawa, M.A., Yamashita, F., Tamada, Y., Okuno, Y., Dynamic change of gene-to-gene regulatory networks in response to SARS-CoV-2 infection, *arXiv*, 2008.09261, 2020.
2. Tanaka, Y., Tamada, Y., Ikeguchi, M., Yamashita, F., Okuno, Y., System-based differential gene network analysis for characterizing a sample-specific subnetwork, *Biomolecules*, 10(2), 306, 2020.
3. Kasajima, R., Yamaguchi, R., Shimizu, E., Tamada, Y., Niida, A., Tremmel, G., Kishida, T., Aoki, I., Imoto, S., Miyano, S., Uemura, H., Miyagi, Y. Variant analysis of prostate cancer in Japanese patients and a new attempt to predict related biological pathways, *Oncology Reports*, 43 (3), 943–952, 2020.
4. Arima, C., Kajino, T., Tamada, Y., Imoto, S., Shimada, Y., Nakatochi, M., Suzuki, M., Isomura, H., Yatabe, Y., Yamaguchi, T., Yanagisawa, K., Miyano, S., Takahashi, T., Lung adenocarcinoma subtypes definable by lung development-related miRNA expression profiles in association with clinicopathologic features, *Carcinogenesis*, 35 (10), 2224–2231, 2014.



玉田 嘉紀

京都大学大学院医学研究科

人間健康科学系専攻ビッグデータ医科学分野 特定准教授

2005年 京都大学大学院情報学研究科 修了博士（情報学）

2005年 統計数理研究所 助手

2018年 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター 特任助教

2011年 東京大学大学院情報理工学系研究科 助教

2016年 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター 特任講師

2018年 京都大学大学院医学研究科 特定准教授

細胞外マトリックス工学による腫瘍間質の再構築

松崎 典弥

大阪大学大学院 工学研究科

難治性の膵臓がんは、早期発見が難しく、高い浸潤性・転移性を有するため外科治療が困難である。現在、抗がん剤投与だけでなく、ドラッグデリバリーシステムによる化学療法が研究されているが、顕著な効果は示されていない。これは、がん組織の周辺に間質（線維）組織が豊富に存在し、毛細血管はその線維組織内に存在するため、血管からの薬物送達が困難なためと考えられている。そこで、有効な化学療法を実現するためには、評価のため膵臓がん間質組織の微小環境を再現したモデルが必要であるが、動物モデルは再現性に乏しく、ヒトとの種差も課題である。また、生体外でがん細胞と線維芽細胞の二次元共培養やスフェロイドによる三次元培養も報告されているが、実際の膵臓がんの構造と性質を反映させることは難しい。そこで、生体外で膵がん組織・線維組織・毛細血管網の三次元構造を再構築した膵臓がんモデルを構築できれば、薬効試験に有用である。

我々は、細胞表面に細胞外マトリックス（ECM）のナノ薄膜を形成することで細胞間の接着を制御して三次元組織体を構築可能な「細胞集積法」を考案した¹⁾。本手法で作製した線維組織・毛細血管・リンパ管様網を有する三次元組織体に膵がん細胞を播種することで、がん細胞の性質に応じた浸潤性、血行性・リンパ行性転移の挙動を再現可能であることを見出した。更に、開口型の毛細血管様網構造を作製することで、血管から線維組織へのがん細胞の浸潤が可能であるだけでなく、毛細血管を介して抗がん剤を浸潤がん細胞へ送達し、がん細胞の体積縮退評価へ応用可能であることを明らかにした（図1）²⁾。

より発達したがん間質組織を構築するためにはコラーゲン線維の濃度を上げる必要がある。しかし、コラーゲンは水溶性に乏しいため高濃度のゲルを作製することができなかった。そこで、我々は、細胞と同等サイズのコラーゲンを一緒に組織化させることで、細胞が均一に分散し、かつコラーゲンの高濃度化が実現できるのでは、と考え、新しい培養方法として沈殿培養法を考案した³⁾。具体的には、100~200 μmのコラーゲンマイクロファイバーと細胞を均一に分散し、遠心により組織化して培養する手法である。本手法により、生体の腫瘍間質と同等の50-100 kPaの圧縮弾性率を有するがん腫瘍組織を初めて作製することが可能であった。

本講演では、これらの手法を用いた患者由来がん細胞の培養と *in vitro* がんモデルの作製についても報告する。

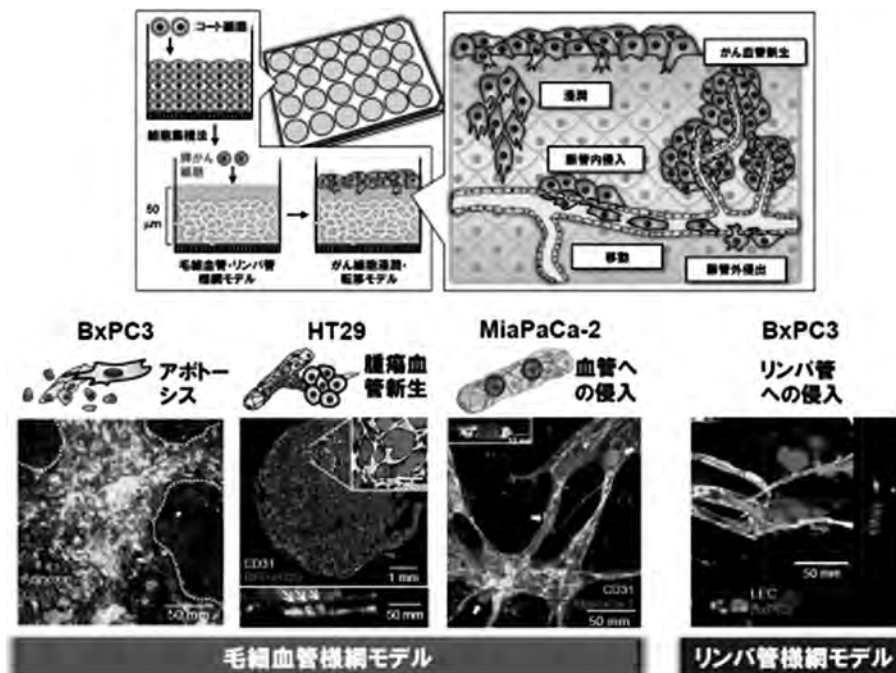


図1. がん細胞浸潤・転移実験のイメージ（上）と、がん細胞の性質による毛細血管・リンパ管様網への影響の違いのまとめ（下）。

【受賞歴】

令和2年5月29日 近畿化学協会第71回科学技術賞
 平成26年4月 平成26年度文部科学大臣表彰若手科学者賞
 平成23年3月 日本化学会第60回進歩賞
 他、合計18件

【文献】

1. A. Nishiguchi, et al., *Adv. Mater.* 23, 3506-3510 (2011).
2. A. Nishiguchi, et al., *Biomaterials* 179, 155 (2018).
3. Y. Naka et al., *Material Today Bio* 6, 100054 (2020).



松崎 典弥

大阪大学大学院工学研究科

Michiya Matsusaki received PhD degree in 2003 from Kagoshima University. In 2006, he joined Graduate School of Engineering at Osaka University as Assistant Professor and promoted to full professor in 2019. He was a JST-PRESTO researcher (Concurrent position) from 2008 to 2011 and 2015 to present. His publication is over 150 papers, total citation is 4457, and *h*-index is 38.

マイクロ流体デバイスによる血管化スフェロイドの構築と電気化学的な機能評価法の開発

梨本 裕司

東北大学 学際科学フロンティア研究所 新領域研究創成部

オルガノイドと対比される技術として、医工学分野から organ-on-a-chip と呼ばれる技術が 10 年ほど前に提唱され、認知度を増している。Organ-on-a-chip 技術では、マイクロ流体デバイスと呼ばれる微小な流路を備えたデバイス内に細胞を配置し、培養を行う。細胞と同程度のスケールの流路内で培養を行うことで、通常の培養手法で維持が難しいオートクライン、パラクラインなどのシグナルの保持が可能であり、また溶液の流れを制御することで生体内のメカニカルな環境を再現できる [1]。

がん周囲の血管網、および血管内の流れは、がん細胞の挙動に影響を与えることが広く知られている。一方、がん細胞を凝集塊として培養を行うスフェロイド培養は、固形がんを模倣するツールとして古くから用いられてきたが、流れを有する血管と統合したモデルは、殆ど報告されていなかった。我々の研究グループでは、organ-on-a-chip 技術をスフェロイド培養に適用することで、間質細胞のスフェロイドと流れを有する血管網の統合手法の開発 [2]、および腫瘍スフェロイドへの適用拡張を行ってきた [3]。

構築したスフェロイドモデルは、血管網を介し、培養液や抗がん剤などを投与することができる。本モデルを用いて、連続的な灌流によるスフェロイド内のがん細胞の増殖活性の促進、および灌流による薬剤効果の変化を確認した [3]。本デバイスを用いたスフェロイドの血管化のノウハウに関しては、動画のプロトコルをまとめて報告をしている [4]。これまでの研究においては、株化細胞（乳がん細胞 MCF-7）を用いたスフェロイドを構築し、基礎的な結果を示したが、本会で議論されるような患者由来の細胞を用いることで、より高品質の細胞を、より生体内に近い環境で評価可能となるよう、研究を展開していくと考えている。

本講演では、これまでに開発してきたスフェロイドモデル、現状の到達点を紹介するとともに、医工連携により、どのように本分野の発展に貢献が可能か、議論をさせて頂きたい。具体的には、

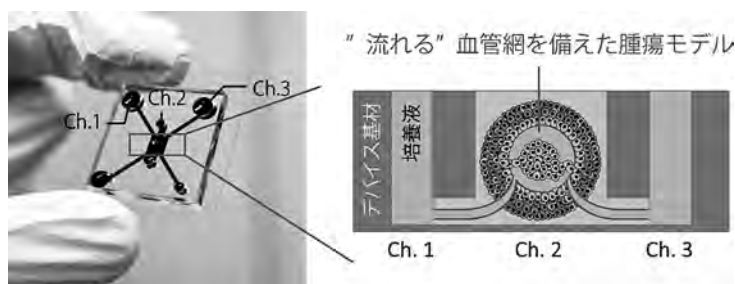


図 1: スフェロイドの血管化に利用したマイクロ流体デバイス、および腫瘍モデル模式図。

マイクロ流体デバイスを用いた生体内環境の模倣技術、およびがんモデルのセンシング技術に関して、我々の研究グループで開発したスフェロイドの酸素代謝活性、分化状態などを判定可能な電気化学デバイスの紹介を予定している [5, 6].

【学会賞】

2018年 化学とマイクロ・ナノシステム学会 若手優秀賞

「マイクロ・ナノシステムを利用した血管機能解析技術の創出」

2018年 電気学会 センサ・マイクロマシン部門 優秀論文賞

「組織の形態形成解明に資するマイクロ流体デバイス内での血管網の構築とその応用」

2015年 The 6th Japan-China-Korea MEMS/NEMS 2015, Best paper award

「Angiogenic sprouts form perfusable vascular networks inside multicellular spheroid」

【文献】

[1] A. Sontheimer- Phelps, et.al., *Nat. Rev. Cancer*, 19, 65 (2019).

[2] Y. Nashimoto, et.al., *Integrative Biology*, 9, 506–518 (2017).

[3] Y. Nashimoto, et. al., *Biomaterials*, 229, 119547 (2020).

[4] Y. Nashimoto, et.al., *Journal of Visualized Experiments*, 134 e57242 (2018).

[5] a) H. Shiku, et.al., *Analytical Chemistry*, 73, 3751–3758 (2001)., b) Y. Torisawa, et.al., *Biomaterials*, 26, 559–566 (2007)., c) R. Mukomoto, et.al., *Analyst*, in press.

[6] a) Y. Nashimoto, et.al., *ACS Nano*, 10, 6915–6922 (2016)., b) Y. Nashimoto, et.al., *Analytical Chemistry*, 91, 8772–8776 (2019).



梨本 裕司

東北大学 学際科学フロンティア研究所 助教

2015年 東北大学大学院環境科学研究科 博士後期課程 修了
 2015～2018年 京都大学工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻
 特定研究員（～2016年）、特定助教（2016～2018年）
 2016年 ミシガン大学 客員研究員
 2018年～現在 現職

簡便な腫瘍移植針の開発と効率良い患者由来腫瘍移植 (PDX) マウス樹立システムの構築

刈谷 龍昇

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター
造血・腫瘍制御学分野

腫瘍の病態解析や新規治療法の開発には、適切な動物モデルの樹立が必要不可欠である。近年、外科手術で摘出したがん患者の腫瘍組織を免疫不全マウスに直接移植して作成される PDX (Patient-Derived Xenograft) モデルが、がん患者の病態を忠実に再現したモデルとして注目されている。この PDX モデルは、がん患者の腫瘍の性質や抗がん剤に対する反応性を保持しているため、高い臨床予測性を有しており、新規がん治療薬開発への PDX モデルの活用が進められている。

動物モデルの樹立は、簡便且つ可能な限り動物に苦痛を与えない方法を用いることが望ましい。一般的に PDX モデルマウスの樹立は、麻酔下のマウスの皮膚を解剖用はさみで切開し、ピンセットにてヒト腫瘍組織塊を皮下に移植した後、縫合またはクリップにて切開部位を接着する方法が用いられている。しかしながらこの方法では、吸入麻酔器などの特別な装置を必要とすることに加え、皮膚を切開するため、マウスに大きな苦痛を与えてしまう。そこで我々は、PDX 腫瘍組織移植に適した腫瘍移植針デバイスの開発を行った。この移植針の側面には腫瘍組織塊を挿入する穴が設けられている。この側面の穴から腫瘍組織塊を充填したのち、移植針を皮下に挿入、ピストンで移植針内に充填された腫瘍塊をマウス皮下に押し出すことで皮下移植を行う。この移植針を用いた場合、マウスの皮膚には非常に小さな穴しか開かないため、マウスに対する侵襲性が極めて低く、動物愛護の観点からも非常に優れた移植デバイスである。我々はこの移植針と、PDX 樹立に適した高度免疫不全マウス BALB/c Rag-2/Jak3 KO (BRJ) マウスを用いて口腔がん、胆管がんなどの様々な PDX モデルマウスの樹立を進めている。また、PDX モデルマウスから摘出した腫瘍組織を *in vitro* で培養することで、PDX 由来腫瘍細胞株の樹立を進めている。

本講演会では、開発した腫瘍移植針デバイスの特徴及び使用法を、動画を交えて紹介する。

【学会賞など】

2014 年 文部科学省科学研究費新学術領域研究 平成 25 年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ 優秀口演賞

「生体イメージングに最適化された高度免疫不全マウス」

2017 年 KUMAMOTO Tech Planter 最優秀賞

「超免疫不全マウスが創薬研究を加速させる」

2017 年 バイオテックグランプリ 日本ユニシス賞

「超免疫不全マウスが創薬研究を加速させる」

【文献】

1. Okada S, Vaeteewoottacharn K, **Kariya R.** Application of Highly Immunocompromised Mice for the Establishment of Patient-Derived Xenograft (PDX) Models. *Cells*. 2019 Aug 13; 8(8)
2. Okada S, Vaeteewoottacharn K, **Kariya R.** Establishment of a Patient-Derived Tumor Xenograft Model and Application for Precision Cancer Medicine. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2018;66(3):225–230.
3. Gotoh K, **Kariya R.**, Matsuda K, Hattori S, Vaeteewoottacharn K, Okada S. A novel EGFP-expressing nude mice with complete loss of lymphocytes and NK cells to study tumor-host interactions. *Biosci Trends* 2014; 8(4): 202–5.
4. **Kariya R.**, Matsuda K, Gohoh K, Vaeteewoottacharn K, Hattori S, Okada S. Establishment of Nude Mice with Complete Loss of Lymphocytes and NK Cells and Application for In Vivo Bio-imaging. *In Vivo*. 2014 Sep-Oct; 28(5): 779–84.
5. Ono A, Hattori S, **Kariya R.**, Iwanaga S, Taura M, Harada H, Suzu S, Okada S. Comparative study of human hematopoietic cell engraftment into BALB/c and C57BL/6 strain of rag-2/jak3 double-deficient mice. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:539748.



刈谷 龍昇

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター
造血・腫瘍制御学分野 特任助教

2009年 神戸学院大学薬学部卒業 薬剤師免許取得
 2009年 熊本大学大学院医学教育部修士課程 入学
 2011年 同修了
 2011年 熊本大学大学院医学教育部博士課程 入学
 2015年 同修了 博士（医学）取得
 2015年 熊本大学エイズ学研究センター博士研究員
 2017年 熊本大学エイズ学研究センター特任助教
 2018年 株式会社キューオール代表取締役

患者由来腫瘍移植 (PDX) マウス作成に最適化された超免疫不全マウスの開発

岡田 誠治

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野

抗腫瘍薬開発には適切な動物モデルが必要であるが、従来のモデルは必ずしもヒトの臨床病態を反映しておらず、臨床試験に入った薬剤のうち5%程度しか認可されていない。患者腫瘍移植モデル (Patient-derived tumor xenograft: PDX) は、患者腫瘍を免疫不全マウスに移植したモデルであり、ヒト腫瘍の特性を維持しているため、個別化医療への活用が期待されている。実際、PDX モデルを用いて前臨床試験を行うことで薬剤の治療効果の予測能が80%以上に上昇したとの報告がある。

PDX の作成には、ヒト腫瘍細胞が生着可能な高度免疫不全マウスが必要であるが、近年様々な高度免疫不全マウスが樹立され、その樹立効率が比較的改善した (文献2)。特に NOD/Scid マウスをベースに作られた NOD/Scid/common γ 鎖欠損 (NOG/NSG) マウス及び NOD/Scid/Jak3 欠損マウス (NOJ マウス) は、①リンパ球欠損、②NK 細胞欠損、③補体欠損、④マクロファージ Sirpa によるヒト CD47 の認識、⑤樹状細胞の機能障害、等の複合的免疫不全状態を示すため、現時点でヒト細胞の移植には最も適したマウスである。一方、これらのマウスは、繁殖が困難で放射線や抗腫瘍薬への耐性が弱いなどの欠点もある。私達は、BALB/c マウスをベースに Rag-2/Jak3 二重欠損マウス (BRJ マウス) を作成した。BRJ マウスは、リンパ球と NK 細胞が欠損しているばかりでなく、長命でストレスに強く飼育繁殖が容易という長所を有している。胆管細胞癌及び口腔癌では、BRJ マウスを用いることで効率良い PDX 樹立が可能であった。また、GFP を発現する BRJ マウス (G-BRJ マウス) を用いて PDX を作成すると GFP 発現によりヒト由来の腫瘍細胞とマウス由来の腫瘍微小環境の明確な区別が可能である。そのため、作成した PDX からの細胞株樹立が容易となる。

BR マウス及び G-BRJ マウスを用いる事で、ヒト固形腫瘍から PDX 及び PDX 由来細胞株を効率良く樹立するシステムを構築した。同一患者由来の PDX と細胞株は、新規治療法開発に極めて有用であり、今後、個別医療への貢献を目指して、様々な腫瘍の PDX 及び細胞株ライブラリーを構築する予定である。

記：BRJ マウス及び G-BRJ マウスは、共同研究などにより熊本大学から供給可能です。

【学会賞など】

2017 年 熊本大学教育活動表彰 一般表彰

「ダブルディグリープログラム (DDP) 制度構築への貢献」

2010 年 日本白血病研究基金一般研究賞

「ヒト白血病モデルマウスを用いた生体イメージングによる治療評価システムの樹立」

2000 年 むのはな同窓会学術賞「転写因子 c-Fos による血液細胞の機能制御」

1993 年 日本血液学会奨励賞「高度に純化されたマウス血液幹細胞の機能解析」

【文献】

1. Sripa B, Seubwai W, Vaeteewoottacharn K, Sawanyawisuth K, Silsirivanit A, Kaewkong W, Muisuk K, Dana P, Phoomak C, Lert-Itthiporn W, Luvira V, Pairojkul C, Teh BT, Wongkham S, *Okada S, *Chamgramol Y. Functional and genetic characterization of three cell lines derived from a single tumor of an *Opisthorchis viverrini*-associated cholangiocarcinoma patient. *Human Cells* 33(3): 695–708, 2020 doi: 10.1007/s13577-020-00334-w
2. *Okada S, Vaeteewoottacharn K, Kariya R. Application of Highly Immunocompromised Mice for the Establishment of Patient-Derived Xenograft (PDX) Models. *Cells*. 13; 8(8). pii: E889, 2019. doi: 10.3390/cells8080889.
3. Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kariya R, Muisuk K, Imtawil K, Chamgramol Y, Bhudhisawasdi V, Khuntikeo N, Pughem A, Saeseow OT, Silsirivanit A, Wongkham C, Wongkham S, *Okada S. Establishment of Highly Transplantable Cholangiocarcinoma Cell Lines from a Patient-Derived Xenograft Mouse Model. *Cells*. 23; 8(5). pii: E496, 2019. doi: 10.3390/cells8050496.
4. Sittithumcharee G, Suppramote O, Vaeteewoottacharn K, Sirisuksakun C, Jamnongsong S, Lapanuwat P, Suntiparplucha M, Matha A, Chusorn P, Buraphat P, Kakanaporn C, Changkeaw K, Silsirivanit A, Korphaisarn K, Limsrichamren S, Tripatara P, Pairojkul C, Wongkham S, Sampattavanich S, Okada S, *Jirawatnotai S. Dependency of Cholangiocarcinoma on Cyclin D-Dependent Kinase Activity. *Hepatology* 70(5): 1614–1630, 2019 doi: 10.1002/hep.30704.



岡田 誠治

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・
大学院医学教育部 教授

1985年 自治医科大学医学部卒
 1985年 茨城県衛生部医務課技術吏員、11年間茨城県で地域医療に従事
 1992年 博士（医学）取得
 1996年 千葉大学医学部附属高次機能制御研究センター 助手
 2000年 千葉大学大学院医学研究科発生医学講座分化制御学 助教授
 2002年 熊本大学エイズ学研究センター 教授
 2003年 熊本大学大学院医学教育部 教授
 2006年 生命資源研究・支援センターアイソトープ総合施設長兼任
 2019年 熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 教授（配置換え）

Patient-derived tumor xenografts (PDXs) for preclinical development of anti-cancer therapy

Sabine Gorynia

**Managing Director,
Charles River Discovery Freiburg, Germany**

Patient tumor explants implanted and passaged in immunodeficient mice (patient-derived tumor xenografts, PDXs) retain important characteristics of the original patient tumor including histology, molecular characteristics and drug sensitivity. Consequently, PDX-bearing immunodeficient mice have been used to identify the most promising treatments for cancer patients. PDXs are valuable assets for drug discovery, in particular for the preparation of clinical trials. Experimental formats using PDXs in humanized mice allow for preclinical testing of immuno-therapy. Mouse clinical trials/single mouse trials can be used to screen a large panel of PDXs, or to explore several treatment options for a single patient in a preclinical setting. Results can also be used to predict response rates in the clinic, and to identify biomarkers of response. The feasibility of using PDX models for these purposes will be discussed for different modalities targeting the tumor and the immune system.



Dr. Sabine Gorynia, MBA

Managing Director, Charles River Discovery Freiburg

- 2000–2004 Bachelors and Masters Studies (Biochemistry), Free University of Berlin, Germany
- 2004–2007 Ph.D. in Biochemistry, Bayer (Berlin, Germany) & ITQB (Oeiras, Portugal)
- 2007–2008 Group Leader, Bayer Schering Pharma, Berlin, Germany
- 2008–2011 Postdoctoral Researcher, UCLA, Department of Biological Chemistry, Los Angeles, USA
- 2012–2014 Project Manager, Oncotest GmbH, Freiburg, Germany
- 2013–2015 Part-Time MBA, University of St. Gallen, Switzerland
- 2014–2015 Associate Director, Business Development, Jackson Laboratories
- Since 2015 Managing Director, Charles River Discovery, Freiburg, Germany

化合物ライブラリーとその利用

須藤直樹

東京大学創薬機構

創薬研究は疾患に関係する多様な基礎研究とその知見を利用した物質探索から始まる。標的分子の機能を修飾する物質を探索し、モデル細胞や生物の状態を調節することを調べ、治療薬へと結びつけることが目標とされる。この目標の達成のためには、創薬の研究プロセスのリード化合物探索、最適化、非臨床試験をへて、患者を対象とする臨床試験において薬効と安全性が確かめられ、承認申請されるのはよく知られるところである。化合物ライブラリーはリード化合物の探索のための重要なツールである。今回は、化合物ライブラリーの利用について概観する。

化合物ライブラリーの歴史は、薬に関係する科学技術の発展の歴史によって支えられてきた。合成化学、薬理学は、生理活性物質の修飾によって新しい機能物質を作ることが可能としてきた。生化学や分子生物学の進歩は、標的分子を大量に取得してその特性を明らかにできるようになった。これらの進歩によって大量の化合物をアッセイすることが可能となったことから、製薬企業は保有している化合物をスクリーニング用に使いやすいように調液したライブラリーを作製し、社内研究に広く適用するようになった。これが、現在に至る化合物ライブラリーの活用の流れである。

その後、1990年代以降は、ゲノム創薬や、タンパク質構造解析、アッセイ技術など、スクリーニング関係する知識や技術の飛躍的な発展した。一つの成果が効率的に研究を進めるためのハイスループットスクリーニング法とそのために特化した化合物ライブラリーの整備である。製薬企業での大規模な探索活動は、多くの新薬生み出した。一方で、急速な技術活用は、化合物の物性に偏り生じ研究効率性の低下をもたらしたが、そのバランスを修正する改良を経て現在に至っている。科学研究としての低分子創薬は、アカデミアにおいても広がりを見せている。2000年以降は、製薬企業のみならず、世界中の各国のプロジェクトとして化合物ライブラリーを公共プラットフォームとして活用する試みが継続されている。

日本においては、現在は創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS) 事業におけるケミカルシーズ・リード探索ユニットとして国内の研究に対して化合物ライブラリーをスクリーニング用に提供している。今回は、講演者が所属する東京大学創薬機構の活動を紹介するとともに、化合物ライブラリーの利用について紹介する。あわせて実際の利用について実験者視点での現実も併せて概説したい。また、ライブラリースクリーニング以降の創薬研究についても概観したい。



須藤 直樹

東京大学創薬機構特任准教授

- 1993年 京都大学農学部食品工学専攻博士後期課程修了
- 1993年 田辺製薬株式会社
- 1994年 エジンバラ大学 HIV 研究センター客員研究員
- 1995年 田辺製薬株式会社
- 2007年 田辺三菱製薬株式会社
- 2017年 東京大学創薬機構特任准教授

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

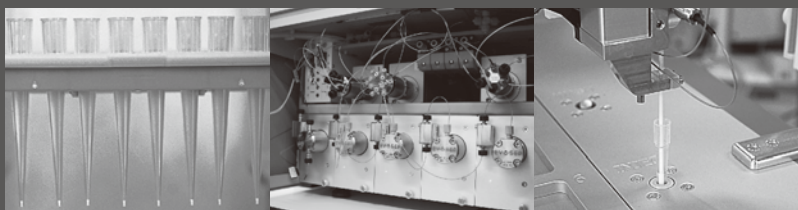
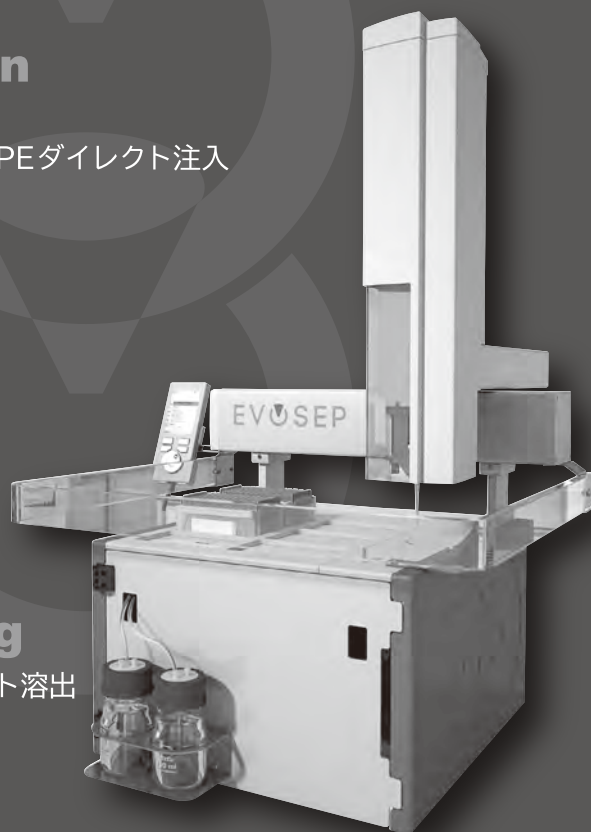
5つのプリセットメソッドから選択
1日あたり最大300サンプル処理可能

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、ポリマースタンダード、
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/>

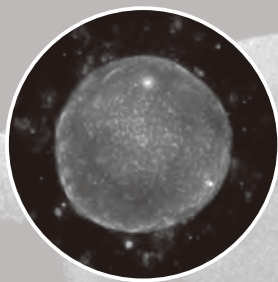
エーエムアール



AMR

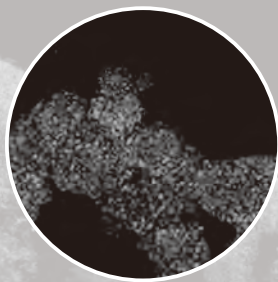
AMR INCORPORATED

Accelerate Your Next Discovery in 3D Cell Culture



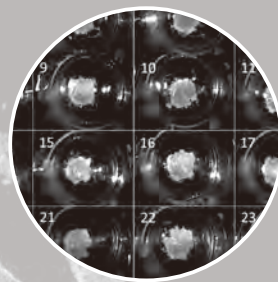
Scaffold-free Spheroid Models

スキャフォールドフリー
スフェロイドモデル



Hydrogels and ECM Scaffold Models

ハイドロゲル/ECM
スキャフォールドモデル



Solid Synthetic Scaffold Models

合成
スキャフォールドモデル



Corning® スフェロイドプレートと
Corning 3D スフェロイド用初代ヒト肝細胞



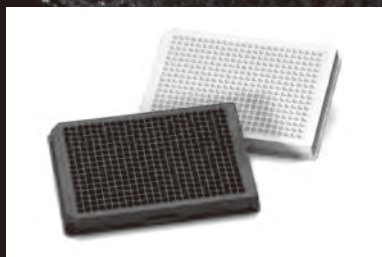
Corning マトリゲル基底膜マトリックス オルガノイド形成用



Corning 牛胎児血清



Corning Elplasia® プレート



Corning マトリゲル基底膜マトリックス 3Dプレート

VESSELS SURFACES SERUM
CORNING 3D CELL CULTURE

コーニングインターナショナル株式会社

www.corning.com/lifesciences

〒107-0052 東京都港区赤坂1-11-44 赤坂インターシティ7階 CLSJP@corning.com Tel: 03-3586-1996

技術サポートへのお問い合わせは: ScientificSupportJP@corning.com Tel: 03-3586-1268

©2020 Corning Incorporated. All rights reserved.

CORNING

細胞増殖阻害やスフェロイド形成阻害を
同じウェルから経時的に測定したい

腫瘍微小環境を構成する細胞の種類を知りたい
腫瘍内での遺伝子発現の局在を知りたい

インビボイメージングを行いたい



xCELLigence RTCA eSight™ システム

薬剤に対する細胞のカイネティックレスポンスをインピーダンスとイメージングを用いて正確＆確実に測定

2D 培養細胞の細胞増殖（細胞障害）をラベルフリーでリアルタイムに連続測定

スフェロイド培養細胞のスフェロイド形成をリアルタイムに連続測定



Chromium Controller & Visium

Chromium Controller はマルチオミクスなシングルセル解析のためのプラットフォーム

遺伝子発現（mRNA）、VDJ レパトア、ATACseq、膜表面タンパク質、抗原特異性などを組み合わせて組織を構成する細胞の特性を解明

Visium は凍結切片から位置情報を残して RNAseq を行う空間的遺伝子発現解析ツール



Pearl® Trilogy イメージングシステム

生物発光＋近赤外蛍光のデュアル・インビボイメージングシステム

薬剤の抗腫瘍効果に加えて、抗体等の高分子医薬品の生体内分布を経時的にイメージング可能

必要最小限の機能に絞ったシンプルで安価なシステム



株式会社 **スクラム**

本社

〒130-0021 東京都墨田区緑3-9-2 川越ビル
Tel. (03)5625-9711 Fax. (03)3634-6333

西日本営業所

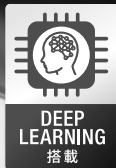
〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-3 NLC新大阪アースビル403
Tel. (06)6394-1300 Fax. (06)6394-8851

SCREEN

シングルセル
モノクロナリティ
判定にも対応

深層学習を用いた
三次元培養オルガノイド高速イメージャ

Cell³iMager duos



三次元培養オルガノイドや平面培養iPS細胞の 高速イメージング解析に最適な非侵襲高速イメージャ

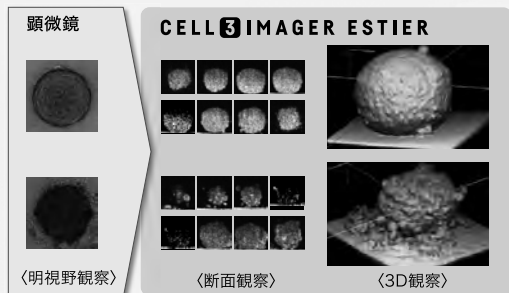
- ゲル包埋培養での三次元培養オルガノイドを焦点合成イメージングで撮像
- ウェル全面を陰影の影響なく均一に撮像・判定
- オルガノイドの形態画像情報を高速定量
- iPS未分化、分化細胞のモニタリングと形状特徴定量
- 高信頼性の判定を実現する機械学習アルゴリズムを使用した画像解析
- ATPアッセイとも高い相関性
- 平面培養iPS細胞のホールウェル解析

光干渉式断層撮像システム

CELL³IMAGER ESTIER

生体試料を近赤外線で3Dイメージング解析

スフェロイド (細胞が凝集して密着した擬似生体試料)



血管新生
東京大学
松永行子先生ご提供

卵巣
長浜バイオ大学
永井信夫先生ご提供

腎臓スフェロイド
鳥取大学
大林徹也先生ご提供

解像度	3 μ m / 10 μ m
最大観察領域	1 \times 1mm (3 μ m解像度時) / 10 \times 10mm (10 μ m解像度時)
観察時間 (条件による)	断面観察 0.5秒~ 3D観察 高解像度モード 0.3 \times 0.3 \times 0.3mm / 3 μ m:1分 低解像度モード 5.0 \times 5.0 \times 1.0mm / 10 μ m:9分



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

www.screen.co.jp

ライフサイエンス事業室

京都(洛西) / 〒612-8486 京都市伏見区羽東師古川町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

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

高精度・高感度絶対定量デジタルPCRの決定版 全自動MultiplexデジタルPCR

QX ONE™

Droplet Digital™ PCR システム

デジタルPCRの理想をQX ONE Droplet Digital PCRシステム1台に全て集約。この完全に統合されたシステムには、デジタルPCRに連続操作と高スループットをもたらし、優れた精度と感度で高度なマルチプレックスを可能にする機能が搭載されています。



WALK-AWAY OPERATION

- QX ONEシステムはddPCRワークフローを完全統合しているため、オペレーション効率を極限まで高める事ができます。
- プレート5枚、480サンプルまでの自動連続測定が可能です。



EASY TO USE

- シンプルで直感的なタッチスクリーンによるRunセットアップ。
- 最適化されたプレートセットアップにより、オペレーターの負担は大幅に軽減されます。



ADVANCED MULTIPLEXING

- 4カラーチャンネルによるマルチプレックスアッセイが、単一Wellからのユニークな複数ターゲット検出を実現します。
- マルチプレックス専用のSupermix試薬がプローブベースアッセイを最適化します。

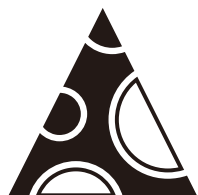


製品の詳細はウェブページ bio-rad.com/QXONE でもご確認いただけます

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

www.bio-rad.com

BIO-RAD



Miltenyi Biotec

がんモデルの基礎研究から 臨床開発までをサポート

腫瘍細胞や TIL の分離に最適

MACSQuant[®] Tyto[®]

閉鎖系カートリッジ式セルソーター

- ディスポーザブルの閉鎖系カートリッジにより無菌セルソーティングが可能
- サンプルのキャリーオーバーなし
- 液滴形成・光軸調整不要で、誰でも簡単に操作可能
- エアロゾルが発生せず高い安全性を実現
- 低圧力・無荷電のため細胞に優しい
- GMP (GCTP) に準拠したセルソーティング



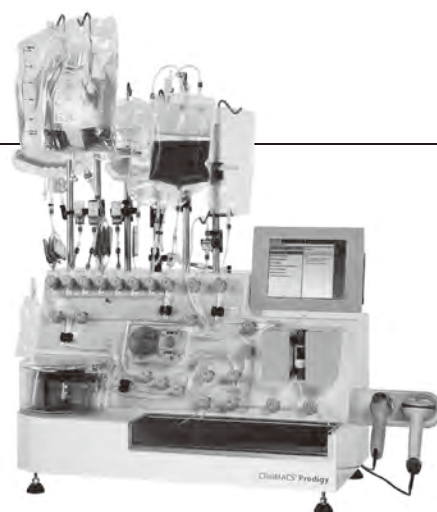
MACSQuant Tyto Cartridge

細胞プロセッシングの自動化と統合化を実現

CliniMACS Prodigy[®]

完全閉鎖式自動細胞調製装置

- 磁気細胞分離、バッファー交換や培地交換、密度勾配遠心分離、細胞培養、遺伝子導入など、細胞プロセッシングの各工程をGMP (GCTP) 環境下で自動処理
- 標準化された細胞プロセッシングによる高い信頼性と再現性
- 顧客ニーズに合わせた柔軟なプラットフォームを提供するカスタマイズプログラム
- CliniMACS[®] Electroporator と組み合わせることで、閉鎖系かつ自動化された効率的な遺伝子導入が可能に
- クリーンルーム設備の縮小に貢献

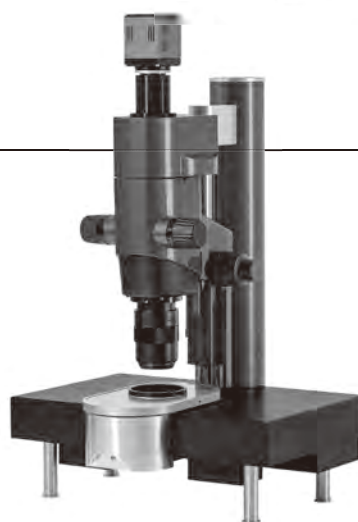


腫瘍内部までを3Dイメージング

UltraMicroscope II

光シート蛍光顕微鏡

- マウスの器官・組織全体など1cm³程度のサンプルの高速3Dイメージングが可能
- 左右両方向計6つの光シートによる均一な蛍光照明
- 撮影中の光シート焦点移動による優れたZ方向解像度の実現
- ほとんどの透明化プロトコルに対する屈折率補償
- フレキシブルな運用のズームボディタイプと高解像度用のチューブレズタイプ



Xenograft of human pancreatic carcinoma cell line with infiltrating chimeric antigen receptor (CAR) T cells



Miltenyi Biotec

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。

CliniMACS、CliniMACS Prodigy、MACSQuant、Miltenyi Biotec ロゴおよび Tyto は Miltenyi Biotec およびその関連会社の登録商標または商標です。

Copyright © 2020 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.

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
TEL: 03-5646-8910(代) FAX: 03-5646-8911
【ホームページ】 www.miltenyibiotec.com
【E-mail】 macsjp@miltenyi.com

学術的なお問い合わせ
03-5646-9606

9:00~12:00
13:00~17:00
(土日祝日除く)

機器修理のお問い合わせ
☎ 0120-03-5645

9:00~17:00
(土日祝日除く)

在庫・納期のお問い合わせ
03-5646-8566

9:00~12:00
13:00~17:00
(土日祝日除く)

