

多層オミックス情報のある腹膜再発がん患者腹水から樹立された124種のPDC (Patient-derived cell line) とその高い有用性

佐々木 博己

国立がん研究センター・研究所 FIOC 創薬標的・シーズ探索部門
先端医療開発センター (EPOC) バイオマーカー探索 TR 分野

英国サンガーセンターでは、約 1000 種のがん細胞株について、主ながん関連遺伝子の変異情報を公開しているが、アジアに多いがん（食道扁平上皮がん、胃がん、肝・胆・膵がんなど）のラインアップは充分ではない。また、その多くは古くに樹立されたもので、病理組織型が不明なものも多い。例えば、胃がんは 28 株に過ぎない。胃がんは分化型と未分化型の 2 種に大別される。びまん性に増殖する未分化型は、ピロリ菌感染のない胃粘膜峡部から直接発生し、男女差、民族差は小さいとされている。その特徴的な再発形式は腹膜播種である。この未分化型胃がんに限ると 10 株程度である。

この 5 年間に、次世代シーケンサー等によって、主要ながんの全エクソン解析や CNV 解析による遺伝子異常リストが公開されている。しかし、ドライバー候補遺伝子変異頻度は数 % 以下のものが多く、該当する遺伝子異常をもつ細胞株（内在性変異株）を既存のバンクから探そうとしても、見つからないことが多い。その際、同種のがん細胞株で遺伝子改変を行って機能を調べようとする、その細胞に同一分子経路内の別の遺伝子に異常がもともとあれば、改変遺伝子の機能は打ち消される。また、仮に機能が出たとしても、強制的なものであり、もともと見つかった患者のがんでの機能を示していることにはならない。そもそも、患者の細胞株があれば、手間な遺伝子改変ではなく、siRNA 導入やゲノム編集のみでがん遺伝子として働きや依存性を簡単に知ることができる。当然、検体当たり 50-300 程度見つかる変異遺伝子の網羅的機能解析も可能である。このようにゲノム解析対象試料から直接樹立された細胞株（PDC, Patient-derived cell line）は極めて有用である。

当センターの FIOC では、上記の理由に加え、転移性のアジアがんオミックス解析を可能にするため、がん患者腹水から新たな細胞株の樹立を行ってきた。2010 年から開始し、未分化型胃がん患者 49 例から亜株を含め 86 細胞株（NCC Stomach Cancer: NSC シリーズ、17 例 21 既存株と合わせると 107 株を保有）の樹立に成功した。同様に、膵がん 23 例 30 株、卵巣がん 6 例 7 株、および胃-食道接合部がん、胆管がん、中皮腫、脂肪肉腫、各 1 例 1 株の樹立に成功している。また、日本では食道扁平上皮がん細胞株の樹立、バンクへの寄贈が進んでおり、KYSE シリーズ 39 株、TE シリーズ 9 株、その他 4 株の合計 52 株を入手することができる。そのうち 12 株は 10^7 細胞を免疫不全マウスに移植しても 2 ヶ月以内に腫瘍形成が認められない。6 ヶ月ほどで形成される小さな腫瘍を培養、移植を繰り返し、これまで、12 株中 8 株から高腫瘍形成能を獲得した亜株を樹立してきた。これで in vivo 非臨床試験が可能な食道扁平上皮がん細胞株は、52 株中 48 株となった。さらにこのがんで特徴的に遺伝子が増幅、高発現する受容体型チロシンキナーゼ EGFR の阻害剤に対して耐性な 12 株の分離に成功した。

これら自家樹立株の主なものには、in vitro/in vivo イメージングのためのルシフェラーゼや GFP 遺伝子の導入の他、Affymetrix Genechip U133 v2、SNP アレイ、NCC Oncopanel v4 の基本情報を付加している。また、免疫不全マウスの腹腔に接種し、形成された腫瘍について HE 染色、Ki-67 免疫染色、AZAN 染色（間質評価）、PAS 染色（粘液形質評価）を行い病理組織学的プロファイルの蓄積と同時に、腫瘍形成能、悪疫質の評価を進め、CDX (Cell-derived xenograft) モデルの構築も継続している。これらの情報を基に、病院での治験導出を推進するため、国内外の製薬会社との共同研究を遂行している。

【学会賞など】

1998年に日本癌学会奨励賞授賞、2000年日米医学協力研究会・研究員、2002-2004年日本生化学会誌編集参与、2005-2009年日本農芸化学会和文誌編集委員、2012-2014年次世代医療機器評価指標作成事業・テラーメイド医療用診断機器 (DNAチップ等) 審査WG委員。日本癌学会 (評議員)、日本胃癌学会、日本分子生物学会会員。主な著書として、「バイオ実験の進めかた」、「よくわかる分子生物学・細胞生物学実験」、「DNAチップ実験まるわかり」、「microRNA実験プロトコル」など10数冊があり、研究者の指導に役立っている。

【文献】

本内容は、学会以外では未発表。演者は 2018 年 5 月までに、英語原著論文として 149 編報告している (*Cancer Res* 16 報、*Clin Cancer Res* 2 報、*Cancer Sci* 11 報、*Oncogene* 8 報、*Int J Cancer* または *Br J Cancer* 10 報、*PLoS One*、*Scientific Rep*、*Oncotarget* 11 報、*Gastroenterology* 3 報、*PNAS* 3 報、*Nature* 2 報、*Nat. Genet.*、*Lancet*、*Lancet Oncol* 3 報、その他、*JBC*、*JCB*、*MCB* など)。



佐々木 博己

国立がん研究センター・研究所 FIOC 創薬標的・シーズ探索部門
先端医療開発センター (EPOC) バイオマーカー探索 TR 分野

1990 年東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻課程修了 (農学博士)、(財) がん研究振興財団、リサーチレジデントとして、国立がん研究センターで研究を開始し、1991 年に研究員、1994 年から室長、ユニット長、2013 年から FIOC 部門長、2016 から EPOC 分野長 (併任)。北里大学 (1995-1996)、鳥取大学 (2000-2002)、浜松医大 (2000-2001)、東北大学加齢医学研究所 (2003-2004)、滋賀医大 (2003-2008)・講師、東北大学学際科学研究センター・助教授 (2001-2002)、東邦大学・客員教授 (2004-2006)、京都大学・客員教授 (2012-2013) など。