HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	患者由来異種移植モデルマウスを用いたメルケル細胞癌の病態解明と新規治療に関する研究
Author(s)	宮本, 航大
Description	配架番号：3005
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16912号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16912
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99757
Type	doctoral thesis
File Information	MIYAMOTO_Kodai_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　　氏 名　宮本　航大

学 位 論 文 題 名

患者由来異種移植モデルマウスを用いたメルケル細胞癌の病態解明と新規治療に関する研究
(Establishment of Novel Patient-Derived Xenograft Mouse Models for Pathophysiological and Therapeutic Studies in Merkel Cell Carcinoma)

【背景と目的】　皮膚悪性腫瘍は高齢化や紫外線曝露の増加を背景に、2000 年以降その患者数が急速に増加している。近年、免疫チェックポイント阻害薬の登場により、進行例でも長期生存が得られる症例が報告されるなど、治療成績は大きく向上している。一方、稀少皮膚悪性腫瘍は発症頻度が極めて低く、症例の集積が困難であるため、疾患ごとの生物学的特徴や治療感受性に関する研究は十分に進んでいない。そのため、これら稀少皮膚悪性腫瘍に対する有効な治療法の確立には、臨床データの蓄積とともに、再現性の高い前臨床モデルの開発が不可欠である。

メルケル細胞癌（Merkel cell carcinoma、以下 MCC）は、高齢者に好発する稀な皮膚原発の神経内分泌腫瘍である。発症要因として、かつては紫外線による発がんが主とされていたが、近年メルケル細胞ポリオーマウイルス（Merkel cell polyomavirus、以下 MCPyV）の発見により、ウイルス陽性例と陰性例で異なる発がん経路が存在することが推測されている。MCC における MCPyV の感染率は欧米では約 80%とされ、MCPyV 陽性・陰性で腫瘍の分子学的特徴が異なることが示唆されているが、臨床的特徴への影響は未だ明確ではない。

MCC は再発・転移が多く、予後不良な腫瘍である。進行または転移性 MCC に対しては、免疫療法や細胞障害性化学療法による全身治療が行われている。しかし、いずれの治療法においても一定の奏効率を認めるものの、再発や治療抵抗性を示す症例が多く、新規治療法の開発が強く求められている。
近年、患者由来異種移植（patient-derived xenograft、以下 PDX）モデルが多くの癌種で報告されており、原発腫瘍の病理学的・遺伝学的特徴を保持したまま薬剤評価やバイオマーカー探索に活用できる点で有用とされている。しかし、MCC における PDX モデルの報告は極めて限られており、腫瘍の生物学的特性や治療法の検討は十分に進んでいない。したがって、多様な遺伝学的背景を有する MCC-PDX モデルの構築と、それを用いた前臨床的評価系の確立が急務である。

エリブリンは微小管阻害薬であり、G2/M 期から M 期にかけて細胞周期を停止させて細胞死を誘導することにより抗腫瘍効果を発揮する。これまでに、in vitro および in vivo の実験において複数のがん細胞株で強力な増殖抑制効果を示すことが報告されている。我々北海道大学皮膚科の研究グループも、皮膚有棘細胞癌（cutaneous squamous cell carcinoma、以下 cSCC）および乳房外パジェット病（extramammary Paget’s disease、以下 EMPD）の PDX モデルにおいて、エリブリンが顕著な抗腫瘍効果を示すことを報告してきた。MCPyV 陽性 MCC では、腫瘍関連タンパク（T 抗原）、特に Large T antigen（以下、LTA）により RB transcriptional corepressor 1（以下、RB1）および tumor protein p53（以下、TP53）経路が抑制され、G1/S 期チェックポイントの破綻を介して異常な細胞増殖が促進されることが知られている。このため、微小管動態を阻害し、G2/M～M 期の細胞周期停止を誘導するエリブリンは、MCC に対する有効な治療選択肢となり得ると考えられる。

本研究の目的は、①MCC 臨床検体における MCPyV 感染の有無や Rb1、p53 の発現と臨床的特徴との関

連を明らかにすること、②日本人由来の MCC-PDX モデルを新たに樹立し、エリブリンの治療効果を評価することである。

【対象と方法】　当科で保存している MCC 19 検体を対象とし、MCPyV、p53、Rb1 に対して免疫組織化学染色を行い、それぞれの発現と臨床情報との関連を解析した。

PDX モデルの樹立には、NOD/SCID マウスに患者腫瘍組織を移植した。樹立した PDX 腫瘍については、患者原発腫瘍と同様の病理組織像および免疫染色パターンを確認した。さらに、PDX 腫瘍から in vitro での細胞株樹立を試みた。また、がん関連遺伝子の検索を実施した。

樹立した 2 種類の MCC-PDX モデル（MCC-PDX-MK1 および MCC-PDX-MK2）を用いて、エトポシド、シスプラチン、ドセタキセル、エリブリンの 4 薬剤による治療実験を行った。治療実験終了後に摘出した PDX 腫瘍に対して terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling（以下、TUNEL）assay および Ki-67 免疫染色を行い、抗腫瘍効果について評価した。

【結果】　解析した 19 例の MCC 検体では、免疫組織化学染色による発現を評価した。すべての腫瘍が MCPyV 感染陽性または p53 あるいは Rb1 の発現喪失のいずれかを示していた。

日本人患者由来の MCC 組織を NOD/ShiJic-scid Jcl（以下、NOD/SCID）マウスに移植した結果、2 例の腫瘍が生着し、安定した継代が可能な 2 種類の PDX モデル（MCC-PDX-MK1、MCC-PDX-MK2）を樹立した。これらの PDX 腫瘍は、原発腫瘍と病理組織学的および遺伝学的に一致しており、数世代の継代後も安定して増殖した。

治療実験の結果、エリブリン投与群では MCC-PDX-MK1 および MCC-PDX-MK2 のいずれにおいても腫瘍が著明に退縮し、特に MCC-PDX-MK1 腫瘍は 24 週間にわたり再発を認めなかった。エリブリン治療後に摘出した腫瘍では MCC-PDX-MK1 および MCC-PDX-MK2 ともに Ki-67 陽性率がコントロール群に比して有意に低下し、TUNEL 陽性率は有意に上昇していた。

一方、PDX 腫瘍からの細胞株樹立は、初代培養では増殖を認めたものの、継代後は増殖を認めなかった。

また、エリブリン治療後の MCC-PDX-MK1 腫瘍では、約 24 週後に腫瘍の再発が確認された。その後、継代したマウスに対してもエリブリン投与を継続したが、腫瘍は増大傾向を示し、エリブリンに耐性を獲得したマウスが樹立された。

【考察】　我々の臨床検体に対する免疫組織学的解析の結果、MCC 腫瘍は MCPyV 陽性であるか、あるいは主要な腫瘍抑制因子である p53 または Rb1 のタンパク発現を喪失していた。このことは、MCPyV 陽性腫瘍では MCPyV-LTA が Rb1 および p53 を不活化することにより腫瘍形成を助長する可能性が示唆された。一方、MCPyV が陰性の腫瘍では、Rb1 または p53 の喪失が MCC 腫瘍の形成に関与している可能性が考えられた。

樹立した MCC-PDX モデルは、いずれも原発腫瘍に認められた遺伝子変異と一致していた。また、原発腫瘍とほぼ同一の病理学的所見を認めた。

MCC-PDX モデルは原発腫瘍の遺伝学的な特徴を再現しており、病態解析や治療評価において信頼性の高い前臨床モデルであることが示された。

エリブリンは、遺伝子変異の種類に関わらず、いずれの MCC-PDX モデルにおいても顕著な抗腫瘍効果を示した。RB1 や TP53 の機能喪失が MCC の発癌に関与するとともに、エリブリンの抗腫瘍効果発現においても重要な役割を果たしていると考えられた。

【結論】　本研究で樹立した 2 種類の MCC-PDX モデルは、MCC の病態解明および新規治療法の評価に有用であることが示された。エリブリンは、MCPyV 陽性・陰性を問わず、MCC に対する新たな有望な治療選択肢となる可能性がある。