

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09134

研究課題名(和文) 去勢抵抗性前立腺癌オルガノイドの樹立とその解析による個別化医療の確立

研究課題名(英文) Establishment of personalized medicine through analysis of organoid derived from castration-resistant prostate cancer.

研究代表者

亭島 淳 (TEISHIMA, JUN)

広島大学・医系科学研究科(医)・准教授

研究者番号：20397962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：正常前立腺組織、限局性前立腺癌組織、去勢抵抗性前立腺癌組織(CRPC)由来のオルガノイドを樹立した。これらのオルガノイドおよび前立腺癌細胞株を用いて、KIFC1、MAPT、TUBB3、BUB1B、procadherin B9などの分子群を介した、CRPCにおける薬剤耐性の分子機構を明らかにした。これらの組織における超転写保存領域(T-UCR)、およびそれによって発現が制御されるマイクロRNA群発現について、オルガノイドにおける相違を確認した。これらの分子群およびT-UCRの解析によって得られた知見について他癌種においても解析し確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オルガノイドはその由来となるヒト検体の組織学的な特徴を忠実に反映しうるモデルであり、症例の薬剤感受性評価に適している。本研究によって、多くの分子を介したCRPCに対する薬剤耐性機構について解明された。オルガノイドによる薬剤感受性のスクリーニングのデータは実臨床での薬剤の効果予測因子として有用なだけでなく、症例ごとに最適な薬剤選択を行う個別化治療を可能にする上で重要な情報となりうる。

研究成果の概要(英文)：Organoids were established from tissues of the normal prostate, localized prostate cancer, and CRPC. Using these organoids and prostate cancer cell lines, mechanisms through T-UCR and various molecules including KIFC1, MAPT, TUBB3, BUB1B, and procadherin B9. Evidences from these analyses were investigated and confirmed in other urological malignant diseases.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 去勢抵抗性前立腺癌 オルガノイド 薬剤感受性

## 1. 研究開始当初の背景

近年わが国では、去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)に対する新規ホルモン剤や新規抗がん剤、放射性医薬品類が使用可能となり、その治療選択肢は飛躍的に増加した。その一方で、個々の症例に対する薬剤選択基準、投与順序などを含め、CRPC の治療戦略は確立されていない。当研究室(広島大学大学院医系科学研究科腎泌尿器科学)では、以前から前立腺癌の進展および去勢抵抗性化に関する分子機構に注目して研究を行い、CRPC細胞におけるシグナル伝達異常(Cancer Res, 1997., Cancer Res, 1998., Breast Cancer, 1999.), アポトーシス誘導の異常(Prostate61, 2004.), 放射線および化学療法感受性に関する分子群(Anticancer Res, 2008., OncolRep, 2014.), および前立腺癌細胞の増殖、浸潤に関する分子群(Prostate Cancer Prostatic Dis, 2012., Anticancer Res, 2014., Prostate, 2015) などについて解明してきた。このように、これまでCRPCの発生、進展に関する分子機構についての研究成果が数多く報告されている一方で、近年、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析の結果から、CRPCには症例ごとにきわめて多彩な遺伝子異常がみられることが明らかになっており、遺伝子異常のパターンに応じた個別化医療の確立が急務であると考えられている。そのためには、CRPCの多様な遺伝子異常のパターンを忠実に再現したモデルを樹立して解析すること、そしてそれぞれの遺伝子異常のパターンに応じた薬剤選択の確立が必要である。オルガノイドは幹細胞の維持に必要な微小環境を *in vitro* で再現し生体内の組織に類似した構造を長期間培養することが可能な斬新な手法である。オルガノイドではその由来となった組織の特性が忠実に再現されており、*in vitro* において病理組織学的検討が可能である。さらに、CRISPR/Cas9による遺伝子編集が容易であり、動物モデルを用いる場合に比較してはるかに時間・コストともに効率的な研究が可能である。2009年にマウスの小腸幹細胞からはじめてオルガノイドを樹立する技術が報告されて以来、複数の臓器由来のオルガノイドが樹立されてきたが、泌尿器科領域においては正常前立腺のオルガノイド樹立が報告されているのみであり、前立腺癌オルガノイドを用いた薬剤感受性や去勢抵抗性化の機序についての解析はなされていない。

## 2. 研究の目的

本研究ではCRPC症例に由来するオルガノイドを樹立し、これを用いて症例ごとに異なるCRPCの多彩な分子機構を解明する。そしてその結果に基づき、個々のCRPC症例に最も適した治療戦略を提供しうる革新的な個別化医療確立の一助となることを目的としている。

## 3. 研究の方法

### [1]CRPCオルガノイドの樹立

CRPCを含む前立腺癌症例の生検組織や手術摘除組織から検鏡下に癌部を同定しコラゲナーゼで処理しつつ分離した。前立腺オルガノイド作製プロトコルに従い、オルガノイドを作製し継代した。

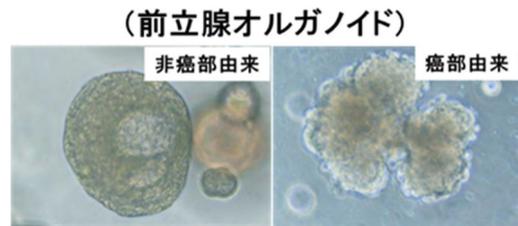
### [2]CRPCオルガノイドの遺伝子発現解析と薬剤感受性の評価

[1]で樹立したCRPCオルガノイドの遺伝子発現プロファイルを明らかにし、アンドロゲン受容体(AR)の遺伝子変異をシーケンスで確認した。次に、このCRPCオルガノイドにエンザルタミド、アピラテロン、ドセタキセル、カバジタキセルを添加し、薬剤感受性を調べた。さらにオ

ルガノイドを作成した患者の薬剤感受性の臨床情報との相関を解析した。

#### 4. 研究成果

限局性前立腺癌組織、針生検および経尿道的切除によって得られた去勢抵抗性前立腺癌組織(CRPC)および経尿道的切除によって得られた前立腺肥大症組織を用いて患者個別のオルガノイドを樹立した。由来した組織の保存状態、患者個別の要因、組織学的特性に関連した要因によって、オルガノイドの樹立、維持の難度は症例ごとに大きく異なっていた。

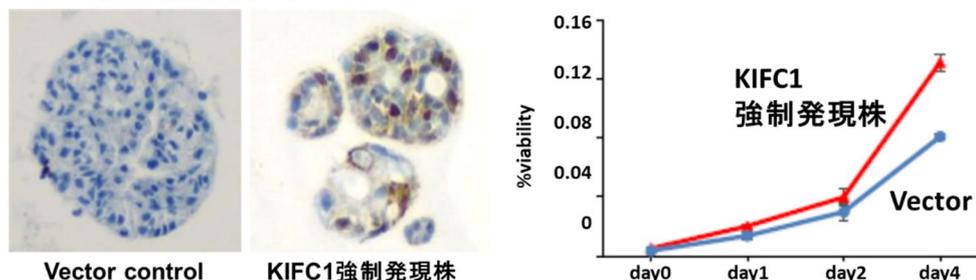


これらのオルガノイドおよび薬剤耐性を獲得した前立腺癌細胞株を用いて、CRPCにおける薬剤耐性の分子機構を解析した。その結果、KIFC1、MAPT、TUBB3、BUB1B、procadherinB9などの分子群が、CRPCがドセタキセル、カバジタキセルおよびピカルタミドといった薬剤に対する耐性を獲得するうえで重要な役割を果たしていることを明らかにし、複数の論文において報告した。さらにKIFC1阻害剤によるドセタキセル感受性の回復を報告した。これらのうちいくつかの分子群では、薬剤耐性の関連について、症例における臨床検体での発現と臨床経過の関連を解析すること、さらにin silicoの解析によって裏付けることができた。これらの分子群については、腎細胞癌をはじめとする他の泌尿器癌についても臨床検体および細胞株を用いた研究を行い、その予後や薬剤耐性との関連について解析した。

根治的前立腺全摘除術によって得られた前立腺癌組織と非癌部前立腺組織における超転写保存領域(T-UCR)をマイクロアレイ解析とリアルタイムPCR法によって比較することによって差が認められたT-UCRについて、オルガノイド間での発現の相違を確認した。TUCRによって発現が制御されることが明らかになっているマイクロRNA群について、オルガノイドにおける発現を確認した。これらの分子群およびT-UCRの解析によって得られた知見については腎細胞癌、尿路上皮癌においても関連した所見がみられるかどうかを解析した。

#### (前立腺癌オルガノイドにおけるKIFC1強制発現と増殖への効果)

##### 前立腺癌オルガノイド



CRPC 症例の集積過程で、当施設及び関連施設において加療した CRPC 症例に対する各薬物療法の治療効果、予後予測因子を解析した。その結果、転移を有しない CRPC において、一次ホルモン療法施行時における PSA の推移が予後の関連することを明らかにし、論文報告するに至った。さらに、腎細胞癌をはじめとする他の泌尿器癌についても同様に症例集積を行い、薬物療法の治療効果および予後を予測する因子について解析し、分子標的薬及び免疫チェックポイント阻害薬で加療された転移性腎細胞癌において、薬剤感受性や予後と炎症関連パラメーターと

の関連について明らかにし論文報告に至った (Teishima J, Int J Urol, 2020)(Teishima J, CUAJ, 2021 )。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Han X, Sekino Y, Babasaki T, Goto K, Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Sakamoto N, Sentani K, Oue N, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 S1078-1439(20)
2. 論文標題 Microtubule-associated protein tau (MAPT) is a promising independent prognostic marker and tumor suppressive protein in clear cell renal cell carcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Urol Oncol.	6. 最初と最後の頁 30051-X
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2020.02.010.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Teishima J, Hayashi T, Kitano H, Sadahide K, Sekino Y, Goto K, Inoue S, Honda Y, Sentani K, Awai K, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 50(4)
2. 論文標題 Impact of radiological morphology of clinical T1 renal cell carcinoma on the prediction of upstaging to pathological T3.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 473-478
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyz154.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi G, Sentani K, Babasaki T, Sekino Y, Shigematsu Y, Hayashi T, Oue N, Teishima J, Matsubara A, Sasaki N, Yasui W.	4. 巻 111(3)
2. 論文標題 Claspin overexpression is associated with high-grade histology and poor prognosis in renal cell carcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1020-1027.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14299.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukuoka K, Teishima J, Nagamatsu H, Inoue S, Hayashi T, Mita K, Shigeta M, Kobayashi K, Kajiwara M, Kadonishi Y, Tacho T, Matsubara A.	4. 巻 52(1)
2. 論文標題 Predictors of poor response to first-generation anti-androgens as criteria for alternate treatments for patients with non-metastatic castration-resistant prostate cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int Urol Nephrol.	6. 最初と最後の頁 77-85.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11255-019-02281-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Han X, Kawaguchi T, Babasaki T, Goto K, Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Shiota M, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 20(16)
2. 論文標題 TUBB3 Reverses Resistance to Docetaxel and Cabazitaxel in Prostate Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 E3936.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20163936.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Teishima J, Murata D, Hasegawa Y, Moriyama H, Mita K, Matsubara A.	4. 巻 26(11)
2. 論文標題 C-reactive protein can be used to predict the therapeutic effects of nivolumab in patients with metastatic renal cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 1076-1077.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/iju.14084.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Sakamoto N, Sentani K, Oue N, Teishima J, Matsubara A, Yasui W.	4. 巻 97(3)
2. 論文標題 miR-130b Promotes Sunitinib Resistance through Regulation of PTEN in Renal Cell Carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology.	6. 最初と最後の頁 164-172.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000500605.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shigematsu Y, Oue N, Sekino Y, Sakamoto N, Sentani K, Uraoka N, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A, Yasui W.	4. 巻 86(4)
2. 論文標題 SEC11A Expression Is Associated with Basal-Like Bladder Cancer and Predicts Patient Survival.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathobiology.	6. 最初と最後の頁 208-216.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000497206.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Sakamoto N, Ishikawa A, Honma R, Shigematsu Y, Hayashi T, Sentani K, Oue N, Teishima J, Matsubara A, Yasui W.	4. 巻 41(5)
2. 論文標題 Transcribed ultraconserved region Uc.63+ promotes resistance to cisplatin through regulation of androgen receptor signaling in bladder cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncol Rep.	6. 最初と最後の頁 3111-3118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Oue N, Koike Y, Shigematsu Y, Sakamoto N, Sentani K, Teishima J, Shiota M, Matsubara A, Yasui W.	4. 巻 8(2)
2. 論文標題 KIFC1 Inhibitor CW069 Induces Apoptosis and Reverses Resistance to Docetaxel in Prostate Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 E225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8020225.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Oue N, Mukai S, Shigematsu Y, Goto K, Sakamoto N, Sentani K, Hayashi T, Teishima J, Matsubara A, Yasui W.	4. 巻 79(2)
2. 論文標題 Protocadherin B9 promotes resistance to bicalutamide and is associated with the survival of prostate cancer patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Prostate	6. 最初と最後の頁 234-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pros.23728.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Teishima J, Hayashi T, Nagamatsu H, Shoji K, Shikuma H, Yamanaka R, Sekino Y, Goto K, Inoue S, Matsubara A.	4. 巻 8(2)
2. 論文標題 Fibroblast Growth Factor Family in the Progression of Prostate Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 E183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8020183	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Han X, Babasaki T, Miyamoto S, Kobatake K, Kitano H, Ikeda K, Goto K, Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Shiota M, Takeshima Y, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 24:S1078-1439(21)
2. 論文標題 TUBB3 is associated with PTEN, neuroendocrine differentiation, and castration resistance in prostate cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Urol Oncol	6. 最初と最後の頁 112-5.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2021.03.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Han X, Kobayashi G, Babasaki T, Miyamoto S, Kobatake K, Kitano H, Ikeda K, Goto K, Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Sakamoto N, Sentani K, Oue N, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 99(4)
2. 論文標題 BUB1B overexpression is an independent prognostic marker and associated with CD44, p53, and PD-L1 in renal cell carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology	6. 最初と最後の頁 240-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000512446.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekino Y, Han X, Babasaki T, Goto K, Inoue S, Hayashi T, Teishima J, Shiota M, Takeshima Y, Yasui W, Matsubara A.	4. 巻 38(10)
2. 論文標題 Microtubule-associated protein tau (MAPT) promotes bicalutamide resistance and is associated with survival in prostate cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Urol Oncol	6. 最初と最後の頁 795.e1-795.e8.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2020.04.032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Teishima J, Inoue S, Hayashi T, Mita K, Hasegawa Y, Kato M, Kajiwara M, Shigeta M, Maruyama S, Moriyama H, Fujiwara S, Matsubara A.	4. 巻 14(11)
2. 論文標題 Impact of the systemic immune-inflammation index for the prediction of prognosis and modification of the risk model in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with first-line tyrosine kinase inhibitors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Can Urol Assoc J	6. 最初と最後の頁 E582-E587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5489/cuaj.6413.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 後藤 景介、関野 陽平、林 哲太郎、亭島 淳、安井 弥、松原 昭郎
2. 発表標題 HMGB1 の高発現は前立腺癌の予後不良と関連する
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井 慎介、林 哲太郎、後藤 景介、関野 陽平、亭島 淳、仙谷 和弘、安井 弥、松原 昭郎
2. 発表標題 傍前立腺脂肪長は MRI / 超音波融合画像標的生検で検出される前立腺 癌の予測因子である
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬場崎 隆志、仙谷 和弘、小林 剛、関野 陽平、浦岡 直礼、坂本 直也、塩田 真己、大上 直秀、亭島 淳、松原 昭郎、安井 弥
2. 発表標題 前立腺癌における claspin の臨床病理学的分析
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関野陽平、韓向鋭、上野剛志、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、塩田真己、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題 前立腺癌におけるTUBB3のカバジタキル耐性機構への関与およびPI3K阻害薬の可能性
3. 学会等名 日本泌尿器腫瘍学会第5回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関野陽平、後藤景介、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、坂本直也、仙谷和弘、大上直秀、安井弥、松原昭郎
2. 発表標題 オルガノイドを用いた前立腺研究
3. 学会等名 第35回前立線シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福岡憲一郎、後藤景介、井上省吾、林哲太郎、亭島淳、松原昭郎、三田耕司、小林加直、繁田正信、永松弘孝、角西雄一、田丁貴俊、梶原充、加藤昌生
2. 発表標題 ホルモン療法を行った前立腺癌における診療時転移巣数と予後の関連
3. 学会等名 第35回前立線シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sekino Y, Koike Y, Sakamoto N, Shiota M, Shigematsu Y, Sentani K, Oue N, Teishima J, Yasui W, Matsubara A
2. 発表標題 KIFC1 Inhibitor CW069 Induces Apoptosis and Reverses Resistance to Docetaxel in Prostate Cancer.
3. 学会等名 34th Annual EAU Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sekino Y, Goto K, Sakamoto N, Oue N, Sentani K, Hayashi T, Teishima J, Yasui W, Matsubara A.
2. 発表標題 Protocadherin B9 promotes resistance to bicalutamide and is associated with the survival of prostate cancer patients.
3. 学会等名 34th Annual EAU Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sekino Y, Koike Y, Shigematsu Y, Hattori T, Sakamoto N, Shiota M, Sentani K, Oue N, Teishima J, Matsubara A, Yasui W
2. 発表標題 KIFC1 Inhibitor CW069 Induces Apoptosis and Reverses Resistance to Docetaxel in Prostate Cancer.
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Teishima J, Yamaguchi Y, Nagamatsu H, Shikuma H, Fujii S, Goto K, Shinmei S, Inoue S, Hayashi T, Matsubara A.
2. 発表標題 Significance of endocrine fibroblast growth factor subfamily as serum biomarkers in castration-resistant prostate cancer.
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松原 昭郎  (Matsubara Akio)  (10239064)	広島大学・医系科学研究科(医)・専門研究員   (15401)	
研究分担者	坂本 直也  (Sakamoto Naoya)  (20571798)	国立研究開発法人・国立がん研究センター・先端医療開発センター・ユニット長   (82606)	
研究分担者	安井 弥  (Yasui Wataru)  (40191118)	広島大学・医系科学研究科(医)・教授   (15401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 哲太郎  (Hayashi Tetsutaro)  (60612835)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師    (15401)	
研究分担者	神明 俊輔  (Shinmei Shunsuke)  (70749936)	広島大学・病院(医)・助教    (15401)	
研究分担者	井上 省吾  (Inoue Shogo)  (90457177)	広島大学・病院(医)・講師    (15401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関