

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | 小細胞肺癌オルガノイドを用いた小細胞肺癌発癌過程の理解                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Sub Title        | Understanding the process of small cell lung carcinogenesis using small cell lung cancer organoids                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Author           | 浜本, 純子(Hamamoto, Junko)<br>安田, 浩之(Yasuda, Hiroyuki)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Publisher        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Publication year | 2025                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Jtitle           | 科学研究費補助金研究成果報告書 (2024. )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| JaLC DOI         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Abstract         | 40の患者由来SCLCオルガノイド株を樹立し、トランスクリプトーム・プロファイリングにより、SCLCオルガノイドは神経内分泌 ( NE ) 型SCLCと非NE型SCLCに分けられ、後者はYAP1またはPOU2F3の発現によって特徴づけられることを見出した。非NE型SCLCオルガノイドはIGF-1によるYAP1およびAP1の活性化に依存しており、IGF-1、YAP1、AP1を標的とした阻害剤に感受性であることを見出した。ヒト正常肺胞細胞においてTP53及びRB1をノックアウトしたところIGF-1依存性が付与されたことから、サブタイプと表現型の関連を検証することができた。<br>We established 40 patient-derived SCLC organoid lines and found by transcriptome profiling that SCLC organoids are divided into neuroendocrine (NE)-type SCLC and non-NE-type SCLC, the latter characterized by the expression of YAP1 or POU2F3. We found that non-NE-type SCLC organoids are dependent on activation of YAP1 and AP1 by IGF-1 and are sensitive to inhibitors targeting IGF-1, YAP1 and AP1. Knockout of TP53 and RB1 in normal human alveolar cells conferred IGF-1 dependence, validating the association between subtype and phenotype. |
| Notes            | 研究種目：基盤研究 (C) (一般)<br>研究期間：2022～2024<br>課題番号：22K08290<br>研究分野：肺がん                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Genre            | Research Paper                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| URL              | <a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22K08290seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22K08290seika</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

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.

令和 7 年 5 月 20 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K08290

研究課題名（和文）小細胞肺癌オルガノイドを用いた小細胞肺癌発癌過程の理解

研究課題名（英文）Understanding the process of small cell lung carcinogenesis using small cell lung cancer organoids

研究代表者

浜本 純子（HAMAMOTO, Junko）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：40570239

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：40の患者由来SCLCオルガノイド株を樹立し、トランスクリプトーム・プロファイリングにより、SCLCオルガノイドは神経内分泌（NE）型SCLCと非NE型SCLCに分けられ、後者はYAP1またはPOU2F3の発現によって特徴づけられることを見出した。非NE型SCLCオルガノイドはIGF-1によるYAP1およびAP1の活性化に依存しており、IGF-1、YAP1、AP1を標的とした阻害剤に感受性であることを見出した。ヒト正常肺胞細胞においてTP53及びRB1をノックアウトしたところIGF-1依存性が付与されたことから、サブタイプと表現型の関連を検証することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小細胞肺癌の病気の病態解明を行うとともに、小細胞肺癌の一部に有効な治療薬となる可能性を見出した。今後は「非神経内分泌タイプの小細胞肺癌であることを検査したうえでIGF1R阻害剤を使用する」といった、小細胞肺癌領域における個別化医療開発につながる事が期待できる。  
また、本研究で構築した小細胞肺癌オルガノイドライブラリーは、本研究のみならず、世界中の多くの研究者にとって強力な研究リソースであり、これを用いることで小細胞肺癌の原因解明、治療薬開発スピードを飛躍的に向上させることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We established 40 patient-derived SCLC organoid lines and found by transcriptome profiling that SCLC organoids are divided into neuroendocrine (NE)-type SCLC and non-NE-type SCLC, the latter characterized by the expression of YAP1 or POU2F3. We found that non-NE-type SCLC organoids are dependent on activation of YAP1 and AP1 by IGF-1 and are sensitive to inhibitors targeting IGF-1, YAP1 and AP1. Knockout of TP53 and RB1 in normal human alveolar cells conferred IGF-1 dependence, validating the association between subtype and phenotype.

研究分野：肺がん

キーワード：小細胞肺がん オルガノイド

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小細胞肺癌は患者由来の組織検体採取が困難であることからヒト由来の疾患モデルが限られ、分子異常（遺伝子変異やエピジェネティクス異常）の同定やその生物学的意義の検証が十分に進んでいない。小細胞肺癌の生物学理解を深め新規治療法を開発して患者予後を改善するには、同定された分子異常が小細胞肺癌発癌に与える影響を一つずつ解明する必要がある。

オルガノイド(3D)は細胞株(2D)や xenograft モデルでは難しかった癌細胞微小環境の再現を可能にすることから、分子異常と発癌フェノタイプを繋げる強力なツールとして注目されている。申請者らは、少量の臨床検体から小細胞肺癌オルガノイドを樹立する方法を開発し、樹立したオルガノイドの一部については各種 omics 解析により分子異常を同定し、それに伴うフェノタイプの関連を明らかにした (Kawasaki, Hamamoto *et al.* *Cell* 2020)。さらに、同一患者由来の非癌部肺から正常肺オルガノイドを樹立することにも世界に先駆けて成功した (Ebisudani, Hamamoto *et al.*, *Cell Report* 2021)。

### 2. 研究の目的

本研究では、上記の独自の研究基盤を用いて同定した小細胞肺癌の分子異常について、遺伝子改変技術等を用いて小細胞肺癌発癌過程における意義を前向きに検証することで、小細胞肺癌発癌過程を解明することを目的とする。具体的には①大規模小細胞肺癌オルガノイドライブラリー樹立と omics 解析による分子異常把握、②遺伝子改変技術による分子異常の生物学的意義の前向き検証、を目標とする。これらを通して小細胞肺癌の生物学的理解を深め、新規治療法開発につなげていきたい。

### 3. 研究の方法

(1) 大規模小細胞肺癌オルガノイドライブラリー樹立と omics 解析による分子異常把握  
申請書作成時点で、研究分担者慶應義塾大学医学部呼吸器内科安田浩之専任講師と共に効率の高い独自のオルガノイド樹立プロトコルを確立した。樹立したオルガノイドから DNA や RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた omics 解析(whole exome sequencing, whole genome sequencing, RNA-seq, ATAC-seq)を順次行う。既に樹立したラインの一部についてはこれらの解析を施行済みで、実験系が機能することを確認済みである。

(2) 遺伝子改変技術による分子異常の生物学的意義の前向き検証

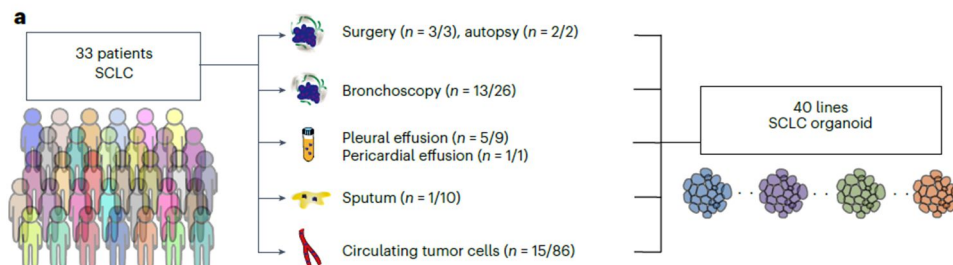
(1)で見出した分子異常を解除するような遺伝子編集あるいは薬剤処理を小細胞肺癌オルガノイドで行い、それにより各分子異常が発癌過程で生物学的に意義があるのかどうか検証する。具体的には、小細胞肺癌では主に Cell cycle (TP53, RB1, CDKN2A)、PI3K (PTEN, FGFR1, KIT)、転写 (CREBBP, EP300, MYC)、NOTCH の 4 経路で分子異常の割合が多いことが既に報告されており、これらの pathway の遺伝子を改変する予定である。それ以外に、既知かつ申請者らのライブラリーでも高頻度に検出した遺伝子群にも注目している。検証方法は、増殖・発現パターンに与える影響についてそれぞれ MTS assay(in vitro)及び xenograft 移植(in vivo)、RNA-seq 及び ATAC-seq 解析を行い、各分子異常が小細胞肺癌で必要不可欠であるのか、それともただの passenger 異常なのかを考察する。

### 4. 研究成果

研究の主な成果

(1) 小細胞肺癌患者からオルガノイドライブラリーを構築

最終的に 33 名の患者から書面による研究への同意をいただき、40 種類からなる小細胞肺癌オルガノイドライブラリーを構築した (図 1)。これにより、今後、小細胞肺癌の病気の原因解明や治療法開発を行う上で効率的な研究リソースを構築した。



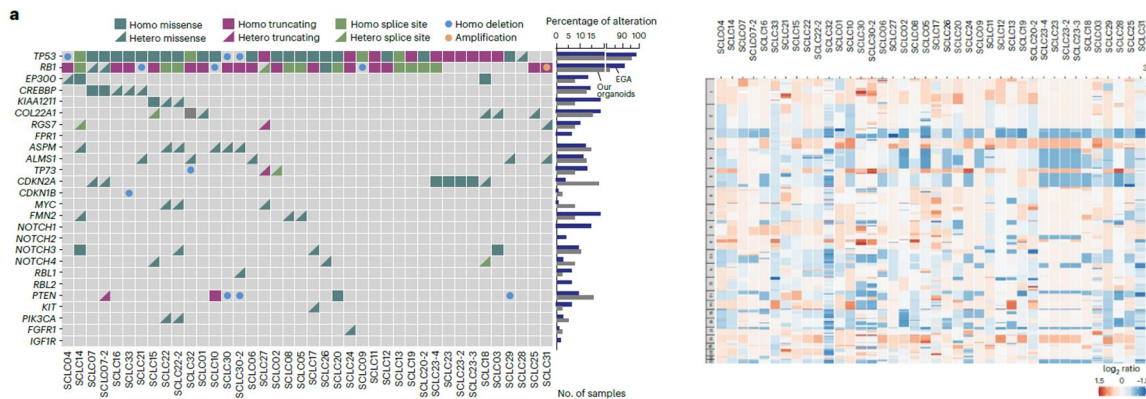


図1 小細胞肺癌オルガノイドライブラリーの構築（上：研究概要、下左：全ゲノム配列決定により同定された SCLC オルガノイドにおける遺伝子変化（n = 40）、下右：同、コピー数変化）

(2) 非神経内分泌タイプ小細胞肺癌は IGF-1・IGF1R 経路の活性化無しでは増殖できない  
最近の研究で、小細胞肺癌が転写因子の発現に基づいて 4 つのグループに分類できることが報告されている。遺伝子発現情報を詳細に解析した結果、構築したライブラリーにもこれら 4 つのグループが存在することが確認され、本ライブラリーが臨床における多様性を維持したライブラリーであることが確認された。当初の計画では分子異常の生物学的意義の前向き検証を行う予定であったが、樹立した 40 種類のオルガノイドに対してニッチ解析を行いオルガノイドの増殖能を評価したところ、非神経内分泌タイプ (POU2F3、YAP1) の小細胞肺癌オルガノイドが、IGF-1 (インスリン様増殖因子) に高度に依存して増殖していることを見出した (図 2) ことから、このサブグループのニッチ依存性に着目して研究を進めることにした。

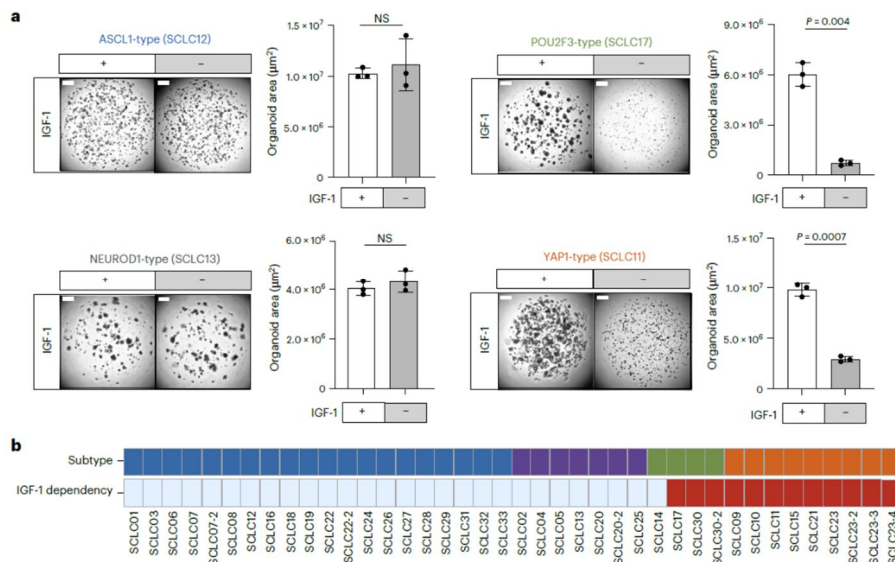


図2 POU2F3 および YAP1 タイプ小細胞肺癌は IGF-1 がないと増殖できない

(3) 非神経内分泌タイプの小細胞肺癌に対して IGF1R 阻害剤が有効である  
非神経内分泌タイプ小細胞肺癌オルガノイドが IGF-1 とその受容体である IGF1R 経路の活性化なしでは増殖できないという上記の知見から、非神経内分泌タイプ小細胞肺癌に対して既存の IGF1R 阻害剤が有効であるのではないかと仮説を立て検証実験を行った。その結果、IGF1R 阻害剤によって非神経内分泌タイプ小細胞肺癌オルガノイドの増殖が in vitro, in vivo 共に著しく低下することが分かった (図 3)。In vivo では小細胞肺癌治療に臨床で使用されている cisplatin と IGF1R 阻害剤の併用も有効であることを示した。

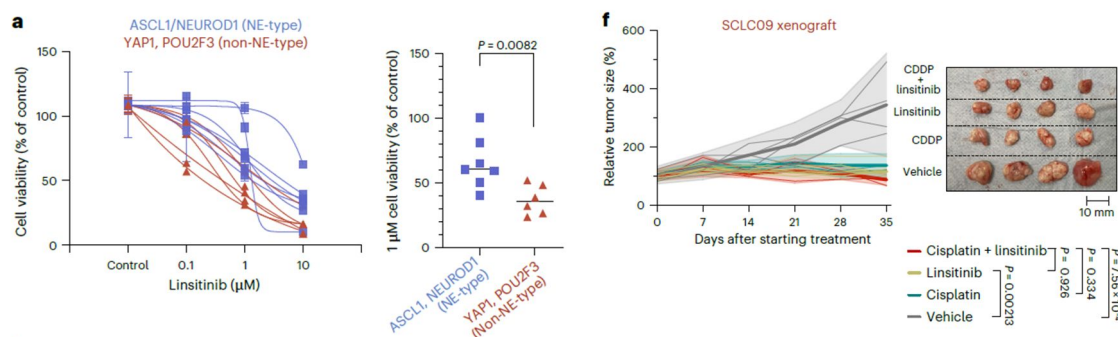


図3 IGF1R 阻害剤が非神経内分泌タイプ小細胞肺癌に有効である  
左: in vitro, 右: in vivo (Cisplatin との併用)

#### (4) YAP1 タイプ小細胞肺癌発がんに関する考察

ほぼ全ての小細胞肺癌に変異が入っている TP53 及び RB1 遺伝子のノックアウトをヒト正常肺胞オルガノイドに対して行った。その結果、EGF/IGF1 への依存性が変わることが分かった (図4)。ヒト肺胞細胞が TP53 及び RB1 遺伝子のノックアウトと続いて EGFR シグナルの遮断により、IGF-1 依存へと移行し、YAP1 サブタイプ SCLC 発がんの初期段階を模倣したと考えている。

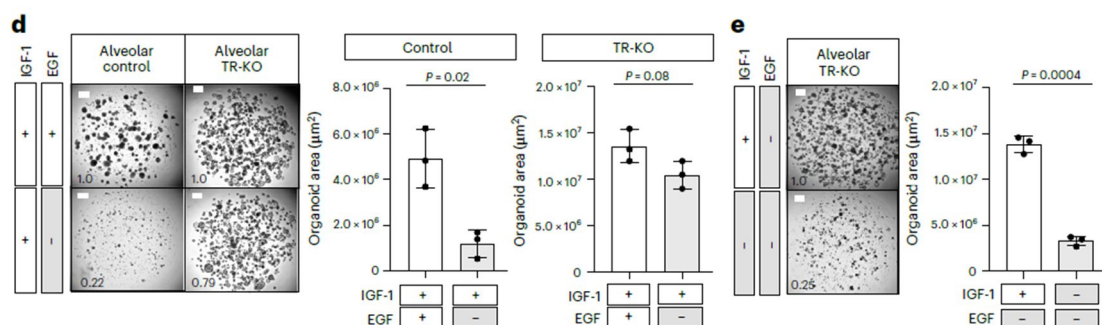
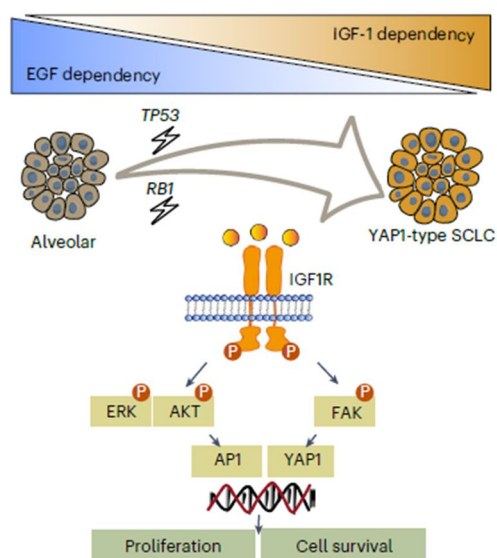


図4 ニッチ因子の指向性が TP53/RB1 ノックアウトにより変わる

正常肺胞オルガノイドにおいて TR(TP53/RB1) ノックアウトにより EGF 依存性 (左) が消失/IGF 依存性が出現した。右: 模式図



#### (5) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

本研究は、難治性癌の代表である小細胞肺癌の病気の病態解明を行うとともに、小細胞肺癌の一部に有効な治療薬となる可能性を見出した。

現在まで、小細胞肺癌領域では有効な治療薬が限られ、治療成績の向上が十分には認められていない。本研究によって「非神経内分泌タイプの小細胞肺癌であることを検査したうえで IGF1R 阻害剤を使用する」といった、小細胞肺癌領域における個別化医療開発につながる事が期待できる (図5)。

また、本研究で構築した小細胞肺癌オルガノイドライブラリーは、本研究のみならず、世界中の

多くの研究者にとって強力な研究リソースであり、これを用いることで小細胞肺癌の原因解明、治療薬開発スピードを飛躍的に向上させることが期待できる。

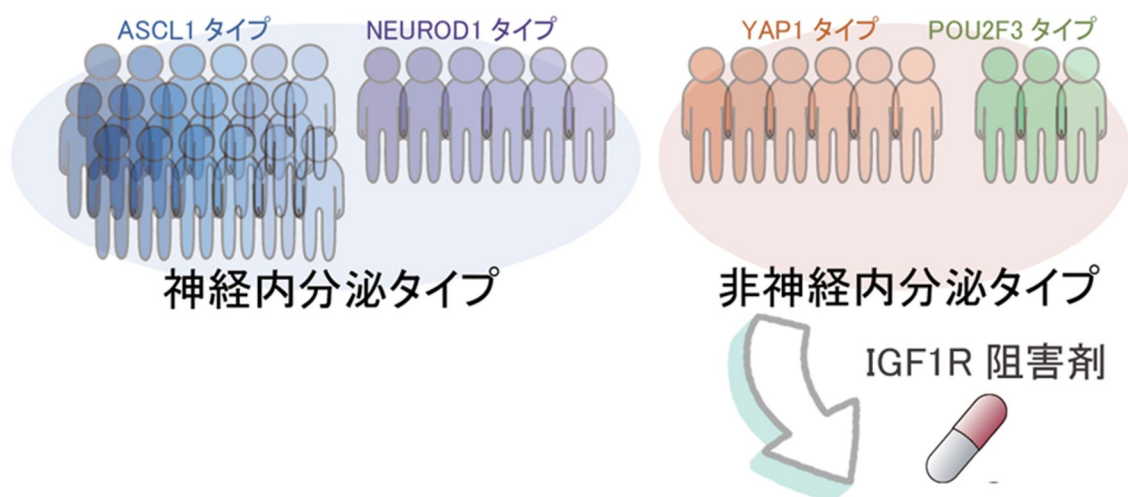


図5 小細胞肺癌における個別化医療への発展

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

|                                                                                                                             |                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名<br>Fukushima T, Togasaki K, Hamamoto J et al.                                                                        | 4. 巻            |
| 2. 論文標題<br>An organoid library unveils subtype-specific IGF-1 dependency via a YAP?API axis in human small cell lung cancer | 5. 発行年<br>2025年 |
| 3. 雑誌名<br>Nature Cancer                                                                                                     | 6. 最初と最後の頁<br>— |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s43018-025-00945-y                                                                       | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難                                                                                      | 国際共著<br>—       |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

|                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>福島 貴大、安田 浩之、浜本 純子、江本 桂、岡田 真彦、齋藤 彩夏、高岡 初誉、伊藤 史磨、茂松 梨咲、扇野 圭子、寺井 秀樹、川田 一郎、朝倉 啓介、菱田 智之、浅村 尚生、副島 研造、福永 興彦 |
| 2. 発表標題<br>患者由来肺癌オルガノイドを用いた小細胞肺癌の分子学的・生物学的統合解析による治療標的の推定                                                        |
| 3. 学会等名<br>肺癌学会                                                                                                 |
| 4. 発表年<br>2023年                                                                                                 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                  | 備考 |
|-------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 安田 浩之<br><br>(YASUDA Hiroyuki)<br><br>(70365261) | 慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授<br><br><br>(32612) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

|         |         |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|