

# ゲノム創薬・創発フォーラム 第15回シンポジウム

## The 15<sup>th</sup> Symposium of Genome Drug Discovery and Emergence Forum

### 「空間オミックス解析の創薬展開」 “Application of spatial omics analysis to drug discovery”

2024年2月28日(水) 13:00 – 18:00

東京大学医科学研究所 1号館 1階講堂

#### 開催趣旨

ゲノム創薬・創発フォーラムはヒトゲノム解明が進みつつあった1998年に発足したゲノム創薬フォーラムに源流をもちます。2013年には創薬だけでなく様々な医療分野への展開を目指したゲノム創薬・医療フォーラムとなり、2019年より、異なる分野の専門家の議論によるイノベーションを誘発したいという思いが「創発」という言葉に込められ、新たにゲノム創薬・創発フォーラムとして発足しました。

今回のシンポジウムでは、空間オミックス解析をメインテーマとして取り扱います。従来のオミックス技術は一細胞レベルでの解像度までは達していたものの、異なる細胞種間の相互作用を解析することは叶いませんでした。近年登場した空間トランスクリプトームを中心とした空間オミックス解析技術は、組織切片上での位置情報取得と分子プロファイリングを可能とし、新たな疾患理解のためのアプローチとして注目されています。実際に、がんや心筋梗塞などの解析に応用することで、細胞間コミュニケーションの理解や、がんの初期段階における重要変化の解明などの成果が出つつあることから、この革新的な技術を起点とした新たな治療法・予防法の開発への期待が高まっています。まさに「ゲノム創薬・創発フォーラム」の名にふさわしいメインテーマとなっております。

本シンポジウムでは、空間オミックス解析の最新動向や応用例に焦点を当て、アカデミアおよび企業の第一線で研究開発に取り組まれている専門家の方々をお招きし、その知見を共有していただきます。疾患理解の新たなツールとして期待される中で、空間オミックス解析がもたらす可能性と課題について、幅広い視点で議論を展開し、新たな薬剤創出に向けたアイデアを共有する場となることを期待しています。

今回も会場とオンラインの併設開催となりますが、多くの皆様にご参加いただき、専門家との意見交換を通じて、新たな気付き「創発」が得られる会になりますと幸いです。

#### オーガナイザー：

東京大学先端科学技術研究センターシニアリサーチフェロー 油谷 浩幸  
塩野義製薬株式会社バイオ医薬研究本部バイオ創薬研究所グループ長 六嶋 正知

# ゲノム創薬・創発フォーラム 第15回シンポジウム

The 15th Symposium of Genome Drug Discovery & Emergence Forum

日時：2024年2月28日（水）13:00-18:00 / Time & Date: 13:00-18:00, February 28th, 2024

場所：会場およびオンライン会議 / Venue: On-site and Web Meeting

東京大学医科学研究所 1号館 1階講堂 / Auditorium at Building 1, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

主要テーマ：「空間オミックス解析の創薬展開」

Main Theme: "Application of spatial omics analysis to drug discovery"

座長：東京大学 先端科学技術研究センター シニアリサーチフェロー 油谷 浩幸

塩野義製薬株式会社 バイオ医薬研究本部バイオ創薬研究所 グループ長 六嶋 正知

Chairs: Hiroyuki Aburatani, MD, PhD, Senior research fellow, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

Masatomo Rokushima, PhD, Director, Laboratory for Bio-Drug Discovery, Shionogi & Co., Ltd.

プログラム： / Program:

13:00-13:05 「開会挨拶」東京理科大学 生命医科学研究所 教授 松島 綱治

"Opening Remarks" Kouji Matsushima, MD, PhD, Professor, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science

13:05-13:15 「開催趣旨」東京大学 先端科学技術研究センター シニアリサーチフェロー 油谷 浩幸

"Organizing Purposes" Hiroyuki Aburatani, MD, PhD

13:15-14:00 1. 「連続免疫染色法による高解像度空間オミックスの開発」

九州大学 生体防御医学研究所・トランスクリプトミクス分野 教授・副所長 大川 恭行

"Development of high-resolution spatial omics by sequential immunostaining" Yasuyuki Ohkawa, PhD, Professor and Deputy Director, Division of Transcriptomics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

14:00-14:45 2. 「シングルセル空間ゲノミクスによる胃粘膜ホメオスタシスの理解」

東京大学大学院 医学部・医学系研究科 衛生学教室 教授 石川 俊平

"Homeostasis comprehension of gastric mucosa by single-cell spatial genomics" Shumpei Ishikawa, MD, PhD, Professor, Department of Preventive Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

Break

14:55-15:35 3. 「TME iLab におけるがん微小環境の空間オミックス解析を活用した創薬研究」

アステラス製薬株式会社 イムノオンコロジー 主幹研究員 花田 雄一

"Drug discovery research utilizing spatial Omics analysis of tumor microenvironment in TME iLab" Yuichi Hanada, PhD, Research Fellow, Immuno-Oncology, Astellas Pharma

15:35-16:15 4. 「Single-cell RNA-seq による 1,25(OH)2D3 反応性 Fgf23 発現骨細胞の同定」

協和キリン株式会社 研究本部研究ユニット 疾患サイエンス第1研究所 花井 綾子

"Single-cell RNA-seq identifies Fgf23-expressing osteocytes in response to 1,25(OH)2D3 treatment" Ayako Hanai, PhD, Biomedical Science Research Laboratories

1, Research Unit, Research Division, Kyowa Kirin Co., Ltd.

**Break**

**16:25-17:05 5. 「多層的オミクスデータを使って腫瘍隣接正常組織の免疫抑制的な微小環境を読み解く」**  
中外製薬株式会社 研究本部バイオロジー基盤研究部 バイオインフォマティクスグループ 丸山 徹  
“Using multi-omics & single-cell data to decipher immunosuppressive microenvironment  
in tumor-adjacent normal tissue” Toru Maruyama, PhD, Scientist, Bioinformatics Group,  
Biological Technology Department, Research Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

**17:05-17:50 6. 「シングルセル空間オミクスによる心血管疾患の病態解明と治療応用」**  
東京大学大学院 医学系研究科 先端循環器医科学講座 准教授 野村 征太郎  
“Single-cell and spatial omics to understand the biology of cardiovascular disease and  
translate it into therapeutic applications” Seitaro Nomura, MD, PhD, Project Associate  
Professor, Department of Frontier Cardiovascular Science, Graduate School of  
Medicine, The University of Tokyo

**17:50-18:00 「閉会挨拶」**  
塩野義製薬株式会社 バイオ医薬研究本部バイオ創薬研究所 グループ長 六嶋 正知  
“Closing Remarks” Masatomo Rokushima, PhD

## 連続免疫染色法による高解像度空間オミクスの開発

九州大学 生体医学防御研究所 教授  
大川 恭行

生命科学の研究において、ヒトならばゲノム上の変異、モデル生物ならば特定の遺伝子に着目した遺伝子改変による介入が行われ、組織レベルの形態や遺伝子発現の変化を評価し、機能解明が行われてきた。近年は、解析技術の進展により、特定の細胞の種類、つまり細胞型レベルでの解析が行われ、機能に関わる細胞の種類や変化が明らかになりつつある。特に、単一細胞トランスクリプトーム技術、scRNAseq の普及により、細胞型の決定からトランスクリプトームの類似性から系譜解析まで一般的に行われるようになってきた。現在は更に、私たちは 2019 年に世界初の単一細胞エピゲノム解析技術を開発し、ゲノム上の特定の遺伝子発現が生じる可能性、すなわち発現ポテンシャルの測定を原理的に可能となったとした。これら技術を用いて骨格筋再生時における骨格筋幹細胞のエピゲノム制御の解明に取り組み、骨格筋幹細胞には、分化能に不可欠な幹細胞特異的なエピゲノム状態が存在していること、更に、この骨格筋幹細胞のエピゲノム状態は幹細胞ニッチにおけるさまざまな周辺細胞との相互作用で制御されていることを報告してきた。今後の幹細胞の分化能の実態であるエピゲノム制御の理解が急速に深まることが期待されている。本講演では、単一細胞エピゲノム解析による細胞分化系譜の解析を中心に、骨格筋再生や恒常性を理解する私たちの試みについて紹介したい。特に、空間オミクスと呼ばれる最新の技術開発やこれらを駆使した組織プロファイリング法について触れたい。

# シングルセル空間ゲノミクスによる胃粘膜ホメオスタシスの理解

東京大学 大学院医学系研究科 衛生学分野 教授  
石川 俊平

他種の細胞の複雑な空間的配置によって構成される組織から、生物学的現象を捉えることはその観測技術や解釈の手法が十分ではなく難しい技術であった。シングルセルレベルでの空間ゲノミクス情報が観測できる技術の登場によりこの状況は大きく変わりつつある。本講演ではシングルセル空間ゲノミクスを用いて正常や疾患状態の胃粘膜組織におけるホメオスタシスの解析を行なった事例を紹介する。

胃は様々な生物学的機能を持つ重要な消化器官である。しかし、その細胞や腺の構成は複雑であるため、その正確な細胞生物学はまだ解明されていない。この研究では、ヒト胃の scRNA-seq とシングルレベルの空間トランスクリプトーム解析を行い、大規模な胃粘膜のセルアトラスを構築した。このデータセットは scRNA-seq と空間トランスクリプトームから得られた約 38 万個の細胞から構成され、正常の胃細胞および慢性炎症による腸上皮化生細胞のゲノミクスおよび空間情報の統合的解析を行なった。この解析により、LEFTY1 がこれまで知られていない幹細胞マーカーであることが同定され、lineage tracing により確認された。また上皮と間質間の多様な細胞間相互作用が、慢性炎症における腸上皮化生において出現することが明らかになり、特に PDGFRA+BMP4+WNT5A+線維芽細胞の重要性が明らかになった。今回の空間ゲノミクスによる大規模なデータセットは、発生、老化、発癌の研究を含む胃の生物医学研究において、基盤的なリソースとなると考えられる。

# TME iLab におけるがん微小環境の空間オミックス解析を活用した創薬研究

アステラス製薬株式会社 イムノオンコロジー 主幹研究員  
花田 雄一

腫瘍組織ではがん細胞とこれを取り巻く免疫細胞、線維芽細胞や血管内皮細胞などの間質細胞がともにがん微小環境（Tumor microenvironment: TME）を構築している。これまでの研究により、TME 内の細胞間相互作用の変化が化学療法に対する薬剤抵抗性や抗腫瘍免疫を抑制することが報告されており、TME の病態を理解することが最適な治療法の選択および新しい治療法を開発する上で重要と考えられる。従来のバルクサンプルやシングルセル解析では TME を構成する細胞の位置情報を取得することが困難であったが、近年の空間オミックス技術の進展により、TME の構造を維持したまま一細胞レベルでの遺伝子発現情報を知ることが可能となり、従来の方法では捉えなれなかった各細胞集団の不均一性や細胞間相互作用の知見が得られることが期待されている。

本講演では、2023 年 10 月にアステラス製薬が開設した空間オミックスを用いたがん微小環境研究のオープンイノベーションの拠点 TME iLab で取り組む創薬研究について、パイロット試験の結果なども共有しながら紹介したい。本ラボでは、CosMx (Nanostring technologies) や Xenium (10x genomics)、Orion (RareCyte) といった空間オミックス技術を駆使し、①臨床検体の持つがん微小環境の特性の解明 ②有効な治療法を選択するためのバイオマーカーの特定 ③新たな治療標的となる候補分子の同定を進める。空間オミックスは TME の特性解明において大きな可能性を秘める一方、ここで得られる膨大で複雑なデータをいかに解析していくかは共通の課題があり、バイオインフォマティクスや臨床病理学、分子生物学など様々な専門家が分野横断的に連携していくことが重要となる。TME iLab では国立がん研究センターを始め、日本を代表する研究機関が集積する柏の葉エリアの地域性を活かしたコラボレーションを進め、社内外の研究者が議論を交わし、難治性がんにおいて課題となるがん微小環境に関する新たな知見の獲得ならびにそれをもとにしたイノベーションの創出を目指している。

# Single-cell RNA-seq による 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 反応性 Fgf23 発現骨細胞の同定

協和キリン株式会社 研究本部 研究ユニット 疾患サイエンス第 1 研究所  
花井綾子

X 染色体連鎖性低リン血症性くる病 (XLH) および腫瘍性骨軟化症 (TIO) は、低リン血症による骨の変形、低身長、骨痛を主訴とする。これらの低リン血症の原因として fibroblast growth factor 23 (FGF23) が同定された。FGF23 は骨細胞から分泌され、腎臓において、リン再吸収を担うトランスポーターである NaPi2a、NaPi2c の発現を低下させ、腎臓からのリン排泄を促進する。同時に腎臓において FGF23 は、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 産生酵素である 1αOHase の発現を低下させることにより、血中 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 濃度を低下させ、腸管からのリン吸収を抑制する。これら 2 つの作用により、FGF23 は血中リン濃度を低下させる。

XLH や TIO を含む FGF23 関連低リン血症性疾患は、FGF23 の過剰産生が病因とされる。2019 年には治療薬として FGF23 中和抗体である Burosumab を国内上市した。Burosumab の投与により、血清中リン濃度の正常範囲内への回復と、リン濃度上昇に伴う骨密度の増加、骨伸長、骨折率の低下を達成できている。

骨細胞では、血中リンや 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に応答して FGF23 の発現や産生が誘導されることは明らかになっている一方で、これらの刺激に応答する骨細胞の特徴や FGF23 の発現制御メカニズムはいまだ不明な点も多く、今後、解析を進めるべき課題である。

近年、Single-cell RNA-seq (scRNA-seq) 技術により、1 細胞レベルでのトランスクリプトーム解析が可能となった。骨組織の scRNA-seq 解析例も報告されている。しかしながら、骨細胞は骨基質に埋没した状態で存在するため、生細胞を単離することが技術的に難しく、これまでに scRNA-seq 解析を用いた Fgf23 発現骨細胞の解析報告はない。私たちは、マウス大腿骨から骨細胞を含む骨構成細胞を高収率で取得する方法を確立し、さらに 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に反応して Fgf23 を発現する骨細胞の遺伝子発現の特徴を scRNA-seq で解析することとした。マウス大腿骨を採材後、脱灰、酵素処理、CD45 陽性細胞の除去を行い、得られた単離細胞群を scRNA-seq 解析に供した。構成細胞を遺伝子発現により 18 の細胞クラスターに分類し、骨細胞マーカーである Dmp1、Mepe、Phex の発現から骨細胞群を同定した。

さらに本研究では、Vdr 発現に依存して 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> が細胞選択的な骨細胞分化、Fgf23 の発現を誘導していることが示唆され、骨細胞の一部が Fgf23 を発現するメカニズムの一つを明らかにした。今後、空間的トランスクリプトーム解析を活用し多様な骨細胞の組織学的分布を含め考察することが、FGF23 産生制御メカニズムの解明に重要であると考えている。

## 多層的オミクスデータを使って腫瘍隣接正常組織の免疫抑制的な微小環境を読み解く

中外製薬株式会社 研究本部バイオロジー基盤研究部 バイオインフォマティクスグループ  
丸山 徹

中外製薬は国立がん研究センターとの共同研究により、がん免疫環境の分子基盤解明を目的として、ヒト腫瘍検体由来の多層的オミクスデータを取得し、データベースの構築を進めてきた。昨年までに 200 例を超える NSCLC の外科切除標本を集積し、“臨床情報”、“トランスクリプトーム”、“エクソーム”、“メタボローム”、“TCR レパトア”、“マルチプレックス IHC”、“マルチカラーフローサイトメーターを用いた免疫細胞プロファイリング”、などのデータを取得してきた (Aoki *et al.*, *Cancer Res. Commun.*, 2023)。加えて、今回新たに同検体の一部よりシングルセルデータ (CITE-seq) を新たに取得した。

がん細胞が自らの生存に有利な微小環境を形成することは広く知られるが、腫瘍周辺の非腫瘍組織 (隣接正常組織) においても、健常人の組織と比較して炎症関連の遺伝子が発現亢進しているなど、免疫状態に何らかの変化が生じていることが報告されている。そこで我々は、隣接正常組織の免疫状態が腫瘍の進展や再発に寄与するという仮説を立て、当社が構築した多層的オミクスデータ基盤を用いて調査した。

NSCLC の隣接正常組織に単球系骨髄由来免疫抑制細胞 (mMDSC) が蓄積しており、それが再発リスクと関連する可能性が見出された。隣接正常組織検体から取得した mMDSC を T 細胞と共培養することで、T 細胞の増殖・成熟が抑制されたことから、mMDSC によって免疫抑制的な微小環境が隣接正常組織に形成されていると考えられる。また、マルチオミクス・シングルセルデータの統合解析によって、mMDSC と炎症性間質細胞の間に互恵的な相互作用が存在し、それが免疫抑制的な微小環境を形成・維持するメカニズムであることが示唆された。本講演では、上記の研究を中心に、中外製薬におけるデータ駆動型生物学研究の取り組みを紹介する。

# シングルセル空間オミックスによる心血管疾患の病態解明と治療応用

東京大学大学院 医学系研究科 先端循環器医科学講座 准教授

野村 征太郎

心臓は全身に血液を送るポンプの機能を果たしているが、遺伝/環境要因によって様々な負荷が加わることによってその機能が破綻して心不全を発症する。我々は心不全患者のゲノム解析を通して疾患発症に寄与する様々な遺伝要因を同定し、患者由来 iPS 細胞・疾患モデル動物・臨床検体のシングルセルオミックス解析によって心不全発症の分子機序を解明してきた。まず遺伝的に心不全を発症する拡張型心筋症のゲノム解析によって重症心不全の原因となる LMNA 遺伝子変異を同定し (Sci Rep. 2018)、iPS/マウス/臨床検体で共通する分子機序として変異 Lamin A/C が核膜に転写因子 TEAD1 をトラップする機構を解明し、化合物 TT-10 で TEAD1 下流遺伝子を活性化すると病態をレスキューできることを解明した

(Science Adv. 2023)。また心不全患者の心筋シングルセル RNA-seq 解析によって重症心不全で生じる DNA 損傷を明らかにし (Nat Commun. 2018)、これを標的とした分子病理解析法を構築して臨床研究で治療応答性を予測できることを検証した (JACC BTS 2019; JACC Heart Fail 2023)。また心室性不整脈を生じる患者で認められるドパミン D1 陽性心筋 (Nat Commun. 2020)、過剰な TGF- $\beta$  シグナルを抑える HTRA3 陽性線維芽細胞 (Nat Commun. 2022)、心不全病態を増悪させる老化内皮細胞 (in minor revision) などを同定し、心不全病態を構成する各細胞種の役割が明らかとなってきた。そして、これら組織微小環境で働く分子を標的とした免疫学的治療法を開発し、心不全の治療効果があることも検証している。また、空間オミックス解析によって心筋梗塞後の梗塞境界部で活性化するメカノセンシング経路活性化心筋を同定し (Nat Cardiovasc Res.

2022)、運動による心臓リハビリテーションで活性化する分子機序を模倣した遺伝子治療法の開発にも取り組んでいる。また動脈硬化病態については、ゲノム解析によって冠動脈疾患のポリジェニック・リスクスコアを構築し (Nat Genet. 2020)、血管周囲に誘導される褐色脂肪細胞による炎症制御機構 を明らかにした (Nat Commun. 2022)。また心不全の重要な要因である心房細動のゲノム・エピゲノム統合解析によって心房細動 GWAS SNP 領域を制御する転写因子 ERR- $\gamma$  を同定し、その機能破綻によってヒトで心房細動が発症することがわかった

(Nat Genet. 2023)。このようにゲノム・オミックス解析によって心血管疾患の発症機序が詳細に明らかとなり、様々な介入方法によって疾患を制御できる基盤技術が構築されてきた。今後はこれらの成果に基づいた創薬を推進していきたい。