

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16345

研究課題名(和文)膵神経内分泌腫瘍におけるPDXモデルの樹立と解析

研究課題名(英文)Establishment of PDX model in pancreatic neuroendocrine tumor

研究代表者

小川 康介(OGAWA, KOSUKE)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40618112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は膵癌4例、膵神経内分泌腫瘍6例、膵SPN1例の患者で、PDXモデルの作成を行った。膵癌で移植した4例中3例で、実験に使用可能な第3世代以降のPDXモデルを作成し、樹立に成功した。さらに膵癌PDXモデル3例中で、2例に肺転移を確認し、自然発生した肺転移を見ることができる系が作成された。これについては現在論文投稿中である。また、希少がんである膵神経内分泌腫瘍2例で第二世代(1cmまで腫瘍を増殖し、次のNSGマウスに移植した段階)まで到達し、次に移植して第3世代を作成できれば、実際の動物実験に用いることができる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌のPDXモデル3系統の樹立に成功し、自然に肺転移を起こす膵癌のPDXモデル2系統の作成に成功した。また、希少がんである膵神経内分泌腫瘍2系統でのPDXモデル2系統の樹立中であり、人からマウスへの腫瘍移植の次段階である、マウスからマウスへの移植まで成功している。PDXモデルは患者腫瘍の微小環境を忠実に再現していて、動物実験の中でも臨床研究の前段階の前臨床モデルとして重要視されている。これを膵癌と膵神経内分泌腫瘍で樹立したことの社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：We created a PDX model in 4 patients with pancreatic cancer, 6 with pancreatic neuroendocrine tumors, and 1 with pancreatic SPN. In 3 of 4 cases transplanted for pancreatic cancer, we created a PDX model of the 3rd generation or later that can be used in the experiment and succeeded in establishing it. Furthermore, among 3 cases of pancreatic cancer PDX model, lung metastasis was confirmed in 2 cases, and a system was created in which spontaneous lung metastasis can be seen. This is currently being submitted as a treatise. In addition, if two rare pancreatic neuroendocrine tumors can reach the second generation (the stage where the tumor grows to 1 cm and is transplanted to the next NSG mouse), and then transplanted to create the third generation, it will actually be possible. Can be used for animal experiments.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：膵癌 膵神経内分泌腫瘍 PDXモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

PDX モデルは、heterogeneity を有するヒトの腫瘍を、重度免疫不全マウスに直接移植することで、マウス体内で増殖しながら忠実に再現することができるモデルであり、個々の患者のがん組織を再現できるモデルとして、世界中で開発計画が進行していた。

2. 研究の目的

申請者は、2017年3月までの二年間、米国ブラウン大学 Liver Research Center にて、膵癌の実臨床検体を重度免疫不全マウスに移植して PDX モデルを作成する研究に従事しており、ヒト患者膵癌検体がマウス体内で高率に肺転移を起こす系の樹立に成功、現在論文投稿中で 2017年4月より当科に帰学している。図2に申請者が作成した膵癌 PDX モデル腫瘍の H&E 染色像を示すが、従来型の膵癌細胞株モデルと異なり、患者腫瘍と同様に豊富な間質を有し、腺構造を保っている。同手法を用い、膵神経内分泌腫瘍の High volume center である当科において、この PDX モデルの樹立を企図し、現在、本学医学部倫理審査委員会への倫理申請が承認され (M2000-1080) 現在動物実験申請を行っている段階である。また、PDX モデルは、ヒト腫瘍の微小環境を再現することができるモデルであるため、図3に示すような、腫瘍の間質への浸潤を示すことがある。PDX モデルマウス内で、肺・肝・リンパ節など各臓器への転移も検索し、このような浸潤を示す細胞との関連を解析する予定である。

当科では、膵癌と希少がんである膵神経内分泌腫瘍で PDX モデルを作成し、基礎研究と臨床研究の橋渡しとなる前臨床モデルの作成を目的とした。

3. 研究の方法

手術で摘出した患者腫瘍から 3mm 角の検体を切り出し、重度免疫不全マウスである NOD.Cg-Prkdcscid112rgtm1Wjl/SzJ マウス (NSG マウス) の背部皮下に移植し、継代する。腫瘍が生着すれば、これをマウス体内で継代し、安定した系とみなされる第三世代のマウス腫瘍を、original の腫瘍と病理学的、免疫組織学的に比較し、P-NET の PDX モデルとして患者腫瘍を再現できているか判定する。本研究は P-NET での PDX モデルの樹立と解析が目的であるため、評価点としては

第一世代の腫瘍が生着するか、その成長速度

各世代の腫瘍の成長速度

第三世代腫瘍の、患者腫瘍との病理学的・免疫組織学的な相同性

肺・肝・リンパ節等の転移病変の有無

とし、元の患者腫瘍と臨床病理学的に比較検討、2年程度で最低 10 例の樹立を目指す。膵癌での第 1 世代の生着率は 30-80% と報告されており、我々の手法で膵癌の NSG マウスへの生着率は 50% であった。膵神経内分泌腫瘍での生着率は不明であるが、膵癌に比して低いと予想され、10 症例の樹立を目指す、連続する 30-40 症例での移植が必要となると考えられる。また、免疫組織学的染色では、original 腫瘍と第三世代の PDX の腫瘍で、synaptophysin, chromogranin A, CD56, 各種細胞などの NET としての性状の相同性、ならびに Ki-67 index, Mitosis index などの増殖能の相同性を検索する。

4. 研究成果

我々は膵癌 4 例、膵神経内分泌腫瘍 6 例、膵 SPN1 例の患者で、PDX モデルの作成を行った。膵癌で移植した 4 例中 3 例で、実験に使用可能な第 3 世代以降の PDX モデルを作成し、樹立に成功した。さらに膵癌 PDX モデル 3 例中で、2 例に肺転移を確認し、自然発生した肺転移を見ることができる系が作成された。これについては現在論文投稿中である。また、希少がんである膵神経内分泌腫瘍 2 例で第二世代 (1cm まで腫瘍を増殖し、次の NSG マウスに移植した段階) まで到達し、次に移植して第 3 世代を作成できれば、実際の動物実験に用いることができる。

この膵癌 PDX モデルを用いた研究に関連して 2 論文を投稿した。

Prometastatic secretome trafficking via exosomes initiates pancreatic cancer pulmonary metastasis.

Ogawa K, Lin Q, Li L, Bai X, Chen X, Chen H, Kong R, Wang Y, Zhu H, He F, Xu Q, Liu L, Li M, Zhang S, Nagaoka K, Carlson R, Safran H, Charpentier K, Sun B, Wands J, Dong X. *Cancer Lett.* 2020 Jul 1;481:63-75. doi: 10.1016/j.canlet.2020.02.039. Epub 2020 Mar 4.

Aspartate -hydroxylase promotes pancreatic ductal adenocarcinoma metastasis through activation of SRC signaling pathway.

Ogawa K, Lin Q, Li L, Bai X, Chen X, Chen H, Kong R, Wang Y, Zhu H, He F, Xu Q, Liu L, Li M, Zhang S, Nagaoka K, Carlson R, Safran H, Charpentier K, Sun B, Wands J, Dong X. *J Hematol Oncol.* 2019 Dec 30;12(1):144. doi: 10.1186/s13045-019-0837-z.

また、膵癌 PDX モデルは実際の研究モデルでも使用可能であり、今回膵癌の癌細胞株モデルで有力と考えられた化合物 X について、膵癌 PDX モデルでの有効性を確認することができた。この結果については現在論文投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ogawa Kosuke, Lin Qiushi, Li Le, Bai Xuwei, Chen Xuesong, Chen Hua, Kong Rui, Wang Yongwei, Zhu Hong, He Fuliang, Xu Qinggang, Liu Lianxin, Li Min, Zhang Songhua, Nagaoka Katsuya, Carlson Rolf, Safran Howard, Charpentier Kevin, Sun Bei, Wands Jack, Dong Xiaoqun	4. 巻 481
2. 論文標題 Prometastatic secretome trafficking via exosomes initiates pancreatic cancer pulmonary metastasis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 63~75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2020.02.039	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Kosuke, Lin Qiushi, Li Le, Bai Xuwei, Chen Xuesong, Chen Hua, Kong Rui, Wang Yongwei, Zhu Hong, He Fuliang, Xu Qinggang, Liu Lianxin, Li Min, Zhang Songhua, Nagaoka Katsuya, Carlson Rolf, Safran Howard, Charpentier Kevin, Sun Bei, Wands Jack, Dong Xiaoqun	4. 巻 12
2. 論文標題 Aspartate -hydroxylase promotes pancreatic ductal adenocarcinoma metastasis through activation of SRC signaling pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Hematology & Oncology	6. 最初と最後の頁 0~0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13045-019-0837-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田邊 稔 (tanabe minoru)		
研究協力者	小野 宏晃 (ono hiroaki)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田中 真二 (tanaka shinji)		
研究協力者	工藤 篤 (Kudo atsushi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関