

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：17102  
研究種目：若手研究  
研究期間：2019～2020  
課題番号：19K18093  
研究課題名(和文) 大腸癌オルガノイドを用いた転移形成ニッチ因子の同定とニッチ因子標的治療の開発

研究課題名(英文) Identification of niche factors for metastasis formation and development of therapies targeting those factors using colon cancer organoids

研究代表者  
佐田 政史 (SADA, Masafumi)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：10783508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：当研究室の他のグループが進めている膵癌の研究において、すでに複数のサンプルからライブラリーの作成に成功している膵癌オルガノイドでは、個々の症例によって依存するニッチ因子が異なっていること、それらのニッチ因子は主に線維芽細胞である膵星細胞が産生していることが示唆されている。大腸癌においても、膵癌と同様に、患者個別の肝転移巣由来癌関連線維芽細胞を、outgrowth法を用いて樹立し、肝転移由来腫瘍組織との共培養によってオルガノイドを形成・維持できるか検討しているが、まだ転移巣組織のオルガノイドの樹立には至っていない。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
癌の予後を規定するのは転移であり、大腸癌の転移を制御する革新的治療法はない。患者個別の肝転移巣由来癌関連線維芽細胞を、outgrowth法を用いて樹立し、肝転移由来腫瘍組織との共培養によってオルガノイドを形成・維持できれば、癌細胞自身からのアプローチではなく、転移巣の微小環境に着目・焦点をあてた大腸癌肝転移巣の研究が可能となる。また、オルガノイドを患者毎に作成することで、腫瘍の個別性を反映した分子細胞生物学的検討が可能となり、従来の画一的な細胞株を用いるのではなく、より患者個々の癌の状態を反映した個別化治療への応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic cancer organoids have been generated from several samples in our laboratory. We revealed that niche factors are different among patients, and that those niche factors are mainly produced by pancreatic stellate cell.  
We are trying to generate organoids from colon cancer liver metastases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：大腸癌 オルガノイド ニッチ因子 癌関連線維芽細胞 大腸癌肝転移

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

転移を有する大腸癌の5年生存率は20%に満たず予後不良であり、近年罹患率も増加している大腸癌転移制御における社会的要請度は非常に高い。遺伝子変異に基づいた大腸癌個別化治療も導入されているが、その恩恵を受けられる症例は限定的である。根治的外科手術後に再発抑制のため補助化学療法も広く行われているが、その再発抑制効果は十分ではなく、薬物関連有害事象や経済的コストの観点からも課題は多く、転移再発抑制のために大腸癌転移機序を明らかにすることが求められている。

また、大腸癌の発癌は、前駆病変から腺腫を経る多段階発癌であることは広く知られ、発癌を決定づけていく driver 遺伝子も解明されているが (Fearon and Vogelstein, Cell 1990) 転移成立に必要な転移ドライバー遺伝子変異の同定には至っていない (Bozic et al., PNAS 2010)。また、他癌種においても原発巣と転移巣は非常に似た遺伝学的背景を持つことが明らかになっていることから (Yachida et al., Nature 2010)、転移機序解明のためには網羅的な遺伝子変異解析だけでなく、新たな転移解析プラットフォームが求められている。最も頻度の高い血行性転移を例にとっても、転移は原発巣から遊離した癌細胞が血管内へ浸潤、血管内での生存を経て血管外に浸潤し、最終的に肝臓や肺といった標的臓器微小環境下で着生・増殖するという数あるステップを乗り越えて成立する現象であるため、癌微小環境を含めた細胞生物学的手法を用いた統合的解析が転移機序を解明するためには必要である。また、基礎的実験において有効性が見出された数々の治療戦略が、臨床試験では良好な成績を挙げられていない過去の反省から、従来の画一的な癌細胞株や遺伝子改変マウスでの解析結果は必ずしも実臨床における癌の挙動を反映しておらず、腫瘍組織の不均一性、個体間における癌の多様性を勘案した、より生体内での癌細胞の振る舞いに近い実験プラットフォームの作成が重要であると考えられた。

### 2. 研究の目的

近年、腸管組織幹細胞研究で開発されたオルガノイドテクノロジーが、癌研究においても応用されている。ニッチ因子として、生体内では隣接する上皮細胞や間葉系細胞が供給源となっている、EGF, Noggin, R-Spondin1, Wnt3A を TGF- $\beta$  阻害剤、p-38 阻害剤とともに加えた細胞外マトリックス内で、腸管組織幹細胞が腸管上皮陰窩の組織構造を再構築、かつ培養・維持できるオルガノイドに (Sato et al., Nature 2009; Sato et al., Nature 2011)、遺伝子組み換え技術や細胞系譜解析技術を組み合わせることで、大腸癌発癌過程 (Matano et al., Nature Medicine 2015; Shimokawa et al., Nature 2017) や、臨床検体ラブラリーを用いた腫瘍の個性 (Fujii et al., Cell Stem Cell 2016) が明らかになっている。一方、それぞれの癌種の転移には標的臓器指向性があることは古典的にも知られているが、それは原発巣と転移巣の解剖学的関係性だけでなく、転移標的臓器の微小環境と癌細胞の親和性によるものと考えられている (Oskarsson et al., Cell Stem Cell 2014)。近年、癌微小環境は大きな注目を集め、精力的に研究されているが、多くが原発巣の微小環境に焦点をあてたものであり、大腸癌転移巣の微小環境に着目した研究はまだ少ない。転移機序の解明には転移標的臓器の微小環境をも含めた統合的解析が必要であり、転移巣微小環境を模したヒト組織由来オルガノイドプラットフォームを開発できれば、転移成立機序の細胞・分子生物学的基盤の解明へつながる革新的成果が得られるのではないかと考えられる。個別のヒト由来原発巣組織と転移巣組織を用いて、癌と周囲微小環境組織を含めたオルガノイドプラットフォームを構築し、その解析を通して転移形成に必要なニッチ因子を同定し、ニッチ因子標的治療を開発することが本研究の目的である。また、本研究ではオルガノイドを患者毎に作成することで、腫瘍の個性を反映した分子細胞生物学的検討が可能である。つまり、従来の画一的な細胞株を用いるのではなく、より患者個々の癌の状態を反映した検討が可能であり、個別化治療への応用も期待される。

### 3. 研究の方法

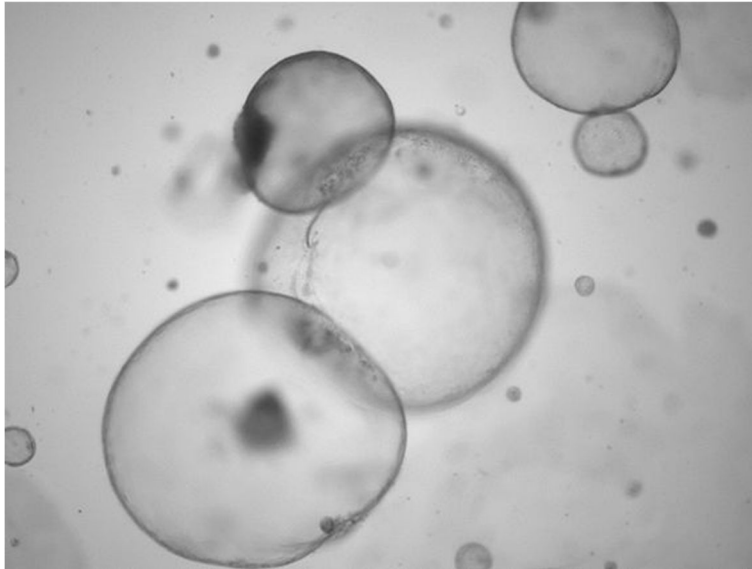
患者個別の肝転移巣由来癌関連線維芽細胞を、outgrowth 法を用いて樹立し、肝転移由来腫瘍組織との共培養によってオルガノイドを形成・維持できるか検討する。それぞれの肝転移巣から樹立した癌関連線維芽細胞の培養上清の分泌因子を解析する。また、転移巣由来のオルガノイドと肝転移由来癌関連線維芽細胞の共培養によってオルガノイドが維持・増殖できるか検討する。転移巣由来オルガノイドと で同定した転移支持間質細胞の共培養系における治療効果を検討する。また、マウスにヒト転移巣由来オルガノイドと転移支持間質細胞を共移植し、治療効果を検討する。

### 4. 研究成果

オルガノイド作成にあたって必須となるヒト大腸癌の原発巣および肺・肝転移巣の組織サンプルを集積するとともに、各症例における臨床病理学的背景についてもデータを収集した。当研究室の他のグループが進めている膵癌の研究において、すでに複数のサンプルからライブラリーの作成に成功している膵癌オルガノイドでは、個々の症例によって依存するニッチ因子が異なっていること、それらのニッチ因子は主に線維芽細胞である膵星細胞が産生しているこ

とが示唆されている。肝転移成立においても肝転移巣由来癌関連線維芽細胞には機能的不均一性が存在する可能性があり、個別の間質細胞集団における検討も行う必要があると考える。さらに、当研究室では、膵癌の肝転移において重要な鍵を握る肝微小転移の形成に関して、好中球のNETが転移促進的に作用していることを明らかにした。

大腸癌の組織においても、膵癌と同様に、患者個別の肝転移巣由来癌関連線維芽細胞を、outgrowth法を用いて樹立し、肝転移由来腫瘍組織との共培養によってオルガノイドを形成・維持できるか検討しているが、まだ転移巣組織のオルガノイドの樹立には至っていない。



膵癌オルガノイド(Koikawa et al. Cancer Letters2018)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------