

令和元年6月10日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08742

研究課題名(和文) 新規高度免疫不全マウスを用いたヒトがん微小環境療法モデルの樹立

研究課題名(英文) Establishment of human cancer microenvironment mouse model

研究代表者

岡田 誠治 (OKADA, SEIJI)

熊本大学・エイズ学研究センター・教授

研究者番号：50282455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：胆管細胞癌の肺転移・肝転移モデルを作成し、CD147が上皮間葉転換により転移に重要であることを示した。肝吸虫感染に由来する胆管細胞癌を用いて患者腫瘍組織移植モデル(Patient-derived xenografts; PDX)の作成を試みた。16例中12例でPDXが樹立され、PDXから5例の細胞株が樹立された。原発性滲出性リンパ腫ではオートファジーが亢進しており、オートファジーを阻害するとERストレスが亢進してアポトーシスに陥ること、転写因子PU.1がメチル化されており、PU.1の活性化によりアポトーシスに陥ることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高度免疫不全マウスへの移植系を用いて難治性腫瘍であるヒト胆管細胞癌と悪性リンパ腫にヒト由来腫瘍細胞を移植する事でマウス生体内に「ヒトのがん微小環境」を構築した。本系は、ヒト腫瘍のAvatarとして難治性腫瘍の病態解析と治療薬開発に有用な系として期待される。また、悪性リンパ腫のエピジェネティックな制御機構の一端を解明し、新規治療法開発の可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)：We established cholangiocarcinoma lung and liver metastasis model, and showed that CD147 played important role for epithelial-mesenchymal transition and metastasis. We also established patient-derived xenograft (PDX) model of liver fluke derived cholangiocarcinoma. Five cell lines were established from 12 PDX samples.

We showed that autophagy is accelerated in Primary effusion lymphoma (PEL) and inhibition of autophagy induced apoptosis for PEL cells. We also showed that transcriptional factor, PU.1, is methylated in PEL cells and activation of PU.1 induced apoptosis for PEL cells. These results indicate that epigenetic regulation can be important target for treatment of PEL.

研究分野：腫瘍学

キーワード：患者由来腫瘍移植モデル 高度免疫不全マウス 胆管細胞癌 悪性リンパ腫 固形癌 がん微小環境

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍組織は、がん細胞に加えてマクロファージをはじめとする免疫細胞、血管やリンパ管、線維芽細胞や間葉系幹細胞などの細胞が存在し、「がん微小環境」を構築している。がん微小環境は、がん幹細胞の維持や癌細胞の増殖、浸潤転移などを制御している。中でも腫瘍関連マクロファージ(Tumor associated macrophage: TAM)とがん関連線維芽細胞(Cancer associated fibroblast: CAF)は、腫瘍の増殖・血管新生・転移に特に重要な役割を果たしており、腫瘍増殖を促進する。そこで、がん細胞に加えてこれらの「がん微小環境」を構成する細胞群を標的とした治療法の開発が望まれている。そこで、高度免疫不全マウスに患者由来腫瘍を移植する事でマウス体内にヒト癌微小環境を構築し、その病態解析とがん微小環境を標的とする「がん微小環境標的療法」のモデル系を樹立することを目的に研究を行う。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、高度免疫不全マウスへの移植系を用いてマウス体内でがん微小環境を再現し、がん微小環境を標的とした治療モデルを確立する事である。特にヒト胆管細胞癌と悪性リンパ腫をモデルにマウス生体内に「ヒトのがん微小環境」を構築し、その標的療法の実用化を目指す。そのために、患者由来の腫瘍サンプル移植モデル(Patient-derived xenograft)、腫瘍細胞株とマクロファージまたは線維芽細胞の同時移植モデルを樹立して、解析と治療法開発を行う。

### 3. 研究の方法

胆管細胞癌細胞株を高度免疫不全マウスに移植した系を用いて転移モデルを作成しその解析を行う。また、患者由来腫瘍細胞塊を高度免疫不全マウスに移植し、患者腫瘍組織移植モデルを作成して、その機能を解析する。同様の解析を悪性リンパ腫を用いて行う。また、他の固形腫瘍においても患者腫瘍組織移植モデルの作成を試みる。

### 4. 研究成果

胆管細胞癌腫瘍株の移植モデルマウスを用いて、肺転移・肝転移モデルを作成した。特にCD147が上皮間葉転換により転移に重要であることを示した。胆管癌細胞株をがん関連線維芽細胞と同時移植すると腫瘍形成が早まることから、胆管細胞癌においてはがん関連線維芽細胞が腫瘍増殖に重要な働きを示すことを見いだした。肝吸虫感染に由来する胆管細胞癌を用いて患者腫瘍組織移植モデル(Patient-derived xenografts; PDX)の作成を試みた。16例中12例でPDXが樹立され、PDXから5例の細胞株が樹立された。

原発性滲出性リンパ腫(Primary effusion lymphoma; PEL)ではオートファジーが亢進しており、オートファジーを阻害するとERストレスが亢進してアポトーシスに陥ることを示した。更に、PELでは転写因子PU.1がメチル化されており、PU.1の活性化によりPEL細胞はアポトーシスに陥ることを証明した。消化管間質腫瘍(Gastrointestinal stromal tumor; GIST)の手術サンプルを高度免疫不全マウス皮下に移植して、患者腫瘍組織移植モデル(Patient-derived xenografts; PDX)の作成を試みたが、残念ながら移植15例すべてでPDXの作成はできなかった。胃癌、食道癌、膵癌で1例ずつPDXの樹立が確認できたので、今後解析の予定である。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計36件)

1. Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kariya R, Muisuk K, Imtawil K, Chamgramol Y, Bhudhisawasdi V, Khuntikeo N, Pugkhem A, Saeseow O-T, Silsirivanit A, Wongkham C, Wongkham S, Okada S. Establishment of Highly Transplantable Cholangiocarcinoma Cell Lines from a Patient-Derived Xenograft Mouse Model. *Cells* 23;8(5). pii: E496. 2019 [査読有]
2. Sittithumcharee G, Suppramote O, Vaeteewoottacharn K, Sirisuksakun C, Jammongsong S, Lapanuwat P, Suntiparpluacha M, Matha A, Chusorn P, Buraphat P, Kakanaporn C, Changkeaw K, Silsirivanit A, Korphaisarn K, Limsrichamrern S, Tripatara P, Pairojkul C, Wongkham S, Sampattavanich S, Okada S, Jirawatnotai S. Dependency of Cholangiocarcinoma on Cyclin D-Dependent Kinase Activity. *Hepatology*. In press 2019. doi: 10.1002/hep.30704 [査読有]
3. Hagiwara S, Nagai H, Saito A, Tanaka J, Okada S. The current state of human immunodeficiency virus-associated lymphoma in Japan: a nationwide retrospective study of the Japanese Society of Hematology Blood Disease Registry. *Int J Hematol*, in press 2019 [査読有]
4. Hamada K, Maeda Y, Mizutani A, Okada S. The Phosphatidylinositol 3-Kinase p110 $\alpha$ /PTEN Signaling Pathway Is Crucial for HIV-1 Entry. *Biol Pharm Bull*. 42(1):130-138, 2019 [査読有]
5. Vaeteewoottacharn K, Kariya R, Pothipan P, Fujikawa S, Pairojkul C, Waraasawapati S, Kuwahara K, Wongkham C, Wongkham S, Okada S. Attenuation of CD47-SIRP $\alpha$  Signal in Cholangiocarcinoma Potentiates Tumor-Associated Macrophage-Mediated Phagocytosis and Suppresses Intrahepatic Metastasis. *Transl Oncol*.12(2):217-225, 2018. [査読有]
6. \*Yotsumoto M, Ito Y, Hagiwara S, Terui Y, Nagai H, Ota Y, Ajisawa A, Uehira T, Tanuma J, Ohyashiki K, Okada S. HIV positivity may not have a negative impact on survival in Epstein-Barr virus-positive Hodgkin lymphoma: A Japanese nationwide retrospective survey. *Oncol Lett*. 16(3):3923-3928,2018. [査読有]

7. Kawano K, Doucet AJ, Ueno M, Kariya R, An W, Marzetta F, Kuroki M, Turelli P, Sukegawa S, Okada S, Strebel K, Trono D, Ariumi Y. HIV-1 Vpr and p21 restrict LINE-1 mobility. *Nucleic Acids Res.* 46(16):8454-8470, 2018 [査読有]
8. Laphanuwat P, Likasitwatanakul P, Sittithumcharee G, Thaphaengphan A, Chomanee N, Suppramote O, Ketaroonrut N, Charnkhaew K, Lam EW, Okada S, Panich U, Sampattavanich S, Jirawatnotai S. Cyclin d1 depletion interferes with cancer oxidative balance and sensitizes cancer cells to senescence. *J Cell Sci.* 131(12): pii: jcs214726, 2018 [査読有]
9. Koizumi Y, Imadome KI, Ota Y, Minamiguchi H, Kodama Y, Watanabe D, Mikamo H, Uehira T, Okada S, Shirasaka T. Dual Threat of Epstein-Barr Virus: an Autopsy Case Report of HIV-Positive Plasmablastic Lymphoma Complicating EBV-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *J Clin Immunol* 38(4):478-483, 2018 [査読有]
10. Kudo E, Taura M, Suico MA, Goto H, Kai H, and \*Okada S. Transcriptional regulation of HIV-1 host factor COMMD1 by the Sp family. *Int J Mol Med.* 41:2366-2374, 2018 [査読有]
11. Chotinantakul K, Chansiw N, and \*Okada S. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from Thai fermented pork in Chiang Rai Province, Thailand. *J Glob Antimicrob Resist* 12:143-148, 2018 [査読有]
12. Aimvijarn P, Palipoch S, Okada S, Suwannalert P. Thai Water Lily Extract Induces B16 Melanoma Cell Apoptosis and Inhibits Cellular Invasion Through the Role of Cellular Oxidants. *Asian Pac J Cancer Prev* 19(1):149-153, 2018 [査読有]
13. Ogata-Aoki H, Higashi-Kuwata N, Hattori SI, Hayashi H, Danish M, Aoki M, Shiotsu C, Hashiguchi Y, Hamada A, Kobayashi H, Ihn H, Okada S, and Mitsuya H. Raltegravir blocks the infectivity of red-fluorescent-protein (mCherry)-labeled HIV-1JR-FL in the setting of post-exposure prophylaxis in NOD/SCID/Jak3<sup>-/-</sup> mice transplanted with human PBMCs. *Antiviral Res* 149:78-88, 2018 [査読有]
14. Higashi-Kuwata N, Ogata-Aoki H, Hattori SI, Hayashi H, Danish M, Aoki M, Shiotsu C, Kawamura T, Ihn H, Kobayashi H, Okada S, \*Mitsuya H. Early phase dynamics of traceable mCherry fluorescent protein-carrying HIV-1 infection in human peripheral blood mononuclear cells-transplanted NOD/SCID/Jak3<sup>-/-</sup> mice. *Antiviral Res.* 144:83-97, 2017 [査読有]
15. Tsukamoto T, Okada S. The use of RetroNectin in studies requiring in vitro HIV-1 infection of human hematopoietic stem/progenitor cells. *J Virol Methods* 248:234-237, 2017 [査読有]
16. Saentaweek W, \*Araki N, Vaeteewoottacharn K, Silsirivanit A, Seubwai W, Talabnin C, Muisuk K, Sripa B, Wongkham S, Okada S, \*Wongkham C. Activation of Vimentin is Critical to Promote a Metastatic Potential of Cholangiocarcinoma Cells. *Oncol Res* 26(4):605-616, 2018 [査読有]
17. Hassan WA, Takebayashi SI, Abdalla MOA, Fujino K, Kudoh S, Motooka Y, Sato Y, Naito Y, Higaki K, Wakimoto J, Okada S, Nakao M, Ishikawa Y, \*Ito T. Correlation between histone acetylation and expression of Notch1 in human lung carcinoma and its possible role in combined small-cell lung carcinoma. *Lab Invest* 97(8):913-921, 2017 [査読有]
18. Goto H, Kariya R, Kudo E, Okuno Y, Ueda K, Katano H and \*Okada S. Restoring PU.1 induces apoptosis and modulates viral transactivation via interferon-stimulated genes in primary effusion lymphoma. *Oncogene* 36(37):5252-5262, 2017 [査読有]
19. Kojima Y, \*Hayakawa F, Morishita T, Sugimoto K, Iwase M, Yamamoto H, Hirano D, Imoto N, Shimada K, Okada S, and Kiyoi H. YM155 induces apoptosis through proteasome-dependent degradation of MCL-1 in primary effusion lymphoma. *Pharmacol Res* 120:242-251, 2017 [査読有]
20. Dana P, Kariya R, Vaeteewoottacharn K, Sawanyawisuth K, Seubwai W, Matsuda K, \*Okada S, and \*Wongkham S. Upregulation of CD147 Promotes Metastasis of Cholangiocarcinoma by Modulating the Epithelial-to-Mesenchymal Transitional Process. *Oncol Res* 25(7):1047-1059, 2017 [査読有]
21. Dana P, \*Vaeteewoottacharn K, Kariya R, Matsuda K, Wongkham S, and \*Okada S. Repurposing cimetidine for cholangiocarcinoma: antitumor effects *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Lett* 13(3): 1432-1436, 2017 [査読有]
22. \*Koizumi Y, Uehira T, Ota Y, Ogawa Y, Yajima K, Tanuma J, Yotsumoto Y, Hagiwara S, Ikegaya S, Watanabe D, Minamiguchi H, Hodohara K, Mikamo H, Wada H, Ajisawa A, Shirasaka T, Nagai H, Kodama Y, Hishima T, Mochizuki M, Katano H, Okada S. Clinical and pathological aspects of human immunodeficiency virus-associated plasmablastic lymphoma –Analysis of 24 cases in Japan-. *Int J Hematol*, 104(6):669-681, 2016 [査読有]
23. Alam MM, Kariya R, Kawaguchi A, Matsuda K, Kudo E, and \*Okada S. Inhibition of autophagy by chloroquine induces apoptosis in primary effusion lymphoma *in vitro* and *in vivo* through induction of endoplasmic reticulum stress. *Apoptosis* 21(10):1191-1201, 2016 [査読有]
24. Uthaisar K, Vaeteewoottacharn K, Seubwai W, Talabnin C, Sawanyawisuth K, Obchoei S, Kraiklang R, \*Okada S, \*Wongkham S. Establishment and characterization of a novel human cholangiocarcinoma cell line with high metastatic activity. *Oncol Rep* 36(3):1435-1446, 2016 [査読有]

25. \*Tsukamoto T, Yamamoto Y, Okada S, and Matano T. Recursion-based depletion of human immunodeficiency virus-specific naïve CD4+ T cells may facilitate persistent viral replication and chronic viraemia leading to acquired immunodeficiency syndrome. *Med Hypotheses* 94:81-85, 2016 [査読有]
26. Okai S, Usui F, Yokota S, Hori-I Y, Hasegawa M, Nakamura T, Kurosawa M, Okada S, Yamamoto K, Nishiyama E, Mori H, Yamada T, Kurokawa K, Matsumoto S, Nanno N, Naito T, Watanabe Y, Kato T, Miyauchi E, Ohno H, and \*Shinkura R. High-affinity monoclonal IgA regulates gut microbiota and prevents colitis in mice. *Nat Microbiol* 1(9):16103, 2016 [査読有]
27. Itamura H, \*Shindo T, Tawara I, Kubota Y, Kariya R, Okada S, Komanduri KV, and \*Kimura S. The MEK inhibitor Trametinib separates murine graft-versus-host disease from Graft-versus-tumor effects. *JCI insight* 1(10):e86331, 2016 [査読有]
28. Kojima Y, Iwasaki N, Yanaga Y, Tanuma J, Koizumi Y, Uehira T, Yotsumoto M, Ajisawa A, Hagiwara S, Okada S and \*Nagai H. End-of-life care for human immunodeficiency virus-infected patients with malignancies: a questionnaire-based survey. *Palliative Med* 30(9):869-876, 2016 [査読有]
29. \*Seubwai W, Vaeteewoottacharn K, Kraiklang R, Umezawa K, Okada S, and Wongkham S. Inhibition of NF-κB activity enhances sensitivity to anticancer drug in cholangiocarcinoma cells. *Oncol Res* 23(1): 21-28, 2016 [査読有]
30. Ueda N, Zhang R, Tatsumi M, Liu T-Y, Kitayama S, Yasui Y, Sugai S, Iwama T, Senju S, Okada S, Nakatsura T, Kuzushima K, Kiyoi H, Naoe T, \*Kaneko S and \*Uemura Y. BCR-ABL-specific CD4+ T helper cells promote the priming of antigen-specific cytotoxic T cells via dendritic cells. *Cell Mol Immunol* 3(6):668-677, 2016 [査読有]
31. Goto H, Kariya R, Matsuda K, Kudo E, Katano H, and \*Okada S. A potential role of the NOD genetic background in mouse peritoneal macrophages for the development of primary effusion lymphoma. *Leuk Res* 42(1):37-42, 2016 [査読有]
32. Suico MA, Taura M, Kudo E, Shuto T, Okada S, and H \*Kai. The ETS factor Myeloid Elf-1-like Factor (MEF/Elf4) is transcriptionally and functionally activated by hypoxia. *Biol Pharm Bull* 39(4):641-647, 2016 [査読有]
33. Vaeteewoottacharn K, Kariya R, Dana P, Fujikawa S, Matsuda K, Ohkuma K, Kudo R, Kraiklang R, Wongkham C, Wongkham S, and \*Okada S. Inhibition of carbonic anhydrase potentiates bevacizumab treatment in cholangiocarcinoma. *Tumor Biol* 37(7):9023-9035, 2016
34. 岡田誠治 . 高度免疫不全マウスの開発と医学生命科学研究への活用 . *Cytometry Research* 27(1):1-7, 2017 [査読有]
35. 岡田誠治 . 患者腫瘍移植マウスモデル(Patient-Derived Tumor Xenograft: PDX)とその活用 - 個別化がん治療(Precision Cancer Medicine)に向けて - . *Cytometry Research* 27(2):51-56, 2017 [査読有]
36. 岡田誠治 . Primary Effusion Lymphoma の発症機序と治療の進歩 . *血液内科* 76(3):334-339, 2018 [査読無]

[学会発表](計 8件)

1. 岡田誠治 . 高度免疫不全マウスを用いた患者腫瘍移植マウスモデル(Patient-Derived Tumor Xenograft: PDX) の樹立とその活用 - 個別化がん治療(Precision Cancer Medicine)に向けて - . 第 27 回日本サイトメトリー学会学術集会教育講演 個別化がん治療に向けたヒト腫瘍モデルの新たな展開 . 第 27 回日本サイトメトリー学会学術集会教育講演 神戸国際会議場 2017年6月10-11日、神戸
2. Seiji Okada, Ryusho Kariya, Hiromi Muraoka, Chieko Yoshimura, Eriko Kudo. TAS4464, NEDD8 activating enzyme inhibitor, induces apoptosis for Primary effusion lymphoma cells. 37th World Congress of the International Society of Hematology. 口頭発表 2018/9/12-16 バンクーバー 国外
3. Jutatip Panaampon, Ryusho Kariya, Seiji Okada. SLAMF7 (CD319/CS1): A Potential New Therapeutic Target for the Treatment of Primary Effusion Lymphoma. 口頭発表 37th World Congress of the International Society of Hematology. 2018/9/12-16 バンクーバー 国外
4. Jutatip Panaampon, Ryusho Kariya, Seiji Okada. Effect of Anti-SLAMF7 Antibody on NK Cells Mediate Cytotoxicity Against Primary Effusion Lymphoma. 口頭発表 2018/10/12-14. 大阪 国内
5. Seiji Okada, Eriko Kudo, Jutatip Panaampon, Hiromi Muraoka, Chieko Yoshimura, Ryusho Kariya. TAS4464, NEDD8 activating enzyme inhibitor, induces apoptosis for Primary effusion lymphoma cells. ポスター発表 2018/10/12-14. 大阪 国内
6. Seiji Okada. Evaluation of therapeutic antibodies for malignant lymphoma using immunocompromised mouse model. Federation of Immunological Societies of Asia-Oceania (FIMSA) Congress. 口頭発表(招待講演) 2018/11/10-13. バンコク 国外
7. 岡田誠治 . 効率良い薬剤開発と Reduction を目指した新規高度免疫不全マウスを用いた評価系の樹立 . 日本動物実験代替法学会第 31 会大会 . 口頭発表特別講演 ) 2018/11/23-25. 熊

本 国内

8. Seiji Okada. Establishment of patient-derived xenograft (PDX) mice from liver fluke-associated cholangiocarcinoma. 口頭発表 Asia - Pacific Scientific Workshop. シンガポール 2019/3/5-6  
国外

〔図書〕(計 1 件)

1. 岡田誠治. ヒト化マウスを用いたヒトウイルス感染症モデルの樹立とその応用 .pp117-122.  
実験動物感染症と感染症動物モデルの現状 . 日本実験動物学会実験動物感染症対策委員会  
編 アイベック 東京 2016 年 3 月

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：腫瘍細胞選択的抗がん剤

発明者：有馬英俊 本山敬一 東大志 岡田誠治

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2018-076855

出願年：2018 年

国内外の別：国内

取得状況 (計 1 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

熊本大学エイズ学研究センター岡田研究室

<http://www.caids.kumamoto-u.ac.jp/data/okada/default.html>

岡田 誠治 | 研究紹介 | がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動

<http://ganshien.umin.jp/research/spotlight/okada/index.html>

【KUMADAI NOW】 岡田 誠治 教授 (エイズ学研究センター)

<https://www.youtube.com/watch?v=RJNjHjMKzHU>

岡田 誠治 &#8212; Kumamoto University

<https://kumamoto.pure.elsevier.com/ja/persons/seiji-okada>

プレスリリース

<https://www.kumamoto-u.ac.jp/daigakujouhou/kouhou/pressrelease/2017-file/release170511.pdf>

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：