

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 分子イメージングによる治療抵抗性腫瘍の薬物動態とがん微小環境研究
(英語) Pharmacokinetics and microenvironment analysis in refractory tumor using molecular imaging
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所臨床薬理研究分野
研究員 林 光博
- 所属 役職 氏名： (英語) Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center Research
Institute, Staff Scientist, Mitsuhiro Hayashi
- 実施期間： 平成 28 年 9 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 質量分析イメージングによる解析
開発課題名： (英語) Development of mass spectrometry imaging method
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所臨床薬理研究分野
研究員 林 光博
- 所属 役職 氏名： (英語) Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center
Research Institute, Staff Scientist, Mitsuhiro Hayashi
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所臨床薬理研究分野
分野長 濱田 哲暢
- 所属 役職 氏名： (英語) Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center Research
Institute, Chief, Akinobu Hamada
- 分担研究 (日本語) PDX 株の作製
開発課題名： (英語) Establishment of patient-derived xenograft model

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所臨床薬理研究分野
研究員 林 光博

所属 役職 氏名: (英語) Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center Research
Institute, Staff Scientist, Mitsuhiro Hayashi

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所動物実験支援施設
施設長 今井 俊夫

所属 役職 氏名: (英語) Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute,
Chief, Toshio Imai

分担研究 (日本語) がん微小環境の解析

開発課題名: (英語) Analysis of tumor microenvironment

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所臨床薬理研究分野
研究員 林 光博

所属 役職 氏名: (英語) Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center Research
Institute, Staff Scientist, Mitsuhiro Hayashi

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 中央病院乳腺・腫瘍内科
科長 田村 研治

所属 役職 氏名: (英語) Department of Breast and Medical Oncology, National Cancer Center
Hospital, Head, Kenji Tamura

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

本研究開発は質量分析イメージングと治療抵抗性非臨床モデルを用いて、腫瘍組織中の精緻な薬物分布を明らかにし、治療抵抗性に寄与するがん微小環境因子を探索することを目的とする。

(1) 質量分析イメージングによる解析

質量分析イメージングにて薬物組織分布を解析する場合、対象化合物や使用機器に応じたメソッド作成・最適化が必要である。本研究開発のモデル薬剤について、質量分析イメージング機器及び分析バリデーションとしての液体クロマトグラフィータンデム型質量分析機器における標準品を用いた測定メソッドを作成した。また薬物分布と関連した分子変動の解析及び抵抗性機序探索のため、酸化ストレスや血流関連分子、エネルギー代謝や脂質代謝など、主に分子量 1000 以下の 155 分子を対象とした質量分析イメージング用分子リストを作成、組織前処理方法と機器設定について検討を行った。これらを用いて PDX を含む乳癌ゼノグラフト 10 検体の網羅的解析を実施し、それぞれの組織内分子分布プロファイルが一様でないことが示された。

(2) PDX 株の作製

国立がん研究センター中央病院乳腺・腫瘍内科、乳腺外科、病理科、研究所動物実験支援施設と連携し、患者組織移植モデル (PDX) の作製を行い、乳癌の中でも治療標的が特定されておらず未だ予後不良である Triple-negative 6 株、標準化学療法であるアンストラサイクリン・タキサン系レジメンによる術前化学療法不応例 4 株を含む 13 株をこれまでに樹立した。樹立した株については ER、PgR、HER2、Ki67 といった乳癌標準バイオマーカーの評価を行い、また NCC オンコパネルを用いたターゲットシークエンスを順次行った。またこれまで国内に PDX を使用可能な動物実験受託 CRO が存在しなかったため、PDX を用いた薬物動態試験・抗腫瘍性試験を実用化すべく技術移管を行った。これらにより、治療抵抗性腫瘍の薬物動態解析に必要なモデルと評価系が準備できた。

(3) がん微小環境の解析

まず免疫組織学的評価による組織中の低酸素、がん幹細胞形質評価を乳癌細胞株と PDX について行い、蛍光色素と質量分析イメージングによる血球関連分子解析による血流評価系を作成した。治療抵抗性に寄与するがん幹細胞集団の特徴的な分子プロファイルを組織上にて解析すべく、質量分析イメージングを用いた標的領域での比較分析の検討と、樹立 PDX10 株に対するキャピラリー質量分析計と液体クロマトグラフィー質量分析計によるメタボローム解析を実施した。

英文

The purpose of this project is to clarify the precise drug distribution in refractory tumor tissue using mass spectrometry imaging and to explore tumor microenvironment factors contributing to treatment resistance.

1. Development of mass spectrometry imaging

When analyzing the drug tissue distribution using mass spectrometry imaging, it is necessary to prepare and optimize the method according to the target compound and equipment to be used. Measurement methods using mass spectrometry imaging and liquid chromatography-tandem mass spectrometry were prepared for the subject drug of this project. In addition, measurement lists for mass spectrometry imaging for 155 molecules such as oxidative stress, blood flow-related molecule, energy metabolism, and lipid metabolism were prepared and then pretreatment method and equipment setting were examined. Using these data, we comprehensively analyzed 10 samples of breast cancer xenograft including PDX, indicating that the inter/intra-tissue distribution of certain molecules were not uniform.

2. Establishment of patient-derived xenograft model

In collaboration with Department of Breast and Medical Oncology, Department of Breast Surgery, Department of Pathology, National Cancer Center Hospital, and Central Animal Division, National Cancer Center Research Institute, patient-derived tumor models (PDX) were prepared. A total of 13 breast cancer PDX lines, including 6 triple-negative cases and 4 neoadjuvant chemotherapy refractory cases, have been successfully established. For established PDX lines, breast cancer standard biomarkers, such as ER, PgR, HER2, and Ki67, were evaluated and target sequencing using NCC oncopanel was also performed. In order to put the drug preclinical test using PDX into

practical use, we instructed the company about the procedure for handling PDX, because there was no animal experiment company (CRO) that can use PDX. Therefore, we developed a model and evaluation system necessary for pharmacokinetic analysis of refractory tumor.

3. Analysis of tumor microenvironment

Hypoxia, cancer stem cell property in tumor tissue by conventional immunohistochemistry was performed on breast cancer cell lines and PDX, and then blood flow evaluation using mass spectrometry imaging was prepared. In order to analyze the molecular profile contributing to the treatment resistance on the tissue, the comparative analysis method in the target region using mass spectrometry imaging was examined and the metabolome analysis using capillary mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry was carried out on 10 PDX lines.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Evaluation of tissue drug distribution by mass spectrometry imaging, 口頭, 林光博, 日本薬物動態学会第 31 回年会シンポジウム, 2016/10/13, 国内
2. 質量分析イメージングを用いた抗悪性腫瘍薬の組織内分布解析, ポスター, 林光博, 第 2 回 AMED がん若手研究者ワークショップ, 2016/11/29, 国内
3. Evaluation of tissue drug distribution by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging, ポスター, 林光博, Alberta-Japan Agency for Medical Research and Development Workshop for Medical Innovation, 2017/2/25, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし