The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer
Author(s)	清原, 裕美子
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61568
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	清原　裕美子
論文題名 Title	Drug screening and grouping by sensitivity with a panel of primary cultured cancer spheroids derived from endometrial cancer （子宮体がんの初代培養細胞パネルを用いた薬剤感受性スクリーニングと感受性の差の検出）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

子宮体がんは、近年日本でも増加傾向にあり、死亡率は低下しておらず、タイプ２の組織型では治療効果のある薬剤の発見が期待される。その一つとして、分子標的阻害剤の開発が進んでいますが、その効果は一部の症例に限られているのが現状である。そこで我々は、初代培養細胞　cancer tissue originated spheroid　(CTOS) を用いて、子宮体がんに有効な分子標的阻害剤と、その効果予測バイオマーカーを探索することを目的として研究を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

方法：CTOSは、癌細胞を上皮細胞-細胞間接着を保持したまま、調整・培養する方法で、大腸癌について以前報告している。この方法を用いて、子宮体がんのCTOSを作成し、それをマウスの皮下へ投与して腫瘍形成を試み、CTOSとマウス皮下腫瘍と患者腫瘍との類似性を固定細胞のHE染色と免疫染色で検討した。作成したうち2例からのCTOS対し、79種類の分子標的阻害剤に暴露して１週間培養した後、ルシフェラーゼ活性からATP活性を計測する方法でスクリーニングを行い、細胞増殖抑制効果の高い薬剤を抽出した。抽出した薬剤をさらに複数の症例で検討して、感受性の差を検出し、感受性群と耐性群に分類した。2群において、マウス腫瘍の増殖抑制効果、CTOSの蛍光免疫染色、細胞染色を用いた増殖抑制メカニズムについて、組織型との比較、western blottingを用いた細胞内シグナル、蛋白の変化の検討を行った。

成績：CTOSを作成した117例中、72例(62%)が長期培養継続可能であった。またCTOSの組織学的携帯と、免疫染色でのER、p53、synaptophysin、chromograninAの発現は元腫瘍と同様であり、CTOSをマウスに投与して得られた皮下腫瘍は元の腫瘍の組織学的形態を保っていた。2例のCTOSの薬剤スクリーニングで、細胞増殖抑制効果の高かったeverolimus、YM155の2剤を抽出し、複数例のCTOSでの感受性試験を行うと、症例間で大きな感受性の差があり、耐性例と感受性例を区別することができた。感受性と非感受性の１例ずつのCTOSをマウスに接種し、YM155の治療実験を行ったところ、感受性群からの症例は、有意差をもって腫瘍の増殖が阻害されたが、非感受性群では有意差を認めず、感受性の差はin vivoでも反映された薬剤感受性は、それぞれの標的であるmTORシグナル伝達経路の阻害や、survivinの発現とは相関しなかった。YM155では類内膜線癌以外のタイプ２に分類される組織型で50%増殖阻害濃度が低値を示し、効果予測のバイオマーカーとなる可能性がある。

〔総　括(Conclusion)〕

CTOS法を用いて、高率に子宮体がんの３次元初代培養を確立でき、その一部でxenograft　tumorの形成が確認できた。CTOS法を用いた感受性試験により、複数の症例間の薬剤感受性の差を検出することができた。CTOSを用いた薬剤感受性試験を複数例で大規模スクリーニングとすることで、バイオマーカーの検出に寄与する可能性がある。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）清原　裕美子

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	木村　正
	副　査	大阪大学教授	森井　英一
	副　査	大阪大学教授	土岐　祐一郎

論文審査の結果の要旨

子宮体がんの罹患率は年々増加しており、その死亡率は改善していない。子宮体がんの初代培養細胞をCTOS（Cancer Tissue Originated Spheroid）法を用いて作成し、薬剤感受性を評価すること、また感受性のある薬剤のバイオマーカーを検索することを目的として研究を行っている。子宮体がんの初代培養細胞を108例作成し、うち2週間以上培養継続可能であったのは、72例（62％）であり、漿液性腺癌では90％以上と高率であった。2症例からの初代培養細胞を79種の分子標的阻害剤の感受性スクリーニングを行った。比較的高い感受性を示したeverolimus、YM155の2薬剤に関して、複数症例での感受性の差を検出し、症例を感受性群と耐性群に分類して、2症例において、CTOSを皮下接種して作成したマウス腫瘍でも薬剤効果が反映されることを確認した。また、効果予測バイオマーカーを検討し、YM155では、類内膜線癌以外の組織型であること、CTOSの薬剤曝露により、AKTの下流のシグナルが阻害されること、LAMP2の集積が誘導されることが候補として挙げられた。初代培養細胞に対する薬剤感受性スクリーニングパネルを用いて、さらに多数の症例での感受性の差を検出し、そのバイオマーカーを検出して臨床応用可能な薬剤の抽出を検討することが期待される。審査の結果、上記の報告は学位に値するものと認める。