

201108008A

厚生労働科学研究費補助金

政策創薬総合研究推進事業

ヒト組織長期維持SCIDマウスを用いた医薬品等の
有効性、安全性評価システムの構築

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

野村 大成

平成24(2012)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

ヒト組織長期維持SCIDマウスを用いた医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築 -----	1
野村大成	

II. 分担研究報告

1. マイクロアレイを用いた継代維持ヒト組織の遺伝子発現の検索 -----	7
梁 治子	
2. ヒト腫瘍細胞等の SCID マウスでの腫瘍形成能、転移能の in vivo 検索系の確立 -----	11
小原 有弘	
3. 呼吸器疾患移植組織と免疫機能の解析 -----	15
立花 功	
4. 消化器等一般外科手術組織の移植系の確立 -----	17
本行忠志	
5. 前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立 -----	19
野々村祝夫	
6. 婦人科腫瘍、胎児組織の移植維持系の確立 -----	21
榎本隆之	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	23
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	29
-----------------------	----

I. 総括研究報告

ヒト組織長期維持 SCID マウスを用いた医薬品等の有効性、 安全性評価システムの構築

研究代表者 野村 大成（独）医薬基盤研究所 プロジェクトリーダー

研究要旨：本研究では、ヒト組織長期維持 SCID マウスを用いた医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築によるヒト臨床がん、疾患組織等の継代維持と再生可能な形での凍結保存基盤技術の確立を目的とし、（１）ヒト組織長期維持に最適の SCID マウスを開発・使用、（２）20 年間継代維持凍結保存してきたヒト腫瘍組織の再移植と再生可能な形での凍結保存を（３）未成功の前立腺がん、GIST 等、新たなヒト臨床腫瘍組織の継代維持、再生可能な形での凍結保存、（４）ヒト培養がん細胞と臨床がん移植組織の創薬に向けた優位性、（５）ヒト正常組織、胎児由来組織の継代維持と褐色脂肪組織など新たなヒト資源の開発とその特性の究明を計り、ヒトがんと正常組織の総括的ヒト組織維持システムの基盤技術を 23 年度までに完成させる。20 年以上にわたり世界をリードしてきた基盤研究の将来でのデータベース化等への発展を期するものであり、生きたヒト組織での医薬品等の有効性・安全性の研究、環境有害物質の人体影響評価に用いられ、国民の健康と医療・福祉に大きく貢献する。

研究分担者氏名・所属研究機関名及
び所属研究機関における職名

梁 治子・独立行政法人医薬基盤研究所・
プロジェクトサブリーダー

小原有弘・独立行政法人医薬基盤研究所・
研究員

立花 功・大阪大学・医学系研究科・
講師

本行忠志・大阪大学・医学系研究科・
准教授

野々村祝夫・大阪大学・医学系研究科・
教授

榎本隆之・大阪大学・医学系研究科・
准教授

A. 研究目的

1986 年、Bosma 博士より T 細胞、B 細胞機能の欠如した SCID マウス C. B17-*scid*/+ の供与を受けた。しかし、原種は、80%前後に正

常 T、B 細胞が出現し、約半数が 8 ヶ月以内に白血病死した。C. B17-*scid/scid* マウスのうち、IgM、IgG が検出限界以下のものを 20 代以上選択的兄妹交配することにより、Leaky、白血病死を激減させた。現在、世代数は F₅₃ を超えている。これにより、初めてヌードマウス等に生着したことのないヒト悪性腫瘍が急激に増殖し、自然遠隔転移すること（J Rad Res, 1900, Jpn J Cancer Res, 1991, 93）、ヒト良性腫瘍もゆっくり増殖すること（Carcinogenesis, 1992, Cancer Det, 1997, Cancer Lett, 1998, 2002）、最終的には、ヒト正常臓器・組織の長期間（～3 年）の継代維持に成功した（Cancer Res, 1997, Cancer Lett, 1998；以後 Super-SCID と呼ばれる）。500 回以上にわたり、ヒト脳組織を除く正常組織、前がん組織、がん組織の維持を行った。移植後の病理組織像やホルモン分泌能等はよく維持されている。また、移植ヒト皮膚に太陽紫外線類似光（UVB）を照射し、世界で初めて、人工的にヒトがんの誘発に成功した（Cancer Res, 1997）。ヒト骨髄、免疫細胞もよく維持される（Mutat Res, 2008）。ヒト胎児組織も増殖分化し継代維持できた。ヒトへ

ルペスウイルスのようにヒト皮膚のみを宿主とするウイルスに関する感染症研究にも極めて重要な武器となっている。

本研究では、ヒト組織長期維持 SCID マウスを用いた医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築によるヒト臨床がん、疾患組織等の継代維持と再生可能な形での凍結保存基盤技術の確立を目的とし、

(1) ヒト組織長期維持に最適の SCID マウスを開発・使用、

(2) 20 年間継代維持凍結保存してきたヒト腫瘍組織の再移植と再生可能な形での凍結保存を 22 年度までに完成、

(3) 未成功の前立腺がん、GIST 等、新たなヒト臨床腫瘍組織の継代維持、再生可能な形での凍結保存、

(4) ヒト培養がん細胞と臨床がん移植組織の創薬に向けた優位性、

(5) ヒト正常組織、胎児由来組織の継代維持と褐色脂肪組織など新たなヒト資源の開発とその特性の究明を計り、

ヒトがんと正常組織の総括的ヒト組織維持システムの基盤技術を最終年度 (23 年度) までに完成させる。20 年以上にわたり世界をリードしてきた基盤研究の将来でのデータベース化等への発展を期するものであり、生きたヒト組織での医薬品等の有効性・安全性の研究、環境有害物質の人体影響評価に用いられ、国民の健康と医療・福祉に大きく貢献する。

B. 研究方法

1. ヒト臓器・組織長期維持用 SCID マウスの維持・増産 ; C. B17-*scid* [原種] に加え、C57BL/6J-*scid*、C3H/HeJ-*scid* 等マウスを常備する。*bg^J*, *W* 導入マウス (野村ら、1993) も用意する (野村)。

2. 原発腫瘍、転移組織の新規移植 ; 各臓器に発生した原発腫瘍、転移性腫瘍の移植を継続して行う。特に 2 3 年度はこれまで移植を行っていなかった腎、腎盂、尿管、膀胱腫瘍を重点的に行う。また、国内外で移植に成功していない前立腺がん、GIST

(Gastro-intestinal Stromal cell Tumor ; 腸管間質細胞腫瘍) の移植系を確立する。

3. がんの浸潤、転移のフォロー ; SCID マウス血中 PSA の微量測定法を用いるとともに

(野村、野々村)、ヒト腫瘍の自然遠隔転移を確認するため、マイクロサテライト解析法を開発し、検出する (梁、野村)。

4. 培養細胞移植 ; 資源部細胞バンクにおいて、遺伝子、微生物汚染のないことが確認できているルシフェラーゼ標識培養細胞 (腫瘍、骨髄細胞等) 株の確立 (小原) を行い、皮下、腹腔、当該臓器内移植を行うことにより、ヒトがん細胞の進展、転移能の *in vitro* 検出系を確立する。(小原、野村)。

5. ヒト正常組織・細胞の長期維持 ; ヒト甲状腺組織 (バセドー病由来)、肺組織、胎児由来組織 (皮膚、肺、脂肪等) 継代維持を行い、放射線照射、医薬品投与、短時間宇宙飛行実験にも備える (野村、梁、本行、立花、榎本)。

6. 移植ヒトがん組織中のウイルス検査 ; ヒト組織の医薬基盤研究所動物施設への導入に際しては、患者の手術前検査において、マイコプラズマ、肝炎 B, C 抗原、抗体、HIV、成人 T 細胞白血病、Wasserman 反応陰性の場合のみ許可される。それに加え、ヒトがん組織中のウイルス検査も行う (野村、梁、小原)。検査するウイルスの種類は、DNA ウィルス ; CMV, EBV, HH6, HH7, BKV, JCV, ADV1, paboB19, HBV, HTLV1, HTLV2, HIV1, HIV2, HPV18, RNA ウィルス ; HCV, RMRV である。ヒト移植 (-80° 凍結) より、DNA および RNA を同時に抽出する (A11Prep® DNA/RNA MiniKit, QIAGEN, Tokyo) し、TagMan Probe を用い、リアルタイム PCR 法 (DNA ウィルス) またはリアルタイム RT-PCR 法 (RNA ウィルス) により、各ウイルスの増幅を調べた。この時、GAPDH と β -actin を、DNA および RNA ウィルスそれぞれの、standard 遺伝子として用いた。Real time PCR は、GAPDH が 50 copies/500 ng genome DNA で、Real time RT-PCR は、 β -actin が 100 copies/100 ng Total RNA で増幅される条件下で行った。(小原、梁、野村)。

(倫理面への配慮)

手術等による成人ヒト組織に対しては、「ヒト組織長期維持 SCID マウスを用いた医薬品等および先端医療評価システムの開発」(代表・

野村)、12週未満退治組織に対しては、「ヒト胎児組織維持SCIDマウスを用いた医薬品等評価システムの開発」(代表・野村)の2課題で、医薬基盤研究所および医療機関の倫理委員会の承認をえている。厳重な管理の下、医薬基盤研究所において野村が移植・継代維持をおこなっている。譲渡されるヒト組織に対しては、人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除に関しては、文書・口頭で十分にインフォームド・コンセントをとり、同意を得、同意書にサインを頂いている。18歳未満の方に対しては、本人および親権者の同意を得ている。

動物実験に関しては、医薬基盤研究所動物実験委員会の承認のもと、ガイドラインに沿い、研修、登録のうえ、十分に動物愛護上の問題点に配慮し、研究をおこなっている。

その他の指針等(指針等の名称:厚生科学審議会「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について」、日本産科婦人科学会会告「死亡した胎児・新生児の臓器等を研究に用いることの是非や許容範囲についての見解」、および、「同上」に対する解説。)

C. 研究結果

本研究課題について、以下に示す当初研究計画・方法どおり実施し、予定通りの成果が得られた。

1. ヒト臓器・組織長期維持用 SCID マウスの維持・増産;

C. B17-*scid* [原種]、原種由来の C57BL/6J-*scid*、C3H/HeJ-*scid*等マウスを常備し、*bg^l*、*H* 導入を行い C3H/HeJ-*scid*; *bg^l*、C57BL/6J-*scid*; *bg^l*、C57BL/6J-*scid*; *bg^l*; *H* を作成し量産化を行った(野村)。

2. 原発腫瘍、転移組織の新規移植;

平成22年度に新規ヒト腫瘍131症例を、23年度には新規ヒト腫瘍146症例を SCID マウスに移植した(野村、研究協力者;吉留、鳥、坂巻)。特に腎、尿管、膀胱腫瘍を主に行った。その成果は、図1に示した。移植したヒト組織の殆どは維持されるが、3-4ヵ月で消失する例が少数例でみられた。SCID マウスへの継代移植を行い2-3代継代しても増殖の遅いもの(継代移植後6-8ヵ月

たっても腫瘍が大きくなる)は中止し、6ヵ月以内に大きな腫瘍を形成するものを選び順次プログラムフリーザーにて凍結保存した。図2に示すように緩慢法(-0.1°C/min)では、20年前に凍結したヒトがん組織がもとのまま再生された。急速凍結法は、難移植性ヒト腫瘍には不向きであり消失した。

図1 Super-SCIDマウスへのヒトがん組織の移植、プログラム凍結・再移植

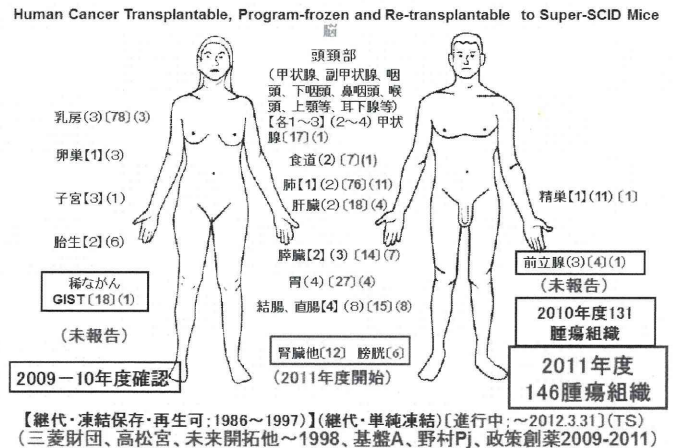


図2

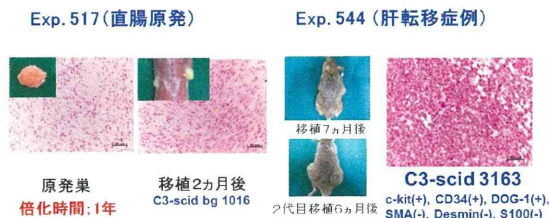
ヒト組織のプログラム凍結保存



今まで移植が極めて困難であったヒト前立腺癌(睾丸転移巣)を適切な SCID マウスに移植することにより SCID マウス皮下で増殖するようになり、継代維持に成功している(野村、野々村)(22年度報告)。移植後腫瘍が大きくなるにつれマウス血中のヒト PSA濃度が増加している。また、これまで誰も移植継代維持に成功していない GIST は、倍加時間がヒト体内におけると同様に(遅いものは1年)極めてゆっくりであるが、転移症例では比較的早く増殖し、凍結保存に

も成功している (図 3)。

図 3 GIST(消化管間質性腫瘍)(希少がん)



3. がんの浸潤、転移のフォロー；

SCID マウス体内でのヒトがんの進展をフォローするのに P S A など特異的なマーカーがあると大いに役立つことは、これまでの報告書に記載した (野村、野々村、小原)。しかし、ヒトがん組織を移植した際に、局所的にマウス腫瘍が誘発されることが極く稀にある。ヒトがん、マウスがんの識別また、ヒトがんのマウス体内への浸潤、遠隔転移識別には、病理組織学的、免疫学的手に加え、より普遍的な手技が必要である。最近、マイクロサテライト解析法により迅速、客観的に識別することに成功した。マイクロサテライト変異検出法は、梁が確立し、22、23年度研究分担報告者に記載した。ヒトがん組織を継代、移植することにより巨大なヒト腫瘍を形成するが、がん種により周辺組織への浸潤に加えて、腋窩部、鼠蹊部、肺門部リンパ節、肺、肝等内臓に腫瘍を形成することがある。これがマウス由来かヒト由来か、病理組織診断に加え、客観的な証拠を得るのに用いた。病理学的にヒトがん組織の転移を疑っていた腫瘍は全てヒトマイクロサテライトパターンを示した。また、稀であるが、SCID マウスへのヒト腫瘍移植部位にマウス白血病が発生することもあるが、この場合も早急にヒト、マウス由来の診断を下すのに役立った。ヒト悪性腫瘍の内、悪性度の高い胃がん (スキルス) について、研究分担者の梁が詳細に 23 年度研究分担報告書に記載している。

4. 培養細胞移植

資源部細胞バンクにおいて、ルシフェラーゼ標識したヒト培養細胞の維持と遺伝子、微生物汚染のないヒトがん培養細胞 (腫瘍、骨髄細胞等) を選別保存した (詳細は、分担研

究報告書・小原に記載)。ルシフェラーゼ標識したこれらの細胞塊を SCID マウスに移植することにより、可視化し、トランスすることに成功した (小原)。

5. ヒト正常組織・細胞の長期維持

ヒト正常組織の移植に関しては、甲状腺組織、肺組織および胎芽組織を用いて行っている。特に、ヒト正常肺組織は、がん組織切除時に切除せねばならぬことが多く重点的に行った。甲状腺組織も同じである。これらヒト正常肺、甲状腺組織移植 SCID マウスに対し、放射線障害、宇宙環境 (放射線と重力) の影響を調査した (本行、梁、野村)。また、ヒト脂肪組織 (成人皮下脂肪、腹腔内脂肪、胎児由来脂肪) の長期継代維持を継続して行っている (野村、榎本、研究協力者；堀家-吉田)。

6. 移植組織・細胞の継代維持による形態・機能の変化の調査

ヒトがん組織からの病原性ウイルス検出に関しては、ヒトへの感染を危惧されているものは、手術前に検査されており、陰性患者由来の組織のみ SCID マウスへの移植を行っているためか、継代維持している腫瘍組織 38 例からは病原性ウイルスは検出されなかった。但し、EB ウィルスが調査した 38 症例の約 8 割に検出されている。日本人の 8 割が EB ウィルス感染があるのも事実であり、更なる検討を要する。

D. 考察

ヒト悪性腫瘍に関しては、その特性に応じた適切な SCID マウスに移植することにより、継代維持、再生可能なたちでの永久凍結保存が可能であることが示された。しかも、マウス体内で、ヒト腫瘍の浸潤、遠隔転移もフォローすることができる。本研究を、全ての臓器腫瘍において確立するとともに、各ひと腫瘍の持つ病態 (形態、分子レベル) を併せることにより、医薬品等の有効性、安全性を評価する基盤となる。一方、正常、疾患組織の継代維持が可能なることから、放射線、環境有害物質の人体影響評価の基盤ともなる。

E. 結論

本研究では、ヒト組織長期維持 SCID マウ

スを用いた医薬品等の有効性、安全性評価システムの構築によるヒト臨床がん、疾患組織等の継代維持と再生可能な形での凍結保存基盤技術の確立を目的とし、(1) ヒト組織長期維持に最適の SCID マウスの開発・使用、(2) 各種ヒト腫瘍組織の再生可能な形での凍結保存、これまで未成功の前立腺がん、GIST 等、新たなヒト臨床腫瘍組織の継代維持の成功、(3) ヒトがんの浸潤、遠隔転移の同定と解析、(4) ヒト培養がん細胞の in vivo 進展の分析、(5) ヒト正常組織、胎児由来組織の継代維持、(6) 移植ヒトがん組織でのウィルス検査について研究し、当初予定を大きく超える成果を得た。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Masao Iwamori, Akihiro Sakai, Norihito Minamimoto, Yuriko Iwamori, Kyoko Tanaka, Daisuke Aoki, Shigeki Adachi and Taisei Nomura. Characterization of novel glycolipid antigens with an α -galactose epitope in lactobacilli detected with rabbit anti-*Lactobacillus* antisera and occurrence of antibodies against them in human sera. *J. Biochem.* 150:515-523, 2011.
- 2) Miyake T, Ueda Y, Matsuzaki S, Miyatake T, Yoshino K, Fujita M, Nomura T, Enomoto T, Kimura T. CRABP1-reduced Expression is associated with poorer prognosis in serous and clear cell ovarian adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 13:715-722, 2011.
- 3) Dillip Kumar Parida1, Koji Wakame, Taisei Nomura. Integrating Complimentary and Alternative Medicine in Form of Active Hexose Co-Related Compound (AHCC) in the Management of Head & Neck Cancer Patient. *International Journal of Clinical Medicine.* 2: 588-592, 2012.
- 4) 野村大成、足立成基、梁 治子、畑中英子、菊谷 理絵、時田偉子、堀家なな緒、中島裕夫

、本行忠志、藤川和男、伊藤哲夫、落合俊昌、行徳淳一郎、若命浩二、D. K. Parida, R. I. Bersimbay. 宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究；放射線晩発影響の防護。 *Space Util. Res.*, 28, 2012 (3月、in press).

2. 学会発表

- 1) Taisei Nomura, Hiroo Nakajima, Tadashi Hongyo, Rie Kikuya, Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Yoriko Tokita, Eiko Hatanaka, Nanao Yoshida, D. K. Parida, Koji Wakame. Inhibition of Radiation Induced Late Effects (Congenital Malformations and Leukemia) by Active Hexose Correlated Compound, AHCC in Mice. 19th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Oct. 15-16, 2011.
- 2) Taisei Nomura. Fukushima Nuclear Plants Accident: Radiation Effects on Human Health, “Philosophy on Safety and Conscience” in Japan. 19th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine, Sapporo, Oct. 15-16, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：特になし

II. 研究分担報告書

マイクロアレイを用いた継代維持ヒト組織の遺伝子発現の検索

研究分担者 梁 治子（独）医薬基盤研究所 プロジェクトサブリーダー

研究要旨：ヒト正常組織およびがん組織は Super-SCID マウスへの移植によっても形態・機能に加え遺伝子発現がよく維持されていることを、マイクロアレイを用い証明してきた。本年度は、昨年度は迅速かつ正確に判定できるように開発した、マイクロサテライト解析法により、ヒトがん移植 SCID マウスでのヒトがんの遠隔転移判定に本法が極めて有効であることが、判明した

A. 研究目的

ヒトの正常臓器・組織は市販の SCID マウスには定着しない。野村らが改良した IgG、IgM 値が ELISA 法による値が検出限界以下の改良型 SCID マウス（Super-SCID）を用いることにより、ヒト組織・臓器の長期維持（～3 年）が可能になり、しかも、形態・機能は長期維持期間中にも保持されることがわかった（Cancer Lett., 1997）。このことから、初めてヒトの臓器・組織に対し、さまざまな物質の直接影響を形態、機能の変化に加え、マイクロアレイを用い遺伝子発現の面からも感度よく、より詳細な変化を検出できることを証明した（Mutat. Res., 2010）。

癌の致死要因の最も多くを占めるのは転移である。Super SCID マウスのもう一つの特徴は、ヒト悪性腫瘍が自然遠隔転移することである。昨年度は、ヒトがんの SCID マウス体内での遠隔転移を迅速、客観的に証明するためのマイクロサテライト解析法を完成させたので、実際に応用し、遠隔転移がどのくらいおきているかを、調べた。

B. 研究方法

材料：ヒト胃がん（スキルス）および前立腺がん、すい臓がん、肺がん等で、SCID マウスに移植後、移植腫瘍そのもの、および転移性と思われる腓門部等リンパ節腫瘍、腓 各臓器の腫瘍を用い、それぞれの組織がマウス由来か、ヒト由来かを調べた。

方法：

1. マイクロサテライト解析法

ヒトマイクロサテライト遺伝子座は、ACTBP2 を、マウスマイクロサテライト遺伝子座に pul 67 を用いた。蛍光ラベルされたプライマーを用意

し（Applied Biosystems）、SCID マウス移植がんの移植腫瘍そのものおよび転移組織 DNA を template として、2 種遺伝子座をそれぞれ独立して PCR 法で、増殖する。得られた PCR 産物を、キャピラリー電気泳動にかけ（Genetic Analyzer 3100, Applied Biosystems）Fragment analysis ソフト（GeneMapper, Applied Biosystems）で、それぞれの遺伝子座の長さや産物量を、PCR 産物を解析することで行う。これらマイクロサテライト座のプライマー配列は、ACTBP2 は、ACATCTCCCTACCGCTATA と AATCTGGGCGACAAGAGTGA である。pul67 については、未発表のため記述を避ける。Annealing 温度に関しては、マウスは 53°C、ヒトは 62°C に設定した。

2. ヒトがん移植 SCID マウスでの遠隔転移巢におけるマウス由来細胞の量的解析（簡易 Quantitative PCR 法）。

正常組織から DNA（標準 DNA）を抽出し、PCR 反応のサイクル数を一定にし、template DNA（標準）の量を変えて PCR 反応を行う。それぞれの template DNA 量に対して、得られる PCR 産物量の蛍光の強さが、解析（GeneMapper）により得られる。従って、それぞれの template DNA 量と対する PCR 産物量とで、標準曲線を得ることができる。ヒト DNA の template を 10ng に設定し、標準 DNA は 0.5-10ng 間で template の量を変えて、同時に PCR にかける。すると、同時に得られた PCR 産物から、標準曲線より、検体 DNA のヒトまたはマウスの、template 量が求められる。

（倫理面への配慮）

ヒト組織の SCID マウスへの移植に関しては、

医薬基盤研究所および関連施設での研究倫理委員会の承認のもとに施行している。

手術等による成人ヒト組織に対しては、「ヒト組織長期維持SCIDマウスを用いた医薬品等および先端医療評価システムの開発」（代表・野村）、の課題で、倫理委員会の承認を得ている。手術時等で採取されるヒトがん組織の譲渡に関しては、厳重な管理の下、医薬基盤研究所において野村が移植・継代維持をおこなっている。譲渡されるヒト組織に対しては、人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除に関しては、文書・口頭で十分にインフォームド・コンセントをとり、同意を得、同意書にサインを頂いている。18歳未満の方に対しては、本人および親権者の同意を得ている。は、本人および親権者の同意を得ている。

動物実験に関しは、医薬基盤研究所動物実験委員会の承認のもと、ガイドラインに沿い、研配慮し、研究をおこなっている。梁（分担者）は、これらの申請課題（代表：野村）での研究従事者に含まれている。

C. 研究結果

1、ヒトがん移植マウスで増殖した組織の由来の判別

昨年同様、標準（正常ヒトおよびマウスの標準DNAは、昨年度より決めてある）DNAを用いて標準曲線（昨年度報告書）を得ることで、ヒトがん移植マウスで増殖した組織におけるヒトおよびマウスDNAの混合比をヒト胃がん（スキルス）と、前立腺がん等について調べた（簡易型Quantitative PCR法）。

表1：胃がん（スキルス）移植マウスにおける腫瘍部または転移部位での由来組織割合

移植代数	腫瘍/転移部位	組織量割合*
3代目-1	腫瘍部 2481	H=M
3代目-1	転移部 1 2482	H=M
3代目-1	転移部 2 2483	H=M
4代目-2	腫瘍部 2507	H>M
5代目-3	腫瘍部 2629	H<<M
6代目 4	転移部 2701	H=M
3代目-5	転移部 2505	H=M

4代目-6	腫瘍部 2583	H>M
4代目-6	転移部 2584	H>M
5代目-7	腫瘍部 2657	H>M
2代目-8	腫瘍部 2228	H+M+
2代目-39	腫瘍部 2231	H+M+
2代目-9	腫瘍部 2300	H>M
2代目-10	腫瘍部(biopsy) 2243	H>M
2代目-10	腫瘍部 2243	H>M
2代目-10	転移部 2324	H>>M
5代目-11	腫瘍部 2504	H=M
6代目-12	腫瘍部 2550	H>M
6代目-13	腫瘍部 2572	H>>M
6代目-14	腫瘍部 2585	H>>M
6代目-14	転移部 2586	H=M
6代目-15	腫瘍部 2699	H>M
5代目-16	腫瘍部 2561	H=M
7代目-17	腫瘍部 2592	H>M
7代目-17	転移部 2593	H=M
2代目-18	腫瘍部 2513	H>M
2代目-19	腫瘍部 2479	H=M
2代目-21	転移部 1より移植 2233	H+M+
2代目-22	転移部 2より移植 2239	H=M
2代目-22	転移部 3より移植 2245	H=M
2代目-23	転移部 4より移植 2240	H=M
4代目-24	腫瘍部 2295	H=M
4代目-24	転移部 2296	H=M
4代目-25	腫瘍部 2297	H=M
4代目-25	転移部 1 2298	H<M
4代目-25	転移部 2 2299	H=M
3代目-26	腫瘍部 2297	H>>M
4代目-27	腫瘍部 2242	H=M
4代目-27	転移部 2243	H=M
5代目-28	腫瘍部(biopsy) 2265	H=M
5代目-28	腫瘍部 2289	H=M
5代目-28	転移部 1 2290	H>M
5代目-28	転移部 2 2291	H>>M

5代目-28	後腹膜転移部 2292	H>M
6代目-29	腫瘍部;転移部 1より移植 2340	H>>M
6代目-29	転移部-2;転移部 1より移植 2342	H>>M
7代目-30	腫瘍部;転移部-転移部移植 2517	H>M
7代目-30	転移部;転移部-転移部移植 2518	H>M
8代目-31	腫瘍部;転移部-転移部-転移部移植 2573	H=M
6代目-32	腫瘍部 2306	H>M
5代目-33	腫瘍部 2293	H>>M
8代目-31	腫瘍部 2562	H>>M
8代目-32	転移部;転移部より移植 2567	H>>M
8代目-32	腫瘍部;転移部より移植 2568	H>>M
7代目-33	腫瘍部 2511	H>M
7代目-33	転移部 2512	H=M
8代目-34	腫瘍部 2569	H>>M
4代目-35	腫瘍部 2241	H>M
4代目-35	転移部 2246	H=M
4代目-36	腫瘍部 2238	H=M
3代目-37	腫瘍部 2627	H<M
3代目-20	腫瘍部-2代目 N2 保存より再移植 2538	H>M
3代目-20	転移部 1-2代目 N2 保存より再移植 2539	H>M
3代目-20	転移部 2-2代目 N2 保存より再移植 2540	H>M
3代目-37	腫瘍部-2代目 N2 保存より再移植 2627	H<M

*「比率」の判定は、DNA量が、H=Mは、HがMの3倍以下で1/3以上、H>Mは、HがMの3倍以上で、5倍以下、H>>Mは、HがMの5倍以上、H<Mは、HがMの1/3以下、1/5以上、H<<Mは、HがMの1/5以下、と定義した。H; Human, M; Mouse。H+, M+は量的割合を調べていない、+;有。

表2：前立腺がん移植マウスにおける腫瘍部の由来組織割合（全て移植腫瘍部）

移植代数	組織量割合*
5代目 1(2325)	H>M
7代目 2(2724)	H>M
4代目 3(2249)	H=M
5代目 4(2255)	H>>M
3代目 5(2250)	H=M
5代目 6(2308)	H=M
5代目 7(2309)	H>M
6代目 8(2556)	H>M
6代目 9(2555)	H>>M
4代目 10(2248)	H=M
5代目 11(2262)	H=M
7代目 12(2554)	H=M
6代目 13(2307)	H=M
6代目 14(2509)	H>M
7代目 15(2623)	H>M
6代目 16(2624)	H=M
6代目 17(2260)	H>M
8代目 18(2557)	H>M
7代目 19(2488)	H=M
6代目 20(2326)	H>M
7代目 21(2612)	H=M
5代目 22(2261)	H=M

*H; Human, M; Mouse

ヒト胃がん（スキルス）について、昨年より引き続き、移植世代の増したもの、移植腫瘍部および以外の部位に転移腫瘍があったものについて、ヒトか、マウス由来組織かを調べた。すべてが、ヒトDNAをマウスより多い又は同等量含んでいた。転移腫瘍15例中すべてが、ヒトの由来であった。ことから、移植部ヒト胃がん組織から遠隔転移したことが示唆された。最後2例は、移植2代目より、特別な方法で、凍結し、液体窒素で保存した移植組織を、SCIDマウスに再移植したものである。凍結保存再移植しても、自然遠隔転移することがわかった。表2は、前立腺がんの例であるが、このヒト前立腺がん組織は、調べた限り、ヒト組織由来であったが、自然遠隔転移はみられなかった。以上の方法で、肺がん5件、膵臓がん3件、乳がん2件、食道がん2件、直腸がん1件、

肝細胞がん2件の自然遠隔転移は、胃がんスキルス同様ヒト由来組織であることが判明した。

3. その他： 特になし

D. 考察

Super SCID マウスでは、ヒト悪性腫瘍が自然遠隔転移する。移植組織が、ヒト由来であるか、特に、転移腫瘍に関しては、マウスかヒト組織かの肉眼的区別が困難である。胃がん（スキルス）の例でみられたように、遠隔転移巣がヒト由来組織を含んでいたことで、これらが SCID マウス体内で移植部ヒト腫瘍から転移したヒト転移腫瘍であることが判明した。また、胃がスキルス以外の移植腫瘍も、ヒト移植腫瘍からの遠隔転移であった。量的 PCR 簡便法により迅速、かつ正確に、両種のおよその組織比の判別が可能になった。

E. 結論

ヒトがん移植 Super-SCID マウスでの自然遠隔転移組織が、ヒト由来組織であることを証明する迅速、かつ容易な方法により、遠隔転移組織の、殆どがヒト由来であることが判明した。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

野村大成、足立成基、梁 治子、畑中英子、菊谷理絵、時田偉子、堀家なな緒、中島裕夫、本行忠志、藤川和男、伊藤哲夫、落合俊昌、行徳淳一郎、若命浩二、D. K. Parida、R. I. Bersimbay。宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究；放射線晩発影響の防護。Space Utiliz Res. 28(March), 2012.

2. 学会発表

野村大成、足立成基、梁 治子、畑中英子、菊谷理絵、時田偉子、堀家なな緒、中島裕夫、本行忠志、藤川和男、伊藤哲夫、落合俊昌、行徳淳一郎、若命浩二、D. K. Parida、R. I. Bersimbay 宇宙環境の人体影響評価と防護に関する研究 (2011 年度研究グループ活動報告)。相模原、2012. 1. 23。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得： なし
2. 実用新案登録： なし

ヒト腫瘍細胞等の SCID マウスでの腫瘍形成能、転移能の in vivo 検索系の確立

分担研究者 小原有弘（独）医薬基盤研究所 主任研究員

研究要旨： ヒト腫瘍細胞は in vitro において抗がん剤などの初期薬剤開発に欠かせない研究ツールとなっているが、in vivo で検証試験をするためのツールが最適化されていないのが現状である。本研究では、抗がん剤開発に欠かせない創薬モデルマウス作成のため、細胞バンクに登録されている高度に品質管理された、多種類のがん細胞の培養ならびに供給を行い、担がんマウス作成を行った。本年度はルシフェラーゼ発現がん細胞を移植した担癌マウスを作製し、イメージング装置での観察を実施した。今後これらの資源を創薬モデルマウス作成ツールとして研究者に供給することを目指す。

A. 研究目的

研究に用いる培養細胞の品質管理は非常に重要であり、研究によって得られた成果に非常に大きく寄与するが、研究者が研究に用いる培養細胞の品質に無関心であるのが現状である。これまでに我々は公的細胞バンクとして細胞品質管理に注力し、高品質細胞の供給を実現してきた。本研究ではヒト腫瘍細胞等の SCID マウスでの腫瘍形成能、転移能の in vivo 検索系の確立のため、品質管理されたがん細胞の培養ならびに供給を行うことで効率的な創薬モデルマウス作成の可能性を検討した。また、ルシフェラーゼを安定発現させたヒト由来腫瘍細胞を細胞バンクとしてコレクションし、これらを用いた SCID マウスでの担がんモデルマウス作成を開始し、これらの評価試験系開発を行う。

B. 研究方法

1. 細胞培養

JCRB1379:MKN45-Luc は RPMI1640 medium with 10% fetal calf serum、JCRB1406:PC-3-Luc は F12K with 7% fetal bovine serum にて培養を行った。これらの細胞を用いて担がんマウス作成のため増殖させた細胞を生理食塩水に懸濁させ SCID マウスへの移植を行った。

現在 6 7 種の細胞のうち 2 4 種に関して細胞分譲準備が整い、分譲を開始している。

2. ルシフェラーゼ安定発現がん細胞株

ルシフェラーゼ安定発現がん細胞をスーパー SCID マウスに移植し、発光イメージング装置である IVIS (Caliper 社製) にて担癌マウスにおけるがん細胞の動態に関しての観察を行った。

C. 研究結果

下記の細胞について、細胞樹立時の情報を元に、細胞の培養条件を検討し、担がんマウス作成に必要な細胞量の増殖を行うとともに、微生物汚染検査、マイコプラズマ汚染検査、ウイルス汚染検査、細胞個別識別検査等の品質管理を行った。

JCRB1379:MKN45-Luc

62 歳女性より樹立された低分化型充実型腺癌由来、CEA 高産生株であり、胃がん細胞株として、がん転移、抗がん剤スクリーニングなど in vitro 研究ツールとして汎用されている。今回寄託された本細胞は品質管理の過程においてマイコプラズマ汚染が検出され、マイコプラズマ除去を行った。

JCRB1406:PC-3-Luc

62 歳男性より樹立された前立腺がん細胞株であり、がん転移、抗がん剤スクリーニングなど in vitro 研究ツールとして汎用されている。今回寄託された本細胞は品質管理の過程においてマイコプラズマ汚染が検出され、通常マイコプラズマ除去作業ではマイコプラズマが除去できなかったため、プラスモシン（2 剤併用薬剤）を使用

してマイコプラズマ除去を行った。

担癌マウスの発光イメージングにおいては十分な感度を持って、皮下移植したがん細胞ならびに深部の標的臓器に移植したがん細胞のイメージングすることができた (Fig. 1)。

D. 考察

ヒト由来の悪性腫瘍ならびに良性腫瘍、さらには正常組織の培養・増殖法が *in vitro* において開発されているが、創薬研究においては *in vitro* のみではなく *in vivo* における開発薬剤の評価が欠かせない。また、悪性腫瘍の転移モデルマウスは抗がん剤開発においては非常に有力なツールとなる。さらにルシフェラーゼ遺伝子を導入した細胞を担癌マウス作製に用いることで、マウスを生きたままの状態、がんの位置や大きさを経時的に観察することが可能となる。がんの転移に関しても非常に小さな転移であっても把握することができ、このようなモデルマウスは創薬において非常に有用な研究ツールとなる。本研究においては創薬研究に必要な担がんモデルマウス作成、その腫瘍形成能、転移能評価の検討のため、胃がん、前立腺がんをはじめとするがん細胞の培養・増殖・供給を行ったが、細胞の培養方法ならびにその品質管理を規格化することにより、担がんマウス作成効率の向上と再現性の確保が期待できことが検証できた。培養可能ながん細胞は世界中に広く普及しているが、培地や継代方法をはじめとする細胞の取扱が研究者によって様々であり、同じ細胞の名前であっても細胞の表現型に違いにあることが多い。特にがん細胞はゲノムの不安定性により、ゲノム変化が大きく、継代培養によって細胞が変化しやすい。これらの細胞を用いて担がんマウスを作成する場合には、十分な細胞ストックを同一ロットで確保し、担がんマウス作成までのプロトコールを一定にすることで、研究の再現性を向上することが可能であると考えられ、研究ツールとして細胞を確保するには公的な細胞バンクが果たす役割は大きいと考えられる。また、本研究において見られたマイコプラズマ汚染に関しても研究の再現性・信頼性にとって非常に重要なものであり、これらを除いた細胞を研究者普及させることが非常に重要であると考えられる。

本研究において細胞バンクが保有する高品質な細胞が、創薬モデルマウス作成に用いる細胞資源として有用であることが実証でき、適切なマウスと組み合わせることで更なる細胞資源の活用

法開発に努めていきたい。

E. 健康危険情報

適用なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Use of BAC array CGH for evaluation of chromosomal stability of clinically used human mesenchymal stem cells and of cancer cell lines. Saito S, Morita K, Kohara A, Masui T, Sasao M, Ohgushi H, Hirano T. *Hum Cell*. 24(1):2-8(2011)

2) Growth factor-defined culture medium for human mesenchymal stem cells. Mimura S, Kimura N, Hirata M, Tateyama D, Hayashida M, Umezawa A, Kohara A, Nikawa H, Okamoto T, Furue MK. *Int J Dev Biol*. 55(2):181-7(2011)

3) ヒト多能性幹細胞の命名法の国際統一規格案について. 菅三佳, 高田圭, 小原有弘, 末盛博文, 青井貴之, 中村幸夫, 古江- 楠田美保 再生医療 (日本再生医療学会雑誌) vol. 11(1)2-8 (2011)

2. 学会発表

国内会議

1) 細胞認証試験によるリスク管理の必要性と論文投稿における国際動向、小原有弘, 古江楠田美保、第29回日本ヒト細胞学会学術集会8月(富山)

H. 知的財産権の出願・登録状況

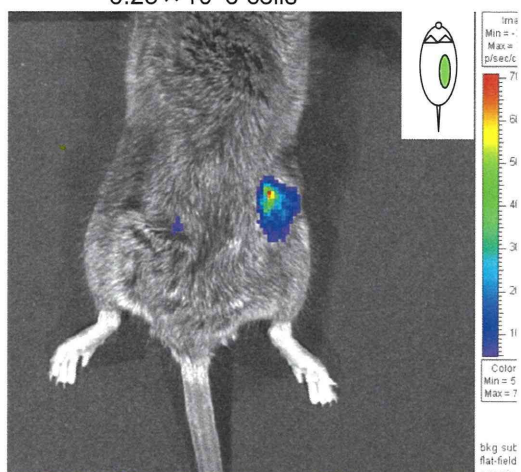
(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

MKN45-Luc (Exp. No. 621(G))

① 背中右皮下注入

6.25×10^6 cells

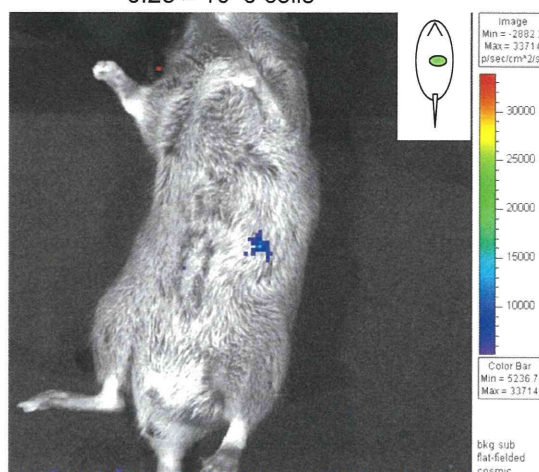


Click # KHR20110713150601
Wed, Jul 13, 2011 15:06:12
Bin HS (8), FOV7.5, fl, 3m
Filter: Open
Camera: IS0633N3985, DW434

Series: MKN45-Luc
Experiment: 1
Label:
Comment: 3min
Analysis Comment:

② 腺胃壁内注入(開腹)

6.25×10^6 cells



Click # KHR20110715103413
Fri, Jul 15, 2011 10:34:26
Bin HS (8), FOV7.5, fl, 3m
Filter: Open
Camera: IS0633N3985, DW434

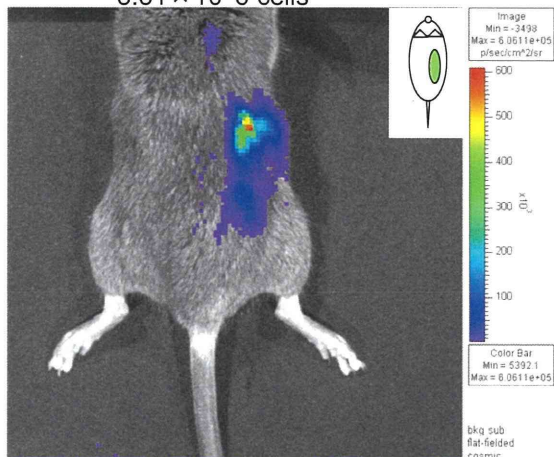
Series: MKN45-Luc-stomach
Experiment: 1
Label:
Comment: 3min
Analysis Comment:

胃壁などのマウス体内深部の発光も観察可能である

PC-3-Luc (Exp.No. 620(PC))

① 背中右皮下注入

3.31×10^6 cells

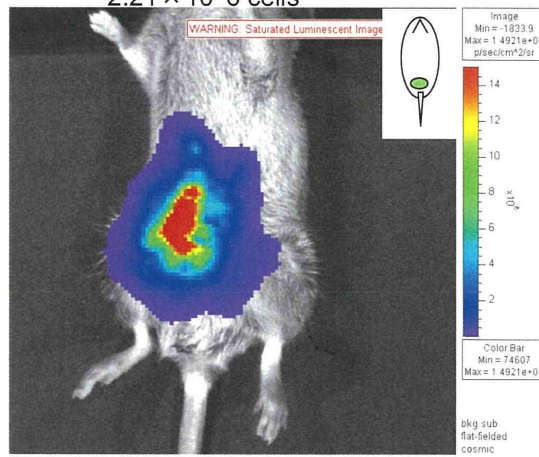


Click # KHR20110713135000
Wed, Jul 13, 2011 13:50:10
Bin HS (8), FOV7.5, fl, 3m
Filter: Open
Camera: IS0633N3985, DW434

Series: PC-3-Luc
Experiment: 1
Label:
Comment: 3min
Analysis Comment:

② 前立腺注入(開腹)

2.21×10^6 cells



Click # KHR20110715115146
Fri, Jul 15, 2011 11:51:58
Bin HS (8), FOV7.5, fl, 3m
Filter: Open
Camera: IS0633N3985, DW434

Series: PC-3-prostate
Experiment: 1
Label:
Comment: 3min
Analysis Comment:

in vitroでの酵素活性結果を反映して

PC-3-LUCの方が発光強度が高い。

Fig. 1 ルシフェラーゼ発現がん細胞を移植したSCIDマウスでのイメージング結果

呼吸器疾患移植組織と免疫機能の解析

研究分担者 立花功 大阪大学 講師

研究要旨:テトラスパニン CD9 と CD81 のダブルノックアウトマウスがマクロファージを主体とする肺の炎症を起こし、ヒト COPD 類似の病態を呈することを報告した。今回、ヒト COPD 患者から末梢血単球でのテトラスパニンの発現を検討した。その結果、COPD 患者では非喫煙者や非 COPD 喫煙者と比べ、CD9 と CD81 が低下していた。一方、他のテトラスパニンメンバーの発現には変化がなかった。CD9 の発現レベルは肺機能上の 1 秒率と相関しており、その低下が COPD の要因である可能性がある。

A. 研究目的

テトラスパニン CD9 と CD81 はマウスマクロファージの炎症反応を負に調節しており、その欠失はマクロファージの活性化を引き起こし、CD9/CD81 ダブルノックアウトマウスは炎症性疾患 COPD 類似の病態、肺気腫と骨粗鬆症を呈する。ヒト COPD 患者において実際に CD9、CD81 の発現が低下しているか明らかにする。

B. 研究方法

大阪大学病院呼吸器内科に通院中の非喫煙者 18 名、非 COPD 喫煙者 14 名、COPD 患者 17 名から、説明をした上同意を得て末梢血単球を分離した。CD9、CD81 の発現をフローサイトメトリーで解析した。また CD9、CD81 の発現と呼吸機能との相関を検討した。

C. 研究結果

COPD 患者単球では CD9、CD81 の発現が低下していた。一方、他のテトラスパニンである CD37、CD53、CD63、CD82、CD151 の発現は非喫煙者 (NS) 非 COPD 喫煙者 (S) と比べ差を認めなかった (図1)。

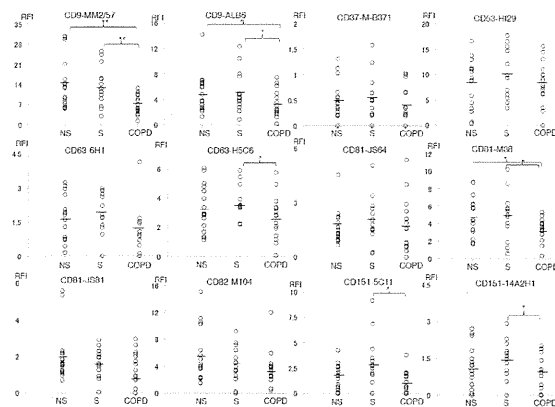


図1. 末梢血単球におけるテトラスパニンの発現

CD9、CD81 の発現レベルと、呼吸機能検査上の 1 秒率との相関を調べたところ、CD9 の発現レベルと 1 秒率に正の相関を認めた。一方、CD81 との間には相関がなかった (図2)。

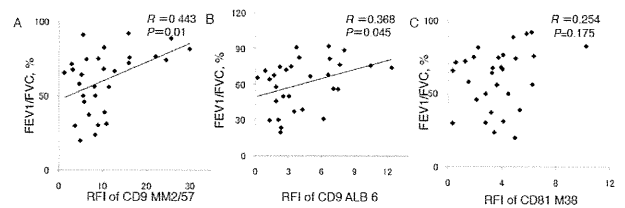


図2. CD9、CD81 レベルと 1 秒率 (FEV1/FVC, %) との相関

D. 考察

膜 4 回貫通型タンパクテトラスパニン CD9、CD81 はマウスにおいて COPD の発症予防的に働いていると考えられたが、実際ヒト COPD 患者においても、末梢血単球での発現低下が確認された。今後は低下した CD9、CD81 の発現を回復させる治療の開発が必要である。

E. 結論

単球におけるテトラスパニン CD9、CD81 の低下は、ヒト COPD 発症要因である可能性がある。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

Tachibana I. Search for anti-COPD drugs to upregulate macrophage CD9 and CD81. 招待講演 FASEB summer research conference, VT, USA, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

消化器等一般外科手術組織の移植系の確立

研究分担者 本行忠志 大阪大学 准教授

研究要旨：H22 年度は化学療法、放射線治療の際の正常組織への副作用についての調査にとどまらず、副作用を軽減し得る薬剤を求めため、SCID マウスへ移植したヒト肺組織への影響調査と並行して、B6 マウスを使用して実験を行った。

A. 研究目的

がん放射線治療の晩発性障害として、照射部位やその周辺の組織に線維化が進行して、QOLの低下やがん化等が知られており、その線維化の制御は極めて意義の高いものとなる。そこで、マウスに放射線を照射するとともに、現在臨床で利用できる線維化を抑制すると考えられる薬剤を投与することにより、がん放射線治療や化学療法の際の正常組織の障害（線維化）を抑制する化学物質を同定することを目的とする。

B. 研究方法

実験(1) 部分照射：放射線に感受性の高いB6マウスに肺、肝、腎、（およびその照射野に存在する組織=皮膚等）にのみに（他の部位は遮蔽）分割照射(2Gyx10回, 2Gyx20回)、あるいは一括（1回）照射(10Gy, 15Gy, 20Gy)。

実験(2) 全身照射：B6マウスに5Gyまでの全身一括照射。

実験(3) ブレオマイシン投与：肺の障害を比較するため、B6マウスにBLM投与。

実験(1)-(3)の放射線あるいはBLM投与前後に線維化抑制が期待される化学物質を投与、すべてにおいて経時的に体重測定や毛の観察を行い、一定期間の後、micro CT、採血、採尿等を施行し、各組織を採取した。

動物実験に関しは、医薬基盤研究所動物実験委員会および大阪大学医学系研究科動物実験委員会の承認のもと、ガイドラインに沿い、研修、登録のうえ、十分に動物愛護上の問題点に配慮し、研究をおこなっている。本行（分担）

C. 研究結果

実験(1)では総被曝線量が多くなるに従い、毛の脱顆粒（白髪）化、肺の硬化、腎や肝臓の萎縮、体重減少、致死、等が見られたが、それらはアスコルビン酸やAHCC（植物性多糖体）等で軽減された。

実験(2)では肺、腎、肝臓に差は見られなかったが、体重減少、胸腺・脾臓の重量およびリンパ球減少が見られた。それらは、数種の薬剤により軽

減された。

実験(3)では各臓器の見かけ上の変化は少ないが、投与量が増えると肺の線維化が認められ、これも数種の薬剤により線維化抑制が見られた。

D. 考察

ヒト正常肺への制癌剤、放射線の副作用（線維化など）は治療上深刻な問題であり、インパクトは大きい。

E. 結論

B6マウスを使用して化学療法、放射線治療の際の正常組織への副作用およびその副作用の軽減のための薬剤について調査した。アスコルビン酸には多岐にわたって線維化抑制効果が認められた。

F. 健康危険情報

特記すべきことはなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Hongyo T, Nakajima H, T. Ascorbic acid suppresses hair depigmentation caused by irradiation. 14th International Congress of Radiation Research. Warsaw, Poland.2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：特になし

前立腺腫瘍、前立腺肥大組織の移植維持系の確立

研究分担者 野々村祝夫 大阪大学 教授

研究要旨：前立腺の臨床知見から悪性化に対するマクロファージ活性の関与について調査したところ、強い相関がみられた。この知見をもとにマクロファージ機能の低下した SCID マウスへの移植の成功が継代維持のキーポイントになる可能性がある。適切な前立腺がん症例を選択し移植に用いる。がん組織での移植が成功すれば、「5 α reductase inhibitor (Dutasteride)の前立腺肥大症に対する直接的効果の評価」というテーマへ研究を展開できるものとする。

A. 研究目的

ヒト前立腺がんは、通常のSCIDマウスやヌードマウスでは、移植後、増殖し難い。その原因について臨床的知見を得るとともに、SCIDマウスへの移植、継代維持のための適切な前立腺肥大組織、がん組織を選択し、前立腺疾患治療薬の効果と安全性に資する。

B. 研究方法

前立腺がん、前立腺肥大手術臨床例について、前立腺および周辺組織の生体内での環境（免疫、ホルモン等）を臨床医学的に調査し、前立腺がんの発生、増殖に関与する因子を究明するとともに、得られた知見をもとにSCIDマウスへの移植に適切な前立腺がん、前立腺肥大組織を選択する。

（倫理面への配慮）ヒト前立腺組織採取に当たっては、診断と治療に影響を与えない範囲での組織の利用とし、大阪大学医学部における臨床研究倫理審査委員会での承認を受けた上で採取組織の利用を行った。医薬基盤研究所においても研究総括代表者・野村が別記の如く倫理委員会および動物実験委員会の承認を得て移植を行っている。

C. 研究結果

前立腺がん組織周囲への自然免疫関連細胞の浸潤は、癌細胞の増殖や癌の進展に深く関わっている事が最近示唆されている。前立腺癌の予後規定因子に関する研究で、免疫系細胞に関する研究は少ない。腫瘍周囲に浸潤する自然免疫細胞には、mast cell, tumor associated macrophage, macrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellなどがある。このうち、MSR-positive cellの腫瘍周囲への浸潤が少ないほど予後不良の傾向を示すことが明らかになった。MSR-positive cellは癌細胞の進展に対して抑制的に作用している可能性が示唆された。

また、前立腺癌の診断には、必ず前立腺の組織検査としての前立腺生検が必要である。ところが、前立腺生検による診断効率はきわめて悪く、また一旦生検で「癌無し」と診断されても、false

negativeや腫瘍マーカーの上昇により再生検が必要となる事が少なくない。現在、患者に再生検を積極的に勧める有効な指標は無く、PSAという腫瘍マーカーの上昇にもっぱら依存している。この研究では、初回生検時に「癌無し」と診断されても、その生検組織内にmacrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤が少なければ、再生検で「癌あり」となる可能性が高くなることを示した。すなわち、前立腺組織へのmacrophage scavenger receptor (MSR)-positive cellの浸潤は、癌の発生や増殖に対して抑制的に働いている可能性がこの研究で示唆された。これらの臨床知見に基づく前立腺癌および前立腺肥大症例の組織切除を行い、医薬基盤研究所においてsuper SCIDマウスへの移植のため譲渡した。テストステロン投与によって長期にわたる継代が可能となり、またその間の組織構築の維持が確認され、テストステロン付加が有効であると考えられた。

D. 考察

移植した前立腺がん組織が組織形態を維持しえたのは、採取したがん組織がホルモン抵抗性癌であったため、男性ホルモン値が低くても影響が無かったことと、マクロファージ活性化の低下したSCIDマウスへの移植のためと考えられる。肥大組織が変性を示したのは、移植マウスの男性ホルモン値が不足したためと考えられた。

E. 結論

前立腺癌に対する前立腺全摘除術後の再発危険因子として、腫瘍マーカーであるPSA値や組織学的悪性度以外のものについての報告は少ない。手術の際に切除した骨盤内リンパ節組織中のVEGF(vascular endothelial cell growth factor)の発現を調べたところ、発現陽性症例では有意に高い再発率を認めた。同様に、前立腺全摘除術後の再発危険因子に関する研究として、診断時に採取した前立腺生検組織中に存在するMSR(macrophage scavenger receptor)陽性の炎症

細胞数が少ない症例では予後不良であることが明らかとなった。マクロファージの関連が強く示唆された。従って、マクロファージ機能の低下した super SCID マウスを用いたヒト前立腺組織移植系の確立は今後の薬剤効果の評価や研究に極めて重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hatano K, Miyamoto Y, Nonomura N, Kaneda Y. Expression of gangliosides, GD1a and sialyl paragloboside, is regulated by NF- κ B- dependent transcriptional control of α 2,3- sialyltransferase I, II and VI in human castration-resistant prostate cancer cells. *Int J Cancer*, 129:1837-1847, 2011.

2) Hatano K, Nonomura N, Nishimura K, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nakayama M, Takayama H, Tsujimura A, Okuyama A. Retrospective analysis of an oral combination of dexamethasone, uracil plus tegafur and cyclophosphamide for hormone-refractory prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 41(2):253-9, 2011.

3) Nonomura N, Takayama H, Nakayama M, Nakai Y, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Aozasa K, Tsujimura A. Infiltration of tumour-associated macrophages in prostate biopsy specimens is predictive of disease progression after hormonal therapy for prostate cancer. *BJU Int*. 107(12):1918-22, 2011.

4) 中井康友, 高山仁志, 野々村祝夫. 前立腺炎後の組織修復過程における骨髄由来細胞 (Bone marrow-derived cells) の役割についての検討。泌尿器外科、24(8): 1235-1237, 2011.

5) 中井康友, 辻村晃, 野々村祝夫. 【前立腺癌(第2版)-基礎・臨床研究のアップデート-】 基礎前立腺癌のアンドロゲン非依存性進展 副腎ステロイドの役割(解説/特集) 日本臨床、69巻増刊5 前立腺癌: 112-116, 2011.

2. 学会発表

1) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased infiltration of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Urological Association, Washington DC, May 17, 2011.

2) Takayama H, Hatano K, Satoh M, Kawashima A, Mukai M, Nagahara A, Nakai Y, Nonomura N. Increased number of mast cells infiltrating in non-malignant biopsy is associated with detection of prostate cancer. Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Orlando, April 5, 2011.

3) 高山仁志, 波多野浩士, 佐藤元孝, 河嶋厚成, 向井雅俊, 永原 啓, 植村元秀, 岡 大三, 中井康友, 野々村祝夫. 膀胱上皮内癌(CIS)に対するBCG膀胱内注入療法の予後予測因子としての肥満細胞出現の有用性の検討。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月24日

4) 中井康友, 高山仁志, 野々村祝夫. 食餌由来の発癌物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine (PhIP) 投与により発生するラット前立腺癌の発癌過程における肥満細胞の役割の検討。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月24日

5) 中井康友, 中山雅志, 高山仁志, 野々村祝夫. 前立腺癌における炎症の役割について—動物実験における検討—。第99回日本泌尿器科学会総会、名古屋市、2011年4月21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし