

藤原紳祐 論文内容の要旨

主 論 文

A novel animal model for in vivo study of liver cancer metastasis (肝癌転移メカニズム解明のための新規動物モデルの開発)

藤原紳祐、藤岡ひかる、立野知世、谷口堅、伊東正博、大下浩樹、
鵜頭理恵、石橋大海、兼松隆之、吉里勝利

World Journal of Gastroenterology, 2012 (in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：藤岡ひかる)

<緒 言>

肝臓は、癌転移の重要な標的臓器である。それ故、ヒト肝臓と極めて類似した生理学的環境を有する動物モデルの必要性は高い。しかし、現時点ではヒト肝臓を持つあるいはヒト肝臓に極めて類似した肝転移動物モデルは作られていない。このモデルは、抗癌剤の生体内感受性試験に応用できるだけでなく、肝転移のメカニズム解明にも役立つ可能性がある。

ヒト肝臓を持つ新しい肝癌転移モデルを確立するため、uPA/SCID mouse を用いた研究を行った。

<動物と方法>

1) 宿主動物および転移癌細胞

- ・ 宿主動物：uPA 遺伝子を組みこんだ Transgenic mouse と SCID mouse を交配した uPA/SCID mouse
- ・ 転移癌細胞：AFP 産生胃癌細胞株

2) 方法

ヒト肝臓に極めて類似した動物モデル作製のため、ヒト肝細胞と AFP 産生胃癌細胞の同時移植を行った。AFP 産生胃癌細胞とヒト肝細胞の生着率および置換率は、病理切片より計算した。また、血清 AFP 値とヒトアルブミン濃度も測定した。

・ 実験群：

Group A ; AFP 産生胃癌細胞のみの移植群

Group B ; AFP 産生胃癌細胞とヒト肝細胞の同時移植群

<結 果>

Group A では、AFP 産生胃癌細胞は uPA/SCID mouse の肝臓に生着・増殖し腫瘍形成が認められ (置換率=22.0±2.6%)、異型腺管構造を伴う中分化腺癌を呈しヒト胃癌と同様の形態を有していた。血清 AFP 値も 211.0±142.2 µg/ml (7.1-324.2 µg/ml) と上昇を

認め、血清 AFP 値を追跡することで転移形成の有無を予測することが可能であった。Group B では、AFP 産生胃癌細胞とヒト肝細胞がそれぞれ生着し、増殖した (置換率 = $12.0 \pm 6.8\%$, $66.0 \pm 12.3\%$)。移植後、定期的に採血しヒトアルブミン値と AFP 値の変化を見た。Cytokeratin 18 染色/AFP 染色により AFP 産生胃癌細胞の colony を鑑別したところ、淡明なヒト肝細胞に囲まれ、Group A と同様の腫瘍を形成していた。これらは少なくとも 56 日間生存し、観察期間中の検討では肝外への転移は認められなかった。

<考 察>

肝転移の理想的な動物モデルは少なくとも 2 つの要素を持つ必要がある。第一に、移植した癌細胞が宿主肝に生着し、腫瘍形成をすること。第二に、*in vivo* のヒト肝臓の微小環境を再現できるような肝臓を持つことである。これまでの肝転移動物モデルは第一の要素は持つものの、ヒト肝の微小環境を十分に再現しているモデルではない。我々は、この 2 つの要素をもつユニークな動物モデルを開発した。

AFP 産生胃癌では、約 70% の患者が肝転移を呈すると報告されている。これは、AFP 産生胃癌株が肝臓に対し親和性が高いためである。そこで、本研究では肝癌転移癌細胞として選択した。本研究でも (Group A)、癌転移率は最高で 25% になった。一方、ヒト肝細胞と胃癌細胞との同時移植 (Group B) では、胃癌細胞の単独移植と同じような形態で肝転移腫瘍形成が見られた。経過中のアルブミン値と AFP 値の上昇の程度にばらつきが見られたが、これは *in bred mouse* を用いているとはいえ異種間の移植における生着に対する反応の相違が現れたのかもしれない。また、ヒト肝細胞の置換率は $66.0 \pm 12.3\%$ 、胃癌細胞の生着率は $12.0 \pm 6.8\%$ で、ヒト肝細胞の置換率が優位に高いが、これは宿主肝に対するそれぞれの細胞の親和性の違い、あるいは増殖率の違いによるものと考えられた。

抗癌剤の臨床試験を行う前には、その効果や毒性について動物モデルで前臨床試験を行う必要がある。その際に使用される動物の多くはマウスやラットである。ヒトとこれら齧歯類では、肝細胞の代謝機能が著しく異なるため動物実験の結果で臨床試験における抗癌剤の毒性を予測するに至っていない。一方、ヒト化した肝臓を持つ動物モデルは、より生体に近い環境を持つため抗癌剤の薬物動態解析に有用なツールとなる。我々の知る限り、現時点でヒト肝臓を持つあるいは極めて類似した肝転移モデルは存在しない。我々のこれまでの研究では、このヒト化した肝臓は、Albumin、 $\alpha 1$ -antitrypsin、Apoprotein-E などの肝酵素関連蛋白を分泌している。すなわち、移植した肝細胞がヒトと同様の薬理的な反応を保持していることで、健康人には容易に投与実験が行えない薬剤の代謝動態研究に我々の開発した肝転移モデルを用いることができる。また、本モデルを用いることで、肝転移メカニズムを解明することができる可能性も秘めている。