

Establishment of drug evaluation system in intravenous dissemination model of Burkitt lymphoma using IVIS

In vivo imaging system (IVIS)を用いたBリンパ腫静脈播種モデルでの薬効評価系の確立

OMisato Moriguchi, Shinichiro Tsunesumi, Zhe Sun, Shigenori Enoki, Kousuke Morizumi

Research Unit I, Drug Discovery Innovation Center, Non-clinical Business Segment, Mediford corporation

Summary in Japanese

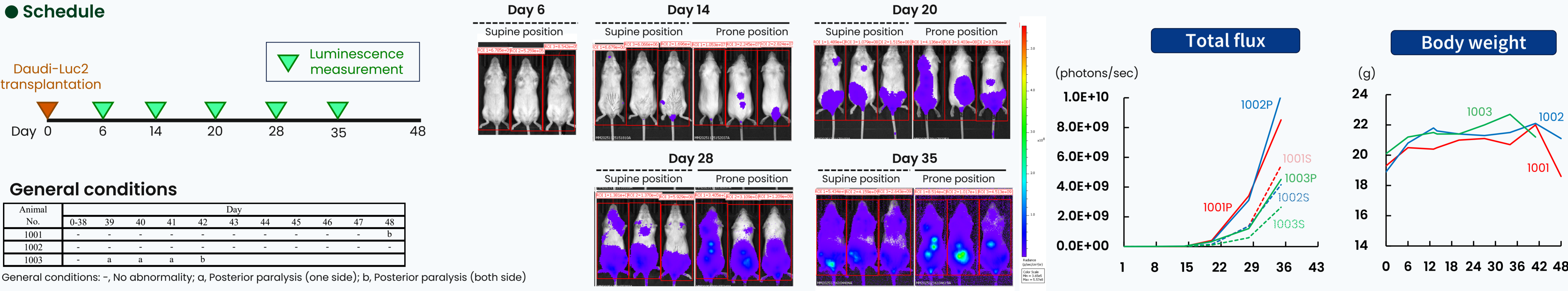
がん同所移植モデルでの薬効評価は、従来は生存日数や観察終了後に採取した腫瘍重量測定にて行われてきた。しかし、従来の方法ではモデルの生存期間中にがんの生着・増殖状況を確認できないため、腫瘍の生着状況や腫瘍体積による群分けができず、統計的ばらつきが大きいことが課題であった。また、腫瘍を採取する場合は、腫瘍を肉眼で探するため、腫瘍を見落とすリスクがあった。そこで、本研究では生体イメージング装置 (IVIS) を用いてBリンパ腫静脈播種モデルの腫瘍の可視化と定量的な薬効評価を試みた。ルシフェラーゼ発現ヒトバークリットリンパ腫細胞株 (Daudi-Luc2) をSCIDマウスに静脈播種し、生着検討を実施した。Daudi-Luc2の播種後、週一回発光を測定した結果、経日的に発光が増加した。次に、薬効評価を実施した。Daudi-Luc2細胞の播種13日後に、Total fluxを基に4群に分けた (媒体群, ドキソルビシン単剤群, ビンクリスチン単剤群, ドキソルビシン+ビンクリスチン併用群)。各薬剤の初回投与後、発光強度を測定した結果、媒体群で経日的に発光強度が増加した。ドキソルビシン, ビンクリスチン単剤では初回投与後は発光増加が抑制される傾向があったが、観察終了まで媒体群と差がなかった。併用群では発光増加が有意に抑制された。観察終了日に臓器を摘出し、ex vivoで発光を測定した。さらに、血液、脾臓、骨髄細胞を採取して抗ヒトCD45抗体でフローサイトメトリーを行い、Daudi-Luc2細胞を検出した結果、Daudi-Luc2細胞は骨髄に多く、血液細胞からも検出された。脾臓からはほとんど検出されなかった。生存時及びex vivoでの発光とFCMでのヒトCD45陽性細胞数は相関する傾向が認められた。以上の結果から、IVISを用いたBリンパ腫全身播種モデルの定量的な評価系が確立できた。

Objective

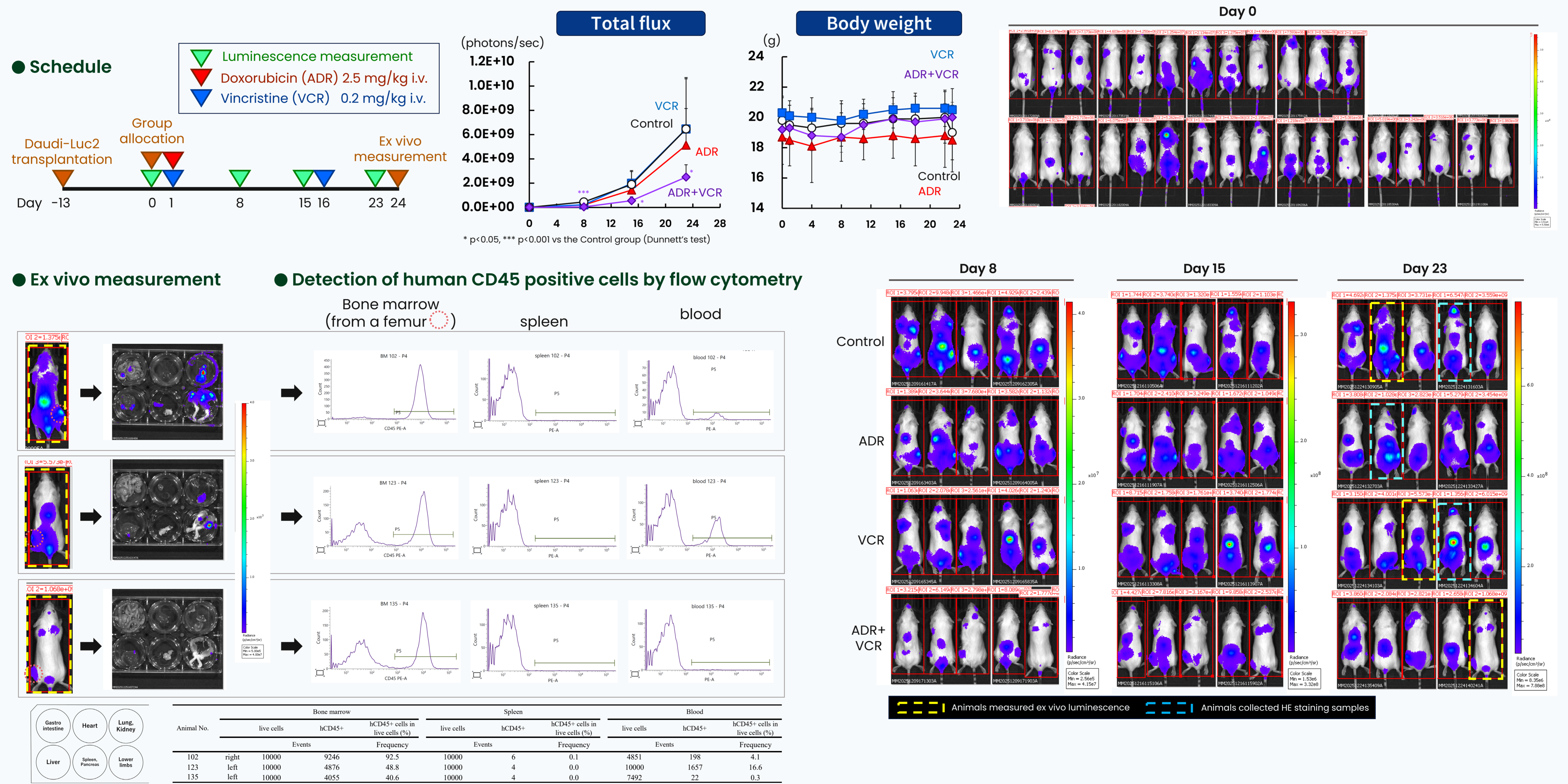
In cancer research, subcutaneous inoculation of tumor cell line into mice is a standard method for screening antitumor drugs in Japan. However, the clinical predictability of this model was found to be low. One of the reasons is presumed that subcutaneous tumors cannot reflect the interaction between tumors and organs. Therefore, orthotopic tumor transplantation is expected to show higher clinical predictability. Evaluation of orthotopic tumors in animals have traditionally been based on the survival time and/or tumor weight collected after euthanasia, but orthotopic tumor growth cannot be measured in living animals and group assignment based on the size of tumor cannot be performed, resulting in high statistical variability in the data. Additionally, tumor sampling by eyes may result in some tumors being overlooked. Therefore, it is needed for a quantitative evaluation and detection system of orthotopic tumors in living animals. In this study, we attempted to evaluate anti-cancer drug efficacy quantitatively using in vivo imaging system (IVIS) in a Burkitt lymphoma cell line dissemination model.

Results

Growth of Daudi-Luc2 in SCID mice



Anti-tumor experiment in Daudi-Luc2 transplanted SCID mice



Discussion

Daudi cell line, latently infected with Epstein-Barr virus, is presumed to be derived from a patient with endemic Burkitt lymphoma. Patients with endemic Burkitt lymphoma frequently present with involvement of the facial bones, kidneys, adrenal glands, ovaries, and central nervous system, including the spinal cord. In this study, femurs and kidneys showed stronger luminescence than other organs ex vivo, which was also consistent with HE staining images and the result of FCM. HE staining images also showed cancer cells in the ovaries and spinal cord. In those result, this model is considered to accurately reflect the characteristics of endemic Burkitt lymphoma.

Conclusion

The drug evaluation system in a tumor dissemination model by using IVIS and FCM was established in this study.

