

患者細胞異種移植モデルを用いた白血病治療薬の探索

名古屋大学医学部附属病院

血液内科 講師 早川文彦

【背景】患者から採取した腫瘍細胞を高度免疫不全マウスに異種移植して得られるモデルを患者細胞異種移植モデル (Patient-derived xenograft: PDX) と呼ぶ。PDX より採取したヒト腫瘍細胞は、間質細胞など微小環境に依存した増殖を示したり、癌幹細胞を頂点とする癌細胞としての分化階層性を維持したヘテロな細胞集団であるなど細胞株に比較してプライマリ腫瘍細胞の性質を強く維持しており PDX 細胞と呼ばれる。我々は PDX 細胞をその微小環境を再現したシステムで培養し、これを用いて薬剤をハイスループットにスクリーニングする独自のシステム (PDX スクリーニング) を開発し、そのシステムを用いて既知活性化合物と off patent 医薬品のライブラリをスクリーニングする事により、細胞株を用いた従来型のスクリーニングでは見いだす事のできなかつた新たな抗腫瘍活性を持つ既存薬剤を発見する事を目的とする研究を行っている。

【研究成果】フィラデルフィア染色体(Ph)陽性急性リンパ性白血病(ALL)の PDX モデルを5症例作成した。PDX から得られた腫瘍細胞 (PDX 細胞) を体外で培養する方法を検討し、骨髄間質細胞 S17 との共培養で長期培養可能なことを確認し、PDX スクリーニングが可能であることを確認した。このシステムを用いて、東京大学創薬機構提供の、既知活性化合物と off patent 医薬品のライブラリ (3440 コンパウンド) を用いてスクリーニングを行った。PDX スクリーニングに加え Ph 陽性 ALL の細胞株 (ALL1) を用いて従来型のスクリーニング (細胞株スクリーニング) も行い両者を比較した。その結果細胞株では弱い殺細胞効果しか示さないが、PDX 細胞に対し強い抗腫瘍効果を示す薬剤として verteporfin を選別した。本剤は加齢性黄斑変性症に対する承認薬である。

Verteporfin に関してスクリーニングに用いたものも含めて複数の PDX 細胞 (2種類) および細胞株 (3種類) に対する薬効の用量依存性を調べ、比較した。PDX 細胞に対する GI50 は 228 nM、395 nM で、細胞株における GI50 は 3.93 μ M、2.11 μ M、5.68 μ M と細胞株に比べて PDX 細胞に対する強い殺細胞効果が確認された (図1)。

本剤はもともと特定波長の光を吸収すると reactive oxygen species (ROS) を産生する物質で、その性質が加齢性黄斑変性症に対する光線力学療法に利用されている。今回の一連の実験では光照射は行っていないが、本剤が光非依存性にも一定の ROS を産生し、それによる酸化ストレス増大がアポトーシスを誘導している可能性が考えられた。そこで本剤添加後の ROS の酸性を検討したところ、本剤添加3時間後には著名な ROS の産生を認めた (図2)。また本剤の殺細胞効果は生体内に

おける代表的な還元剤である還元型グルタチオン(GSH)の添加により著明に抑制されたことから、ROS 産生による酸化ストレスが本剤の殺細胞効果の機序であると考えられた。これらの成果を下記学会で報告した。

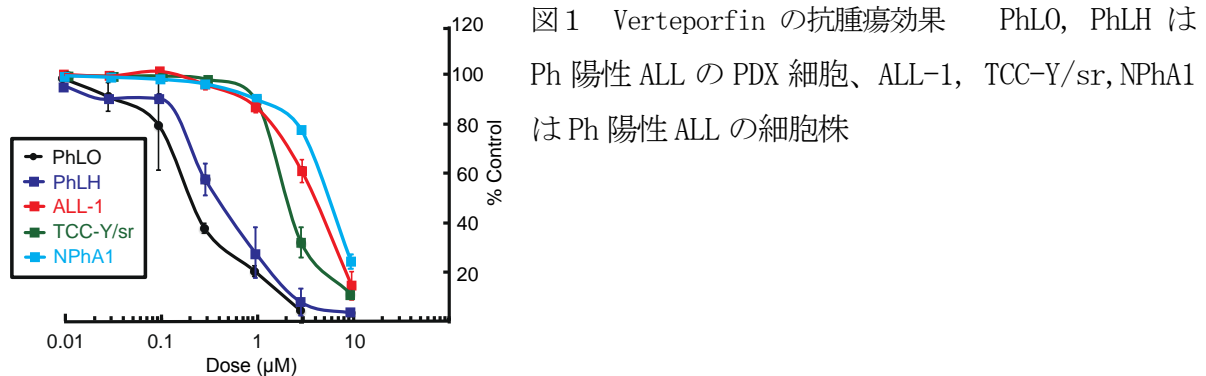


図1 Verteporfin の抗腫瘍効果 PhLO, PhLH は Ph 陽性 ALL の PDX 細胞、ALL-1, TCC-Y/sr, NPhA1 は Ph 陽性 ALL の細胞株

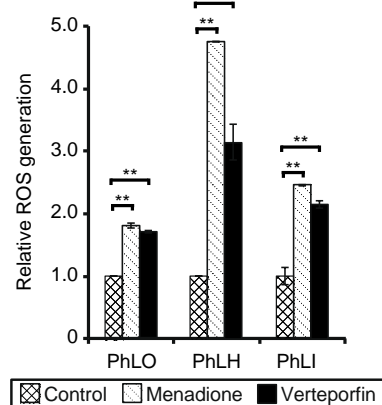


図2 Verteporfin による ROS 産生

Verteporfin 添加3時間後の ROS の産生を CellROX Green Oxidative Stress Reagents により測定。Menadione は ROS 産生のポジティブコントロールとして使用。

学会発表

1. Morishita T, Hayakawa F, Kojima Y, Imoto N, Inagaki Y, Sugimoto K, Naoe T, Kiyoi H. Drug repositioning by patient-derived-xenograft screening for the discovery of new treatment for Ph-positive ALL 第74回日本癌学会学術総会 2015.10
2. Morishita T, Hayakawa F, Kojima Y, Imoto N, Inagaki Y, Sugimoto K, Naoe T, Kiyoi H. Drug repositioning by patient-derived-xenograft screening for the discovery of new treatment for Ph-positive ALL 第77回日本血液学会学術集会 2015.10
3. Morishita T, Hayakawa F, Sugimoto K, Hirano D, Kojima Y, Imoto N, Inagaki Y, Naoe T, Kiyoi H. A Photosensitizer Verteporfin has Light-independent Anti-leukemic Activity for Ph-positive Acute Lymphoblastic Leukemia and Synergistically Works with Dasatinib in Vivo. 57th ASH annual meeting and exposition 2015.12