

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19277

研究課題名(和文) 乳がん自然発症モデル動物ツパイの樹立と制御法の開発

研究課題名(英文) Pathology of spontaneous breast tumor in tree shrews (*Tupaia belangeri* chinensis)

研究代表者

小原 道法 (KOHARA, Michinori)

公益財団法人東京都医学総合研究所・疾患制御研究分野・特任研究員

研究者番号：10250218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：乳がんは我が国でも発生数が多く、その制御が急務となっている。ツパイは小型哺乳動物で人に近い遺伝情報を持っている。ツパイの乳腺腫瘍は、ヒトの乳頭腺がんに近い構造を持つため、乳がん発症の優れたモデルとなる事が期待された。ツパイを用いて自然発症乳腺腫瘍の病理組織学的検索を行い、その結果乳腺腫瘍は乳腺管状乳頭状がんが多く観察され、腫瘍の形態および病理はヒトの乳頭腺がん非常に近い事が明らかとなった。また細胞診の結果、上皮系悪性腫瘍である事が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ツパイはツパイ目ツパイ科に属す、体重が約150グラムの小型哺乳動物で、近年まで原猿類に分類されていた。また、ツパイは人に近い遺伝情報を持っており、ヒトとチンパンジーにしか感染しないB型肝炎ウイルスの感染受容体がツパイの肝細胞から同定されている。ツパイの乳腺の生理学的特徴と発育などはヒトに類似している。平均発生月齢は2年3ヶ月で、一番早くは10ヶ月齢に見られた。このことから、ツパイの自然発症乳腺腫瘍は遺伝性のものが多く、若年性のものであることが示された。本研究から得られたこれらの新たな知見を元に、早期診断、予防、治療法開発に資する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Breast cancer has a high incidence in our country and its control is urgently needed. The tupai is a small mammal with genetic information similar to that of humans. Since mammary tumors in tupai have a structure similar to that of human papillary adenocarcinoma, it was expected to be an excellent model for the development of breast cancer. Histopathological examination of spontaneous mammary tumors in Tupai revealed that the mammary gland tumors were often ductal papillary carcinomas, and that the morphology and pathology of the tumors were very similar to those of human papillary adenocarcinomas. Cytological examination confirmed that the tumor was an epithelial malignant tumor.

研究分野：感染免疫学

キーワード：ツパイ 乳がん 遺伝性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳がんは女性のがんで多く見られる悪性腫瘍で、現在 1 年間に新たに乳がんと診断される日本人女性は 6 万人を超える。根治が困難な症例も多く、適切な乳がんモデル動物で乳がんの生物学的特性、治療および予防法を研究するのは急務である。乳がんモデルとして、従来齧歯類動物が使われているが、乳腺の生物学的特性や、乳がんの発病プロセスなどが人の乳がんと多くの違いがあるため、乳がん研究での応用には限界がある。サルは薬物治療評価に理想的な実験動物であるが、自然発がんモデルが無く、飼育コストも高く、新たな動物モデルが必要とされていた。

2. 研究の目的

ツパイはツパイ目ツパイ科に属す、体重が約 150 グラムの小型哺乳動物で、近年まで原猿類に分類されていた。また、ツパイは人に近い遺伝情報を持っており、ヒトとチンパンジーにしか感染しない B 型肝炎ウイルスの感染受容体がツパイの肝細胞から同定されている。さらにツパイの神経伝達物質の受容体は齧歯類より霊長類のものと高い相同性を持つことから、抗うつ薬などの非臨床研究にも利用されている。ツパイの乳腺の生理学的特徴と発育などはヒトに類似している。さらに特定の個体からの仔ツパイに乳がんの発生が多く見られることから、遺伝性の要因が高いと考えられる。

ヒトに近い乳腺組織を持つツパイを用いて自然発症乳がんモデルを樹立し、発症過程を時系列に従って解析する。細胞レベル、組織レベル、個体レベル、で乳がんの発症と共に引き起こされる遺伝子発現変化、この発現のベースとなるゲノム上にある変異、加齢性の要因を抽出し、発がんに至る経過をツパイを用いて時系列的にモデル化する。これらから得られた新たな知見を元に、早期診断、予防、治療法開発の可能性を探ることを目的とする。

3. 研究の方法

ツパイの正常乳腺と乳がん組織で発現する遺伝子を網羅的に解析し、乳がん特異的に生じる異常を明らかにする。また、細胞レベルと組織レベルでの発現プロファイルの違いを明らかにする。

ツパイの乳がん細胞、組織、個体における網羅的発現解析を行い、遺伝子発現の異常を階層化、時系列化する。

- (1) ツパイの正常乳腺と乳がん組織から RNA を抽出し、各組織で発現する遺伝子を次世代シーケンスで網羅的に解析し、乳がん特異的に生じる異常発現遺伝子を明らかにする。また、細胞レベルと組織レベルでの発現プロファイルの違いを明らかにする。
- (2) 乳がん好発系統のツパイにおいて経時的に採血し、ツパイの乳がんの発症に伴って変化する血漿中のエクソソームプロファイル、microRNA について次世代シーケンス解析で時系列を追って明らかにする。また、この様な変化について、1 で見られた乳がん特異的な遺伝子発現異常との関連を明らかにする。

4. 研究成果

ツパイの自然発症乳腺腫瘍は楕円形または不規則な形であり、表面は滑らかで、多くの腫瘍には潰瘍の併発もあった。自然発症乳腺腫瘍の病理組織学的検索を行い、その結果乳腺腫瘍は乳腺管状乳頭状がんが多く観察され、腫瘍の形態および病理はヒトの乳頭腺がん非常に近い事が明らかとなった。また細胞診の結果、上皮系悪性腫瘍である事が確認された。血液に混じり、シート状の細胞塊が散在しており、細胞間の結合性は強く、細胞辺縁は明瞭であることから上皮系の細胞塊と思われる(図1)。これらの細胞は、N/C比が高く、好塩基性が強い。核には、大小不同性、鑄型核、大型の核小体、同一細胞内での核小体の大小不

図1 ツパイに発症した乳がん

A. 外観 (spontaneous mammary tumor)

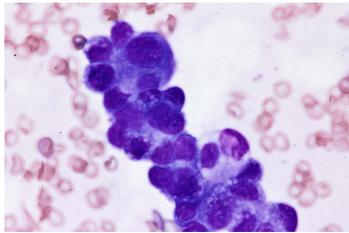


#75 4y 3M

C. 外観 (tubulopapillary carcinoma)



B. 細胞診



#26 3y 10M

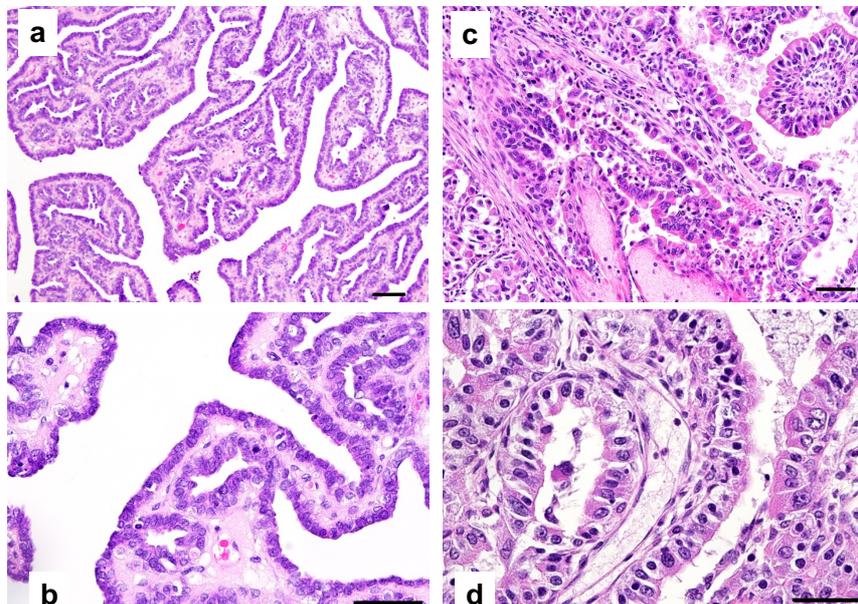


#75 6y 1M

同性など核異型が認められる。感染性の所見は認められなかった。

ツパイの乳腺腫瘍を摘出してホルマリン固定後、HE染色し、病理組織学的検索を行った(図2)。乳腺組織に形成され、乳腺上皮由来腫瘍細胞の多小葉状で浸潤性の増殖が見られ

図2 乳腺腫瘍のHE染色像



a, b, intraductal papillary adenoma #97, 3Y11M; c, d, tubulopapillary carcinoma #75, 6Y1M

た。腫瘍細胞は管状から乳頭状に増殖し、周囲脂肪組織へ浸潤していた。腫瘍細胞の核細胞質比は高く、核の大小不同や異型性が認められ、核分裂像も認められた。腫瘍細胞は管腔内へ脱落して壊死し、リンパ節への転移は認められなかった。乳腺腫瘍は乳腺管状乳頭状癌であり、形態学的特徴はヒト乳頭腺管がん類似性が認められた。

平均発生日齢は2年3ヶ月で、一番早くは10ヶ月齢に見られた。このことから、ツパイの自然発症乳腺腫瘍は遺伝性のものが多く、若年性のものであることが示された。

次世代シーケンスで網羅的に解析し、乳がん特異的に生じる発現遺伝子解析を行ったが同定するにいたらなかった。また、乳がん好発系統のツパイにおいて経時的に採血し、ツパイの乳がんの発症に伴って変化する血漿中の microRNA について次世代シーケンス解析で時系列を追って解析したが乳がん特異的な miRNA の変化は見いだせなかった。

乳がんは我が国でも発症数が多く、その制御が急務となっている。これまで良い動物モデルがなく、その研究に限界があった。ツパイの乳腺腫瘍は、ヒトの乳頭腺がんに近い構造を持つため、本研究で確立を目指すツパイ乳がん階層、時系列モデルは、乳がん発症の優れたモデルとなる事が期待され、早期診断法あるいは治療法の確立に向けて貢献する事が期待できる。本研究と並行して行われたツパイ全ゲノム、全遺伝子発現解析結果がデータベース化されたので、今後は乳がん特異的に生じる発現遺伝子の変化及び乳がん特異的な miRNA のより詳細な検討が可能となっている。今後、ツパイの自然発症乳がんの階層化モデルを確立し、乳がん発症に関するゲノムや遺伝情報を集積して研究プラットフォームを構築し、乳がんの早期診断法や治療法の開発に向けた研究に繋げる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chi Hai-Ying, Yuuki Tanaka, Tatsuro Hifumi, Ko-ichiro Shoji, Mohammad Enamu Hoque Kayesh, Md Abul Hashem, Bouchra Kitab, Takahiro Sanada, Tomoko Fujiyuki, Misako Yoneda, Hitoshi Hatai, Akira Yabuki, Noriaki Miyoshi, Chieko Kai, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-Kohara	4. 巻 15(5)
2. 論文標題 Pathological and genetic aspects of spontaneous mammary gland tumor in Tupaia belangeri (Tree shrew)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0233232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0233232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahiro Sanada, Fumihiko Yasui, Tomoko Honda, Mohammad Enamul Hoque Kayesh, Jun-ichiro Takano, Yumiko Shiogama, Yasuhiro Yasutomi, Kyoko Tsukiyama-Kohara, and Michinori Kohara	4. 巻 529
2. 論文標題 Avian H5N1 influenza virus infection causes severe pneumonia in the Northern tree shrew (Tupaia belangeri)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 101-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2019.01.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahiro Sanada, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Tadasu Shin-I, Naoki Yamamoto, Mohammad Enamul Hoque Kayesh, Daisuke Yamane, Jun-ichiro Takano, Yumiko Shiogama, Yasuhiro Yasutomi, Kazuho Ikeo, Takashi Gojobori, Masashi Mizokami, and Michinori Kohara	4. 巻 9
2. 論文標題 Construction of complete Tupaia belangeri transcriptome database by whole-genome and comprehensive RNA sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ScientificReports	6. 最初と最後の頁 12372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48867-x	査読の有無 有
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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mohammad Enamul Hoque Kayesh, Michinori Kohara et al.
2. 発表標題 Pathophysiology of hepatitis C virus and animal model
3. 学会等名 The12 th China-Japan International Conference of Virology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小原 道法, 真田 崇弘, Kayesh MEH, 小原 恭子, 山本 直樹, 日浅 陽一, 長谷川 秀樹, 杉山真也, 郷 保正, 宮崎 隆, 溝上 雅史
2. 発表標題 新規HBs-Lh抗原及びCVP基剤併用経鼻投与により遺伝子型交差反応性の高い中和抗体及びIgA抗体の産生が誘導出来る
3. 学会等名 第22回日本ワクチン学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

公益財団法人東京都医学総合研究所 感染制御プロジェクト https://www.igakuken.or.jp/project/detail/infectious.html
--

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

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
---------	---------