

患者由来「肉腫」細胞株樹立における最大の課題への挑戦～二次元電気泳動を用いた肉腫細胞と線維芽細胞の鑑別～

後藤詩織、小野拓也、大野裕翔、野口玲、近藤格

国立がん研究センター 希少がん研究分野

【背景と目的】肉腫は症例が少ない希少がんであり、研究に使用できる臨床検体は入手が困難である。そのため、患者由来がんモデルの樹立は停滞している。具体的には、公的細胞バンクから入手可能な肉腫細胞株の数はきわめて限られている。肉腫には100種類もの臨床像の異なる組織型が存在するが、ほとんどの肉腫組織型において細胞株は入手できない。我々はこの問題を解決するために肉腫細胞株を樹立し配布している。肉腫細胞株を樹立する際に問題になるのが、線維芽細胞の増殖である。肉腫は間葉系由来の悪性腫瘍なので、肉腫細胞と線維芽細胞の鑑別は形態的にも免疫組織学的にも困難である。一方、肉腫細胞は融合遺伝子、点突然変異、コピー数変化などの異常を有しているため、PCR・シーケンス、SNP アレイ、WES により、線維芽細胞と鑑別できる。しかし、これらのアッセイは多大な時間とコストを要するため、多数の細胞株を樹立する我々のプロジェクトのボトルネックになっている。そのため、肉腫細胞と線維芽細胞を迅速かつ低コストで区別できる方法の開発を試みている。本研究では、「肉腫細胞を線維芽細胞から迅速かつ低コストで区別する手法として自動二次元電気泳動装置 Auto2D が有用である」という仮説の立証を目指した。

【方法】線維芽細胞株7株と粘液性線維肉腫 (MFS) 細胞株7株を使用した。MFS 細胞株は SNP アレイによって線維芽細胞と鑑別した。細胞株から抽出したタンパク質を Cy3 および Cy5 (Cytiba 社) で蛍光標識し、Auto2D (メルク社) で等電点と分子量に分離した。泳動後にタンパク質をスポットとして検出し、ProgenesisSameSpots (NonlinearDynamics 社) にて定量化した。これらスポットの濃度を元に肉腫細胞と線維芽細胞を分離できるかどうかを、R を用いた階層的クラスタ解析および主成分解析で調べた。

【結果と考察】Auto2D を用いたところ、744 個のタンパク質スポットを得た。これらスポットの濃度を元に細胞株を階層的クラスタ解析したところ、7 株の MFS 細胞株すべてが同一のクラスタに分類された。線維芽細胞においては7株のうち6株 (86%) が同一のクラスタに分類された。一方、1 株 (14%) が MFS 細胞株のクラスタに分類された。次いで主成分解析を行ったところ、MFS 細胞株と線維芽細胞株は分離される傾向を示した。しかし、階層的クラスタ解析と同様、すべての細胞株が明確に MFS 細胞株と線維芽細胞株とに区別されなかった。位相差写真像では MFS 細胞株と線維芽細胞株は全く区別がつかないことを考えると、複雑で高価な遺伝子解析なしでおおよその区別が可能となったことは大きな成果である。Auto2D を用いた二次元電気泳動法の精度を高めたり、特定のタンパク質に焦点を当てた解析をすることにより、患者由来肉腫細胞株の樹立における最大の課題である「腫瘍細胞と線維芽細胞の鑑別」が解決できる可能性が示唆された。