



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

2020年度版

2020年12月～2021年3月

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

 **MOONSHOT**
RESEARCH & DEVELOPMENT PROGRAM



研究開発プロジェクト概要

細胞生物学、イメージング技術、数理・AI 技術などを統合的に活用して、膵臓がんなどの難治性がんの発症と悪性化の仕組みを明らかにします。それにより、2050 年には、難治性がんの発症を予測して予防する事ができる社会の実現を目指します。

https://www.jst.go.jp/moonshot/program/goal2/22_ohno.html

課題推進者一覧

課題推進者	所属	役職
妹尾浩	京都大学 大学院医学研究科	教授
児玉裕三	神戸大学 大学院医学研究科	教授
佐藤俊朗	慶應義塾大学 医学部	教授
片岡圭亮	慶應義塾大学 医学部	教授
篠原正和	神戸大学 大学院医学研究科	准教授
加部泰明	慶應義塾大学 医学部	准教授
片桐豊雅	徳島大学 先端酵素学研究所	教授
久保田浩行	九州大学 生体防御医学研究所	教授
山本陽一郎	理化学研究所 革新知能統合研究センター	チームリーダー
武部貴則	東京医科歯科大学 統合研究機構	教授
松田道行	京都大学 大学院生命科学研究所	教授
浦野泰照	東京大学 大学院薬学系研究科	教授
米村重信	徳島大学 大学院医歯薬学研究部	教授
黒田真史	東京大学 国際高等研究所ニューロインテリジェンス国際研究機構	特任助教
原英二	大阪大学 微生物病研究所	教授
服部鮎奈	京都大学 ウイルス・再生医学研究所	准教授
山下暁朗	琉球大学 大学院医学研究科	教授
一條秀憲	東京大学 大学院薬学系研究科	教授
永野修	慶應義塾大学 医学部	准教授
高橋暁子	公益財団法人がん研究会 がん研究所	プロジェクトリーダー
大野茂男	順天堂大学 大学院医学研究科	特任教授
南康博	神戸大学 大学院医学研究科	教授
藤田恭之	京都大学 大学院医学研究科	教授
大澤志津江	名古屋大学 大学院理学研究科	教授

1. 当該年度における研究開発プロジェクトの実施概要

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

実施内容: 患者生体試料リソースプラットフォームを構築する。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の準備を行う。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に向けた準備として、以下の事を行った。

- 1) 新統合指針に沿った倫理申請に向けた様々な準備。
- 2) オルガノイドに関する技術共有と標準化に向けた様々な準備。
- 3) オミックスデータの標準化に向けた様々な準備。
- 4) ELSI 対応の為のアドバイザーの選任と委嘱。

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

実施内容: 患者生体情報の統合解析とその検証に必要なシステムの整備を開始した。

- 1) 比較可能な臨床データやデータ取得方法、各種イメージデータの規格、など数理解析基盤の構築の準備。
- 2) がん研究に最適化したiPS細胞およびオルガノイド培養法の開発、オルガノイドによるがんの浸潤・転移メカニズム解明に資するアッセイ系の確立に向けた研究。
- 3) イメージング解析プラットフォームにおいて、マウスがん組織ライブイメージングを実施するとともに、バイオセンサー発現患者由来膵がんオルガノイドを用いた薬剤効果検出系の確立を行った。

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

超早期・早期・浸潤・転移のがんの理解と細胞生物学的治療コンセプトの創出に向けた下記の研究を開始した。

- 1) 腸内細菌叢、がん免疫、代謝の視点からのがんの発生・進行を制御する生体内ネットワーク解析と創薬開発。
- 2) がん幹細胞・休眠細胞と生体内微小環境ネットワーク、がんの発生・進行に関連する細胞死・細胞老化を制御する生体内微小環境ネットワーク解析。
- 3) がん細胞排除機構(細胞競合や細胞老化)を制御する分子メカニズム、がんの発生・進行に関連するEMT・細胞極性を制御する分子メカニズム、などの解析。

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構築の一貫として、新統合倫理指針に沿った倫理申請の準備を進めた。

(1) 難治性がんの自然史を網羅した患者生体試料リソースプラットフォームの構築

臨床検体、オルガノイド、臨床データを収集、整理するため、課題推進者の所属施設内外の連絡体制を構築するとともに、系統的保管のためのストレージ機器を導入した。それにより、課題推進者の所属施設内で患者生体試料リソースプラットフォームが整備され、同時に研究開発プロジェクトでの共有を可能にするハード、ソフト、スタッフの整備を進めた。

(2) 患者生体試料リソースプラットフォームの構築に関わる研究倫理基盤の構築

研究開発プロジェクト横断的に情報を収集し、患者生体試料リソースの共有と利用に関する法的、倫理的側面を課題推進者、課題参加者間で検討した。令和3年度中の本格的稼働を見据え、研究開発プロジェクトを網羅する計画を立案、検討し、倫理申請の準備を進めた。

(3) 患者生体試料リソースを用いた難治性がん発生、進展メカニズムの検討

難治性がん患者から、正常組織、前がん病変、超早期がん、浸潤や転移を伴う進行がんのほか、臨床データ、血液、体液、糞便などの多彩な生体試料リソースを系統的に取得し、解析するために最適な条件を検討した。また、それらの条件は、課題推進者、課題参加者間でも検討、共有を行った。

(4) 動物モデル、オルガノイドモデルを併用した難治性がん発生、進展メカニズムの検討

膵がん自然発症モデルマウスとして用いられる Ptfla-cre; KrasG12D; Tp53floxed マウスなどの作出のほか、新たに胆道がんの初期病変を模倣する Hnf1bCreER; KrasG12D; Ctnnb1lox(ex3)/+マウスなど、肝胆膵領域の前がん～がん初期病変を再現するモデルマウスを作出した。また、各難治性がん患者由来のオルガノイドモデルにおいて、生体内の状況をより反映する培養条件を検討し、最適化を進めた。

課題推進者: 妹尾 浩(京都大学)、児玉 裕三(神戸大学)

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開発の準備を行った。

(1) 患者由来オルガノイドの最適化、技術共有と標準化

これまでの技術開発の経験を活かし、最適化したプラットフォームの開発と、チーム内で共有を図った。チーム内で患者由来オルガノイドを樹立・培養・共有するための研究倫理基盤を確立するため慶應義塾大学医学部倫理委員会への申請を行った。

(2) 患者オルガノイドを用いた生物学的な形質解析と Genotype-phenotype association の検証

正常組織からがんの進行に伴う変化(病理形態学的変化、微小環境ニッチに対する依存性、代謝動態、細胞運動機能の変化など)を捉えるための技術開発を行った。特に、膵がんの進行とともに、Wnt/Rspondin の増殖因子非依存性を獲得することを見出し、その分子メカニズムの追求を行った。

(3) オルガノイドを用いた難治性がんの発症・浸潤・転移の病態解明

難治性がんの生物学的な特性である浸潤・転移能を模倣する培養方法の開発を試み、オルガノイドの構造変化を誘導する手法を見出した。また、患者腫瘍の in vitro 擬似化のため、

共培養に最適な線維芽細胞および血管内皮細胞の安定的な培養方法の開発を行った。

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に向けた準備を行った。

- (1) 患者生体試料、および、それらから樹立したオルガノイドを用いて、多層的なオミックス解析(全ゲノム解析、RNA シークエンス、メタボローム解析、必要に応じてシングルセル解析など)とイメージ解析を進め、標準化した解析および解析データのシェアをできる研究基盤を構築し管理・運用することを目指す。本年度は、そのために必要な倫理審査の準備を行った。
- (2) 健常人生体試料・オルガノイドを用いた包括的脂質メディエーター解析のための実験系を、液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)を用いて構築し、感度・定量性の検証を実施した。また、マウス組織を用いた包括的メタボローム解析のための実験系を、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)ならびに液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS/MS)を用いて構築した。
- (3) 臨床血液検体における疾患特異的マーカー分子(代謝物、エクソソームなど)の選定のための評価系の構築を行った。また、抗がん機能を有する薬剤の受容体タンパク質の探索を行うとともに、難治性がん病変部位におけるチオール化修飾の変動が悪性化における制御に関わることを解明した。
- (4) 難治性がんにおける細胞間接着とがん微小環境のシグナル相互作用の解明に向けた細胞生物学的解析システムの構築を行った。

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(慶應義塾大学)、片桐 豊雅(徳島大学)

(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準備作業を行った。患者生体データ共有化に向けた取得データ内容とオミックスデータ共有化に向けたデータ取得方法について、チーム内ミーティングおよび全体ミーティング、数理解析担当者によるミーティングを行い、プロジェクトの数理解析面についてディスカッションを行うことで、全体目的と解析の相互理解を深めることができた。また、収集済みの他臓器腫瘍のイメージデータを用いて技術開発を進めた。そして、新たな規格に適した畳み込みニューラルネットワークの試行およびプログラミングの改良を行った。さらに、腫瘍性疾患(1 疾患)における複数の画像および複数のカルテデータを統合的に解析する手法を構築した。

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の開発を開始する。オルガノイドによるがんの浸潤・転移メカニズム解明に資するアッセイ系の確立に向けた研究を開始した。国民一人ひとりに対し個人の特性に応じた最適ながん予防・診断・治療アプローチ(My Medicine)を提供できる社会の実現に向けて、がん研究に最適化した iPS 細胞およびオルガノイド培養法の開発を開始した。また、オルガノイドによるがんの浸潤・転移メカニズム解明に資するアッセイ系の確立に向けた研究を開始した。

課題推進者:武部 貴則(東京医科歯科大学)

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:イメージング解析プラットフォームの構築、及びイメージングプローブ開発に向けた研究を開始した。マウスがん組織ライブイメージングを実施するとともに、バイオセンサー発現患者由来腫瘍がんオルガノイドを用いた薬剤効果検出系の確立を行った。イメージングプローブ開発に向けた準備として、がんバイオマーカー酵素の発見に資する蛍光プローブ群の開発と臨床検体スクリーニング、及びプローブ群応答の 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向けた研究を開始した。さらに、生細胞の酵素活性をマイクロプレート・プレートリーダーで安定的かつ経時的に検出する条件を種々検討した。

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:患者生体試料を用いた解析システムの構築とモデルマウスを用いた解析システムの構築を行った。生体内で腸内細菌と細胞老化反応の解析を可能にする細胞老化反応を可視化し、更に調節可能な遺伝子改変マウスの構築を行った。更に、ヒトの生体資料を用いて解析するための環境整備を行った。微量サンプルからアミノ酸定量を全自動で行えるハイスループット HPLC を導入した。がんの発生・維持に寄与すると考えられる代謝経路を制御する代謝酵素をタモキシフェンの投与によって遺伝子ノックアウトが可能なコンディショナルノックアウトのシステムを作成した。がん特異抗原の提示促進に向けて、様々な細胞ストレスの mRNA サーベイランス系(NMD)への影響を精査する実験系の整備と検証を進めた。

課題推進者:原 英二(大阪大学)、服部 鮎奈(京都大学)、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解析システムの構築を行った。老化細胞特異的な生存維持因子の候補を網羅的に同定することを目指し、ゲノムワイド siRNA スクリーニング系を構築した。ライブセルイメージングを用いた細胞競合の新たな評価系を構築した。FGF21 が物理的な力を介して敗者細胞を排除するという新たな細胞競合誘導機構を見出した。細胞死の形態が変化するメカニズムを解明するため、アポトーシスとネクローシスそれぞれが生じる酸化ストレス条件を精査し決定した。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解析システムの構築を目的とし、がん幹細胞の維持を負に制御するフェロトーシスを誘導することが可能なマウスがんモデルを構築した。公共データベースを用いた解析を行い、フェロトーシス誘導剤に対する抵抗性と相関する遺伝子変異について遺伝子リストを作成した。遺伝子変異の結果フェロトーシス抵抗性を促進する可能性が高いと考えられる遺伝子を同定した。細胞老化と生体内微小環境ネットワークを解析するための培養細胞システムを構築し、難治がんの発生・進行に関連する細胞老化の制御メカニズムや老化細胞で Senescence-associated secretory phenotype (SASP) が起こる分子メカニズムの解析を開始した。

課題推進者：一條 秀憲(東京大学)、永野 修(慶應義塾大学)、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：がん細胞排除機構、EMT・細胞極性を制御する分子メカニズムの解明に向けた細胞生物学的解析システムの構築を行った。細胞極性を制御する分子メカニズムの解明に向けて、極性制御分子の同定及び機能解析の為の実験系の構築を進めた。スフィアやオルガノイドを形成させる in vitro での培養系、がん幹細胞の非対称分裂メカニズム解明のための実験系を構築した。さらに、細胞極性因子依存的ながん細胞代謝メカニズム解明のための実験系を構築した。また、公共データベースを用いて、正常上皮細胞に比べてがん細胞で大きく発現変動する極性関連遺伝子の抽出と予後解析による候補遺伝子の絞り込みを行った。マトリゲルや DQ コラーゲン中での糸状突起形成や浸潤の解析系を確立し、極性シグナル分子の新たな役割を見出した。膵がん細胞での代謝制御における Ror1 の機能解析を行い、極性シグナル分子がミトコンドリア膜電位の抑制やミトコンドリア内活性酸素分子種(ROS)の産生を抑制することを見いだした。前がん病変マーカー候補分子同定のためのスクリーニング系の確立に向け、ファージ抗体ディスプレイスクリーニング系を確立した。パイロットスクリーニングを開始し、複数のヒット抗体の同定にも成功した。細胞競合マウスモデルの作成に向け、がん原性変異 ErbB2 を上皮細胞層にモザイク状に発現するマウスの作成に着手した。がん細胞排除機構、EMT・細胞極性を制御する分子メカニズムの解明に向けた細胞生物学的解析システムの構築を開始した。ショウジョウバエ上皮をモデルとして導入し、細胞競合を介したがん原性細胞の排除の分子機構を明らかにする RNAseq 解析系の構築を開始した。また、細胞競合を介したスーパーコンペティション機構を明らかにする2種類の大規模遺伝学的スクリーニング系を構築しその実施を開始した。

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

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

○ 代表機関のPM支援体制チームの構築

順天堂大学の研究戦略推進センターに、PMの事務を主務として担当する事務職員を配置した。PM支援チームにはPM補佐、及び専門支援員、がん病理学の専門家などを置いた。また、順天堂大学の病理学教授も加え、順天堂大学の臨床及び基礎部門との調整の機能を持たせた。

○ 重要事項の連絡・調整の方法(運営会議の設置等)

研究開発プロジェクトの重要事項の連絡と調整の目的で、運営会議を設置した。メンバーは、その目的に応じて柔軟に決定する。通常は、メール、Slack 掲示板、Dropbox など Cloud での情報共有、Zoom 会議を組み合わせて開催した。副 PM、全体の調整担当、各研究項目、研究開発基盤の責任者などを決めた。プロジェクトの運営への専門家の助言を求める為に、運営会議にアドバザリーボードをおくこととし、選任を進めた。ELSIの専門家、数理学の専門家、プロジェクトで調達予定の高額研究機器の設置施設関係者などである。

○ 研究開発機関における研究の進捗状況の把握(サイトビジット、課題推進者会議等)等、進捗状況の把握方法など

各研究開発課題推進者の分担する研究開発課題の進捗状況を把握するために、日常的な情報流通の仕組みとして、Slack 掲示板を利用したシステムを構築した。研究開発課題担当者の全員が出席する全体会議(課題推進者全体会議)を開催した。

研究開発プロジェクトの展開

高額イメージング機器の共同利用に向けて、目標2の他のプロジェクトとの調整を進めた。

(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の計画

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、課題推進者に過大な負担なく PM からの連絡や状況把握を徹底する仕組みとして、上述した情報連絡システムの整備を開始した。

○ 技術動向調査、市場調査等の計画

ゲノム関連のプロジェクト、情報科学・数理 AI、PHR(Personal Health Record)などに関して、国及び世界の動向、及び公的機関が進めている関連プロジェクトの情報の収集と精査を進めると共に、各分野の専門家から情報を収集した。

○ 事業化戦略、グローバル展開戦略等の立案に向けた体制、計画等
定期的、及び必要に応じた助言を受ける体制の構築に向けて、専門アドバイザーの人選を進めた。

○ 技術移転先、将来的な顧客開拓に向けた対応に関する計画
関連情報の収集を行った。

(3) 広報、アウトリーチ

○ シンポジウム等の開催による国民との対話の計画

本研究開発プロジェクトは、全国民に直接関わる可能性のある目標を掲げているという意味で、これまでの研究開発プロジェクトとは一線を画している。なにより、MS 目標の達成には、全国民の理解と強力な支援が必要である。従って、多くの国民への宣伝活動を行う計画としている。その方法として、従来の市民向けの講座、シンポジウムなどとは一線を画した、効率的な(コスパのよい)手法を取り入れる。「広告医学」の専門家のアドバイスを求めつつ検討を進めた。

○ ホームページ、リーフレット等による積極的な広報、アウトリーチ活動

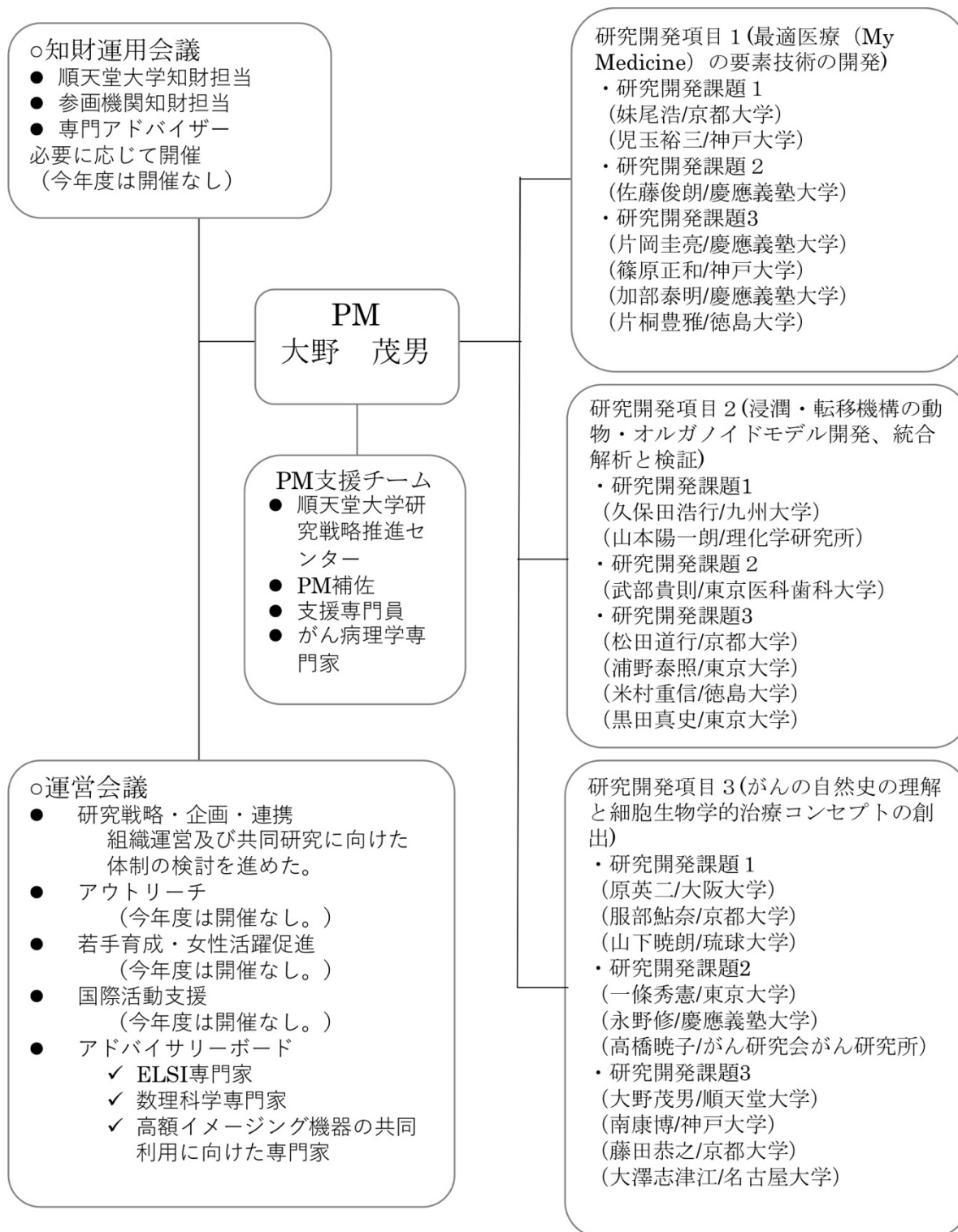
ホームページは、極めてコストパフォーマンスのよい手法であるので、大いに活用し、それに加えて、双方向の情報交換ができる手法など、様々な工夫を取り入れる計画である。これも、「広告医学」の専門家のアドバイスを求めつつ検討を進め、作成を開始した。

(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。従って、倫理委員会の承認を得ることが必要である。特に、同一患者から体液を含む様々な試料を採取し、集積して利用する。その為、これらの一括同意書を取得する。令和3年度6月から倫理指針が大きく改訂される予定であり、それに合わせて、倫理申請の準備を進めた。一連の取組には、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。その為の取り組みの一貫として、ELSI の専門家を選任し、アドバイスを受ける体制を整えた。

4. 当該年度の研究開発プロジェクト推進体制



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	0	0	0	0
登録件数	0	0	0	0
合計(出願件数)	0	0	0	0

会議発表数			
	国内	国際	総数
招待講演	5	0	5
口頭発表	1	0	1
(うち、査読有)	0	0	0
ポスター発表	2	0	2
合計	8	0	8

原著論文数(※proceedingsを含む)			
	国内	国際	総数
件数	0	11	11
(うち、査読有)	0	11	11

その他著作物数(総説、書籍など)			
	国内	国際	総数
総説	2	0	2
書籍	0	0	0
その他	0	0	0
合計	2	0	2

受賞件数		
国内	国際	総数
2	0	2

プレスリリース件数
1

報道件数
3

ワークショップ等、アウトリーチ件数
0