

# 難治性がんオルガノイドを用いたスクリーニング技術 による新規抗腫瘍薬の開発

慶應義塾大学

薬学部 薬物治療学講座

准教授 齋藤 義正

## ■新技術の概要

我々は難治性がんの代表である胆道・膵臓がん患者から提供されたがん組織をオルガノイド培養により生体に近い状態で3次元培養し、創薬スクリーニングに応用する技術を確立した。本技術により抗真菌薬が胆道・膵臓がんの新たな治療薬となる可能性を見出している。難治性がんオルガノイドを用いた創薬スクリーニングを行い、革新的な抗腫瘍薬の開発を行う。

## ■従来技術・競合技術との比較

我々は難治性がんの代表である胆道・膵臓がん患者から提供されたがん組織をオルガノイド培養により生体に近い状態で3次元培養し、創薬スクリーニングに応用する技術を確立した。本技術により抗真菌薬が胆道・膵臓がんの新たな治療薬となる可能性を見出している。難治性がんオルガノイドを用いた創薬スクリーニングを行い、革新的な抗腫瘍薬の開発を行う。

## ■新技術の特徴

- ・オルガノイド培養により胆道・膵臓がんを生体に近い状態で培養し、創薬スクリーニングに応用することに成功した。
- ・本技術により抗真菌薬が胆道・膵臓がんの新たな治療薬となる可能性を見出している。
- ・本技術によりスクリーニングや薬剤感受性試験を行うことで、難治性がんに対する革新的な治療薬が開発されることが期待される。

## ■想定される用途

- ・胆道・膵臓がんに対する創薬スクリーニング
- ・胆道・膵臓がんに対する薬剤感受性試験
- ・胆道・膵臓がんの新規バイオマーカーの探索

## 難治性がんオルガノイドを用いたスクリーニング技術による新規抗腫瘍薬の開発

慶應義塾大学 薬学部 薬物治療学講座  
准教授 齋藤 義正

2019年9月3日

## オルガノイド培養

幹細胞マーカーであるLGR5に着目し、R-spondin1などの幹細胞維持に必要な増殖因子のみを加えた無血清培地を用いてマトリゲル(基底膜マトリックス)中で行う幹細胞の3次元培養。

- オルガノイドは生体内の組織と高い類似性を示しており、従来の血清を含む培地で2次元培養を行う細胞株よりも薬剤感受性スクリーニングなどに適している。
- この培養技術を用いてマウス正常腸管上皮および*Apc<sup>min</sup>*マウス由来の腸管腫瘍から採取した幹細胞がオルガノイド(組織構造体)を形成することを確認した。

マウス腸管上皮幹細胞のオルガノイド培養



*Apc<sup>min</sup>*マウスの腸管腫瘍からの幹細胞の分離・培養



## 長期継代培養(一年以上)が可能となった胆道・膵臓がんオルガノイドの臨床情報およびドライバー遺伝子変異

1. 肝内胆管がん (70歳女性)
2. 膵臓がん (46歳女性)
3. 肝内胆管がん (80歳男性)
4. 胆嚢がん (41歳女性)
5. 肝内胆管がん (46歳男性)
6. ファーター乳頭部神経内分泌がん (74歳男性)

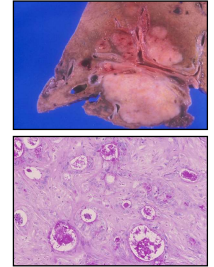
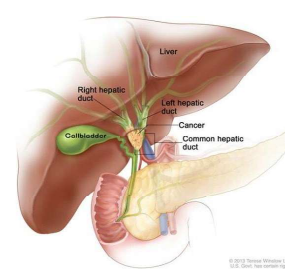
Patient Information and Driver Gene Mutations

No.	Age	Sex	Diagnosis	Driver gene mutation (amino acid change)								
				TP53	KRAS	TGFBR2	CDKN2A	IDH1	CTNNB1	APC	SMAD4	
1	314	70	F	IHCC, adeno, mod	R175H	G12V	125 FS					
2	2T	46	F	PDA, poorly	H140Y	G12D						S29FS
3	9T	80	M	IHCC, adeno, poor to mod	302 FS				R132L			
4	21T	41	F	GBC, adeno, well	G245S	G12S				S45F		
5	26T	46	M	IHCC, adeno, mod	C242F			W15*				
6	44T	74	M	NEC, poorly		Q61R					R232*	

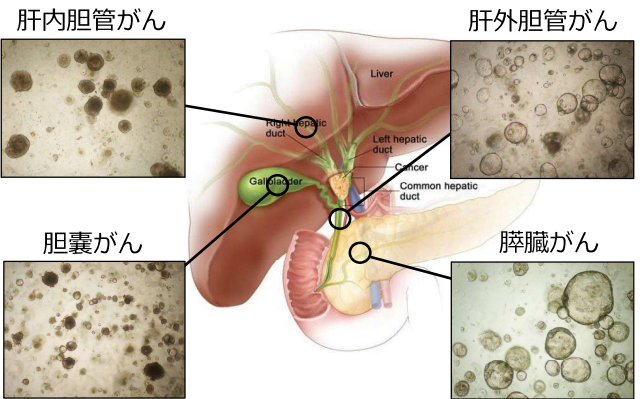
IHCC, intrahepatic cholangiocarcinoma; adeno, adenocarcinoma; well, well differentiated; mod, moderately differentiated; poor, poorly differentiated; GBC, GB cancer; NEC, neuroendocrine carcinoma; PDA, pancreatic ductal adenocarcinoma; FS, frameshift; \*, stop codon

## 胆道がんについて

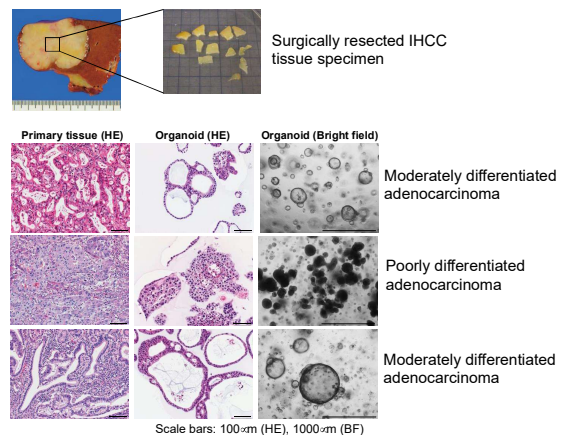
- 肝内胆管から十二指腸乳頭に至る胆道に発生する悪性腫瘍。
- 日本人に多く、増加傾向にある(日本人がん死亡数の第6位)。
- 早期発見が難しく、5年生存率は約20%と予後も極めて不良である。
- Gemcitabineによる化学療法が胆道がんの標準治療となっているが、多くの症例が治療抵抗性を示し、化学療法による根治はほとんど望めない。



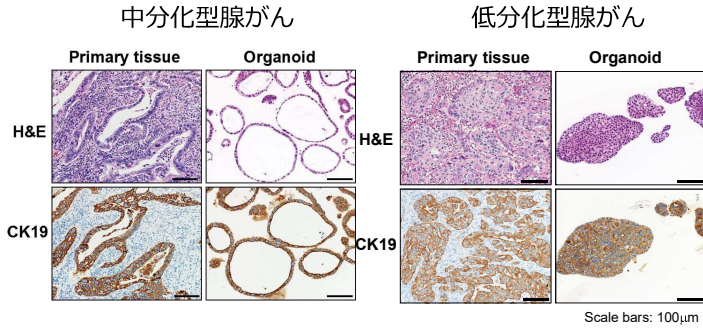
## 胆道・膵臓がん組織からのオルガノイドの樹立



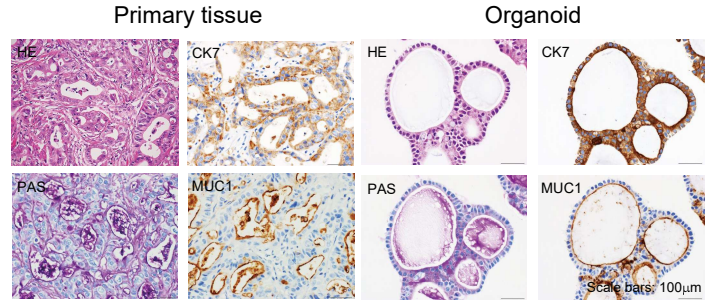
## 肝内胆管がん組織からのオルガノイドの樹立



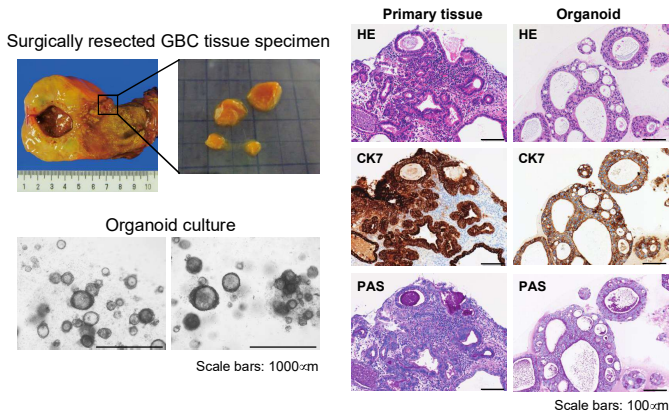
肝内胆管がん組織と樹立したオルガノイドの組織学的類似性



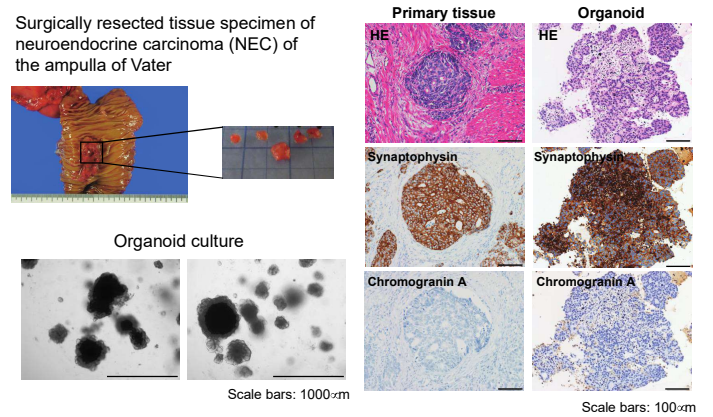
肝内胆管がん組織と樹立したオルガノイドの類似性 (免疫染色)



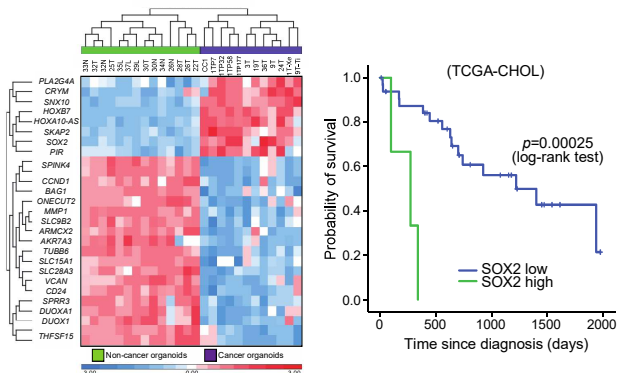
胆嚢がん由来オルガノイドの形態と免疫染色



ファーター乳頭部神経内分泌がん由来オルガノイドの形態と免疫染色

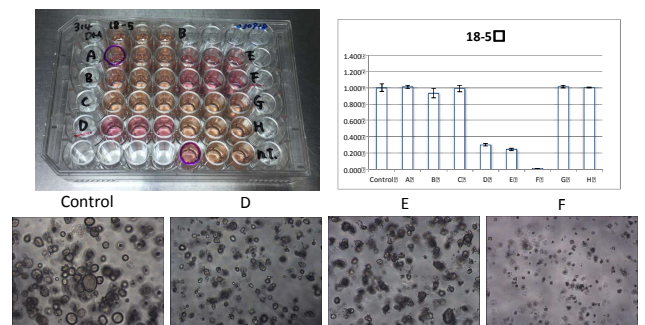


胆道がんオルガノイドを用いた遺伝子発現解析

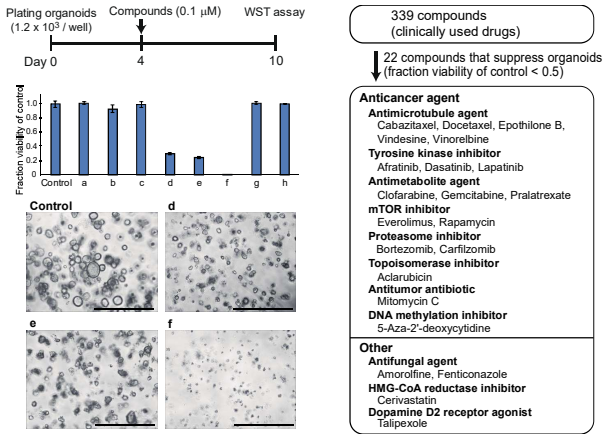


SOX2が胆道がん患者の予後を予測する新たなバイオマーカーの候補となる。

胆道がんオルガノイドを用いた既存薬ライブラリーによるスクリーニング

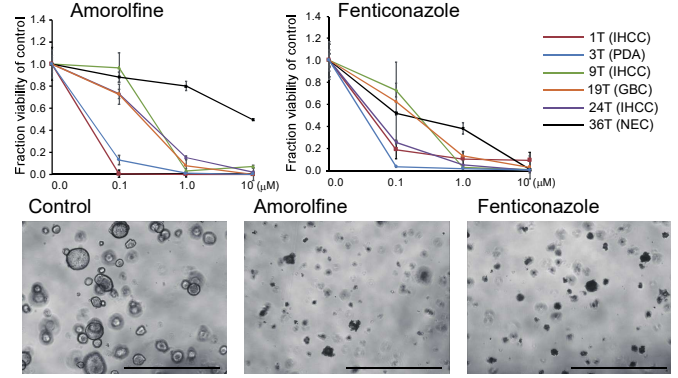


## Drug screening with clinically used drugs



13

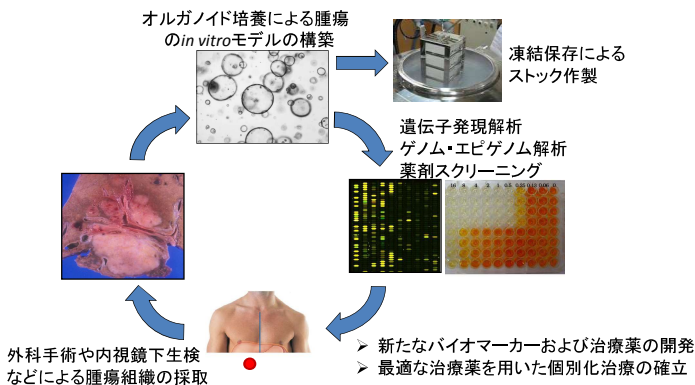
## Drug repositioning strategy using cancer organoids



これらの既存薬は既に安全性が確認されているため、胆道がんや膵臓がんを最小限の副作用で効率的に抑制する新規予防・治療薬となることが期待される。

14

## 腫瘍オルガノイドバンクの構築による個別化治療の開発



15

## Cell Reports

Resource

### Establishment of Patient-Derived Organoids and Drug Screening for Biliary Tract Carcinoma

Graphical Abstract

Authors

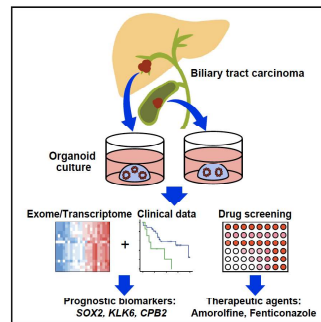
Yoshimasa Saito, Toshihide Muramatsu, Yae Kanai, ..., Nao Yoshikawa, Ryo Furukawa, Hidetsugu Saito

Correspondence

saito-ys@pha.keio.ac.jp

In Brief

Saito et al. were successful in establishing and long-term *in vitro* culturing of organoids derived from patients with intrahepatic cholangiocarcinoma, gallbladder cancer, and neuroendocrine carcinoma of the ampulla of Vater. Patient-derived organoids can be a powerful preclinical model to identify prognostic biomarkers and therapeutic agents for biliary tract carcinoma.



16



## 従来技術とその問題点

- 現在、胆道・膵臓がんに対する化学療法には、主にゲムシタピンが用いられているが、その効果は限定的であり、5年生存率も極めて不良である。
- 従来の創薬スクリーニングには、血清含有培地で培養を行う2次元の細胞株が用いられてきたが、生体内の腫瘍を再現しているとは言い難い。
- 従来の創薬スクリーニングではヒットしなかった化合物も本技術によりヒット化合物となる可能性がある。

17

18

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- 本技術では、オルガノイド培養により胆道・膵臓がんを生体に近い状態で3次元培養し、スクリーニングを行うことで、難治性がんに対する革新的な創薬が可能になる。
- オルガノイド培養により胆道・膵臓がんを生体に近い状態で培養し、創薬スクリーニングに応用することに成功した。
- 本技術により抗真菌薬が胆道・膵臓がんの新たな治療薬となる可能性を見出している。
- 本技術によりスクリーニングや薬剤感受性試験を行うことで、難治性がんに対する革新的な治療薬が開発されることが期待される。

19

## 想定される用途

- 胆道・膵臓がんに対する創薬スクリーニング
- 特に、既存薬ライブラリーを用いたスクリーニングを行うことで、ドラッグ・リポジショニングが可能になる。
- 新規化合物の胆道・膵臓がんに対する薬剤感受性試験
- 薬剤投与前後の遺伝子発現などを解析することで、胆道・膵臓がんの新規バイオマーカーの探索などが可能になる。

20

## 実用化に向けた課題

- 現在、東京大学創薬機構から供与された既存薬ライブラリーを用いた胆道がんオルガノイドのスクリーニングが進行中。今年中に全ての化合物が終了する予定。
- ヒット化合物の合成・展開
- ヒット化合物の*in vivo*での薬効評価
- 非臨床POCの取得、治験への移行を目指す。

21

## 企業への期待

- 胆道・膵臓がんに対する新薬を開発中の企業、創薬への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。
- 企業が開発した新規化合物の胆道・膵臓がんオルガノイドに対する薬効評価
- 企業が所有している化合物ライブラリーを用いた胆道・膵臓がんオルガノイドに対するスクリーニング
- ヒット化合物の*in vivo*での薬効評価、非臨床POC取得などに関する共同研究

22

## 本技術に関する知的財産権

出願番号：特願2018-186915（出願中）  
発明者：齋藤 義正、齋藤 英胤、杉山 優子、村松 俊英  
発明の名称：癌治療用医薬組成物  
出願人：学校法人慶應義塾  
出願日：2018年10月01日

出願番号：特願2018-052795（出願中）  
発明者：齋藤 義正、金井 弥栄、村松 俊英  
発明の名称：胆道癌オルガノイド又は膵臓癌オルガノイドの培養用培地  
出願人：学校法人慶應義塾  
出願日：2018年3月20日

23

## お問い合わせ先

慶應義塾大学  
研究連携推進本部 高橋 勇美  
TEL 03-5315 - 4368  
FAX 03-5315 - 4369  
e-mail isami.takahashi@adst.keio.ac.jp

24