

# 第 22 回群馬大学バイオフィォーラム

# BIO GUNMA 2019

日 時：2019年6月14日(金)  
 場 所：群馬大学医学部 刀城会館  
 内 容：ライフサイエンス研究に関するセミナー・製品展示会・創薬相談会  
 主 催：NPO 法人バイオフィォーラム  
 共 催：群馬大学研究・産学連携推進機構  
 群馬大学大学院医学系研究科附属教育研究支援センター  
 後 援：群馬大学重粒子線医学研究センター

## ～プログラム～

10:30	開会式 <b>11:00～ 展示ブース・純水装置相談会 OPEN</b> ※スタンプラリー開催 景品、ノベルティ(数に限りがございます)	NPO 法人バイオフィォーラム 理事長 白尾 智明
11:00 ～ 11:50	第1講演 「群馬大学からのシーズプレゼンテーション」 1. エピゲノム編集とエピゲノム疾患治療 2. HSP27の拮抗分子：FAM83Gをベースにしたペプチド創薬 3. 統合失調症モデル動物としてのGAD67ノックアウトラット	群馬大学生体調節研究所ゲノム科学リソース 畑田 出穂 教授 群馬大学大学院医学系研究科内分泌代謝内科 科学 <sup>1</sup> 、医学部附属病院内分泌糖尿病内科 <sup>2</sup> 岡田 純一 医員 <sup>1</sup> 、岡田 秀一 講師 <sup>2</sup> 、 山田 正信 教授 <sup>1,2</sup> 群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学 藤原 和之 助教、柳川 右千夫 教授 座長：白尾 智明 群馬大学大学院医学系研究科神経薬理学 副学長・教授
12:00 ～ 12:55	第2講演 アミノインデックス技術の臨床応用 アミノインデックス生活習慣病リスクスクリーニング ランチョンセミナーⅠ	足利大学 看護学部 学部長 山門 實 座長：小濱 一弘 群馬大学名誉教授
13:00 ～ 13:55	第3講演 「製薬企業からの公募プログラム・AMED支援事業 プレゼンテーション」 オープンイノベーション活動の一つとして公募プログラムを 展開されている製薬企業5社をお招きして、各社のプログラ ム概要と募集する創薬アイデアをご紹介します。また、 AMED DISCについて、事業内容をご紹介します。 ランチョンセミナーⅡ	EAファーマ株式会社 坂 泰宏 第一三共株式会社 遠藤 淳 武田薬品工業株式会社 中西 和子 持田製薬株式会社 荒木 康子 AMED DISC ユニット 今井 英美 座長：早川 晃一 群馬大学 研究・産学連携推進機構
14:00 ～ 14:55	第4講演 腫瘍免疫研究における次世代シーケンサを活用した 免疫多様性解析の活用	Repertoire Genesis 株式会社 松谷 隆治 座長：半田 寛 群馬大学大学院医学系研究科 内科学講座血液内科学分野 准教授
15:00 ～ 15:55	第5講演 高感度 in situ ハイブリダイゼーションを、 多様なアプリケーションでーがん研究を中心にー	Advanced Cell Diagnostics 社 小松 勇介 座長：横堀 武彦 群馬大学未来先端研究機構 准教授
16:30	閉会式 <b>16:20 展示ブース・純水装置相談会 CLOSE</b>	NPO 法人バイオフィォーラム 理事長 白尾 智明

お問合せ先 NPO 法人バイオフィォーラム 事務局担当：渡邊 内線：8052 E-mail：[Secretary@bioforum.or.jp](mailto:Secretary@bioforum.or.jp)


**【群馬大学からのシーズプレゼンテーション】**

<p>生体調節研究所ゲノム科学 リソース 畑田出穂 教授</p>	<p>ゲノム編集で用いられる Cas9 の切断活性欠変異体 dCas9 と脱メチル化酵素（メチル化酵素）、Suntag を組み合わせることにより効率のかつ特異的に標的遺伝子のメチル化を操作する技術を開発した。この技術を活用したエピゲノム疾患治療について概説する（特許第 6500293 号）。</p>
<p>大学院医学系研究科内分泌 代謝内科学<sup>1</sup>、附属病院内分 泌糖尿病内科<sup>2</sup> 岡田純一 医員<sup>1</sup>、岡田秀一 講師<sup>2</sup>、 山田正信 教授<sup>1,2</sup></p>	<p>FAM83G 及びその部分ペプチドは、細胞内の HSP27 のリン酸化を阻害することにより薬剤耐性を抑制して、細胞のアポトーシスを誘導を活性化させる。そのペプチドは癌細胞移植マウスの腫瘍サイズを有意に縮小した。本発表では、FAM83G をベースにしたペプチド創薬について概説する（特許第 6378972 号）。</p>
<p>大学院医学系研究科遺伝発 達行動学 藤原和之 助教、 柳川右千夫 教授</p>	<p>統合失調症は頻度の高い精神疾患であるが、その病態は不明な点が多い。しかし、死後脳で GABA 合成酵素(GAD67)の発現低下が見出されたことから、GABA 神経系の機能障害に注目が集まっている。本発表では、我々が開発した GAD67 ノックアウトラットが統合失調症モデル動物となり得るか否かについて議論する。</p>

**【足利大学 看護学部 学部長 山門 寛】**

**【アミノインデックス技術の臨床応用：アミノインデックス生活習慣病リスクスクリーニング】**

※ランチョンセミナーになります。お弁当の数に限りがございます。

	<p>アミノインデックス技術は血漿中遊離アミノ酸濃度の変動解析により健常者と特定の疾患を保有するリスクを評価する新規的な臨床検査である。現在、肺がん、胃がん、大腸がん、膵臓がん、前立腺がん、乳がん、子宮・卵巣がんのリスクスクリーニングとしてアミノインデックスがんリスクスクリーニング (AICS) が実臨床で活用されているが、今回は、その他の生活習慣病についてのアミノインデックス生活習慣病リスクスクリーニング (AILS) について概説する。</p>
---	--


**【製薬企業からの公募プログラム・AMED 支援事業プレゼンテーション】**

※ランチョンセミナーになります。お弁当の数に限りがございます。

製薬企業	公募・支援プログラム名称 2019 年度募集時期	重点疾患領域 URL
EA ファーマ株式会社 坂 泰宏	創薬研究パートナー募集 5月7日～7月31日	消化器関連疾患 <a href="http://www.eapharma.co.jp/openinnovation/">http://www.eapharma.co.jp/openinnovation/</a>
第一三共株式会社 遠藤 淳	TaNeDS 7月5日～8月5日	がん、希少疾患、自己免疫疾患、細胞医療分野等 <a href="https://www.daiichisankyo.co.jp/corporate/rd/tanedds/index.html">https://www.daiichisankyo.co.jp/corporate/rd/tanedds/index.html</a>
武田薬品工業株式会社 中西 和子	COCKPI-T Funding 6月3日～7月31日	神経・精神疾患、消化器疾患、免疫研究（中枢・がん）、再生医療研究等 <a href="https://www.takeda.com/jp/cockpi-t/">https://www.takeda.com/jp/cockpi-t/</a>
持田製薬株式会社 荒木 康子	MOIRe（モアレ） 4月1日～6月30日	産婦人科領域、皮膚科領域、消化器領域、難病希少疾患等 <a href="http://www.mochida.co.jp/company/rd_openinnovation.html">http://www.mochida.co.jp/company/rd_openinnovation.html</a>
AMED DISC ユニット (第一三共 PD / パーレ株式会社) 今井 英美	創薬プースター (DISC 事業) 通年	がん、難病・希少疾患、肝炎、感染症、糖尿病、脳心血管系疾患、精神神経疾患、小児疾患等 <a href="https://www.id3disc.jp/about-disc/">https://www.id3disc.jp/about-disc/</a>

**【Repertoire Genesis 株式会社 松谷 隆治】**

**【腫瘍免疫研究における次世代シーケンサを活用した免疫多様性解析の活用】**

	<p>昨今のがん免疫領域における重要性の高まりと共に弊社が行う TCR/BCR レパトア解析とネオエピトープ解析も需要が高まっており、今回は解析の概要とともに実際の活用例なども交えて紹介させて頂きます。当社では T 細胞や B 細胞の免疫細胞の多様性の変化を観察する TCR/BCR レパトア解析や個別化抗原を探索するネオエピトープ解析を構築しており、疾患に関わる免疫システムの解明やバイオマーカー探索などの一端を紹介させて頂きます。</p>
---	---

**【Advanced Cell Diagnostics 社 小松 勇介】**

**【高感度 in situ ハイブリダイゼーションを、多様なアプリケーションでがん研究を中心に】**

<p>高感度 in situ hybridization システム RNAscope® BaseScope® アッセイ ACD</p>	<p>RNAscope® / BaseScope™ は、FFPE 組織、凍結組織、培養細胞等のサンプル中の mRNA を、独自のプローブ、増感法により検出・視覚化するテクノロジーです。ヒト、マウス、ラットやそれ以外の生物種の mRNA、特異的なエクソン、アイソフォームの検出にご利用いただけます。本セミナーでは、テクノロジーの詳細や実際の染色例などをご紹介します。</p>
---	--

## レパトア解析の利用例

### 腫瘍免疫への利用

免疫系の抗腫瘍効果を治療に利用する免疫チェックポイント阻害薬やがん免疫療法においては、抗腫瘍効果を発揮するエフェクターT細胞を直接検出することが重要です。細胞傷害性Tリンパ球（CTL）アッセイやELISPOT法などで、がん病変部組織で腫瘍浸潤T細胞（TIL）を直接評価することは容易ではありません。次世代TCRレパトア解析により、TILの質的、量的な変化を調べ、免疫チェックポイント阻害薬やがん免疫療法の有効性評価を行なうことができます。

### 白血病や悪性リンパ腫の検出

次世代TCR/BCRレパトア解析は、T細胞またはB細胞のクローナリティーを高感度で測定することができ、白血病や悪性リンパ腫の検出に有用です。従来、サザンブロット法やPCR法でクローナルT細胞やB細胞の検出が行なわれてきました。次世代TCR/BCRレパトア解析では、高感度検出が可能であるとともに、TCRやBCRの塩基配列にもとづいて腫瘍細胞を同定できる利点があります。その特長をいかし、治療後の微小残存病変の検出にも利用できます。治療前に腫瘍細胞のTCRまたはBCRを同定すれば、その塩基配列を使って微小残存病変を高感度に検出することができます。

### 骨髄移植後の免疫多様性回復

次世代TCR/BCRレパトア解析は免疫系の多様性を評価する指標としても有用です。骨髄移植などの移植医療において、移植後の免疫機能の回復が問題になります。移植後の幹細胞から分化したT細胞やB細胞の多様性の回復が、感染症予後にとって重要です。次世代TCR/BCRレパトア解析を用いて、クローンレベルのT細胞やB細胞の多様性を評価することができます。

### 抗原特異的T細胞の探索とトラッキング

特定の抗原で誘導される抗原特異的T細胞を探索することができます。対照試料と比較して、あるいは抗原刺激の前後の試料を解析することで、抗原刺激により変化したT細胞＝抗原特異的T細胞を探索することができます。また、抗原刺激した複数の個体で重複するTCRを探索することでも、抗原特異的T細胞を探索することができます。

### 感染免疫

ウイルス感染前後の試料を解析することで、ウイルス抗原特異的T細胞を同定することができます。抗原特異的T細胞を同定すれば、クローントラッキングすることができます。

### 先端治療への応用

次世代レパトア解析技術を用いて取得されたTCR/BCRの遺伝子情報から、さまざまな治療薬や治療法の開発につなげることができます。

### TCR 遺伝子治療

がんペプチドワクチンやがん抗原で刺激した試料のTCRレパトア解析から、抗原特異的TCRを取得することができます。得られたTCR遺伝子を、既存の遺伝子導入技術を用いて患者リンパ球に導入し、患者体内へ戻すことで効果的なTCR遺伝子治療を行うことができます。

### 抗体医薬の創製

次世代BCRレパトア解析により抗原特異的BCRの全長配列を取得すれば、ハイブリドーマ細胞の取得やスクリーニングを必要とすることなく、直接ヒト型抗体を作成できます。BCRでは遺伝子再構成後に体細胞超突然変異が起こります。そのため、Multiplex PCR法では、プライマーのミスプライミングが起こり、正確な定量解析が困難になります。AL-PCR法により正確なBCRレパトアの解析が可能で、効率的な抗体遺伝子の取得が可能になると期待されます。

### CAR-T療法

近年、抗体の抗原結合領域と、TCRのシグナル伝達領域を結合させたキメラ抗原受容体（Chimeric antigen receptor：CAR）による治療が注目されています。次世代BCRレパトア解析によるがん抗原特異的抗体遺伝子のスクリーニングが進むことで、より効果的な治療用遺伝子を取得することが期待されます。

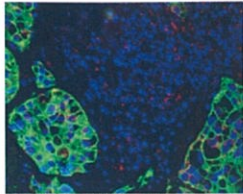
# RNAscope® アプリケーション情報

## ■ RNAscope® と免疫染色との共染色

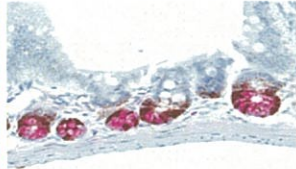
### RNA *in situ* ハイブリダイゼーションと免疫染色を用いたアプリケーション例

分子機構をより深く理解するためには、免疫染色によるタンパク質の局在解析とともに mRNA の局在解析も重要になってきています。免疫染色 (IHC) と RNA *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) は組織の形態を保持しつつターゲット分子を解析できる手法として、よく用いられてきました。多くの研究で、IHC と ISH はそれぞれの染色結果をバリデーション (検証) する方法として、また互いの情報をよりよく理解するために用いられています。

### RNAscope® と IHC との共染色例



RNAscope® : PPIB positive control mRNA - 赤色  
IHC : CAMS2 酸性サイトクラチン - 緑色  
対比染色: DAPI - 青色

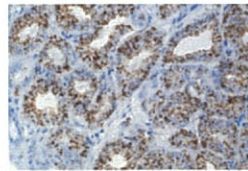


RNAscope® : OLFM4 mRNA - 赤色  
IHC : Lysozyme - 青色

## ■ Long Non-coding RNA - 長鎖非翻訳RNA -

RNACODE プロジェクト (ver.19, July 2013) からの最新の統計によると、ヒトゲノムはタンパク質をコードする遺伝子数 (20,345) を凌ぐ 22,883 の non-coding RNA (ncRNA) を含んでおり、約30% (9,013) が 200 塩基に満たない small ncRNA です。残り約60% (13,870) の ncRNA は long non-coding RNAs (lncRNA) と定義されており、多様なメカニズムにより遺伝子発現の制御やクロマチン修飾、転写や翻訳制御に働いています。

lncRNA の異常調節は、腫瘍化だけでなく、神経疾患や心疾患や他の疾患に関わる事がわかっています。lncRNA は概して coding RNA よりも発現が低いため、より高感度な ISH テクノロジーが必要となります。シングルコピーの検出が可能で簡便・迅速なプロトコールを持つ RNAscope® は、特定の細胞や組織中の lncRNA の検出および局在解析に理想的なアッセイです。



ヒト前立腺がん FFPE 切片上の PCA3 の発現 (茶色)

### ▶ Non-coding RNA 解析詳細&プローブリスト

## ■ Cancer - がん -

がんの存在を示す RNA バイオマーカーは、腫瘍に発現しているか、がんの存在に対する特異的な生体反応により産生される coding もしくは noncoding の RNA です。RNAscope® は下記のような様々な目的で使用しています。保存組織の形態を保持しながらバイオマーカーの可視化を実現した事は、がんのリスク評価、診断、予後、療育解析などに有用です。

### がんの不均一性

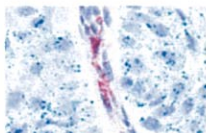
腫瘍内もしくは腫瘍間において、様々な細胞が存在します。組織の形態を保持したまま細胞上のシングルコピーが検出できる RNAscope® の超高感度技術は、形態学的には同様に見える腫瘍細胞中の異なる遺伝子発現を可視化する事が出来ます。

### がんのマクロ環境

腫瘍は様々な種類の細胞により構成されている複雑な組織です。隣接した正常細胞、細胞外基質、ケモカイン・サイトカインや成長因子とのコミュニケーションは、がんの進行や転移に重要な役割を担っています。RNAscope® は複雑な自己分泌/分泌のメカニズムの解明に特に適しています。

### 血中循環腫瘍細胞 (CTC: Circulating Tumor Cells) の検出

RNAscope® の革新的な高特異性のシングル増幅技術は、何百万という血液細胞が存在する中での CTC の検出と特徴付けを同時に可能にしました。



ヒト乳がん FFPE 切片の PECAM1 (赤色) および EGFR (緑色) mRNA の検出

## ■ Stem Cells - 幹細胞 -

近年の幹細胞研究では、細胞がどのように自己複製し特異的な組織へ分化するかや、どのようにリプログラミングされるかについて、*in situ* で様々な新たな発見が生み出されていますが、まだ未解明な部分が多く残っています。

### 幹細胞およびシグナル因子の同定

幹細胞はどこに位置し、分化シグナルはどこから来るのか? 抗体ベースのアプローチでは、分泌タンパク質を検出するには感度が足りません。PCR のような方法ですと感度は良いかもしれませんが、位置情報は失われます。

### *in vivo* での幹細胞の機能

何故幹細胞に異なる細胞系譜が存在しているのか? それらの組織上の機能は何なのか?

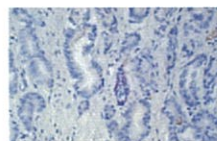
### 幹細胞シグナルのバランス

何が増殖や分化を制御しているのか? 組織上でどのように異なる細胞の運命が決定されるのか?

### 臨床関連 - 疾患と関連した幹細胞

がん幹細胞の様に疾患に特徴的な幹細胞があるのか?

組織の形態を保持しながら高感度検出可能な RNAscope® は、上記を解明する手法として非常に有用で、幹細胞のマーカー分子とシグナル分子など、複数のターゲットを同時に検出できます。



ヒト前立腺 FFPE 切片の TP63 mRNA の検出 (赤色)

