

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03855

研究課題名(和文) 多検体日本人口腔癌のエクソーム解析に基づく移植マウスモデルを用いた発がん機構解析

研究課題名(英文) Analysis of carcinogenesis mechanism using PDX model based on exome analysis in Japanese oral cancer

研究代表者

太田 嘉英(Ota, Yoshihide)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：60233152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：患者腫瘍移植マウス(PDX)モデルを樹立し、それを用いて生体レベルでの口腔扁平上皮癌(OSCC)の病態解明を行うことを目的とした。マウスへの移植実験は1次移植は17例中3例、二次移植は3例中2例、三次移植は2例中2例が生着した。PDXマウス腫瘍と移植元の患者腫瘍組織の遺伝子変異解析を行い、患者腫瘍組織で73の遺伝子変異を認め、PDXマウス腫瘍において、371651個の遺伝子変異が抽出された。そのうち71個はヒト腫瘍で認めた遺伝子変異であった。本研究により、OSCC由来のPDXモデルマウスを樹立することができた。また、そのマウス腫瘍は患者腫瘍の遺伝学的特徴を反映していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在までに、頭頸部扁平上皮癌のPDXモデルはカリフォルニア大学サンフランシスコ校のグループ(Liら)が発表しているが、OSCCサンプルは含まれておらず、肺がんのPDXモデルの分譲をしているジャクソン研究所を含め、他には発表がない。そのため、本研究の成果はOSCCの病態解明を発展させる可能性が高いと考える。さらに、PDXモデルは薬剤開発の前臨床試験にも用いるため、本研究のモデルマウスは新規治療戦略の開発にもつながると考える。

研究成果の概要(英文)：This study aimed that analysis of oral squamous cell carcinoma using the Patient-derived xenograft (PDX) models which was established by us. 3 of 17 primary transplants were successful. The second transplantation was successful in 2 out of 3 cases, and the third transplantation was successful in 2 out of 2 cases. We analyzed mutation analysis in tumor of PDX models and patients which was donor. We detected 73 mutations and 371651 mutations in PDX models and donor patients. We were able to establish PDX model mouse derived from OSCC. Furthermore, the tumor of PDX models reflected the genetical features in donor patients.

研究分野：口腔がん

キーワード：口腔扁平上皮癌 OSCC PDXモデル 次世代シーケンス エクソーム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平上皮癌 (OSCC) には特異的なバイオマーカーや標的分子が同定されていない。申請者らは、OSCC に対して本邦では初めての大規模体細胞変異解析を行い、NOTCH1 および FAT ファミリー-1 を中心に発がん機構解明の候補となる遺伝子および変異を発表した (BBRC 2014 など)。さらに、OSCC 患者より発見した複数の変異型 NOTCH1 発現細胞を樹立し、NOTCH1 が野生型では腫瘍化に、まず 1 種の変異型の解析では腫瘍抑制に機能することを報告した (Oncol Rep 2017)。固形腫瘍において NOTCH 経路は腫瘍化・腫瘍抑制因子の報告があるが、申請者は現在のところ腫瘍化因子と捉え、NOTCH は OSCC の標的因子となり得ると考えているが、生体レベルの解析にまでは至っていない。患者腫瘍組織移植 (Patient-derived xenograft: PDX) モデルは、患者由来の臨床腫瘍組織を、分画化せず直接免疫不全マウスへ移植・株化したものであり、前臨床創薬研究やがんの分子基盤解明研究に有用であり、translational research が飛躍的に発展する可能性のある方法であるが、頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) および OSCC においては本邦を含め米国以外では確立されていない。また、PDX モデルは、元の腫瘍の性質を維持しているとされているが、報告例の多くは、STR (Short Tandem Repeat) 法によるドナーのクロスコンタミネーションの確認や、数種類の遺伝子変異や組織学的な比較による確認であり、性質を維持していると言い切るには不十分であるため、移植後のマウス腫瘍の遺伝学的情報が移植元のヒト腫瘍と一致することを確認する必要があると考える。OSCC の病態解明を生体レベルで行うために、日本人 OSCC の PDX モデルを作成し、その有用性を解析する必要があると考えた。

2. 研究の目的

OSCC の病態解明に用いることのできる PDX モデルの樹立が本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) PDX モデルの樹立

東海大学医学部付属病院で根治的切除を行った OSCC 一次症例の患者の腫瘍組織を採取し、ヌードマウスの皮下へ移植した。腫瘍が所定の大きさ (約 1500mm³: 腫瘍径で約 11mm) に増大するか、もしくは肉眼的に腫瘍が消失し、生着なしと判断するまでを観察期間とした。その後、生着したのものに関しては二次移植、三次移植を行った。生着した PDX マウスの腫瘍組織と元腫瘍の患者組織の遺伝子解析を Illumina Novaseq6000 を用いて、全エクソン解析で行った (図 1)。

(2) OSCC の病態解明のための遺伝子解析

口腔癌における遺伝子解析で高頻度に変異が認められる遺伝子、一般的に癌のドライバー遺伝子とされている計 76 遺伝子に対し 36 症例のターゲットシーケンスを行った。また、9 症例に対してトランスクリプトーム解析を行った。



図 1: PDX モデル樹立

4. 研究成果

(1) PDX モデルの樹立

一次移植は、17 症例中 3 症例生着した (生着率約 18%)。二次移植は 3 症例中 2 症例が生着した (残りの 1 症例は現在経過観察中)。三次移植は 2 症例両方とも生着した。

	移植数	生着数	生着率
1次移植	17例	3例	18%
2次移植	3例	2例 (1例は現在経過観察中)	
3次移植	2例	2例	100%
総数	22例	6例	

図 2: PDX モデルの生着率

PDX モデル腫瘍とヒト腫瘍の遺伝子変異

解析を行ったところ、PDX モデル腫瘍は 37165 の遺伝子変異が、ヒト腫瘍は 73 の遺伝子変異を認めた。ヒト腫瘍の 71 の遺伝子変異は PDX モデル腫瘍においても認めた (図 3)。

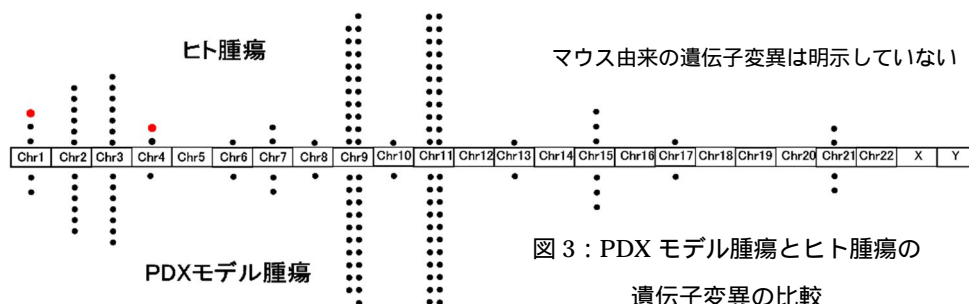


図 3: PDX モデル腫瘍とヒト腫瘍の遺伝子変異の比較

(2) OSCC の病態解明のための遺伝子解析

TP53 が最も多く、NOTCH1 にも体細胞変異を認めましたが、以前の我々の解析で遺伝子変異率の上位にいた FAT1 には遺伝子変異を認めなかった。また、トランスクリプトーム解析において、正常部と比較して腫瘍部で発現が上昇していた遺伝子は免疫応答や抗原結合に関わる 11 の遺伝子が、発現が減少していた遺伝子は角化、上皮細胞への分化に関わる 30 の遺伝子であった。

以上より、本研究によりヌードマウスでの日本人 OSCC 由来の PDX モデルマウスの樹立が可能であった。また、PDX モデルは移植元のヒト腫瘍の遺伝子変異を維持しており、ヒト腫瘍を反映していることが確認できた。今後、免疫不全状態を落とした NOG マウスや SCID マウスを用いて PDX を行い、生着率やコスト面、飼育の煩雑さを考慮したマウスの選択を行う予定である。さらにこれらのマウスを用いて OSCC の病態解明を継続する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内堀雅博, 星元康嵩, 太田嘉英, 木村穰, 細道一善, 田嶋敦.
2. 発表標題 PDXモデルによるPrecision Medicineに向けたcfDNAの解析.
3. 学会等名 第42回日本口腔腫瘍学会総会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内堀雅博, 太田嘉英, 木村穰, 細道一善, 田嶋敦.
2. 発表標題 Analyzing of usefulness of Liquid biopsy in oral squamous cell carcinoma.
3. 学会等名 第67回日本口腔外科学会総会.
4. 発表年 2022年

〔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
研究分担者	木村 穰 (Kimura Minoru) (10146706)	東海大学・医学部・客員教授 (32644)	
研究分担者	田嶋 敦 (Tajima Atsushi) (10396864)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	

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