

癌の増殖と転移をモニタリングする新しい分子イメージングの開発

犬伏 正幸 [独立行政法人放射線医学総合研究所／研究員]
(前 北海道大学大学院医学研究科分子イメージング講座/特任助教)

背景・目的

癌研究において遠隔転移の征圧を目指し、転移のメカニズムを解明することが重要であるが、基盤となる動物実験において適切な動物モデルと評価方法がないことが問題となっている。本研究では、可視光を発するレポーター遺伝子の代わりに、^{99m}Tc や¹²³Iを取り込むヒト Na⁺/I⁻共輸送蛋白(hNIS)遺伝子で標識した癌細胞を作成する。これをマウス等に移入してできる遠隔転移巣を体外からイメージングする。さらに癌細胞の絶対量の推移や転移の追跡を行い、転移の分子機構の解明に寄与することを目的とする。

内容・方法

細胞導入用ベクター pGL4.26[Luc2/minP/Hygro]に、制限酵素を用いて hNIS 遺伝子を組み込む。既に保有している転移指向の腫瘍細胞株 MBL-2を培養し、細胞導入用試薬を用いて pGL4.26/hNIS を導入する。ハイグロマイシンBを加えて細胞培養することにより、pGL4.26/hNIS が組み込まれなかった細胞に対しては選択的に蛋白質合成阻害が起こるため、継代を繰り返すことによって hNIS を安定発現する MBL-2株を樹立する。この腫瘍細胞株をマウスに皮下投与または静脈投与し遠隔転移を起こさせる。マウスに麻酔をかけた上で^{99m}Tc を尾静脈から投与し、小動物用 SPECT 装置で撮影すると、hNIS を安定発現している遠隔転移巣を検出することができると期待できる。

結果・成果

細胞導入用ベクターは、pGL4.26と異なり転写因子を必要としない pcDNA3の方が望ましいと考えてこれに変更し、制限酵素 Hind III サイトを用いて hNIS 遺伝子を組み込んだ。また、既に保有していた転移指向の腫瘍細胞株 MBL-2は継代を重ねるとともに増殖能が著しく低下し、形質の転換が起こったと推測された。そこで、代わりにヒト大腸癌由来の細胞株 HCT116を用いて、リン酸カルシウム法によって pcDNA3/hNIS を導入した。pcDNA3の場合はジェネティシン(G418)を細胞選択試薬として用い、継代を繰り返すことによって hNIS を安定発現する HCT116株(HCT116/hNIS)の5系統(A~E株)を作製することに成功した。これらについては^{99m}Tc 摂取試験も行い、^{99m}Tc を取り込む細胞株の樹立を確認した。

ただし、ヌードマウスの四肢に、HCT116オリジナル

株(control)および HCT116/hNIS の A、B、E 株をそれぞれ $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 接種して比較したところ、HCT116/hNIS の3株はいずれも HCT116 オリジナル株(control)に比べて、増殖能が低下しており、得られた皮下腫瘍のサイズは小さかった。また、尾静脈から経静脈的に HCT116/hNIS の E 株を $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 接種して観察しているが、現在までのところ肺や肝臓に明らかな転移巣の形成は見られていない。すなわち、遠隔転移巣のモデル動物作製には課題が残されている。hNIS 遺伝子が導入された HCT116 の DNA 部位が偶然良くなかったか、株を樹立するために継代を繰り返しているうちに生着率や増殖能が低下するような形質の転換が起こらなかっか、接種した細胞の数は適切であったか、などについては今後確認する必要がある。

一方、hNIS 遺伝子発現の断層画像を得るために小動物用 SPECT 装置(Siemens Inveon)は、昨年8月に導入される予定であったが、製造者側の都合により今年2月と大幅に導入が遅れた。導入後の調整も終了し、ようやく小動物用 SPECT 装置が稼動するようになった。担癌ヌードマウスに麻酔をかけた上で^{99m}Tc を尾静脈から投与し、小動物用 SPECT 装置で撮像することによって、hNIS を安定発現している癌細胞を正確に評価することができた。

今後の展望

上の「結果・成果」で記載したように、遠隔転移巣のモデル動物作製のために残されている課題を検討する必要がある。今回樹立した5系統(A~E 株)の合計約100コロニーは樹立直後の時点では液体窒素保存されているので、これらを再度起こして比較検討することによって、その他の課題の克服も可能である。また、小動物用 SPECT 装置が稼動するようになったことは、この検討の際にも役立つに違いない。最終的な成果は、1年内に論文としてまとめたいと考えている。

