

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「iPS／アニマルモデル」

(患者腫瘍移植モデルと ex vivo 培養間のシャトルシステムによる革新的な臨床効果評価技術の開発)

2. 研究開発代表者：井上 正 宏 (地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立成人病センター)

3. 研究開発の成果

本研究は、ヒト臨床検体より採取したがん細胞を調製・培養・保存したり、免疫不全マウスへ移植したりすることによって、ヒトがんの特性を維持したアニマルモデルを作製し、革新的な創薬評価システムや種々の治療薬の臨床効果予測システムを構築するなど、希少がんをはじめとするヒトがんの臨床に直結する画期的なアニマルモデルの開発を目的とする。具体的には我々が開発した初代癌細胞調製培養法 (CTOS (cancer tissue-originated spheroid) 法) を用いて、大腸がん、肺がん、子宮頸部小細胞がんについて、患者間の多様性をカバーする CTOS パネルを構築し、CTOS の調製、培養、細胞株化、移植、継代における質的変化を病理学的、生化学的、分子生物学的に検証すること、さらに in vitro 培養系である CTOS 法とそのマウス移植腫瘍を相互利用するシャトルシステムを確立し、最適なスクリーニングシステムの構築を行うことを目的として行われた。H27年度は大腸がん、肺がん、子宮頸部小細胞がんの臨床腫瘍検体及びそれらの疾患患者からの血液を採取し、臨床検体から CTOS を調製・保存し、マウス移植腫瘍を作製した。大腸がん 26 例、肺がん 57 例、子宮頸部小細胞がん 1 例から同意書を取得し、CTOS の調製を行った。マウス移植腫瘍が 3 代以上継代可能であったものは大腸がん 9 例 (34.6%)、肺がん 9 例 (15.8%)、子宮頸部小細胞がん 1 例 (100%) であった。大腸がん 1 例、肺がん 2 例、子宮頸部小細胞がん 1 例については、マウス腫瘍から CTOS を調製したのち、2D 培養を行った。継代によるマウス移植腫瘍増殖の変化を比較検討した。大腸がんでは px1 で増殖速度が遅い傾向があり、以降は px5 まで大きな変化はなかった。継代を経るにつれて増殖速度が遅くなるものがあった。肺がんでは増殖速度は症例ごとに比較的一定しており、大腸がんに見られたような px1 で遅い傾向はなかった。患者腫瘍および各継代のマウス移植腫瘍を組織学的に比較検討した。それぞれの病理組織学的特徴が継代を通じて保持されていることが明らかになった。継代による薬剤感受性の変化を比較検討した。2 代継代腫瘍および 5 代継代腫瘍から CTOS を調製し、大腸がん治療で用いられる 5FU と Oxaliplatin の薬剤感受性試験を検討したところ、各継代間でほぼ同様の感受性を示した。大腸がん 9 例、肺癌 7 例、子宮頸部小細胞がん 1 例について同一患者の血球由来 DNA をリファレンスとしてゲノム解析を行った (がん研究会ゲノムセンター)。大腸がんと比較して、肺がんでは多数の遺伝子変異が検出された。ゲノム変化については、一部症例で継代によるゲノム変異の蓄積は観察されたが、概してシャトルシステムでは安定であると考えられる。ゲノム不安定性を示す症例は、継代によるゲノム変異の変化は注意する必要がある。スクリーニングシステムの構築に関しては、まず 100 剤程度の阻害剤パネル (化学療法基盤支援活動 標準阻害剤キット) のスクリーニングを、研究者がマニュアルで行った。大腸がんおよび子宮体癌 CTOS で実施可能であることを報告した (Yoshii 2015 Biomaterials, Kiyohara 2016 Cancer Science)。開発した自動分注機を用いて、2 例の大腸がん CTOS を対象に小規模薬剤パネルのスクリーニングを行った。機械の動作および一連のプロトコールが実現可能であることを確認できた。これらの結果から患者腫瘍移植モデルと ex vivo 培養間のシャトルシステムの有効性が確認できたことから、今後もパネルの拡充を継続して、患者間の多様性をカバーする CTOS パネルの構築を目指す。