

医学奨励賞 2022 –がん領域–

研究成果報告書（追加助成）＜概要＞

現 所 属	国立がん研究センター 研究所 病態情報学ユニット
氏 名	山本 雄介
研究テーマ	非浸潤性乳管癌の不均一性を解明するためのシングルセル空間トランスクリプトーム解析
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 (図表、写真等の貼付を含む) 	
<p>本研究開発の目的は、シングルセル RNA シーケンシング (scRNA-seq) および空間トランスクリプトーム解析を用いることで、早期の乳がんである非浸潤性乳管がん (DCIS) の本態解明を行うことである。DCIS は非浸潤性のいわゆるステージ 0 の乳がんであり、進行することで浸潤性乳管がん (IDC) に変化する可能性がある。ところが、その進行する割合は約 40%に過ぎず、過剰治療が懸念されており、進行メカニズムの解明が求められている。そこで、scRNA-seq データの比較解析を実施することで、浸潤性乳管がん (IDC) への進行に関与する遺伝子を特定することを目的とする。また、scRNA-seq および空間トランスクリプトーム解析を用いることで、HER2 陽性の乳がんの患者間の多様性や特殊型の乳がんである小葉がんの組織内に不均一性についても合わせて解析を実施した。</p> <p>患者から採取した 14 症例の DCIS サンプルを使用し、scRNA-seq を実施した。さらに、2 症例の DCIS の凍結組織と 8 症例の小葉がんの FFPE 検体を用いて、空間トランスクリプトーム解析を実施した。遺伝子発現データもとに、上皮細胞、間質細胞、内皮細胞、免疫細胞などに分類し解析を進めた。特に上皮細胞に焦点を当てた解析を行うために、ルミナル型上皮細胞のデータを抽出し、細胞間の多様性を精査した。</p> <p>DCIS と IDC の上皮細胞の比較解析によってがんの進展に基づいて発現上昇する遺伝子群を同定し、乳がん細胞株を用いた解析からの増殖に関連する遺伝子 (RPL17 など) が同定した。また、DCIS と IDC のがん細胞は免疫細胞と同程度に相互作用していることがリガンドと受容体のペア解析から推測された。さらに、VARIED 法を使用して、同一細胞集団内の遺伝子発現のばらつきを可視化した。これにより、DCIS におけるがん細胞の遺伝子発現の不均一性が IDC に比べて高いことが確認された。この結果は、がんの進行過程における不均一性進化モデルを支持するものであり、今後の治療において重要な知見になると考えている。</p> <p>また、公共データベースから取得した scRNA-seq を統合することで、HER2 陽性乳がんの不均一性に関する解析を実施した。HER2 発現の有無に関わらず、遺伝子発現の多様性が見られた。さらに、浸潤性小葉がんに関しては、空間遺伝子発現解析を行い、組織学的サブタイプや細胞の多様性が明らかにした。今後の浸潤性小葉がんの理解や治療戦略に貢献する可能性がある。</p> <p>本研究成果によって、DCIS, HER2 陽性, 小葉がんを含む乳がん組織の不均一性の理解が進んだ。今後は、公共データベースに保管されている乳がん scRNA-seq データを用いることで大規模なデータセットを構築し、個別化医療を目指した乳がんの治療戦略の改善に繋がる研究を進める。</p>	

医学奨励賞 2022 – がん領域 –

研究成果報告書（追加助成）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	国立がん研究センター 研究所 病態情報学ユニット
氏 名	山本 雄介
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 論文の PDF を添付すること。 ● 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こと。 なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に下線を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めない。 	
1	Nakamichi K, Suzuki H, <u>Yamamoto Y</u> , Semba K, Nakayama J. Nuclear Receptor Profiling for Subtype Classification and as Prognostic Markers in 33 Cancer Types. <i>Discovery Oncology</i> , in press (2024).
2	Yamamoto T, Urabe F, Yoshioka Y, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> , Ochiya T. Protocol for extracellular vesicle secretion-related gene screening via ExoScreen method. <i>STAR Protocols</i> , in press (2024).
3	Suzuki K, Yokoi A, Matsuzaki J, Yoshida K, <u>Yamamoto Y</u> , Kato T, Ishikawa M, Ochiya T, Kajiyama H. Circulating serum miRNAs predict response to platinum chemotherapy in high-grade serous ovarian cancer. <i>Cancer Med</i> , in press (2024)
4	Shibata M, Yoshida K, Yokoi A, Suzuki H, <u>Yamamoto Y</u> , Kitagawa M, Asano-Inami E, Yasui Y, Nishiko Y, Yoshihara M, Tamauchi S, Yoshikawa N, Nishino K, Yamamoto E, Niimi K, Kajiyama H. Elucidation of the role of XBP1 in the progression of complete hydatidiform mole to invasive mole through RNA-seq. <i>Gynecologic Oncology</i> , in press (2024)
5	Yamamoto T, Nakayama J, Urabe F, Ito K, Nishida-Aoki N, Kitagawa M, Yokoi A, Kuroda M, Hattori Y, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> , Ochiya. Aberrant regulation of serine metabolism drives extracellular vesicle release and cancer progression. <i>Cell Reports</i> , 43(8):114517. (2024)
6	Prieto-Vila M, Yoshioka Y, Kuriyama N, Okamura A, <u>Yamamoto Y</u> , Muranaka A, Ochiya T. Adult cardiomyocytes-derived EVs for the treatment of cardiac fibrosis. <i>Journal of Extracellular Vesicles</i> , 13(7):e12461. (2024)
7	Uehara T, Matsuzaki J, Yoshida H, Ogawa Y, Miura J, Fujimiya H, <u>Yamamoto Y</u> , Kawauchi J, Takizawa S, Yonemori K, Sakamoto H, Kato K, Ishikawa M, Ochiya T. Potential utility of pretreatment serum miRNAs for optimal treatment selection in advanced high-grade serous ovarian cancer. <i>Jpn J Clin Oncol</i> , 54(8):917-925. (2024).
8	Nagao Y, Yokoi A, Yoshida K, Kitagawa M, Asano-Inami E, Kato T, Ishikawa M, <u>Yamamoto Y</u> , Kajiyama H. Uterine leiomyosarcoma cell derived extracellular vesicles induces the formation of inflammatory tumor microenvironment. <i>BBA - Molecular Basis of Disease</i> , 1870(4):167103. (2024)
9	Kuroiwa Y, Ito K, Nakayama J, Semba K, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Analysis of the responsiveness to antiandrogens in multiple breast cancer cell lines. <i>Genes to Cells</i> , 29(4):301-315. (2024)
10	Nakamichi K, <u>Yamamoto Y</u> , Semba K, Nakayama J. Metastatic potentials classified with hypoxia-inducible factor 1 downstream genes in pan-cancer cell lines. <i>Genes to Cells</i> , 29(2):169-177. (2024)

11	Yamaguchi K, Nakayama J, Yamamoto T, Semba K, Shiota T, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Collagen induction of immune cells in the mammary glands during pregnancy. <i>Physiological Genomics</i> , 56(2):128-135. (2023)
12	Nakayama J and <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Cancer-prone Phenotypes and Gene Expression Heterogeneity at Single-cell Resolution in Cigarette-smoking Lungs. <i>Cancer Research Communications</i> , 3(11):2280-2291. (2023)
13	Yokoi A, Yoshida K, Koga H, Kitagawa M, Nagao Y, Iida M, Kawaguchi S, Zhang M, Nakayama J, <u>Yamamoto Y</u> , Baba Y, Kajiyama H, Yasui T. Spatial exosome analyses using cellulose nanofiber sheets reveal the location heterogeneity of extracellular vesicles. <i>Nature Communications</i> , 14(1):6915. (2023)
14	Suzuki H, Yokoi A, Uno K, Yoshida K, Kitagawa M, Asano-Inami E, Matsuo S, Nagao Y, Suzuki K, Nakamura K, Yoshihara M, Tamauchi S, Shimizu Y, Ikeda Y, Yoshikawa N, Kajiyama H, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Small Extracellular Vesicles from Adipose-Derived Stem Cells Suppress Cell Proliferation by Delivering the Let-7 Family of MicroRNAs in Ovarian Cancer. <i>BBRC</i> , 680:211-219. (2023)
15	Shiino S, Tokura M, Nakayama J, Yoshida M, Takayama S, Suto A, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Investigation of tumor heterogeneity using integrated single-cell RNA sequence analysis to focus on genes related to breast cancer-, EMT-, CSC-, and metastasis-related markers in patients with HER2-positive breast cancer. <i>Cells</i> , 12(18):2286. (2023)
16	Yokoi A, Ukai M, Yasui T, Inokuma Y, Kim HD, Matsuzaki J, Yoshida K, Kitagawa M, Chattrairat K, Iida M, Shimada T, Manabe Y, Chang IY, Asano-Inami E, Koya Y, Nawa A, Nakamura K, Kiyono T, Kato T, Hirakawa A, Yoshioka Y, Ochiya T, Hasegawa T, Baba Y, <u>Yamamoto Y</u> , Kajiyama H. Identifying high-grade serous ovarian carcinoma-specific extracellular vesicles by polyketone-coated nanowires. <i>Science Advances</i> , 9(27):eade6958. (2023)
17	Ito K, Yamamoto T, Hayashi Y, Sato S, Nakayama J, Urabe F, Shimasaki T, Nakamura E, Matui Y, Fujimoto H, Kimura T, Egawa S, Ochiya T, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Osteoblast-derived extracellular vesicles exert osteoblastic and tumor-suppressive functions via SERPINA3 and LCN2 in prostate cancer. <i>Molecular Oncology</i> , 17(10):2147-2167. (2023)
18	Chang X, Tamauchi S, Yoshida K, Yoshihara M, Yokoi A, Shimizu Y, Ikeda Y, Yoshikawa N, Kiyono T, <u>Yamamoto Y</u> , Kajiyama H. Downregulating vaccinia-related kinase 1 by luteolin suppresses ovarian cell proliferation by activating the p53 signaling pathway. <i>Gynecological Oncology</i> , 173:31-40. (2023)
19	Hayashi Y, Jun Nakayama, Yamamoto M, Watanabe S, Inoue JI, <u>Yamamoto Y</u> , Semba K. Aberrant accumulation of NIK promotes tumor growth by dysregulating translation and post-translational modifications in breast cancer. <i>Cancer Cell International</i> , 23(1):57. (2023)
20	Urabe F, Kosaka N, <u>Yamamoto Y</u> , Ito K, Otsuka K, Soekmadji C, Kimura T, Egawa S, & Ochiya T. Metastatic prostate cancer-derived extracellular vesicles facilitate osteoclastogenesis by transferring the CDCP1 protein. <i>Journal of Extracellular Vesicles</i> . 12(3):e12312. (2023)
21	Nagao Y, Yokoi A, Yoshida K, Sugiyama M, Watanabe E, Nakamura K, Kitagawa M, Asano-Inami E, Koya Y, Yoshihara M, Tamauchi S, Shimizu Y, Ikeda Y, Yoshikawa N, Kato T, <u>Yamamoto Y</u> , Kajiyama H. Novel therapeutic strategies targeting UCP2 in uterine leiomyosarcoma. <i>Pharmacological Research</i> , 189:106693. (2023)
22	Yoshida K, Yokoi A, Kitagawa M, Sugiyama M, Yamamoto T, Nakayama J, Yoshida H, Kato T, Kajiyama H, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Downregulation of miR-10b-5p facilitates the proliferation of uterine leiomyosarcoma cells: A microRNA sequencing-based approach. <i>Oncology Reports</i> , 49(5):86. (2023)

様式 4-3②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。 ● アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。 ● 国内外を問わない。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 平野 悠太, 鈴木 公基, 中山 淳, 山元 智史, 荒屋 潤, 藤田 雄, 山本 雄介, シングルセルメタ解析によって明らかとなった肺腺癌と肺扁平上皮癌における繊維芽細胞の特性
2	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 中山 淳, 都倉 桃子, 山本 雄介, 浸潤性小葉がんにおける空間遺伝子発現と細胞特性の解明
3	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 鈴木 公基, 吉田 康将, 平野 悠太, 横井 暁, 梶山 広明, 山本 雄介, 高悪性度漿液性卵巣癌における PARP 阻害薬耐性メカニズム解明のための空間トランスクリプトミクスと全エクソームシーケンス
4	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 鈴木 一弘, 横井 暁, 吉田 康将, 北川 雅美, 長尾 有佳里, 北井 美穂, 須藤 保, 山本 雄介, 梶山 広明, 卵巣癌プラチナ抵抗性の克服に向けた細胞外小胞関連 JAK/STAT 経路解析
5	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 植草 良輔, 横井 暁, 北川 雅美, 吉田 康将, 松崎 潤太郎, 山本 雄介, 梶山 広明, 高異型度漿液性卵巣癌における細胞外小胞関連 DNA を用いた新たな臨床有用性の検討
6	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 中道 和也, 鈴木 公基, 中山 淳, 山本 雄介, 仙波 憲太郎, 核内受容体発現プロファイルによる診断マーカーおよび治療標的の探索
7	2024年9月	第83回日本癌学会学術総会, 大嶋 一輝, 松崎 潤太郎, 中山 淳, 山本 雄介, 津川 仁, 加藤 健, 落谷 孝広, 齋藤 義正, 血中に存在する細菌由来 RNA の肝臓がん発がんに対する影響の解明
8	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 鈴木 一弘, 横井 暁, 吉田 康将, 稲見 恵理, 北川 雅美, 山本 雄介, 北井 美穂, 植野 さやか, 須藤 保, 梶山 広明, プラチナ抵抗性卵巣癌克服に向けた細胞外小胞関連 JAK/STAT 経路解析
9	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 占部 文彦, 木村 高弘, 山本 雄介, 落谷 孝広, 遺伝子スクリーニングを用いた前立腺癌におけるエクソーム治療の開発
10	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 山口 かれん, 山元 智史, 中山 淳, 山本 雄介, 培地組成に依存した代謝変化による口腔扁平上皮癌細胞の薬剤応答性の検討

11	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 横井 暁, 鶴飼 真由, 安井 隆雄, 北川 雅美, 吉田 康将, 稲見 恵理, 石川 光也, 加藤 友康, 松崎 潤太郎, 山本 雄介, 梶山 広明, 高異型度漿液性卵巣癌特異的エクソソーム膜タンパク質同定を目指した包括的プロテオーム解析
12	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 山元 智史, 中山 淳, 山本 雄介, 落谷 孝広, PSAT1 の発現亢進による細胞外小胞を介したがん転移促進機構
13	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 中山 淳, 都倉 桃子, 山本 雄介, 浸潤性小葉がんの空間トランスクリプトーム解析
14	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 鈴木 公基, 横井 暁, 宇野 枢, 吉田 康将, 稲見 恵理, 北川 雅美, 鈴木 一弘, 長尾 有佳里, 山本 雄介, 梶山 広明, 卵巣癌における新規治療法としての脂肪由来間葉系幹細胞エクソソームの可能性
15	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 長尾 有佳里, 横井 暁, 吉田 康将, 杉山 麻衣, 渡邊 絵里, 北川 雅美, 吉原 雅人, 玉内 学志, 加藤 友康, 石川 光也, 山本 雄介, 梶山 広明, 子宮平滑筋肉腫におけるUCP2 を標的とした新規治療戦略
16	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 吉田 康将, 横井 暁, 常 続博雅, 玉内 学志, 北川 雅美, 稲見 恵理, 中山 淳, 加藤 友康, 山本 雄介, 梶山 広明, 空間的トランスクリプトーム解析を用いた卵巣成熟奇形腫の悪性転化に関わる機序の解明
17	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 平野 悠太, 中山 淳, 山元 智史, 藤田 雄, 荒屋 潤, 山本 雄介, 肺腺癌と肺扁平上皮癌における繊維芽細胞の特性
18	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 大嶋 一輝, 松崎 潤太郎, 中山 淳, 津川 仁, 山本 雄介, 加藤 健, 落谷 孝広, 齋藤 義正, 血中における細菌由来 RNA の検出と肝がん診断への応用
19	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 中道 和也, 中山 淳, 山本 雄介, 仙波 憲太郎, 核内受容体に着目したがん種横断的再分類
20	2023年9月	第82回日本癌学会学術総会, 植草 良輔, 横井 暁, 北川 雅美, 吉田 康将, 松崎 潤太郎, 山本 雄介, 梶山 広明, 高異型度漿液性卵巣癌における PARP 阻害薬治療の効果予測としての細胞外小胞中 DNA 解析

3. 投稿、発表予定 (投稿中の論文も含める)

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿中	Watanabe N, Yoshida M, Hirano Y, Fujimoto S, Matsubayashi S, Ishiguro T, Takahashi N, Shimizu Y, Takayanagi N, Kawabata Y, Mori Y, Okamoto K, Minagawa S, Kuwano K, Araya J, Yamamoto Y (corresponding author) , Fujita Y. Integrated Spatial and Single-Cell Transcriptomics Reveal PAK kinase as a Therapeutic Target in Fibroblastic Foci and Dense Fibrosis of IPF. <i>European Respiratory Journal</i> . <i>In revision</i> .

2	投稿中	Yoshida K, Yokoi A, Suzuki H, Tamauchi S, Kitagawa M, Inami E, Nakayama J, Mori Y, Okamoto K, Suzuki Y, Yoshida H, Kato T, Kajiyama H, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Single-nucleus RNA sequencing and spatial transcriptomics for squamous cell carcinoma arising from ovarian mature teratoma. <i>Cancer Science. Submitted.</i>
3	投稿中	Suzuki H, Yoshida K, Yokoi A, Suzuki K, Kitagawa M, Asano-Inami E, Hirano Y, Kajiyama H, <u>Yamamoto Y (corresponding author)</u> . Spatial transcriptomic profiling to elucidate drug resistance via intercellular crosstalk in high grade serous ovarian cancer. <i>Science Advances. Submitted.</i>