

**創薬基盤推進研究事業 研究開発課題**  
**中間評価報告書**

研究開発課題名	ヒトへの外挿性を向上させた培養細胞資源開発と供給体制整備
代表機関名	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
研究開発代表者名	小原 有弘
全研究開発期間	平成28年度～平成32年度(予定)

1. 研究開発成果

(1) 創薬・疾患研究に必要な資源の確保と維持・増殖

本研究の特長である免疫力の極めて低い Super-SCID マウスを用いることにより患者由来試料である膵臓がん17例、前立腺がん6例、乳がん10例を計画通りに、また、希少がんについても消化管間質腫瘍(GIST)4例と卵巣がん3例、下部胆管がん1例、肝細胞がん1例、腎がん2例、肺がん7例、大腸がん5例等をマウスに移植することにより、維持・増殖させるとともに、増殖した資源の凍結保存を行った。最適化した培養条件で、膵臓がん、前立腺がん(PSA発現)、GIST(c-kit発現)などの提供されたPDX由来組織からの単層培養を実施した結果、単層培養によって増殖した細胞を細胞資源として凍結保存を行うことができた。特筆すべき成果として前立腺がん(PSA発現)由来細胞資源、GIST(c-kit発現)由来細胞資源が樹立できたことであり、創薬応用が期待できる。樹立できた資源は発光化改変に着手できた。

(2) ヒトへの外挿性を向上させた細胞資源開発

医薬健康研が保持する既存のPDXマウスから膵臓がん7例およびXenograft継代後8例、乳がん2例、前立腺がん4例およびXenograft継代後1例、卵巣がん3例およびXenograft継代後2例、肺がん2例、GIST2例、食道がん2例、胆管がん2例、腎がん2例、大腸がん5例について、CTOSを調製・培養し保存することができた。大腸がんと卵巣がんについてはすべての例で薬剤感受性試験が実現可能であった。大腸がんは30例のCTOSパネルで薬剤感受性を評価し、それをレファレンスとして、新規検体の感受性をランキングする方法を開発し、本プロジェクトの個別PDXにも応用可能であることを示した(論文査読中)。特筆すべき成果はCTOS調製と培養が良好であったPSA発現陽性前立腺がんCTOSを用いて、診断に有用なマーカー候補が得られたこと、培養法の改良によってGISTや膵がんなどについても良好なCTOSが得られたことである。GISTに関しては細胞資源が乏しい現状からすると、画期的な成果であると考えられる。前立腺がんについてはこれまでに解析したPDXの中にCTOS培養できるものとできないものがある。培養成功(不成功)の宿主側要因を明らかにすることで、培養効率の改善および新たな標的の開発につなげる。GISTについては、まず臨床で使用されているimatinib, sunitinib, regorafenibについてPDX間多様性が評価できるかについて今後検討する。

(3) 細胞品質管理・特性解析と供給体制整備

微生物汚染の有無や程度の個別検出系を迅速・網羅的に評価する手法について、実用化に向け

て島津製作所と共同開発した核酸自動抽出機により細胞浮遊液から 10 分以内に高品位の核酸 (DNA) を得ることが可能なことが示され、細胞のウイルス汚染検査に使用可能なことが確認できた。本研究成果は再生医療等製品の細胞品質評価にも応用が期待できる。また、生体内発光イメージングによる前臨床試験評価系への細胞ツールの提供を目的として、安定 Luc 発現細胞株の開発を進め、CTOS のような 3 次元培養細胞の発光化改変のためトランスポゾン法による安定遺伝子改変方法検討を実施した。さらに、本研究によって開発した細胞資源の細胞プロファイル情報の充実化・データベース化を図るため、NCC オンコパネルに搭載されているがん関連 90 遺伝子の配列解析情報等の細胞情報データベースの構築を行い、細胞情報のカタログ化を進め、細胞分譲体制確立に向けて準備を進めた。

## 2. 総合評価

- ・優れている

### 【評価コメント】

PDX 技術と CTOS 技術を融合させて、これまで開発が困難であった培養がん細胞のヒトへの外挿性を向上させた生物資源の開発は創薬基盤として重要な研究で、意義のある成果が得られつつある。

しかし、PDX や CTOS の技術開発はほぼ順調に行われているが作製数が不足している。今後どのような研究に用いられるか、また大腸がんの CTOS パネルで薬剤感受性試験を行っているがそれに基づいてヒトで有効な薬をいかに選別するかについて明示すること。がん関連遺伝子プロファイリングができているものを先行すること。またヒトへの外挿性向上を十分に意識して研究を進めること。

以上