

Title	難治性前立腺癌オルガノイドモデルのシングルセル単位での多様性の解明と新規治療戦略
Sub Title	Elucidation of single-cell diversity in refractory prostate cancer organoid models and novel therapeutic strategies
Author	小坂, 威雄(Kosaka, Takeo)
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	3次元オルガノイド培養技術は、がん幹細胞を立体培地の中で増殖、分化させ、がん細胞とそれを取り巻く微小環境をより生体内に近い形態で再現する手法である。当研究室でも薬剤耐性前立腺癌の手術検体や血液循環腫瘍細胞からオルガノイドの樹立に成功した。しかし、安定的に継体可能なオルガノイドの成功確率は10%未満であり、非常に効率が低い。低い樹立率の背景には、培地に必要なニッチ因子が欠けている可能性が考えられるため、樹立効率の改善を目指して、以下のプロジェクトを実施した。 ①患者由来疾患オルガノイドの樹立とシングルセル単位のマルチオーム解析： すでに樹立済みのオルガノイドを対象として、シングルセルトランスクリプトーム解析により、薬剤耐性がんにおいて幹細胞維持に必要なニッチ因子の解析を進めている。オルガノイド内における、候補ニッチ因子の発現の不均一性の存在と、症例ごとにおいても不均一な生存関連のシグナル経路の存在を認めた。これらの中で、共通する活性化されたシグナル経路を見出し、候補ニッチ因子として抽出し、今後培養に添加してスクリーニングする。合わせて、薬剤耐性癌のオルガノイドの樹立に取り組んでおり、新規に4例の樹立に成功している。これらを対象としてシングルセルトランスクリプトーム解析を進める。 ③疾患組織を用いた創薬研究プラットフォーム： オルガノイド培養法により個々の患者由来の組織検体から多様性に富むがんオルガノイドを樹立し、数千種類以上という多数の薬剤を投与し効果を網羅的に検討した。現在まで2症例から樹立できたオルガノイドを対象として3500種類以上のシーズを用いてハイスループットスクリーニングを実施し、有用なシーズを数十種類まで見出しており、以後濃度依存性の検討に着手している。 Three-dimensional organoid culture technology is a method that allows cancer stem cells to proliferate and differentiate in a three-dimensional medium, reproducing the cancer cells and their surrounding microenvironment in a form that is more similar to that in vivo. Our laboratory has also successfully established organoids from surgical specimens of drug-resistant prostate cancer and circulating tumor cells. However, the success rate of stably passaging organoids is less than 10%, which is very low efficiency. The low establishment rate may be due to a lack of necessary niche factors in the culture medium, so we conducted the following project with the aim of improving establishment efficiency. ①Establishment of patient-derived disease organoids and multi-ohm analysis on a single cell basis: Using single-cell transcriptome analysis of already established organoids, we are currently analyzing niche factors necessary for maintaining stem cells in drug-resistant cancers. We observed heterogeneity in the expression of candidate niche factors within organoids and the existence of survival-related signal pathways that were heterogeneous in each case. Among these, we will find a common activated signal pathway, extract it as a candidate niche factor, and add it to culture for screening. In addition, we are working to establish drug-resistant cancer organoids, and have successfully established four new cases. Single-cell transcriptome analysis will be performed on these newly established organoids. ③Drug discovery research platform using diseased tissue: Using the organoid culture method, we established a wide variety of cancer organoids from tissue specimens derived from individual patients, administered a large number of thousands of drugs, and comprehensively examined their effects. To date, we have conducted high-throughput screening using more than 3,500 seeds for organoids that have been established from 2 cases, and have discovered several dozen useful seeds, and have since begun investigating concentration dependence. .
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=KO12003001-20230001-0041

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	医学部臨床教室	職名	専任講師	補助額	1,500千円
	氏名	小坂 威雄	氏名（英語）	Takeo Kosaka		

研究課題（日本語）

難治性前立腺癌オルガノイドモデルのシングルセル単位での多様性の解明と新規治療戦略

研究課題（英訳）

Elucidation of single-cell diversity in refractory prostate cancer organoid models and novel therapeutic strategies

研究組織

氏 名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
小坂 威雄（Takeo Kosaka）	慶應義塾大学医学部・泌尿器科 学教室・専任講師
佐藤 俊朗（Toshiro Sato）	慶應義塾大学 医学部 坂口光洋 記念講座（オルガノイド医学） 教授
西原 広史（Hiroshi Nishihara）	慶應義塾大学病院腫瘍センター・ゲノム医療ユニット, 教授
安水 洋太（Yota Yasumizu）	慶應義塾大学医学部・泌尿器科 学教室・助教
大家 基嗣（Mototsugu Oya）	慶應義塾大学医学部・泌尿器科 学教室・教授

1. 研究成果実績の概要

3次元オルガノイド培養技術は、がん幹細胞を立体培地の中で増殖、分化させ、がん細胞とそれを取り巻く微小環境をより生体内に近い形態で再現する手法である。当研究室でも薬剤耐性前立腺癌の手術検体や血液循環腫瘍細胞からオルガノイドの樹立に成功した。しかし、安定的に継代可能なオルガノイドの成功確率は10%未満であり、非常に効率が低い。低い樹立率の背景には、培地に必要なニッチ因子が欠けている可能性が考えられるため、樹立効率の改善を目指して、以下のプロジェクトを実施した。

①患者由来疾患オルガノイドの樹立とシングルセル単位のマルチオーム解析：

すでに樹立済みのオルガノイドを対象として、シングルセルトランスクリプトーム解析により、薬剤耐性がんにおいて幹細胞維持に必要なニッチ因子の解析を進めている。オルガノイド内における、候補ニッチ因子の発現の不均一性の存在と、症例ごとにおいても不均一な生存関連のシグナル経路の存在を認めた。これらの中で、共通する活性化されたシグナル経路を見出し、候補ニッチ因子として抽出し、今後培養に添加してスクリーニングする。合わせて、薬剤耐性癌のオルガノイドの樹立に取り組んでおり、新規に4例の樹立に成功している。これらを対象としてシングルセルトランスクリプトーム解析を進める。

③疾患組織を用いた創薬研究プラットフォーム：

オルガノイド培養法により個々の患者由来の組織検体から多様性に富むがんオルガノイドを樹立し、数千種類以上という多数の薬剤を投与し効果を網羅的に検討した。現在まで2症例から樹立できたオルガノイドを対象として3500種類以上のシーズを用いてハイスループットスクリーニングを実施し、有用なシーズを数十種類まで見出しており、以後濃度依存性の検討に着手している。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Three-dimensional organoid culture technology is a method that allows cancer stem cells to proliferate and differentiate in a three-dimensional medium, reproducing the cancer cells and their surrounding microenvironment in a form that is more similar to that in vivo. Our laboratory has also successfully established organoids from surgical specimens of drug-resistant prostate cancer and circulating tumor cells. However, the success rate of stably passaging organoids is less than 10%, which is very low efficiency. The low establishment rate may be due to a lack of necessary niche factors in the culture medium, so we conducted the following project with the aim of improving establishment efficiency.

①Establishment of patient-derived disease organoids and multi-ohm analysis on a single cell basis:

Using single-cell transcriptome analysis of already established organoids, we are currently analyzing niche factors necessary for maintaining stem cells in drug-resistant cancers. We observed heterogeneity in the expression of candidate niche factors within organoids and the existence of survival-related signal pathways that were heterogeneous in each case. Among these, we will find a common activated signal pathway, extract it as a candidate niche factor, and add it to culture for screening. In addition, we are working to establish drug-resistant cancer organoids, and have successfully established four new cases. Single-cell transcriptome analysis will be performed on these newly established organoids.

③Drug discovery research platform using diseased tissue:

Using the organoid culture method, we established a wide variety of cancer organoids from tissue specimens derived from individual patients, administered a large number of thousands of drugs, and comprehensively examined their effects. To date, we have conducted high-throughput screening using more than 3,500 seeds

for organoids that have been established from 2 cases, and have discovered several dozen useful seeds, and have since begun investigating concentration dependence. .

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)
Hongo H, Kosaka T *, Suzuki Y, Oya M.	Discovery of a new candidate drug to overcome cabazitaxel-resistant gene signature in castration-resistant prostate cancer by in silico screening.	Prostate Cancer Prostatic Dis.	Mar;26(1):59-66, 2023.
Fujiwara S, Kosaka T*, Nishimoto Y, Kamisawa K, Watanabe K, Baba Y, Takeda T, Matsumoto K, Oya M.	Prognostic significance of serum testosterone level in patients with castration-resistant prostate cancer treated with cabazitaxel.	Prostate	Jan;84(1):25-31, 2024.
Hongo H, Kosaka T, Takayama KI, Baba Y, Yasumizu Y, Ueda K, Suzuki Y, Inoue S, Beltran H, Oya M.	G-protein signaling of oxytocin receptor as a potential target for cabazitaxel-resistant prostate cancer.	PNAS Nexus.	Jan 4;3(1):2024