



ムーンショット目標 2

2050 年までに、超早期に疾患の予測・予防をすることができる
社会を実現

実施状況報告書

2024 年度版

生体内ネットワークの理解による

難治性がん克服に向けた挑戦

大野 茂男

順天堂大学 大学院医学研究科



1. 当該年度における研究開発プロジェクトの実施概要

(1) 研究開発プロジェクトの概要

本研究開発プロジェクトは、すい臓がん(以下膵がん)などの難治性がんの予測・予防法を2050年までに開発することを目指している。具体的には、特に膵がんに関心した患者生体データの統合解析の共有プラットフォームを構築し、これを活用することにより、最初の5年間でプロジェクト内での基礎・臨床研究者や数理・AI研究者が緊密な連携・共同研究を通して必要な情報を有機的・体系的に収集するとともに、膵がんなどの難治性がんの予測・予防のためのバイオマーカー及び治療標的候補を抽出し、前臨床POCを取得することを目指している。

(2) 研究開発プロジェクトの実施状況

本年度は、これまでに整備された患者生体データの統合解析の共有プラットフォームの運用と動物・オルガノイドモデルなど、前年度までに各研究課題推進者が構築した研究リソースや研究成果を集約するとともに、各課題推進者の有する独自の技術基盤などを最大限に活用して、プロジェクト内での連携をさらに強化し、特に超早期(未病)・早期の解明と予測・予防法の開発に焦点を当て、基礎・臨床研究を推進し、大きな成果を得た。

研究開発項目 1:

「患者生体データの統合解析に基づく最適医療(My Medicine)の要素技術の開発」

正常、未病から進行がんに至る様々な段階の患者由来の生体試料サンプル(血液、体液、がん組織、近傍の正常組織、およびオルガノイドなど)、臨床データ(血液生化学データ、画像など)からなる患者生体試料リソースプラットフォームの充実と本格運用を開始した。がん初期のゲノム・エピゲノム異常の解明に向けて非がん膵組織を構成する上皮細胞の体系的解析を進めた。また、がんの発生・進展の時系列解析のために、同一患者から複数のオルガノイドクローンを体系的に取得し、解析を開始した。プロジェクト内共同研究により、膵がんの自然史に沿った進行規定因子、バイオマーカーの抽出に向けた多層的なオミックス解析を進めた。患者由来がんオルガノイド培養プラットフォームの技術開発も進め、膵がんの悪性化(扁平上皮分化)の再現、膵がん発生の最初期と目されるヒト膵腺房細胞由来オルガノイドの樹立、超早期病変 ADM の再現、ゲノム変異シグネチャーの決定などに成功した。

並行して、蓄積した血液検体、画像データを用いて、AIを活用した高精度かつ非侵襲的な診断する手法を確立した。一つは、血液検体を用いたもので、miRNA および CA19-9 の組合せによるもので、もう一つは CT/MRI 画像を用いたものであり、これまで困難であった Stage 0 を含めて、Stage I などの超早期～早期段階の膵がんを高い精度で検出できる。

研究開発項目 2:

「超早期・早期・浸潤・転移機構の動物・オルガノイドモデル開発、統合解析と検証」

患者生体リソースを利用したデータの統合解析に向けて、健常～早期膵がんサンプル

のオルガノイドデータ 69 サンプル(16 個人由来)について疑似時系列解析を進めて手応えを得た。更に、生成 AI 技術の応用範囲を拡張する取り組みとして、免疫組織化学画像、空間的遺伝子発現データ(Visium および Xenium)の構築を実施すると共に、統合的データ解析技術を時系列データへと発展させる取り組みを進めた(PCT 出願中)。

オルガノイド技術についても更なる技術開発を進め、自然免疫系細胞のネットワークを有したオルガノイド、生体肝臓の **Zonation** (機能的な多層構造)を備えたオルガノイドの誘導法など、多様な微小環境を有する臨床がんを疑似化するための細胞操作技術を開発した。一細胞レベルの形態・追尾動態が可能な画像解析プラットフォームを確立し、免疫系細胞の活性化に特徴的な微小環境内の挙動や他細胞種との相互作用などを解析するための基盤 (**single cell choreography**) も構築した。

膵がん患者由来オルガノイドを用いたイメージング解析とイメージングプローブ開発を推進した。がん細胞と周囲環境の微細形態イメージングプラットフォームを構築した。

研究開発項目 3:

「がんの自然史(超早期・早期・浸潤・転移)の理解と細胞生物学的治療コンセプトの創出」

膵がんの超早期の診断に用いるマーカー分子、超早期での介入のための創薬標的分子の候補の絞り込みの研究が佳境に入り、新たな絞り込み戦略の確認と、多数の候補分子の絞り込みと検証が大きく進んだ。

老化細胞の検出法、細胞老化を誘導する新機構の解明、老化細胞の代謝変化、老化細胞に細胞死を誘導する機構、老化細胞が分泌する SASP を誘導するエピゲノム異常の解析と膵がん前がん病変 PanIN の検出、老化細胞特異的酵素活性スクリーニングなどが大きく進み、腸内細菌との関係の解析や発現誘導機構、超早期病変の診断マーカーと、超早期膵がんの治療標的の絞り込みと検証が進んだ。老化細胞の細胞死耐性機構の解析から、間質の老化細胞と膵がん細胞、抗がん剤処置により細胞老化が誘導された膵がん細胞に共通して鉄依存性細胞死であるフェロトーシスに耐性であることを見出すなど、フェロトーシスの役割と機構に関する解析も大きく進んだ。例えば、フェロトーシス抵抗性ならびにプラチナ製剤に対する感受性を高める新戦略等の研究が進んだ。

前がん病変 ADM で発現が亢進する CD44v6 については、集積するマクロファージの機能的役割についての解析を進め、CD44v6 の上流及び下流の分子群・シグナル伝達経路を明らかにした。また、CD44v6 陽性の膵臓前がん病変 ADM/PanIN をターゲットとした非侵襲診断法の確立に向けて、発症マウスモデルでの検証に成功した。頂底極性、平面極性の遺伝子群についても、超早期病変における発現を検出するなど、役割と機構の解析が進んでいる。

(3) プロジェクトマネジメントの実施状況

再構築した PM 支援体制により円滑なプロジェクト運営を進めた。プロジェクト内での情報流通の円滑化に向けて、様々なイベントや関連研究の動向などを課題推進者に定期的に配信する試みも開始した。若手の育成への取り組みを継続した。月例で課題推進者の発表会を継続し、様々な関連分野の専門家をプロジェクトのアドバイザーとして招聘することにより、事業化戦略及びグローバル展開、技術移転先、将来的な顧客開拓などに関して、

必要に応じた助言を受ける体制を構築した。データマネジメントに関して、各解析プラットフォーム内部、そして数理解析プラットフォームとの綿密な調整を進めた。臨床情報を含むデータをプロジェクト内で利用する為の取り組みも継続して進めた。

2. 当該年度の研究開発プロジェクトの実施内容

(1) 研究開発項目1:患者生体データの統合解析に基づく最適医療(My Medicine)の要素技術の開発

研究開発課題1:患者生体試料リソースプラットフォームの構築と運用

当該年度実施内容:

患者生体試料リソースプラットフォームの拡充と利用を推進した。

正常、未病から進行がんに至る様々な段階の難治性がん患者由来の生体試料サンプル(血液、体液、がん組織、近傍の正常組織、およびオルガノイドなど)、臨床データ(血液生化学データ、画像など)からなる患者生体試料リソースプラットフォームを充実させた。既存の生体試料も併用しつつ、プラットフォームを実効的に運用した。とくに「膵がんに至る超早期病変、早期病変からのオルガノイドの樹立と運用」に焦点をあてた活動を行った。がんの発生・進展の精密な時系列解析のために、昨年度から同一患者から複数のオルガノイドクローンの取得を進め現在までに 5 名の患者(最終病理診断による分類で、CIS 2 例、微小浸潤がん 1 例、IPMN 1 例、手術待機中 1 例)から得られた、4、7、3、92、および、32 クローンの合計 139 クローンを得た。

がん組織において失われてしまった初期のゲノム・エピゲノム異常の解明に向けて非がん膵組織を構成する上皮細胞のゲノム・エピゲノム異常の解析を進め、膵管上皮細胞におけるドライバー変異を複数同定すると同時に、系統樹解析を進め、変異蓄積速度の異なるクローンの存在を見いだした。

他の研究開発課題、研究開発項目とも連携して、多層的なオミックス解析を行い、正常や未病を含む膵がんの自然史に沿った進行規定因子、バイオマーカーを抽出するため、リソースおよびデータの集積と解析を進めた。ゲノム解析(慶應大学・片岡グループ、京都大学・垣内グループとの共同研究)、空間トランスクリプトーム解析、細胞老化解析(神戸大学・南グループ、大阪大学・原グループとの共同研究)を推進した。正常組織、超早期病変、早期病変、および進行がん組織を用いた空間遺伝子発現解析により、膵臓上皮細胞および周囲の微小環境において、膵がんの悪性化過程の時系列に応じた特徴的な遺伝子発現の変化が確認され、がん随伴正常細胞(AN)、前がん細胞(Pre)、がん細胞の3つのクラスターが存在することが示唆された

TP53 の欠損オルガノイドを人工的に作製して長期 in vitro 培養することにより、がん発生過程を in vitro で再現する事に成功した。また、遺伝子変異(genetic driver)以外の未知の膵臓がん造腫瘍能獲得に必要な non-genetic driver の解明に向けた候補遺伝子の探索を進めた。

並行して、高精度かつ非侵襲的な早期膵がん検出法を確立した。AI によるディープラーニングを用い、膵がんの診断に有用な 100 種類の miRNA および CA19-9 の組合せを

同定し、Stage 0、Stage I など超早期～早期段階の膵がんを非侵襲的に診断する手法を開発した。臨床イメージングを用いた早期病変の検出プラットフォームを構築についても、AI を用いた画像解析による早期がんを含む膵がん検出プログラムの検証を行い、その有用性が示された。

単一細胞外小胞解析 (sEV: single extracellular vesicle) に用いる複数のマーカー候補分子の抗体について、オルガノイドの培養上清を用いて選定し、PDAC 患者、CIS 患者、非がんの患者由来血清で測定するパイプラインを構築した。さらに、公共データベースと樹立した膵臓がんオルガノイドの発現データの統合解析によりマーカー候補分子を選定し、ExoView により患者検体での検証を進めた。

課題推進者:

妹尾 浩(京都大学)、児玉 裕三(神戸大学)、垣内 伸之(京都大学)、今井 俊夫(神戸大学)、大野 茂男(順天堂大学)

研究開発課題2: 患者由来がんオルガノイド培養プラットフォームの開発とその応用展開 当該年度実施内容:

患者由来がんオルガノイド培養プラットフォームの更なる技術開発も進み、膵がん進化の終末像: 扁平上皮分化をヒトオルガノイドで再現することに成功した (Tamagawa, NCB, 2024)。また、膵がん発生の最初期: ヒト膵腺房細胞由来オルガノイドの樹立に成功すると同時に、ADM の再現、ゲノム変異シグネチャーの決定を行った。

オルガノイドの生物学的解析基盤を確立する一環として、患者由来オルガノイドのうち、膵正常組織由来オルガノイドの樹立プロトコルを改良し、同一患者・同一組織内で由来細胞ごとにオルガノイドを樹立することが可能になった。由来細胞ごとに樹立したオルガノイドのゲノム解析により、膵癌と共通する変異シグネチャーにおける差異、および一部の遺伝子にリカレントな変異を見出した。これらのデータをもとに、膵正常組織由来オルガノイドにゲノム編集を行い、表現型の検証をおこなっている。少量オルガノイド検体からのゲノム解析技術をチーム内で共有し、膵臓がん発症メカニズム解明の基盤となる正常組織における細胞種類ごとの全ゲノム配列データを取得した。

課題推進者:

佐藤 俊朗(慶應義塾大学)

研究開発課題3: オミックス解析基盤の構築・多階層統合解析共有プラットフォームの構築と運用 当該年度実施内容:

オミックス解析基盤、及び多階層統合解析共有プラットフォームの構築を進めると同時に、その運用を推進した。

前年度までに整備した基盤に基づいて、正常・超早期・早期症例由来の臨床検体・オルガノイド(神戸大学 児玉グループなどが樹立) の全ゲノム解析を実施した。また、

全ゲノム解析データ共有体制の構築を継続した。前年度までに整備した基盤に基づいて、正常・超早期・早期症例由来の臨床検体・オルガノイドの RNA シーケンスを実施した。また、RNA シーケンスデータ共有体制の構築を継続した。

水溶性・脂溶性代謝物の解析を 15 オルガノイドを用いて実施した。臨床データ、画像データ、ゲノムデータ、水溶性代謝物プロファイル、phenotype データなどと統合し、数理解析によってオミックス多階層統合解析共有プラットフォームの構築を計画通り推進した。計画通り 120 検体の水溶性・脂溶性代謝物の解析を実施した。また、これまでに見いだした候補代謝物の関連代謝物、ならびに関連酵素の発現レベル・酵素活性についても着目して解析し、メタボローム解析にて見出したがん関連代謝物の病態における役割について解析を進めた。

これまでに開発してきた膜小胞エクソソームの絶対定量システム (ExoCounter) を応用して、膵癌特異的な糖鎖構造有するマーカーエクソソームを指標とした膵がん予後予測への応用にも成功した (Cancer Sci, 2024)。さらに機器基盤構築と抗体・レクチンライブラリー化を進めている。また、イメージングメタボロミクスを駆使した包括的代謝イメージングシステムを用いた癌病変組織における代謝変動解析から膵がんや卵巣がんなどの難治性がんの病変部位において persulfide 化された代謝物の亢進に着目し、機能成分、代謝物の選定など機能解析と薬剤最適化を進めた。

課題推進者:

片岡 圭亮(慶應義塾大学)、篠原 正和(神戸大学)、加部 泰明(高知大学)、片桐 豊雅(医薬基盤・健康・栄養研究所)

(2) 研究開発項目2:超早期・早期・浸潤・転移機構の動物・オルガノイドモデル開発、統合解析と検証

研究開発課題1:患者生体データの統合解析を通じた発症・浸潤・転移のネットワーク解析 当該年度実施内容:

患者生体データの統合解析のために、オミックスデータを用いた予備解析と数理モデル作成に向けた検討を開始した。

京都大学・垣内グループとの共同研究で供与された健常～早期膵がんサンプルのオルガノイドデータ 69 サンプル(16 個人由来)を用いて疑似時系列解析を行った。この結果、異なる個人由来のオルガノイドデータであるにも関わらず、健常から KRAS 変異へと変化する様子が観察された。さらに、潜在変数モデルを用いて、個体差を超えた遺伝子発現変動に対する影響を検討したところ、KRAS 変異で特異的に変動する遺伝子を同定した。潜在変数モデルの結果に対してエンリッチメント解析を行い、炎症に関与する GO を持つ遺伝子群が増加するなど、他の大野プロジェクト内での研究結果と整合性があるデータが得られている。これらの結果は京都大学・垣内が持つ 69 サンプルに対する結果であり、予備的な位置づけである。現在、全てのオルガノイドデータ(約 200 サンプル)を用いた解析を行うため、倫理手続きを進めた。

マウスを用いた多階層オームデータを用いた多階層ネットワークの推定を行い、多階層

の時系列オームデータ(エピゲノム・トランスクリプトーム・発現プロテオーム・リン酸化プロテオーム・メタボローム; 5~20 週齢の 10 時点)の統合解析を行った。これにより、長期的な多階層にまたがるネットワークの変容がどのような順番で進行していくのかを検討することが出来るようになった。

生成 AI 技術の応用範囲を拡張する取り組みとして、免疫組織化学画像に対するパイロット解析ならびに、空間的遺伝子発現データ(Visium および Xenium)の構築を実施した。特に免疫組織化学画像に関しては、対応する組織領域間のマッピングの一致度が解析精度に大きく影響するため、対応付けに特化したエンジニアによる高精度なアライメントを実現した。さらに、理化学研究所 AIP センターのスーパーコンピュータRAIDEN および GPU ワークステーションを活用し、並列計算による効率的なパラメーター推定を行った。また、応用の一環として組織透明化画像解析も継続的に実施した。

疾患の超早期予測に挑戦するための準備として、これまでに開発してきた統合的データ解析技術を時系列データへと発展させる取り組みを進めた。現時点では、(1) 症例数およびタイムポイントのいずれにおいてもデータ量が限定的であること、(2) 欠損値やノイズが多く、パラメーター推定が現実と乖離しやすい、という 2 点の課題が存在している。これらの課題を克服するため、当該分野に専門性を有するエンジニアのリクルートを行うとともに、数理生物学の知見を取り入れた基盤技術開発を行った(PCT 出願中)。さらに、数理・生物の融合を推進するために、妹尾ら(京都大学)と同プロジェクトにおけるミーティングを行い、基盤技術の深化に取り組んだ。

課題推進者:

久保田 浩行(九州大学)、山本 陽一郎(理化学研究所)

研究開発課題2:難治性がんの動物モデル、オルガノイドモデルの展開とネットワーク解析・生体データの取得、発症・浸潤・転移のネットワーク解析

当該年度実施内容:

がん研究に最適化したオルガノイド培養法、がん細胞と微小環境ネットワークの相互作用、患者オルガノイドを用いた薬剤感受性などの生物学的解析基盤の確立などを進めた。

未病状態および発がん患者の細胞・組織より iPS 細胞を 15 件樹立し、これまでに構築しニッチ細胞の誘導法を用いてオルガノイドを構築した。膵がんの転移先となる肝臓を対象として、間質系・免疫系細胞が肝細胞と同時発生するオルガノイドや、肝類洞内皮細胞を含んだ多層血管構造を有し、免疫不全マウスに移植すると血液が灌流するヒト肝類洞を再構成可能なオルガノイドを構築することに成功した。自然免疫系細胞のネットワークを有したオルガノイドや、生体肝臓に存在する Zonation を備えたオルガノイドの誘導法を新たに構築し、多様な微小環境を有する臨床がんを疑似化するための基盤的細胞操作技術を開発した (*Nature, in press*)。

iPS 細胞から血管内皮細胞などの微小環境構成細胞を分化誘導し、オルガノイドと共培養・統合する技術を構築し、シングルセル RNA-seq 解析により、臓器特異的な複数の血管内皮サブタイプが再構成されていることを確認した。また、ヒト血管・間質

細胞を有したオルガノイドをマウス頭部観察窓内に移植を行うことで、マウスからの血液灌流が担保された状態で、ヒトオルガノイドやヒト血管における病変の早期検出・時系列解析が可能な intravital imaging 系を構築した。さらに、一細胞レベルの形態・追尾動態が可能な画像解析プラットフォームを確立し、免疫系細胞の活性化に特徴的な微小環境内の挙動や他細胞種との相互作用などを解析するための基盤 (single cell choreography) を構築した (*Developmental Cell*, 2025)。また、がん微小環境において使用されうる細胞間相互作用の新たなメカニズムとして、細胞間ナノチューブ構造を介して特定の RNA が細胞間を移動して、受け取った細胞の運命転換が生じることを明らかにした (*PNAS*, 2024)。

微小環境ネットワークを有したオルガノイドモデルを用いて、前がん状態に対してヒトレベルでの病態改善が可能な薬剤の評価を行った。具体的には、前がん状態の進行に対してリスク遺伝子多型を有するオルガノイドと持たないオルガノイドを対象として、NAD 生合成経路を標的とした薬剤の有効性を評価し、リスク遺伝子型のオルガノイドの脂質代謝が改善されることを明らかにした。

課題推進者:

武部 貴則(大阪大学)

研究開発課題3:イメージング解析プラットフォームの構築と運用・イメージングプローブ開発と応用展開

当該年度実施内容:

膵がん患者由来オルガノイドを用いたイメージング解析とイメージングプローブ開発を推進した。がん細胞と周囲環境の微細形態イメージングプラットフォームを構築した。

昨年度までに確立したヒト膵がん患者由来オルガノイドについて、それを皮下、および膵臓に移植し観察する実験系を進展させ、細胞外微小環境であるコラーゲンおよび血管の可視化を加え、ERK 活性と同時に観察し、コラーゲン繊維の少ない場所で ERK 活性の不均一性が高いことを明らかにした。バイオセンサー発現免疫不全マウスを用いることで、移植した患者由来膵がんオルガノイドの周辺に宿主細胞(マクロファージ、NK 細胞、好中球など)が集積する様子を観察することに成功し、それに応じて腫瘍細胞においてカルシウム濃度が変化することを明らかにした。また、CD44v6 発現細胞の膵臓での出現、さらにその長期的な増殖などの変化の検出に貢献した。

ヒト膵がん患者由来オルガノイドの詳細な画像解析により、細胞増殖を制御する ERK シグナル経路と栄養代謝およびオートファジーを制御する AMPK シグナル経路の間に逆相関関係を認め、両者の活性のバランスが細胞増殖の初期と後期で変化することを明らかにした。

膵がんオルガノイド由来のライセートサンプルを用いた、がんバイオマーカー酵素活性の探索を行い、exo 型ペプチダーゼ蛍光プローブの中に、特に高い T/N 比を与える一連の配列を持つプローブを見いだした(ターゲット酵素は特定の exo 型ペプチダーゼ)。さらに、当該酵素活性を活用したプロドラッグ型低分子治療薬の設計・開発を開始し、プロドラッグ自身は PBS 中で安定に存在し、かつ強い毒性を持たないこと、またターゲット酵素と反

応して SN-38 を放出することを確認した。

プローブ群応答の AI 解析に基づく患者の層別化と個別化医療サポート技術の確立にむけ、がん研究所が所有する 39 種類のがん細胞が有している酵素活性パターンを、生細胞で評価する実験を鋭意行い、それを完了した。

超早期、早期のがんの診断、あるいは再発予測に向けた数理解析における、電子顕微鏡用サンプルの画像情報の有用性の検討を進め、光学顕微鏡とのペア画像の取得は 70%まで終了した。

マウスモデルにおいて、細胞競合にかかわる遺伝子の働きの可視化、腫瘍の低酸素領域を可視化する三次元標識法、および、臓器中で酵素活性をプローブする三次元標識法を開発した。マウス組織内に播種した患者由来オルガノイドの成長を観察した時系列データに対し、細胞群の移動追跡およびオルガノイド内での個々の細胞の追跡を実施した。個体間の臓器レジストレーションアルゴリズムと、細胞の表情特徴抽出アルゴリズムを応用し、オルガノイド独特の性質である分裂・融合にも対応した、追跡アルゴリズムを開発した。

課題推進者:

松田 道行(京都大学)、浦野 泰照(東京大学)、米村 重信(徳島大学)、黒田 真史(東京大学)

(3) 研究開発項目3:がんの自然史(超早期・早期・浸潤・転移)の理解と細胞生物学的治療コンセプトの創出

研究開発課題1:腸内細菌叢、がん免疫、代謝の視点からの生体内ネットワーク解析と創薬開発

当該年度実施内容:

腸内細菌叢、がん免疫、代謝の視点からの生体内ネットワーク解析と創薬開発を推進した。

がんの発症や進展に及ぼす腸内細菌と細胞老化反応の関与を調べる目的で、がん発症モデルで、老化誘導 p16^{INK4a} 蛋白質が肝がんのがん微小環境を構築する肝星細胞と一部の免疫細胞に発現していることを見出した。また、RNA 発現(scRNAseq)と腸内細菌叢の解析から、がんの発症や進展に伴い細胞老化反応と腸内細菌の変化が共にみられることを確認した。

ヒトの膵がん組織での解析の目的で、昨年度に引き続き早期がんから進行がんまでの収集を行った。細菌がコンタミするリスクを下げるために、術中に病理診断医の確認の下で慎重にがん組織の収集を進めた。In situ hybridization 解析と p16^{INK4a} 蛋白質の組織染色により絞り込み、更に絞りこんだ領域を用いて 1 細胞レベルでの空間トランスクリプトーム解析 (Xenium)と細菌の 16SrRNA 遺伝子メタシーケンス解析を行った。その結果、これまで膵がんのがん微小環境を構築する組織ではがん細胞が多く存在するエリアと線維芽細胞(Cancer associated fibroblasts: CAF)や免疫細胞 (Tumor associated Macrophage: TAM) などの間質の細胞が多く存在するエリアとである程度分かれていると考えられていたが、実際にはがん細胞が多く存在するエリアにも CAF がかなり存在し、そのうちの幾つかは細胞老化反応を示していることが

明らかとなった。また、非腫瘍部に比べ、腫瘍部では存在する腸内細菌の量と組成が変化していることも見出した。

代謝変化によるがん幹細胞性の維持機構の解明にむけて、軟骨肉腫において発現上昇する因子が代謝酵素として産生した α -KG を介したエピゲノム制御によって分化制御因子の発現を抑制すること、および、細胞分裂時に紡錘体と共局在し、酵素活性非依存的に ROS を除去することで細胞分裂を促進することを発見した。トリプルネガティブ乳がんにおいて、特定のアミノ酸濃度が高い細胞が高い腫瘍形成能を有していること、また、そのアミノ酸濃度を維持するために、下流の代謝酵素複合体の活性が抑制されていることを見出した。この酵素の阻害薬の探索と、効果が期待されるがん種や関連バイオマーカーの同定を進め 11 種の候補化合物を同定した。

膵がん微小環境におけるストレスと NMD 阻害に注目したがん治療コンセプトの創出にむけて、SMG1 阻害剤と新規合成 RNA 代謝ラベル法を用いた mRNA 半減期解析を実施し、阻害剤により mRNA の①安定化、②蓄積が共に見られる 161 個の SMG1 標的遺伝子セットを同定した。更に、新たに同定した新規 NMD 阻害剤候補 2 種が培養細胞において確かにこの SMG1 標的遺伝子セットを蓄積させることを確認した。さらに、令和 4～5 年に実施した NMD 阻害ストレスのマウス投与解析データを改めて解析し、マウス肝臓において、これらの条件で NMD 阻害が起きていることを示すことに成功した。また、培養細胞を用いた検討により、培養条件を一部変更するだけで NMD が抑制できる条件があることを明らかにした。また、一部の NMD 制御因子がストレス依存的にリボソームに結合することを発見し、ストレス依存的な NMD 抑制メカニズムの一部である事を見いだした。

課題推進者:

原 英二(大阪大学)、服部 鮎奈(京都大)、山下 暁朗(琉球大学)

研究開発課題2: 幹細胞、細胞死、細胞老化の視点からの生体内微小環境ネットワーク解析

当該年度実施内容:

がん幹細胞、細胞死、細胞老化と生体内微小環境ネットワークとの機能関連に関する研究を推進した。

老化細胞の代謝変化の解明に向けて老化細胞特異的な生存維持因子として同定したポリアミン代謝酵素 SAT1 の解析を進めた。老化細胞の細胞死を抑制する化合物として PARP2 阻害剤を同定した。PARP2 が老化細胞の細胞死を誘導する可能性が示唆された。また、細胞老化マーカー p16 の発現誘導に必要な因子を網羅的に探索するゲノムワイド siRNA スクリーニングによりミトコンドリア外膜に局在する BNIP3 や NDUFA8 など脂肪酸酸化に関連する遺伝子群を同定し、様々な解析により老化細胞では DNA 損傷により活性化した ATM がミトコンドリアに局在する BNIP3 をリン酸化により活性化し、BNIP3 が脂肪酸酸化を促進することで細胞老化が誘導されることを見出した (Yamauchi *et al.*, *Sci. Adv.*, 2024)。独自に構築した細胞競合マウスモデルを用いて、FGF21 が様々な肝臓がん誘導モデルにおいて細胞競合を介して腫瘍形成を抑制する可能性が示唆された。浸透圧ストレス環境で生存に重要な転写因子 NFAT5 が HES1 に機能調節され、HES1 の抑制でがん細胞の細胞死が促進される知見を得た (Ryuno *et al.*, *Commun. Biol.*, 2024)

小細胞肺がんのサブタイプでオートファジー不全、炎症関連遺伝子の発現亢進、p62 発現亢進と依存性増加をみいだした。卵巣がん、小細胞肺がんモデルを用いて治療抵抗性がん細胞のマルチオミクス解析を行い、p62 の発現亢進が、フェロトーシス抵抗性ならびにプラチナ製剤に対する抵抗性獲得に関与することが明らかとなった。更に p62 の発現を低下させることのできる低分子化合物を取得し、マウスモデルでフェロトーシス感受性を高めることで抗がん剤抵抗性を抑制し、PD-L1 の発現を低下させることで T-細胞による腫瘍免疫を活性化させる効果があることを見いだした(特許申請(特願 2025-030797))。早期膵がんが疑われる患者から採取した膵液検体を解析した結果、膵がんの前癌病変である膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)において、特に high-grade 病変における可溶性 CD44v9 の検出率が高く、病変の悪性度との関連が示唆された。

難治性がんの発症や進展に関わる SASP を誘導するエピゲノム異常を生体内で検出するために、膵がん患者由来組織検体を用いて、エピゲノムの異常を指標として発がんストレスを受けた細胞を超早期に検出できるかどうか検討を行った。その結果、浸潤性膵がん細胞に加えて、前がん病変である PanIN1 の細胞もエピゲノム異常によって検出できることを示し、超早期病変の診断マーカーとして有用なことを示した。老化細胞特異的酵素活性スクリーニングを行った結果、DPP4(dipeptidyl peptidase 4)活性標的プローブ(XP-HMRG)を同定した。XP-HMRG プローブをマウスモデルに投与し Whole body イメージングや共焦点イメージング観察を行ったところ、生体内で老化細胞を検出できることを明らかにした(Tanaka *et al.*, Cancer Sci., 2024)。これらのプローブを難治がんモデルマウスに投与することで、超早期病変をイメージングによって検出が可能かどうか検討を行っている。老化細胞の細胞死耐性機構の解析から、間質の老化細胞と膵がん細胞、抗がん剤処置により細胞老化が誘導された膵がん細胞に共通して鉄依存性細胞死である Ferroptosis に耐性であることを見出した。そこで、これらの細胞に Ferroptosis を誘導できる薬剤を開発し、膵がんゼノグラフトモデルや遺伝子改組マウス(KC モデル)に投与することで、膵がんの発症と進展を抑制できることを示した(Loo *et al.*, Nature Commun., in press)。

課題推進者:

一條秀憲(東京科学大学)、永野 修(藤田医科大学)、高橋 暁子(がん研究会がん研究所)

研究開発課題3:がん超早期・早期病変に対する細胞生物学的治療コンセプトの創出 当該年度実施内容:

ヒトがん細胞株、膵がん発症マウスモデル、ショウジョウバエ上皮モデルを用いて、がん細胞排除機構、細胞極性制御機構の解明を推進した。

細胞極性因子 PKC λ 結合タンパク質として正常な 3 次元シストの形成に関与する新規低分子量 G タンパク質の GDP-GTP 交換因子(GEF)を同定し、がん患者の予後に関連すること、がん微小環境に応答して発現が変化し、細胞極性に関与する可能性を見出した。加えて、膵がん発症マウスのシングルセル RNA の時系列データ、膵がん患者オルガノイドの発現や臨床データを用いて、データ駆動型の解析を進め、膵がんの超早期・早期病変にて発現が変動する遺伝子群の抽出に成功した。細胞極性に関連する遺伝子を中心に膵

がんモデルマウスの免疫組織化学を行い、膵がん発症の超早期イベントにて発現変化する予備的結果を得た。また、PKC λ が、がん幹細胞の非対称分裂に関与し、解糖系代謝能を不均等に分配することを見いだした (Tamori et al., Sci Rep. 2025)。膵がんにおいても、PKC λ が膵がん幹細胞の非対称分裂を制御することでがんの不均一性に関与し、膵がんの予後に関連することを見出している (Kasai et al 2023)。また、相互情報量を用いた情報論的手法を開発し、診断時の遺伝子発現情報から 10 年後の晩期再発を予測する遺伝子シグネチャーを特定した (Tamori et al., in preparation)。この新しいデータ解析法を膵がん患者オルガノイドおよび膵がんモデルマウスの RNA-seq データへと拡張し、がんの不均一性に関わる遺伝子ネットワークと超早期・早期がんのバイオマーカーの探索を進めた。

細胞形態変化・血管擬態に着目したがん治療コンセプトの創出に向け、肺腺がん細胞、膵がん細胞等がマトリゲル中で構築する血管擬態の分子機構について、高発現している極性制御分子 Ror1 や Rho ファミリー低分子量 G タンパク質が血管擬態形成に必要な糸状突起を介した細胞間結合に重要な役割を担うことを明らかにした。早期 (ステージ 0) 膵がんオルガノイドや膵がん患者臨床検体 (FFPE 検体) 等においても Rho ファミリー低分子量 G タンパク質が高発現しているという知見を契機に、膵がん細胞で高発現している Rho ファミリー低分子量 G タンパク質が、膵がん細胞にフェロトシス耐性能や制がん剤耐性能を付与することを明らかにした。Rho ファミリー低分子量 G タンパク質やその共役分子がミトコンドリア機能 (膜電位、酸化的リン酸化等) や脂質過酸化を制御し、フェロトシス耐性や制がん剤耐性の獲得に重要な役割を担うことを明らかにした。国際共同研究により、がん細胞では (xCT-GPX4 経路に加えて、) AMPK-ALDH7A1-FSP1 経路がフェロトシス耐性において重要な役割を担うことを明らかにした (Cell, 2025)。がん細胞は周囲環境へ順応する過程において、細胞内で核周辺部に偏って分布するリソソームが、KIF1C の発現阻害により細胞質全体に分布することを見出し、KIF1C ががん細胞の細胞外環境への応答においてリソソームの細胞内輸送さらにはオートファジーを制御することを明らかにした (Commun. Biol., 2024)。

膵臓の前がん病変 ADM に集積するマクロファージの機能的役割についての解析を進め、発現が亢進する CD44v6 の上流及び下流の分子群・シグナル伝達経路を明らかにすることに成功した。single-cell RNAseq 解析の結果、ADM/PanIN 病変に集積するマクロファージには 10 以上のサブタイプが存在、早期 ADM の周囲に集積するマクロファージは、IL-6、fibronectin、THBS1、複数の MMP を高発現すること、その中でも fibronectin と MMP の発現は ADM 病変のマクロファージ周囲で特異的に亢進し、これが ADM/PanIN 病変に特徴的な間質の増大を誘起していることが明らかになった。加えて、ADM/PanIN の前がん細胞では integrin $\alpha 6/\beta 4$ の発現が亢進しており、ECM とそれに結合するインテグリンの両者が大きく変化していること、MEK 阻害剤を投与すると CD44v6 の発現、マクロファージの集積、ADM の進展の全てを強く阻害することが分かった。また、ADM/PanIN 病変では周囲の腺房細胞と比較するとリン酸化 ERK が強く亢進していることも明らかになった。これらのデータは、CD44v6 の上流で MAPK 経路が重要な働きを果たしていることを示している。マウス・ヒトの膵臓において、CD44v6 は正常な状態ではほとんど発現が見られず、前がん病変と進行がんにおいてのみ発現が亢進する。そこで、CD44v6 抗体に PET (Positron

Emission Tomography) 診断用放射性核種を標識した PET 診断薬を用いて、CD44v6 陽性の膵臓前がん病変 ADM/PanIN をターゲットとした非侵襲診断法の確立を目指し、マウスモデルを用いた解析を行い、膵臓前がん病変に対する、新規診断法の開発に道を拓く結果を得た。CD44v6 抗体 10 µg を KC マウスに投与し、24-48 時間後に膵臓を摘出し、CD44v6 抗体に対する蛍光二次抗体で検出すると、ほぼ全ての ADM/PanIN 病変が蛍光染色されることを確認した。放射性同位元素である Indium で CD44v6 抗体をラベルし、WT および KC マウスへ尾静脈投与したところ、オートラジオグラフィーで Indium ラベル CD44v6 抗体の膵臓内分布を可視化できた。

細胞競合の敗者となる「がん原性の極性崩壊細胞」および「タンパク合成能が低下した Minute 変異細胞」では、「JNK 依存的なエキソサイトーシスの活性化が増殖因子 Wg (Wnt ホモログ) の分泌を引き起こし、それによって自身の細胞死と周辺細胞の細胞増殖を誘導する」ことを明らかにした。さらにこの仕組みが、JNK を活性化した細胞で共通して引き起こされる恒常性維持機構であることも明らかにした (Akai *et al.*, *iScience*, accepted)。腫瘍成長の超早期段階に形成される ADM (acinar-to-ductal metaplasia) に F4/80 陽性細胞が局在することを見だし、Single cell RNA-seq 解析を行った。その結果、ADM に局在する F4/80 陽性細胞において特異的に発現が上昇する遺伝子群が同定され、本課題研究者のグループにてショウジョウバエ遺伝学的解析を開始した。その過程で、マクロファージ由来の Thrombospondin が腫瘍成長を非自律的に制御する可能性を見いだした。

課題推進者:

大野 茂男 (順天堂大学)、南 康博 (神戸大学)、藤田 恭之 (京都大学)、大澤 志津江 (名古屋大学)

3. 当該年度のプロジェクトマネジメント実施内容

(1) 研究開発プロジェクトのガバナンス

進捗状況の把握及び研究開発プロジェクトの展開

代表機関の PM 支援チーム

順天堂大学の研究戦略推進センターの MS 担当職員、PM 支援職員、PM 支援教員、などで構成された PM 支援チームで、PM 事務を支援した。重要事項の連絡とリアルタイムでの共有を担うメンバー専用 HP (課題推進者向け)、Slack (課題推進者及び研究参加者)、メール、Dropbox、Box を用いた情報共有体制を継続した。2025 年度からは、事務局よりプロジェクト全体に向けた連絡事項や今後の予定・提出物などをまとめた「MS がん大野プロジェクト通信」の発行開始を準備し、情報共有の効率化を図る。

重要事項の調整(執行部、運営会議、研究グループ)

昨年度に整備した新執行部体制を通じて、「重要事項の調整」及び「進捗状況の把握」に関わる PM の業務を強力に支援する体制を整え、順調に運用した。さらに、2030 年に向けた社会実装を見据え、「後半 5 年の計画策定のタスクフォース」を若手中心に設置し、戦略・進捗・リスク管理を推進している。

進捗状況の把握とプロジェクト運営の迅速化

昨年度に再編成した研究グループを通じて、グループ内・グループ間の連携や共同

研究などをさらに活性化した。各グループにはグループ長とサブグループ長を置き、各グループ長・サブグループ長を構成員とし、執行部で統括する体制とした。

膵がんフォーカスした「臨床検体・オルガノイド」リソースの構築の加速化と運用をコーディネートする専門事務職の配置

慶應大学、京都大学、神戸大学の3機関に分散して行われている取組の加速化には、3機関で行われる整備を一体的に進める仕組みが必要である。3機関の各機関の担当者との調整、機関を超える調整を通じて、特に早期、超早期で起きている事象の解明に向けた取り組みとして、代表機関にコーディネーターを配置し、リソースの進捗把握や共同利用を支援する体制を構築・運用した。これにより、プロジェクト内共同研究が大きく進展した。

若手研究者の育成

長期の目標を見据えて進めている本 MS プロジェクトの目的の達成のためには、5年後、10年後を担う若手人材の育成が極めて重要である。若手の口頭発表と絶え間ない議論が主体となる「第3回若手ワークショップ」(2024年10月31日ー11月1日)と、先進的な数理 AI とバイオの口頭発表を主体とする「第3回数理 AI と生物医学の両方を理解できる若手の育成」セミナー(2024年9月2日)を開催した。数理とバイオの両面から、次世代を担う多くの若手が台頭してきている。研究協力者若手4名が、様々な賞を受賞した。また、7名が、新たに教授となるなど、独立した。

月例の課題推進者発表会のリニューアル

各課題推進者の進捗状況を報告、議論する zoom 会議を月例で開催(毎月最終木曜日)。がんプロジェクトアドバイザーからのコメント・批評もあり、各課題の推進に大きく貢献した。2025年度からは若手研究者育成に焦点を当てた形式に刷新し、若手2名の発表とアドバイザーからのコメントにより、若手の育成と PM、課題推進者および参加者の情報共有の場として機能させる。

膵がん研究と最新動向の情報発信

2025年3月より、膵がん研究に関連する最新の研究成果や治療法の進展を紹介するメール配信を課題推進者宛に開始。隔月で文献情報、新聞記事、プレスリリースを基にしたトピックを提供し、研究活動の参考資料として活用されている

(2) 研究成果の展開

研究開発プロジェクトにおける知財戦略や知財出願に関して、本研究開発プロジェクトで得られた成果の公表に先だって、知財の観点からの熟考を、全ての研究開発課題推進者に日常的に求めた。そして、必要に応じて気軽に各々の所属研究機関の知財担当者の助言を得ることを求めた。更に、上述した情報流通の仕組みを利用して、公表に先だって PM が知財状況を把握できる仕組みを構築し運用した。事業化戦略及びグローバル展開、技術移転先、将来的な顧客開拓に関して、様々な関連分野の専門家をプロジェクトのアドバイザーとして招聘し、上述の月例の課題推進者など発表会において、様々な助言を受ける体制を構築した。企業と共同した取り組みも進んだ。例えば、血液マイクロ RNA による膵がんの早期診断法の開発 (Kawai, Seno et al., *British J Cancer* 2024)。

(3) 広報、アウトリーチ

ホームページを活用した広報、アウトリーチ活動を行なった。

第 76 回日本細胞生物学会大会(2024 年 7 月)において、MS2 大野プロジェクト共催シンポジウムの開催「がん自然史」を制御する生体内ネットワークを開催した。オーガナイザー:名古屋大学・大澤、瀬海(若手, 藤田グループ)

第 45 回日本炎症・再生医学会(2024 年 7 月)において、特別講演「オルガノイドによるヒト疾患生物学の理解」(慶應大学・佐藤)、MS2 共催シンポジウム「がんの未病に挑む; 膵がんのモデル化と統合的解析」を開催(京都大学・妹尾)

(4) データマネジメントに関する取り組み

本プロジェクトでは、様々な解析機器から得られるデータを標準化することにより、研究室を超えた利用、数理解析の専門家の利用を可能とする。その為には、各解析プラットフォーム内部、そして数理解析プラットフォームとの綿密な調整を進めた。

本プロジェクトでは、臨床検体を利用する。三機関の倫理委員会の承認を得ている。このような試みには、患者の理解と同意が必要であり、倫理面に加えて、ELSI面での幅広い見地からのアドバイスを受けて行う必要がある。その為の取り組みを進めた。

GakuNin RDMを用いた課題推進者間でのバイオと数理データの共有

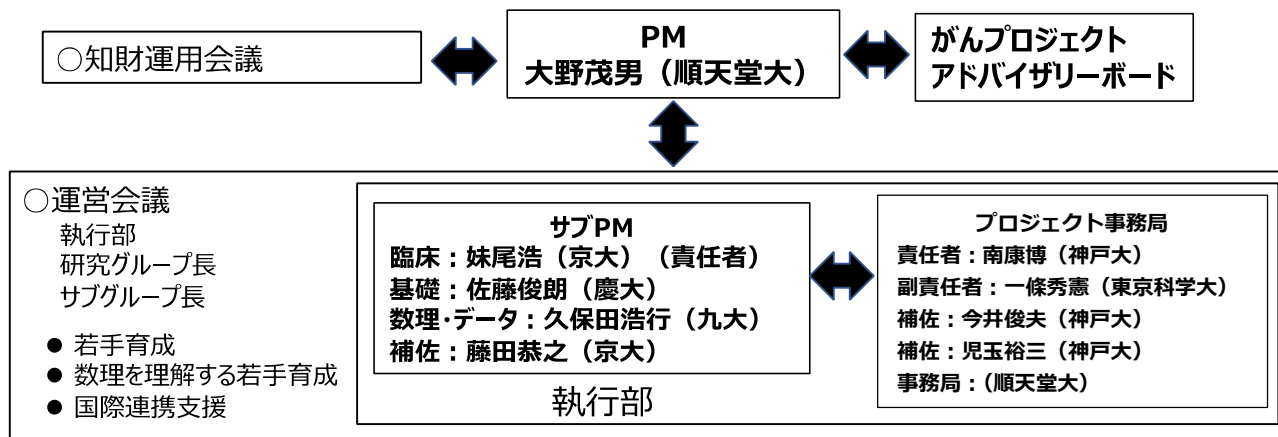
収集したデータは、先ずはプロジェクト内で利用中である。臨床情報を含むデータは、匿名化の後に、解析共有プラットフォームへアップロードし、プロジェクト内で利用する。その保存と流通を目的として、Cloudを利用したシステムを構築する必要がある。その為の取り組みを進めた。

現在までに、膵がんオルガノイドオミックス(WGS 85件、WES 107件、RNAseq 108件、WGS変異データ47件、膵管上皮細胞レーザーマイクロダイセクションWES変異データ 150件、膵管上皮細胞オルガノイドWES変異データ 107件、膵管上皮細胞単一細胞由来オルガノイドWES変異データ 39件、他臨床サンプル関連RNAseq 189件)、オルガノイドイメージング(タイムラプスデータ 263件、3次元イメージデータ 2件、ExoView 画像データ 897 files、ERK 22件 AMPK16件、カルシウム 17件、PKA4件)、マウスオミックス(scRNAseq 件、腸内細菌叢 408件、肥満マウス筋肉BRBseq data 400サンプル)、細胞オミックス(RNA-seq 70件)、ショウジョウバエがんモデル(scRNAseqデータ 55件、バルクRNAseqデータ 23件、マクロファージに対するバルクRNAseqデータ 48件)を登録している。Gakunin RDM上のファイルサイズの制約から、数値化データを主にアップロードし、RNA-seqなどの配列情報は公共DBへデポジットしている。

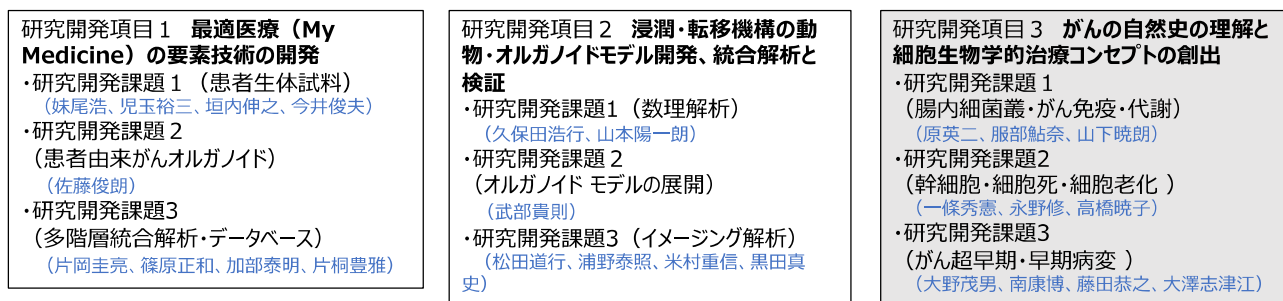
ヒト検体に由来するデータをGakuNin RDMにデポジットすることに関しては、ムーンショット目標2データベース(未病データベース)のガイドラインやメタデータカタログ機能の稼働に向け目標2データベース作業部会と共に策定中である。アップロード量やデータフォーマットの問題が解決された際に随時対応するようプロジェクトメンバーと情報の共有を行っている。

4. 当該年度の研究開発プロジェクト推進体制図

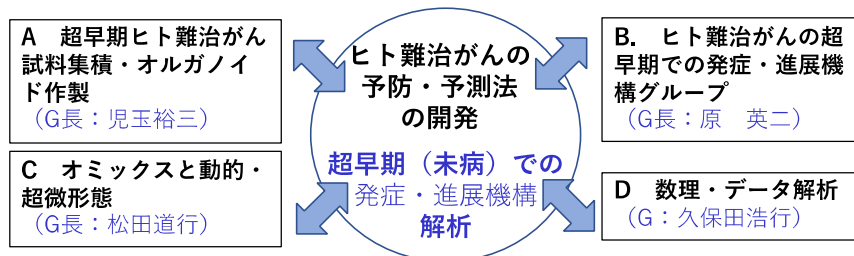
マネジメント体制



研究開発項目・課題



研究グループ^o



- A. 超早期ヒト難治がん臨床試料集積・オルガノイド作製 (G長: 児玉)
 1. 臨床試料集積 (妹尾、児玉、垣内、今井、佐藤) (サブG長: 児玉)
 2. オルガノイド作製 (佐藤、武部、妹尾、児玉、垣内、今井、片岡、浦野) (サブG長: 武部)
- B. ヒト難治がんの超早期での発生・進展機構 (G長: 原)
 1. 臨床研究 (妹尾、児玉) (サブG長: 児玉)
 2. 基礎研究 (サブG長: 高橋)
 2-1. がん生存・排除解析 (高橋、大澤、一條、藤田)
 2-2. がん微小環境解析 (永野、大野、南、佐藤、今井)
 2-3. 臓器連関解析 (原、服部、山下)
- C. オミックスと動的・超微形態 (G長: 松田)
 1. オミックス解析 (片桐、片岡、篠原、加部) (サブG長: 片桐)
 2. 動的・超微形態解析 (松田、浦野、米村、黒田) (サブG長: 浦野)
- D. 数理・データ解析 (G長: 久保田) (久保田、山本)

アドバイザーボードメンバー

がん研究専門家

- 上本伸二(臨床・外科): 滋賀医科大学 学長
- 佐谷秀行(基礎): 日本癌学会 理事長
- 高井義美 (基礎): 神戸大学大学院医学研究科 特命教授
- 玉野井冬彦(基礎): 京都大学高等研究院 特定教授
- 千葉 勉(臨床・内科): 京都大学名誉教授、関西電力病院 名誉院長
- 中釜 斉 (基礎): 国立がん研究センター 理事長

数理研究専門家

- 巖佐 庸: 九州大学名誉教授
- 本多久夫: 神戸大学大学院医学研究科 客員教授

連携

- 岡部繁男(高橋MS連携): 東京大学大学院医学系研究科 研究科長・医学部長
- 内山安男(イメージング連携): 順天堂大学 大学院医学研究科 特任教授
- 菱山 豊 (大学間連携): 徳島大学 副学長 (元文科省局長、元AMED理事)
- 米田悦啓(松浦MS連携): 阪大微生物病研究会 常務理事

(50音順)

5. 当該年度の成果データ集計

知的財産権件数				
	特許		その他産業財産権	
	国内	国際(PCT 含む)	国内	国際
未登録件数	2	2	0	0
登録件数	0	0	0	0
合計(出願件数)	2	2	0	0

会議発表数			
	国内	国際	総数
招待講演	90	28	118
口頭発表	45	10	55
ポスター発表	32	8	40
合計	167	46	213

原著論文数(※proceedings を含む)			
	国内	国際	総数
件数	4	59	59
(うち、査読有)	4	54	54

その他著作物数(総説、書籍など)			
	国内	国際	総数
総説	8	8	16
書籍	7	0	6
その他	0	0	0
合計	14	8	22

受賞件数		
国内	国際	総数
6	2	8

プレスリリース件数
8

報道件数
9

ワークショップ等、アウトリーチ件数
6