



令和2年10月14日

報道機関 各位

熊本大学

マウスに苦痛を与えない生体組織移植針キット

Ez-Plant を開発！

—マウスへのヒト生体組織の移植が簡便に—

(概要説明)

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野のグループは、簡便かつマウスに苦痛を与えない、生体組織移植針キット:Ez-Plant を開発しました。本生体移植針キット:Ez-Plant は 2020 年に特許及び意匠の申請を行いました。

現在日本人の2人に1人が一生のうち何らかのがんにかかり、3人に1人ががんで死亡しています。がん患者を救うためには、がんの病態解析や新規治療法の開発が重要であり、そのためにはがん患者の病態を忠実に再現した動物モデルの樹立が必要不可欠です。近年、外科手術で摘出したがん患者の腫瘍組織をマウスに直接移植して作成される患者腫瘍組織移植 (Patient-Derived Xenograft : PDX) モデルが、がん患者の病態を忠実に再現したモデルとして注目されています。この PDX モデルは、がん患者のがんの性質や抗がん剤に対する反応性を保持しているため、高い臨床予測性を有しており、新規抗がん剤開発や個別化医療への PDX モデルの活用が進められています。本研究グループも独自で開発した高度免疫不全マウスに患者由来腫瘍組織を移植し、様々ながんの PDX モデルの開発を行っています。

動物モデルの樹立は、簡便かつ可能な限り実験動物に苦痛を与えない方法を用いることが望まれます。今回本研究グループは、がん患者由来腫瘍組織など生体組織を移植することに特化した生体組織移植針キット:Ez-Plant を開発しました。生体組織を移植する部位として皮下が最も多く用いられていますが、従来の方法で生体組織をマウス皮下に移植する場合、マウスの皮膚を切開する必要があるため、術後マウスに長期的な苦痛を与えていました。今

回開発した生体組織移植針キットを用いた移植は皮膚の切開を伴わず、皮膚に移植針を刺すだけで移植を完了させることができるため、マウスの皮膚には小さな挿入痕しか形成されません。したがって、従来の移植法に比べ、マウスに与える苦痛が極めて小さく、動物愛護の観点からも非常に優れています。

この生体組織移植針キットの開発は、熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・造血・腫瘍制御学分野の岡田誠治教授と刈谷龍昇博士（特任助教）、熊本大学認定ベンチャー・株式会社キューオールおよび熊本県内企業・九州オルガン針株式会社が共同で行ったものです。

（説明）

日本人では2人に1人ががんにかかり、3人に1人ががんで死亡するといわれています。このがんに対し、これまで様々な抗がん剤が開発され、多くのがん患者の生命予後を改善させてきました。しかしこれら抗がん剤はがんの効果を示すと同時に、がんではない正常細胞をも殺傷してしまい、悪心・嘔吐や下痢、脱毛や神経障害など重篤な副作用を引き起こしてしまいます。また、抗がん剤に耐性を示すがんも多数存在するため、これらの抗がん剤耐性のがんにも効果を示し、かつ副作用の少ない抗がん剤の開発が日々進められています。

がんには胃がん、肺がん、大腸がんなど様々ながんがあり、同じ名前のがんでも、患者によって性質は多種多様です。このような様々ながんに対して新規治療法を開発するためには、それぞれのがん患者の病態を忠実に再現した動物モデルが必要不可欠です。これまでも色々ながんのモデル動物が開発され、抗がん剤の開発に貢献してきました。最も一般的なものとして、がん細胞株と呼ばれる培養皿で増殖させることのできるがん細胞をマウスに移植するがん細胞移植モデルが抗がん剤の開発に用いられてきました。しかし、これらがん細胞株は培養皿で長期培養されているため、実際のがん患者のがん細胞に比べ、多くの遺伝子に変異が起こっており、もはやがん患者のがん細胞の性質を維持しているとは言えません。したがってこのがん細胞株をマウスに移植して、がんのモデルマウスを作製しても、実際のがん患者と薬の効果に違いが出てしまい、ヒトへの抗がん剤の効果予測するのに不十分でした。そこで近年、外科手術で摘出されたヒト腫瘍組織を高度免疫不全マウスに直接移植して作成される患者腫瘍組織移植（Patient-Derived Xenograft：PDX）モデルが開発されました。このPDXモデルは実際のがん患者のがん細胞の性質を維持しており、抗がん剤の効果も類似しています。したがって、このPDXモデルを用いて抗がん剤の開発を行えば、抗がん剤の開発成功率を飛躍的に上昇させることが可能となります（図1）。

動物モデルの樹立は、簡便かつ可能な限り動物に苦痛を与えない方法を用いることが望まれます。一般的にPDXモデルマウスの樹立は、麻酔下のマウスの皮膚を解剖用はさみで切開し、ピンセットにてヒト腫瘍組織塊を皮下に移植した後、縫合またはクリップにて切開

部位を接着する方法が用いられています。しかしながらこの方法では、皮膚を切開するため、マウスに大きな苦痛を与えてしまいます。そこで我々は、PDX 腫瘍組織移植に適した生体組織移植針キット:Ez-Plant の開発を行いました。この移植針の側面には腫瘍組織塊を挿入する移植片充填口が設けられています。この移植片充填口からヒト腫瘍組織塊を充填したのち、移植針を皮下に挿入、プランジャーで移植針内に充填された腫瘍塊をマウス皮下に押し出すことで皮下移植を行います（図2）。この移植針を用いた場合、マウスの皮膚には非常に小さな穴しか開かないため、マウスに長期的な苦痛を与えることはなく、動物愛護の観点からも非常に優れた移植デバイスです。

開発した生体組織移植針キット:Ez-Plant は今後抗がん剤の開発に利用される PDX モデルの樹立を効率化し、かつマウスに苦痛を与えないため、ヒトがん患者の予後及び動物愛護に貢献すると考えられます。

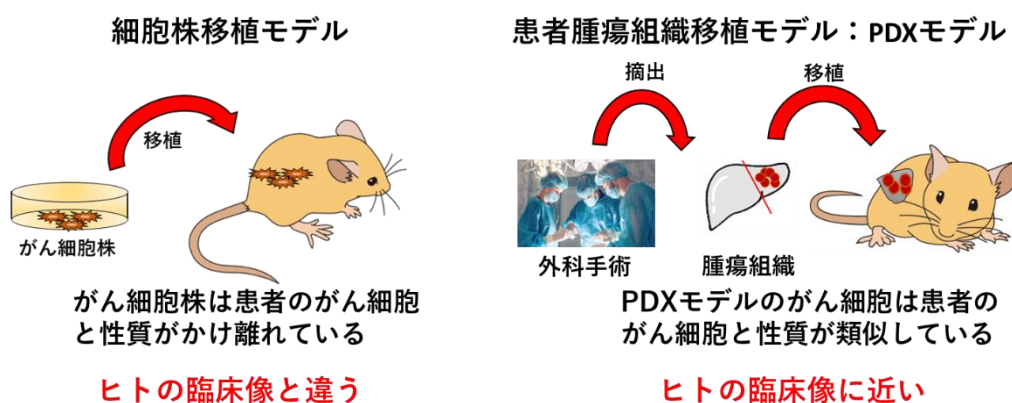
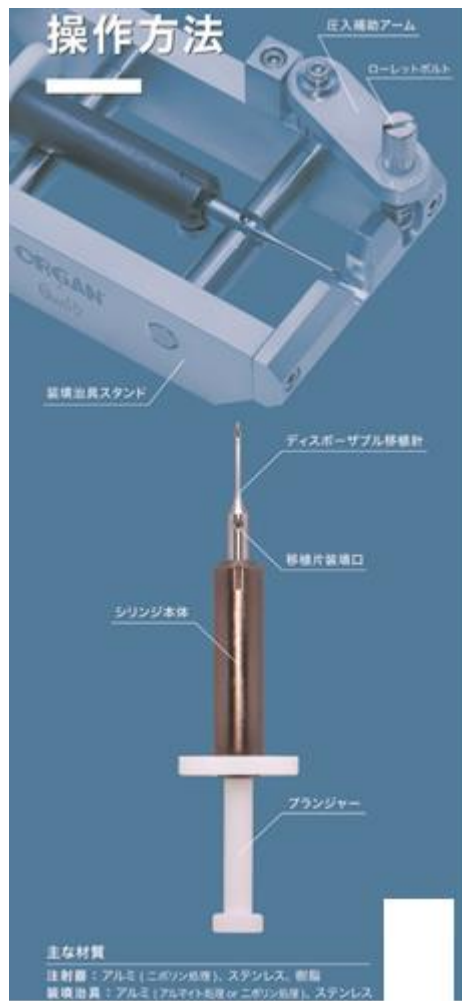


図1. PDXモデルは実際のがん患者の病態を忠実に再現したモデルである

細胞株移植モデルは培養皿中で増殖させることのできる特殊ながん細胞を免疫不全マウスに移植し樹立する。樹立は比較的容易であるが、がん細胞株は培養皿中で長期培養されているため、実際のがん患者のがん細胞に多数の変異が入っており、性質が変化している。一方、PDXモデルは外科手術で摘出した腫瘍組織を直接マウスに移植して作成されるため遺伝子変異等が入っておらず、がん患者のがん細胞の性質を維持したモデルである。



Ez-Plant

- 1 シリンジ本体に移植針をセットする**

移植針の装填穴をシリンジの溝に合わせて差し込み、針留めを回して固定する

針留め
- 2 スタンドにシリンジを固定
移植片を装填口へ載せる**

シリンジを移植器具に固定したら、2~3mmの薄層細胞片を装填口へ載せる（ゼンセットをご利用ください）

移植片装填
- 3 装填口へ圧入補助アームをセットする**

ローレットボルトを上方へ引きながら圧入アームを回転させ装填口に合わせる。装填口の位置を確認しながらローレットボルトを軽く回す。圧入アームが針先へ圧入する。
- 4 プランジャーを中間部まで押し込む**

ローレットボルトを軽く押し戻す。またプランジャーを押し込み止まる位置までスライドさせる。圧入アームを押し、移植片が針管内に収まったことを確認する。
- 5 スタンドからシリンジ本体を外し
マウスの皮下へ細胞移植**

図2 Ez-Plant の操作方法

(補足説明)

・薬の開発プロセス

薬の開発は基礎研究→非臨床試験→臨床試験というプロセスを経て行われます。基礎研究では、膨大な候補薬からターゲットとする疾患に効果の示す化合物の探索が行われています。

基礎研究で探索された薬は、マウスなどのモデル動物を用いた非臨床試験にて候補薬の毒性、薬効、薬を投与してからの血中濃度の推移（薬物動態）を検証され、効果があり毒性の低い薬がヒトを用いた臨床試験に進みます。この臨床試験でも毒性が確認されず、薬効を示した薬が国の承認を経て、実際に患者に使用されます。近年、非臨床試験を突破した薬が臨床試験を突破できないことが問題とされており、この問題を解決するために、臨床試験の前に行われる非臨床試験のモデル動物をヒトに近づけることが重要だといわれています。

・個別化医療

一人ひとりの体質や病気のタイプに合わせた治療を行うことを個別化医療といいます。例えば、患者それぞれの遺伝子を細かく調べ、患者の体質や病気のタイプに合わせて治療を行うことを指します。がんは同じ名前のがんでも患者によってさまざまな性質を示します。がん患者に対し個別化医療を実現する方法の一つとして、それぞれのがん患者に近いモデル動物を作製し、薬の薬効試験を行い、このデータを元に治療方針を決める方法があります。

・免疫不全マウス、高度免疫不全マウス

免疫系の一部またはほとんどが排除されたマウスを免疫不全マウスといい、重度の免疫不全マウスを高度免疫不全マウスといいます。マウスにヒトの細胞や組織を移植する際、ヒト細胞はマウスにとって異種であるため、マウスの免疫系によって拒絶されます。よって、ヒト細胞をマウスに生着させるためには免疫系が排除された免疫不全マウスが必要となります。熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・造血・腫瘍制御学分野はこれまで、世界トップレベルの免疫不全度を持つ高度免疫不全マウスや、放射線に耐性な高度免疫不全マウス、体が緑色蛍光を発する高度免疫不全マウスなど様々な特徴を持った高度免疫不全マウスの開発に成功しています。

・がん細胞株

ヒトがん患者から分離されたがん細胞を長期培養することによって不死化された細胞であり、培養皿中で長期間培養することが可能です。長期培養されているため、実際のがん患者のがん細胞に様々な遺伝子変異が入っています。

・患者腫瘍組織移植（Patient-Derived Xenograft：PDX）モデル

外科手術で摘出されたヒト患者由来腫瘍組織を直接高度免疫不全マウスに移植するこ

とで樹立されるモデルです。長期培養を行わないため、細胞株のようにがん細胞の遺伝子に変異が入っていません。よってがん患者それぞれの多様性や抗がん剤に対する反応性を保持しています。

・実験動物の福祉

実験動物を科学的に利用する場合は、実験動物に対する3Rの原則を遵守する必要があります。

3Rとは

1. 苦痛の軽減 Refinement
2. 使用数の削減 Reduction
3. 代替法の活用 Replacement

今回開発した生体移植針キットはマウスに対し苦痛の軽減に貢献します。

【お問い合わせ先】

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・
造血・腫瘍制御学分野

担当：岡田 誠治（おかだ せいじ）教授

電話：096-373-6522

FAX:096-373-6523

e-mail: okadas@kumamoto-u.ac.jp