

Title	肺癌オルガノイドライブラリーを用いた肺癌細胞特異的依存シグナル・依存遺伝子の同定
Sub Title	Identification of essential genes or pathways of lung cancer cells using a patient-derived lung cancer organoid library
Author	安田, 浩之(Yasuda, Hiroyuki)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2022
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>肺癌は癌死因一位の予後不良の疾患である。現在までに複数のプログラムで肺癌細胞における分子異常（遺伝子変異や遺伝子発現異常）が明らかになってきている。しかし、これら分子異常がどのように肺癌細胞のフェノタイプを形成するかについては十分に検証されていない。本研究では肺癌における分子異常とフェノタイプの関係を明らかにするために、下記3点の項目に関して研究を進めた。</p> <p>① ニッチ因子解析による肺癌細胞特異的依存シグナルの同定とそのメカニズム解明：樹立した患者由来肺癌オルガノイドに対して、培養液中の増殖因子を添加あるいは除去し、オルガノイドの増殖をin vitroで評価した（ニッチ因子解析）。その結果、肺腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌など組織ごとになるニッチ依存性を明らかにした。現在、これらニッチ依存性の違いがどのような遺伝子異常によってもたらさせるのかについて、前向きな遺伝子改変実験を行い評価を行っている。</p> <p>② CRIPR/Cas9 knockoutライブラリーを用いた肺癌細胞特異的依存遺伝子の同定：現在までに肺腺癌オルガノイドに対してCRISPR/Cas9キナーゼノックアウトライブラリーを用いた研究、小細胞癌オルガノイドに対してCRISPR/Cas9転写因子ノックアウトライブラリーを行った。その中で、肺癌細胞特異的に増殖のために依存している遺伝子を複数同定した。</p> <p>③ 治療標的としての妥当性の検証：研究の中で肺癌のフェノタイプと分子異常をつなぐメカニズムの検証を行った。その中で治療法開発につながる標的を複数同定した。それらに対して、治療標的としての妥当性をin vitroの薬剤感受性解析およびin vivoでのマウスゼノグラフトモデルを用いて検証を行っている。</p> <p>Lung cancer is a leading cause of cancer-related death worldwide. Recent molecular profiling of lung cancer identified multiple molecular alterations such as gene mutations or gene expression alterations. However, the connection between molecular alterations and the phenotype of lung cancer cells has not been well clarified.</p> <p>To clarify the connection, we performed the experiments using a patient-derived lung cancer organoid library as addressed below.</p> <p>1. Niche dependency analysis.</p> <p>To clarify the cell-intrinsic pathway dependency of lung cancer cells, we performed a niche dependency analysis, in which growth factors or inhibitors of key signal pathways are added or depleted from the culture medium and the proliferation of lung cancer organoids was examined in vitro. Through the niche dependency analysis, we clarified the histological subtype-specific niche dependency patterns. To clarify the molecular mechanisms to determine niche dependency patterns, we are trying to prospectively evaluate the mechanism using CRISPR/Cas9 guided gene engineering.</p> <p>2. CRISPR/Cas9 gene knockout library.</p> <p>To clarify the essential genes for the proliferation of lung cancer cells, we performed experiments using the CRISPR/Cas9 gene knockout library. We performed the kinase knockout library screening for lung adenocarcinoma and transcription factor knockout screening for small cell lung cancer. We found several genes which are important for the proliferation of lung cancer cells.</p> <p>3. In vitro and in vivo evaluation of identified therapeutic vulnerabilities. Through the aforementioned experiments, we identified several therapeutic vulnerabilities of lung cancer. To evaluate whether targeting such vulnerabilities are rationale approach for lung cancer treatment, we are performing in vitro drug sensitivity assay and in vivo mouse xenograft experiments.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0046">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0046</a>

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師	補助額	1,500 千円
	氏名	安田 浩之	氏名 (英語)	Hiroyuki Yasuda		
研究課題 (日本語)						
肺癌オルガノイドライブラリーを用いた肺癌細胞特異的依存シグナル・依存遺伝子の同定						
研究課題 (英訳)						
Identification of essential genes or pathways of lung cancer cells using a patient-derived lung cancer organoid library						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
安田浩之 (Hiroyuki Yasuda)		医学部・呼吸器内科・専任講師				
浜本純子 (Junko Hamamoto)		医学部・呼吸器内科・研究員				
光石彬史 (Akifumi Mitsuishi)		医学部・呼吸器内科・大学院生				
福島貴大 (Takahiro Fukushima)		医学部・呼吸器内科・大学院生				
1. 研究成果実績の概要						
<p>肺癌は癌死因一位の予後不良の疾患である。現在までに複数のプログラムで肺癌細胞における分子異常(遺伝子変異や遺伝子発現異常)が明らかになってきている。しかし、これら分子異常がどのように肺癌細胞のフェノタイプを形成するかについては十分に検証されていない。</p> <p>本研究では肺癌における分子異常とフェノタイプの間を明らかにするために、下記3点の項目に関して研究を進めた。</p> <p>① ニッチ因子解析による肺癌細胞特異的依存シグナルの同定とそのメカニズム解明: 樹立した患者由来肺癌オルガノイドに対して、培養液中の増殖因子を添加あるいは除去し、オルガノイドの増殖を <i>in vitro</i> で評価した(ニッチ因子解析)。その結果、肺腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌など組織ごとにことなるニッチ依存性を明らかにした。現在、これらニッチ依存性の違いがどのような遺伝子異常によってもたらさせるのかについて、前向きな遺伝子改変実験を行い評価を行っている。</p> <p>② CRIPR/Cas9 knockout ライブラリーを用いた肺癌細胞特異的依存遺伝子の同定: 現在までに肺腺癌オルガノイドに対して CRISPR/Cas9 キナーゼノックアウトライブラリーを用いた研究、小細胞癌オルガノイドに対して CRISPR/Cas9 転写因子ノックアウトライブラリーを行った。その中で、肺癌細胞特異的に増殖のために依存している遺伝子を複数同定した。</p> <p>③ 治療標的としての妥当性の検証: 研究の中で肺癌のフェノタイプと分子異常をつなぐメカニズムの検証を行った。その中で治療法開発につながる標的を複数同定した。それらに対して、治療標的としての妥当性を <i>in vitro</i> の薬剤感受性解析および <i>in vivo</i> でのマウスゼノグラフトモデルを用いて検証を行っている。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Lung cancer is a leading cause of cancer-related death worldwide. Recent molecular profiling of lung cancer identified multiple molecular alterations such as gene mutations or gene expression alterations. However, the connection between molecular alterations and the phenotype of lung cancer cells has not been well clarified.</p> <p>To clarify the connection, we performed the experiments using a patient-derived lung cancer organoid library as addressed below.</p> <p>1. Niche dependency analysis.</p> <p>To clarify the cell-intrinsic pathway dependency of lung cancer cells, we performed a niche dependency analysis, in which growth factors or inhibitors of key signal pathways are added or depleted from the culture medium and the proliferation of lung cancer organoids was examined <i>in vitro</i>. Through the niche dependency analysis, we clarified the histological subtype-specific niche dependency patterns. To clarify the molecular mechanisms to determine niche dependency patterns, we are trying to prospectively evaluate the mechanism using CRISPR/Cas9 guided gene engineering.</p> <p>2. CRISPR/Cas9 gene knockout library.</p> <p>To clarify the essential genes for the proliferation of lung cancer cells, we performed experiments using the CRISPR/Cas9 gene knockout library. We performed the kinase knockout library screening for lung adenocarcinoma and transcription factor knockout screening for small cell lung cancer. We found several genes which are important for the proliferation of lung cancer cells.</p> <p>3. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> evaluation of identified therapeutic vulnerabilities. Through the aforementioned experiments, we identified several therapeutic vulnerabilities of lung cancer. To evaluate whether targeting such vulnerabilities are rationale approach for lung cancer treatment, we are performing <i>in vitro</i> drug sensitivity assay and <i>in vivo</i> mouse xenograft experiments.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			