

# F-PDOを用いた抗がん剤の評価

- F-PDOとは
- F-PDOを用いたアッセイ系の構築
- F-PDOの抗がん剤感受性プロファイリング
  - ・ 化学療法剤への感受性
  - ・ 分子標的薬への感受性
  - ・ がん細胞株との感受性の違い
- F-PDOを用いた抗体医薬品の評価
  - ・ 抗体の細胞増殖阻害の評価
  - ・ 抗体薬物複合体（ADC）の細胞増殖阻害評価
  - ・ 二重特異性抗体の評価
- F-PDOを用いた免疫反応の評価
  - ・ PBMCの免疫反応の評価
- F-PDOを用いたアッセイの今後の展開
  - ・ フェノタイプアッセイ
  - ・ 遺伝子改変F-PDO
  - ・ F-PDOを用いた動物モデル

**F-PDO: Patient-Derived tumor Organoid**

**とは**

# F-PDO作製

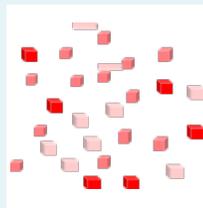
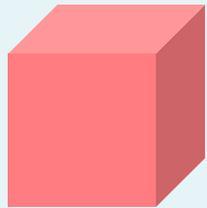
## 初代培養により浮遊細胞を作成

臨床材料

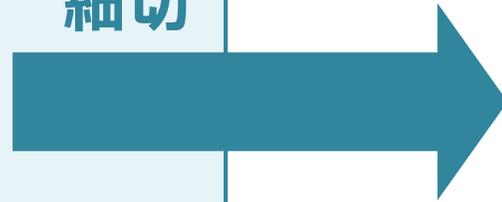
### がん組織の処理

固形がん組織

腫瘍組織

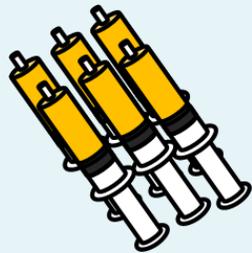


細切



がん性腹水（胸水）

腹水（胸水）

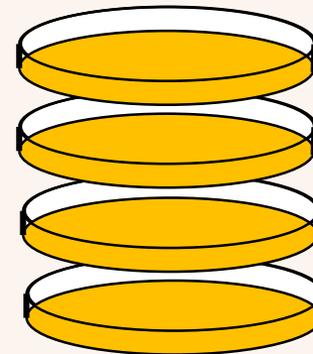


遠心

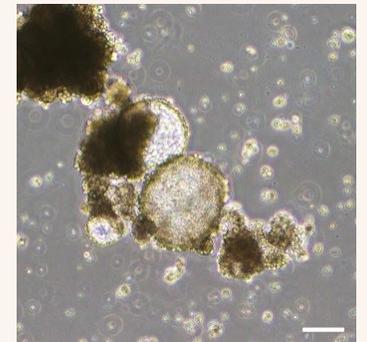


### 組織培養

初代培養



細胞系統  
樹立

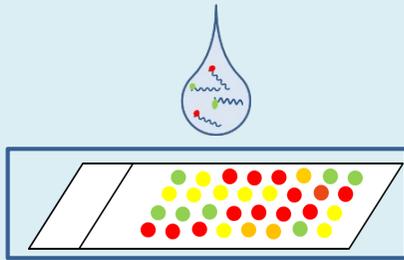


# F-PDOの評価

樹立した培養細胞の性質を様々な方法で評価

解析

遺伝子発現

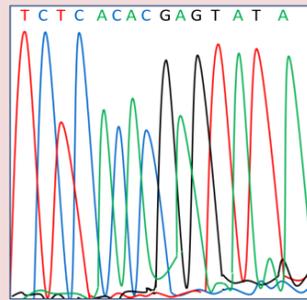


遺伝子発現プロファイル



元のがん組織との比較

ゲノム

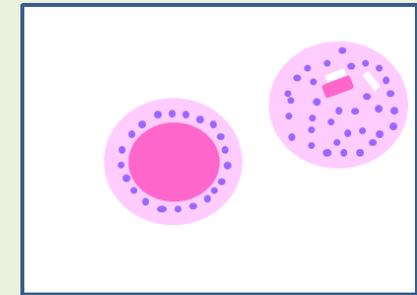


ゲノム解析



がん特異的遺伝子変異の同定

病理



形態観察



元のがん組織との比較

薬剤感受性

検査

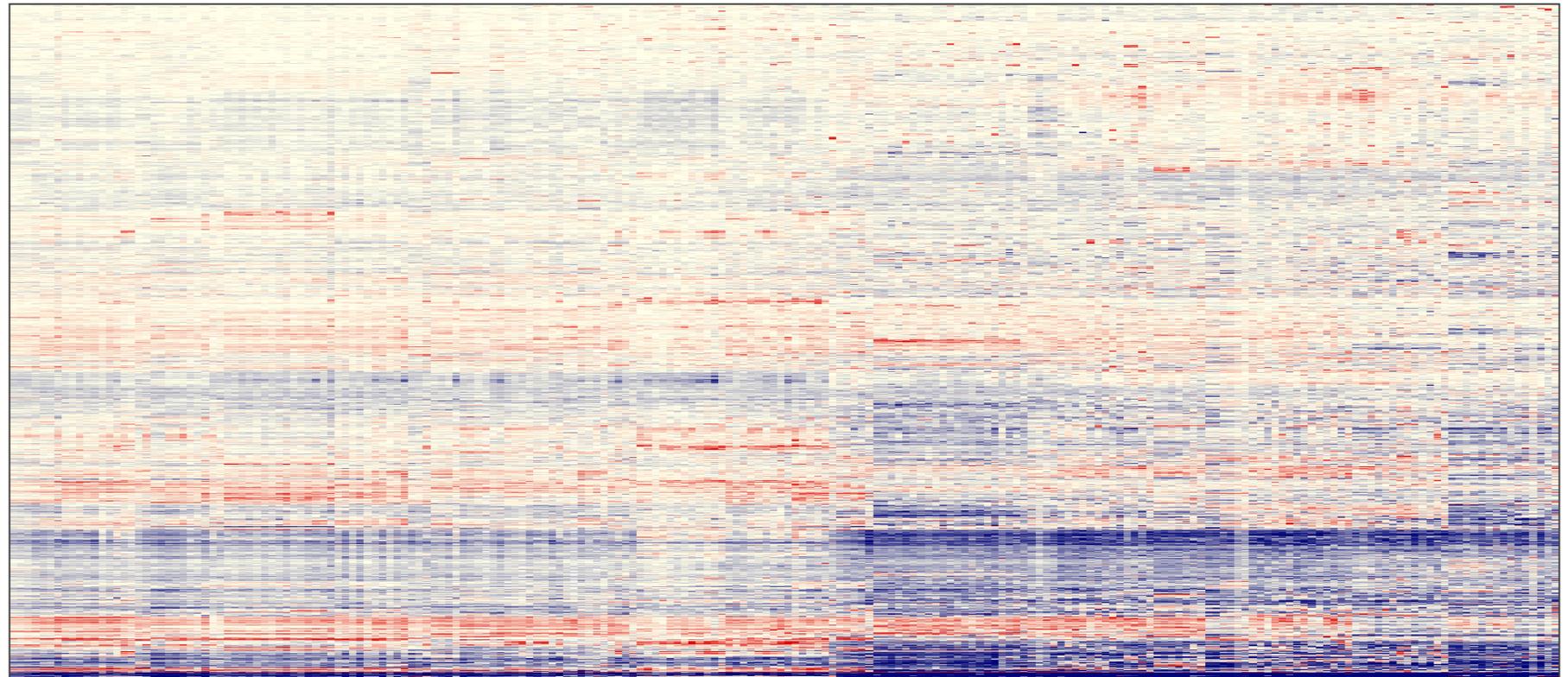
微生物

病原体

細胞の性質の客観的な「評価」が重要

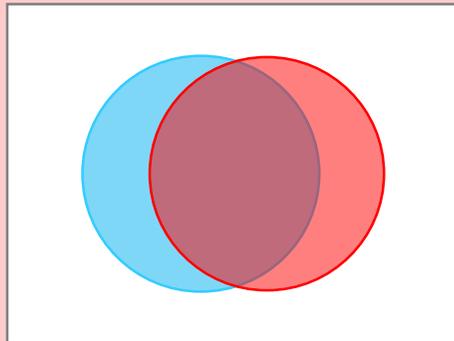
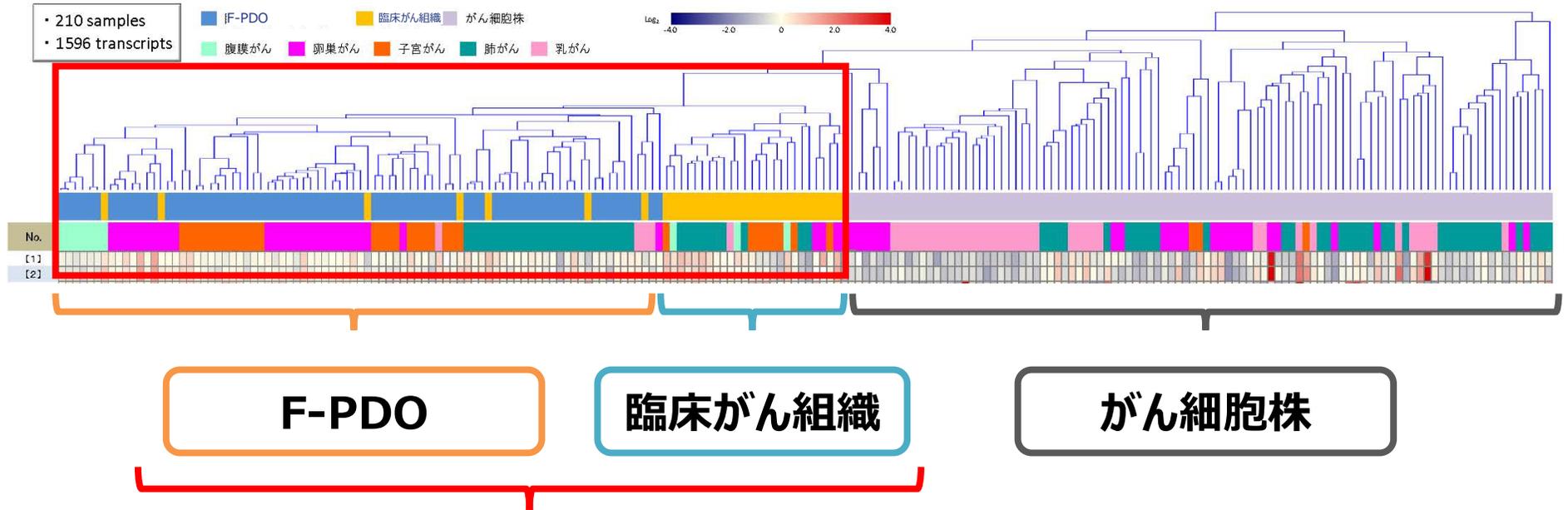
# F-PDOの遺伝子発現プロファイル

- F-PDO
- 臨床がん組織
- がん細胞株



# F-PDOの遺伝子発現解析

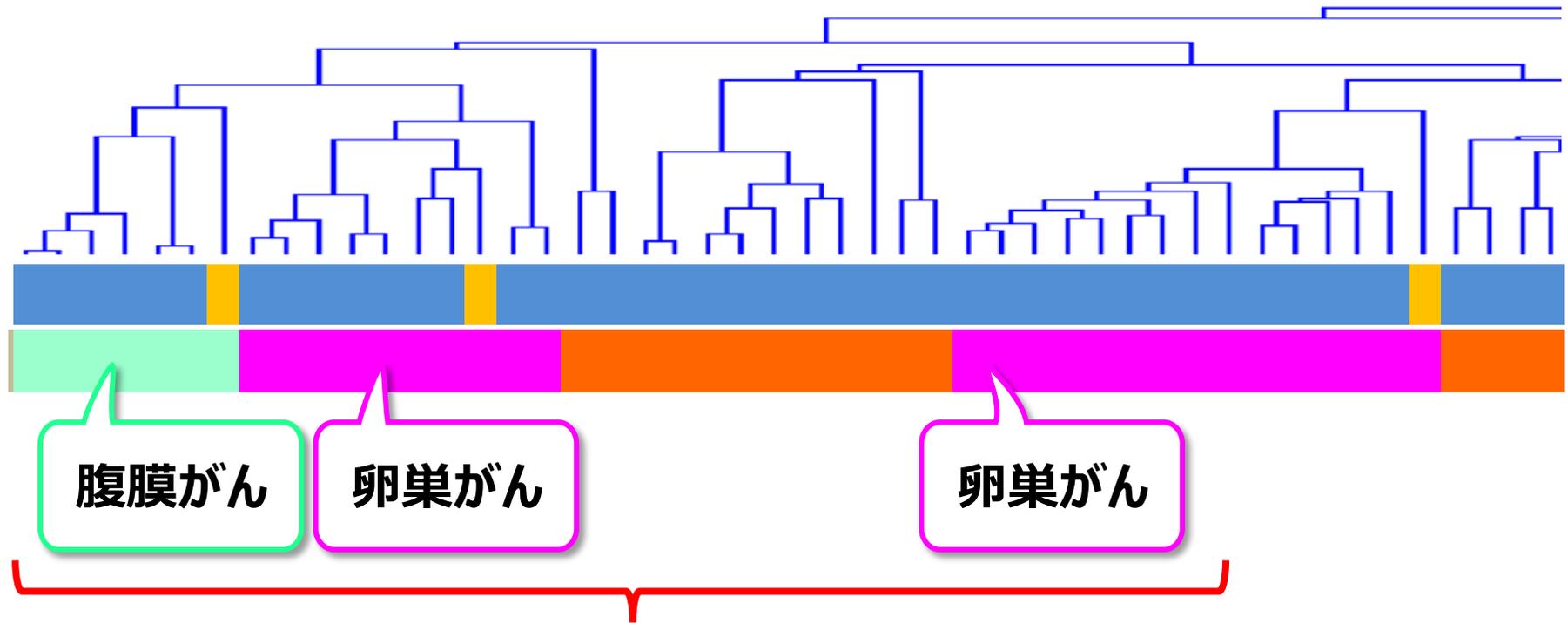
遺伝子発現プロファイルを指標としたF-PDO・臨床がん組織・がん細胞株の比較解析



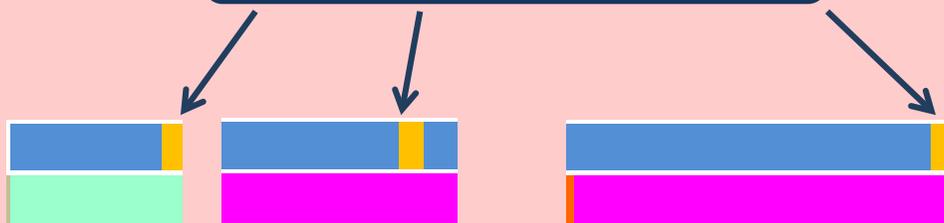
F-PDOは同種組織由来のがん細胞株ではなく、**元の臨床組織と同じグループ**に分類された。

F-PDOは元のヒトがん組織と遺伝子発現プロファイルが近い。

# F-PDOの遺伝子発現解析



元となったヒトがん組織



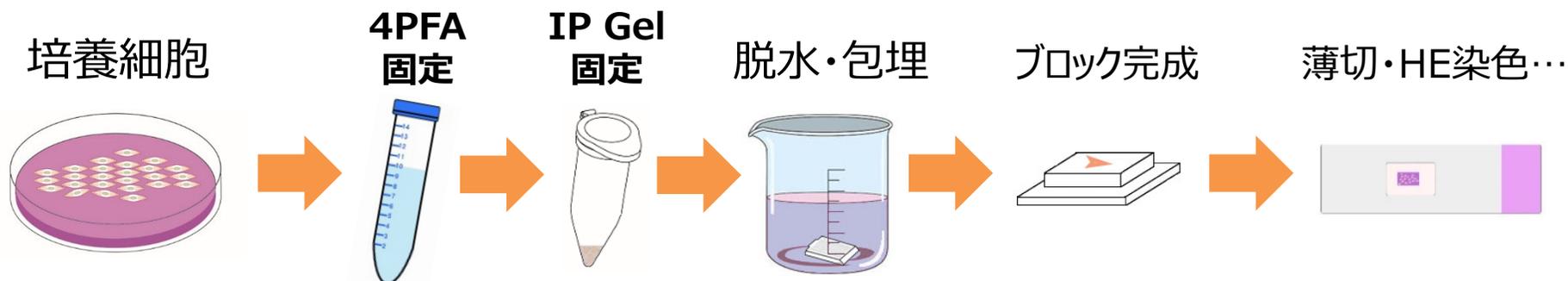
F-PDOは元のヒトがん組織と

プロファイルが近い



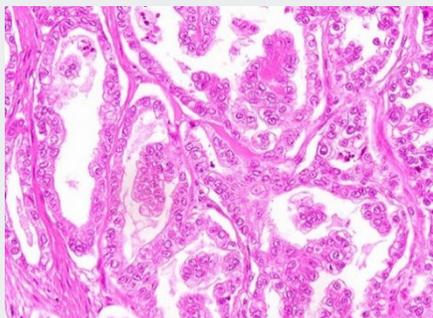
# F-PDOの形態学的解析

## 培養細胞の標本作製

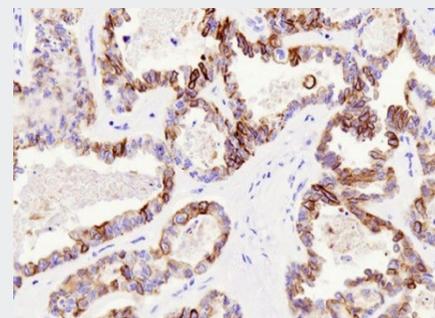


## 臨床由来組織との比較

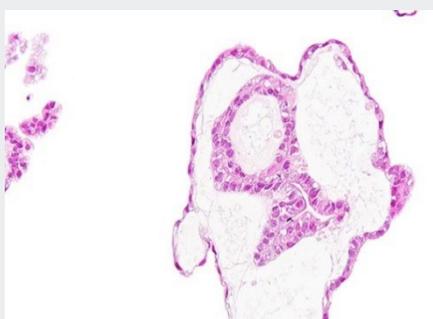
病理組織  
HE染色



病理組織  
免疫染色



培養細胞  
HE染色



培養細胞  
免疫染色



# 構成細胞の多様性と不均一な局在

大腸がん脳転移巣由来多村細胞の免疫組織化学

# 転移性脳腫瘍 (m.大腸がん)

CA19-9

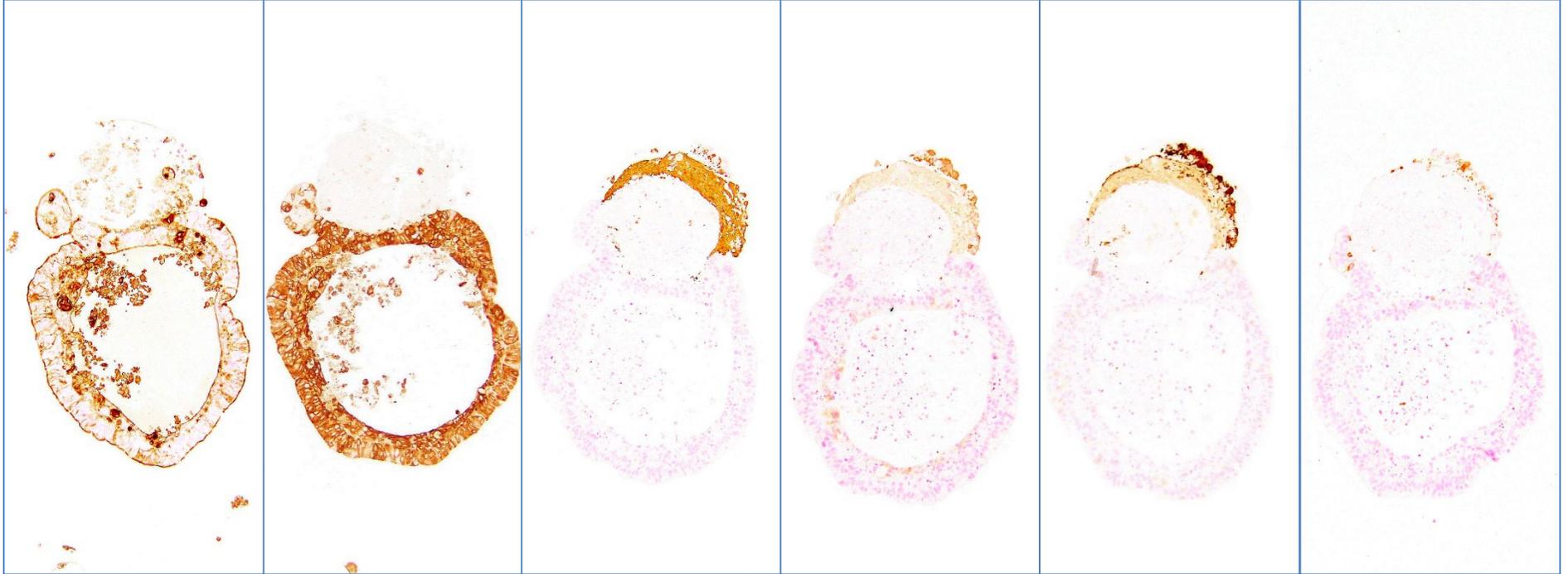
EMA

GFAP

NSE

S-100

Synaptophysin

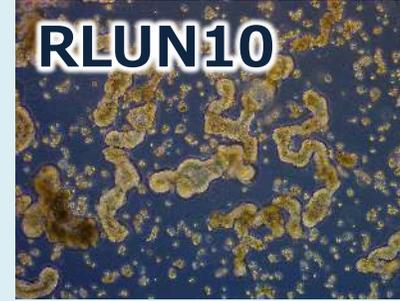
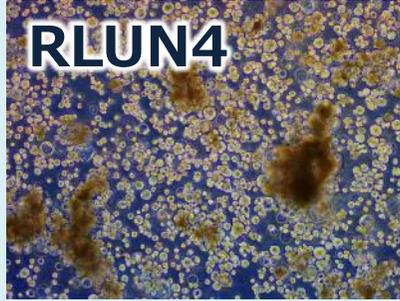


大腸がんマーカー

神経系マーカー

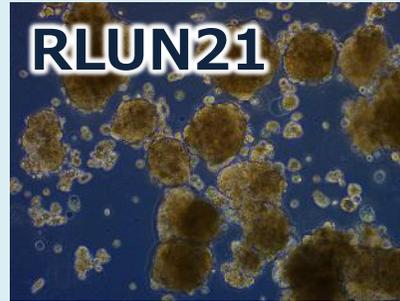
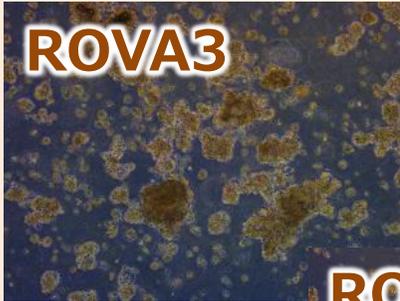


# F-PDO

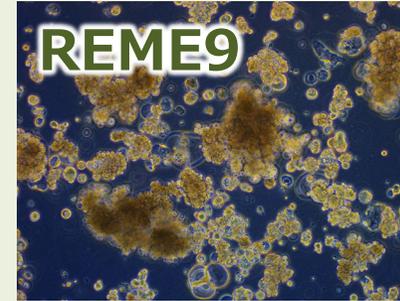


肺がん

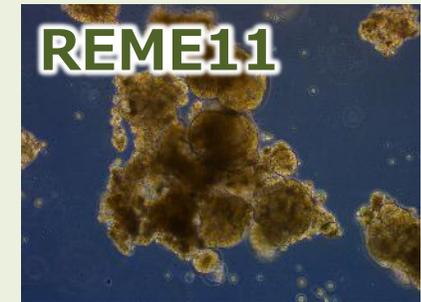
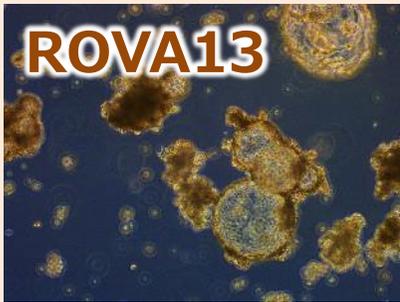
卵巣がん



子宮体がん



子宮頸がん



# F-PDOの樹立状況

## F-PDOの樹立の状況（2019年3月末）

臓器	樹立済み数
Lung cancer	21
Endometrial cancer	20
Ovarian cancer	15
Sarcoma	6
Colorectal cancer	4
Breast cancer	3
Cervical cancer	4
Peritoneal cancer	2
Brain cancer	2
Bile duct cancer	1
Gastric cancer	1
Leukemia via PDX	3

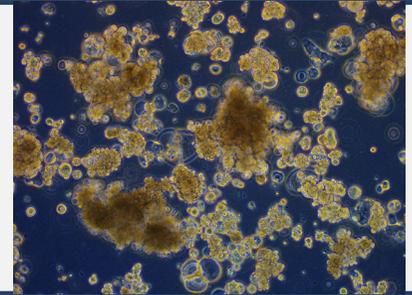
合計：82種類

**他のPDOとの違い**

# F-PDOの特徴

## F-PDO

- がん組織の酵素処理不要、浮遊培養、ヘテロな細胞塊
- 形態学解析、遺伝子発現解析、ゲノム解析で特徴を確認
- 安定したアッセイ系を確立



樹立方法、培養方法、アッセイ方法が大きく違う

### A社

- 免疫不全マウスで増殖させたがん組織 (PDX) から樹立
- がん組織を酵素処理で小片化
- 細胞塊の大きさが多様でアッセイデータが振れる
- 各種解析データが限定的

### B社

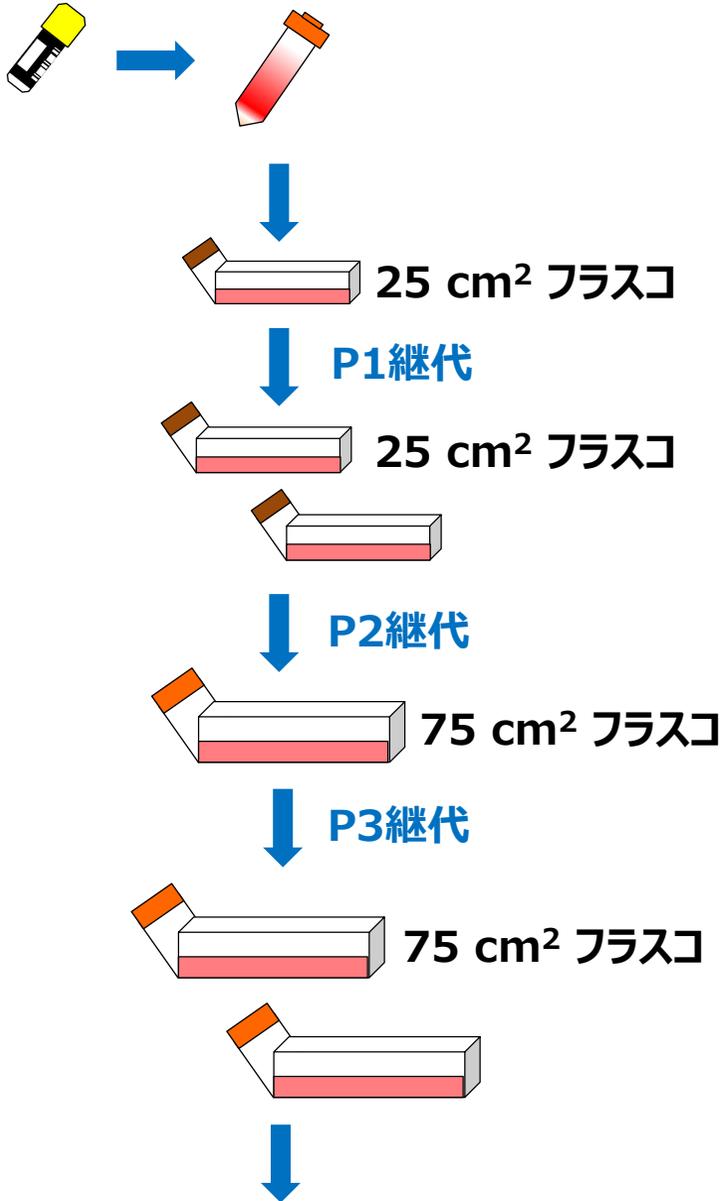
- マトリゲルで細胞を培養
- がん組織を酵素処理で小片化
- 各種解析データが限定的

### C社

- 樹立方法は似ているようだ？
- 有限増殖？
- 系統数が限定的
- 網羅的遺伝子発現解析データがない

# F-PDOを用いたアッセイ系の構築

# F-PDO基本培養方法



## 培地交換 (2回/週)



5~7割交換

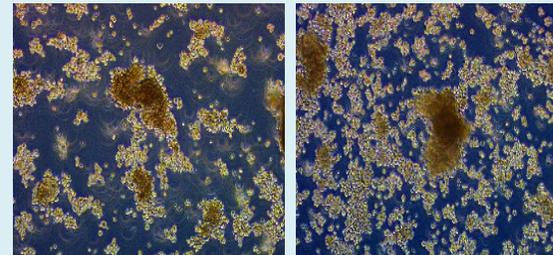
7~8割交換

## 継代のタイミングの見極め

### 培地の色の変化



単一細胞、デブリの増加



継代直後

飽和状態

## ペレット量の測定

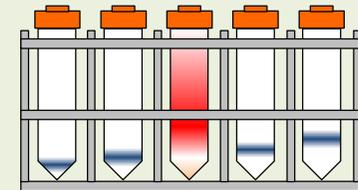
15 mL 遠心管



遠心

100 x g, 2分間

遠心管を試験管立へ



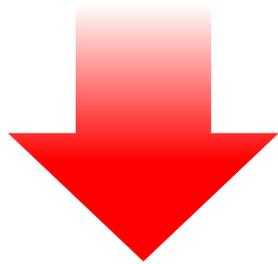
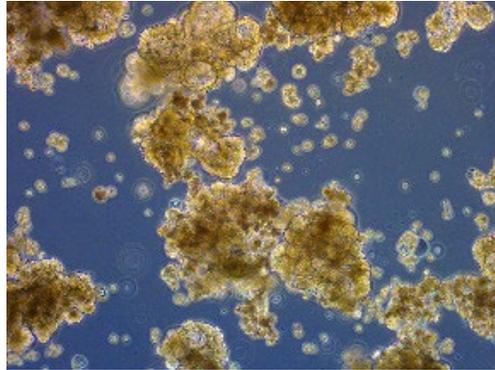
50  $\mu$ L 細胞ペレット 200  $\mu$ L

100  $\mu$ L 150  $\mu$ L

容量 50~150  $\mu$ L の高さに  
マーカで印をつけた遠心管と  
細胞ペレットが入った遠心管を  
隣り合わせて目視で測定。

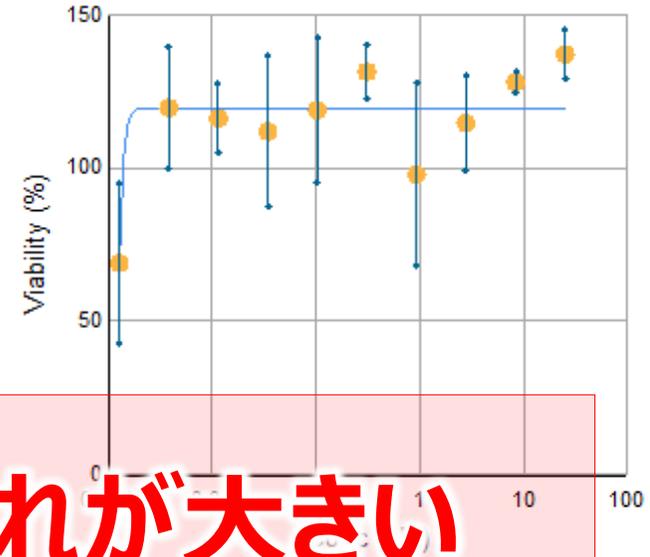
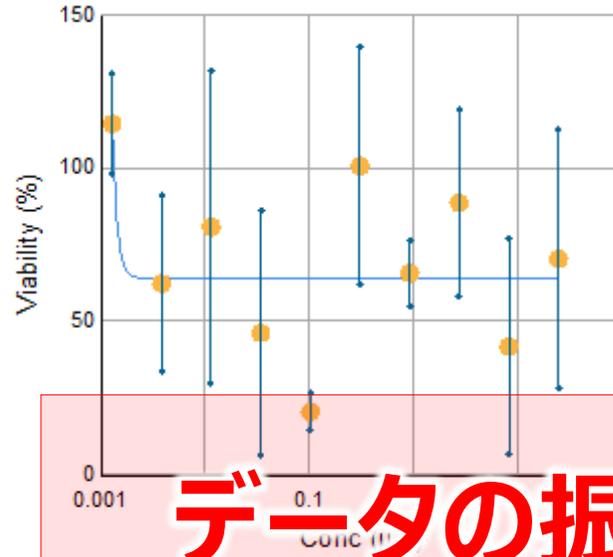
# F-PDOのデータの振れ

## 子宮体がん

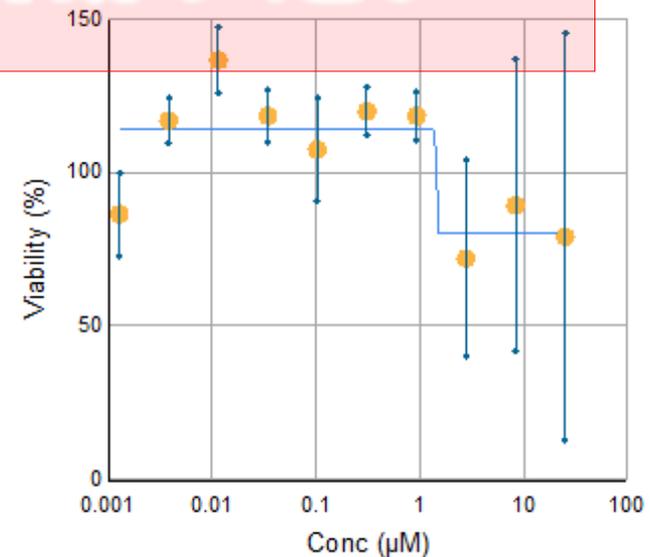
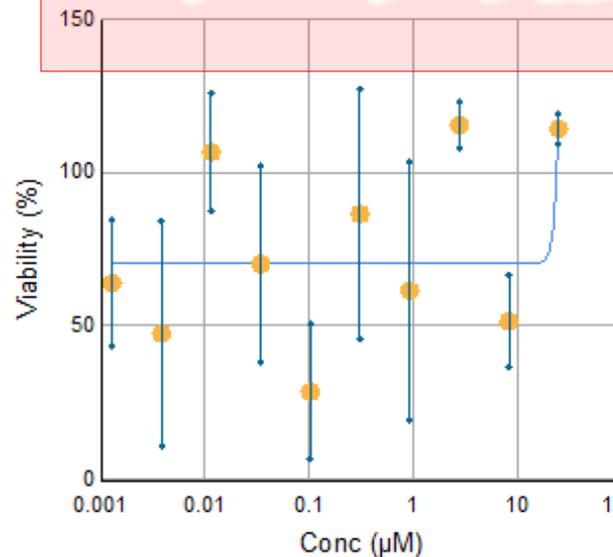


細胞を均一に  
播種する  
必要がある

## 解析例・・・384-well plateに播種



データの振れが大きい

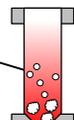


# ジエイトックコーポレーション CellPet FT

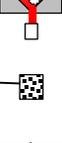


## 小片化装置

細胞入りガラスベッセル

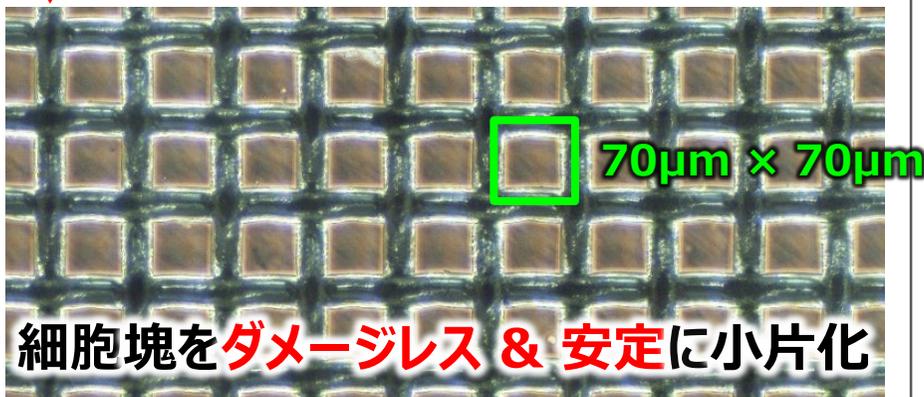
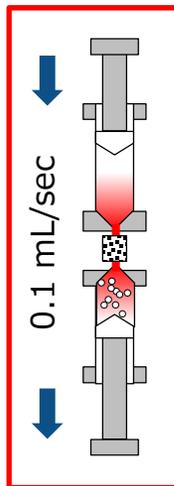
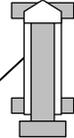


メッシュフィルター入り  
フィルターホルダー

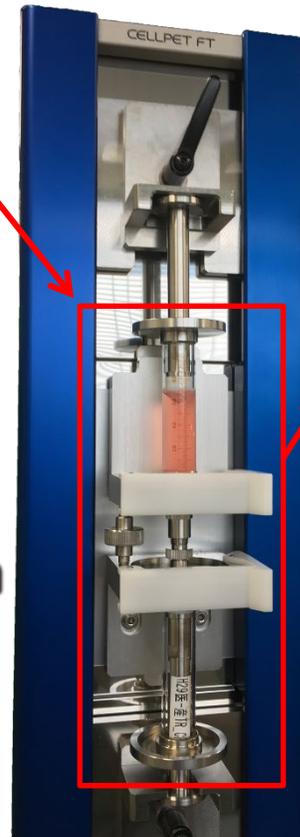


連結

空のガラスベッセル



本体  
に  
設置

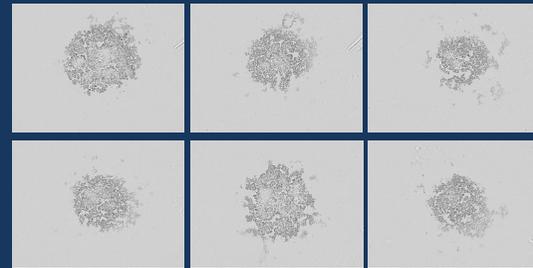
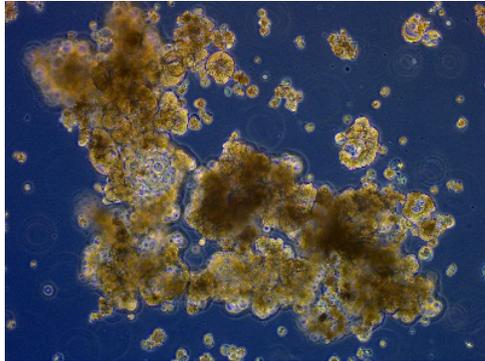


0.1 mL/sec  
(10倍速)

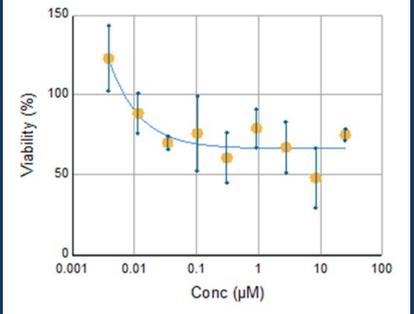
# データの振れが大きかったREME11

## REME11

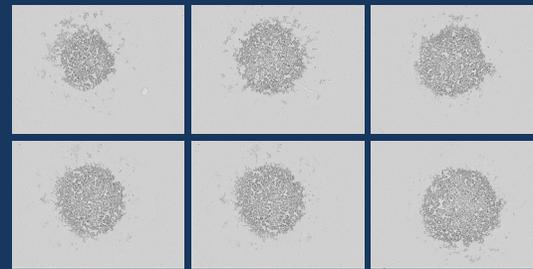
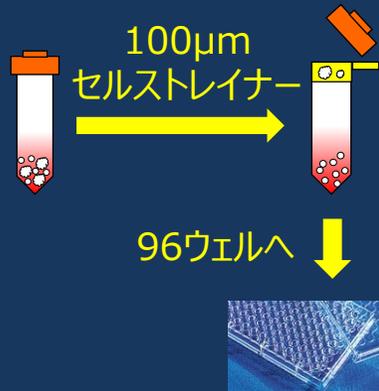
子宮体がん：浮遊



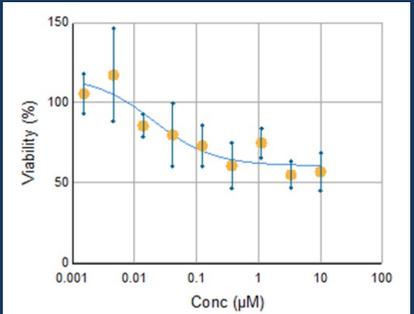
CV値 (0 h) 試験: 34.9%  
増殖率: 1.88



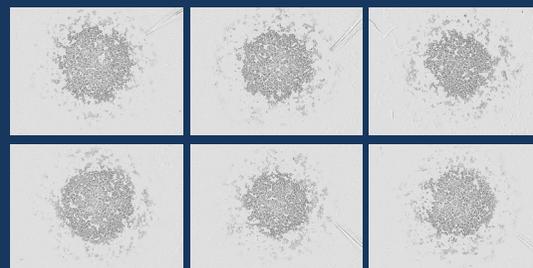
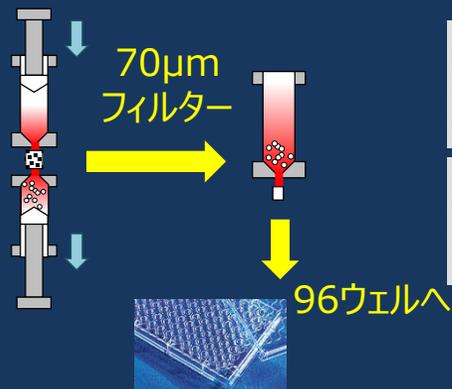
細胞増殖阻害試験  
(パクリタキセル)



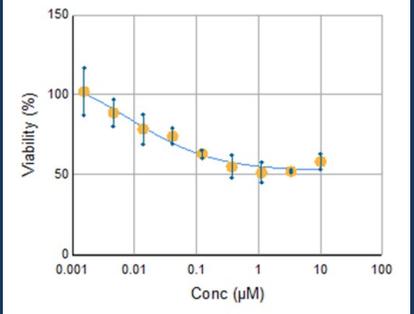
CV値 (0 h) 試験: 27.0%  
増殖率: 3.81



細胞増殖阻害試験  
(パクリタキセル)



CV値 (0 h) 試験: 14.4%  
増殖率: 3.29

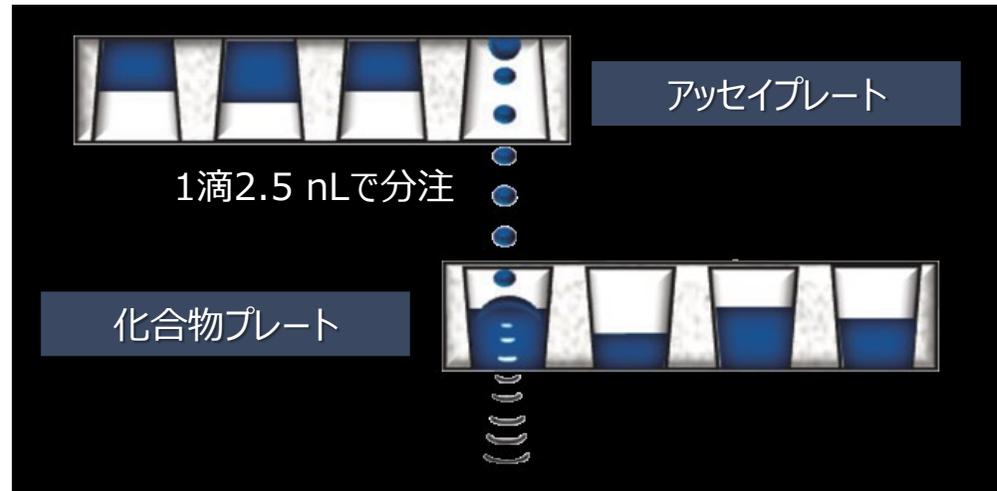


細胞増殖阻害試験  
(パクリタキセル)

# 超音波式微量分注システムの活用



## Labcyte社製Echo



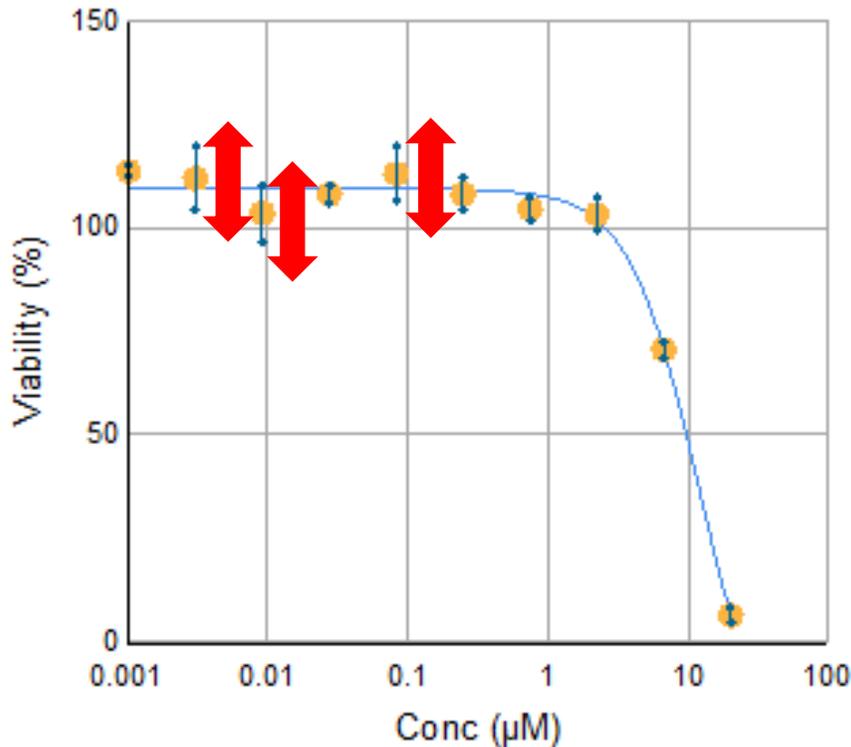
超音波を発生

- » 超音波で液滴を飛ばす非接触分注
- » 1滴2.5 nLからの超微量分注
- » 1  $\mu$ L (400滴) /sの速さで分注
- » 非接触分注のためクロスコンタミのリスクが減少
- » チップにかかるランニングコストが削減

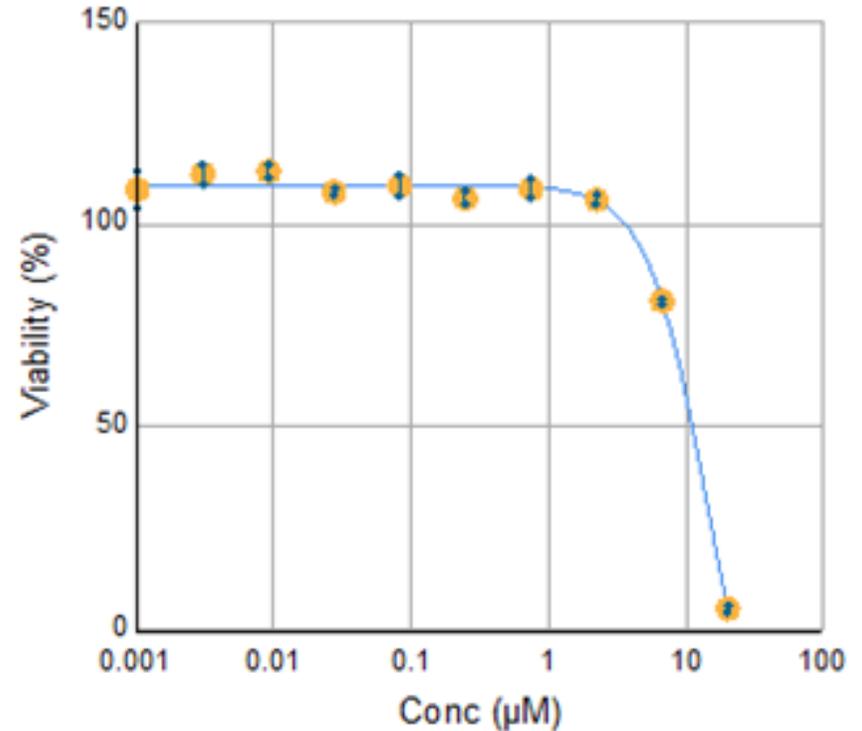
# 超音波式微量分注システムによる精度の改善

## 0.1%化合物溶液の処理によるデータの振れ

チップ式分注機

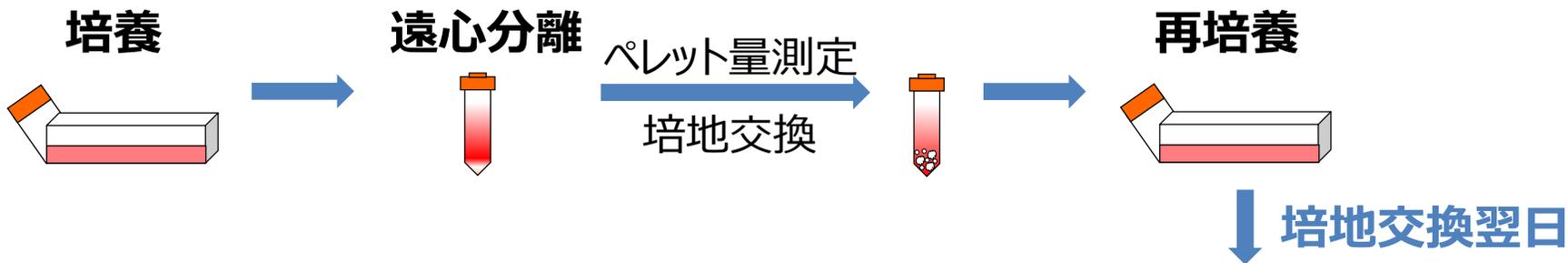


Echo

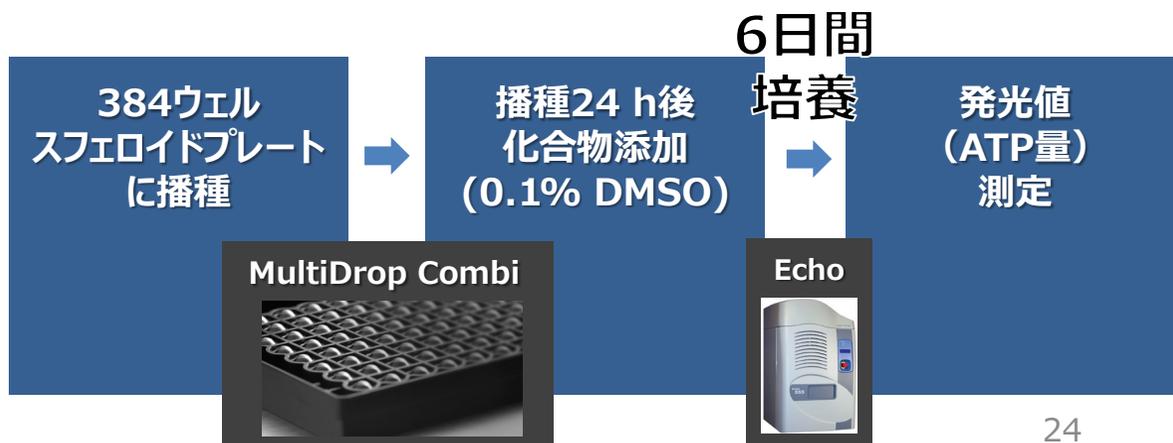
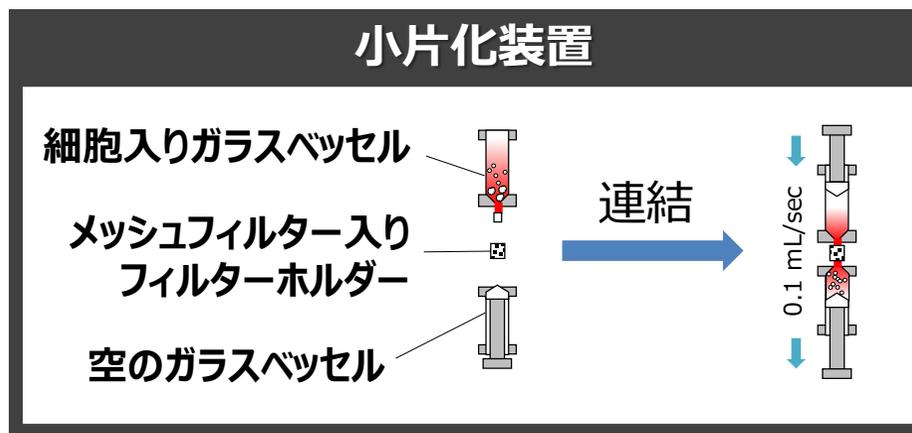


分注精度が高く、  
F-PDOのアッセイにも適している

# F-PDOのマルチウェルプレートアッセイ



本体に設置



# F-PDOの抗がん剤感受性プロファイリング

# がん細胞株との感受性の違い

# Panel assay using F-PDOs

Lung 11 lines

RLUN5, RLUN10, RLUN12, RLUN14, RLUN15, RLUN16,  
RLUN17, RLUN18, RLUN21, RLUN22, RLUN23

Uterine 6 lines

REME9, REME11, REME12, REME13, REME16, REME17

Cervical 1 lines

RCER3

Ovary 3 lines

ROVA2, ROVA9, ROVA14

Peritoneal 1 lines

RPER1

Colon 4 lines

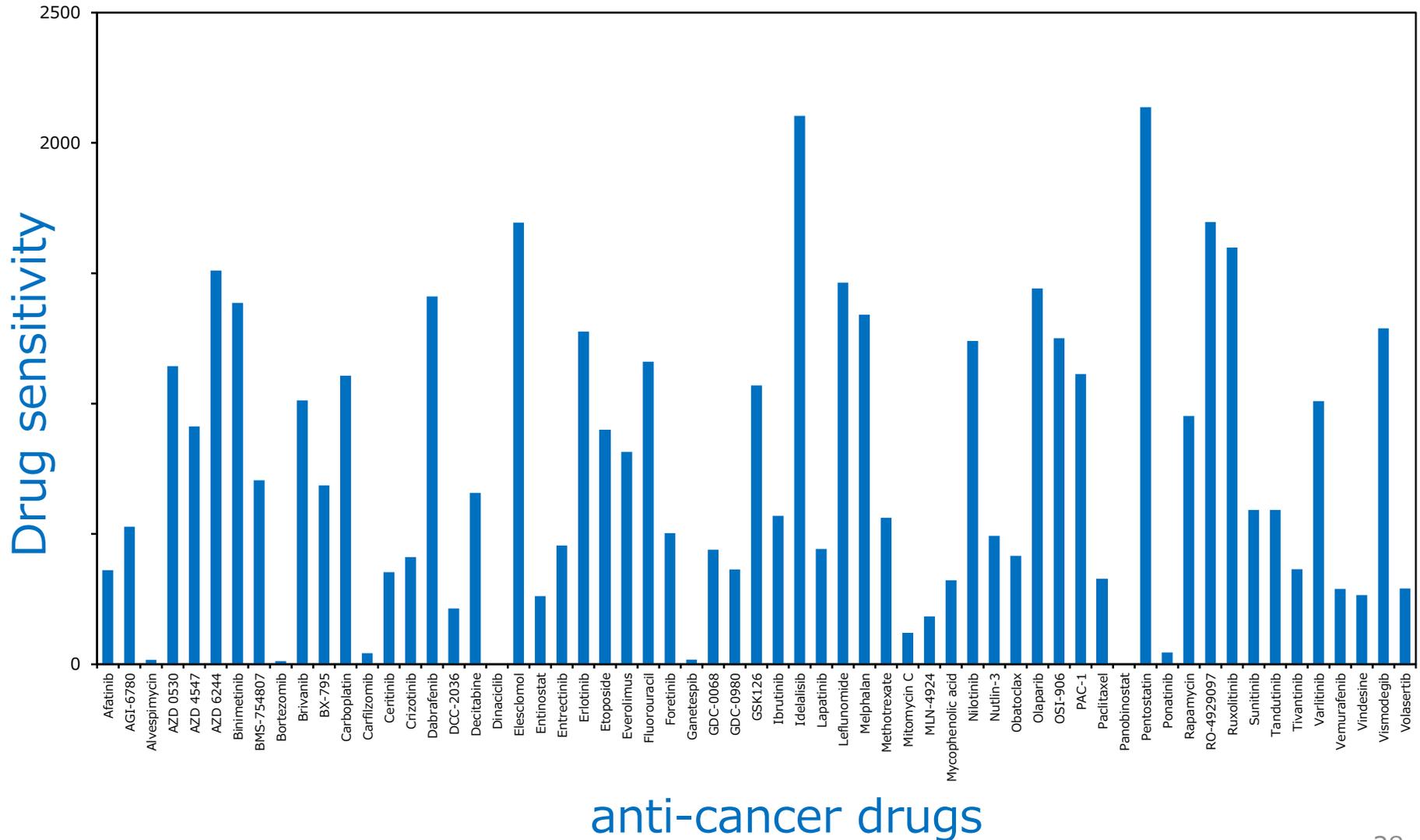
RCOL3, RCOL4, RCOL5, RCOL6

## ▶ 74 anti-cancer drugs

化合物名				
Afatinib	Carfilzomib	Foretinib	Nilotinib	RO-4929097
AGI-6780	Ceritinib	Ganetespib	Nutlin-3	Ruxolitinib
Alvespimycin	Crizotinib	GDC-0068	NVP-BKM120	Sunitinib
Aminoglutethimide	Dabrafenib	GDC-0980	Obatoclox	Tacrolimus
AZD 0530	DCC-2036	GSK126	Olaparib	Tamoxifen
AZD 4547	Decitabine	Ibrutinib	OSI-906	Tandutinib
AZD 6244	Dexamethasone	Idelalisib	PAC-1	Temozolomide
Belinostat	Dinaciclib	Lapatinib	Paclitaxel	Tivantinib
Bicalutamide	Elesclomol	Leflunomide	Panobinostat	Tubastatin A
Binimetinib	Entinostat	Lenalidomide	PCI-34051	Varlitinib
BMS-754807	Entrectinib	Melphalan	Pentostatin	Vemurafenib
Bortezomib	Erlotinib	Methotrexate	PHA-793887	Vindesine
Brivanib	Etoposide	Mitomycin C	Ponatinib	Vismodegib
BX-795	Everolimus	MLN-4924	Rapamycin	Volasertib
Carboplatin	Fluorouracil	Mycophenolic acid	Regorafenib	

# Panel assay using F-PDOs

## Anti-cancer drug profile against ovarian F-PDO (ROVA9)

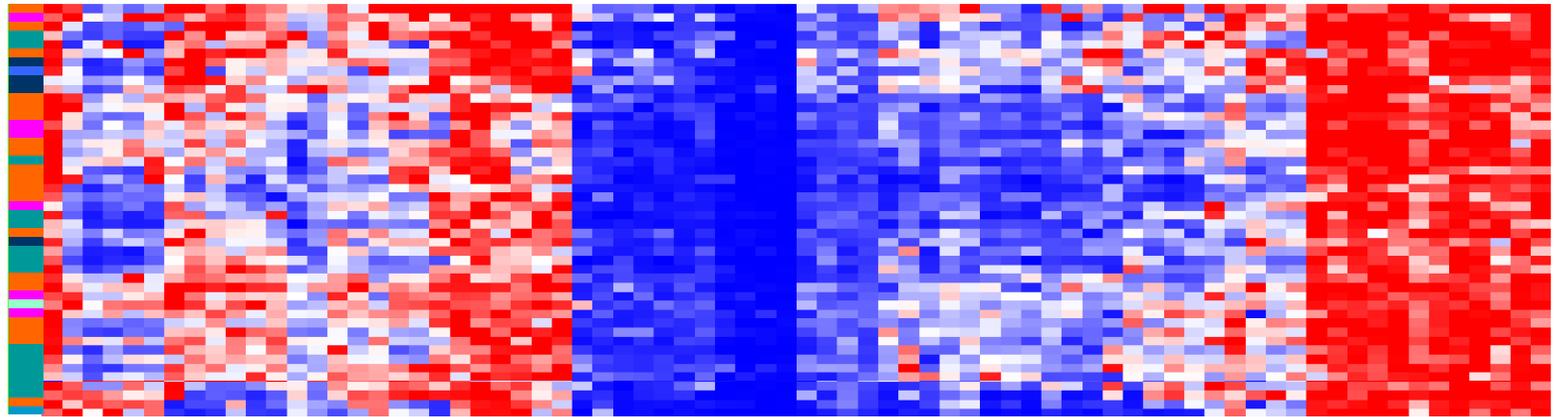


# F-PDOとがん細胞株のクラスタ解析

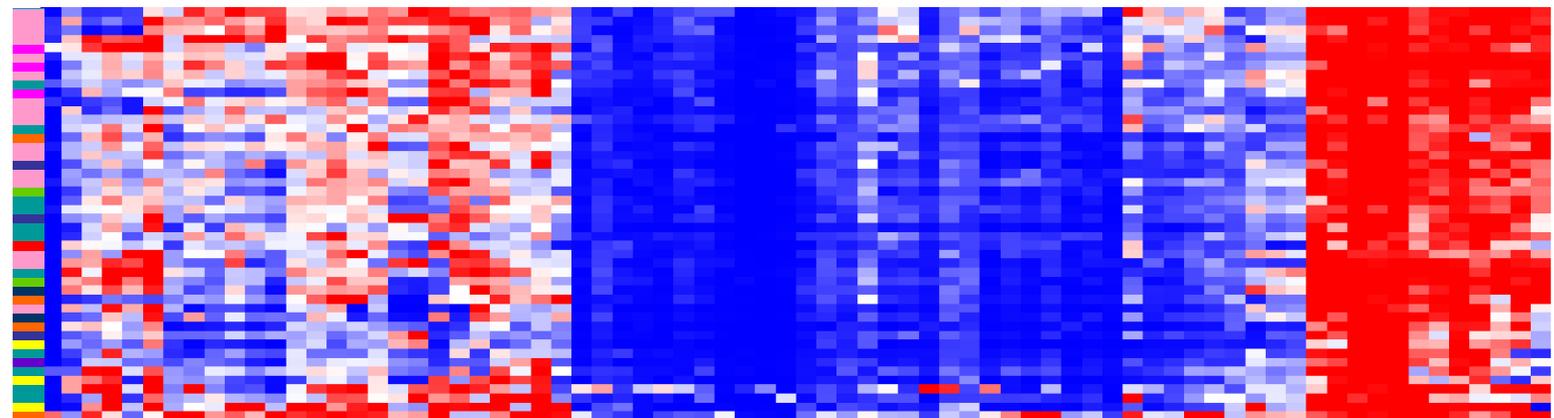


74化合物

46 F-PDO  
細胞



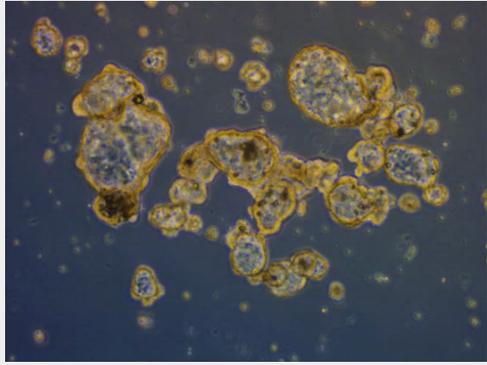
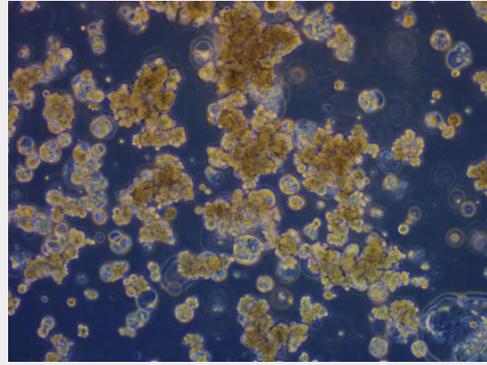
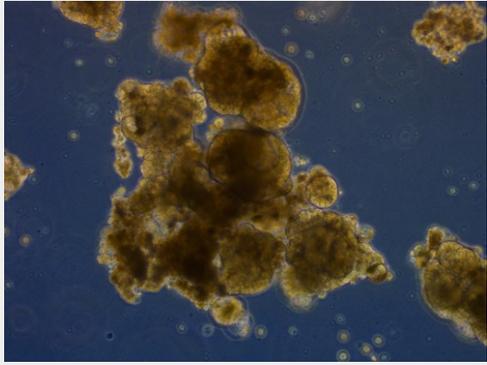
46 がん細胞株  
細胞



F-PDOは薬剤感受性のパターンが多様である

# 化学療法剤への感受性

# Drug sensitivity for Gynecological F-PDO

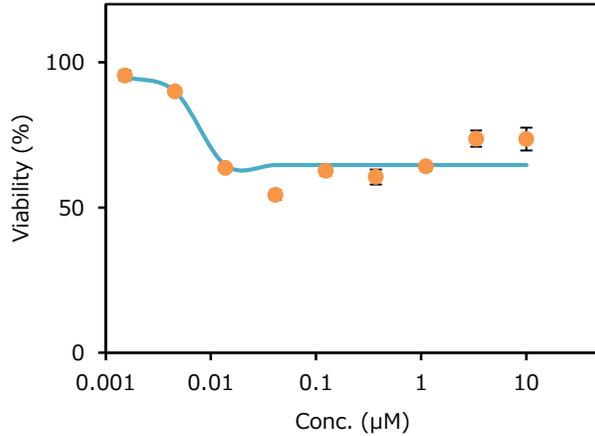
	ROVA14	REME9	REME11
	Ovarian	Uterine	Uterine
Phase contrast image			
Diagnosis	Serous adenocarcinoma	Endometrioid adenocarcinoma with squamous differentiation	Clear cell adenocarcinoma
Clinical drug sensitivity	Tolerant to Paclitaxel & Carboplatin	Tolerant to Paclitaxel & Carboplatin	Tolerant to Paclitaxel & Carboplatin

# Drug sensitivity for Uterine F-PDO

**REME9**

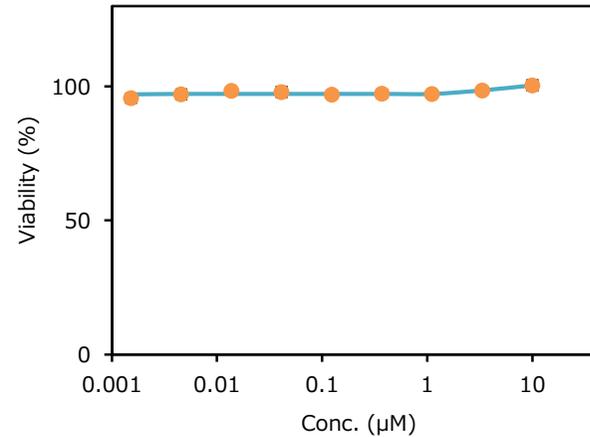
Proliferation rate : 3.0

**Paclitaxel**



**IC<sub>50</sub> :**  
**> 10 µM**

**Carboplatin**

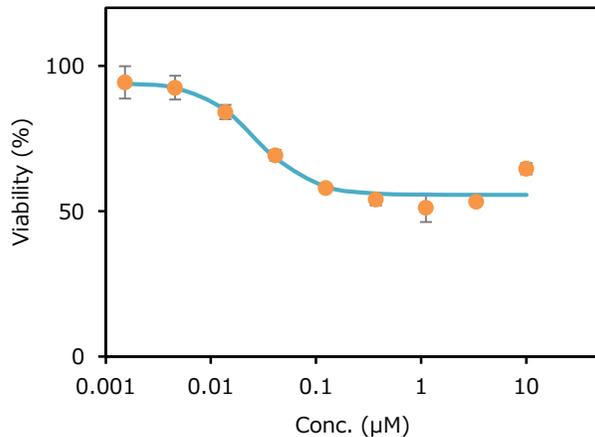


**IC<sub>50</sub> :**  
**> 10 µM**

**REME11**

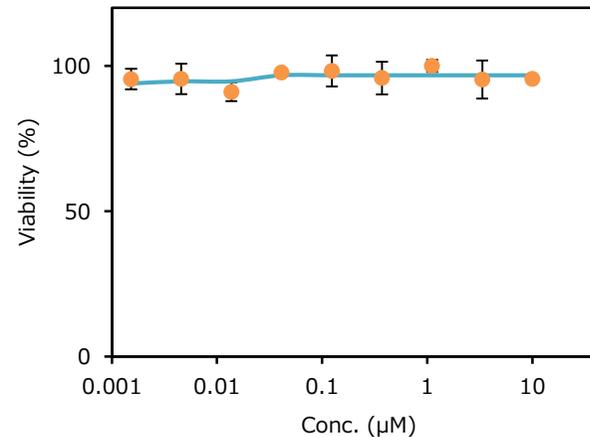
Proliferation rate : 2.3

**Paclitaxel**



**IC<sub>50</sub> :**  
**> 10 µM**

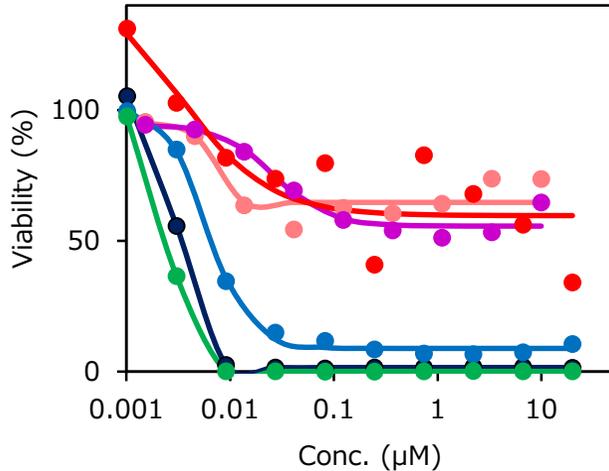
**Carboplatin**



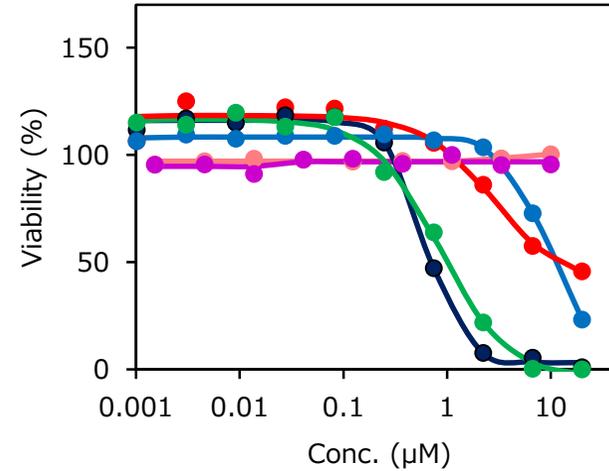
**IC<sub>50</sub> :**  
**> 10 µM**

# Drug sensitivity: F-PDOs vs Cell lines

Paclitaxel



Carboplatin



Cells	IC <sub>50</sub> (µM)	
	Paclitaxel	Carboplatin
● Ovarian ROVA14	> 10	> 10
● Uterine REME9	> 10	> 10
● Uterine REME11	> 10	> 10
● Ovarian OVCAR-3	0.003	0.712
● Ovarian SK-OV-3	0.007	10.33
● Uterine SK-UT-1B	0.003	0.988

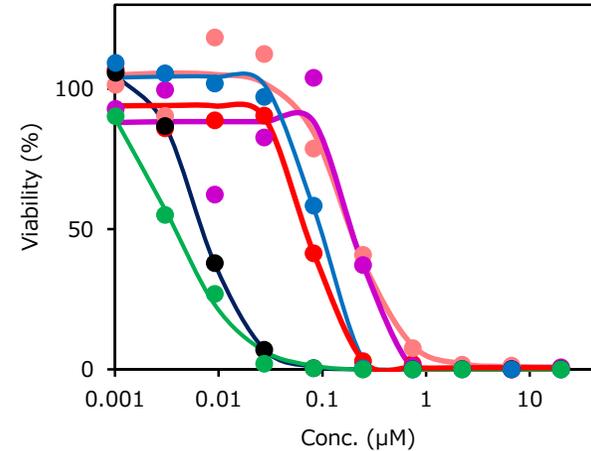
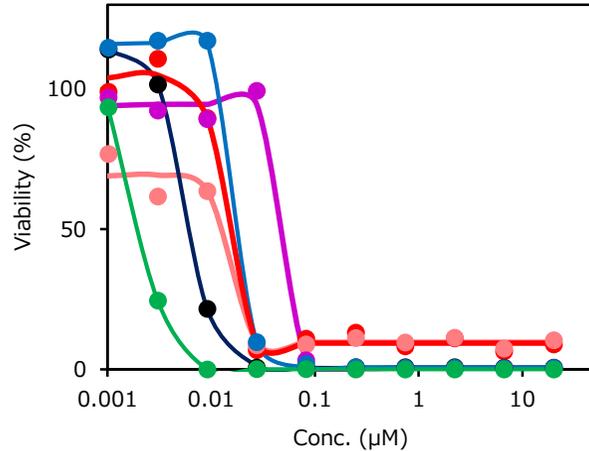
F-PDO showed tolerance to anti-cancer drugs like drug-resistant patient

# Drug sensitivity: F-PDOs vs Cell lines

Drugs in clinical stage: showing high efficiency

CDK inhibitor: Dinaciclib

HDAC inhibitor: Panobinostat

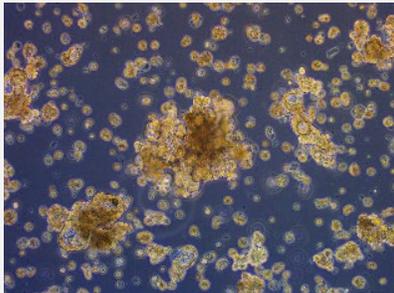
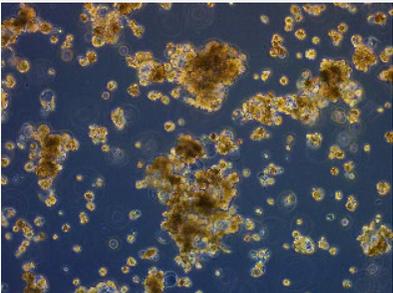
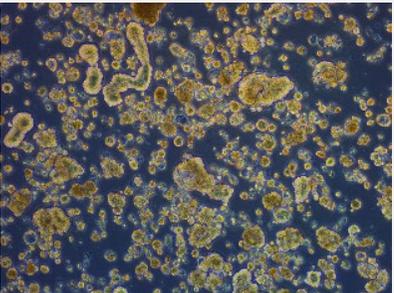
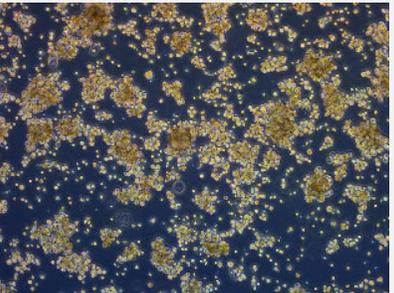


Cells	IC <sub>50</sub> (µM)	
	Dinaciclib	Panobinostat
● Ovarian ROVA14	0.010	0.073
● Uterine REME9	0.010	0.190
● Uterine REME11	0.069	0.238
● Ovarian OVCAR-3	0.006	0.007
● Ovarian SK-OV-3	0.024	0.090
● Uterine SK-UT-1B	0.003	0.004

# 分子標的薬への感受性

# EGFR-inhibitor sensitivity for Lung F-PDO

## EGFR inhibitor sensitive mutant

EGFR gene	L858R	E746_A750del	Wild type	
Cell	RLUN14	RLUN23	RLUN15	RLUN16
Phase contrast image				
Diagnosis	Papillary adenocarcinoma	Papillary adenocarcinoma	Pleomorphic carcinoma	Squamous cell carcinoma

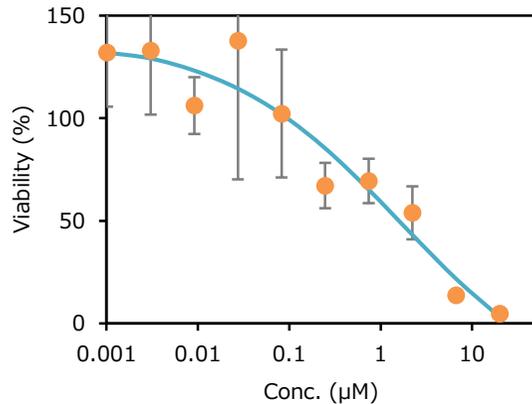
# EGFR-inhibitor sensitivity for Lung F-PDO

## Erlotinib sensitivity

EGFR inhibitor sensitive mutant

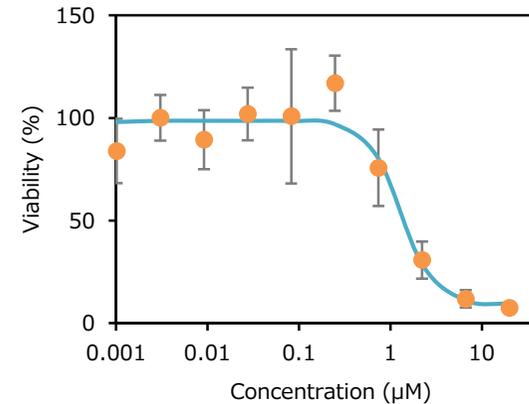
Wild

### RLUN14 (EGFR L858R)



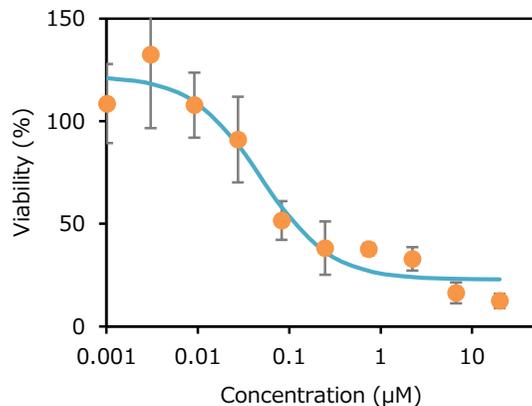
$\text{IC}_{50}$  :  
**1.58  $\mu\text{M}$**

### RLUN15



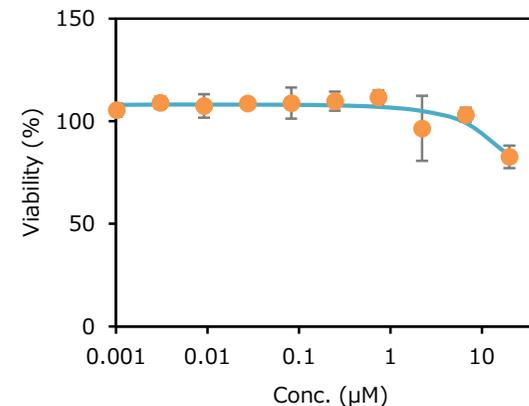
$\text{IC}_{50}$  :  
**11.9  $\mu\text{M}$**

### RLUN23 (EGFR E746\_A750del)



$\text{IC}_{50}$  :  
**0.115  $\mu\text{M}$**

### RLUN16



$\text{IC}_{50}$  :  
**> 20  $\mu\text{M}$**

# Panel assay using F-PDOs

Lung 11 lines

RLUN5, RLUN10, RLUN12, RLUN14, RLUN15, RLUN16, RLUN17, RLUN18, RLUN21, RLUN22, RLUN23

Uterine 6 lines

REME9, REME11, REME12, REME13, REME16, REME17

Cervical 1 lines

RCER3

Ovary 3 lines

ROVA2, ROVA9, ROVA14

Peritoneal 1 lines

RPER1

Colon 4 lines

RCOL3, RCOL4, RCOL5, RCOL6

## ▶ 74 anti-cancer drugs

化合物名				
Afatinib	Carfilzomib	Foretinib	Nilotinib	RO-4929097
AGI-6780	Ceritinib	Ganetespi	Nutlin-3	Ruxolitinib
Alvespimycin	Crizotinib	GDC-0068	NVP-BKM120	Sunitinib
Aminoglutethimide	Dabrafenib	GDC-0980	Obatoclox	Tacrolimus
AZD 0530	DCC-2036	GSK126	Olaparib	Tamoxifen
AZD 4547	Decitabine	Ibrutinib	OSI-906	Tandutinib
AZD 6244	Dexamethasone	Idelalisib	PAC-1	Temozolomide
Belinostat	Dinaciclib	Lapatinib	Paclitaxel	Tivantinib
Bicalutamide	Elesclomol	Leflunomide	Panobinostat	Tubastatin A
Binimetinib	Entinostat	Lenalidomide	PCI-34051	Varlitinib
BMS-754807	Entrectinib	Melphalan	Pentostatin	Vemurafenib
Bortezomib	Erlotinib	Methotrexate	PHA-793887	Vindesine
Brivanib	Etoposide	Mitomycin C	Ponatinib	Vismodegib
BX-795	Everolimus	MLN-4924	Rapamycin	Volasertib
Carboplatin	Fluorouracil	Mycophenolic acid	Regorafenib	

# F-PDOを用いた 抗体医薬品の評価

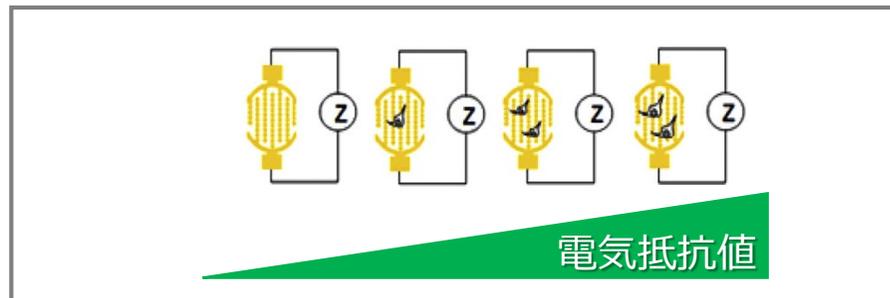
# 抗体の細胞増殖阻害の評価

# xCELLigenceによる細胞増殖の測定

細胞存在下で電気抵抗値（10KHz、25KHz、50KHz）を測定することにより、**細胞の成長（増殖）**、伸展、形態変化、死などの特別な刺激に対する応答を**ラベルフリー**で知ることができる。

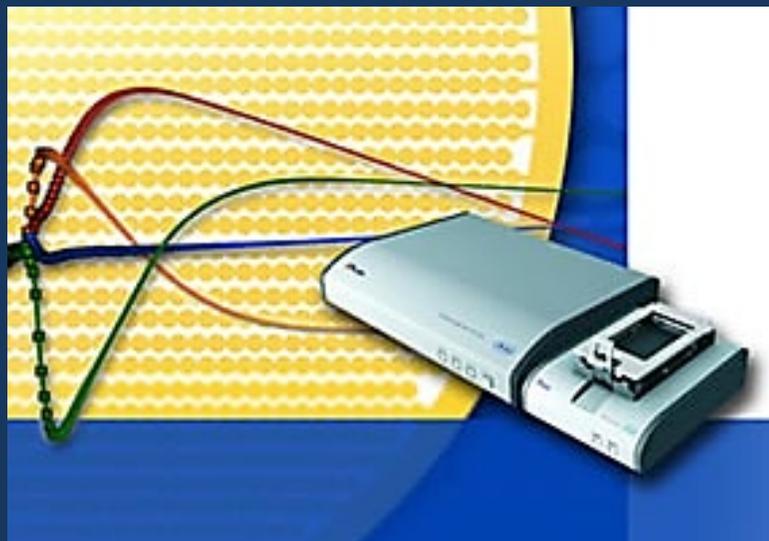


金電極が  
ウェル底面をカバー



## 長所

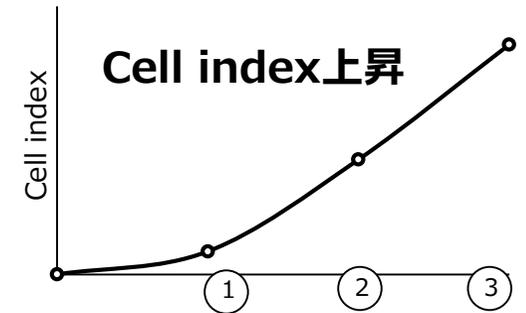
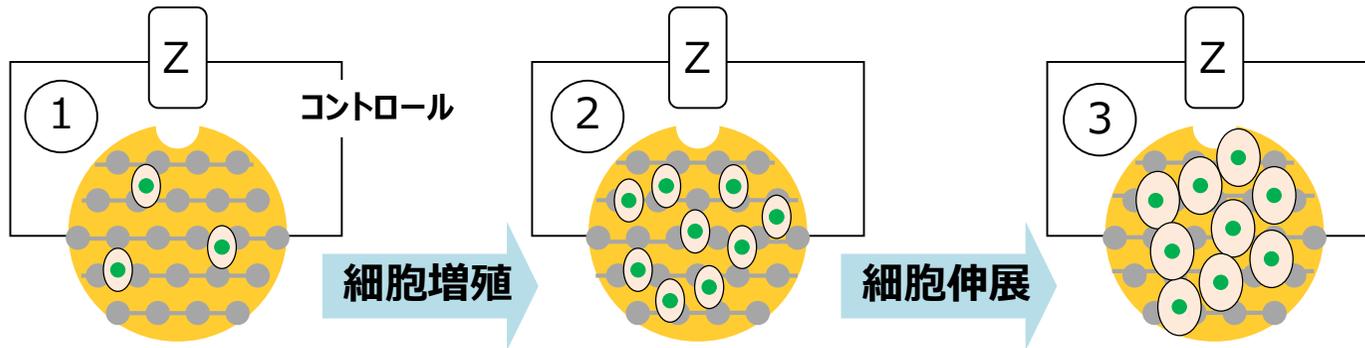
- 多サンプルの同時測定が可能
- 標識やレポーターが必要ない
- 細胞の生存を**リアルタイムモニタリング**
- インキュベーター内で長時間測定が可能



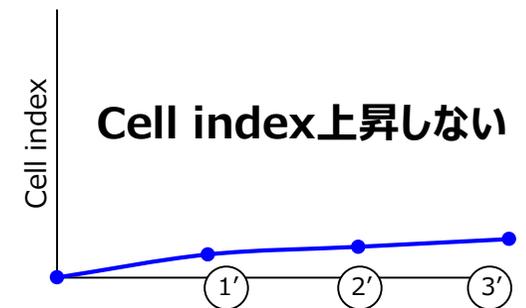
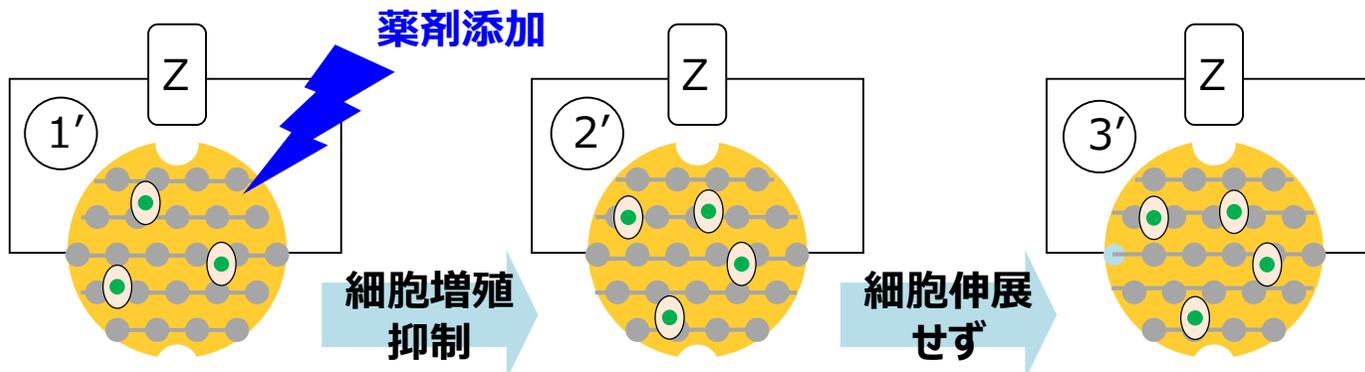
# xCELLigenceによる細胞増殖の測定

## 細胞増殖阻害を電気抵抗値で評価

### 電気抵抗値

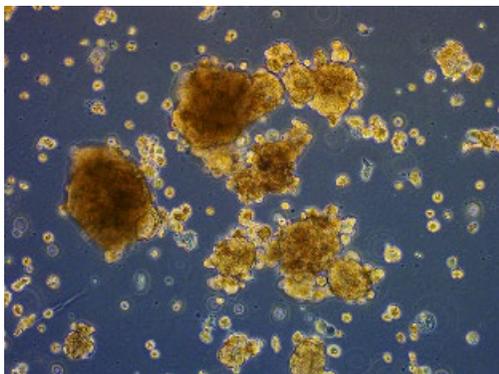


### 電気抵抗値変動ほとんどない



# 肺がん由来F-PDOを用いた抗体医薬品の評価

肺がん由来のF-PDO  
RLUN21  
HER2・EGFR発現



## アッセイフロー

96ウェルE-Plateをファイブロネクチンコート

16 h

E-Plateへ培地を分注, バックグラウンド測定

F-PDOを播種

xCELLigenceへ設置, Cell index測定開始

24 h

抗体処理 (100, 10, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

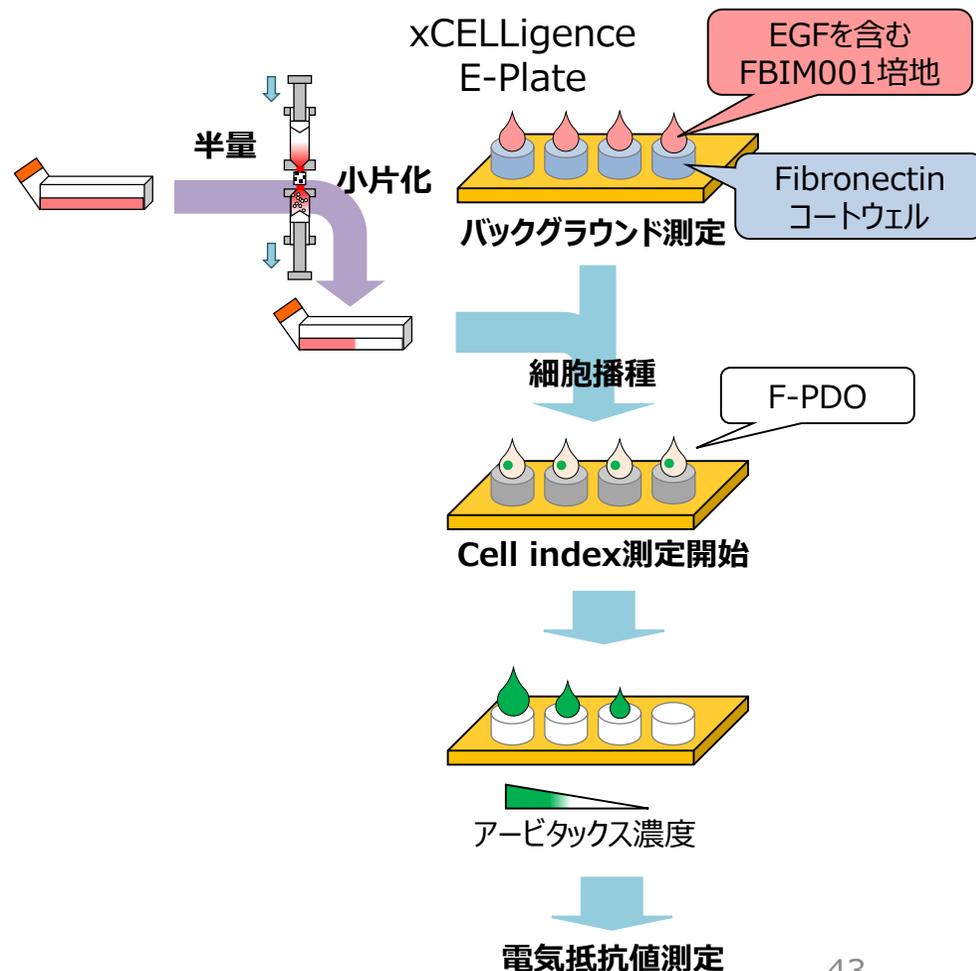
120 h

Cell index測定終了

### 抗体

■ アービタックス：抗EGFR抗体

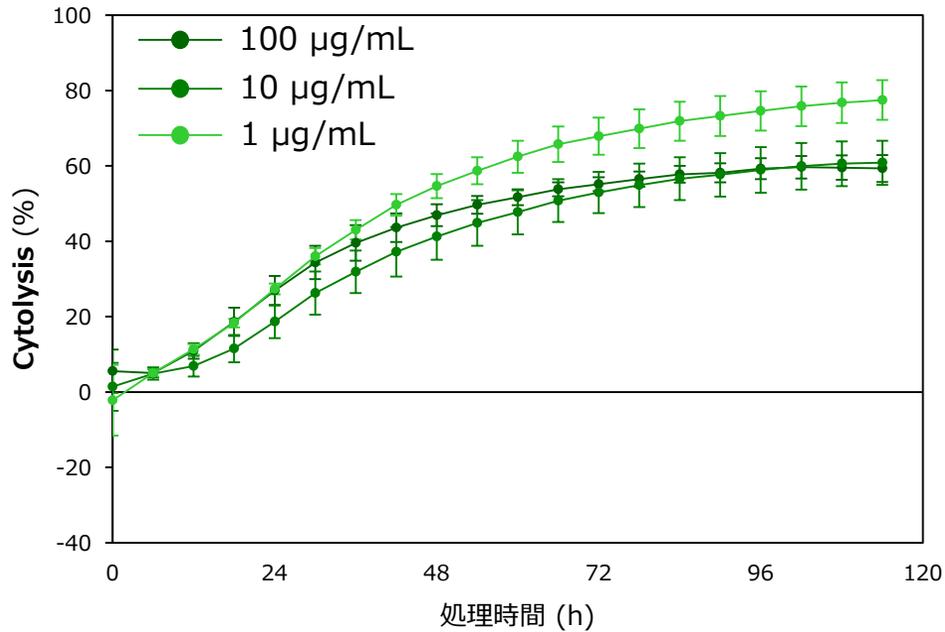
処理濃度 (100, 10, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )



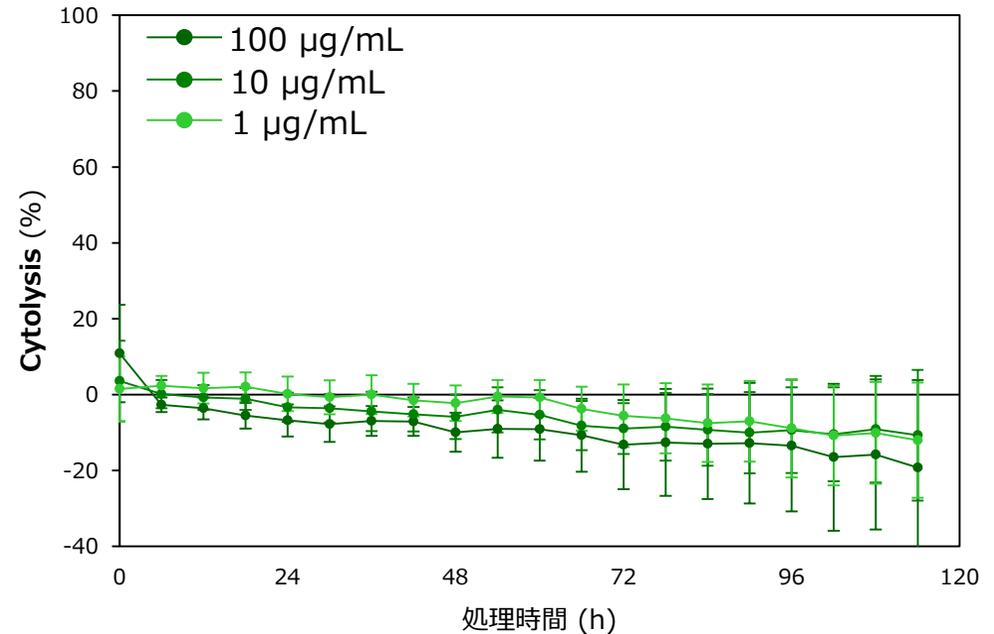
# 肺がん由来F-PDOを用いた抗体の評価 試験結果

## アービタックス

RLUN21: EGFR高発現



RLUN16: EGFR低発現



アービタックスは、肺がん由来F-PDOに増殖阻害を示した

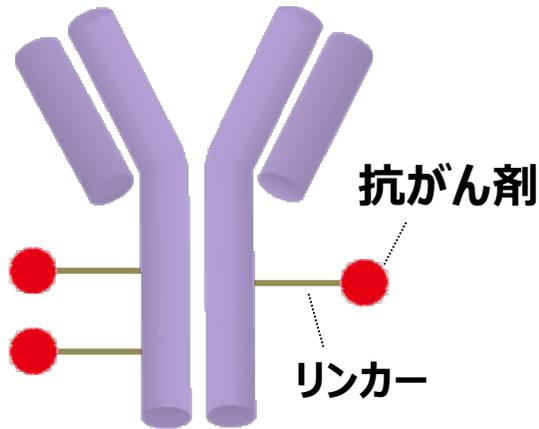
# 抗体薬物複合体（ADC）の評価

# 肺がん由来F-PDOを用いたADCの評価

## 抗HER2抗体

### カドサイラ

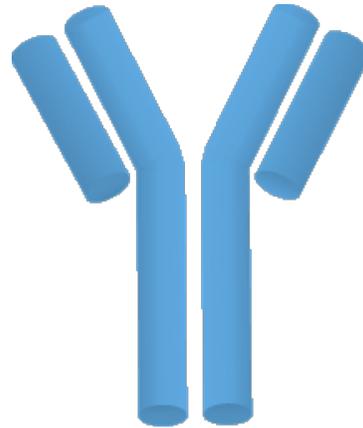
《トラスツズマブ-エムタンシン》



- ◆ 抗体薬物複合体 (ADC)
- ◆ ハーセプチンにチオエーテルリンカーでエムタンシンが結合
- ◆ チューブリン重合阻害
- ◆ 2014年 承認

### ハーセプチン

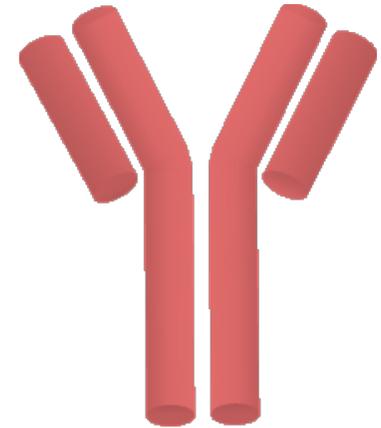
《トラスツズマブ》



- ◆ HER2受容体に対するIgG<sub>1</sub>ヒト化モノクローナル抗体
- ◆ パーージェタと抗原認識部位が異なる
- ◆ ADCC活性
- ◆ 2001年 承認

### パーージェタ

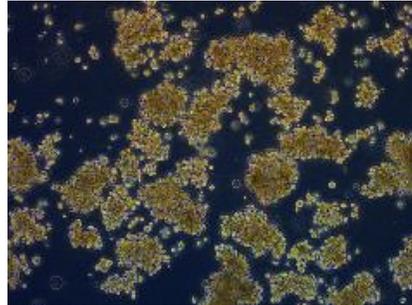
《ペルツズマブ》



- ◆ HER2受容体に対するIgG<sub>1</sub>ヒト化モノクローナル抗体
- ◆ ハーセプチンと抗原認識部位が異なる
- ◆ EGFR/HER1、HER3、HER4の重合阻害
- ◆ ADCC活性
- ◆ 2013年 承認

# 肺がん由来F-PDOを用いたADCの評価

## 肺がん由来のF-PDO RLUN16 HER2高発現



### アッセイフロー

96ウェルE-Plateをファイブロネクチンコート

16 h

E-Plateへ培地を分注, バックグラウンド測定

ERBB2高発現RLUN16-2を播種

24 h

xCELLigenceへ設置, Cell index測定開始

抗体処理 (100, 10, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

70 h

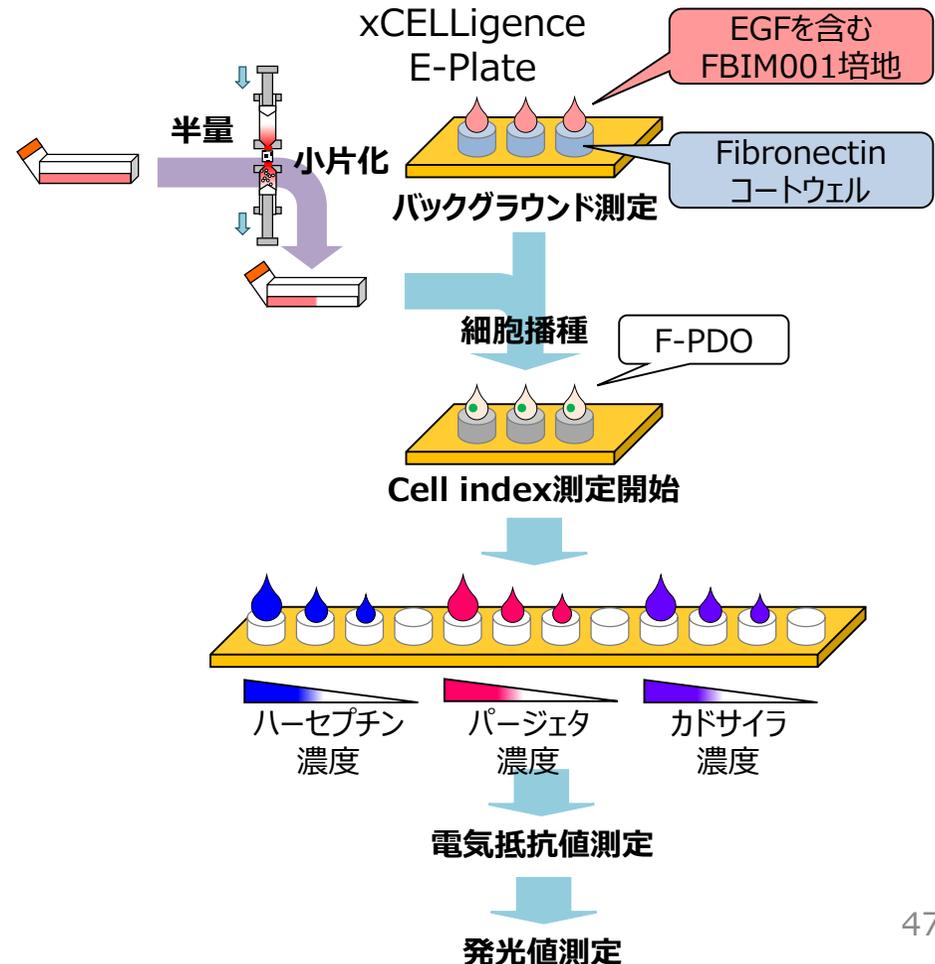
Cell index測定終了

CellTiter-Glo 3D添加, 発光値測定

### 抗HER2 抗体

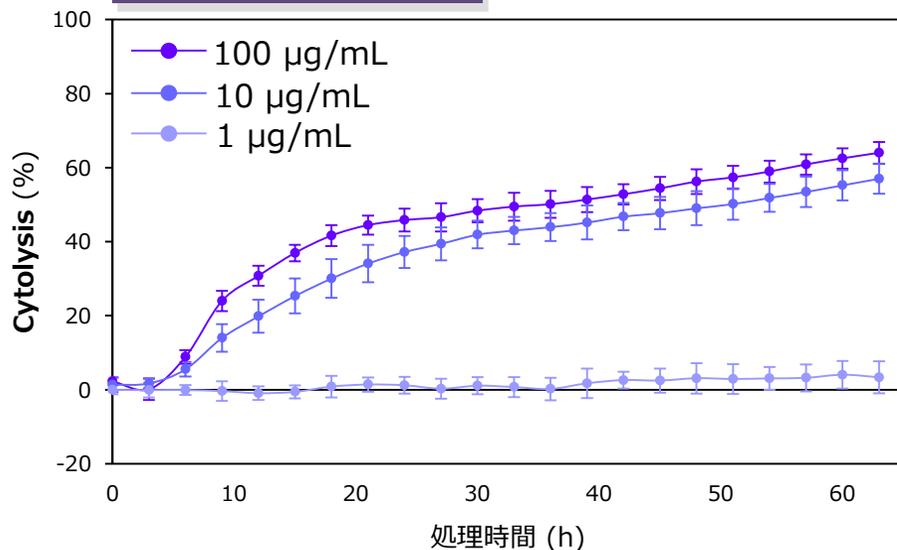
- カドサイラ：トラスツズマブエムタンシン (ADC)
- ハーセプチン：トラスツズマブ
- パーজেタ：ペルツズマブ

処理濃度 (100, 10, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )



# 肺がん由来F-PDOを用いたADCの評価 試験結果

## カドサイラ (ADC)



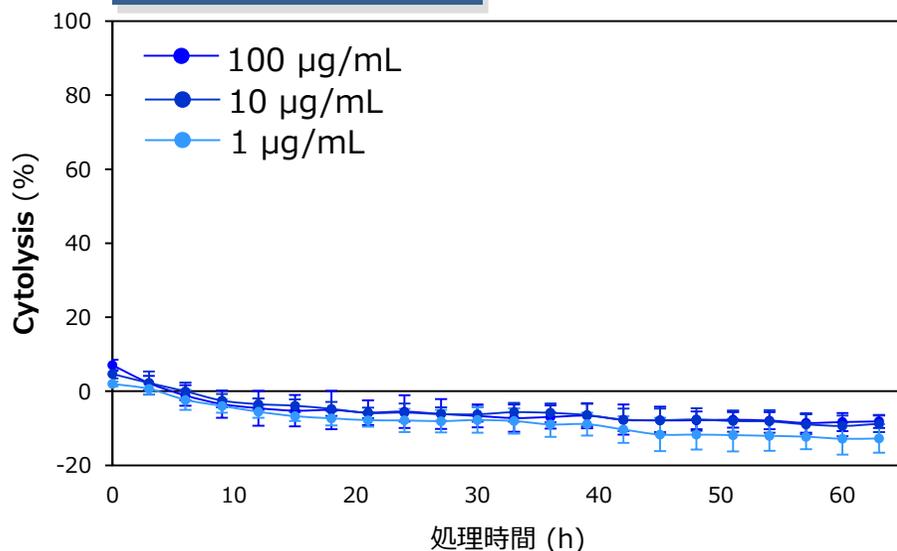
カドサイラ (ADC) は、  
肺がん由来F-PDOの細胞増殖を  
顕著に阻害した

Cytolysis (%) =

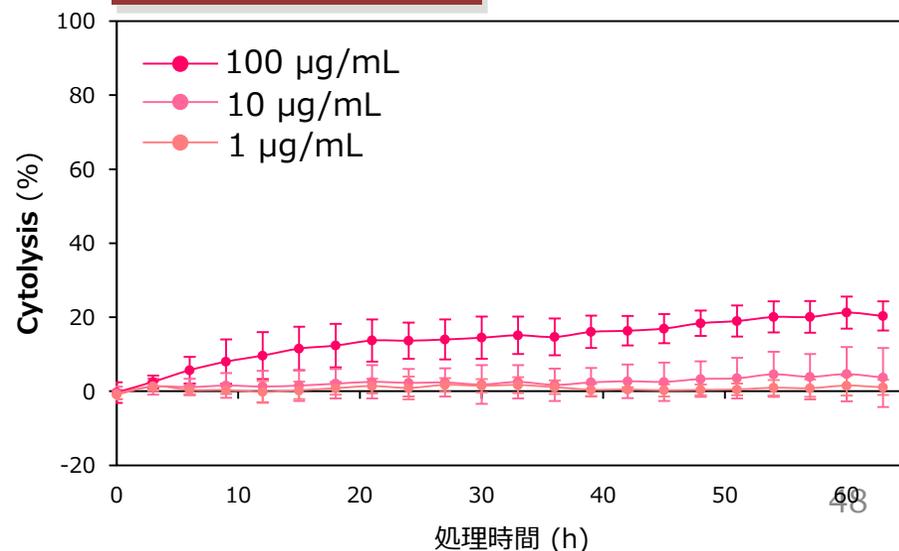
$$\left( 1 - \frac{\text{「各時間のCI」} / \text{「処理直前のCI」}}{\text{「各時間の無処理細胞のCI」} / \text{「処理直前の無処理細胞のCI」}} \right) \times 100$$

\* CI: Cell index

## ハーセプチン

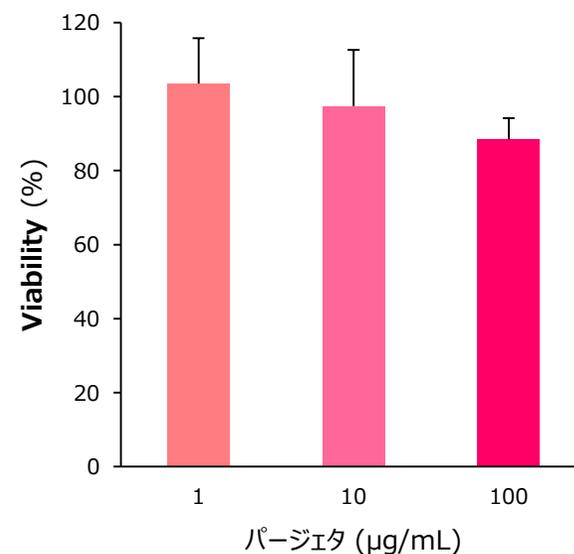
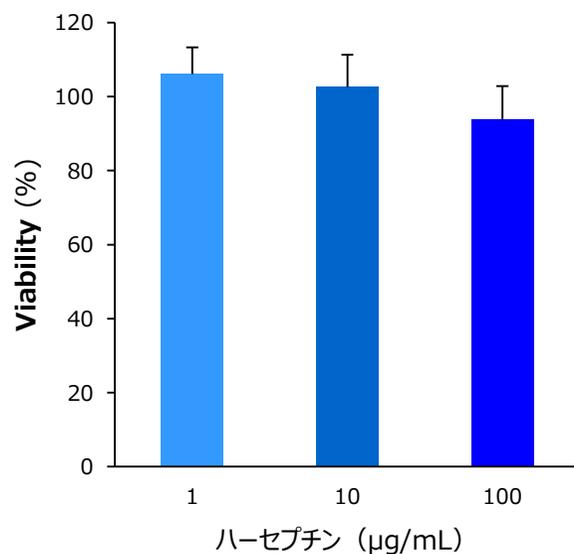
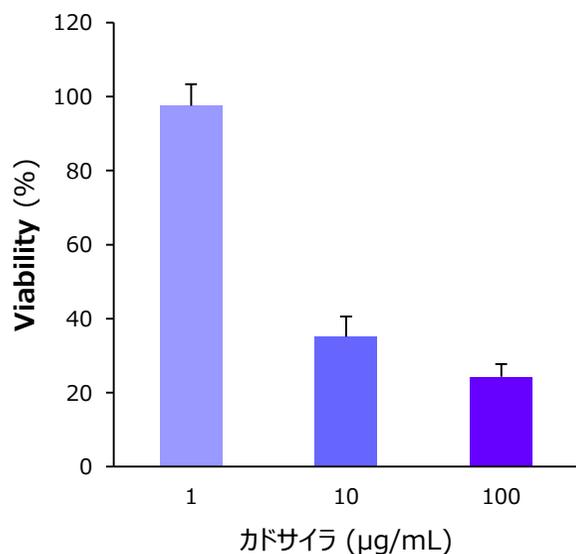


## パージェタ



# 肺がん由来F-PDOを用いたADCの評価 試験結果

## HER2高発現 RLUN16-2



エンドポイントでATP量を測定し生細胞数を測定



カドサイラのみが細胞死を顕著に誘導している

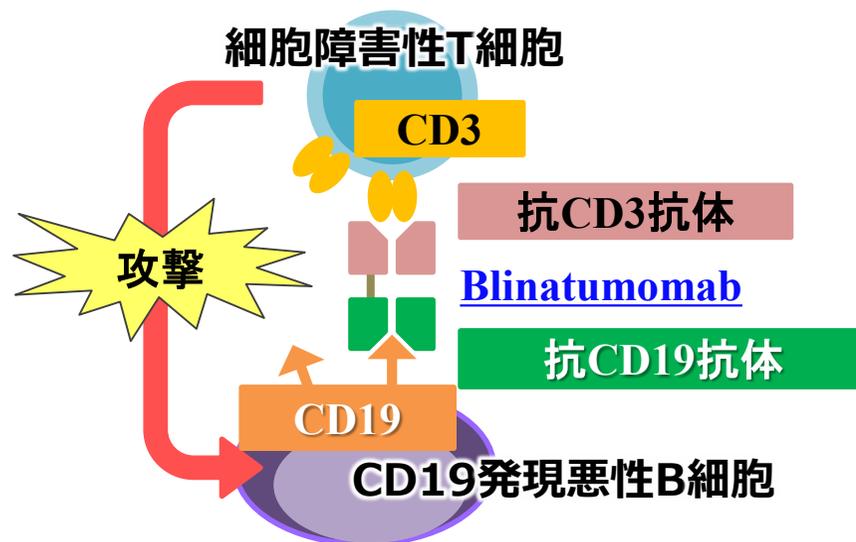
# 二重特異性抗体の評価

# 患者由来ALL細胞を用いた二重特異性抗体の評価

## ➤ 二重特異性抗体

### Blinatumomab

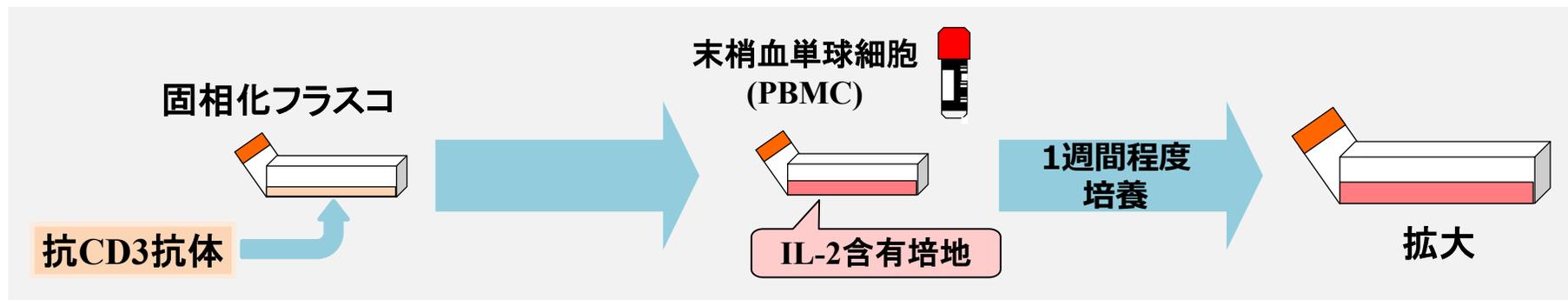
- Amgenが販売
- フィラデルフィア陰性の再発もしくは 難治性B細胞前駆型急性リンパ性白血病薬
- アメリカで2014年に承認、日本では2018年9月に承認



## ➤ 患者由来ターゲット細胞

細胞	診断名
DLEU002	前駆B細胞急性リンパ性白血病
DLEU003	B細胞急性リンパ性白血病

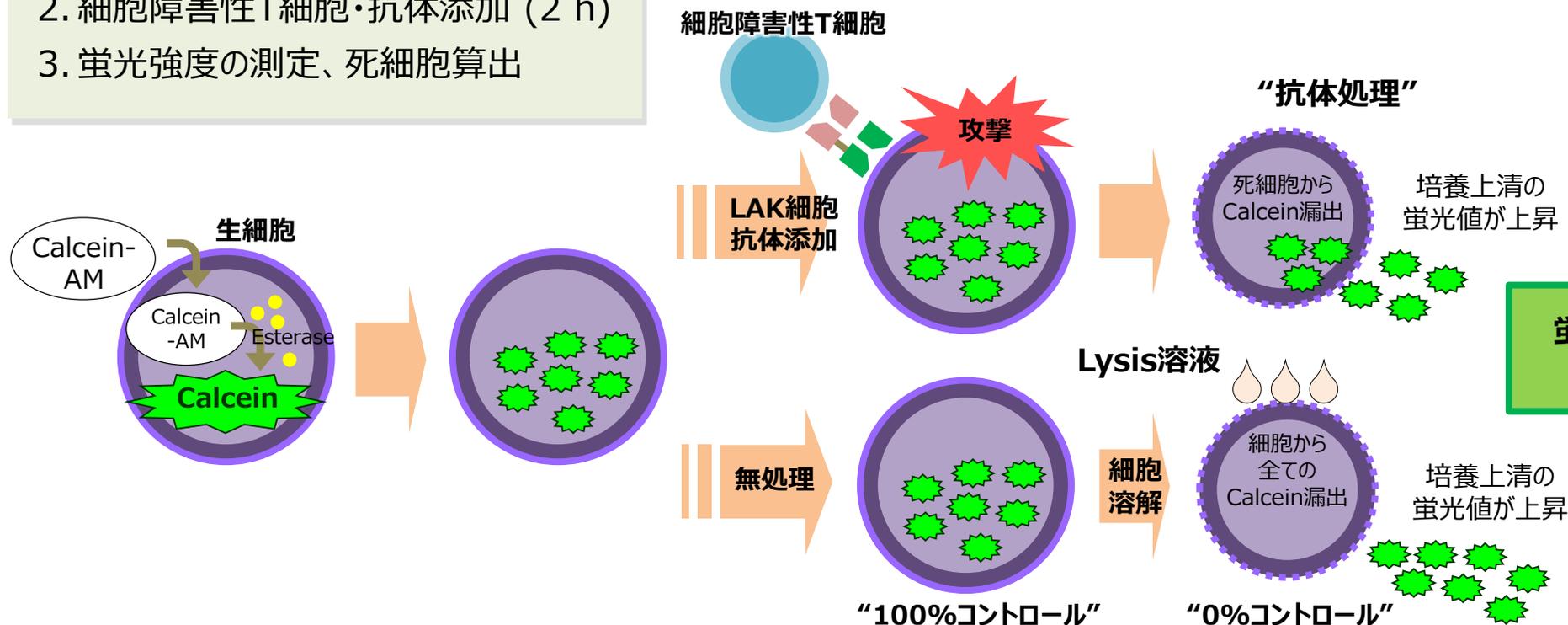
## ➤ 細胞障害性T細胞



# 二重特異性抗体の評価 試験方法

## 評価方法

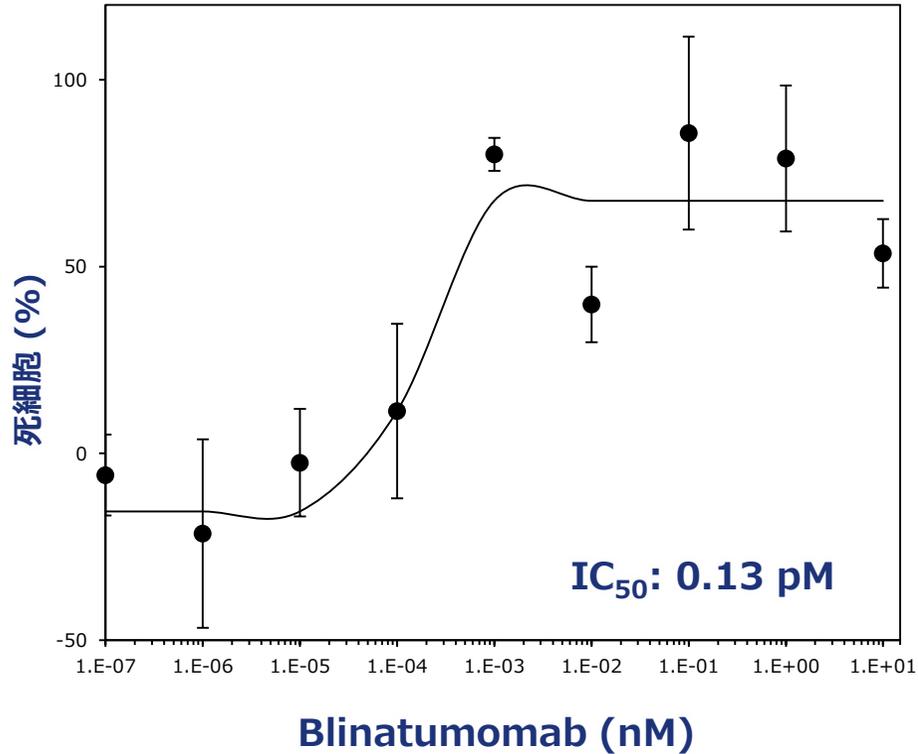
1. Calcein-AMによる生細胞蛍光染色
2. 細胞障害性T細胞・抗体添加 (2 h)
3. 蛍光強度の測定、死細胞算出



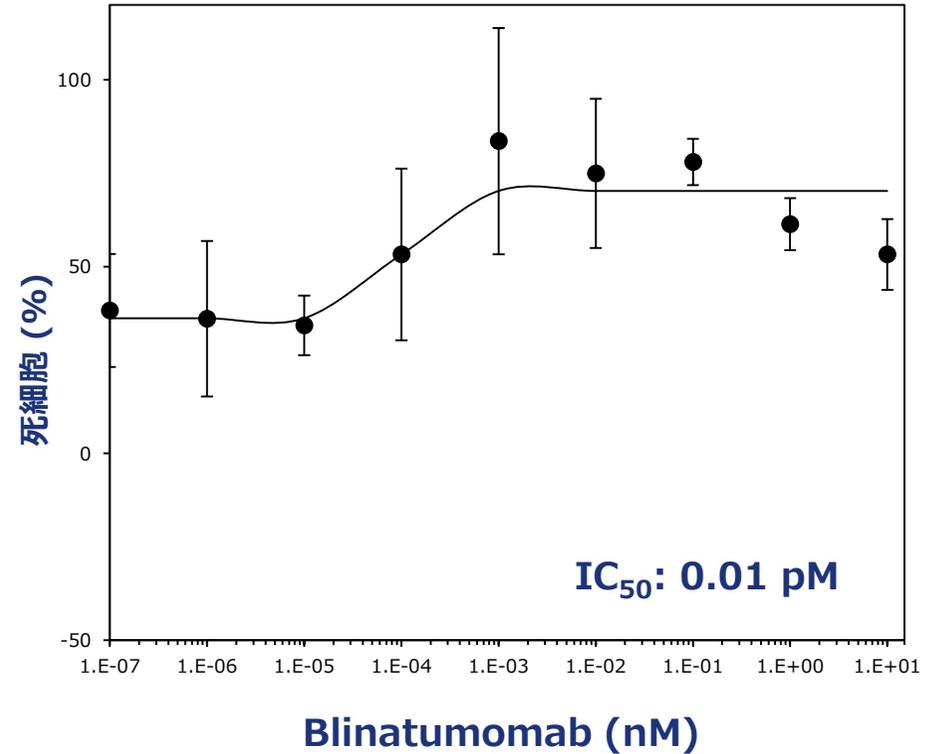
$$\text{死細胞 (\%)} = \frac{\text{「抗体処理」} - \text{「Effectorコントロール」} - \text{「100\%コントロール」}}{\text{「0\%コントロール」} - \text{「100\%コントロール」}}$$

# 二重特異性抗体の評価 結果

DLEU002



DLEU003



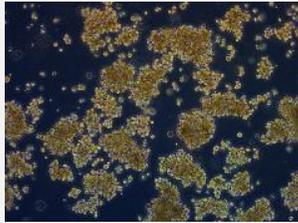
細胞傷害活性を確認

# PBMCを用いた 免疫反応の評価

# PBMCを用いた免疫反応の評価\_試験方法

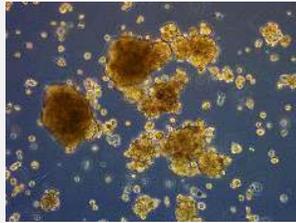
## 肺がん由来F-PDO

RLUN16-2



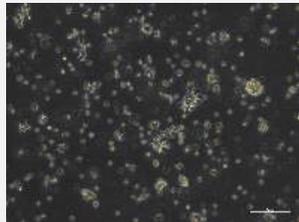
希釈倍率: 30倍

RLUN21



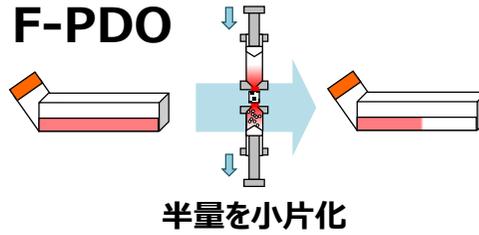
希釈倍率: 5倍

## 末梢血単球細胞 (PBMC)



播種細胞数:  
1, 2.5, 5 x 10<sup>4</sup>/well

F-PDO



半量を小片化

細胞播種

xCELLigence  
E-Plate

FBIM001  
培地

バックグラウンド測定

Fibronectin  
コートウェル

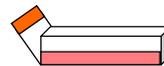
Cell index測定開始

24 h

PBMC



融解



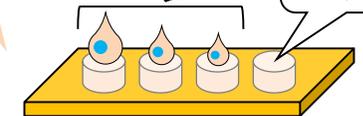
1-2 h

1 µg/mL  
enterotoxin B

24 h後、  
PBMC処理

F-PDO+PBMC

F-PDO  
のみ



多 少  
PBMC細胞数

Cell index測定

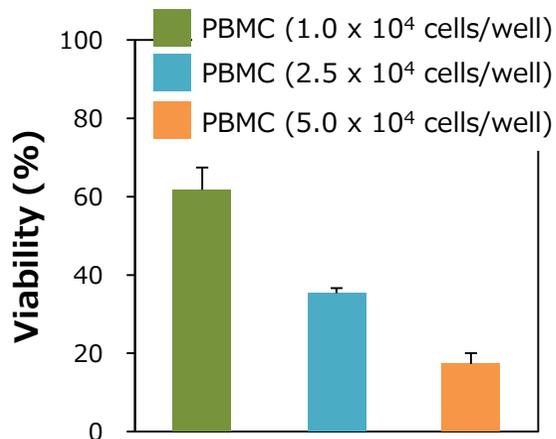
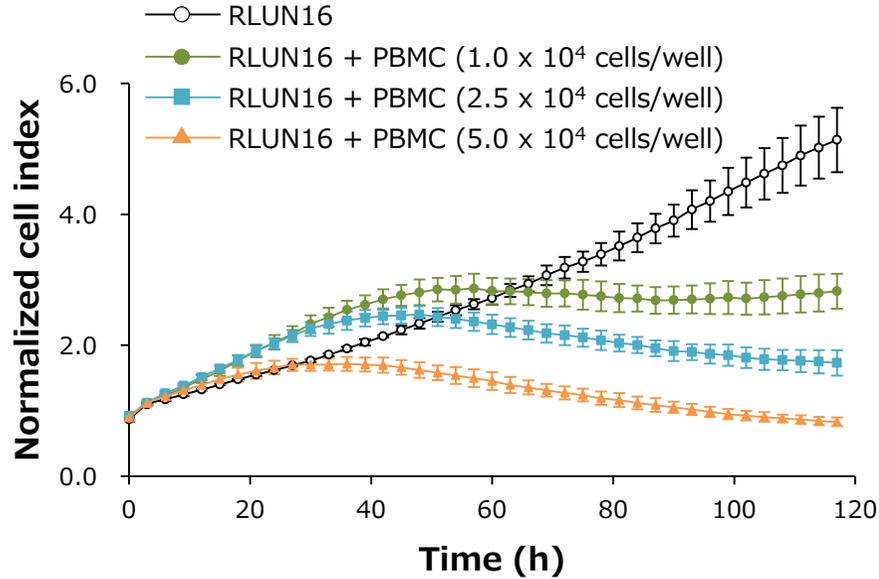
120 h後  
PBMCを洗い流し

F-PDOの生存率  
(発光値)を測定

# PBMCを用いた免疫反応の評価\_試験結果

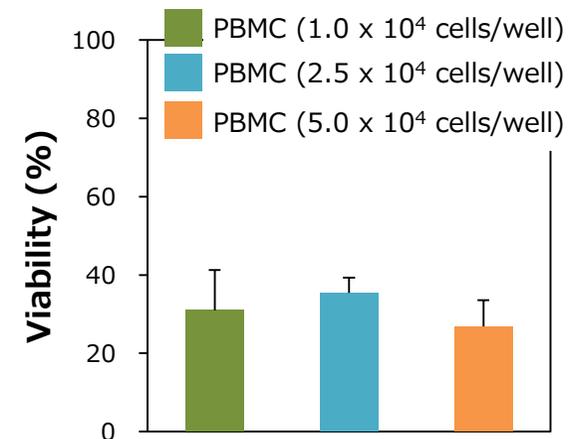
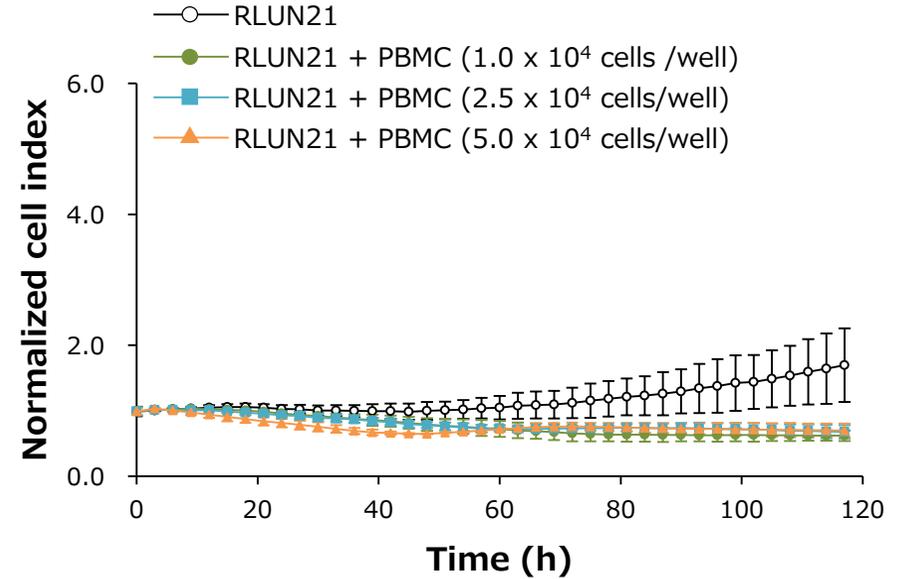
## RLUN16

細胞死誘導 “あり”



## RLUN21

細胞死誘導 “なし”



# F-PDOを用いた アッセイの今後の展開

# ヤマハ発動機 CELL HANDLER

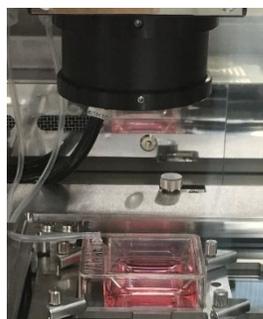


## 細胞ピッキング & イメージングシステム

培養細胞塊を**ダメージレス & 高精度**にピッキング・分注が可能

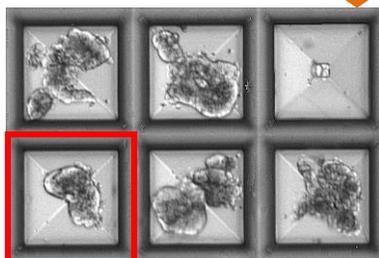
チャンバー

ターゲットプレート



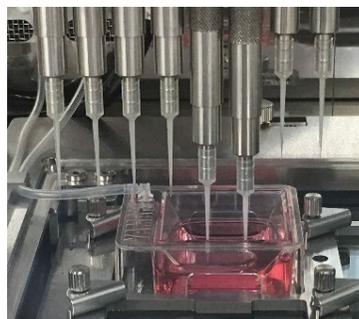
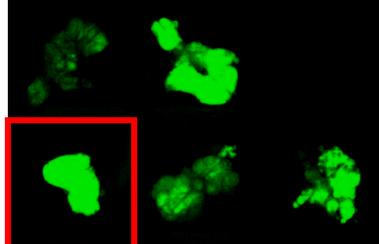
チャンバー内の細胞  
画像を表示

細胞をスキャン



**明視野画像** → 細胞の面積を算出し、  
指定した範囲の細胞を自動  
で選択できる

**蛍光画像** → 細胞の蛍光強度を算出し、  
分注する細胞を選択できる

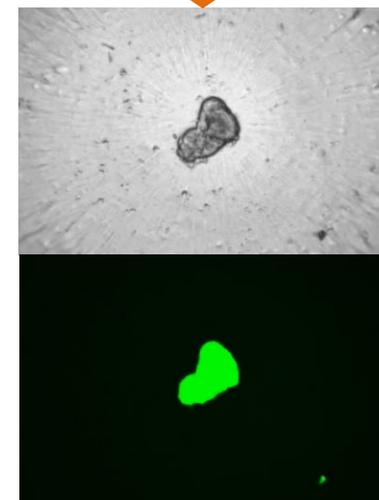


細胞をピッキング  
分注する細胞の選択



ウェル内の細胞  
画像を表示

細胞を分注



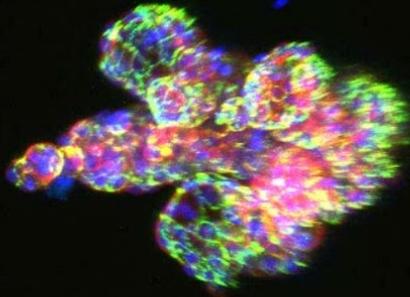
**明視野  
画像**

**蛍光画像**

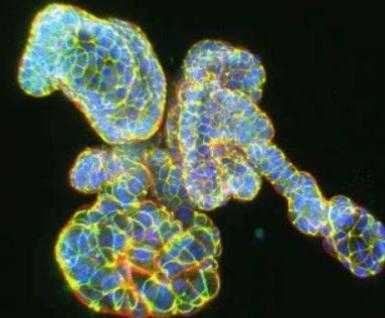
# オリンパス NoviSightを用いた形態的解析

形態情報として、細胞数、ボリューム、管腔の占める割合、蛍光強度の解析

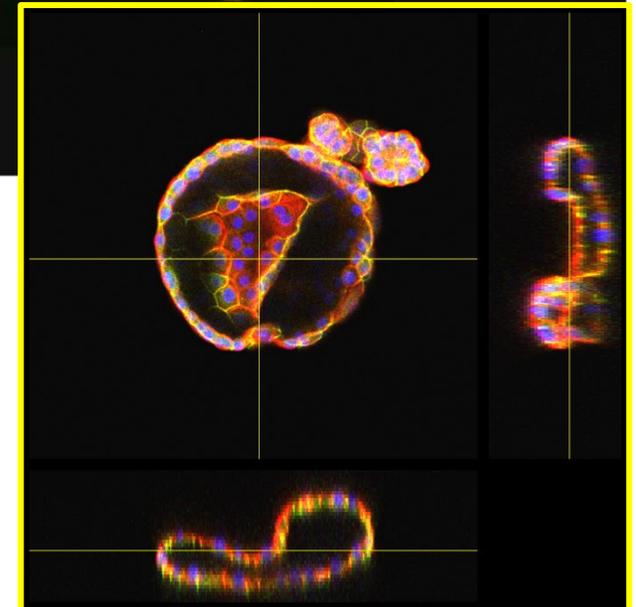
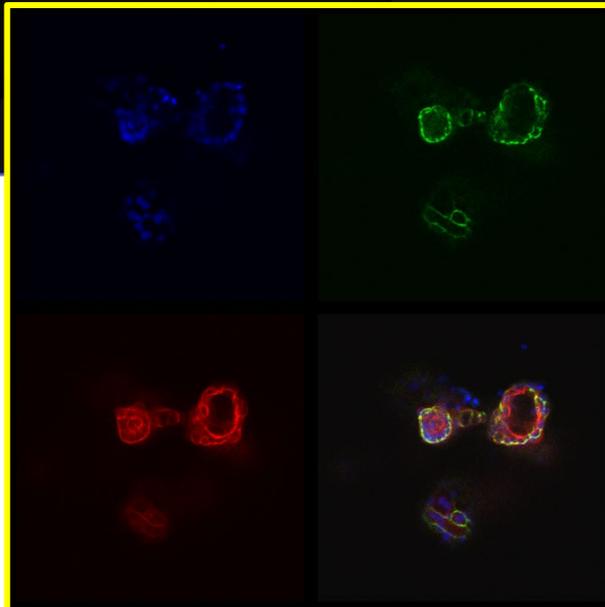
RLUN14: 上皮内腺がん、  
細気管支肺胞上皮がん



RLUN20



DAPI  
actin  
zo-1



# 個別化医療に対応した抗がん剤評価ツールの開発

## <抗がん剤治療を取り巻く状況>

- ゲノム情報に基づく個別化医療の発展
- 遺伝子変異に基づく抗がん剤 (分子標的薬)の開発

## 希少変異が標的となる

- ALK融合遺伝子 (非小細胞肺癌患者の3-5%)
- ROS1融合遺伝子 (非小細胞肺癌患者の1-2%)
- IDH変異      ● HER2変異      ● EGFR二次変異

標的遺伝子変異を有するがん細胞評価モデル (e.g. PDO, PDX, がん細胞) は限定されている

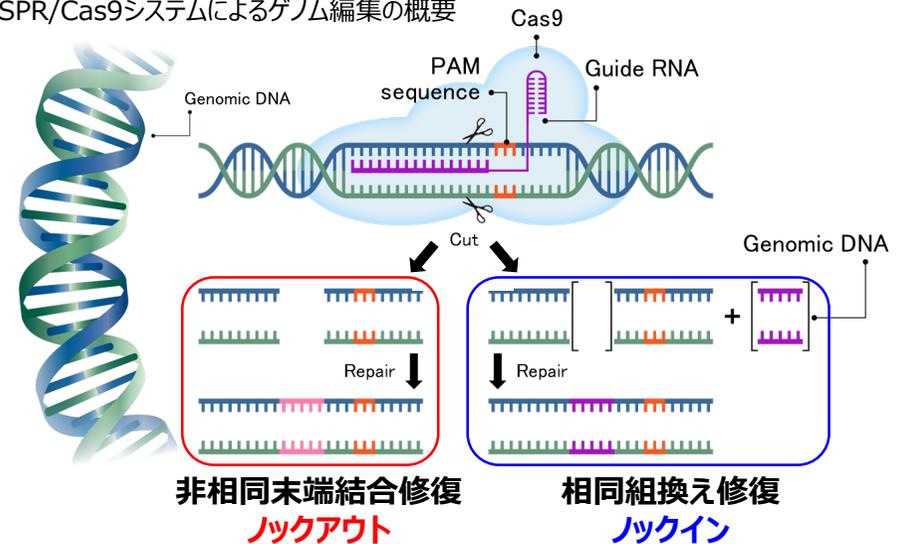
標的遺伝子変異に対する分子標的薬の  
**細胞レベルでの評価が不可能**

## ゲノム編集技術によるF-PDOの改変

F-PDO: がん組織の状態を維持している培養細胞

分子標的薬の標的となる変異を人工的に導入し (あるいは変異を正常に戻し)、ニーズに合ったがん細胞モデルを創出する

CRISPR/Cas9システムによるゲノム編集の概要



解決手段

優位点

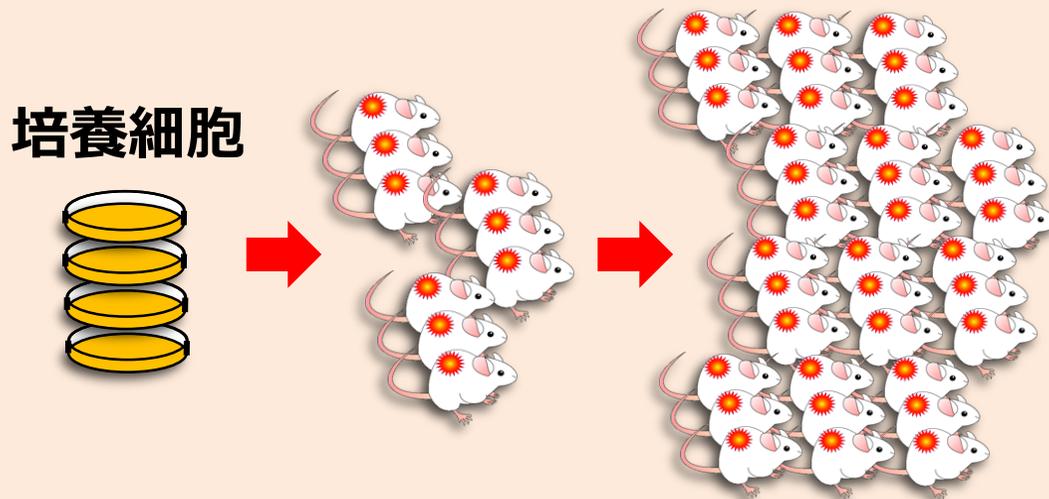
- ◆ ゲノム配列データ/遺伝子発現データが取得済みなので変異導入による影響を評価可能
- ◆ Xenograftモデル評価への展開も可能

# F-PDOを用いたPDXモデル

臨床組織を用いたPDXモデルの場合



F-PDOを用いたPDXモデルの場合



【 F-PDO 】

- がん組織の性質に近い
- ◎ すぐに大量供給が可能
- ◎ がん細胞が占める

F-PDOはPDXモデルの作製可能

# F-PDOを用いた受託研究の要望

---

- 抗がん剤が効果なかった患者の細胞が欲しい
- ターゲットの遺伝子の発現が確認できており、かつ、抗がん剤が効かない細胞
- 元の病理組織が欲しい
- 患者背景データ(組織型、ステージ、治療歴)が欲しい
- 細胞を購入したい
- 細胞を移植した担がんマウスで評価をしたい

**対応不可能な要望もあるが、できる限り対応**