

## 【要約】

Generation and characterization of patient-derived cells and xenograft of bladder cancer

(患者由来膀胱がん細胞および異種移植モデルの作成とその解析)

千葉大学大学院 医学薬学府  
4年博士課程  
先端医学薬学専攻 (医学領域)  
(主任：市川 智彦 教授)  
滑川 剛史

## 背景

膀胱がんは男性で6番目に多い罹患率であり、全世界で年間165,100が死亡している。特に筋層浸潤性膀胱がんに対しては手術や化学療法を含む集学的治療が行われるが予後不良である。

がん研究の進歩により、がん幹細胞様細胞が自己複製能と分化能を有し、転移や化学療法の耐性に関与することが明らかになってきた。膀胱がんにおいてもがん幹細胞様細胞の存在が報告されており、がん幹細胞様細胞が新たな治療標的として期待されている。がん幹細胞様細胞は細胞膜表面の幹細胞マーカーによって同定、選別される。膀胱がんにおいてはcytokeratin 14 (CK14)、CD44、CD47、CD90などが幹細胞マーカーとして知られている。

一方、従来の2次元培養と比較し、腫瘍の特徴と生体内の微小環境をより反映するがん細胞の3次元培養の手法が確立しつつある。さらに、がん細胞の3次元培養はがん幹細胞様細胞の性質を有する細胞を選択的に生存させることが報告されている。

本研究では長期培養可能な膀胱がん患者由来細胞と、それを用いた免疫不全マウスへの異種移植モデルの作成を目的とした。また、作成した患者由来細胞を用いて膀胱がんの腫瘍増殖や幹細胞性に関する機能解析を行った。

膀胱がん患者の手術検体を採取し、幹細胞培養用培地を用いて超低接着培養皿で3次元培養を行った。また、分化条件としてウシ胎児血清を加えた培地を用いて2次元培

養をおこなった。さらに作成した患者由来細胞を免疫不全マウスへ皮下移植した。患者腫瘍および患者由来細胞、異種移植腫瘍をホルマリン固定したのちヘマトキシリンエオジン染色し、組織学的検討を行った。患者由来細胞の遺伝子発現を解析し、膀胱がんのスフェロイド形成、増殖に関わる酵素を同定した。同定した酵素遺伝子のノックダウン及び阻害薬による治療を行い、機能解析を行った。

## 結果

本研究では長期培養可能な膀胱がん患者由来細胞を作成した。さらにこれらの患者由来細胞は免疫不全マウスへ異種移植が可能であった。また、異種移植腫瘍は患者腫瘍組織と類似する形態学的特徴を維持していた。患者由来細胞で発現が上昇する幹細胞関連遺伝子として1つの酵素を同定した。公共データベースを用いてこの酵素の高発現が膀胱がんの予後不良に関連することを見出した。この酵素阻害薬の存在下で患者由来細胞を培養したところ、増殖およびスフェロイド形成が阻害された。さらにこの酵素遺伝子をノックダウンすると膀胱がん患者由来細胞の増殖およびスフェロイド形成が阻害された。

## 考察

本研究では長期培養可能な膀胱がん患者由来細胞を作成することに成功した。またこれらの患者由来細胞は免疫不全マウスへの移植により腫瘍を形成した。異種移植腫瘍は患者腫瘍組織と類似する形態学的特徴を維持していたことから、これらのモデル

が患者腫瘍の臨床的背景を反映していると考えられる。

薬剤感受性の指標を見出すことは患者毎の精密ながん治療において重要である。これまでがんに対する新規薬剤のスクリーニングには2次元で培養される細胞株が用いられてきた。しかし、2次元培養では生体内のがん周囲環境が反映されず、長期に継代された細胞株では元になった腫瘍組織から形態学的に大きく変化していることも報告されている。3次元培養では2次元培養と比較し、実際のがん周囲環境を模倣していると考えられている。さらに患者のがん組織から作成した患者由来細胞においては患者個別の腫瘍の遺伝子的特徴、形態学的特徴を反映している。本研究で作成した患者由来細胞も患者個別の腫瘍を反映しており、新規治療薬剤探索の進歩に貢献することが示唆される。

今回同定した酵素の高発現が予後不良因子であることが報告されているが、本研究ではさらに、この酵素の阻害薬およびノックダウンが膀胱がん患者由来細胞の増殖およびスフェロイド形成を阻害することを明らかにした。このことからこの酵素が膀胱がんにおいて診断、治療の標的となる可能性を示唆した。

## 結語

膀胱がん患者由来細胞を用いた解析は腫瘍形成や治療抵抗性の研究手法として有用であることが示された。

European Journal of Cancer

平成 2 9 年 1 2 月 5 日 投稿中