

CTOSパネルを用いた 薬剤感受性試験

井上 正宏

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座 特定教授

組織培養法は100年以上前にはじまり現在に至るまで進歩を続けている。最近、がん細胞を初代培養する技術が、患者腫瘍の特性を保持した培養系として創薬への応用が期待され、急速に利用されるようになってきた。特にSatoらの開発した組織幹細胞培養法をがん細胞に応用した方法（Gastroentelology 2011）が海外では広く用いられている。一方、我々は患者腫瘍検体からがん細胞を調製し三次元培養する新しい方法（cancer tissue-originated spheroid (CTOS) 法）を独自に開発した。CTOS法の原理は調製・培養の過程の中で常に細胞-細胞間接着を維持することにある。CTOS法により患者腫瘍やPDX腫瘍から高純度で細胞死の少ない癌細胞を効率よく調製することができる。これまでに、大腸癌、肺癌、膀胱癌、子宮体癌子宮頸癌でCTOS法が応用可能であることを示した。マウス移植腫瘍を2代以上継代でき、移植腫瘍から調製した多数のCTOSを凍結保存できたものを「CTOSライン」として、多数のラインからなるCTOSパネルの作製を行っている。

CTOS法は感受性試験に応用可能である。まず、肺癌CTOSでEGFRチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)感受性に症例間で大きな感受性の差があること、臨床ですでに明らかになっているように、EGFR TKIがEGFRに変異のある肺癌CTOSに有効であることを明らかにした。同様に、大腸癌CTOSでは抗EGFR抗体はKRAS野生型のみ腫瘍縮小効果がある。これらのCTOSの細胞内シグナルの挙動はその事実を忠実に反映しており、CTOS移植腫瘍の治療実験とも結果が一致する。現在、卵巣癌CTOSの感受性試験と臨床での治療成績を照合する後方視的解析を行っている。

CTOS法ではがん細胞の調製効率が非常に高いことから、CTOS移植腫瘍あるいはPDXからは大量のCTOSが調製できるため、多数の薬剤のスクリーニングに応用できる。まず、子宮体癌CTOSを用いて約100剤のスクリーニングを行い、候補薬はパネル(11例)内で感受性差があることを明らかにした。次にハイスループットスクリーニングへの応用を試みた。CTOSの384プレートへの分配には自動分配機(セルハンドラー:ヤマハ発動機)を用いた。CTOSの増殖は細胞内ATPレベルで評価した。2例の大腸癌CTOSラインをマウス移植腫瘍から調製し、2427薬剤(FDA認可剤と標的既知の低分子化合物)のスクリーニングを行った。100nM以下で7日間の増殖を40%以下に抑制する薬剤を15剤選択した。次に30例の症例から樹立したCTOSラインを用いて、15剤のCTOS間での感受性の差異を検討した。ほとんどの薬剤においてCTOS間で大きな感受性の差異が観察された。同一の作用点を持つ3組の薬剤(6剤)は、感受性順位が有意に関連したことは、アッセイの信頼性を支持している。

近年、DNAシーケンス技術の革新とコストダウンによってがんゲノムのシーケンスが容易になったことから、ゲノム診断に基づくがん治療への道が開かれることとなった。既に臨床実装に向けて国際的に準備が進んでいるが、これまでのクリニカルシーケンスの臨床試験の結果は必ずしも良好ではない。最終的にどれくらいの患者利益があるのか現時点では明らかではない。真の個別化医療を行うためには何らかの追加手段が必要なことは明らかである。既に、がんのクリニカルシーケンスを行い、並行して感受性試験やPDXの作製を行うことは試みられ始めている。感受性試験はクリニカルシーケンスで得られた候補薬剤や薬剤の併用法を絞り込むことにとどまらず、クリニカルシーケンスで候補薬剤が同定できない多くの患者のバックアップになる可能性がある。個別患者の微量な生検材料を用いて薬剤感受性試験を行い、最適な薬剤を選択するためには、さらなる技術革新が必要である。

【文献】

1. Piulats, J. M. et al. **Oncotarget** 9, 15968-15983, (2018).
2. Tashiro, T. et al. **PLoS One** 12, e0174151, (2017).
3. Endo, H. et al. **Oncogene** 36, 2824-2834, (2017).
4. Kiyohara, Y. et al. **Cancer Sci** 107, 452-460, (2016).
5. Okuyama, H. et al. **Am J Pathol** 186, 899-911, (2016).
6. Kondo, J. et al. **Proc Natl Acad Sci U S A** 108, 6235-6240, (2011).



井上 正宏

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座 特定教授

1987年 大阪大学医学部卒
 1987年 臨床研修 大阪大学第一外科、小児外科など
 1991年 大学院 大阪大学小児外科、大阪大学細胞工学センター
 1998年 博士研究員 UC San Francisco
 2001年 大阪国際がんセンター(旧大阪府立成人病センター) 生化学部 部長
 2018年 京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座 特定教授