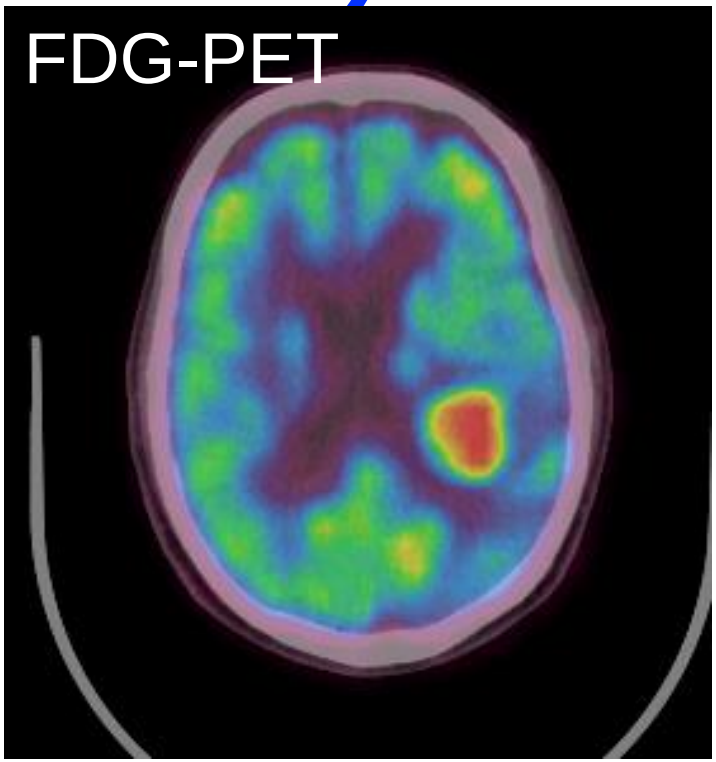
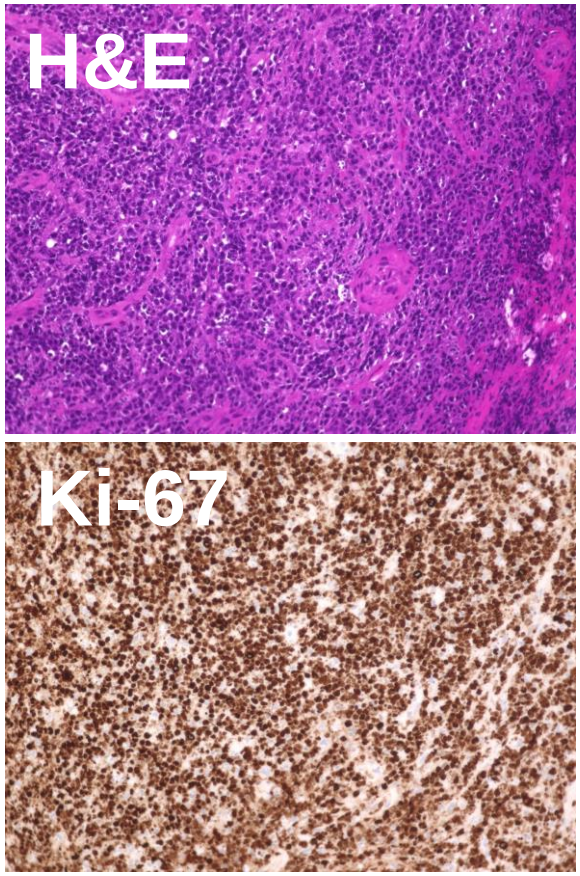
中枢神経原発悪性リンパ腫細胞株の紹介

公立大学法人　横浜市立大学
医学部医学研究科
脳神経外科学　講師　立石健祐

2021年10月26日

中枢神経原発悪性リンパ腫 (PCNSL)



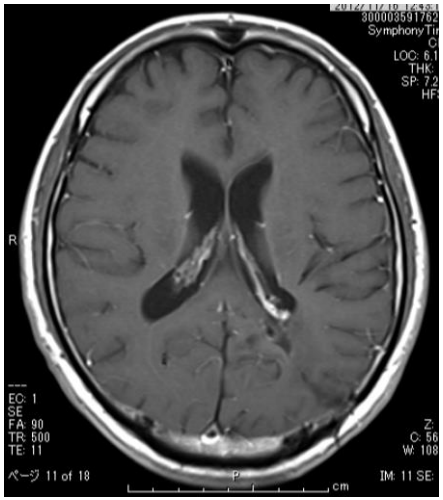


定義: 中枢神経に限局発生し他の臓器に病変を認めない悪性リンパ腫 (本邦に多い)
頻度: 頭蓋内腫瘍の2-4% (近年急速に増加傾向)
好発年齢: 45-80歳 (中央値 60歳) **高齢者に好発**
予後: **不良** (5年生存率 30-40%)

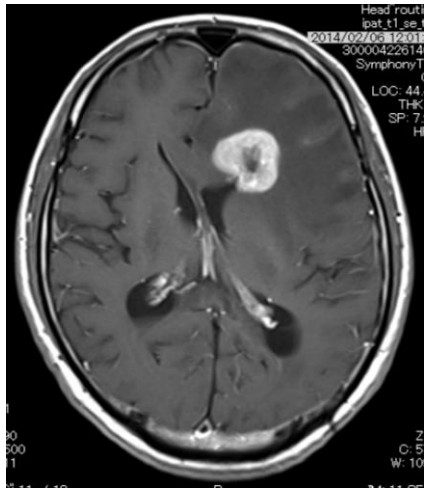
現在の治療法

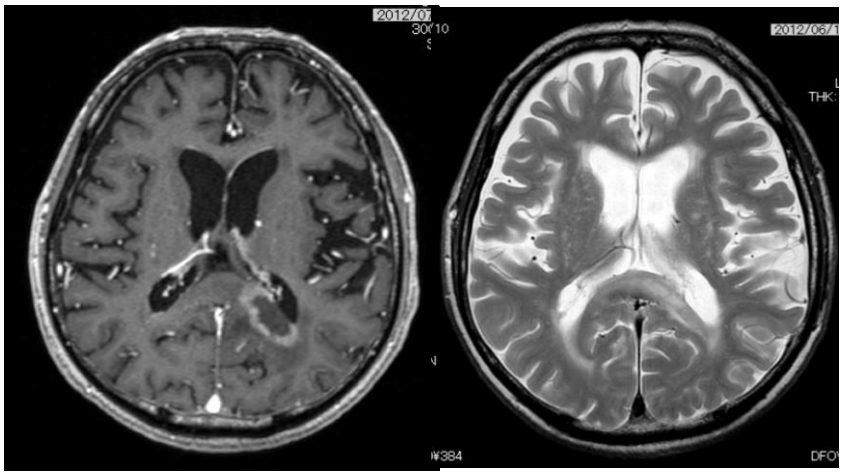
- メソトレキセート (MTX) を中心とした化学療法や放射線治療も多くは再発し、致命的となる
- 合併症: **遅発性神経毒性** (高齢者では特に認知障害が問題)

寛解 →



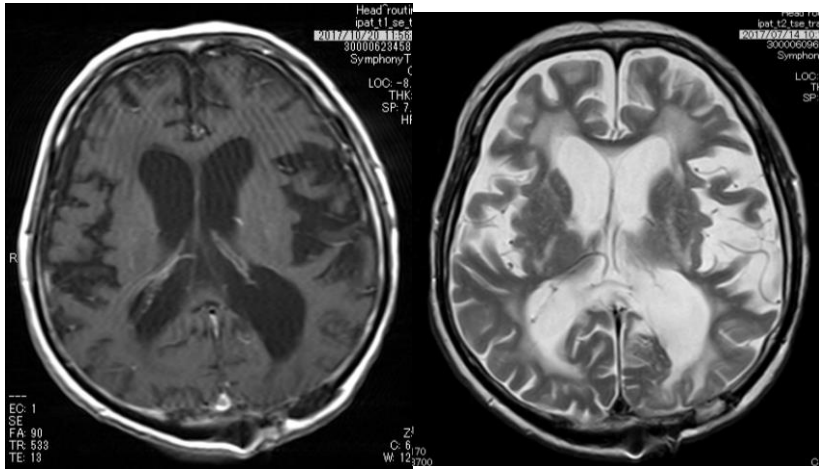
再発 →





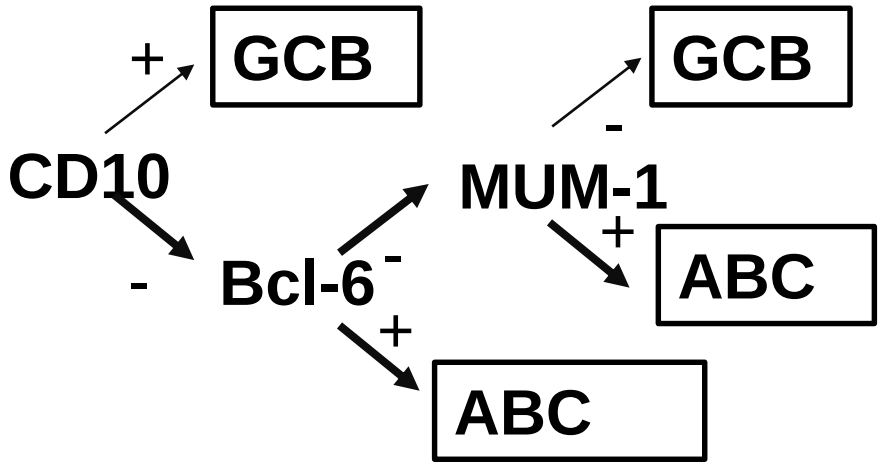
治療後5年経過 →

寛解も顕著な萎縮

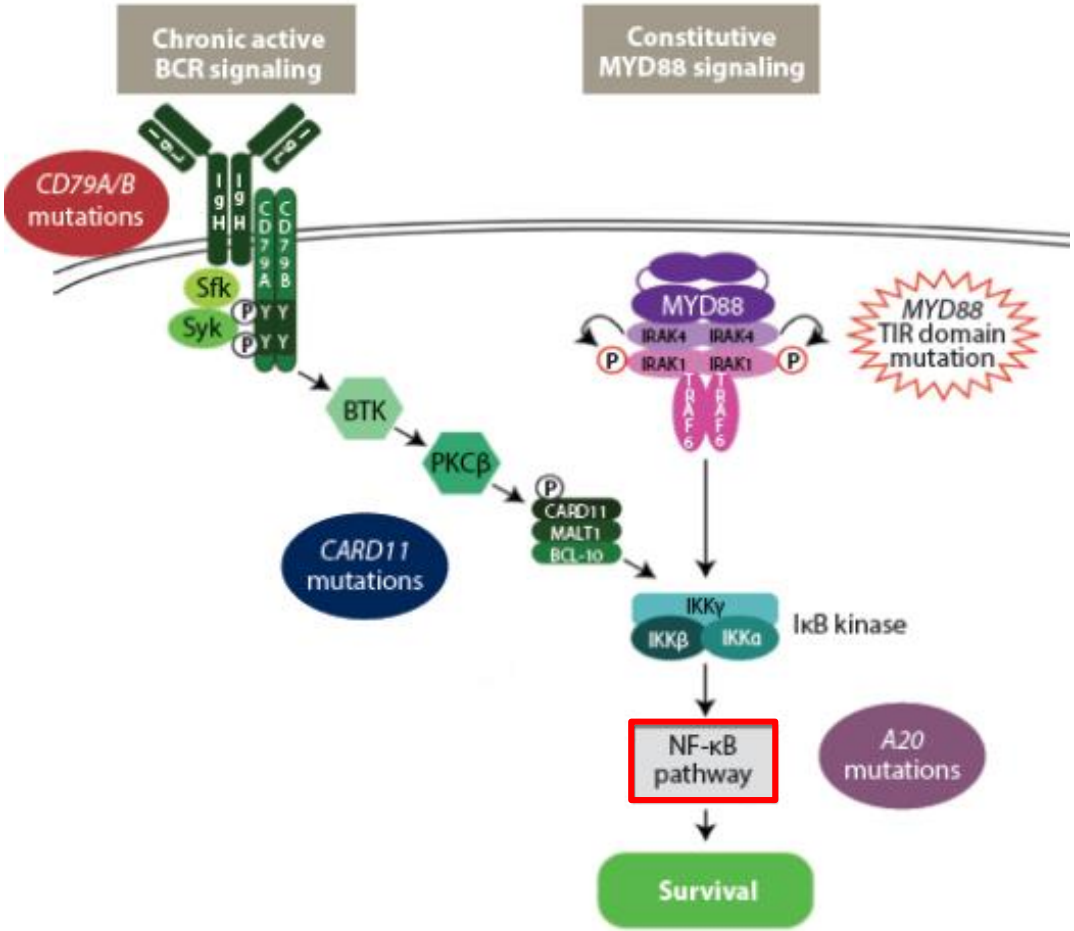


大部分のPCNSLはNF-kB経路の恒常的活性化を呈する

免疫染色

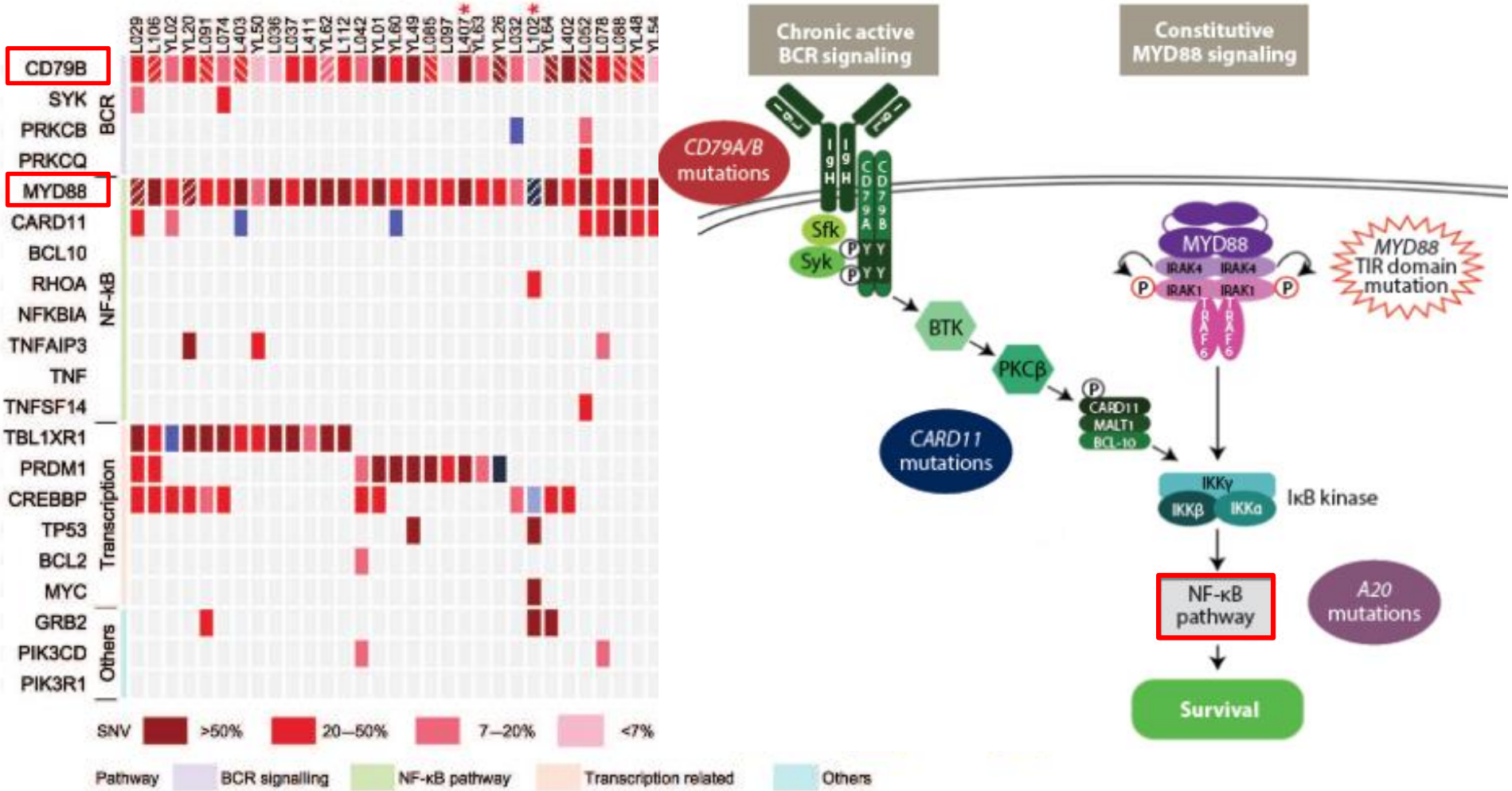


PCNSLは大部分が**ABC subtype**に分類される



GCB subtypeと比較して**ABC subtype（NF-kB経路依存度が高い）は予後不良**

PCNSLは高頻度に*MYD88*, *CD79B*変異を有する

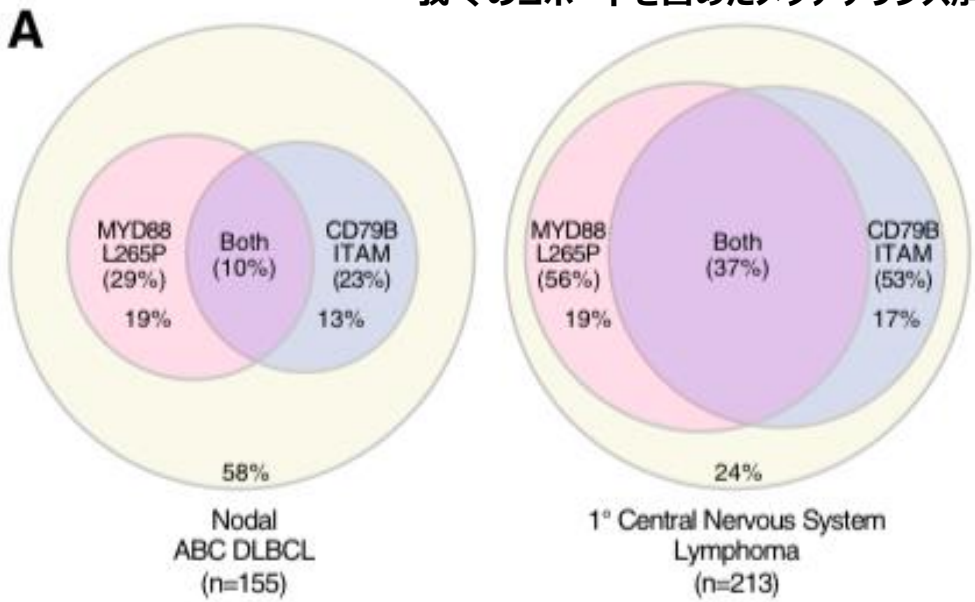


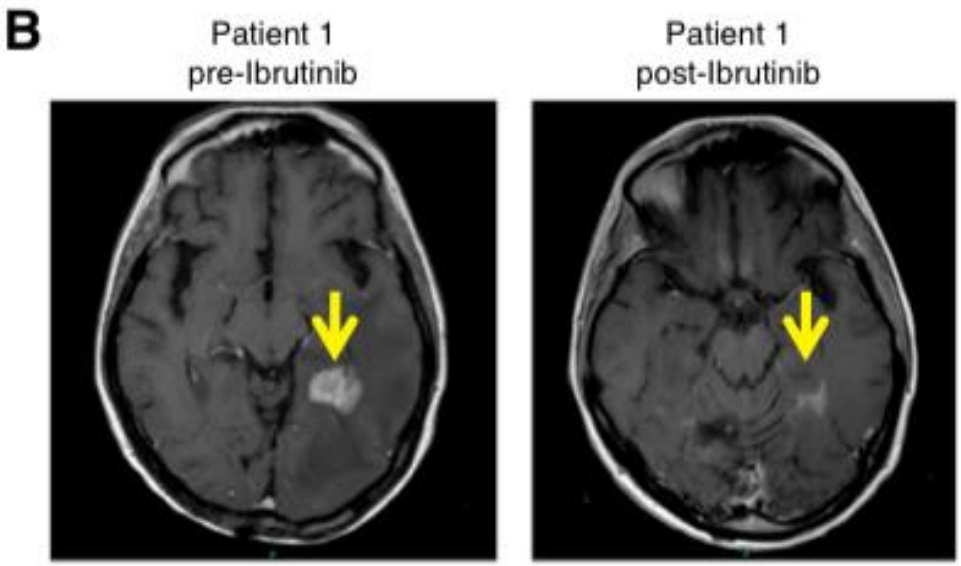
Nakamura T, **Tateishi K** *et al*. Neuropathol Appl Neurobiol. 2016.

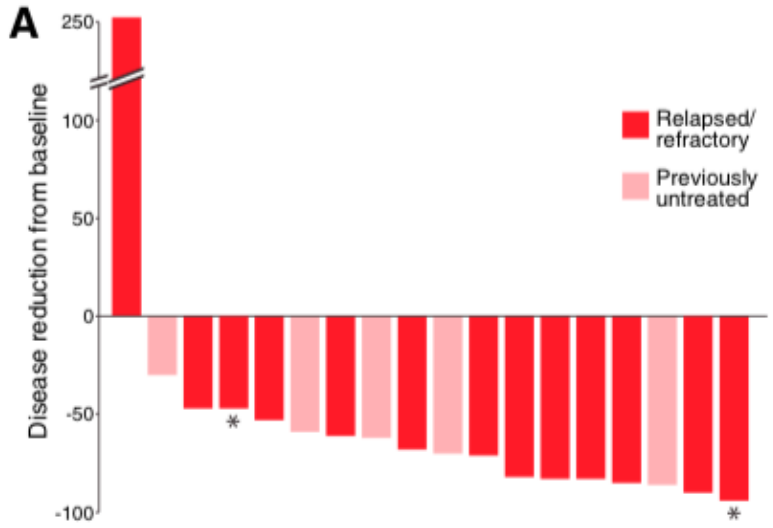
Cancer Cell

Inhibition of B Cell Receptor Signaling by Ibrutinib in Primary CNS Lymphoma

我々のコホートを含めたメタアナリシス解析







PCNSLに対するCD79B, MYD88変異下流を標的とした個別化医療の可能性が示された.

Cancer Cell. 2017

PCNSLの治療成績向上を妨げる要因

- PCNSL細胞の樹立は極めて困難であると位置づけられてきた.
- その為仮説を立証するための研究モデルがほぼ皆無であった.
- そもそも標準治療の根拠も臨床研究結果にのみ基づいている.

- **PCNSLモデルの樹立**が出来ればPCNSLの病態解明とともに
→ 治療法開発を大きく進歩することが期待されてきた。
- またABC subtypeのリンパ腫研究発展にも大きく貢献しうる。

方法

- 2016/12-2020/9 当施設にてPCNSLと診断された連続21症例を対象
- 生検検体を細胞処理後、若年免疫不全マウス (SCID Beige) 脳に定位的に移植
- 致死的状態となった段階で安楽死処置を行い脳腫瘍形成の有無を評価
- PDX細胞と患者細胞間の相違を組織学的・遺伝学的に対比
- 治療標的分子を探索

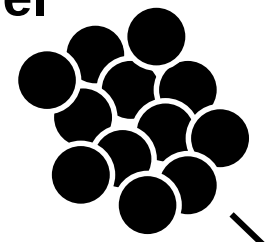
Yokohama malignant CNS lymphoma (YML) project

Dissociate, then stereotactically implant cells into mouse brain **(ASAP)**

Patient-derived model (PDX)

Biopsy

CB17/Icr-Prkdc^{scid}/CrlCrlj
(C.B-17 SCID Beige
female, 7-9w)



Propagate *in vivo*

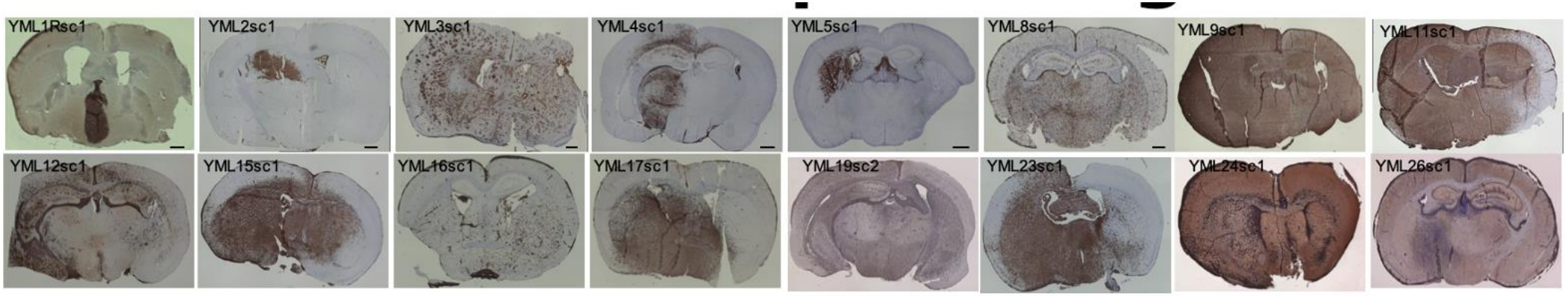
Multi-omics study

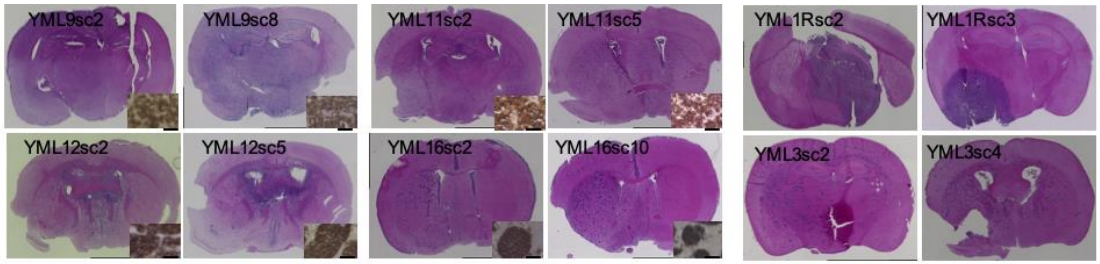
In vitro study

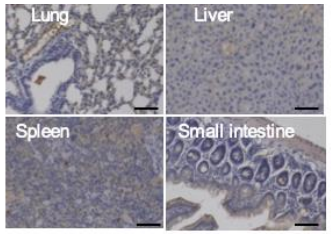
In vivo study

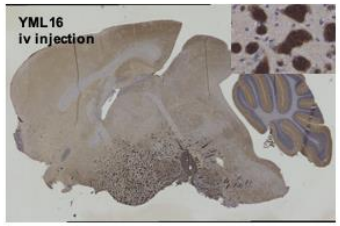
結果及び細胞株の特徴

PCNSL PDXモデル (23例, 特願時12例)









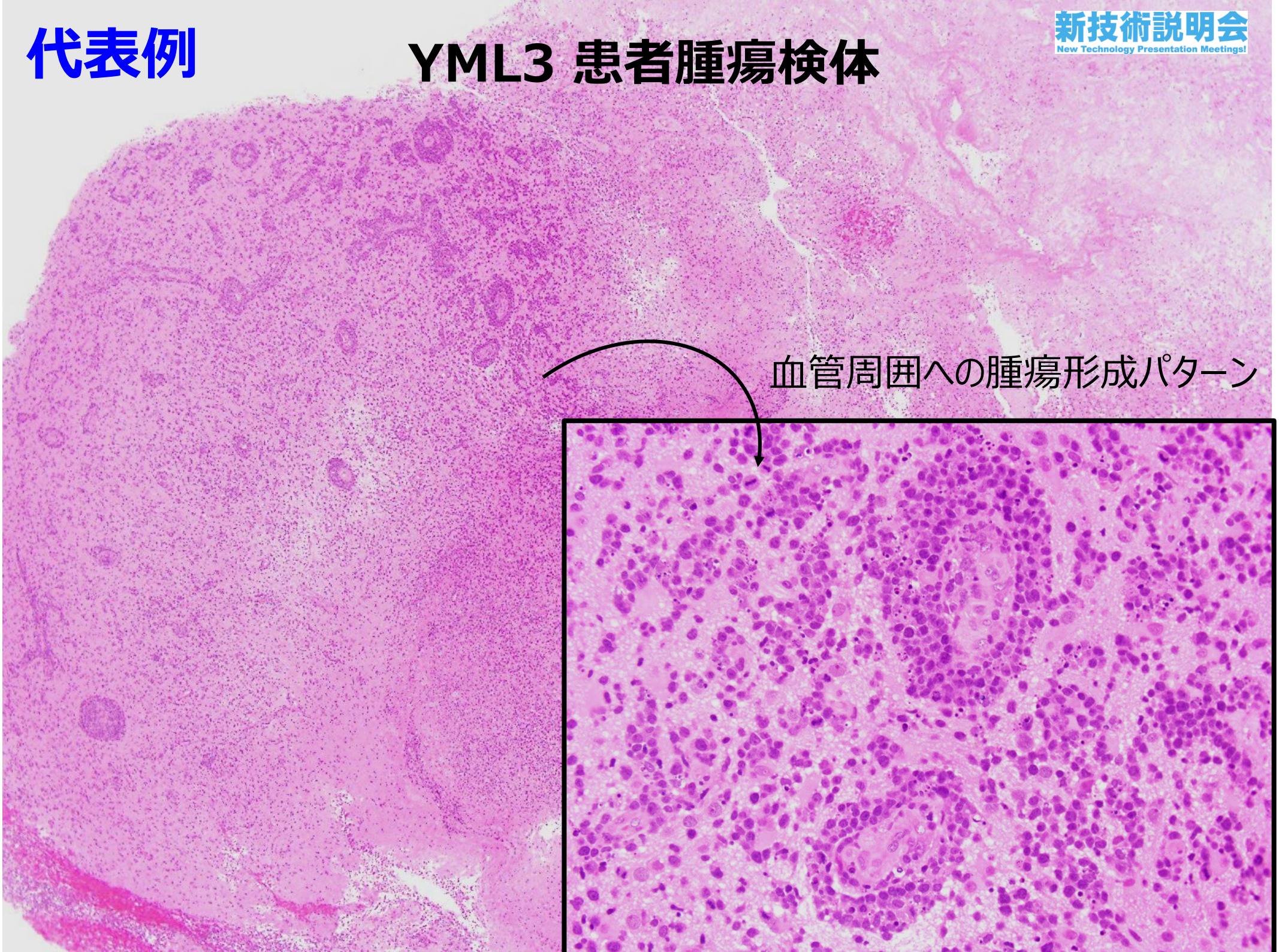
Tail vein injectionによるCNSL形成:
1/11例 (頭蓋外病変指摘されず)

Tateishi, Miyake et al. Cancer Res. 2020.

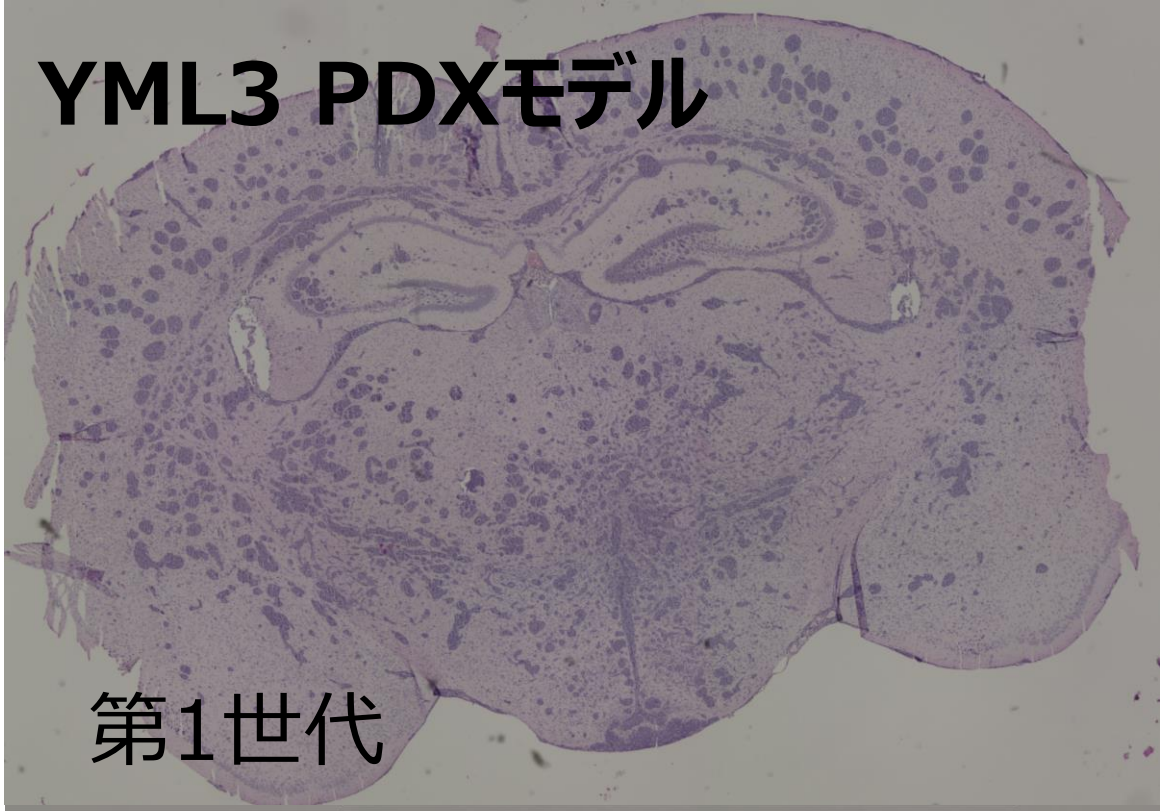
代表例

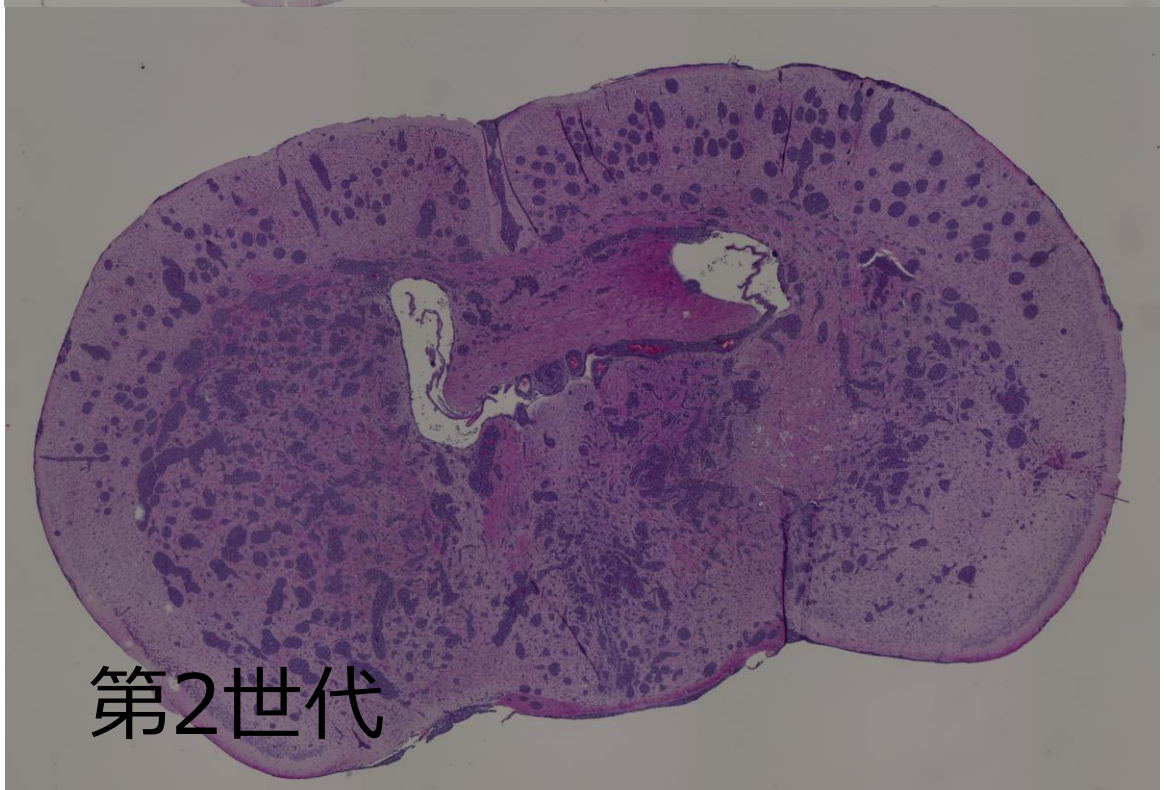
YML3 患者腫瘍検体

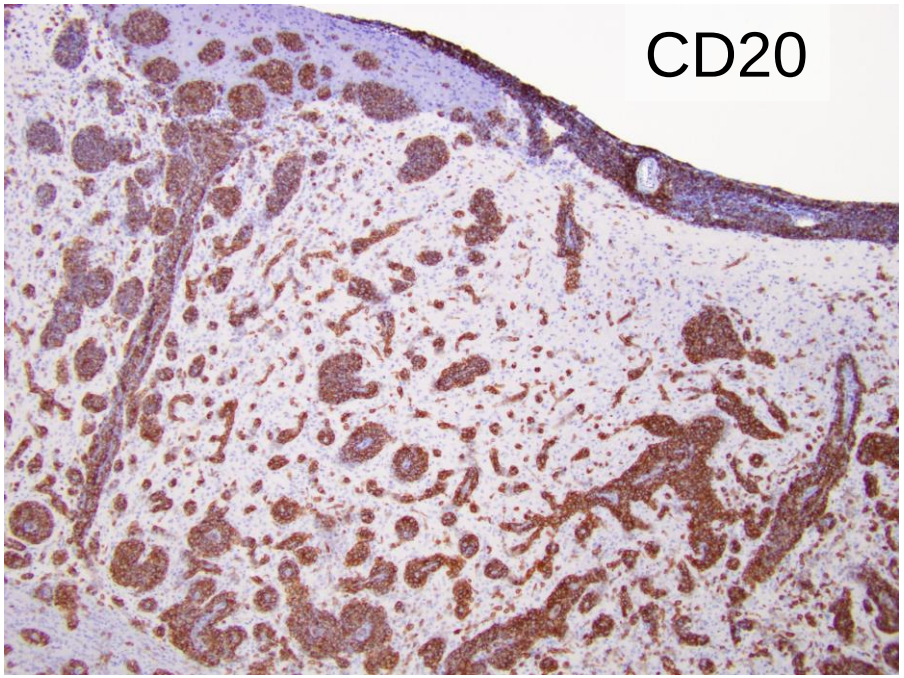
新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!



YML3 PDXモデル





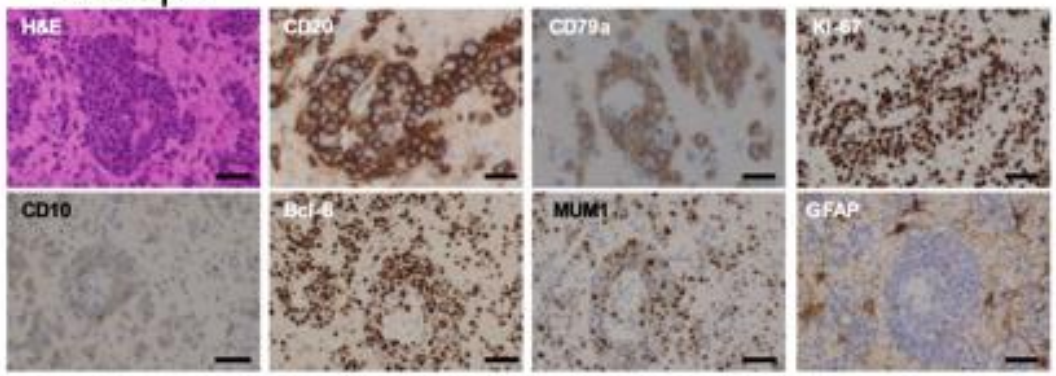


B細胞マーカー

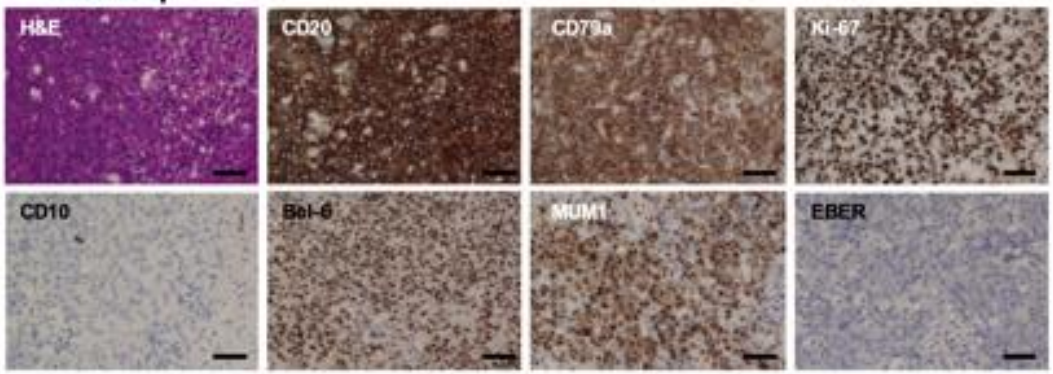
患者検体とPDXモデルの表現型:100%一致

新技術説明会
New Technology Presentation Meetings!

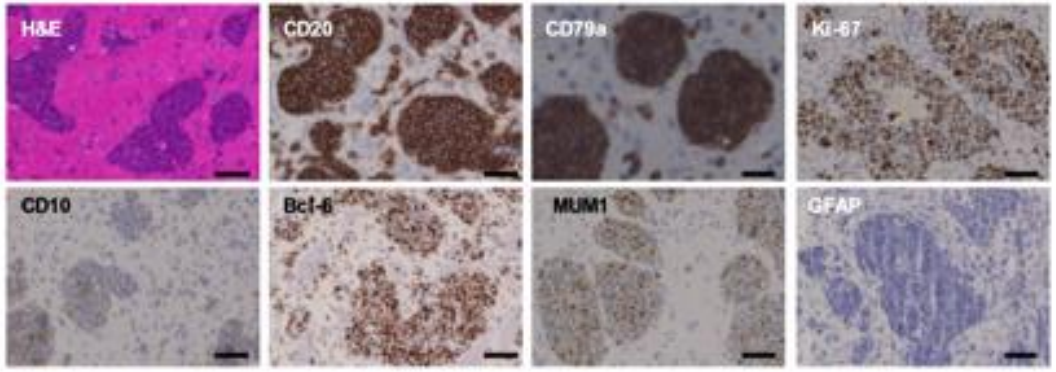
YML3pt



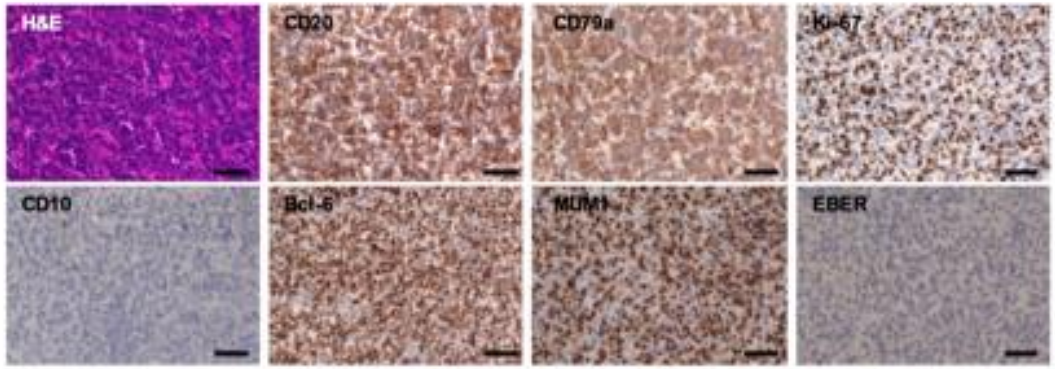
YML9pt



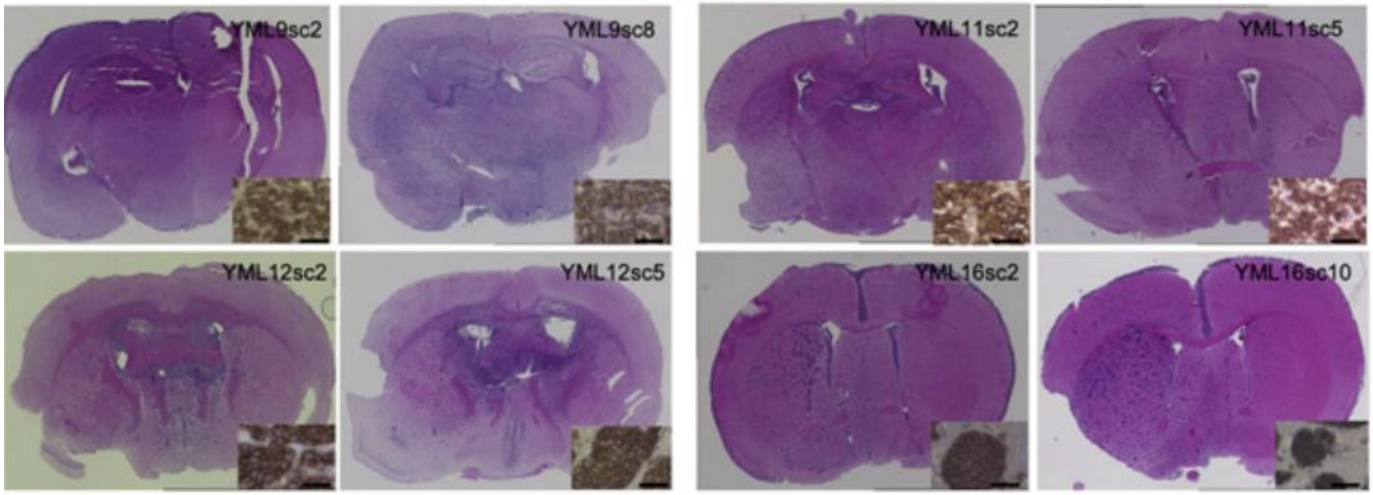
YML3sc1



YML9sc1

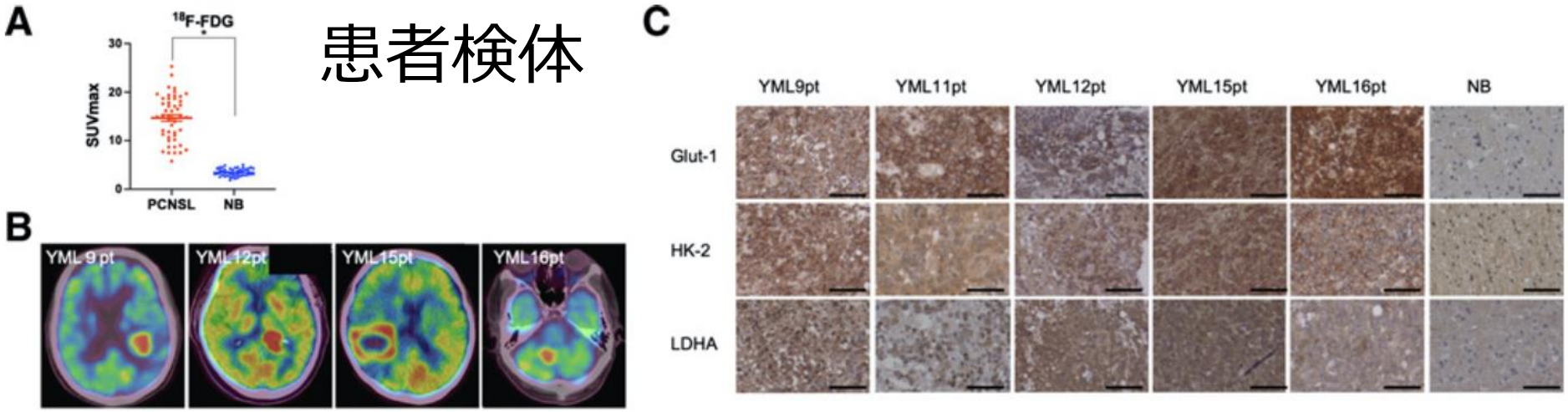


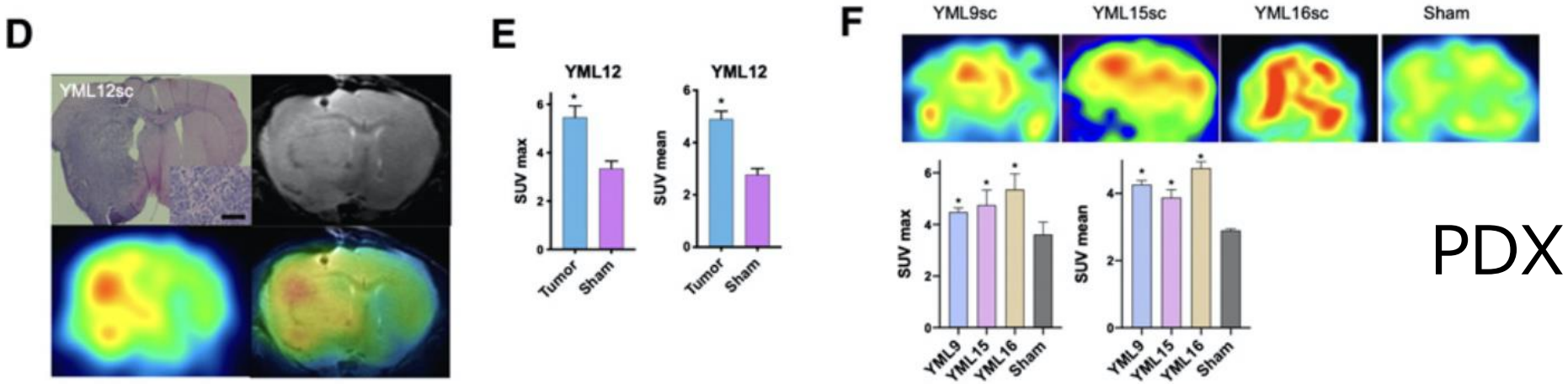
Perivascular type　　Sheet like type



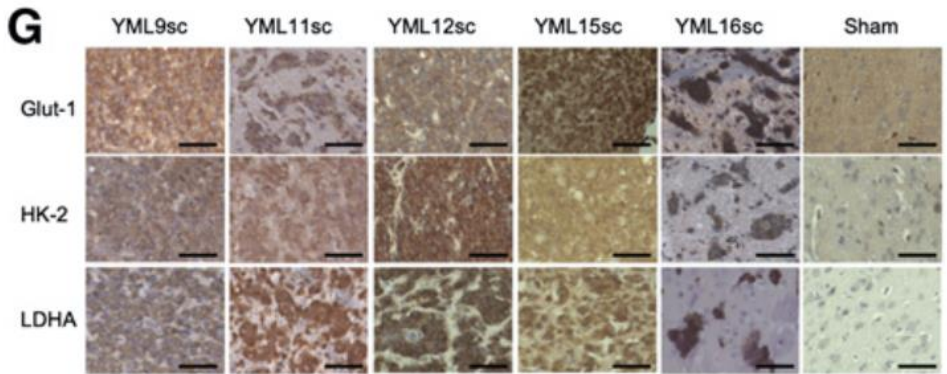
PDXはPCNSLの解糖系への高い代謝依存を継代する

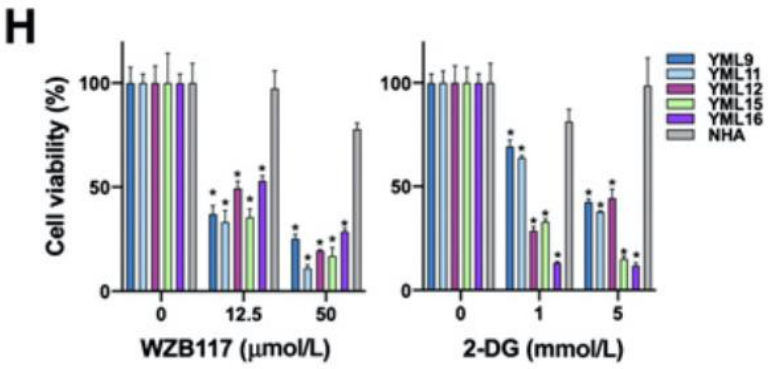
患者検体



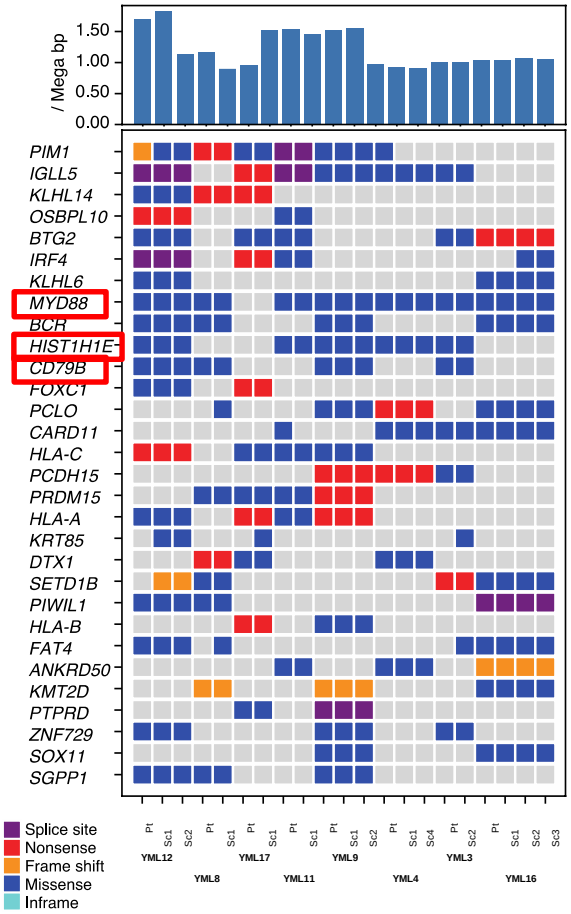


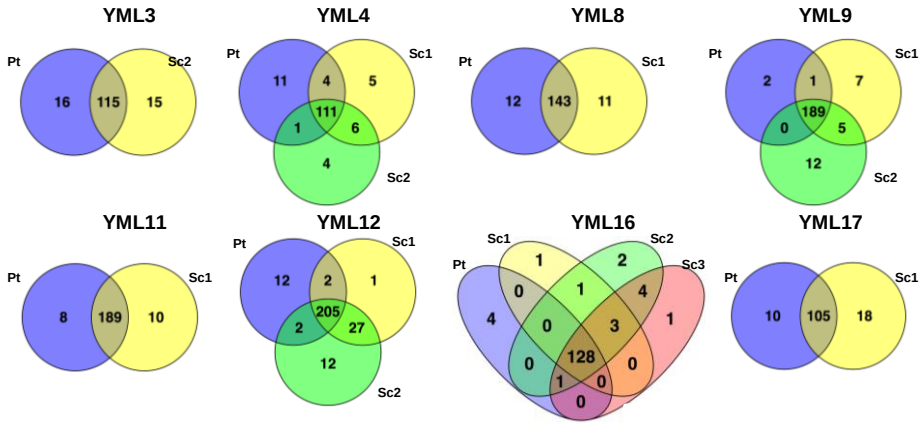
PDX



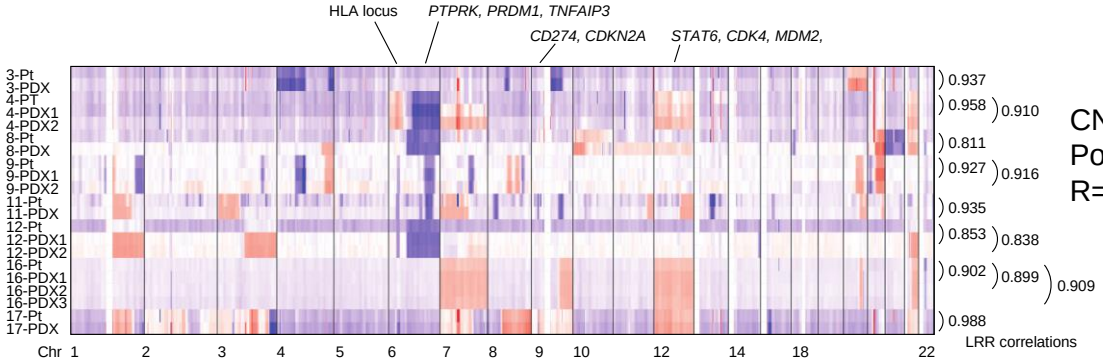


患者検体の遺伝子異常はPDXにて高度に保持される



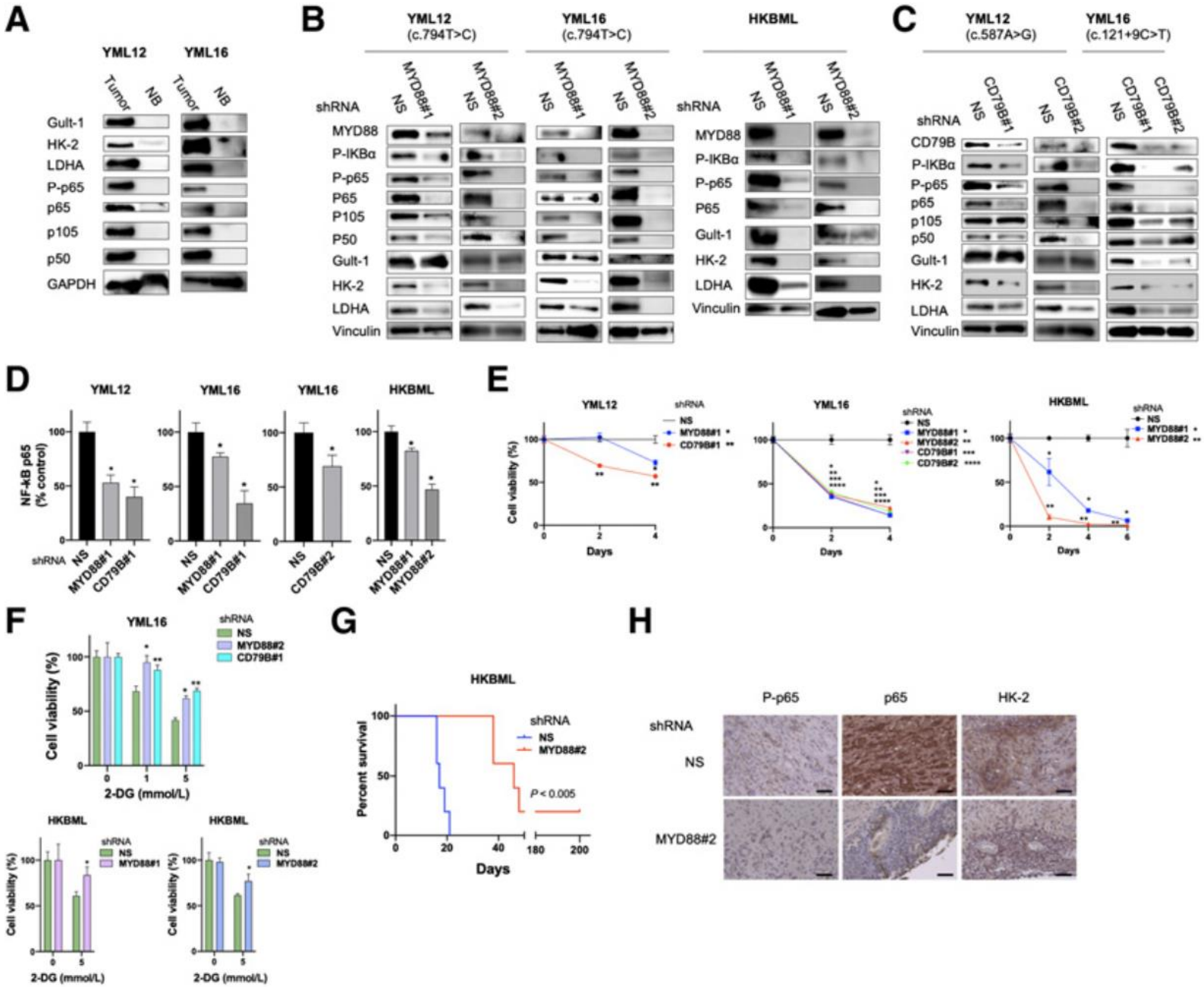


Shared mutation
Pt; 93.3 ± 1.3%
Sc; 91.2 ± 1%

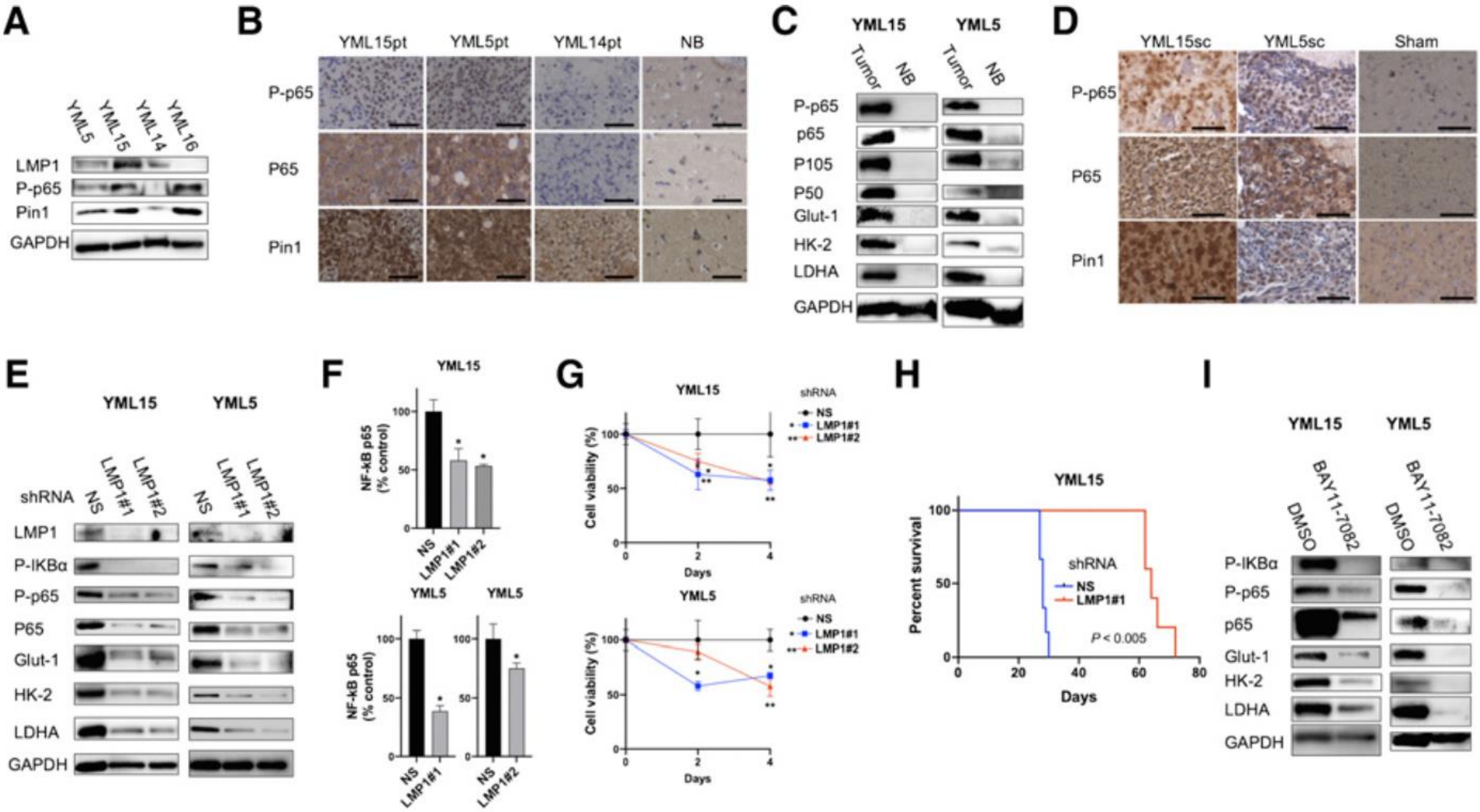


CNA
Positive correlation
R=0.91 ± 0.01

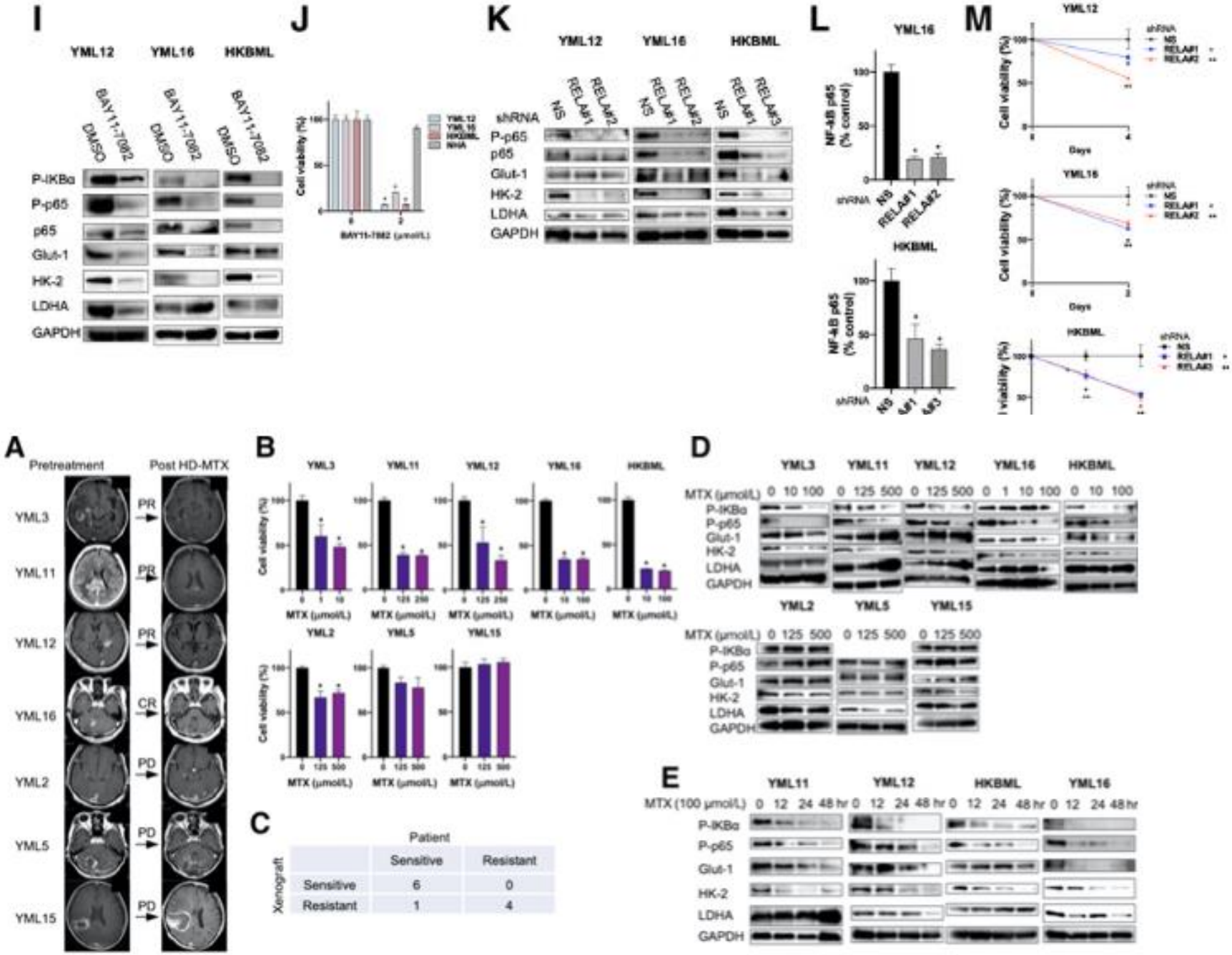
MYD88/CD79B変異はEBV(-)PCNSLのドライバー遺伝子異常である

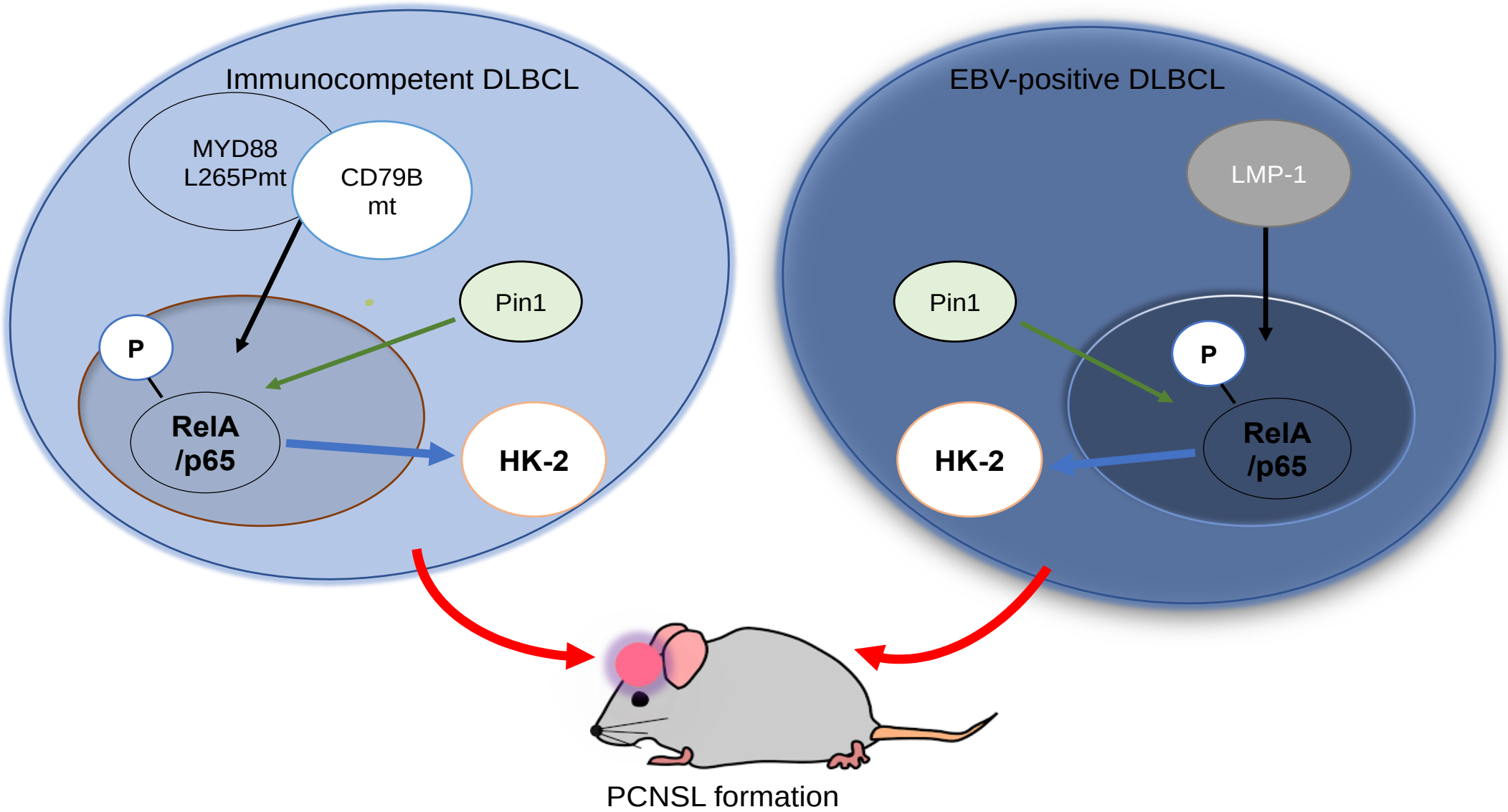


LMP1発現はEBV(+)PCNSLのドライバー遺伝子異常である



NF-kB-HK2シグナル軸がPCNSLの主たる治療標的である





Tateishi K et al. Cancer Res. 2020

従来技術とその問題点

- 既に商品化されているPCNSL細胞株としてHKBML, JCRB1206があるが、患者腫瘍背景に関する詳細な情報に欠ける。
- MYD88, CD79B変異が存在しないなど非典型のPCNSL症例由来の可能性があり、研究素材として不十分である。

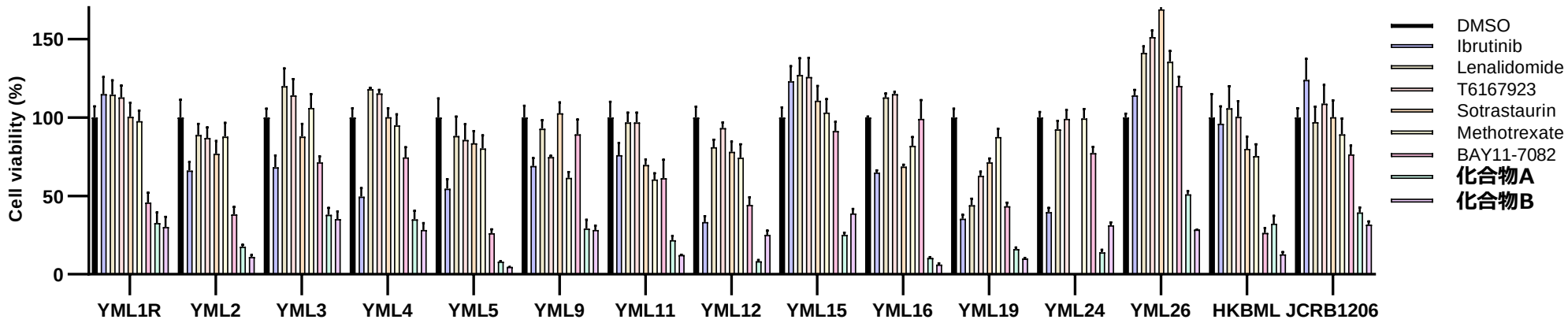
新技術の特徴・従来技術との比較

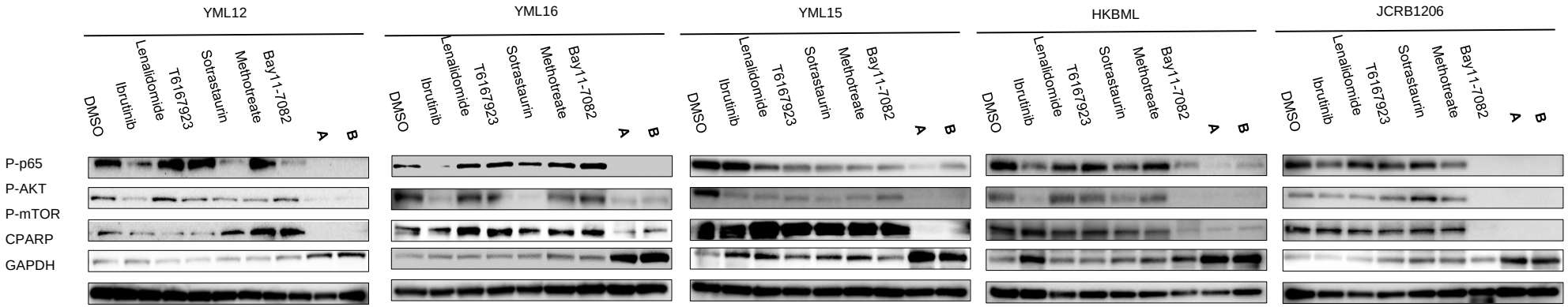
- 定位的脳内移植技術を用いることで樹立成功割合を大幅に改良することに成功した。
- この結果世界最多PDXパネルの構築に成功した。
- 表現型や遺伝型や薬剤治療感受性など、患者腫瘍を広範囲に模倣するものである。
- EBV-negative, -positive PCNSL細胞ともに樹立
- 1例 (EBV-positive YML15)はvitroでの培養可能

想定される用途

- PCNSLの病態解明のための研究素材として非常に用途が高い
- ABC subtypeリンパ腫モデルとしての価値も高い
- 凍結細胞からPDXモデルも樹立できることから、どの施設においても標準化されたプロトコールを活用することでPDXモデルの継代が可能である
- これらのモデルを通じて創薬開発や治療法開発が大きく発展することが期待できる。

研究例 (PCNSL治療標的の同定)





Miyake, Tateishi et al. under review.

実用化に向けた課題

- 現在、*in vitro*での細胞培養に向けた研究を進めているが、長期培養は現状困難である。
- 培養化を困難化させる機序について現在検討を進めている。長期的な*in vitro*培養が実現可能になるよう、分子機構に基づく手法を確立する必要がある。

企業への期待

- PCNSLに対する未解決の病態解明や創薬、治療法開発については、PDXモデルを活用することで克服できると考えています。
- 創薬、マルチオミクスの技術を持つ、企業との共同研究を希望します。
- 特にリンパ腫をターゲットにした治療薬開発を目指した企業には、本技術の導入が有効と思われます。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称　：中枢神経原発悪性リンパ腫細胞株
- 出願番号　　：特願2020-174066
- 出願人　　：公立大学法人横浜市立大学
- 発明者　　：立石健祐

お問い合わせ先（必須）

横浜市立大学
研究推進部　研究・産学連携推進課
ＴＥＬ045－787－ 2536
ＦＡＸ045－787－ 2509
e-mail sanren@yokohama-cu.ac.jp