

Title	胆道がんオルガノイドを用いた腫瘍微小環境の構築と新たな個別化医療の開発
Sub Title	Establishment of tumor microenvironment and development of new personalized medicine using biliary tract cancer organoids
Author	齋藤, 義正(Saito, Yoshimasa)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2024
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	胆道がんに対する個別化医療を推進する上で、患者由来のオルガノイドが強力なプレクリニカルモデルとなることが期待されているが、一方で、現行のオルガノイド培養では腫瘍微小環境を再現できないため、免疫チェックポイント阻害薬などの薬効評価が難しいなどの課題も見えてきている。また、胆道がんにおいて高頻度に認められるIDH変異に伴う代謝異常に着目した新規治療薬の開発も重要である。 本研究において、患者由来胆道がんオルガノイドのメタボローム解析を行ったところ、IDH1が野生型であるオルガノイドと比較しIDH1が変異型であるオルガノイドにおいて2-HGの蓄積およびATP産生量の低下が確認された。これに伴いAMPKキナーゼの活性化を介してタンパク質合成の抑制やmTORシグナルの抑制が起こりMCL-1タンパクが低下していると考えられた。MCL-1阻害剤であるS63845を曝露したところ、IDH1が野生型である胆道がんオルガノイドの細胞増殖を抑制しなかったが、IDH1変異胆道がんオルガノイドの細胞増殖が有意に低下した。以上より、MCL-1阻害剤はIDH1変異を有する胆道がんの細胞増殖を特異的に抑制することが明らかになった。 また、免疫チェックポイント阻害薬の効果を評価するため、これまでに開発してきた胆道がんオルガノイドの培養系にT細胞を加えた共培養を開始した。胆道がん患者由来オルガノイドを用いて1細胞解析を行い、がん幹細胞に発現する分子を特定した。これらの分子由来の抗原ペプチドを生成し、胆道がん患者とHLAを合わせた健常人ドナー由来の末梢血単核細胞と反応させることで、細胞傷害性T細胞が活性化することを確認した。今後は、これらのがん幹細胞を標的とした細胞傷害性T細胞と胆道がんオルガノイドを共培養し、マイクロ流体デバイス上で腫瘍免疫を再現する。さらに、免疫チェックポイント阻害薬の効果を評価できる培養系を確立し、個別化がん免疫療法の基盤となる技術を開発する。 In advancing personalized medicine for biliary tract cancer, patient-derived organoids are expected to serve as a potent preclinical model. However, challenges have emerged, such as the inability of current organoid cultures to replicate the tumor microenvironment, making it difficult to evaluate the efficacy of drugs like immune checkpoint inhibitors. Additionally, it is crucial to develop novel therapeutic agents targeting metabolic abnormalities associated with frequent IDH mutations in biliary tract cancer. In this study, metabolomic analysis of patient-derived biliary tract cancer organoids revealed a decrease in 2-HG accumulation and ATP production in IDH1 mutant organoids compared to wild-type IDH1 organoids. Consequently, it was inferred that protein synthesis inhibition and mTOR signal suppression occur via AMPK kinase activation, leading to reduced MCL-1 protein levels. Exposure to S63845, an MCL-1 inhibitor, did not significantly inhibit cell proliferation in IDH1 wild-type biliary tract cancer organoids, whereas cell proliferation significantly decreased in IDH1 mutant biliary tract cancer organoids. Thus, it was revealed that MCL-1 inhibitors specifically inhibit cell proliferation in biliary tract cancers with IDH1 mutations. Furthermore, to evaluate the effectiveness of immune checkpoint inhibitors, co-cultivation of T cells with biliary tract cancer organoids was initiated. Single-cell analysis using organoids derived from biliary tract cancer patients identified molecules expressed on cancer stem cells. Antigenic peptides derived from these molecules were generated, and the activation of cytotoxic T cells was confirmed by reacting them with peripheral blood mononuclear cells derived from biliary tract cancer patients and HLA-matched healthy donors. Future endeavors will involve co-cultivating these cancer stem cell-targeted cytotoxic T cells with biliary tract cancer organoids to replicate tumor immunity on microfluidic devices. Additionally, efforts will be made to establish a culture system capable of evaluating the effects of immune checkpoint inhibitors and develop a technology serving as a foundation for personalized cancer immunotherapy.
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20230001-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

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.

2023年度 福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	教授	補助額	1,500千円
	氏名	齋藤 義正	氏名（英語）	Yoshimasa Saito		
研究課題（日本語）						
胆道がんオルガノイドを用いた腫瘍微小環境の構築と新たな個別化医療の開発						
研究課題（英訳）						
Establishment of tumor microenvironment and development of new personalized medicine using biliary tract cancer organoids						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
須藤 亮（Ryo Sudo）		理工学部・システムデザイン工学科・教授				
1. 研究成果実績の概要						
胆道がんに対する個別化医療を推進する上で、患者由来のオルガノイドが強力なプレクリニカルモデルとなることが期待されているが、一方で、現行のオルガノイド培養では腫瘍微小環境を再現できないため、免疫チェックポイント阻害薬などの薬効評価が難しいなどの課題も見えてきている。また、胆道がんにおいて高頻度に認められるIDH 変異に伴う代謝異常に着目した新規治療薬の開発も重要である。 本研究において、患者由来胆道がんオルガノイドのメタボローム解析を行ったところ、IDH1が野生型であるオルガノイドと比較しIDH1が変異型であるオルガノイドにおいて2-HGの蓄積およびATP産生量の低下が確認された。これに伴いAMPKキナーゼの活性化を介してタンパク質合成の抑制やmTORシグナルの抑制が起こりMCL-1タンパクが低下していると考えられた。MCL-1阻害剤であるS63845を曝露したところ、IDH1が野生型である胆道がんオルガノイドの細胞増殖を抑制しなかったが、IDH1変異胆道がんオルガノイドの細胞増殖が有意に低下した。以上より、MCL-1阻害剤はIDH1変異を有する胆道がんの細胞増殖を特異的に抑制することが明らかになった。 また、免疫チェックポイント阻害薬の効果を評価するため、これまでに開発してきた胆道がんオルガノイドの培養系にT細胞を加えた共培養を開始した。胆道がん患者由来オルガノイドを用いて1細胞解析を行い、がん幹細胞に発現する分子を特定した。これらの分子由来の抗原ペプチドを生成し、胆道がん患者とHLAを合わせた健常人ドナー由来の末梢血単核細胞と反応させることで、細胞傷害性T細胞が活性化することを確認した。今後は、これらのがん幹細胞を標的とした細胞傷害性T細胞と胆道がんオルガノイドを共培養し、マイクロ流体デバイス上で腫瘍免疫を再現する。さらに、免疫チェックポイント阻害薬の効果を評価できる培養系を確立し、個別化がん免疫療法の基盤となる技術を開発する。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
In advancing personalized medicine for biliary tract cancer, patient-derived organoids are expected to serve as a potent preclinical model. However, challenges have emerged, such as the inability of current organoid cultures to replicate the tumor microenvironment, making it difficult to evaluate the efficacy of drugs like immune checkpoint inhibitors. Additionally, it is crucial to develop novel therapeutic agents targeting metabolic abnormalities associated with frequent IDH mutations in biliary tract cancer. In this study, metabolomic analysis of patient-derived biliary tract cancer organoids revealed a decrease in 2-HG accumulation and ATP production in IDH1 mutant organoids compared to wild-type IDH1 organoids. Consequently, it was inferred that protein synthesis inhibition and mTOR signal suppression occur via AMPK kinase activation, leading to reduced MCL-1 protein levels. Exposure to S63845, an MCL-1 inhibitor, did not significantly inhibit cell proliferation in IDH1 wild-type biliary tract cancer organoids, whereas cell proliferation significantly decreased in IDH1 mutant biliary tract cancer organoids. Thus, it was revealed that MCL-1 inhibitors specifically inhibit cell proliferation in biliary tract cancers with IDH1 mutations. Furthermore, to evaluate the effectiveness of immune checkpoint inhibitors, co-cultivation of T cells with biliary tract cancer organoids was initiated. Single-cell analysis using organoids derived from biliary tract cancer patients identified molecules expressed on cancer stem cells. Antigenic peptides derived from these molecules were generated, and the activation of cytotoxic T cells was confirmed by reacting them with peripheral blood mononuclear cells derived from biliary tract cancer patients and HLA-matched healthy donors. Future endeavors will involve co-cultivating these cancer stem cell-targeted cytotoxic T cells with biliary tract cancer organoids to replicate tumor immunity on microfluidic devices. Additionally, efforts will be made to establish a culture system capable of evaluating the effects of immune checkpoint inhibitors and develop a technology serving as a foundation for personalized cancer immunotherapy.						
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）

鈴木志帆、松崎潤太郎、齋藤義正	IDH1変異を有するヒト胆道がんに対するMCL-1阻害薬の有用性の可能性：患者由来ヒト胆道がんオルガノイドを用いた解析	第82回日本癌学会学術総会	2023年9月
-----------------	---	---------------	---------