

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24590478

研究課題名(和文) 前臨床試験を目指した病理学的に正確な脳腫瘍マウスモデルの開発

研究課題名(英文) Development of histologically accurate brain tumor mouse models for preclinical trial

研究代表者

百田 洋之 (MOMOTA, Hiroyuki)

東京大学・医科学研究所・講師

研究者番号：60469971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：悪性脳腫瘍の治療成績は悪く、新たな治療法の開発には正確な動物モデルの使用が必要である。RCAS/tv-aシステムと呼ばれるマウスモデルは、RCASウイルスを用いて癌遺伝子をtv-aマウスの脳細胞へ導入し、マウスの脳から直接腫瘍を発生させることができ、腫瘍の病理組織や微小環境を正確に再現できる特徴がある。本研究により、このマウスモデルを日本に初めて導入し、種々の脳腫瘍モデルの作成と薬物治療効果の確認、脳腫瘍発生機構の解明を行うことができ、今後のさらなる脳腫瘍の病態解明と治療開発へ繋がる結果となった。

研究成果の概要(英文)：Malignant brain tumors are the most devastating human cancers and accurate mouse models of these tumors are essential in order to develop optimal therapies. The RCAS/tv-a mouse model system is used to create histologically accurate brain tumors by RCAS virus-mediated gene transfer into the brain cells expressing tv-a receptor. I have introduced and established these mouse models first in Japan, successfully developed brain tumors in mice, and investigated drug efficacy and the mechanisms of tumorigenesis. These results will further expand the research on brain tumor biology and the development of new treatments for brain tumors.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：脳腫瘍 マウスモデル 前臨床試験 生体イメージング 神経膠腫 髄芽腫 トランスレーショナルリサーチ

#### 1. 研究開始当初の背景

神経膠腫や髄芽腫などの悪性脳腫瘍は、治療が困難で、治療法の開発も遅れている。その原因として、脳という特殊な環境を動物で再現することが難しいこと、希少な疾患のためヒトでの大規模な研究が難しいこと、などが挙げられる。脳腫瘍の動物モデルとして、ヒトの腫瘍細胞をマウスに移植するものが使われていたが、この方法ではヒトの脳腫瘍を正確に再現できず、動物実験の結果も実際のヒトでの効果とは異なっていた。より正確な脳腫瘍のマウスモデルと、それをを用いた治療法の開発が求められていた。

#### 2. 研究の目的

種々のヒト悪性脳腫瘍に対し、遺伝学的・組織学的に正確なマウスモデルを作成し、そのモデルを使用して脳腫瘍の治療薬や治療法を開発することを目的とした。また、これらの脳腫瘍マウスモデルを用いることで、悪性脳腫瘍の分子生物学的な発生機構を解明することも目標とした。

#### 3. 研究の方法

脳腫瘍をマウスの脳細胞から発生させる RCAS/tv-a システムという方法を用いた。このシステムは、癌遺伝子を組み込んだレトロウイルス (RCAS) と、脳細胞に RCAS の受容体 (tv-a) を発現する遺伝子改変マウスから成る。RCAS をマウスの脳へ注入し感染させると、細胞選択的な癌遺伝子の導入が起こり、脳腫瘍が発生する。神経膠細胞に特異的に発現している GFAP や nestin のプロモーターの調節下に tv-a 受容体が発現するような Gtv-a マウス、と Ntv-a マウスが既に作成されている<sup>1)</sup>。これらのマウスの脳にヒトの神経膠腫で高発現している癌遺伝子 (Akt や PDGFB) またはヒト髄芽腫で活性化している癌遺伝子 (Shh や c-Myc) 等を RCAS で導入することにより、組織学的にヒトと同様の神経膠腫や髄芽腫をマウスに発生させることができる<sup>2,3)</sup>。これらのマウスモデルや発生した腫瘍細胞を用いて、脳腫瘍に対する治療薬の効果の確認や、脳腫瘍発生機構の解明を行った。

#### 4. 研究成果

(1) マウスモデルの開発として、日本で初めてとなる Gtv-a マウスと Ntv-a マウスを米国から輸入し、p53 欠損マウスとの交配種を含め、複数のマウス系統を確立した。

(2) PDGFB や Shh などの癌遺伝子を RCAS によりマウス脳へ導入し、神経膠腫と髄芽腫の作成・再現に成功した。

(3) c-Myc や p53 short hairpin を RCAS で導入し、新たな脳腫瘍モデルの作成を行った。また、c-Myc アイソフォームの違いによる髄芽腫の発生機序について新たな知見を得た。

(4) 赤色蛍光蛋白 mKate2、緑色蛍光蛋白 GFP、発光酵素 luciferin を RCAS により導入することで、蛍光・発光イメージングによる脳腫瘍のモニタリングが可能となった。

(5) 薬剤投与試験として、テモゾロミドを脳腫瘍マウスへ投与し、治療効果を発光イメージングにて確認できた。

(6) マウスモデルと作成した神経膠腫の腫瘍細胞株を用いて、ガングリオシド GD3 の脳腫瘍発生への関わりを解明した。

(7) 予期せぬ成果として、新たな経頭蓋脳内注射法を発見し、マウスモデルを用いて有効性を検証し、論文発表した。

(8) RCAS/tv-a システムによる脳腫瘍マウスモデルは、脳腫瘍発生機構の解明から薬剤効果の判定まで幅広い用途に応用でき、極めて有用な研究ツールである。本研究により、RCAS/tv-a 脳腫瘍モデルを国内に初めて導入でき、目的としたマウス脳腫瘍の作成と使用の成果がほぼ達成された。今後のさらなる脳腫瘍の病態解明と治療開発へ繋がる結果となった。

#### <引用文献>

Holland EC, Hively WP, DePinho RA, Varmus HE. A constitutively active epidermal growth factor receptor cooperates with disruption of G1 cell-cycle arrest pathways to induce glioma-like lesions in mice. *Genes Dev.* 1998; 12: 3675-3685.

Dai C, Celestino JC, Okada Y, Louis DN, Fuller GN, Holland EC. PDGF autocrine stimulation dedifferentiates cultured astrocytes and induces oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from neural progenitors and astrocytes in vivo. *Genes Dev.* 2001; 15: 1913-1925.

Momota H, Shih AH, Edgar MA, Holland EC. c-Myc and beta-catenin cooperate with loss of p53 to generate multiple members of the primitive neuroectodermal tumor family in mice. *Oncogene.* 2008; 27: 4392-4401.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計8件)

Momota H, Kato S, Fujii M, Tsujiuchi T, Takahashi Y, Kojima S, Wakabayashi T. Primary peripheral T-cell lymphoma,

not otherwise specified, of the central nervous system in a child. *Brain Tumor Pathol.* 2015; 32: 281-285. doi: 10.1007/s10014-015-0229-1.

Momota H, Shimoyama Y. Recurrent papillary glioneuronal tumor presenting as a ganglioglioma with the BRAF V600E mutation. *Neuropathology.* 2015; 35: 603-605. doi: 10.1111/neup.12215.

Ohkawa Y, Momota H, Kato A, Hashimoto N, Tsuda Y, Kotani N, Honke K, Suzumura A, Furukawa K, Ohmi Y, Natsume A, Wakabayashi T, Furukawa K. Ganglioside GD3 enhances invasiveness of gliomas by forming a complex with platelet-derived growth factor receptor alpha and Yes. *J Biol Chem.* 2015; 290: 16043-16058. doi: 10.1074/jbc.M114.635755.

Momota H, Ogino J, Takahashi A, Hasegawa T, Wakabayashi T. Rhabdoid glioblastoma: an aggressive variety of astrocytic tumor. *Nagoya J Med Sci.* 2015; 77: 321-328. PMID: PMC4361535

Tanahashi K, Natsume A, Ohka F, Momota H, Kato A, Motomura K, Watabe N, Muraishi S, Nakahara H, Saito Y, Takeuchi I, Wakabayashi T. Assessment of tumor cells in a mouse model of diffuse infiltrative glioma by Raman spectroscopy. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 860241. doi: 10.1155/2014/860241.

Iwami K, Momota H, Fujii M, Natsume A, Yagi S, Toriyama K, Kamei Y, Wakabayashi T. Anaplastic meningioma with rapid growth after omental flap transposition: a case report and experimental study. *Brain Tumor Pathol.* 2015; 32: 137-144. doi: 10.1007/s10014-014-0190-4.

Momota H, Fujii M, Tatematsu A, Shimoyama Y, Tsujiuchi T, Ohno M, Natsume A, Wakabayashi T. Papillary glioneuronal tumor with a high proliferative component and minigemistocytes in a child: A case report and review of the literature. *Neuropathology.* 2014; 34: 484-90. doi: 10.1111/neup.12123.

Momota H, Narita Y, Miyakita Y, Shibui S. Secondary hematological

malignancies associated with temozolomide in patients with glioma. *Neuro Oncol.* 2013; 15: 1445-1450. doi: 10.1093/neuonc/not036.

[学会発表](計7件)

百田 洋之, 加藤 彰, 大川 祐樹, 夏目 敦至, 若林 俊彦. RCAS/tv-a システムによるマウスモデルを用いた脳腫瘍イメージング技術の開発. 第 74 回日本癌学会学術総会. 2015 年 10 月 8 日. 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市).

白木之浩, 加藤琢哉, 砂川真輝, 三井伸二, 浅井直也, 百田洋之, 高橋雅英. 脳腫瘍モデルマウスを用いた神経膠腫における CD109 の機能解析. 第 74 回日本癌学会学術総会. 2015 年 10 月 8 日. 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市).

百田洋之, 藤井正純, 本村和也, 夏目敦至, 若林俊彦. 悪性脳腫瘍に対する放射線治療の軽減は可能か? 第 73 回日本脳神経外科学会学術総会. 2014 年 10 月 9 日. グランドプリンスホテル新高輪 (東京都・港区).

大川祐樹, 百田洋之, 加藤彰, 橋本登, 津田裕介, 大海雄介, 古川圭子, 夏目敦至, 若林俊彦, 古川鋼一. ガングリオンド GD3 は PDGFRα と協調し Yes の活性化を介して細胞浸潤能を亢進させる. 第 73 回日本癌学会学術総会. 2014 年 9 月 27 日. パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市).

百田洋之, 加藤彰, 大川祐樹, 夏目敦至, 若林俊彦. 脳腫瘍マウスモデルを用いた新規治療薬の開発. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2013 年 8 月 29 日. 仙台国際センター (宮城県・仙台市).

Momota H, Fujii M, Motomura K, Natsume A, Wakabayashi T. Potential biomarkers for pseudoprogression in malignant glioma. 2013 年 5 月 31 日-6 月 4 日. McCormick Place (Chicago, IL, USA).

百田洋之, 加藤彰, 大川祐樹, 夏目敦至, 若林俊彦. c-Myc induced medulloblastoma mouse models by using the RCAS/tv-a system. 第 72 回日本癌学会学術総会. 2012 年 9 月 19 日(北海道・札幌市).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

百田 洋之 (MOMOTA, Hiroyuki)  
東京大学医科学研究所・先端がん治療分野・講師

研究者番号：60469971