

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 次世代がん医療創生研究における先進技術支援
(英語) Advanced technological support in P-CREATE
- 研究開発担当者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん研究所 所長 野田哲生
所属 役職 氏名： (英語) Japanese Foundation For Cancer Research, The Cancer Institute,
Director Tetsuo NODA, M. D Ph. D
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 27 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 1. 創薬シーズ化合物の薬効評価のための技術支援 (動物レベル)
2. 単一細胞・オルガノイドの調製支援及びオミクス解析のための技術支援
3. 研究開発課題の総合的推進
- 開発課題名： (英語) 1. Technological support for evaluating efficacy of seed compounds
(animal level)
2. Technological support for single cell/organoid preparation and
omics analysis
3. Comprehensive project promotion
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん研究所 所長 野田 哲生
所属 役職 氏名： (英語) Japanese Foundation For Cancer Research, The Cancer Institute,
Director Tetsuo NODA, M. D Ph. D
- 分担研究 (日本語) 1. 分子標的候補の POC 取得のための技術支援 (細胞レベル)
2. 創薬シーズ化合物の薬効評価のための技術支援 (細胞レベル)
- 開発課題名： (英語) 1. Technological support for establishing POC as molecular targets
(cell level)
2. Technological support for evaluating efficacy of seed compounds
(cell level)

研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター 分子薬理部 副部長
旦 慎吾

所属 役職 氏名 : (英 語) Japanese Foundation For Cancer Research, The Cancer Chemotherapy
Center, Division of Molecular Pharmacology, Vice Chief
Shingo DAN, Ph.D

分担研究 (日本語) 1. 最適な活性検出系構築とケミカルプローブ開発支援
2. 最適化・合成展開のための技術支援
3. 抗体作製のための技術支援

開発課題名 : (英 語) 1. Support for development of optimal assay system for
identification of chemical probes
2. Technological support for chemical synthesis and compound
optimization
3. Technological support for preparation of antibody

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 環境資源科学研究センター
創薬・医薬技術基盤連携部門 部門長 吉田 稔

所属 役職 氏名 : (英 語) Drug Discovery Platforms Cooperation Division, The RIKEN Center for
Sustainable Resource Science (CSRS), RIKEN, Division Director
Minoru YOSHIDA, Ph.D

分担研究 (日本語) 天然化合物およびその関連誘導体創出によるケミカルプローブ開発支援

開発課題名 : (英 語) Research development of chemical probes from natural products and
their derivatives

研究開発分担者 (日本語) 次世代天然物化学技術研究組合 研究グループ長 新家 一男

所属 役職 氏名 : (英 語) Technology Research Association for Next generation natural products
chemistry, Group Leader, Kazuo SHIN-YA, Ph.D

分担研究 (日本語) 1. 分子標的候補の POC 取得のための技術支援 (動物レベル)
2. 創薬シーズ化合物の薬効評価のための技術支援 (動物レベル)

開発課題名 : (英 語) 1. Technological support for establishing POC as molecular targets
(animal level)
2. Technological support for evaluating efficacy of seed compounds
(animal level)

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 バイオリソースセンター
疾患モデル評価研究開発チーム 開発技師 土岐 秀明

所属 役職 氏名 : (英 語) RIKEN Bioresource center, Team for Advanced Development and
Evaluation of Human Disease Models, Technical Scientist,
Hideaki TOKI

分担研究 (日本語) 特殊ペプチド創薬を基盤とした次世代がん医療創成技術支援
 開発課題名: (英語) The next generation cancer therapeutics based on the nonstandard peptides
 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学大学院 理学系研究科 教授 菅 裕明
 所属 役職 氏名: (英語) The University of Tokyo, Graduate School of Science, Professor Hiroaki SUGA, Ph.D

分担研究 (日本語) 効率的がん治療薬の薬物動態・DDS 開発支援プラットフォーム
 開発課題名: (英語) Support platform for evaluation of pharmacokinetics and development of DDS
 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 大学院工学系研究科 准教授 宮田 完二郎
 所属 役職 氏名: (英語) The University of Tokyo, Graduate School of Engineering, Associate Professor, Kanjiro MIYATA, Ph.D

分担研究 (日本語) PET を活用した ADMET 研究の支援と高度化
 開発課題名: (英語) PET imaging based evaluation of ADMET profiles of anticancer drug candidates
 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 分子動態イメージング研究ユニット ユニットリーダー 崔 翼龍
 所属 役職 氏名: (英語) RIKEN Center for Life Science Technologies, Molecular Dynamics Imaging Unit, Unit Leader, Yi-Long CUI Ph.D.

分担研究 (日本語) 単一細胞遺伝子発現解析の支援
 開発課題名: (英語) Technological support for single-cell transcriptome analysis
 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人金沢大学 大学院医薬保健学総合研究科 特任教授 橋本 真一
 所属 役職 氏名: (英語) Kanazawa University, Graduate school of medical sciences, Project Professor, Shinichi HASHIMOTO Ph.D

分担研究 (日本語) オミクスデータ統合のための生物情報解析
 開発課題名: (英語) Bioinformatics analysis for omics data integration
 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 統合細胞システム研究チーム チームリーダー 岡田 眞里子
 所属 役職 氏名: (英語) Integrated Cellular Systems Team, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Team leader, Mariko OKADA, Ph.D.

II. 成果の概要（総括研究報告）

創薬シーズ等の開発に必要な下記 1)～7) の技術支援を行うため、がん研究会、理化学研究所、次世代天然物化学技術研究組合、東京大学、金沢大学が共同で支援実施体制を構築すると共に、PS/PO、AMED がん研究課及びサポート機関との連携体制を構築した。そして、支援要望アンケート調査・課題代表者とのマッチング会議を経て、PS/PO の指示の下、以下の支援を実施した。

1) 分子標的候補の POC 取得のための技術支援： 支援対象課題について、細胞ならびに動物レベルでの POC 取得のための技術支援を実施した。細胞レベルにおいては、JFCR39 ヒトがん細胞パネルを中心に、ヒトがん細胞での発現情報を提供するとともに、培養がん細胞を用いたノックダウンによる分子標的候補の機能解析支援を開始した。動物レベルにおいては、適切なゼノグラフトモデルにおける腫瘍組織の免疫組織化学的及び病理組織解析による支援を開始した。多様なシーズ研究へ対応するため、細胞ならびに動物レベルでの解析評価系等の充実に努めた。

2) 標的のケミカルバイオロジー評価のための技術支援： 支援対象課題について順次相談を実施し、ケミカルプローブ取得に向けたスクリーニングのための具体的支援を進めた。理研化合物ライブラリーや単離天然化合物ライブラリーを中心としたスクリーニングライブラリーを用いて活性化合物の探索を行い、高い活性を示すケミカルプローブを見出した。また、準備段階にある多くの支援対象課題について、支援の方向性を順次決定し、評価系の検証やアッセイ系の構築等の準備を進めた。

3) 創薬シーズ化合物の薬効評価のための技術支援： 支援対象シーズ化合物について、細胞ならびに動物レベルでの薬効評価の技術支援を実施した。細胞レベルにおいては、JFCR39 ヒトがん細胞パネルの増殖阻害プロファイル取得ならびに化合物処理後の遺伝子発現解析を実施し、作用機序予測や PD マーカー同定に向けた高次情報解析を進めた。動物レベルにおいては、適切なゼノグラフトモデルを用い、血液・生化学検査や免疫組織化学的解析等を駆使し、薬効評価の支援を実施した。また、有望課題について PDX モデルを用いた支援の検討を開始した。

4) 最適化・合成展開のための技術支援： 支援対象課題のうち、準備が整ったものから順次、相談を実施し、具体的支援を開始した。結晶化に向けた昆虫細胞発現系を用いた試料調製、類縁体の検索、ドッキングシミュレーションによる最適化の提案、有望なヒット化合物の大量調製支援等を進めた。

5) 抗体及び機能阻害ペプチド作製のための技術支援： 抗体作製の技術支援については、PET プローブ化に向けて、マウス抗体の可変領域のアミノ酸配列を基にマウス全長抗体発現コンストラクトを構築し、抗体を発現・精製した。また、標的膜タンパク質の調製を行った。機能阻害ペプチド作製の技術支援については、特殊ペプチドのセレクションから研究開発代表者への送付提供までの、一連の実施体制を整え、順次支援を開始した。

6) 効率的がん治療薬の薬物動態・DDS 開発支援プラットフォーム： 各種創薬シーズに適用する DDS 開発に向け高分子材料合成と評価を行い、またシーズ保有研究者との支援開始に向けた調整会議を実施し、具体的支援を開始した。また、低分子化合物、ペプチド、抗体シーズを対象に PET プローブ化および生体内での動態解析を進めた。抗体およびペプチドに関しては ^{64}Cu 錯体生成条件を最適化した。 ^{64}Cu 錯体による抗体のイメージングでは生体内分布・血中半減期を同定した。

7) 単一細胞・オルガノイドの調製及び各種解析のための技術支援： 単一細胞やオルガノイドの調製のための支援対象課題について、順次相談を実施するとともに、高生存率で効率的ながん検体からの細胞分散法について検討した。単一細胞解析については、準備の整った対象課題より順次支援を開始した。腫瘍内多様性の評価のため、混合腫瘍由来検体を用いて単一細胞遺伝子発現解析の支援を行った。さらに、得られた遺伝子発現データをもとに生物情報解析を行い、同一がん組織から異なる細胞集団を情報学的に分類し、公共データベースを利用して、それぞれの集団の細胞機能を予測した。

(英文)

To achieve technological supports for antitumor drug discovery and development, we organized a collaborative team consisting of Japanese Foundation For Cancer Research, RIKEN, Technology Research Association for Next generation natural products chemistry, the University of Tokyo and Kanazawa University and proceeded with our plan in collaborating with PS/PO, Division of Cancer Research of AMED and the support team for research administration. Based on the questionnaire survey and the coordination meetings, we carried out the following 7 activities under the direction of PS/PO.

1) Technological support for establishing POC as molecular targets: To facilitate POC establishment processes at cellular levels, we provided gene expression information mainly in the JFCR39 cancer cell line panel and started support activity on functional analysis with knockdown of candidate genes in culture. At animal levels, we started support activity on immunohistochemical and histopathological analysis using appropriate xenograft models.

2) Technological support for chemical biology evaluation of molecular targets: We conducted consultations and started technological supports to obtain chemical probes. Using established assay systems, we screened from chemical and natural compound libraries and identified hit compounds. For projects at the preparatory stages, we consulted for experimental setups and technologically supported to construct assay systems and to validate their feasibility.

3) Technological support for evaluating efficacy of seed compounds: At cellular levels, we conducted growth inhibition profiling with the JFCR39 human cancer cell panel and gene expression profiling of drug-treated cells, followed by bioinformatics analysis to predict the mechanisms of action and/or identify the potential PD markers. At animal levels, we evaluated antitumor efficacy by immunohistochemical analysis as well as blood/biochemical test in appropriate xenograft models. We also began considering supports using PDX models for promising projects.

4) Technological support for chemical synthesis and compound optimization: We started technological supports which include sample preparation with baculovirus-insect cell recombinant expression systems for crystallization, searching for compounds related to hits, docking simulation to optimize structure, and large-scale synthesis of promising compounds.

5) Technological support for identification of therapeutic antibody and peptide: For technological support for antibody production, we have prepared clones of synthetic murine IgG after gene construction based on the information about amino acid sequences of their Fv regions. We also prepared a target membrane protein for screening. Regarding technological support for nonstandard peptide therapeutics development, we established and initiated a series of menus from “selection of nonstandard peptides ligands against a therapeutic target” to “sending the ligands to researchers.”

6) Support platform for evaluation of pharmacokinetics and development of DDS: We conducted consultations and started technological supports for DDS and PET imaging. Particularly, we synthesized and characterized polymeric materials for DDS preparation to meet the needs for diverse projects. Furthermore, we optimized labelling of peptide and antibody with positron emitters for evaluating pharmacokinetics. We confirmed the bioactivity of labelled materials and investigated tissue-distribution and half-life of an antibody using PET imaging.

7) Technological support for single cell/organoid preparation and omics analysis: We provided

technological assistance for preparation of single cells and organoids and also examined the procedures to efficiently disperse cells with high survival rate for each of multiple types of cancer. With optimizing experimental conditions, we also started technological supports for single cell transcriptome analysis to clarify tumor heterogeneity. Informatics analysis for the data successfully revealed several different subpopulations, each of which was associated with specific cellular functions and biomarker candidates.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし