

2. 公募研究

1) フコキサンチンによる Patient-Derived Xenograft を用いた前臨床膵がん予防研究

薬学部衛生薬学講座・准教授 寺崎 将

【背景】

我が国の膵がん死亡率は増加し続けており、予後及び治療成績も悪く、早期診断・予防法の開発は急務である。膵がんの大部分を占める膵管がん(PDAC)は、腺房細胞の *K-RAS*、*CDKN2A*、*TP53*、*SMAD4* の遺伝子異常蓄積、メチル化異常、線維化、染色体増幅・欠失と共に、前癌病変(PanIN)からのがん進展が多段階的に起こることで知られている。発がん初期段階の PDAC 発症部位において必発する腫瘍微小環境は、膵がんの発症と予防に決定的に重要である。膵がん予防については、幾つかの食品成分による膵がん予防効果に関する知見が散見されている。しかしながら、膵がん腫瘍微小環境の複雑な細胞群の分子制御を予防研究で解明した知見はほとんどない。

ワカメ等の常食褐藻類は、Fucoxanthin (Fx, Figure 1), Fucoidan, phlorotannins, n-3 系高度不飽和脂肪酸, Fucosterol 等の抗がん作用を示す化合物を豊富に含む。これらの化

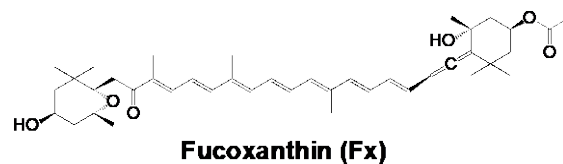


Figure 1. Fucoxanthin の構造式.

合物のうち、Fx が特に強い抗がん作用を持つ成分の一つとして報告されている。我々は最近、Fx を投与させた同種同所移植膵がんモデルマウスにおいて、明瞭な抗がん作用及び腫瘍微小環境形成抑制作用を見出した (Murase *et al*, *Int J Mol Sci* 2021)。

現在、最もがん患者のがん組織の不均一性という特性を保持したモデル動物は、患者由来腫瘍組織の断片をそのまま免疫不全マウス (NOD/SCID や NOG マウス) に移植し、継代していく Patient-Derived Xenograft (PDX) マウスである。抗がん剤の治療効果の予測に最も相応しく、革新的なモデルであると考えられている。しかしながら、これまで PDX マウスを用いて、食品あるいは食品由来成分によるがん予防効果を調べた知見はほとんどない。

【目的】

Fx による抗がん作用を PDX マウスで解明できれば、Fx の摂取がヒトのがん予防法の一つとなる可能性が高まる。本研究では、PDX マウスを用いて、Fx による膵がん予防効果とその作用機序を明らかにする。

【研究計画】

ヒト膵がん組織の試料は、国立がん研究センターと共同研究契約を締結して入手する。膵がん組織を複数の免疫不全 SCID-Beige マウスの背部皮下へ接種し、生着率の良いマウスを選定する。腫瘍を採取し、裁断して得た 2 x 2 mm 片を生体組織移植針を用いて、新たな SCID-Beige マウス背部皮下へ接種し、クリップで縫合する (PDX マウス)。

PDX マウスへ、Fx 餌料を 10~3,000 ppm の 4 段階の濃度に分け (10、100、1,000、3,000 ppm)、2 週間投与する (1 群 20 匹 x 4 群、計 80 匹)。Control マウス 20 匹には通常餌料を与える。2 週後に安楽死させて背部皮下腫瘍を採取する。腫瘍は複数に裁断し、一部はホルマリン固定して HE 染色標本による病理組織学的解析及び各種抗体を用いた免疫組織化学的解析を実施する。また、腫瘍の断片の他の一部より、total RNA 及びゲノムを抽出して mRNA・long-non coding (lnc)RNA 発現、遺伝子変異・融合・メチル化、DNA コピー数等を次世代シーケンサー(NGS)及び microarray を用いて解析する。得られたデータを統合して、Fx による PDX を用いた膵がん予防効果と腫瘍微小環境へ及ぼす機序を解明する。

【成果】

国立がん研究センターと共同研究契約を締結し、数十種のヒト膵がん組織を入手できる環境を構築した。膵がん患者の膵がん組織の進行度や化学療法の施行の有無から、膵がん組織 1 種を選定した。SCID-Beige マウスを 3 匹購入し、1 週間馴化した後、ヒト膵がん組織を裁断し、2x2mm 片を 6 片準備した。この組織片を生体組織移植針を用いて、3 匹の SCID-Beige マウスへの右横腹の皮下へ 1 片、2 片、3 片と接種した。接種後、クリップで縫合し、腫瘍の成長を観察した。その結果、膵がん組織の接種 84 日後、組織片を 2 片と 3 片接種したマウスにおいて、がん予防実験に用いることが可能な十分な大きさの腫瘍塊を得た。この腫瘍塊を採取し、2x2mm 片を多数準備して、別の SCID-Beige マウスを用いてがん予防実験を開始する。今後、Fx によるがん予防効果及びその作用機序を解明していきたい。