

研究助成 2020 –がん領域–
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東海国立大学機構名古屋大学大学院医学系研究科
氏 名	日野原 邦彦
研究テーマ	乳がん転移の時空間的解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
(図表、写真などの貼付を含む)

腫瘍組織は、競合的な腫瘍環境の中で進化し形質を変化させることで、原発腫瘍組織の外部へと浸潤・転移していく。これまでの研究から、こうした悪性化進展の源泉にはがん細胞のゲノムレベルの不均一性だけでなく、トランスクリプトームやエピゲノムといった表現型レベルでの不均一性も重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。それゆえ、浸潤・転移に至る過程におけるがん細胞表現型動態の理解は、現代的がん治療の予後の大きな改善につながることを期待される。しかしながら、実際に一連の転移過程を通じて同一がん細胞を時空間的に追跡した報告はなく、どういった形質を持つがん細胞が、いつ・どこで血管内に浸潤し、遠隔転移に至るのかはほとんどわかっていない。

そこで本研究では、こうした悪性化進展過程における 1 細胞動態の解明を目指し、浸潤・転移モデル細胞株 MCF10DCIS を用いたがん転移過程の 1 細胞表現型追跡実験モデルを構築した。まず、表現型レベルの変化とゲノムレベルの変化を区別するため genetic background が均一なシングルセルクローンを樹立し、このクローン株を発現型 DNA バーコードライブラリ Larry にて標識し、NSG マウスの腹部皮下移植系により転移過程を追跡し得るかを検証した。複数時刻点の原発巣サンプルと移植後 8 週目の肺転移巣サンプルから gDNA を採取して解析に供与し、それぞれのバーコード組成を次世代シーケンサーにて解析した。得られた結果からバーコードによる fate mapping 解析を行ったところ、ゲノムレベルで均一ながん細胞集団の一部にレアな高転移性クローンが存在することを同定した。さらに興味深いことに、高転移性クローンのバーコードはレプリケートである別マウスの転移巣でも観察されたことから、これらは転移する細胞運命を有した細胞集団であること、およびその転移能はゲノムによらない機構により制御されていることが証明された。また、腫瘍組織を構成するがん細胞の一つ一つに存在する発現型 DNA バーコードを空間トランスクリプトーム解析により同定することにも成功しており、時空間的に fate mapping を行うための実験系も併せて構築した。

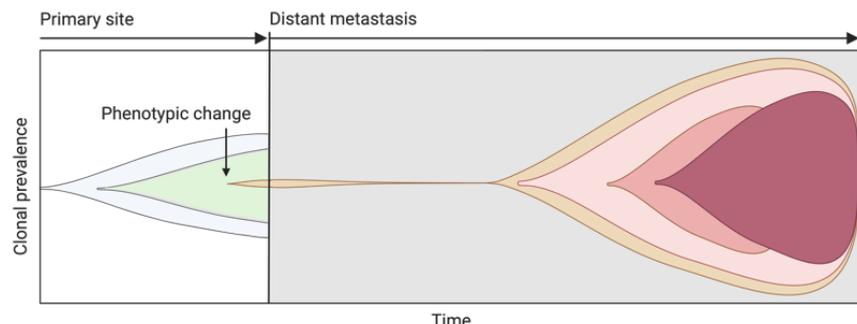
これらの成果により、乳がん転移を司る分子基盤の時空間的解明を進めるための新たな手法を開発することができた。近年、パーシスター細胞など、ゲノムによらない薬剤耐性・転移機構が注目されており、本研究にて開発した新規細胞表現型追跡手法による研究を進めることで、これまで明らかとなっていない新たな病態の理解や治療法の開発に結びつくことが期待される。

背景

- がん転移に関わるゲノム異常の解析は進んでいる一方で、トランスクリプトームやエピゲノムといった表現型レベルの変化については理解が進んでいない。
- がんの転移を司る表現型変化を捉えることができれば、これまでにない新たな治療法の開発につながる可能性がある。

結果

ゲノム非依存的な転移能を有するがん細胞集団が存在することを発見した



- 発現型DNAバーコードを用いたin vivo fate mappingの実験系を構築し、新たながん転移メカニズムの解明につながる高転移性クローンを捉えた。
- 空間トランスクリプトーム解析との融合により、細胞運命をトランスクリプトームレベルで空間的に捉える手法を開発した。

研究助成 2020 – がん領域 –

研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	東海国立大学機構名古屋大学大学院医学系研究科
氏	名	日野原 邦彦

1. 論文発表実績	
	<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引く。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。
1	Tsujino T*, Takai T*, <u>Hinohara K*</u> , Gui F, Tsutsumi T, Bai X, Miao C, Feng C, Gui B, Sztupinszki Z, Simoneau A, Xie N, Fazli L, Dong X, Azuma H, Choudhury AD, Mouw KW, Szallasi Z, Zou L, Kibel AS, Jia L. CRISPR screens reveal genetic determinants of PARP inhibitor sensitivity and resistance in prostate cancer. <i>Nat Commun.</i> 2023 Jan 17;14(1):252. doi: 10.1038/s41467-023-35880-y. PMID: 36650183. 査読有 *co-1 st author
2	Kato S, Maeda Y, Sugiyama D, Watanabe K, Nishikawa H, <u>Hinohara K.</u> The cancer epigenome: Non-cell autonomous player in tumor immunity. <i>Cancer Sci.</i> 2022 Dec 5. doi: 10.1111/cas.15681. Online ahead of print. PMID: 36468774. 査読有
3	Sugiyama D, <u>Hinohara K.</u> , Nishikawa H. Significance of regulatory T cells in cancer immunology and immunotherapy. <i>Exp Dermatol.</i> 2022 Dec 2. doi: 10.1111/exd.14721. Online ahead of print. PMID: 36458459. 査読有
4	Nagaharu K, Kojima Y, Hirose H, Minoura K, <u>Hinohara K.</u> , Minami H, Kageyama Y, Sugimoto Y, Masuya M, Nii S, Seki M, Suzuki Y, Tawara I, Shimamura T, Katayama N, Nishikawa H, Ohishi K. A bifurcation concept for B-lymphoid/plasmacytoid dendritic cells with largely fluctuating transcriptome dynamics. <i>Cell Rep.</i> 2022 Aug 30;40(9):111260. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111260. PMID: 36044861. 査読有
5	Isoyama S, Mori S, Sugiyama D, Kojima Y, Tada Y, Shitara K, <u>Hinohara K.</u> , Dan S, Nishikawa H. Cancer immunotherapy with PI3K and PD-1 dual-blockade via optimal modulation of T cell activation signal. <i>J Immunother Cancer.</i> 2021 Aug;9(8):e002279. doi: 10.1136/jitc-2020-002279. PMID: 34446575. 査読有

