

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03443

研究課題名(和文) 消化管癌の薬剤耐性オルガノイドを用いた癌幹細胞性制御機構の解明と診断治療への展開

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of cancer stem cell property using gastrointestinal cancer organoids and its clinical implication

研究代表者

安井 弥 (Yasui, Wataru)

広島大学・医系科学研究科(医)・名誉教授

研究者番号：40191118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：消化管癌オルガノイドから5-FU耐性及びL-OHP耐性を付加した薬剤耐性消化管癌オルガノイド(癌幹細胞オルガノイド)を樹立した。それらは薬剤耐性のみならず、腫瘍形成能、転移能、形態変化、CD44発現等から癌幹細胞に富むオルガノイドとみなされた。5-FU耐性、L-OHP耐性オルガノイドの解析から、それぞれKHDRBS3、MYOFが癌幹細胞性を制御することを突き止めた。抗癌剤耐性癌幹細胞の診断とそれを標的とした治療への応用につながる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行期の消化管癌では、外科的切除後の再発例や切除不能例に対する治療の中心は化学療法であるが、多くの場合は治療抵抗性を獲得し、最終的に患者は死に至る。治療耐性・治療後再発の大きな原因として癌幹細胞の存在が挙げられる。オルガノイド培養は三次元で器官様構造物を作る作成する技術であり、幹細胞に富むことが知られている。本研究では、代表的な抗癌剤である5-FUとL-OHPに抵抗性のオルガノイドを樹立し、それをを用いた解析によって癌幹細胞性を制御する遺伝子としてKHDRBS3とMYOFを同定した。これを標的とした新たな診断・治療の展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：We established drug-resistant gastrointestinal cancer organoids (cancer stem cell organoids) having 5-FU resistance and L-OHP resistance. They were regarded as cancer stem cell-rich organoids in addition to drug resistance because of their tumorigenicity, metastatic potential, morphological changes, and CD44 expression. From the analysis of 5-FU-resistant and L-OHP-resistant organoids, KHDRBS3 and MYOF were found to regulate cancer stem cell properties, respectively. These findings will contribute to the application to the diagnosis and treatment for therapy-resistant cancer stem cells.

研究分野：分子病理学

キーワード：消化管癌 癌幹細胞 オルガノイド 抗癌剤耐性 KHDRBS3 MYOF

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

進行期の消化管癌では、外科的切除後の再発例や切除不能例に対する治療の中心は化学療法である。分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤の導入により生存期間の延長がみられているが、対象症例は限られており、また、多くの症例では治療耐性を示し、最終的には患者を死に至らしめる。NGSを用いた解析により様々な癌腫においてゲノム・エピゲノム異常のプロファイルによる Molecular classification が行なわれている。しかし、治療との関連は報告されているものの十分ではなく、治療抵抗性、治療後再発に関してはこれからの課題である。治療耐性・治療後再発の大きな原因として癌幹細胞 (cancer stem cell) の存在が挙げられる。オルガノイド (器官様構造物) を in vitro で三次元培養する技術が開発され、癌組織由来のオルガノイドは癌幹細胞に富むことが知られている。したがって、オルガノイド系を用いることにより実際の癌組織内の多様性や癌幹細胞、症例間の相違等の実態を反映させた解析が可能となる。以上の学術的背景から、オルガノイド技術を活用することにより、消化管癌の薬剤耐性・癌幹細胞性の制御機構を明らかにし、それを標的とした診断・治療開発につながる研究が必須と考えられた。

### 2. 研究の目的

消化管の進行癌では手術、化学療法、一部は放射線療法が行なわれるものの治療成績は十分でなく、多くの症例が再発・転移を来す。オルガノイド系を用いてその根源となる癌幹細胞に特異的な遺伝子・分子の異常を molecular subtype ごとに同定することによりその本質に迫り、癌幹細胞を標的とした診断・治療戦略・創薬に結びつけることが目的である。この目的を達成するために行う本研究では、特に癌幹細胞を抽出するアプローチとして、薬剤耐性オルガノイドを樹立して用いるという独自性と独創性がある。

### 3. 研究の方法

1) 消化管癌オルガノイドの作成：外科的切除材料から、食道癌、胃癌、大腸癌組織を採取し、各々に適した ingredient (EGF, Noggin, R-spondin, WNT-3A 等) を medium に加えた 3 次元培養を用い、オルガノイドを作成する。

2) 薬剤耐性消化管癌オルガノイド (癌幹細胞オルガノイド) の樹立：5-FU 関連抗癌剤、シスプラチン等を用い、濃度を漸増し、IC50 で 10 倍程度の薬剤耐性オルガノイドを樹立する。また、抗癌剤耐性オルガノイド樹立が順調に進んだ場合には、trastuzumab, cetuximab 等の分子標的薬耐性オルガノイドの樹立も試みる。食道癌については放射線治療耐性も考慮する。樹立した薬剤耐性オルガノイドについて、胃癌・大腸癌では、ISH/IHC (EBER, MLH-1, E-cadherin, p53, -catenin 等) でスクリーニングを行なうとともに、MSI 解析、NGS 解析により Molecular classification を確定する。

3) RNA シークエンスによる薬剤耐性癌幹細胞オルガノイドの分子・遺伝子異常の解析：得られた消化管癌の抗癌剤耐性オルガノイドと parental オルガノイドについて RNA シークエンス解析を行う。発現データの統計解析、TCGA や GEO 等に掲載されている data set との比較、Gene Ontology、Pathway 解析等の多角的な解析を行う。研究の進捗状況に応じて、遺伝子発現解析として GeneChip 解析を用いる。

4) 同定した薬剤耐性癌幹細胞特異的分子・遺伝子異常の細胞生物学的機能解析：同定した新規の異常もしくは遺伝子発現変化に関して、分子の発現亢進・消失については細胞株を用いた強制発現・ノックダウン系を用い、遺伝子転座やスプライシングの異常の場合は CRISPR/Cas9 ゲノム編集を用いて研究を進める。また、in vivo における腫瘍の増殖・転移等の癌幹細胞特性に関する検討を行う。

5) 同定した薬剤耐性癌幹細胞特異的分子・遺伝子異常の診断マーカーとしての有用性：抗癌剤耐性（癌幹細胞）に特異的な新規転写産物、発現変化が見られた分子に関しては、免疫染色等により組織内での発現変化を確認する。組織学的な検討が可能な分子に関しては、外科的切除例の組織切片を用いその発現と抗癌剤の治療効果を retrospective に検討する。

6) 薬剤耐性癌幹細胞特異的分子・遺伝子異常に対する特異的阻害剤の創薬及び新規分子標的薬の効果、有害事象の検討を行う。

#### 4．研究成果

1) 消化管癌オルガノイドの作成：外科的切除材料から常法に従い、胃癌、大腸癌およびそれぞれの正常粘膜由来のオルガノイドの樹立を継続した。胃癌では約 60%、大腸癌では約 80%の樹立率であった。

2) 薬剤耐性消化管癌オルガノイド（癌幹細胞オルガノイド）の樹立：樹立した 10 株の胃癌オルガノイドの薬剤感受性を検討し、4 株の 5-FU 感受性株を選択した。この 4 株を用い、5-FU を持続的且つ段階的に濃度を上げる処理により、親株と比較し IC50 で 4-10 倍耐性の 5-FU 獲得耐性株を得た。耐性株では、5-FU 耐性に関連する TS、DPD に加えて、CD44v も増加していた。形態学的にも耐性株では幹細胞様の変化が観察された。5-FU 耐性胃癌オルガノイド 4 株の Molecular classification については、EBER、MLH-1、E-cadherin、p53 の解析を行い、Genomically stable (GS) が 1 株、Chromosomal instability (CIN) が 1 株、Microsatellite instability (MSI) が 2 株とみなされた。また、胃癌オルガノイドについては、L-OHP（オキサリプラチン）を IC50 程度の濃度で短期間繰り返し処理することにより、L-OHP 耐性株 3 株の樹立にも成功した。IC50 で 3-7 倍の耐性を付与することができた。形態学的にも耐性株では budding が認められ、核には明瞭な核小体が観察された。CD44 の発現増加も認められた。一方、大腸癌オルガノイドでは、5-FU と TFT（トリフルリジン・チピラシル）の交叉耐性、ドライバー変異との関連を解析した。

3) 網羅的遺伝子発現解析による薬剤耐性癌幹細胞オルガノイドの分子・遺伝子異常の解析：5-FU 耐性胃癌オルガノイドにおいて 2 倍以上発現が亢進している 23 遺伝子を同定し、その内癌で役割の不明である 7 遺伝子の中から、5-FU 耐性細胞株では変化の見られなかった KHDRBS3 に注目した。KHDRBS3 の発現を 2 種類の 5-FU 耐性胃癌細胞株とその親株において検討した際に、耐性細胞株での発現上昇をほとんど認めないことから、KHDRBS3 は単に 5-FU 耐性に関与するのみでなく、幹細胞特異的に上昇する遺伝子であると考えられた。

L-OHP 耐性胃癌オルガノイド、5-FU 耐性オルガノイド、親オルガノイドのマイクロアレイ解析では、548 遺伝子の発現レベルが有意に異なっていたが、L-OHP 耐性と 5-FU 耐性で共通した遺伝子は少数であった。L-OHP 耐性胃癌オルガノイドで発現が亢進していた 366 遺伝子の内、トップ

5 に入り且つ胃癌での解析の行われていない 3 遺伝子についての qRT-PCR 解析の結果より、膜癒合に関係する MYOF に注目し研究を進めることにした。

#### 4) 薬剤耐性癌幹細胞オルガノイドにおける特異的遺伝子の同定と機能解析:

KHDRBS3 を胃癌オルガノイドにおいて強制発現、または 5-FU 耐性胃癌オルガノイドにおいてノックアウトして機能解析を行ったところ、KHDRBS3 は胃癌幹細胞マーカーである CD44 のエクソン 8 と 9 を含まないバリエーション及び癌細胞の多剤耐性に関わる MRP1 (ABCC1) を発現上昇させることが明らかになった。また、KHDRBS3 は 5-FU への耐性に加え、胃癌における主要な抗癌剤である L-OHP (Oxaliplatin) FTD (Trifluridine) への耐性をも付与し、オルガノイド形成を促進することを示された。また、KHDRBS3 のノックアウトを行った 5-FU 耐性オルガノイドとコントロールの 5-FU 耐性オルガノイドを免疫不全マウスに異種移植した結果、KHDRBS3 のノックアウトによる腫瘍形成能及び肺転移巣形成能の低下が確認された。

5-FU 耐性胃癌において発現が亢進し、薬剤耐性及び腫瘍形成能・転移能に関与することが示された KHDRBS3 について、大腸癌オルガノイドを用いて検討した。KHDRBS3 は KRAS 変異細胞株及びオルガノイドにおいて発現が亢進していた。KHDRBS3 は CD44v の発現を惹起して 5-FU 耐性に関与し、免疫不全マウスモデルにおいては WNT 標的遺伝子の AXIN2、MYC、LGR5 を介して腫瘍形成能と転移能を制御することが示された。

L-OHP (オキサリプラチン) 耐性胃癌オルガノイドについての解析では、MYOF は L-OHP 耐性細胞株のみで発現が亢進しており、MYOF のノックダウン及び阻害剤 WJ460 処理により、L-OHP 耐性、細胞浸潤、細胞運動、腫瘍形成能が有意に抑制された。さらに、同じ処理によりスフェロイド及びオルガノイド形成能が有意に抑制され、薬剤耐性と共に癌幹細胞性を制御するものと考えられた。L-OHP 耐性胃癌オルガノイドで発現亢進している Peptidase Inhibitor 3 についても検討を開始した。

#### 5) 同定した薬剤耐性癌幹細胞特異的分子・遺伝子異常の診断マーカーとしての有用性:

胃癌 121 症例の腫瘍部において免疫組織化学的に KHDRBS3 の発現を検討し、5%以上の核に染色の認められた症例を陽性としたところ、59 例 (49%) が陽性となった。KHDRBS3 の発現と臨床病理学的因子との有意な相関はなかった。一方、KHDRBS3 陽性症例は陰性症例と比べ有意に予後不良であり、単変量及び多変量解析の結果、KHDRBS3 は胃癌における独立した予後不良因子であった。また、5-FU のプロドラッグであり本邦で広く使用されている TS-1 を術後投与された 50 例においても同様の結果が得られた。

大腸癌 148 例の腫瘍部において免疫組織化学的に KHDRBS3 の発現を検討したところ、59 例 (40%) が陽性であった。陽性例は有意に予後不良であり、さらに独立した予後不良因子であることが示された。5-FU 無治療例 97 例では KHDRBS3 の発現は予後に影響を及ぼさず、5-FU 治療例 51 例のみで予後不良因子であることが分かった。

胃癌 132 症例の腫瘍部において免疫組織化学的に MYOF の発現を検討したところ、65 例 (49%) が陽性であった。MYOF 陽性は、胃癌の深達度、リンパ節転移、リンパ管内侵襲及び不良な予後と相関し、多変量解析において独立した予後因子となった。特に術後プラチナ製剤治療例において顕著であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 24件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 18件）

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Harada K, Sakamoto N, Ukai S, Yamamoto Y, Pham QT, Taniyama D, Honma R, Maruyama R, Takashima T, Ota H, Takemoto Y, Tanabe K, Ohdan H, Yasui W | 4. 巻<br>24              |
| 2. 論文標題<br>Establishment of oxaliplatin-resistant gastric cancer organoids: importance of myoferlin in the acquisition of oxaliplatin resistance         | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Gastric Cancer   | 6. 最初と最後の頁<br>1264-1277 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s10120-021-01206-4.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |
| 1. 著者名<br>Akabane S, Oue N, Sekino Y, Asai R, Thang PQ, Taniyama D, Sentani K, Yukawa M, Toda T, Kimura KI, Egi H, Shimizu W, Ohdan H, Yasui W           | 4. 巻<br>71              |
| 2. 論文標題<br>KIF11C1 regulates ZWINT to promote tumor progression and spheroid formation in colorectal cancer  | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Pathol Int   | 6. 最初と最後の頁<br>441-452   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1111/pin.13098.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |
| 1. 著者名<br>Akabane S, Shimizu W, Takakura Y, Kochi M, Taguchi K, Nakashima I, Sato K, Hattori M, Egi H, Sentani K, Yasui W, Ohdan H                       | 4. 巻<br>26              |
| 2. 論文標題<br>Tumor budding as a predictive marker for 5-fluorouracil response in adjuvant-treated stage III colorectal cancer                              | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Int J Clin Oncol   | 6. 最初と最後の頁<br>1285-1292 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s10147-021-01917-9.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |
| 1. 著者名<br>Ishikawa A, Kuraoka K, Zaitso J, Saito A, Kuwai T, Tazawa H, Suzuki T, Tashiro H, Taniyama K, Yasui W  | 4. 巻<br>42              |
| 2. 論文標題<br>Transcriptomic Analysis of Annexin A10 and Chemosensitivity in Gastric Adenocarcinoma Cells   | 5. 発行年<br>2022年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res   | 6. 最初と最後の頁<br>1707-1717 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.21873/anticancerres.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Kano K, Sakamaki K, Oue N, Kimura Y, Hashimoto I, Hara K, Maezawa Y, Aoyama T, Fujikawa H, Hiroshima Y, Yamada T, Tamagawa H, Yamamoto N, Ogata T, Cho H, Ito H, Shiozawa M, Yukawa N, Yoshikawa T, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi Y, Oshima T | 4. 巻<br>34            |
| 2. 論文標題<br>Impact of the ESM-1 gene expression on outcomes in stage II/III gastric cancer patients who received adjuvant S-1 chemotherapy   | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>In Vivo   | 6. 最初と最後の頁<br>461-467 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/invivo.11796.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Yamamoto Y, Oue N, Asai R, Katsuya N, Uraoka K, Sakamoto N, Sentani K, Tanabe K, Ohdan H, Yasui W            | 4. 巻<br>87            |
| 2. 論文標題<br>SPC18 expression is an independent prognostic indicator of patients with esophageal squamous cell carcinoma | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Pathobiol  | 6. 最初と最後の頁<br>254-261 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1159/000506956.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Sakamoto N, Sekino Y, Fukada, Pham QT, Honma R, Taniyama D, Ukai S, Takashima T, Hattori T, Naka K, Tanabe K, Ohdan H, Yasui W | 4. 巻<br>23            |
| 2. 論文標題<br>UC-63+ contributes to gastric cancer progression through regulation of NF- B signaling  | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Gastric Cancer   | 6. 最初と最後の頁<br>863-873 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10120-020-01070-8.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hashimoto I, Oue N, Kimura Y, Hiroshima Y, Hara K, Maezawa Y, Kano K, Fujikawa H, Aoyama T, Numata M, Yamada T, Tamagawa H, Yamamoto N, Ogata T, Shiozawa M, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi Y, Oshima T | 4. 巻<br>40              |
| 2. 論文標題<br>linical significance of glioma-associated oncogene 1 expression in patients with locally advanced gastric cancer administered adjuvant chemotherapy with S-1 after curative surgery                                   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res   | 6. 最初と最後の頁<br>5815-5821 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/anticanres.14599.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kochi M, Hinoi T, Niitsu H, Miguchi M, Saito Y, Sada H, Sentani K, Sakamoto N, Oue N, Tashiro H, Sotomaru Y, Yasui W, Ohdan H | 4. 巻<br>111             |
| 2. 論文標題<br>BRAF mutation leads to increased expression of GREB1 resulting in tumor proliferation in colorectal cancer                   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Sci  | 6. 最初と最後の頁<br>3540-3549 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cas.14558.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ukai S, Honma R, Sakamoto N, Yamamoto Y, Pham QT, Harada K, Takashima T, Taniyama D, Asai R, Fukada K, Naka K, Tanabe K, Ohdan K, Yasui W        | 4. 巻<br>39              |
| 2. 論文標題<br>Molecular biological analysis of 5-FU-resistant gastric cancer organoids; KHDRBS3 contributes to the attainment of features of cancer stem cell | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Oncogene   | 6. 最初と最後の頁<br>7265-7278 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41388-020-01492-9.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Katsuya N, Sentani K, Sekino Y, Yamamoto Y, Kobayashi G, Babasaki T, Oue N, Amatya VJ, Takeshima Y, Yasui W                                    | 4. 巻<br>70            |
| 2. 論文標題<br>Clinicopathological significance of intelectin-1 in colorectal cancer: Intelectin-1 participates in tumor suppression and favorable prognosis | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Path Int   | 6. 最初と最後の頁<br>943-952 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/pin.13027.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Sentani K, Imai T, Kobayashi G, Hayashi T, Sasaki N, Oue N, Yasui W  | 4. 巻<br>24            |
| 2. 論文標題<br>Histological diversity and molecular characteristics in gastric cancer: relation of cancer stem cell-related molecules and receptor tyrosine kinase molecules to mixed histological type and more histological patterns | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Gastric Cancer   | 6. 最初と最後の頁<br>368-381 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10120-020-01133-w.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ukai S, Sakamoto N, Taniyama D, Harada K, Honma R, Maruyama R, Naka K, Hinoi T, Takakura Y, Shimizu W, Ohdan H, Yasui W | 4. 巻<br>112             |
| 2. 論文標題<br>KHDRBS3 promotes multi-drug resistance and anchorage-independent growth in colorectal cancer.                          | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Sci  | 6. 最初と最後の頁<br>1196-1208 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cas.14805.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Kobayashi G, Sentani K, Hattori T, Yamamoto Y, Imai T, Sakamoto N, Kuraoka K, OueN, Sasaki N, Taniyama K, Yasui W                         | 4. 巻<br>84         |
| 2. 論文標題<br>The clinicopathological significance of claspin in gastric cancer: Overexpression of claspin and its association with spheroid formation | 5. 発行年<br>2019年    |
| 3. 雑誌名<br>Human Pathology   | 6. 最初と最後の頁<br>8-17 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.humpath.2018.09.001.  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Hattori Y, Sentani K, Shinmei S, Oo HZ, Hattori T, Imai T, Sekino Y, Sakamoto N, Oue N, Niitsu H, Hinoi T, Ohdan H, Yasui W | 4. 巻<br>74            |
| 2. 論文標題<br>Clinicopathological significance of RCAN-2 expression in gastric carcinoma   | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Histopathology  | 6. 最初と最後の頁<br>430-442 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/his.13764.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する          |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Suzuki K, Sentani K, Tanaaka H, Yano T, Suzuki K, Yasui W, Tamura A, Tsukita S                            | 4. 巻<br>8             |
| 2. 論文標題<br>Deficiency of stomach-type claudin-18 induced gastric tumor formation independent of H. pylori infection | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Cell Mol Gastroenterol Hepatol  | 6. 最初と最後の頁<br>119-142 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jcmgh.2019.03.003.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Naito Y, Yamamoto Y, Sakamoto N, Shimomura I, Kogure A, Kumazaki M, Yokoi A, Yashiro M, Kiyono T, Yanagihara K, Takahashi RU, Hirakawa K, Yasui W, Ochiya T | 4. 巻<br>38              |
| 2. 論文標題<br>Cancer extracellular vesicles contribute to stromal heterogeneity by inducing chemokines in cancer-associated fibroblasts                                  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Oncogene  | 6. 最初と最後の頁<br>5566-5579 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41388-019-0832-4.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Saito Y, Hinoi T, Adachi T, Miyaguchi M, Niitsu H, Kochi M, Sada H, Sotomaru Y, Sakamoto N, Sentani K, Oue N, Yasui W, Tashiro H, Ohdan H | 4. 巻<br>14                    |
| 2. 論文標題<br>Synbiotics suppress colitis-induced tumorigenesis in a colon-specific cancer mouse model   | 5. 発行年<br>2019年               |
| 3. 雑誌名<br>PLos One  | 6. 最初と最後の頁<br>0216393-0216393 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1371/journal.pone.0216393.   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Taniyama D, Taniyama K, Kuraoka K, Yamamoto H, Zaito J, Saito A, Sakamoto N, Sentani K, Oue N, Yasui W | 4. 巻<br>69              |
| 2. 論文標題<br>CD204-positive tumor-associated macrophages in malignant transformation of colorectal adenoma         | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res   | 6. 最初と最後の頁<br>2767-2775 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/anticancerres.13403.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Nishiguchi Y, Fujiwara-Tani R, Sasaki T, Luo Y, Ohmori H, Kishi S, Mori S, Goto K, Yasui W, Sho M, Kuniyasu H | 4. 巻<br>10              |
| 2. 論文標題<br>Targeting claudin-4 enhances CDDP-chemosensitivity in gastric cancer   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Oncotarget  | 6. 最初と最後の頁<br>2189-2202 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.18632/oncotarget.26758.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hashimoto I, Sakamaki K, Oue N, Kimura Y, Hiroshima Y, Hara K, Maezawa Y, Kano K, Aoyama T, Yamada T, Yamamoto N, Ogata T, Ito H, Shiozawa M, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi S, Oshima T | 4. 巻<br>39              |
| 2. 論文標題<br>Clinical significance of PRKCI gene expression in cancerous tissue in patients with gastric cancer   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res  | 6. 最初と最後の頁<br>5715-5720 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/anticancerres.13771  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Maezawa Y, Sakamaki K, Oue N, Kimura Y, Hashimoto I, Hara K, Kano K, Aoyama T, Hiroshima Y, Yamada T, Yamamoto N, Ogata T, Ito H, Cho H, Shiozawa M, Yoshikawa T, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi Y, Oshima T   | 4. 巻<br>146         |
| 2. 論文標題<br>High gamma-glutamyl hydrolase and low folylpolyglutamate synthetase expression as prognostic biomarkers in patients with locally advanced gastric cancer who were administrated postoperative adjuvant chemotherapy with S-1 | 5. 発行年<br>2020年     |
| 3. 雑誌名<br>J Cancer Res Clin Oncol   | 6. 最初と最後の頁<br>75-86 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s00432-019-03087-8.   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Oneyama M, Sakamoto N, Oue N, Kimura Y, Hiroshima Y, Hashimoto I, Hara K, Maezawa Y, Kano K, Aoyama T, Fujikawa H, Yamada T, Tamagawa H, Yamamoto N, Ogata T, Cho H, Ito H, Yukawa N, Shiozawa M, Yoshikawa T, Morinaga S, Rino Y, Masuda M, Miyagi Y, Yasui W, Oshima T | 4. 巻<br>39              |
| 2. 論文標題<br>Clinical significance of KIAA1199 as a novel target for gastric cancer drug therapy   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res   | 6. 最初と最後の頁<br>6567-6573 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/anticancerres.13872.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Ishikawa A, Sakamoto N, Honma R, Taniyama D, Fukada K, Hattori T, Sentani K, Oue N, Yanagihara K, Tanabe K, Ohdan H, Yasui W | 4. 巻<br>43            |
| 2. 論文標題<br>Annexin A10 is involved in the induction of pancreatic duodenal homeobox-1 in gastric cancer tissue, cells and organoids    | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Oncol Rep  | 6. 最初と最後の頁<br>581-590 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3892/or.2019.7422.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

[学会発表] 計28件(うち招待講演 4件/うち国際学会 8件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kenji Harada, Naoya Sakamoto, Shoichi Ukai, Quoc Thang Pham, Daiki Taniyama, Ririno Honma, Ryota Maruyama, Tsuyoshi Takashima, Kazuaki Tanabe, Hideki Ohdan, Wataru Yasui |
| 2. 発表標題<br>Key role of myoferin in oxaliplatin-resistant gastric cancer organoids  |
| 3. 学会等名<br>第80回 日本癌学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Akira Ishikawa, Kazuya Kuraoka, Zaitso Junichi, Akihisa Saito, Toshio Kurai, Yosuke Shimizu, Takeshi Sudo, Hiroataka Tashiro, Kiyomi Taniyama, Wataru Yasui |
| 2. 発表標題<br>Annexin 10 expression is associated with poor prognosis in small bowel adenocarcinoma   |
| 3. 学会等名<br>第80回 日本癌学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kenji Harada, Naoya Sakamoto, Shoichi Ukai, Quoc Thang Pham, Daiki Taniyama, Ririno Honma, Ryota Maruyama, Tsuyoshi Takashima, Kazuaki Tanabe, Hideki Ohdan, Wataru Yasui |
| 2. 発表標題<br>Investigation on the role of MYOF in oxaliplatin-resistant gastric cancer organoids   |
| 3. 学会等名<br>第94回 日本胃癌学会総会   |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Sakamoto N, Naka K, Ukai S, Honma R, Taniyama D, Takashima T, Maruyama R, Tanabe K, Ohdan H, Yasui W |
| 2. 発表標題<br>Analysis on metabolic pathways using 5-FU resistant gastric cancer organoids                         |
| 3. 学会等名<br>The 111 th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (国際学会)                     |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鶴飼翔一, 坂本直也, 本間りりの, 谷山大樹, 高島剛志, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドの樹立およびその機能解析                      |
| 3. 学会等名<br>第109回日本病理学会総会                                   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>丸山諒太, 坂本直也, 谷山大樹, 本間りりの, 鶴飼翔一, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>消化管癌オルガノイドを用いたトリフルリジンの効用の検討                     |
| 3. 学会等名<br>第109回日本病理学会総会                                   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>坂本直也, 仲 一仁, 鶴飼翔一, 本間りりの, 谷山大樹, 高島剛志, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU 耐性胃癌オルガノイドを用いたメタボローム解析                           |
| 3. 学会等名<br>第109回日本病理学会総会   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>原田健司, 坂本直也, 鶴飼翔一, 高島剛志, 丸山諒太, 本間りりの, 谷山大樹, 仙谷和弘, 大上直秀, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>オキサリプラチン耐性胃癌オルガノイドの樹立及びその機能解析                               |
| 3. 学会等名<br>第109回日本病理学会総会   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>大上直秀, 山本悠司, 赤羽慎太郎, 大島 貴, 仙谷和弘, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>消化管癌における新しい癌幹細胞のバイオマーカー             |
| 3. 学会等名<br>第40回日本分子腫瘍マーカー研究会 (招待講演)            |
| 4. 発表年<br>2020年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>鶴飼翔一, 坂本直也, 本間りりの, 谷山大樹, Quoc Thang Pham, 高島剛志, 原田健司, 仲 一仁, 田邊和照, 大段秀樹, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドの樹立とその癌遺伝子学的解析   |
| 3. 学会等名<br>第79回日本癌学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>原田健司, 坂本直也, 鶴飼翔一, Quoc Thang Pham, 高島剛志, 丸山諒太, 本間りりの, 谷山大樹, 田邊和照, 大段秀樹, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>オキサリプラチン耐性胃がんオルガノイドの樹立及びその機能的解析  |
| 3. 学会等名<br>第79回日本癌学会学術総会  |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>丸山諒太, 坂本直也, 谷山大樹, 常國健太, 本間りりの, 鶴飼翔一, 檜井孝夫, 大段秀樹, 安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>大腸癌オルガノイドを用いたトリフルリジン効用の検討                             |
| 3. 学会等名<br>第79回日本癌学会学術総会   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1 . 発表者名<br>Oue N, Yamamoto Y, Asai R, Sakamoto N, Sentani K, Yasui W                          |
| 2 . 発表標題<br>Overexpression of PCDHB9 is correlated with tumor progression in esophageal cancer |
| 3 . 学会等名<br>The 110th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research ( 国際学会 )  |
| 4 . 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1 . 発表者名<br>Pham QT, Oue N, Sekino Y, Yamamoto Y, Sakamoto N, Honma R, Sentani K, Yasui W                            |
| 2 . 発表標題<br>TD02 expression is associated with cancer stem cells and prognosis in esophageal squamous cell carcinoma |
| 3 . 学会等名<br>The 110th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research ( 国際学会 )                        |
| 4 . 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1 . 発表者名<br>Honma R, Sakamoto N, Pham QT, Fukada K, Ukai S, Taniyama D, Hattori T, Sentani K, Oue N, Yasui W                        |
| 2 . 発表標題<br>Analysis of transcribed-ultraconserved region Uc.266+A specifically expressed in colorectal cancer stem cell population |
| 3 . 学会等名<br>Global Academic Programs conference 2019 ( 国際学会 )   |
| 4 . 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1 . 発表者名<br>Yamamoto Y, Oue N, Imai T, Asai R, Tanabe K, Ohdan H, Sakamoto N, Sentani K, Yasui W |
| 2 . 発表標題<br>DSG1 (Desmoglein 1) is involved in spheroid formation of gastric cancer cells        |
| 3 . 学会等名<br>13th International Gastric Cancer Congress ( 国際学会 )                                  |
| 4 . 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Ukai S, Sakamoto N, Honma R, Taniyama D, Takashima T, Sentani K, Oue N, Yasui W |
| 2. 発表標題<br>Generation and functional analysis of 5-FU resistant gastric cancer organoids   |
| 3. 学会等名<br>The 38th Sapporo International Cancer Symposium (国際学会)                          |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Sentani K, Kobayashi G, Imai T, Sakamoto N, Kuraoka K, Oue N, Sasaki N, Taniyama K, Yasui W                              |
| 2. 発表標題<br>Clinicopathological significance of claspin overexpression and its association with spheroid formation in gastric cancer |
| 3. 学会等名<br>The 31st European Congress of Pathology (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>坂本直也、本間りりの、鶴飼翔一、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>オルガノイドを用いた癌幹細胞特異的な遺伝子・分子異常の解析  |
| 3. 学会等名<br>第108回日本病理学会総会 (招待講演) (国際学会)    |
| 4. 発表年<br>2019年                           |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>丸山諒太、谷山大樹、坂本直也、本間りりの、鶴飼翔一、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドを用いたトリフルリジンの効用の検討          |
| 3. 学会等名<br>第108回日本病理学会総会                            |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>谷山大樹、坂本直也、本間りりの、石川 洸、深田佳穂、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>マイクロサテライト不安定性を示す大腸癌オルガノイドの遺伝子異常の検討       |
| 3. 学会等名<br>第108回日本病理学会総会                            |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鶴飼翔一、坂本直也、本間りりの、深田佳穂、谷山大樹、高島剛志、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドの樹立と遺伝子発現解析                     |
| 3. 学会等名<br>第108回日本病理学会総会                                 |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>安井 弥                         |
| 2. 発表標題<br>分子病理学の来し方・行く先とがんゲノム医療における病理学 |
| 3. 学会等名<br>第29回日本臨床検査専門医会春季大会（招待講演）     |
| 4. 発表年<br>2019年                         |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>大上直秀、山本悠司、浅井竜一、赤羽慎太郎、坂本直也、仙谷和弘、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>胃癌の進展におけるDSG1遺伝子の発現と意義              |
| 3. 学会等名<br>第28回日本がん転移学会学術集会・総会（招待講演）           |
| 4. 発表年<br>2019年                                |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>坂本直也、仲 一仁、鶴飼翔一、本間りりの、谷山大樹、高島剛志、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドを用いたメタボローム解析                    |
| 3. 学会等名<br>第78回日本癌学会学術総会                                 |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鶴飼翔一、坂本直也、本間りりの、大島 貴、谷山大樹、高島剛志、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>5-FU耐性胃癌オルガノイドの樹立及びその解析                       |
| 3. 学会等名<br>第78回日本癌学会学術総会                                 |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>谷山大樹、坂本直也、丸山諒太、本間りりの、石川 洸、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>オルガノイドを用いたマイクロサテライト不安定大腸癌の分子生物学的な検討      |
| 3. 学会等名<br>第78回日本癌学会学術総会                            |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>丸山諒太、谷山大樹、坂本直也、本間りりの、鶴飼翔一、仙谷和弘、大上直秀、安井 弥 |
| 2. 発表標題<br>消化管癌オルガノイドを用いたトリフルリジンの効用の検討              |
| 3. 学会等名<br>第78回日本癌学会学術総会                            |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

## 〔図書〕 計1件

|   |                 |
|---|-----------------|
| 1. 著者名<br>Carneiro F, Fukayama M, Grabsch HI, Yasui W                               | 4. 発行年<br>2019年 |
| 2. 出版社<br>World Health Organization   | 5. 総ページ数<br>635 |
| 3. 書名<br>WHO Classification of Tumours - 5th Edition, Digestive System Tumours 2019 |                 |

## 〔出願〕 計1件

|                               |                                      |               |
|-------------------------------|--------------------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称<br>5FU耐性癌治療用医薬組成物    | 発明者<br>安井 弥、坂本直也、<br>鶴飼翔一、本間りりの、仲 一仁 | 権利者<br>広島大学   |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、2019-167410 | 出願年<br>2019年                         | 国内・外国の別<br>国内 |

## 〔取得〕 計0件

## 〔その他〕

|  |
|--|
| 広島大学大学院医系科学研究科分子病理学<br><a href="https://home.hiroshima-u.ac.jp/byori1/index.html">https://home.hiroshima-u.ac.jp/byori1/index.html</a> |
|--|

## 6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(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 |
|---------|---------|