

CTガイド下 IVR 用ロボットの開発: 術者被ばくの少ない手技へ Development of Robot for CT-guided IR: Free physicians from Radiation

岡山大学病院放射線科 平木 隆夫

背景

CTガイド下 IVR (CT-guided IR) CT画像を見ながら針を刺入して行う治療や検査。



- ・ラジオ波治療 (RFA)
- ・凍結治療 (Cryoablation)
- ・生検 (Biopsy)
- ・ドレナージ (Drainage) など

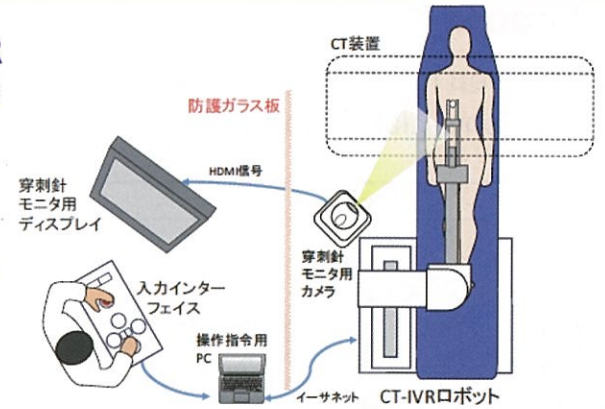
利点 > 低侵襲
欠点 > 術者被ばく

目的

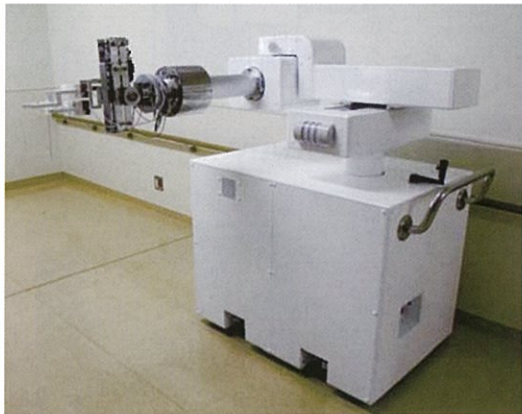
遠隔操作可能なロボットの開発

↓
術者被ばくゼロへ

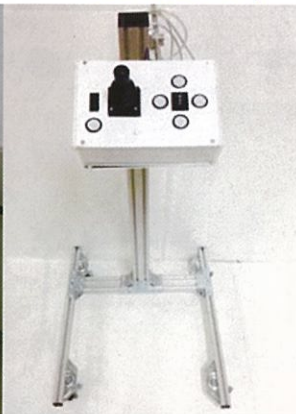
Robotic IVR のイメージ



ロボット (Robot)



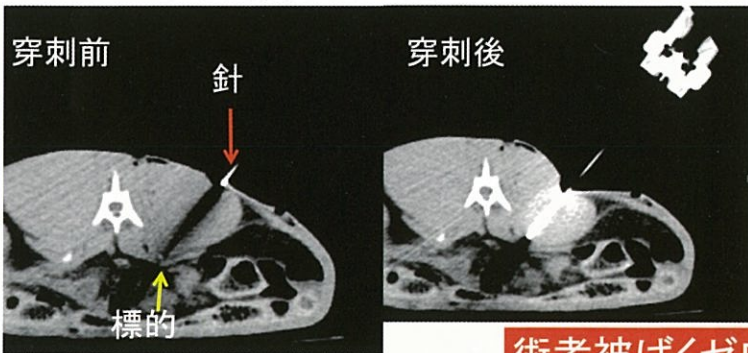
マスターコントローラ (Controller)



ファントム試験(Phantom Study)



動物試験 (Animal Study)



被ばく測定 (Radiation Exposure)

	被ばく量 (μ Sv)
術者	0
ロボット	225
CT近くのマネキン	56

術者被ばくゼロで正確な穿刺が可能!

医療機器製造販売業を取得している企業との連携を模索しています。

Development of Robot for CT-guided IR : Free physicians from Radiation

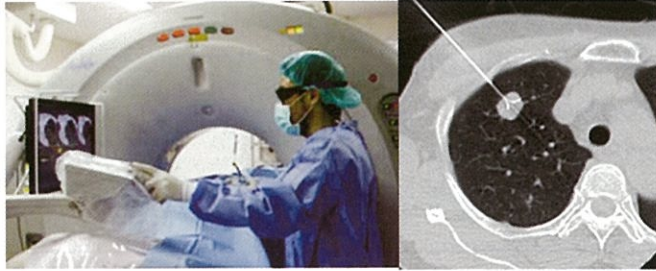
Takao Hiraki

Department of Radiology, Okayama University Hospital

Background

CT-guided Interventional Radiology

Procedures for physician to insert specified needle to lesion during real-time CT monitoring



e.g., Radiofrequency ablation

Cryoablation

Biopsy

Drainage

Preoperative marking

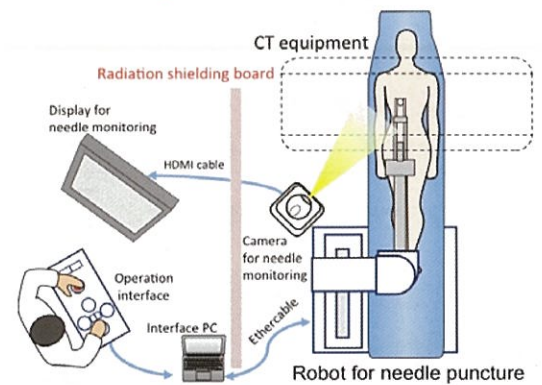
etc.

Advantage ➤ Minimally invasive
Disadvantage ➤ Radiation exposure to physician

Purpose

To develop remote-controlled robot to free physician from radiation

Image of Robotic IR

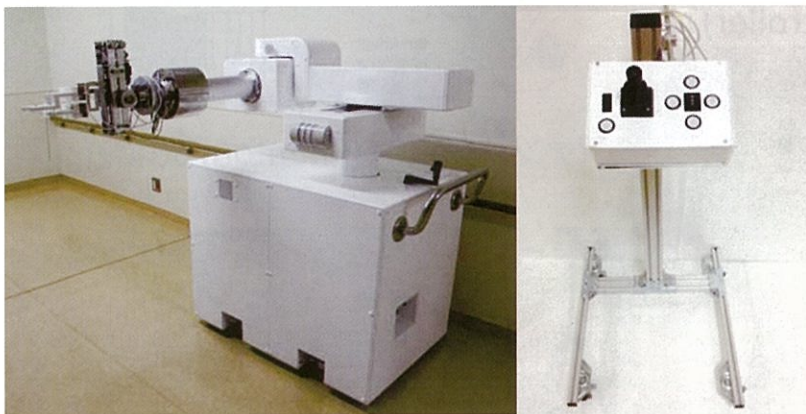


Phantom Study

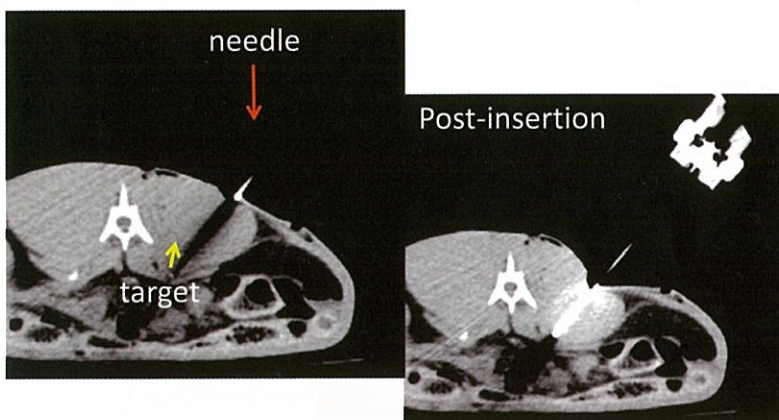


Robot

Controller



Animal Experiment



Radiation Exposure

	Radiation Exposure (μ Sv)
Physician	0
Robot	225
Doll near CT gantry	56

Robot enables accurate needle insertion without radiation exposure to physicians!!

ナノ病態生理学：病巣組織による薬の到達阻害と難治状態

Nano-pathophysiology: Intractability due to structural characteristics in disease foci limiting drug delivery

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医薬品臨床評価学 狩野光伸

なぜ、薬物治療に対して「難治化」するのか？

標的細胞の薬剤応答性だけでなく、薬剤経路の解析が重要

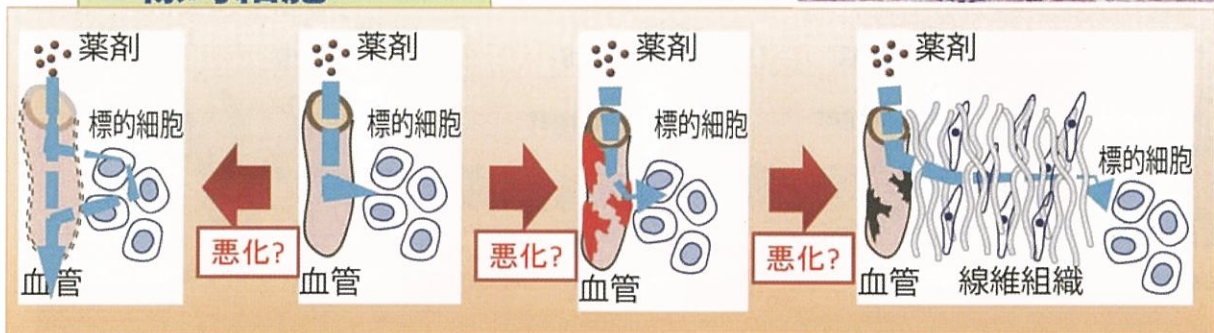
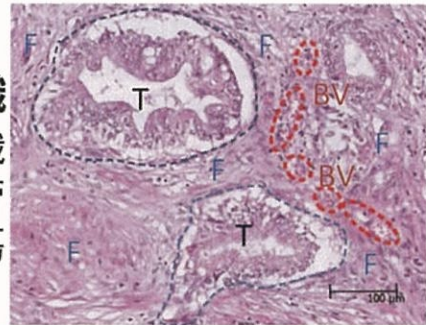
全身投与

(ナノ治療デバイス)

- 血管内腔
- 血管壁の構造
- 線維組織
- 標的細胞

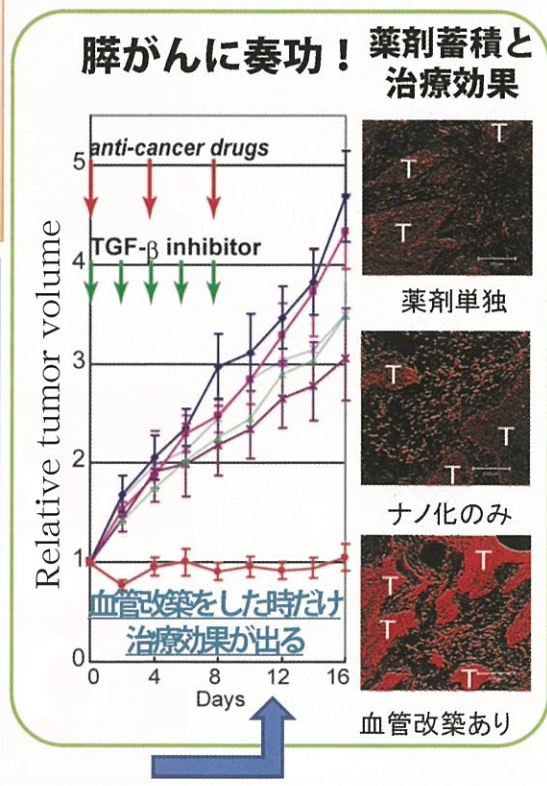
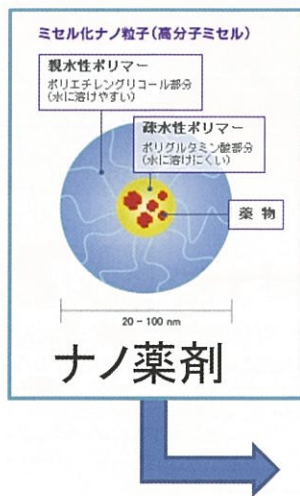
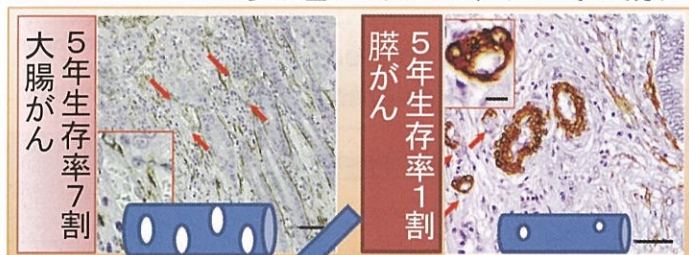
ヒト膵がん組織

F: 線維組織
BV: 血管
T: 腫瘍



ナノ治療の実現のために、理解の切実な必要

知見を応用し、ナノ医療の薬効を現実化



Kano, Adv Drug Deliv Rev 2014, Kano et al PNAS 2007, Cabral and Kano et al, Nat Nanotech 2011 etc

お問合せ先：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 狩野光伸

TEL:086-251-7970 E-mail:mitkano@pharm.okayama-u.ac.jp



Nano-pathophysiology: Intractability due to structural characteristics in disease foci limiting drug delivery

Prof. Mitsunobu R Kano, MD, PhD

Department of Pharmaceutical Biomedicine,
Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences

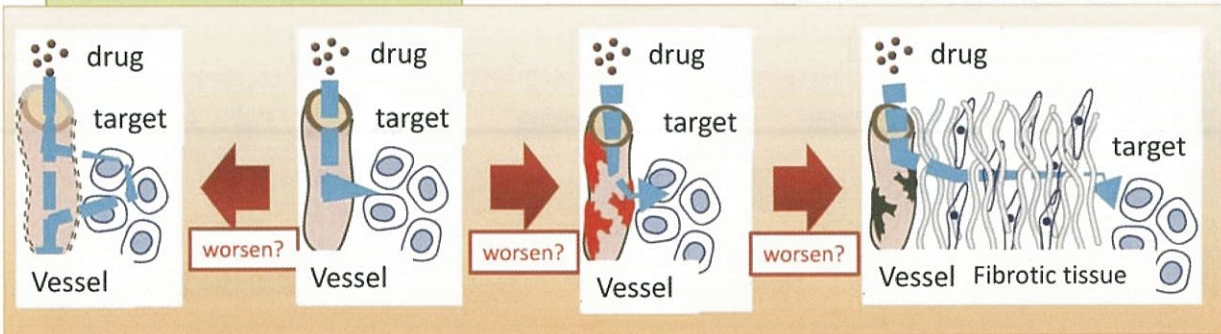
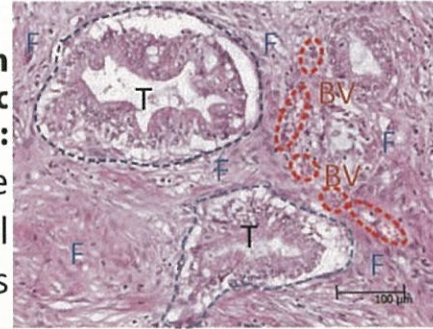
Revealing why a disease is hard to be treated with medication

Not only cellular response, but pathway that drug travels, matters

Systemic administration (of esp. nanoparticle)
 → **vascular lumen**
 → **vascular wall**
 → **fibrotic tissue**
 → **target cells**

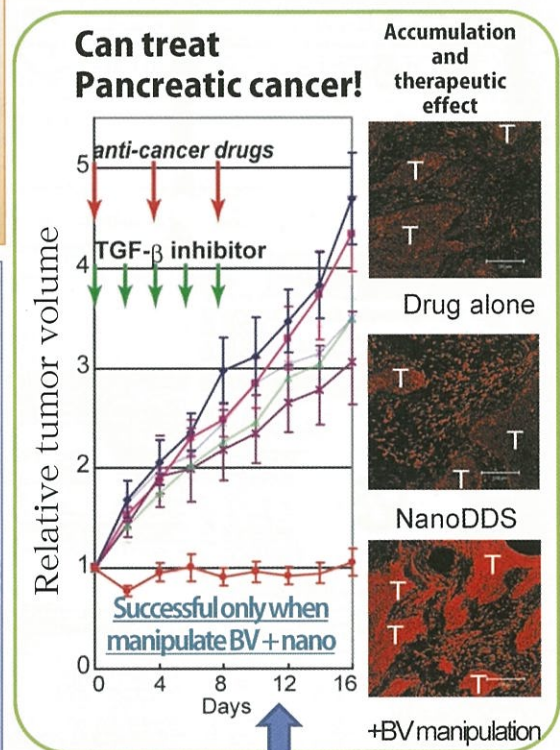
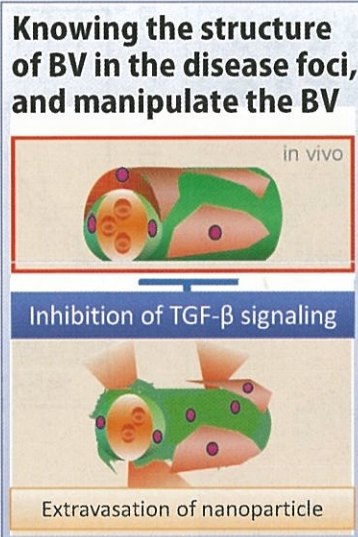
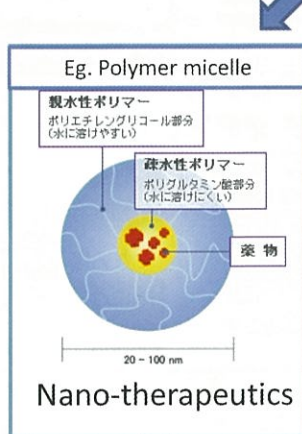
Pathologic specimen of human pancreatic cancer:

F: fibrotic tissue
 BV: blood vessel
 T: tumor cells



Indispensable knowledge for the success of nano-therapeutics!

A successful example of application of the knowledge



Kano, Adv Drug Deliv Rev 2014, Kano et al PNAS 2007, Cabral and Kano et al, Nat Nanotech 2011 etc

臨床病態に近い幹細胞性を持つ腫瘍モデルと鉄制御がん幹細胞治療法の開発

New tumor model with stemness and iron control therapy for cancer stem cell

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫病理学 大原 利章

1. 臨床病態に近い幹細胞性を持つ腫瘍モデル

《癌幹細胞モデルmiPS-LLCcm》

《コンセプト》

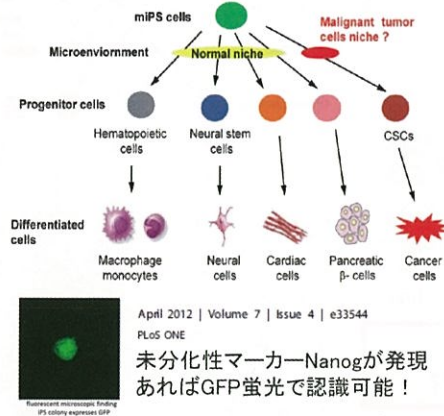
《新規治療法開発における問題点》



実験レベルでは効果が認められたのに、臨床ではその効果が認められない事がしばしば経験される。



癌幹細胞性があるから？
癌の不均一性が原因??



April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e33544
PLoS ONE
未分化性マーカーNanogが発現
あればGFP蛍光で認識可能!



- 癌幹細胞性
- 癌組織の不均一性
- 臨床病態に近い
- キット化も可能!

《in vitro 共培養モデル》

CSC+4T1(4:1), CSC+colon26(1:1)

Day	4	11	14	21	27	32	35
CSC + 4T1	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]
CSC + colon26	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]	[Fluorescence image]

miPS-LLCcmとマウス乳癌細胞株4T1、マウス大腸癌細胞株Colon26と共培養すると35日目までGFP蛍光で認識可能であり、幹細胞性を有している事を示している。

《in vivo 共培養同所性移植腫瘍モデル》

miPS-LLCcm + Colon26

名称: 胚細胞性由来がん幹細胞作成とがんモデルマスの作成
特願2015-85851号
出願日: 2015/4/20
発明者: 妹尾晶治、笠井智成、大原利章、岩崎良章、廣畑聡、加来田博貴

～平成26年度～
文部科学省研究振興局
構造・研究加速プログラム
研究開発施設利用等促進費補助金

癌幹細胞モデル(miPS-LLCcm) 15×10^5 とマウス大腸癌細胞株(Colon26) 15×10^5 とを共培養し、経直腸的に腫瘍を移植し、同所性移植モデルを作成した。
腫瘍を回収すると、HE染色では粘膜下層に癌細胞が認められ、免疫染色ではその内にNanog、GFP陽性細胞を確認する事ができ、未分化能(幹細胞性)を有した細胞が腫瘍内に含まれている事を示している。

2. 鉄制御がん幹細胞治療法の開発

Concept

鉄過剰



正常細胞

発癌原因

初期の癌細胞
(癌幹細胞)

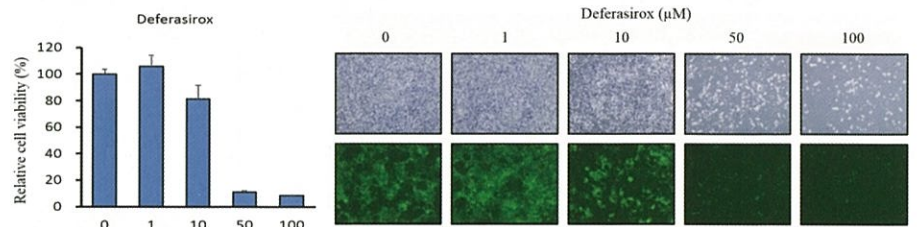
鉄をコントロールすると癌幹細胞の治療になるのではないかな?

癌幹細胞モデルmiPS-LLCcmで効果について検証を行う

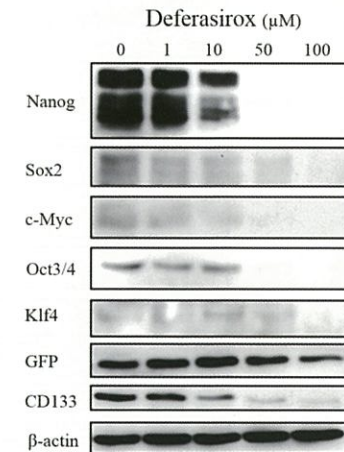
鉄キレート剤で増殖のみならず、幹細胞性を制御できる可能性

癌幹細胞抑制剤、癌の転移又は再発の抑制剤
並びに癌細胞の未分化マーカー発現抑制剤
特願2015-197598号 出願日: 2015/10/5

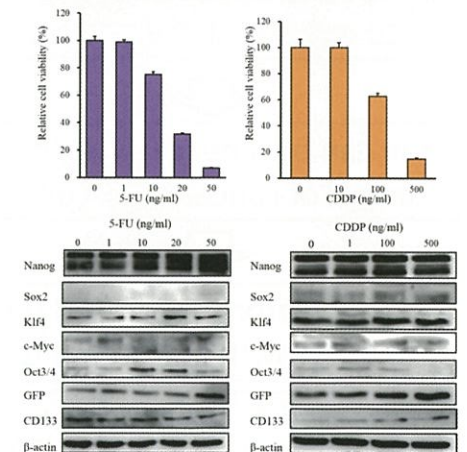
《除鉄剤Deferasiroxを使うと癌幹細胞モデルの増殖が抑制される》



《除鉄剤Deferasiroxは幹細胞性マーカーの発現を抑制できる》



《通常の抗癌剤は増殖を抑制するが、幹細胞性マーカーは抑制できない》



【お問合せ先】岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 大原 利章

Tel : 086-235-7143 E-mail : t_ohara@cc.okayama-u.ac.jp



New tumor model with stemness and iron control therapy for cancer stem cells

Toshiaki Ohara

Department of Pathology & Experimental Medicine, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University

1. New tumor model with stemness

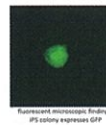
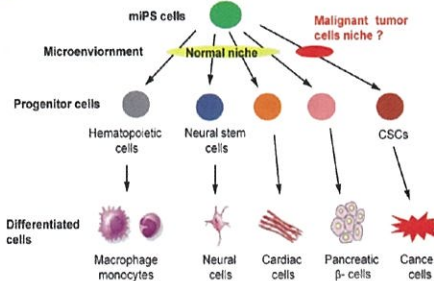
«Problem of anti-cancer drug development»



Although the effectiveness of new drug was evaluated in the pre-clinical study, we often experienced that it did not work in the clinical setting.

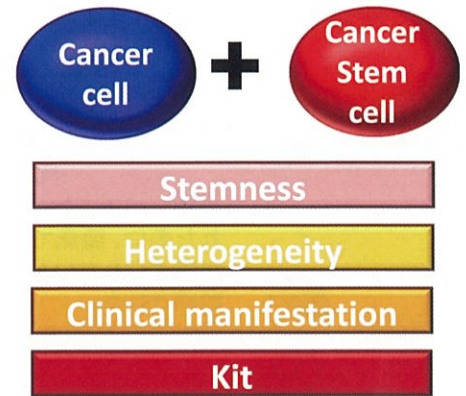
**Stemness?
Heterogeneity??**

«CSCs model, miPS-LLCcm»



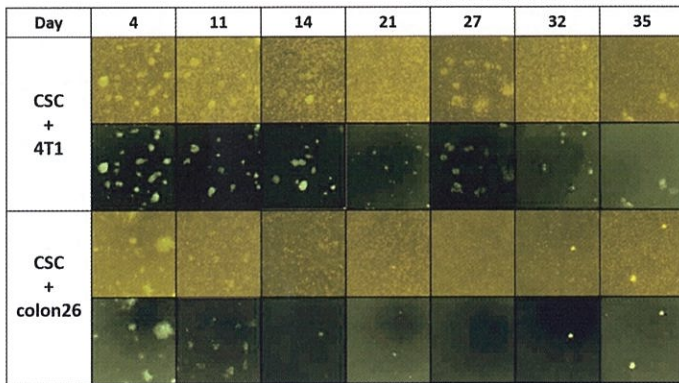
April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e33544
PLoS ONE
The expression of *Nanog* can be detected as GFP

«Concept»



«in vitro co-culture model»

CSC+4T1(4:1), CSC+colon26(1:1)



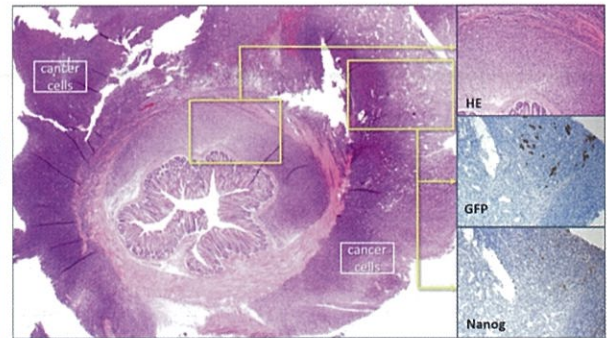
Stemness was maintained over one month in the co-culture condition

«in vivo co-injected orthotopic tumor model»

miPS-LLCcm + Colon26

Patent pending
2015-85851
2015/4/20

2014
This work was supported by Coordination, Support and Training Program for Translational Research, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology



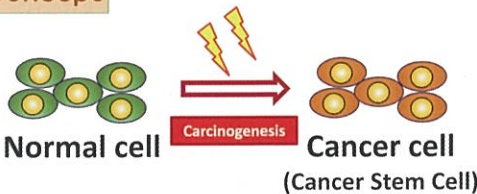
Co-injected orthotopic tumor was also maintained stemness and heterogeneity

miPS-LLCcm (15×10^5) + Colon 26 (15×10^5) were co-injected into the submucosal layer of rectum. Tumor was surgically collected 19 days after injection.

2. iron control therapy for cancer stem cells

Concept

Iron overload



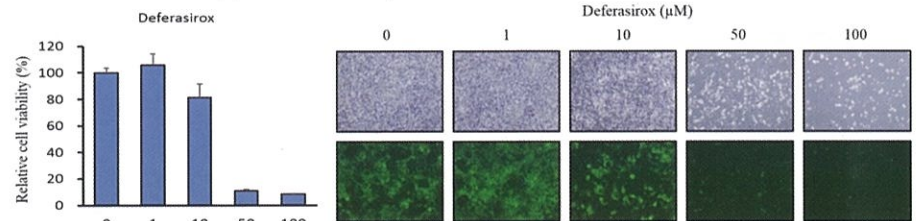
Iron overload is known to induce carcinogenesis.

Iron can be a novel therapeutic target of cancer stem cells?

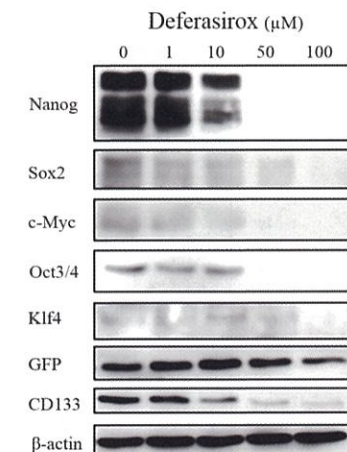
Iron chelator suppressed the tumor growth and stemness!

Patent pending 2015-197598 2015/10/5

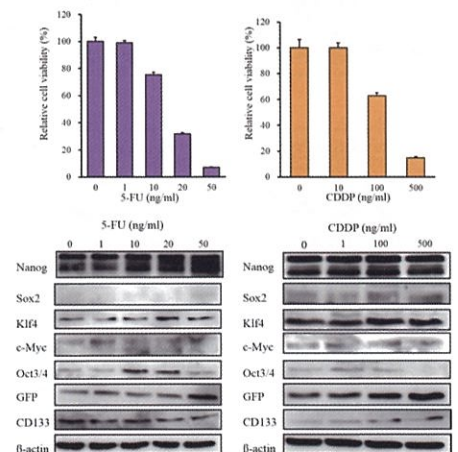
«Deferasirox suppressed the proliferation of cancer stem cells»



«Deferasirox suppressed some stemness markers»



«Ordinary anti-cancer drug did not suppress the stemness markers»





岡山大学病院バイオバンクが みなさんのお役に立てること

Okayama University Hospital Biobank (Okadaï Biobank)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

クリニカルバイオバンクネットワーク事業化研究講座

森田 瑞樹

生体試料の提供を製薬企業へ開始。 知財権を主張しない「分譲」モデルを確立。

岡大バイオバンク、始動。 昨年4月、新しい医療技術や治療薬などの研究開発を推進するための研究基盤として、岡山大学病院に併設する形で設立されました。

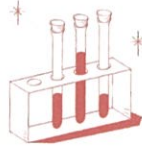
研究開発に日本人の生体試料の利用を希望される国内外の医薬品や医療機器メーカー様などへ、患者さんから頂いた大事な生体試料を1日でも早く提供して、将来の医療に役立てて頂くことを望んでおりますので、岡大バイオバンクの利活用を是非ご検討ください。

<http://biobank.ccsv.okayama-u.ac.jp/>

岡大バイオバンクの魅力

生体試料の品質が高い

- ・病院併設型(採取～保管まで短時間)
- ・解析対象物質に変化が起きにくい
- ・処理や保存の条件を標準化
- ・品質の均一化
- ・長期保管ができる体制を整備



診療情報も豊富

- ・病院の情報システムとの連携 (電子カルテ・検査システムなど)
- ・豊富な診療情報を提供。 (臨床検査結果や投薬記録など)
- ・受託による解析情報提供も可能



同意説明文書への明記

- ・同意書は「企業等への提供」を前提。
- ・感染症の検査対応も可能。



知財への柔軟な対応

- ・企業等への提供は、以下形態に対応。
- ①知的財産権(知財)を主張しない「分譲」
- ②貢献に応じて配分する「共同研究」



提供実績 (稼働1年目)

研究課題名	対象疾患	実施機関	実施国	開始年月	進捗
呼吸器疾患のバイオマーカーに関する探索的研究	慢性閉塞性肺疾患	企業 (製薬企業)	日本	2015年7月	実施中
胸水中のREIC濃度測定方法の検討	悪性胸膜中皮腫	企業 (製薬企業)	日本	2016年1月	実施中

【お問合せ先】岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 森田 瑞樹

Tel : 086-235-7436 E-mail : mizuki@okayama-u.ac.jp





Okayama University Hospital Biobank (Okadai Biobank)

Mizuki Morita

Department of Biorepository Research and Networking, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University

Started to provide human samples to companies without keeping intellectual property rights

Okadai Biobank can provide stored samples to private companies as well as academic research institutes for supporting various research and development using Japanese human samples.

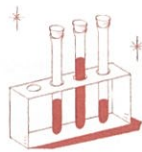
Samples in Okadai Biobank are available in research and development of products that are introduced into or contacted with human body (e.g., drugs, medical instruments, cosmetics, toiletry products) and that make use of human samples (e.g., diagnostic agent).

<http://biobank.ccsv.okayama-u.ac.jp/>

Features

High-quality Samples

- Okadai Biobank is hospital biobank
- Close to operating room
- Keep standard operating procedure



Clinical Information

- Connecting with hospital info. system
- Can provide various clinical information
- Can also provide analysis results



Informed Consent

- Can provide to private companies
- Can test for infectious diseases



Intellectual Property

- Two types of engagements:
 1. Waiving intellectual property rights
 2. Sharing intellectual property rights



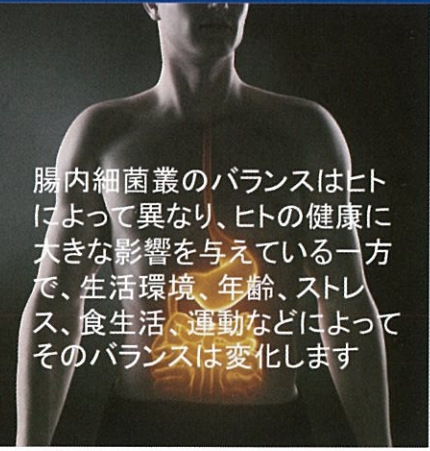
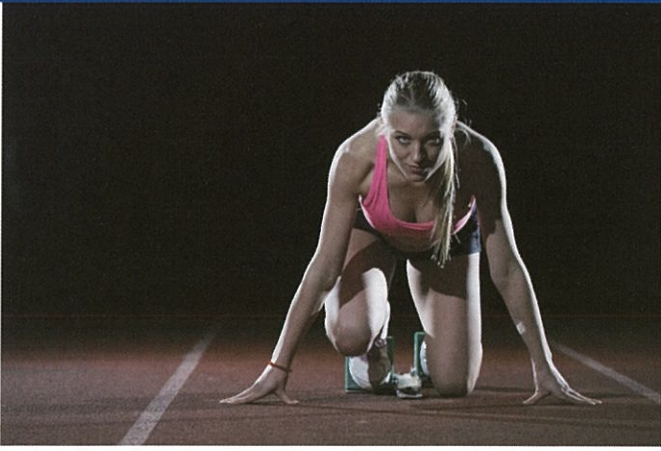
Example researches

Research Title	Disease	Affiliation	Country	Start
Exploratory study for biomarker discovery of respiratory disease	COPD	Pharmaceutical Company	Japan	2015-07
Study on measuring concentration of REIC in pleural effusion	Malignant pleural mesothelioma	Pharmaceutical Company	Japan	2016-01

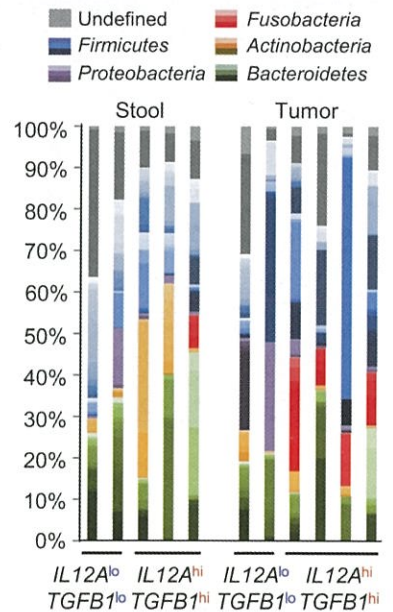
ヒトマイクロバイオームによる俯瞰的ヒト健康評価法

Evaluation system of human healthy by its microbiome

岡山大学大学院環境生命科学研究科 生命科学専攻 森田 英利



腸内細菌叢のバランスはヒトによって異なり、ヒトの健康に大きな影響を与えている一方で、生活環境、年齢、ストレス、食生活、運動などによってそのバランスは変化します



Downloaded from <http://gut.bmj.com/> on September 6, 2015 - Published by group.bmj.com

Gut microbiota

ORIGINAL ARTICLE

Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity

Clarke et al, *Gut*, 2014

アスリートと健常な一般人の間でみられた異なる点
 極度な運動についての指標となる筋肉から出てくる「血清クレアチンキナーゼ」
 炎症と代謝指標
 タンパク質消費量
 クレアチンキナーゼ

トップアスリート腸内細菌叢の特徴
 健常者の腸内細菌叢に加えて、22の異なる「門(phylum)」を確認

トップアスリートのもつより多様な腸内細菌叢

健常者の腸内細菌叢

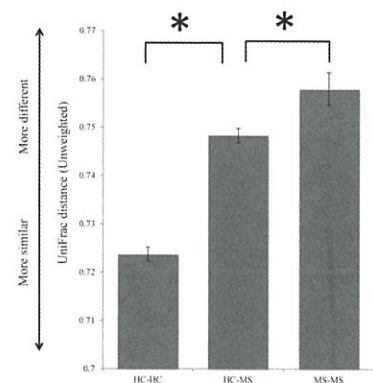
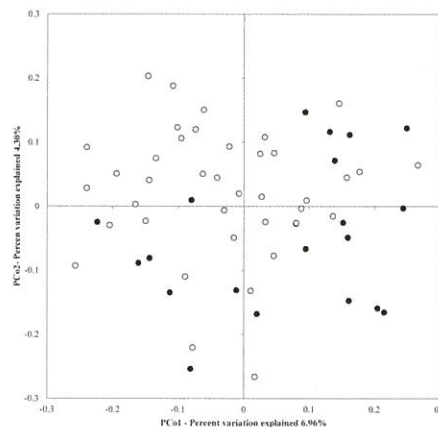
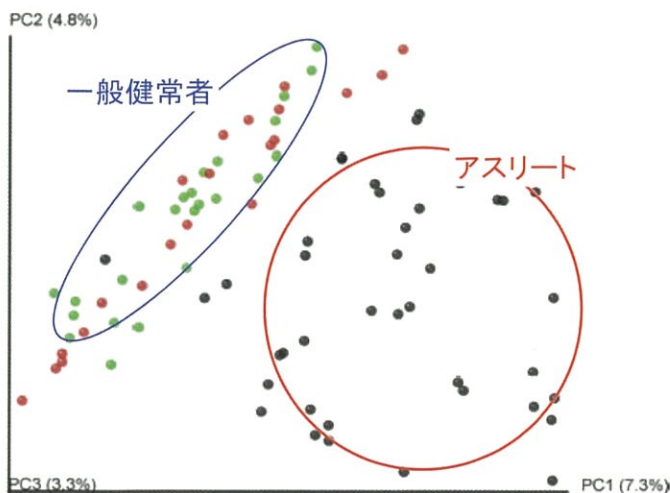
各種病態でのdysbiosis(菌種数が減少し機能の低下した腸内細菌叢)

2つのFOXP3+CD4+T細胞の割合は、大腸がんの予測を明確にコントロールする、という論文において、IL12とTGFβの量が腸内細菌叢に影響することを証明した。

Saito T, Nishikawa H, Morita H, Honda K and Sakaguchi S, et al., *Nature Medicine*, in press

アスリート腸内細菌叢の菌種の多様性

多発性硬化症患者腸内細菌叢の菌種のdysbiosis



Unweighted UniFrac解析による主座標分析

健常者の40名(○)と多発性硬化症患者の20名(●)

Miyake S, Morita H, Hattori M, Yamamura T, et al., *PLoS One*, 2015

ヒトが食べた食事成分のタンパク質やビタミン、ミネラル、糖質から、腸内細菌はたくさんの代謝物を作り出しているため、私たちの健康が保たれています

【お問合せ先】岡山大学大学院環境生命科学研究科 森田 英利

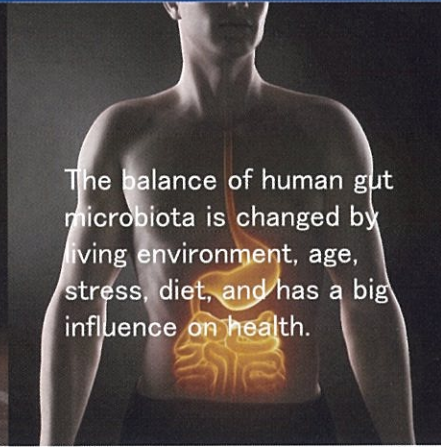
Tel : 086-251-8343 E-mail : hidetoshi-morita@okayama-u.ac.jp



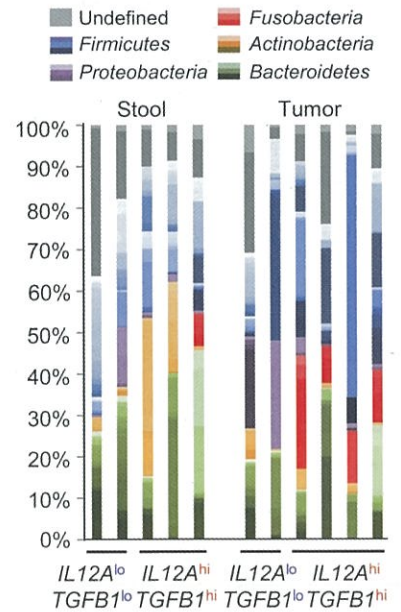
Evaluation system of human healthy by its microbiome

Hidetoshi Morita

Division of Agricultural and Life Science, Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University



The balance of human gut microbiota is changed by living environment, age, stress, diet, and has a big influence on health.



Downloaded from <http://gut.bmj.com/> on September 6, 2015 - Published by group.bmj.com

Gut microbiota

ORIGINAL ARTICLE

Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity

Clarke et al, *Gut*, 2014

Athletes and controls differed significantly with respect to plasma creatine kinase (a marker of extreme exercise), and inflammatory and metabolic markers. More importantly, athletes had a higher diversity of gut micro-organisms, representing 22 distinct phyla, which in turn positively correlated with protein consumption and creatine kinase.

Two FOXP3+CD4+ T-cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers

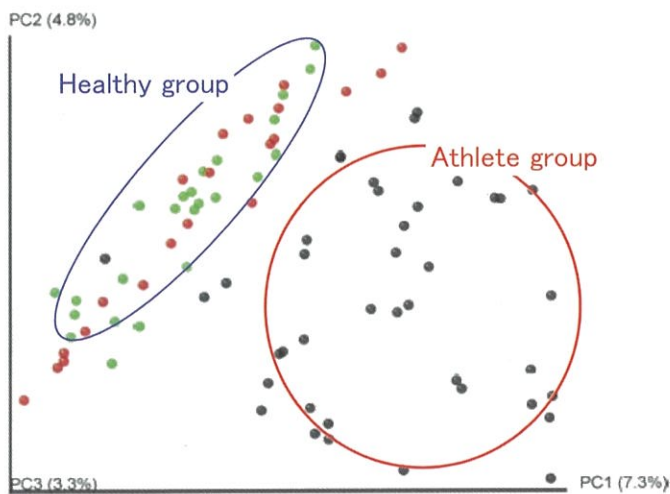
Sequencing of bacterial 16S ribosomal DNA detected *Fusobacterium nucleatum* in IL12A^{hi}TGFB1^{hi}, but not in IL12A^{lo}TGFB1^{lo} CRC tissues or the stool of either type. Saito T, Nishikawa H, Morita H, Honda K and Sakaguchi S, et al., Nature Medicine, in press

Top athletes had a higher diversity of gut microbiota

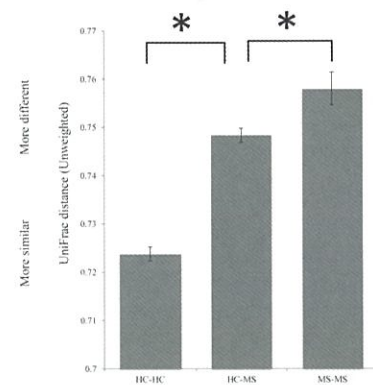
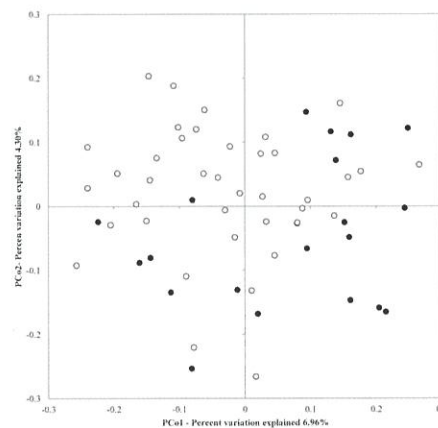
Gut microbiota of healthy persons

Dysbiosis of gut microbiota on various disease

Higher diversity of gut microbiota of top athletes



Dysbiosis of gut microbiota of multiple sclerosis (MS)



Unweighted UniFrac Principal Coordinate (PCoA) and UniFrac distance analysis for HC40 (○) and MS20 (●).

Miyake S, Morita H, Hattori M, Yamamura T, et al., PLoS One, 2015

Our health is kept to good condition by various metabolites, which were produced by gut microorganisms, derived from proteins, vitamins, minerals and sugars.

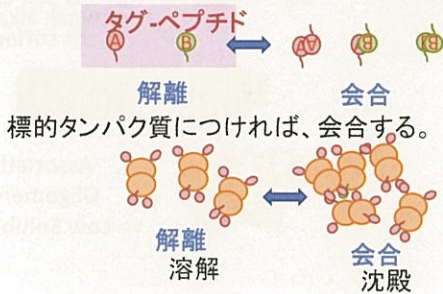
自己集合ペプチドタグと Non-カラムタンパク質精製等への応用

Peptide Tags That can Control Association
and The application to the non-column protein purification

岡山大学大学院自然科学研究科 生命医用工学専攻 飛松 孝正

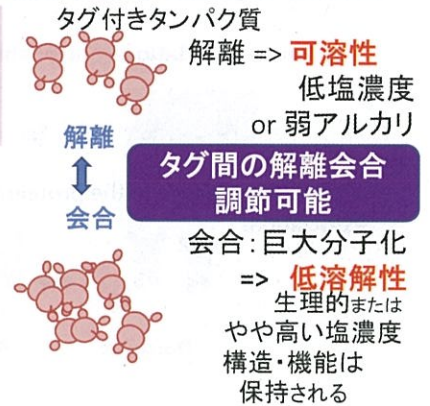
発想の出発点

解離会合を調節可能なペプチドタグの発見

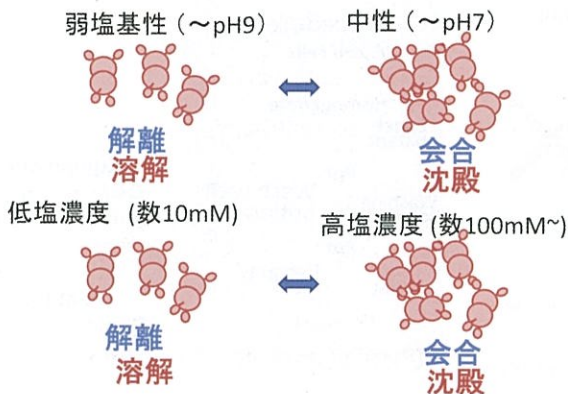


技術の要

タグ-ペプチド
解離会合能
標的タンパク質
可溶性



タグ付タンパク質の溶解性



組換え体タンパク質の精製への応用



精製手順

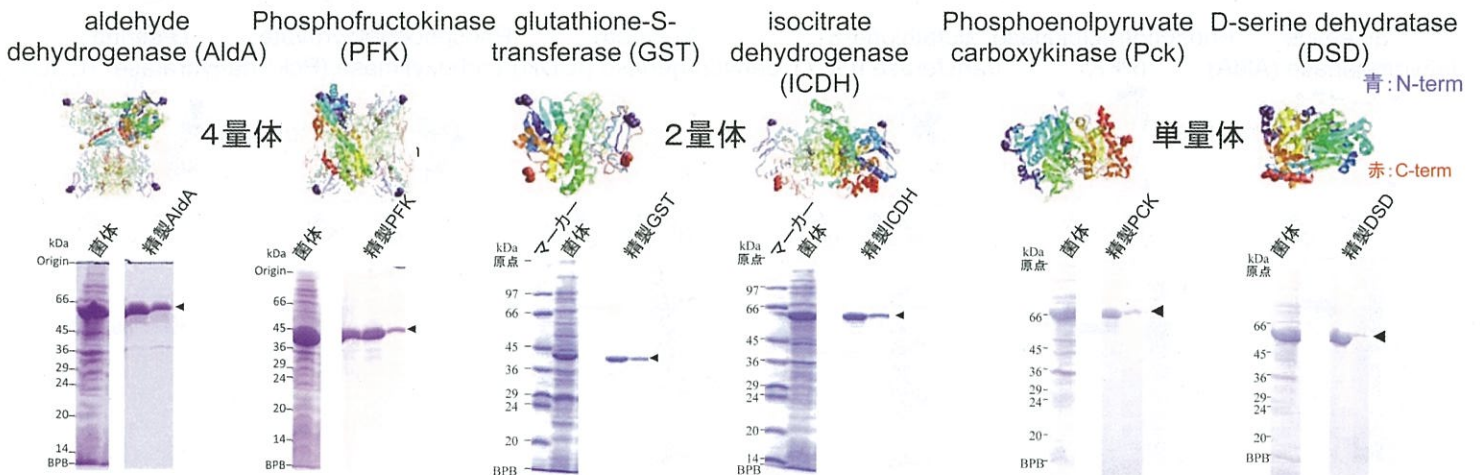
大量発現菌体
菌破碎液
沈殿
洗浄液
沈殿
抽出液 (精製品)

細胞破碎
遠心分離
遠心分離
抽出・遠心分離

必要な装置
細胞破碎装置
と遠心分離装置

特長
・迅速
・低コスト

実施例



タンパク純度 90-96%(ゲル)、活性回収率 87-91%

関連知財: 特願2014-185689

Peptide Tags That can Control Association and The application to the non-column protein purification

Takamasa Tobimatsu

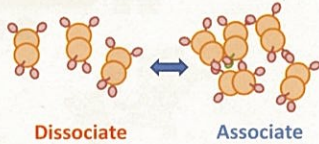
Division of Medical Bioengineering Graduated School,
of Natural Science and Technology, Okayama University

Starting Point of This Method

Found a association-controllable peptide tag



Addition of the tags to the protein leads to association.



Key Points of This Method



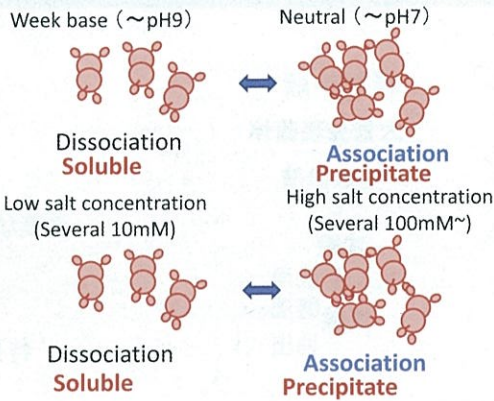
Tagged Target Protein
Dissociation
=> **High Solubility**
at low salt conc.,
or weak alkaline,
or surfactant

controllable Tag-Tag interaction



Association:
Oligomerized
=> **Low Solubility**

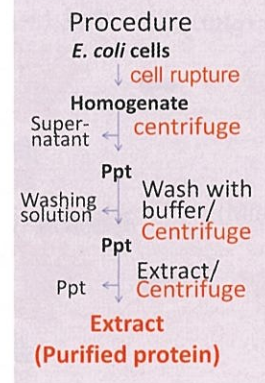
Solubility of Tagged Protein



Purification of Recombinant GST



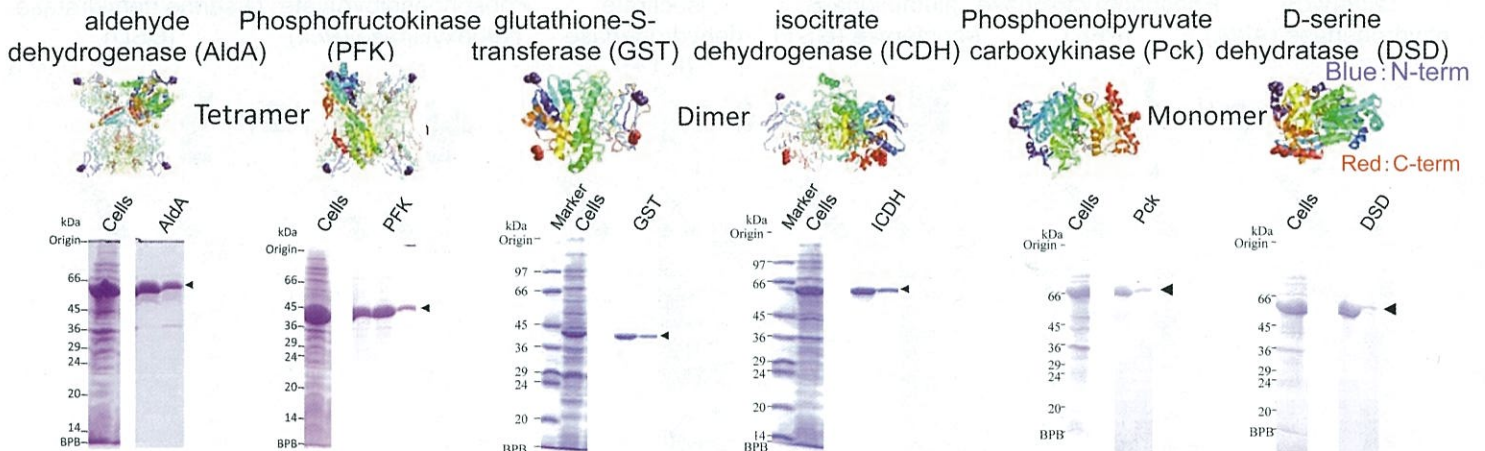
Expensive,
Time
consuming



Equipment
Cell Disruptor
and Centrifugal
separator

Feature
• Rapid
• Low cost

Examples

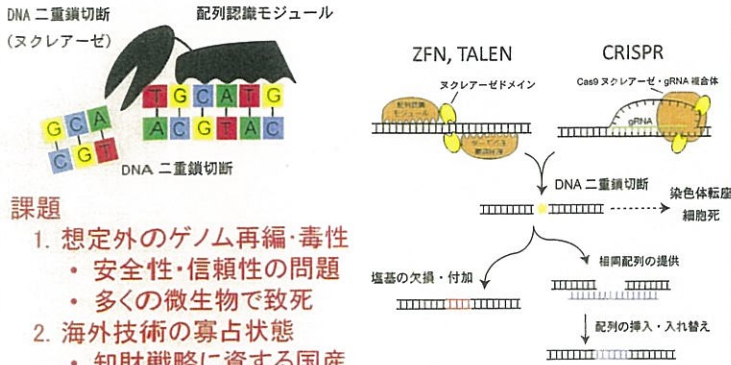


Purity of the enzyme: 90-96% (SDS-PAGE), Recovery of enzyme activity 87-91%

Patent pending: Application number 2014-185689

ゲノム編集技術とは生体ゲノム中の任意のDNA配列を認識して改変できる人工酵素をベースとした、高度で高効率な遺伝子操作・ゲノム改変技術である。主なゲノム編集技術であるZFN, TALEN, CRISPR/Cas9は「人工ヌクレアーゼ」として標的となるDNA二重鎖切断を前提とし、切断後に新たな配列挿入あるいは欠損を期待するものであったが、不確実性や細胞毒性の問題があるため、本研究では二重鎖切断を伴わないDNA塩基変換反応による一塩基レベルの操作を可能とする技術開発を行った。

～従来技術～ 人工ヌクレアーゼ型ゲノム編集



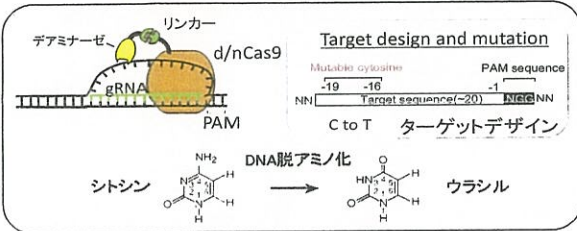
～新提案技術～ 塩基変換反応を利用した直接点変異導入手法



	従来技術	新提案技術	
	ZFN/TALEN/Cas9	Target-AID	Target-G
触媒酵素	ヌクレアーゼ	デアミナーゼ	グリコシラーゼ
DNAへの作用	二重鎖切断	脱アミノ化	脱塩基
変異効果	ランダムな欠損 あるいは挿入	狭い領域(5b以内)の Cに変異	広い領域(1kb程度)に ランダムに変異
毒性	高	低	低
利用法	遺伝子破壊 相同組換え	ピンポイント変異 マルチターゲット	合理的進化学 変異ライブラリ作製

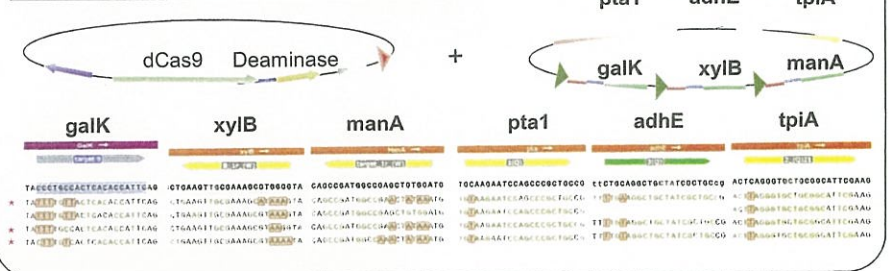
Target-AID (PCT/JP2015/056436)

- 脱アミノ化酵素(デアミナーゼ)を採用することによって標的配列に直接変異を導入することを実現
- DNA配列認識部位は従来のCRISPR/Cas9からヌクレアーゼ活性を除いたもの(d/nCas9)を用いる



★従来技術が致死であった幅広い微生物種への適用が可能

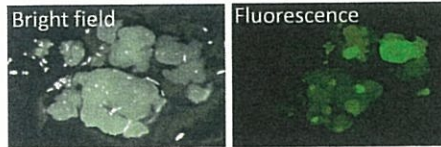
実施例1: 大腸菌での6遺伝子同時変異導入



★哺乳動物でのゲノム編集: 医療分野におけるより高度な遺伝子機能解析、疾患モデルの作製、将来的には遺伝子疾患の治療、再生医療への応用も。培養細胞による抗体医薬等の産生にも有用

実施例2: イネ(カルス)ゲノム編集

Vector	# of Double transformants	# of GFP positive clone	Positive rate (%)
dCas9-CDA1	269	10	3.7
nickase Cas9-CDA1	264	41	15.5

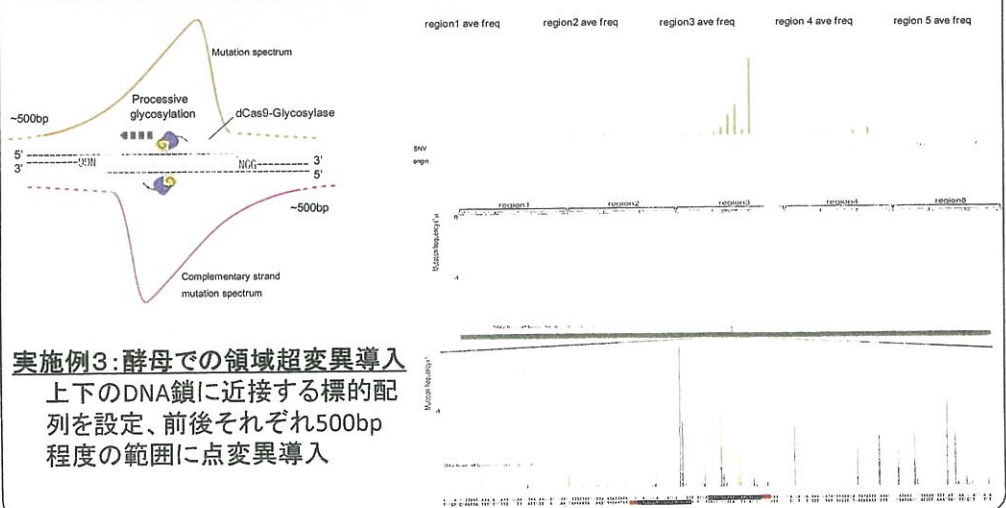


★植物育種・農林水産の分野ではこれまで遺伝子操作が困難であった材料にも適用でき、さらには将来的に非組換えのゲノム改変技術として期待される

Target-G (PCT/JP2015/080958)

- 脱塩基酵素(グリコシラーゼ)を用いることによって標的領域周辺(~1kb)に多様な点変異を導入することを実現
- DNA配列認識部位はCRISPR/Cas9からヌクレアーゼ活性を除いたもの(dCas9)を用いる

★領域特異的超変異導入



脱塩基反応 (Glycosylation) による点変異導入

