

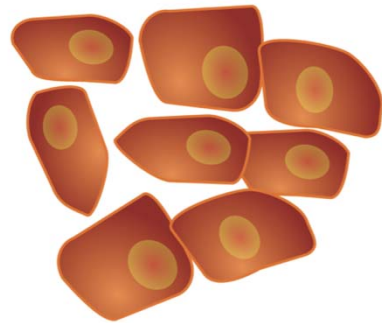
# ヒト癌オルガノイドを用いた個別化医療のための薬剤評価プラットフォームの構築

横浜市立大学  
大学院医学研究科臓器再生医学  
客員准教授 関根 圭輔

2019年10月29日

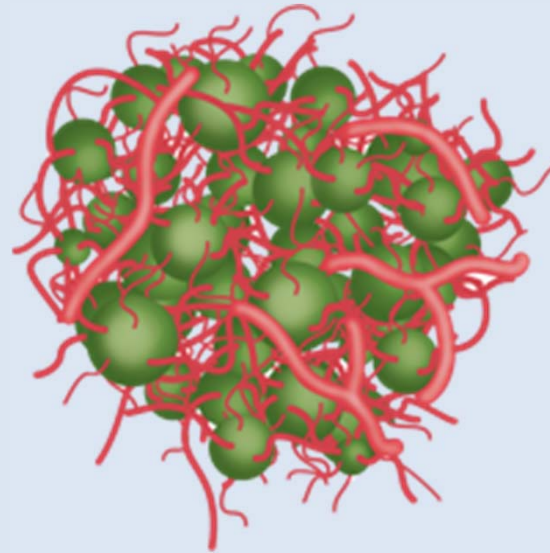
# オルガノイドとは？

## スフェロイド (spheroid)

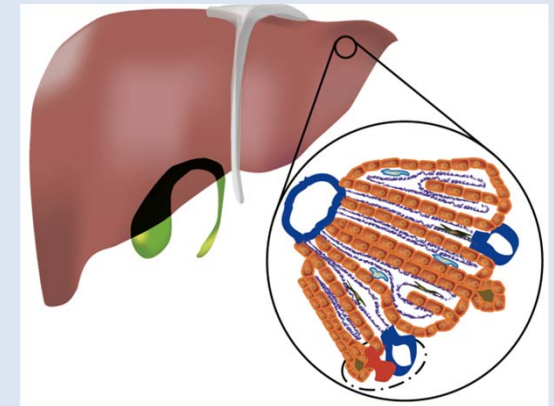


v.s.

## オルガノイド (organoid)



## 臓器 (organ)

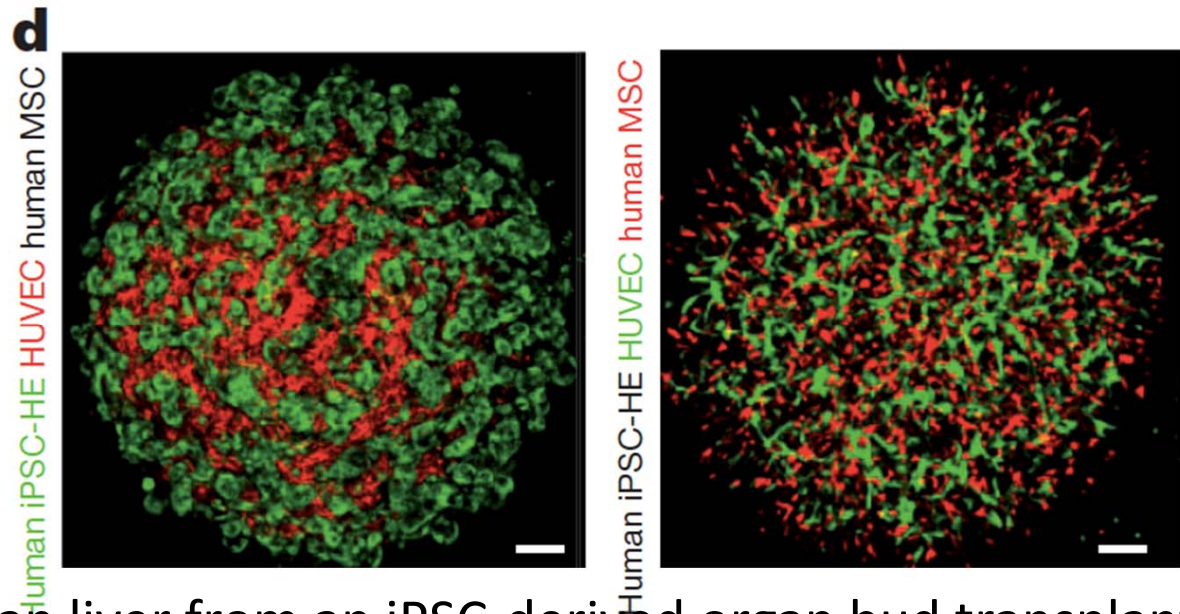
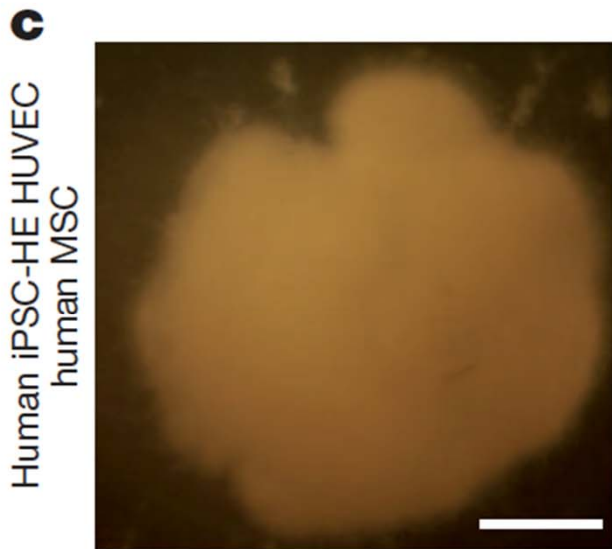
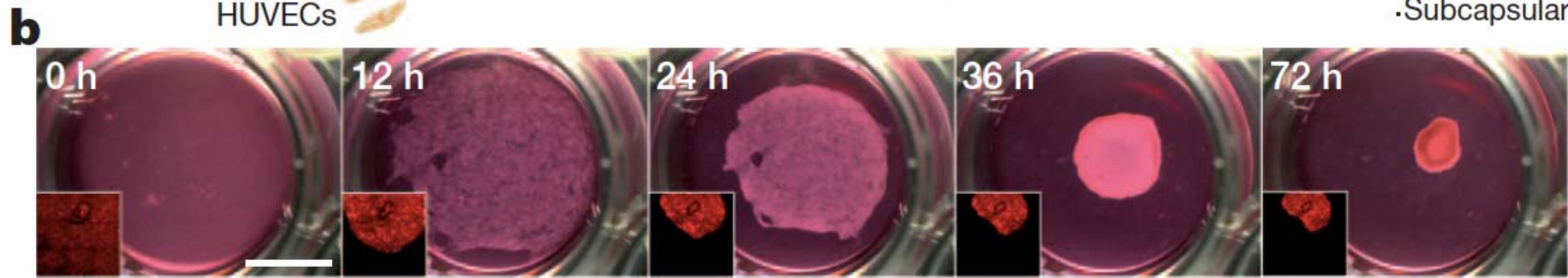
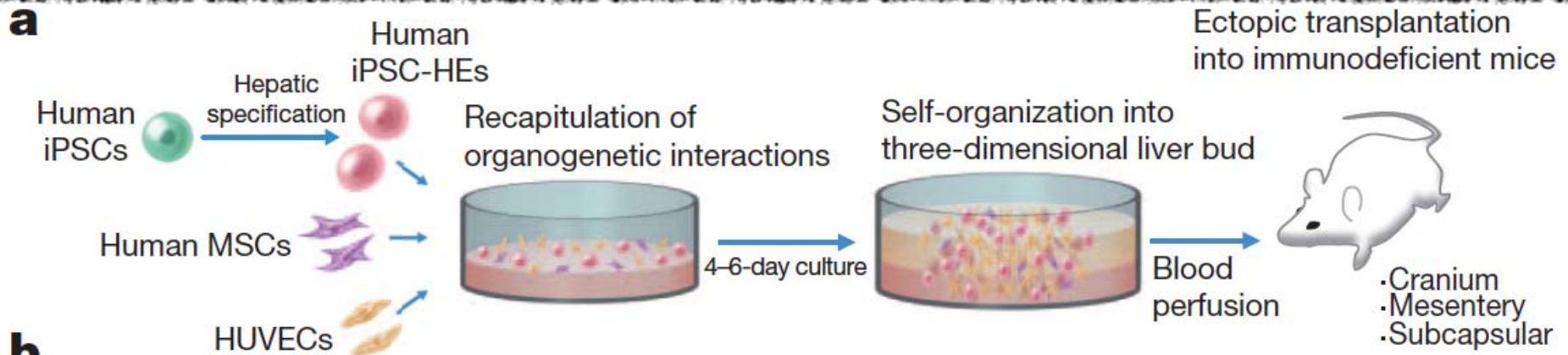


- 細胞が凝集化した球状の細胞集合体
- 組織構造なし
- 単一種の細胞で構成
- 細胞間相互作用は限定的再現のみ

- 細胞が凝集化した様々な形状の細胞集合体
- 組織構造あり
- 複数種の細胞で構成
- 細胞間相互作用の再現

臓器作製工程の  
中間体である！

# これまでに関与した三次元培養技術

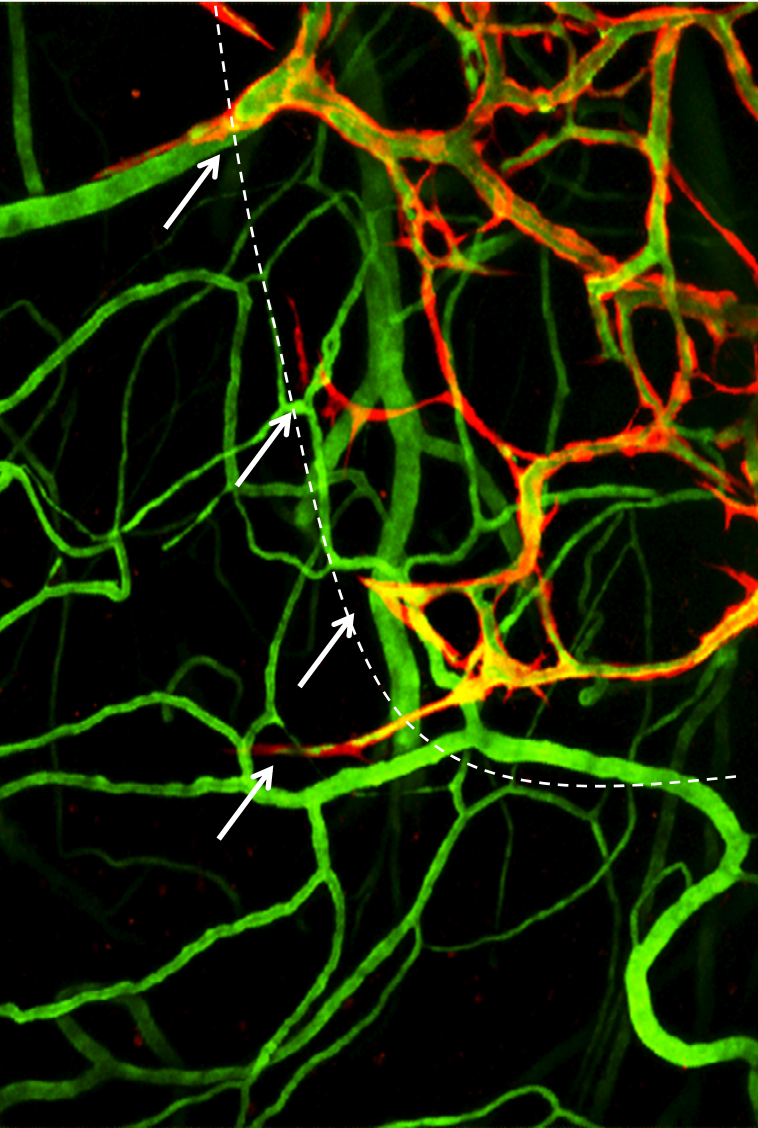


Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. <sup>3</sup>

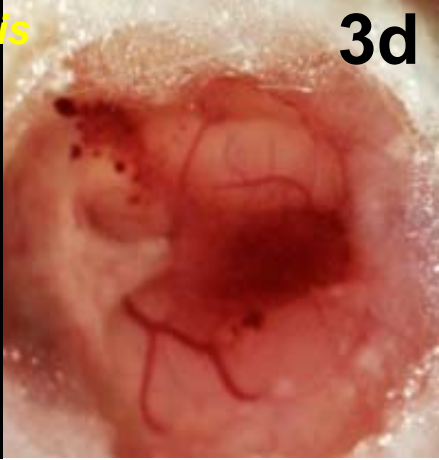
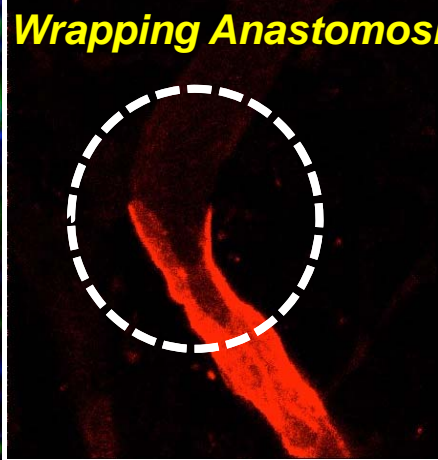
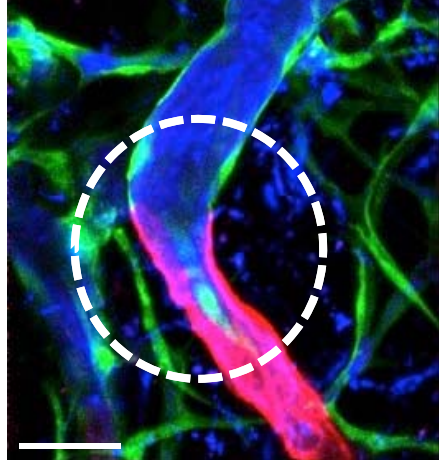
Takebe *et al.* **Nature 499 ; 481–484, 2013**

# ヒト組織の細胞間相互作用を再現する オルガノイドは効率よく血管化する

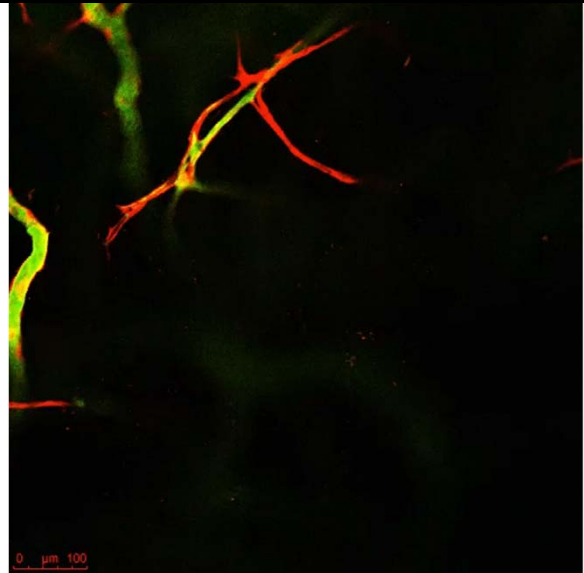
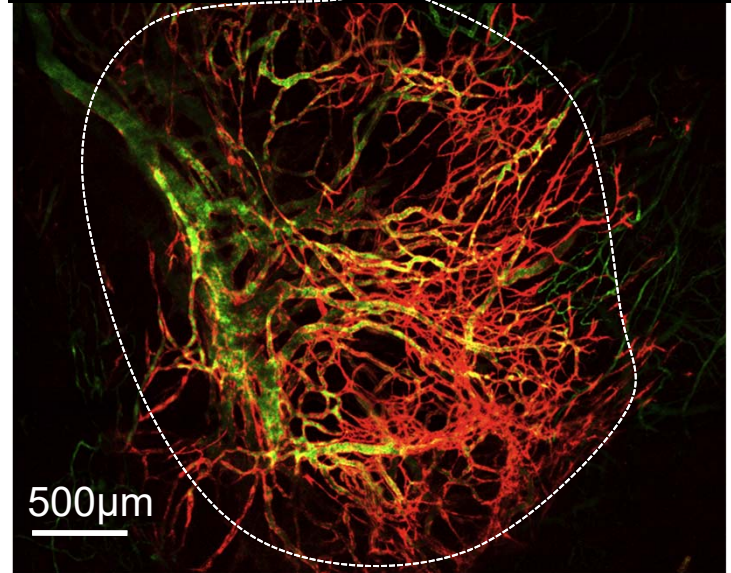
iPSC-HE HUVEC MSC Dextran



iPSC-HE HUVEC MSC mCD31 Dextran



hiPSC Red-HUVEC hMSC Green-Dextran (14days)



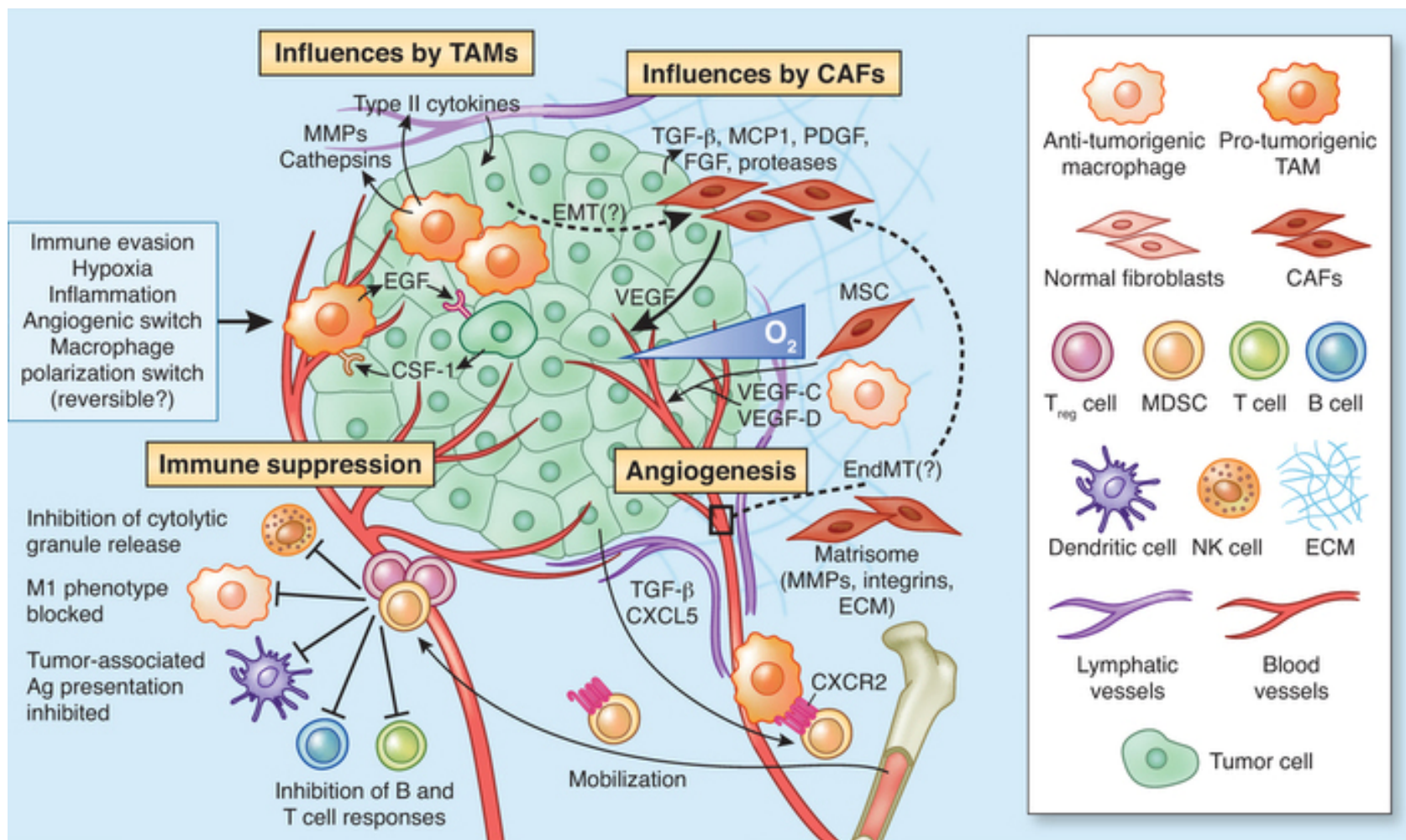
---

# オルガノイド研究の新展開

- 縦の突破（Organ BudからOrganへ）
  - 横への展開（疾患モデル・癌への展開）
-

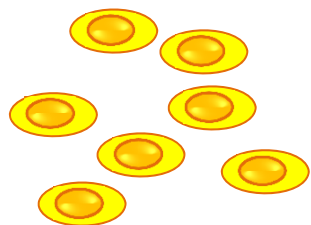
# 腫瘍生物学における未解決課題

「細胞間相互作用に基づく腫瘍内微小環境」を再構成するためのヒト癌組織の三次元培養法が欠如！



# 従来技術とその問題点

## Cancer Cell (2D-culture)

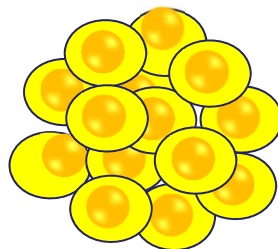


*Frizzell et al. PNAS, 1990.*

平面的な接着のみ

上皮細胞の極性再現不可

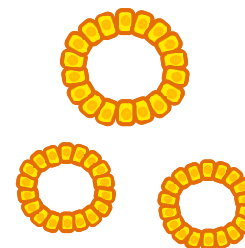
## Cancer cell aggregate (3D-sphere)



*Wrzesinski et al. Toxicol Sci, 2012.*

立体的な細胞間相互作用

## Tuveson's Cancer organoid (3D-cyst)



*Tuveson et al. Cell, 2015.*

立体的な細胞間相互作用

管腔構造

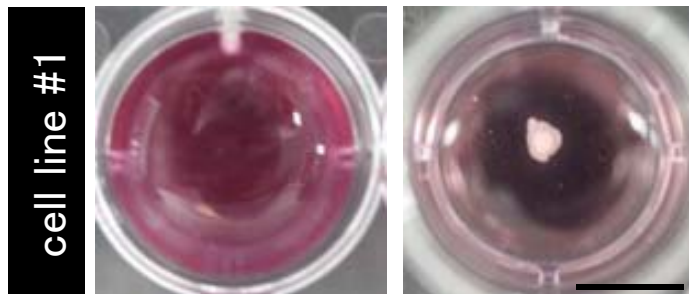
**癌間質を再現した薬剤評価系が存在しない**  
～複数の細胞種による細胞間相互作用の欠如～

# Organ Bud法を応用した 癌オルガノイドの創出法の開発



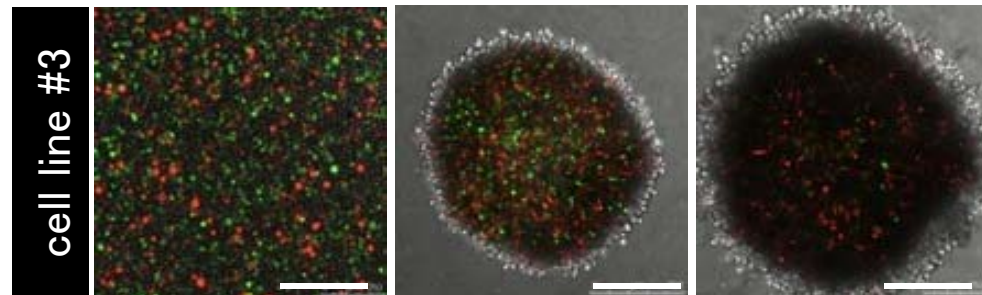
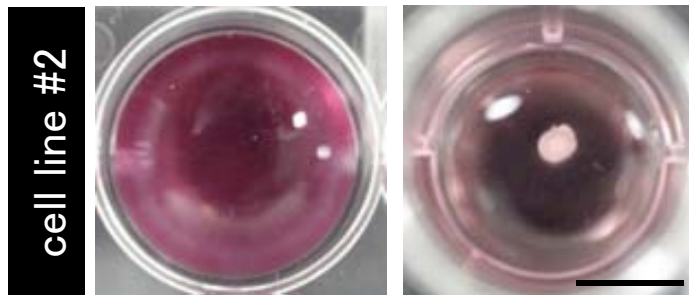
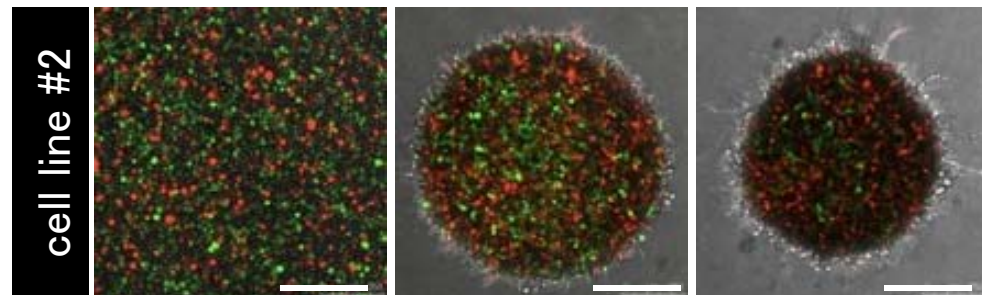
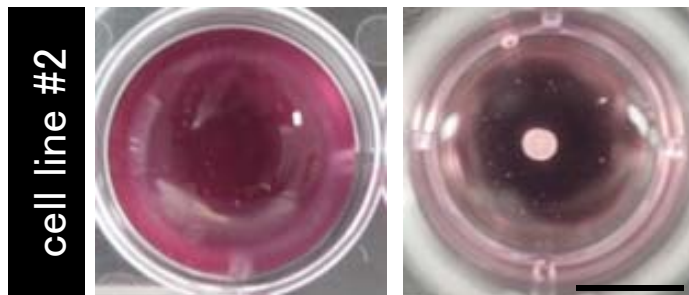
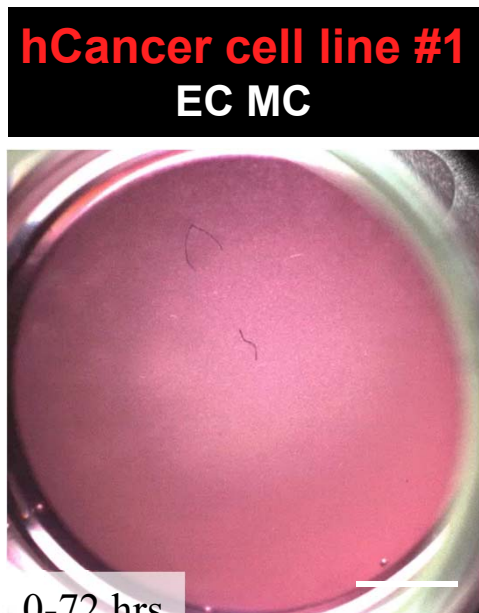
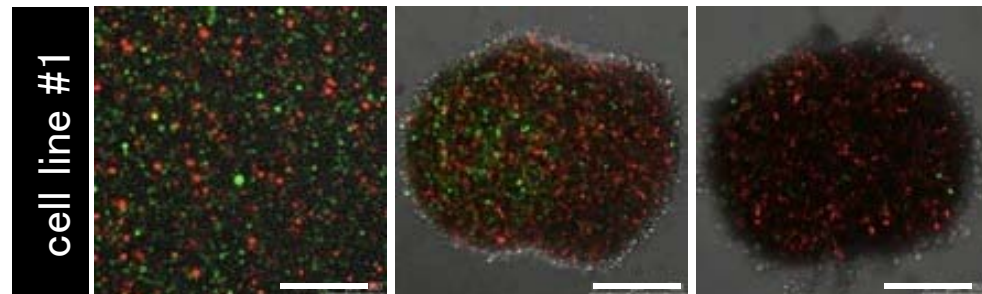
Cancer/EC/MC

Day0 Day1



Cancer/EC/MC

Day0 Day1 Day3

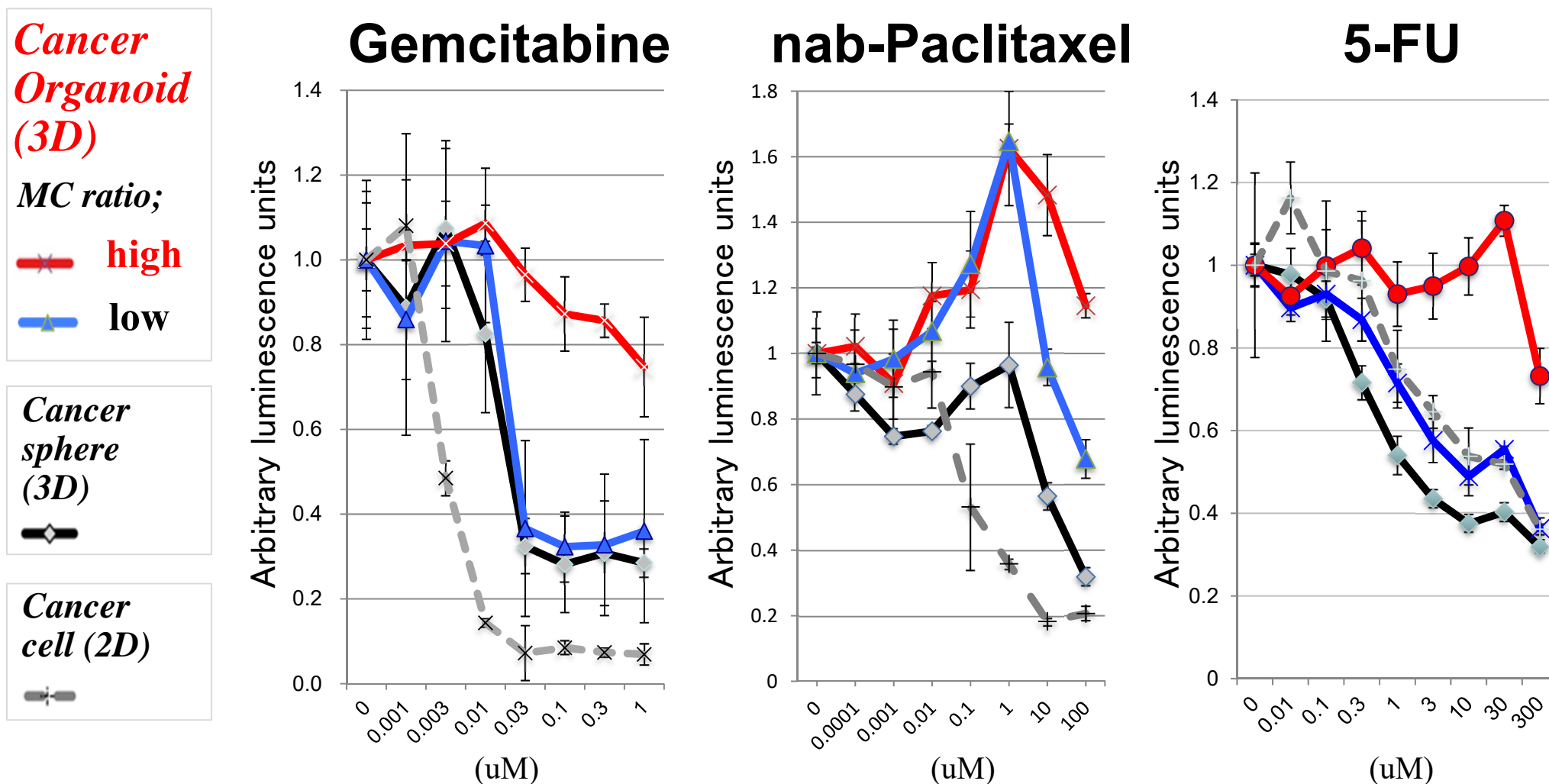


500um

100um



# 豊富な間質を有するヒト膵癌オルガノイドは In vitroにおいて薬剤抵抗性を示す！

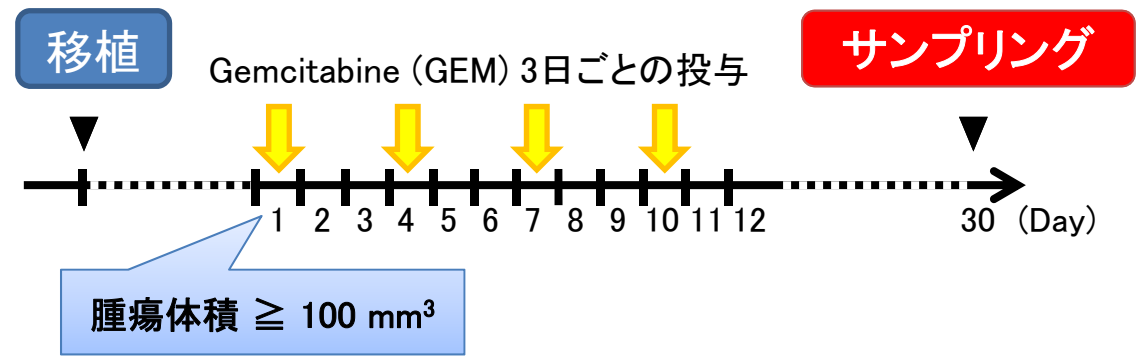
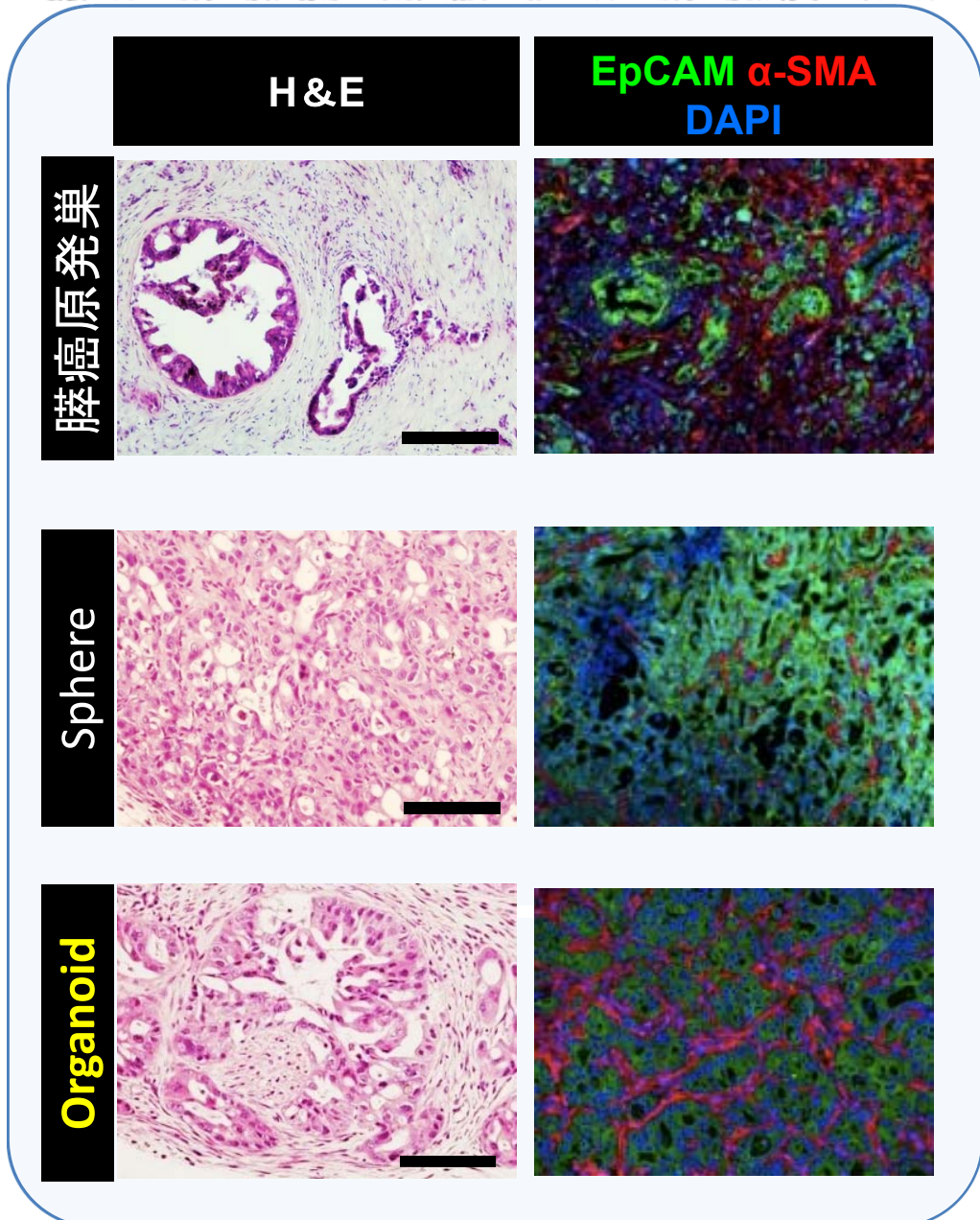


Culture period: 72hrs.

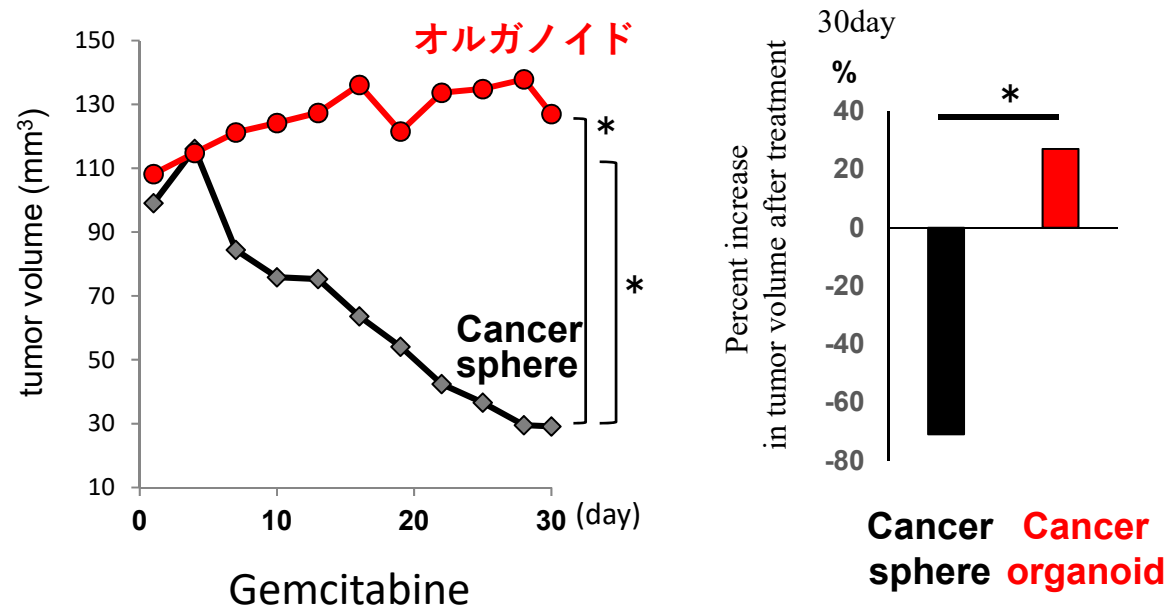
n=5

「腫瘍再構成法」 JP-A-2016-053074

# ヒト膵癌オルガノイド由来の豊富な間質を有する膵癌組織は薬剤抵抗性を示す！



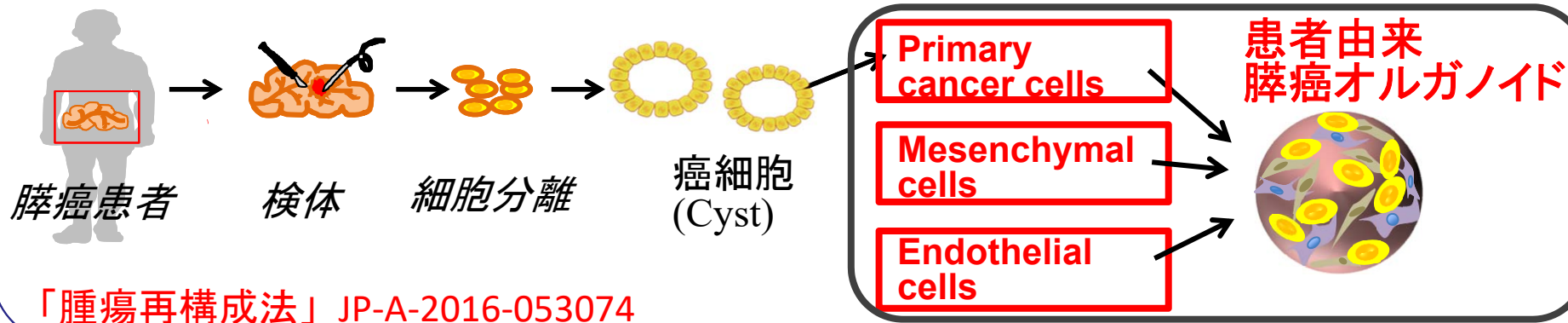
腫瘍体積の増減で薬剤感受性の評価



Mann Whitney's U- test, \* p: <0.01, N = 8

# ヒト膵癌オルガノイドの内部では 血管や導管など三次元構造が再構成される

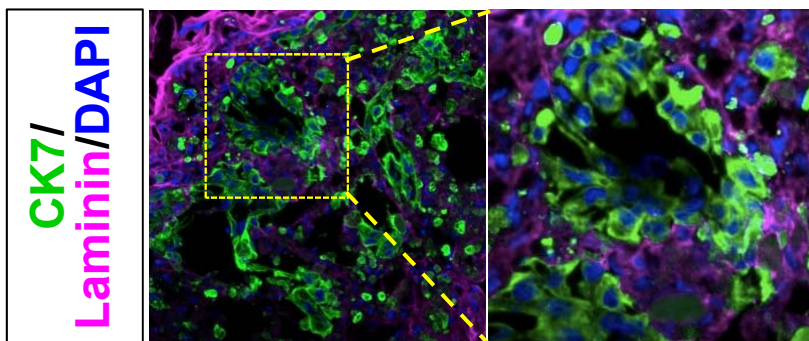
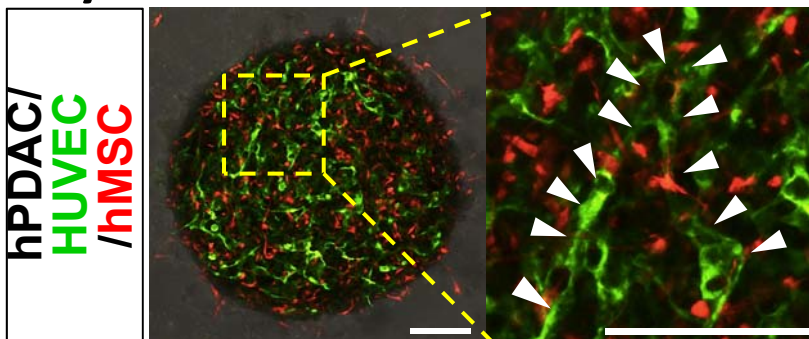
Primary "cancer organoid": Takebe T, Taniguchi H, Cell Stem Cell, 2015



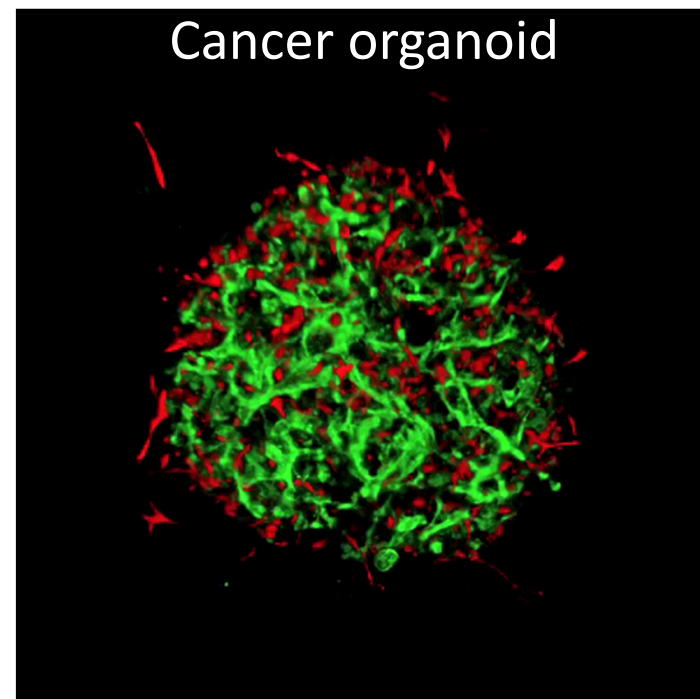
Day1



Day10

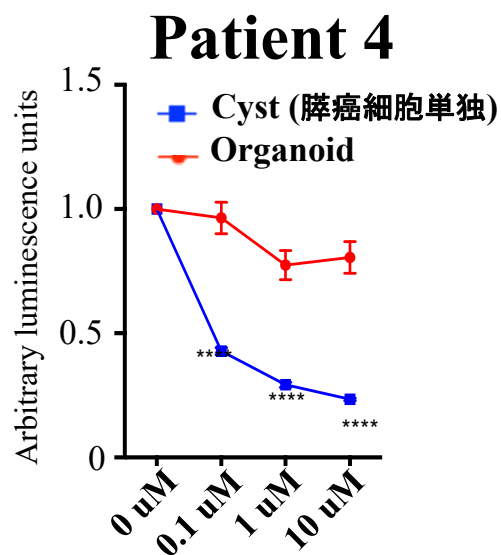
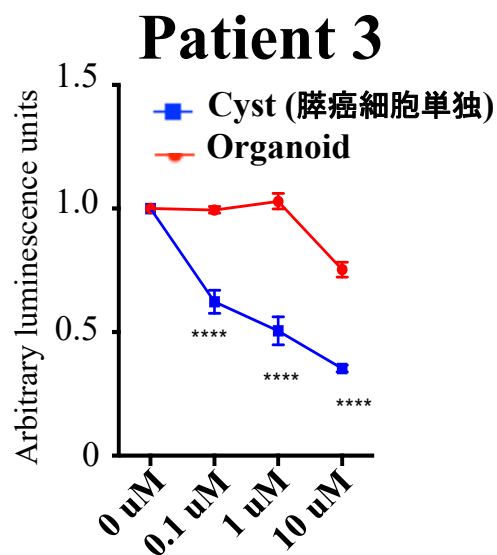
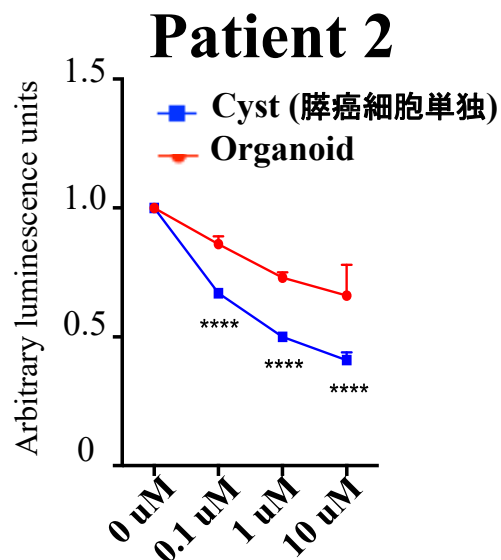
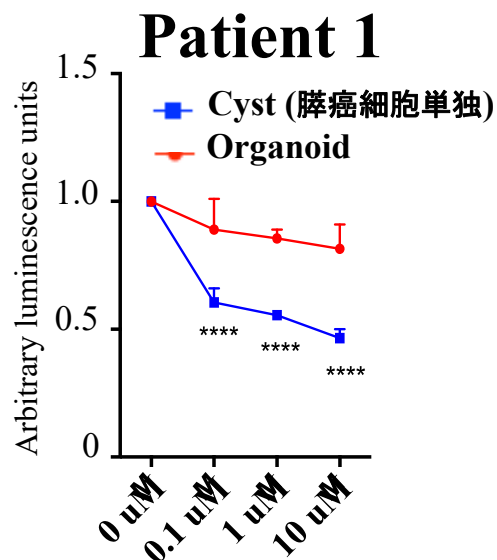


Arrows: EC surrounded by MCs

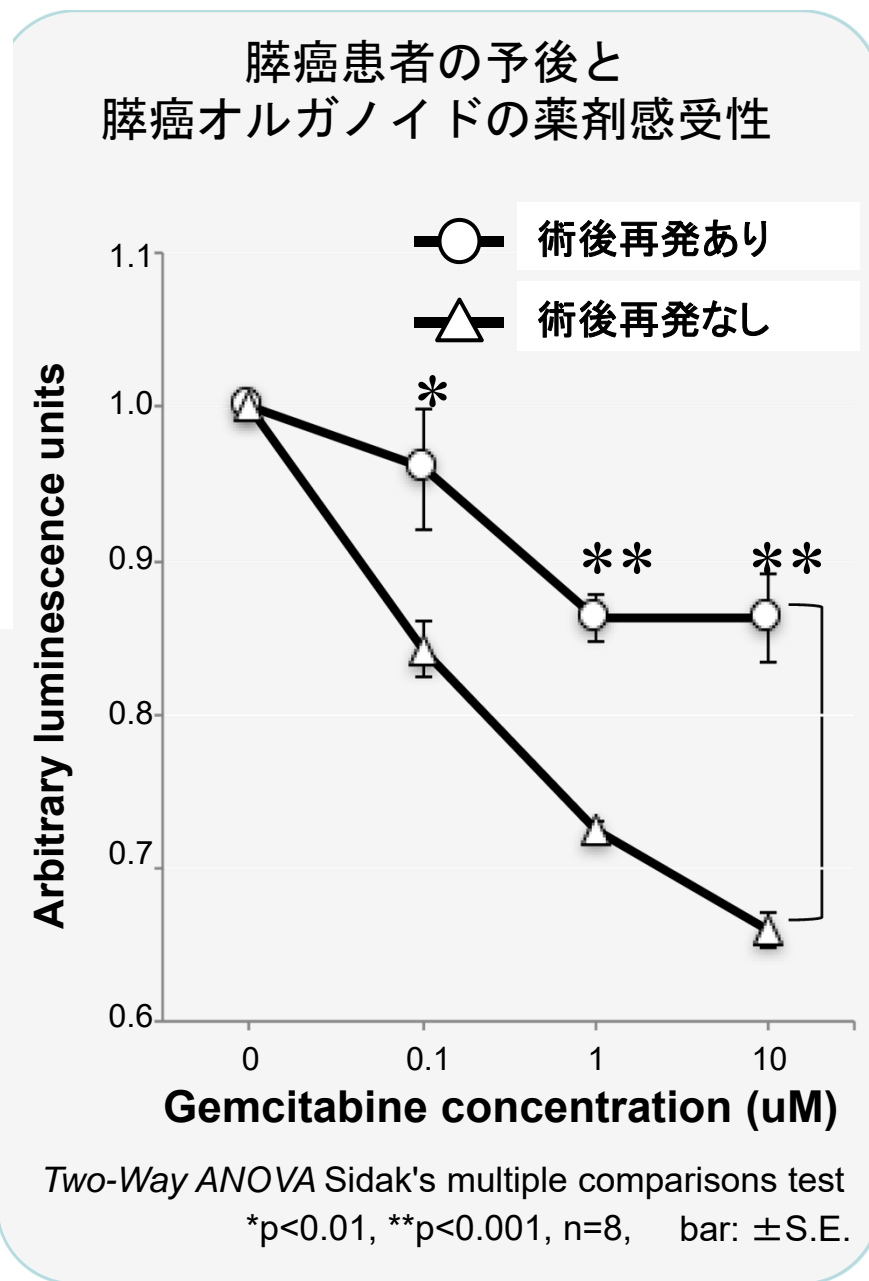


Bar: 250 um

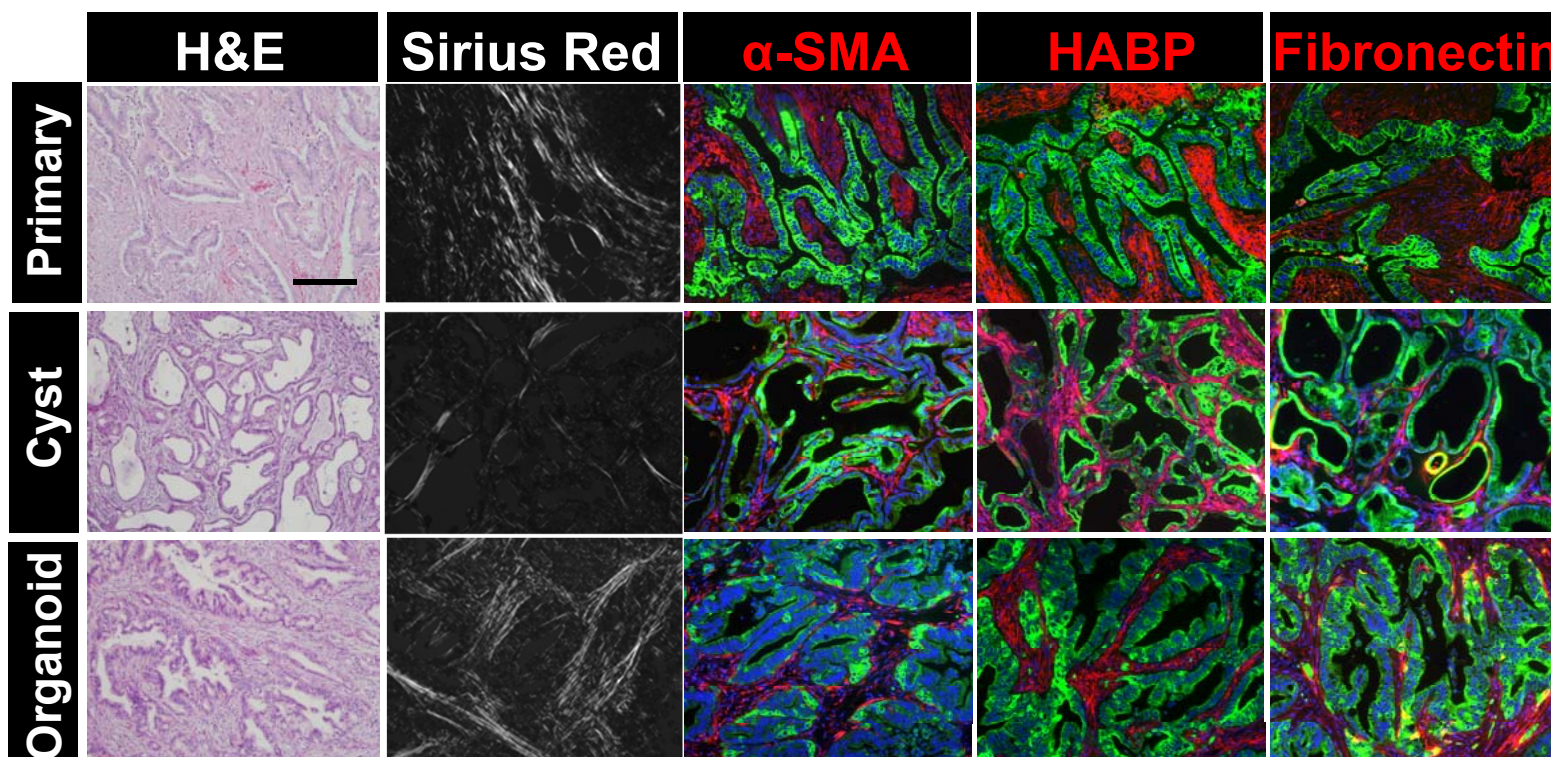
# プライマリ膵癌オルガノイドは ゲムシタビン抵抗性を示し、患者予後と相関する



Two-Way ANOVA Sidak's multiple comparisons test  
n=12 \*\*\* $p < 0.0001$

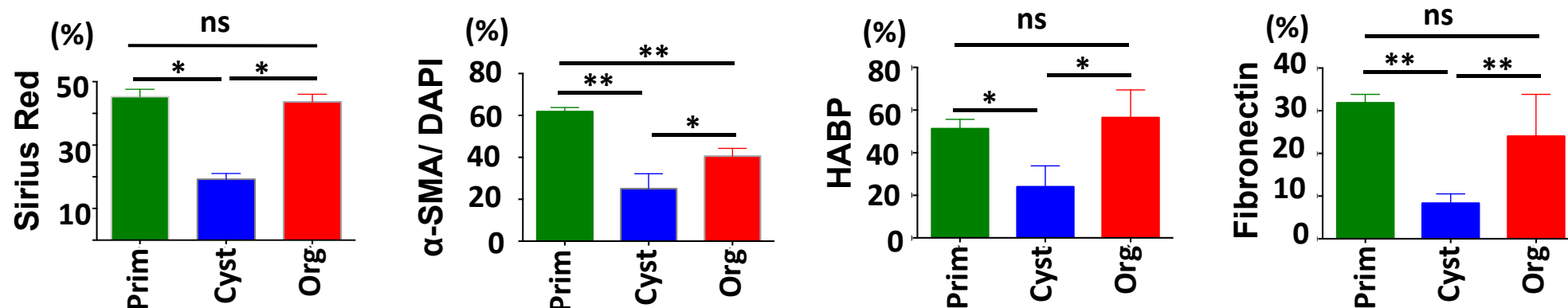


# ヒト膵癌オルガノイド由来 ゼノグラフトは患者癌組織に類似する



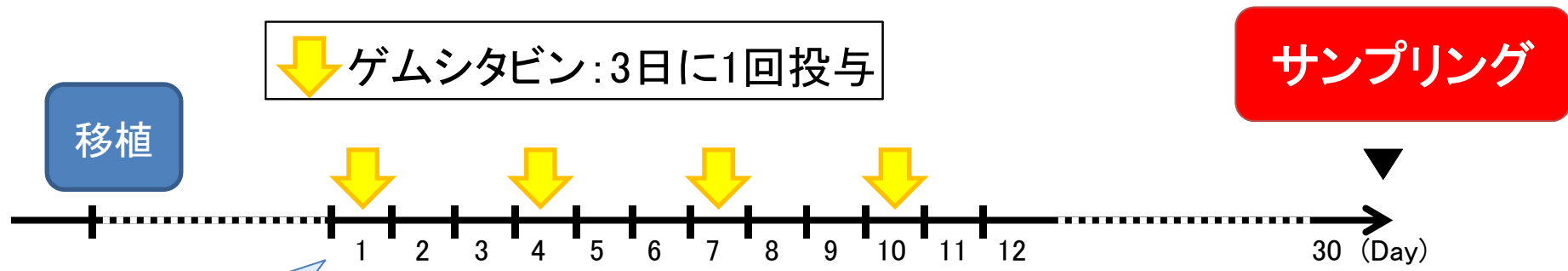
青; Nuclear (DAPI)  
/ 緑; Cancer cell (CK7)  
/ 赤; Stroma

Patient1



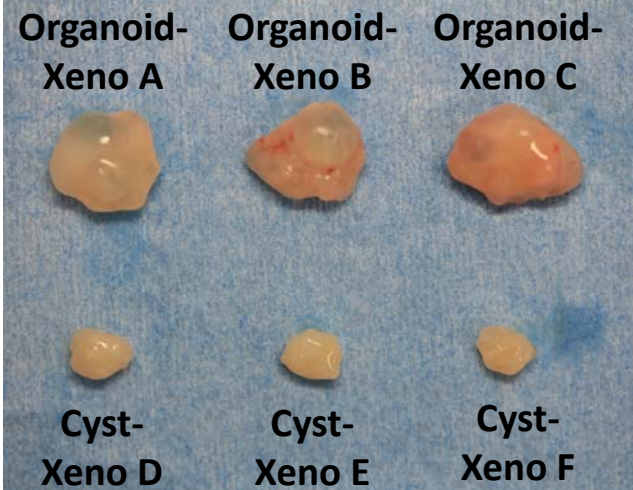
\* p<0.05, \*\* p<0.01 n=5 / mean  $\pm$  SEM /Mann-Whitney U test

# ヒト膵癌オルガノイド由来ゼノグラフトは ゲムシタビン抵抗性を示し、患者予後と相関する

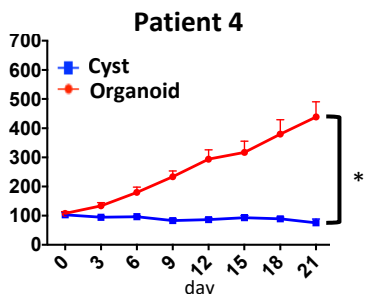
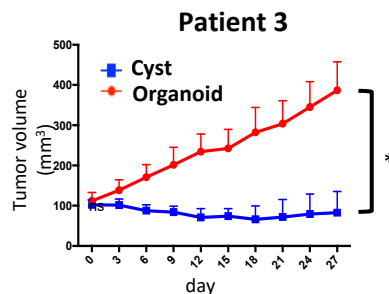
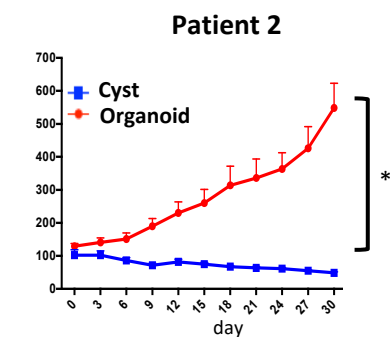
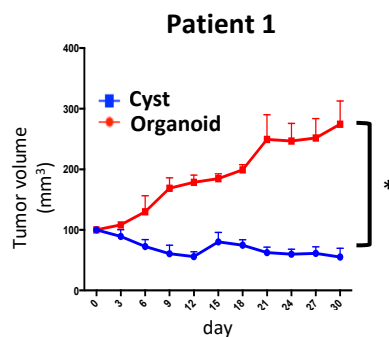


腫瘍体積の増減で薬剤感受性の評価

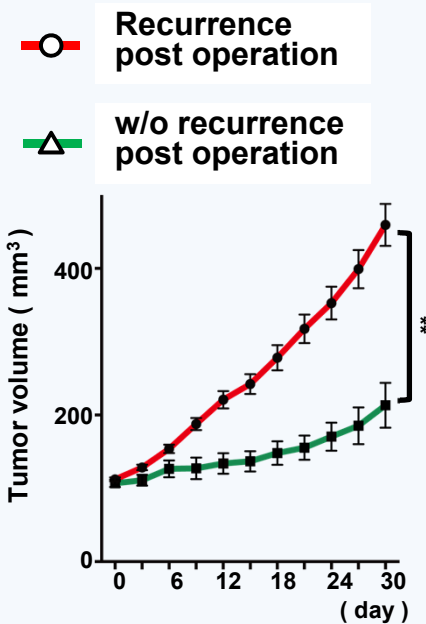
Organoid



Cyst



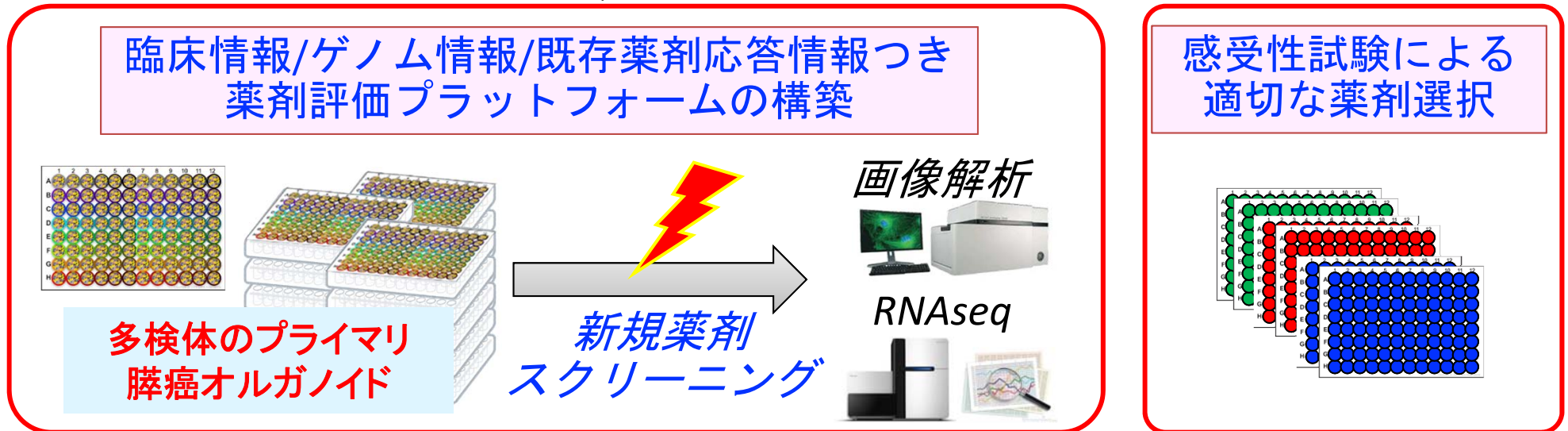
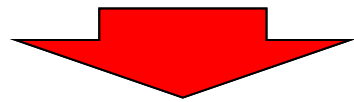
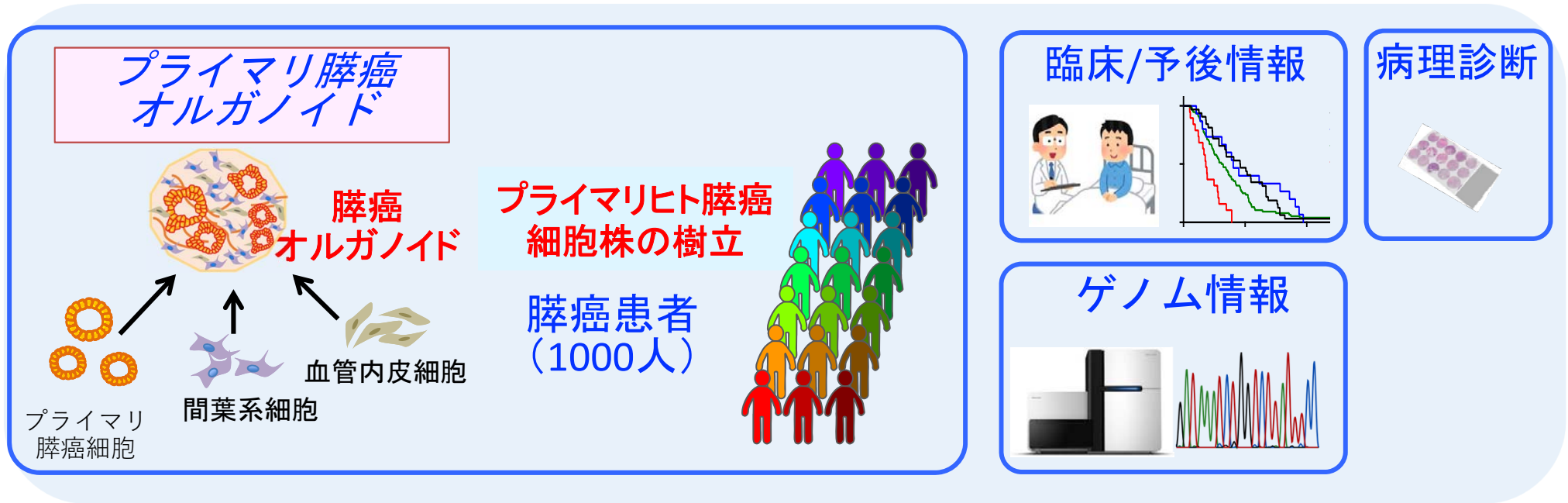
## Organoids



Mann Whitney's U-test \*p: <0.01, \*\*p<0.001, n = 5~8

# 膵癌オルガノイドを用いた個別化医療基盤技術の構築

## - Clinical Trial in a Dish -



# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、微小環境を含むがん組織を再現することに成功した。
- 従来技術で問題となっていた、患者でみられる抗がん剤耐性を再現することに成功した。
- 従来技術の問題点であった、患者ごとの違いを再現することに成功した。



# 想定される用途

- ヒト癌オルガノイド培養キットの製造販売
- ヒト癌オルガノイド担癌マウスの製造販売
- 上記を用いた受託解析

## 企業への期待

- 本特許技術を用いた創薬開発へ向けた共同研究の実施。
- 本特許技術の導出。
- ヒト癌オルガノイド培養キットならびに担癌マウスの販売

# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 再構成癌組織を用いた薬剤評価方法
- ・ 出願番号 : 特願2018-080585
- ・ 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学、  
地方独立行政法人神奈川県立病院機構
- ・ 発明者 : 谷口英樹、関根圭輔、上野康晴、  
奥田諒、森永聡一郎、宮城洋平

# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 上皮間葉転換関連分子を用いた癌評価法
- ・ 出願番号 : 特願2018-080581
- ・ 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学  
地方独立行政法人神奈川県立病院機構
- ・ 発明者 : 谷口英樹、関根圭輔、上野康晴、  
奥田諒、森永聡一郎、宮城洋平

# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 腫瘍組織再現法
- ・ 出願番号 : 特願2017-050769
- ・ 特許出願公開番号 : 特開2018-110575
- ・ 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学
- ・ 発明者 : 谷口英樹、関根圭輔、上野康晴、  
武部貴則、奥田諒

# 本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 組織及び臓器の作製方法
- ・ 出願番号 : 特願2013-536414
- ・ 特許番号 : 特許第5950235号
- ・ 出願人 : 公立大学法人横浜市立大学
- ・ 発明者 : 谷口英樹、武部貴則

# お問い合わせ先

横浜市立大学

研究推進部

研究企画・産学連携推進課

TEL: 045-787-2442

FAX: 045-787-2025

E-mail: [sangaku@yokohama-cu.ac.jp](mailto:sangaku@yokohama-cu.ac.jp)