

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：72611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430098

研究課題名(和文) 個別がん患者ゼノグラフトによる前臨床化学療法シミュレーションシステムの基礎研究

研究課題名(英文) The basic research of preclinical simulation system for chemotherapy using "individual Cancer Xenografts"

研究代表者

川井 健司 (KAWAI, KENJI)

公益財団法人実験動物中央研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：30414064

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では各種がん手術検体(原発・転移)から迅速かつ高効率に個別がん患者ゼノグラフト(individual Cancer Xenograft, iCX)を作出するプロトコルを検討した。これらのiCXでは継代毎の病理組織学的変化や遺伝子学的変化が極めて少ないことを確認した。大腸癌肝転移例iCXにおいてin vitro抗がん剤感受性を実施したところ、臨床経過と良好な相関が認められた。また、ゼノグラフトのオミクス解析結果から大腸癌の肝転移にZNF185の関与が示唆され、臨床検体で検討したところ転移予測因子として有用であることが明らかにした。iCXは個別化医療・癌基礎的研究への有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We established rapid and effective protocols for making individual Cancer Xenograft (iCX). In the iCXs, morphological characteristics, gene expression profiles, and genetic alteration patterns were all well preserved. In colorectal cancer iCXs, Collagen gel droplet embedded culture-drug sensitivity tests (CD-DST) were performed. The CD-DST results between original and iCX specimens were generally correlated ($R^2=0.01-0.89$). The result of CD-DST using iCX was compatible with clinical effects of anti-cancer drug. Zinc finger protein 185 (ZNF185) is one of proteins selected from proteome analysis utilizing cancer xenograft models. We also analyzed the association between ZNF185 and the clinicopathological characteristics of colon cancer. ZNF185 expression was found to be an independent indicator of liver metastasis and prognosis in patients with colon cancer. Our iCXs with clinical information are a promising advance that may accelerate the development of anticancer therapies.

研究分野：腫瘍病理学

キーワード：疾患モデル 個別化医療 NOGマウス

1. 研究開始当初の背景

悪性性腫瘍(がん)は日本人死因の第1位の疾患であり、人口の高齢化に伴い近年増加の一途である。外科的切除不能の進行がん症例は多様な病態を呈すため、がん患者個別の化学療法開発が期待されている。一定の割合で治療抵抗性のがんが存在し、標準化学療法で効果が得られなく二次治療・三次治療と変更していく際の治療法の決定に難渋することが多い。そもそもがんの治療は過去の治療成績を基に標準治療を決定しており、治療抵抗性のがんの多くは稀な発生で標準治療を作れないがんや標準治療によって耐性を獲得したがんであり、これらのがんに対する治療にはがん患者個別に科学的に解析した結果に基づく治療・個別化医療を行う必要がある。

2. 研究の目的

本研究では効率よくヒトがん組織を生着・維持可能な超免疫不全 NOG マウスを用い、ヒトがん組織の体外維持システムとして個別がん患者ゼノグラフト(individual Cancer Xenograft, iCX)を確立する。さらに患者個別の抗がん剤感受性試験(*in vivo* iCX 化学療法シミュレーションシステム)を行い、体外化学療法予測結果と実地臨床成績を比較し、個別化がん治療に対応・支援できる基盤技術(iCX システム)を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

進行がん患者の治療目的にて手術的に切除されたがん組織の一部を超免疫不全 NOG マウスに移植し、ヒトがん組織を体外維持させた個別がん患者ゼノグラフト(iCX)を作製した。がん材料移植後迅速に3代継代移植しiCXとして樹立した。樹立されたiCXについて*in vitro* CD-DST 試験、*in vivo* 抗がん剤感受性試験を行い、臨床経過・化学療法の効果と比較検討した。また、継代ごとにiCXの遺伝子解析を行い、iCXがヒト生体における本来のがん細胞機能を保持しているかを確認した。

4. 研究成果

神奈川県立がんセンターより提供された各種がん手術検体(原発・転移)を速やかにNOG マウス皮下に移植した。移植後4週以内に生着を判定し、生着した腫瘍ゼノグラフトは継代移植し、3代以上継代移植されたものを個別がん患者ゼノグラフト(individual Cancer Xenograft, iCX)として実験に使用した。本研究期間中に約100株のiCXを樹立し、効率的にiCXを樹立する条件を統計学的に検討した(図1)。これらのiCXにおいては継代ごとにがん細胞・組織の病理組織学的変化や遺伝子学的変化が極めて少ないことが確認された(図2)。大腸癌肝転移例のiCXを用いて Collagen gel Droplet embedded culture-Drug Sensitivity Test (CD-DST)に

よる *in vitro* 抗がん剤感受性を比較解析したところ、臨床材料を用いたものとiCXを用いたものとは良好な相関が認められた。また、CD-DSTの成功率はiCXを用いた場合は、臨床材料(大腸癌肝転移巣)を用いた場合に比べて有意に高かった(図3)。

	Established	Failed	Total	%	P-value
Original tumor sites					0.29 ^a
Gastrointestinal	29	21	50	58	
Other digestive	10	10	20	50	
Respiratory	10	5	15	67	
Breast and female genital	3	6	9	33	
Urological	4	3	7	57	
Neurological	1	6	7	14	
Others	4	4	8	50	
Total	61	55	116	53	
Tumor type					<0.001 ^b
Carcinomas	58	40	98	59	
Sarcomas	3	15	18	17	
Tumor site					<0.001 ^b
Primary	10	27	37	27	
Metastasis	51	28	79	65	
Time to engraftment ^c					0.49 ^b
Early	47	46	93	51	
Delayed	14	9	23	61	

^aChi-square test, ^btwo-sided Fisher's probability exact test, ^cengraftment on the day of surgery or the next day was considered 'early', and engraftment after 2 days was considered as 'delayed'.

図1. ゼノグラフト生着率の条件比較

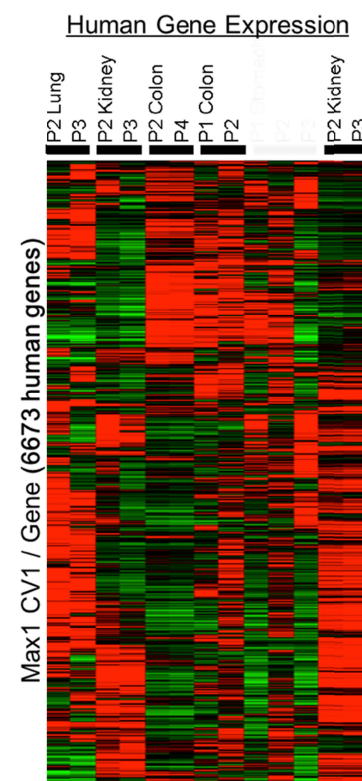


図2. iCX 継代間の遺伝子発現解析

またゼノグラフトのオミクス解析結果が

ら大腸癌の肝転移に ZNF185 の関与が示唆され、臨床検体で検討したところ転移予測因子として有用であることが証明された。

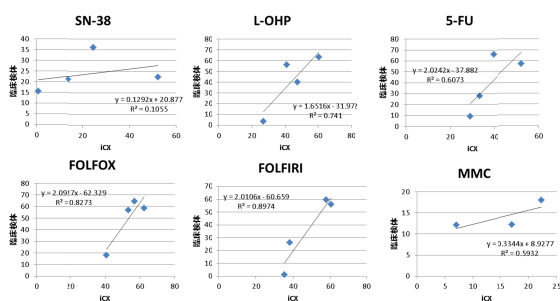


図3. iCX と臨床検体の抗がん剤感受性比較

以上のように iCX を用いた抗がん剤感受性試験による個別化医療の実現の可能性が示唆された。また、iCX を用いた前臨床試験を行うことにより新規抗癌剤開発や分子標的薬のターゲットの発見につながる基礎的研究への応用も期待される。

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 3 件)

Suemizu H, Kawai K, Higuchi Y, Hashimoto H, Ogura T, Itoh T, Sasaki E, Nakamura M. A versatile technique for the in vivo imaging of human tumor xenografts using near-infrared fluorochrome-conjugated macromolecule probes. PLoS One. 8:e82708. 2013 doi: 10.1371/journal.pone.0082708.

Furukawa D, Chijiwa T, Matsuyama M, Mukai M, Matsuo EI, Nishimura O, Kawai K, Suemizu H, Hiraoka N, Nakagohri T, Yasuda S, Nakamura M. Zinc finger protein 185 is a liver metastasis-associated factor in colon cancer patients. Mol Clin Oncol. 2:709-713. 2013

Chijiwa T, Kawai K, Noguchi A, Sato H, Hayashi A, Cho H, Shiozawa M, Kishida T, Morinaga S, Yokose T, Katayama M, Takenaka N, Suemizu H, Yamada R, Nakamura Y, Ohtsu T, Takano Y, Imai K, Miyagi Y, Nakamura M. Establishment of patient-derived cancer xenografts in immunodeficient NOG mice. Int J Oncol. 47:61-70. 2015. doi: 10.3892/ijo.2015.2997

〔学会発表〕(計 4 件)

Chijiwa T, Miyagi Y, Kawai K, Noguchi A, Yamada R, Suemizu H, Takano Y, Nakamura M. Efficient establishment of patient-derived cancer xenografts (PDX) in NOG mice. 第 71 回

日本癌学会学術総会 2013

澤崎 翔, 塩澤 学, 赤池 信, 片山雄介, 沼田幸司, 樋口晃生, 五代天偉, 森永聡一郎, 小嶋由香, 川井健司, 中村雅登, 高野康雄, 利野 靖, 益田宗孝, 宮城洋平. 大腸癌肝転移からのゼノグラフト作製と CD-DST 法での抗がん剤感受性解析. 第 51 回日本癌治療学会学術集会. 2013

Chijiwa T, Kawai K, Noguchi A, Sato H, Hayashi A, Cho H, Shiozawa M, Kishida T, Morinaga S, Yokose T, Katayama M, Takenaka N, Suemizu H, Yamada R, Nakamura Y, Ohtsu T, Takano Y, Imai K, Miyagi Y, Nakamura M. The valuable experimental model system "Cancer Xenopatient" established in NOG mice. AACR Annual Meeting. 2015

Chijiwa T, Isagawa T, Noguchi A, Sato H, Hayashi A, Cho H, Shiozawa M, Kishida T, Morinaga S, Yokose T, Katayama M, Takenaka N, Haraguchi M, Miyao N, Tateishi Y, Kawai K, Suemizu H, Yamada R, Nakamura Y, Imai K, Komura D, Ishikawa S, Nakamura M, Miyagi Y. Clinical applications of PDX/NOG models for personalized chemotherapy – possible use in chemo-sensitivity testing and clinical sequencing. AACR special conference on Patient-Derived Cancer Models. 2016
ニューオーリンズ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

川井 健司 (KAWAI, Kenji)

公益財団法人実験動物中央研究所研究員
研究者番号：30414064

(2)研究分担者

中村 雅登 (NAKAMURA, Masato)
東海大学医学部教授
研究者番号： 164335

(3)連携研究者

宮城 洋平 (MIYAGI Yohei)
神奈川県立がんセンター臨床研究所部長
研究者番号：254194