

令和 3年 2月 24日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 202080181

氏名 渡辺 隆太

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

- 1 派遣先: 都市名 シアトル (国名 米国)
- 2 研究課題名 (和文) : SPOP変異が引き起こす前立腺癌の新規発癌機構の解明
- 3 派遣期間: 令和 2年 7月 7日 ~ 令和 2年 10月 21日 (106日間)
- 4 受入機関名・部局名: Fred Hutchinson Cancer Research Center, Peter Nelson lab
- 5 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

#### ① Single cell RNA-seqによる前立腺癌の神経内分泌腫瘍分化機構の解明

前立腺癌は患者間・組織内のheterogeneityが特徴とされ、従来のbulk genome法ではその複雑性・不均質性を、十分に解明できなかつた。Single Cell RNA-seq法では個々の細胞のゲノム情報を次世代シーケンスで解析し、分化・増殖および腫瘍形成の過程における細胞機能/多様性を明らかにできる。私は当研究室でのSingle Cell RNAseq/ATACseqの確立を任された。まずは細胞株、各種PDX腫瘍を使用した。実験で最も重要なステップは1細胞を十分にseparateする過程であった。前立腺癌PDX腫瘍のSingle cell化は過去に報告が無かつたが、2021年8月にNatureにpublishされた報告を参照し、同methodで効率的なSingle Cell化に成功した。10x genomics systemのトレーニングを受け、10月末にサンプルのSingle cell RNAseqを実施予定であったが、家族の健康上の理由で緊急帰国することとなつたため実現できなかつた。

#### ② 前立腺癌PDX tumor LUCaP 189.4の特性解析

LUCaP 189.4はUniversity of Washingtonで樹立された前立腺癌患者の肋骨転移由来のPDX tumorである。PDX 腫瘍は、生化学的シグナル・遺伝子変異・薬剤への反応といった腫瘍の特性を維持していることから、新しく樹立されたPDX腫瘍の特性を解析し理解することは、PDX腫瘍を用いた実験を開始する上で極めて重要である。特に、前立腺癌においては、腫瘍のAR感受性と神経内分泌特性 (NE differentiation) を把握し、実験に利用する必要がある。LNCaPをポジティブコントロール、H660をネガティブコントロールとしたWb、RT-PCRにより、LUCaP 189.4はARのマーカー (AR, NKX3.1, KLK3, TMPRESS2)の発現が高く、NEマーカー (Synaptophysin, CHGA, L1CAM, ASCL1)の発現が低い、AR感

受性の腫瘍であることが分かった。また、LUCaP 189.4はR1881添加がない状況では増殖が困難であり、アンドロゲン刺激に高度依存性の腫瘍であった。アンドロゲン刺激下に、エンザルタミド・カルボプラチン・ドセタキセルを投与したところ、細胞増殖抑制効果を認め、薬剤感受性があった。

## 6 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

Single Cell RNAseqに関しては、今回残念ながらsequence前に緊急帰国を余儀なくされてしまった。再渡米後に10x genomics sequenceを早急に行い、解析を行う必要がある。目的は、Single Cellレベルで遺伝子変異を解析することにより、AR前立腺癌からNE前立腺癌に分化する遺伝的機序を解明することにある。ドライバー変異を検索し、標的を絞った治療薬を導出することができると考えている。

再渡米までの日本滞在中の期間を利用して、日本人における前立腺癌の遺伝子異常の解析を進める予定である。近年日本でも前立腺癌の罹患率は上昇傾向であるが、死亡率は欧米ほど高くはなく、抗アンドロゲン剤の感受性が高いと言われている。欧米人と日本人での前立腺癌の悪性度や薬剤感受性の差異に関して遺伝子変異の観点から研究を進めて行く予定である。

特に我々はSPOP遺伝子に注目している。SPOP遺伝子は前立腺癌組織の全ゲノムシーケンスの結果、10-15%と最も多く変異の検出された遺伝子として知られている。SPOP蛋白はCUL3ユビキチン(Ub)リガーゼの一つで、ARに代表される基質をUb化し分解制御する機能を有しているが、変異により標的とする基質との結合に影響が及ぶとされている。これまでに、SPOP変異のある転移性去勢抵抗性前立腺癌においてARを標的とした薬剤のアピラテロンが長期奏功した報告を始めとしたSPOP変異と治療に関連した報告が散見されるようになり、その臨床的意義につき注目が集まっている。我々は愛媛大学生化学分子遺伝学教室との共同研究で、様々なSPOP変異のうちある特定の変異は顕著にAR結合能が低いことを基礎レベルで証明しており、SPOPの変異部位がAR制御に影響を与える可能性があると考えている。そこで我々は、日本人のSPOP変異前立腺癌の患者背景・腫瘍の特性・治療効果を後方視的に解析し、SPOP 変異の臨床的意義を明らかにしていく。これらの研究は、Nelson labとの共同研究として進める予定である。今後もNelson labのzoom meetingに参加し、関係を継続していく。

## 7 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムに採用いただき、前立腺癌研究の世界トップレベルのラボに派遣させていただいたことにより、研究で何を明らかにしようとし、いかに臨床に繋げようとしているのかといった、まさにトランスレーショナルリサーチの最先端を経験することができた。特に、膨大な患者サンプル、PDX、細胞株を使用し、網羅的に遺伝子異常を検索し、統計学的手法を用いてドライバー遺伝子変異を見出していくという手法は、日本では簡単には実施できないものである。規格外の資金・人材、そして自由な研究風土の整った国柄、Fred Hutchinson Cancer Research Centerという歴史と使命感を担った施設が可能にしていると思った。

人との出会い・繋がりもできた。Nelson labのスタッフはみな親切で、新人の私にも丁寧に指導していただき、歓迎していただいた。Lab外でも、Single Cell RNAseqに熟練した他labのスタッフから指導を頂いたり、知らない研究者にも積極的に連絡をとり分からないことを教えあったりと、助け合うラボ文化を経験できた。また、シアトル在住の日本人研究者のコミュニティが希薄であると感じたため、Fred HutchやUniversity of Washingtonの研究者有志4名で、シアトル日本人研究者の会を発足し、情報交換を円滑にする場を設けたり、1か月に1回の研究発表zoom meetingを企画・実行したりした。そこで出会った研究者は将来日本の未来を背負う気概にあふれており、大変刺激になった。今後も連絡を取り合っていきたい。

若いポストドクが7名、大学院生が1名おり、よき仲間であり、よきライバルだった。アメリカ・アイルランド・インド・中国と各国から集まった優秀な仲間と情報を共有でき、異文化を理解できた。

コロナウイルス感染拡大の影響で、通常通りの研究はできない状況でありながら、感染対策を徹底し、webを活用し、工夫して研究を継続していた。Dr. Nelsonは「サイエンスを止めてはならない」と言われていた。最先端の研究者のスピリットを忘れずに、今後も研究にまい進したい。