

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07298

研究課題名(和文)メタボローム解析による膵癌術前化学放射線療法における治療抵抗性の病態解明

研究課題名(英文)Metabolomic analysis for the mechanisms of treatment resistance during neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with pancreatic adenocarcinoma

研究代表者

岡野 圭一 (Okano, Keiichi)

香川大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：20314916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌術前化学放射線療法における治療抵抗性の病態解明を目的として、膵癌の手術を受けた患者の腫瘍メタボローム解析を施行した。

術前化学放射線療法(NACRT)群と対照群では、27種類の腫瘍代謝物に有意差があった。NACRTの反応性良好群と不良群では、8つの代謝物に有意差が見られた。これらの中でNACRT群においてのみ再発に関与するメタボライトを発見した。さらにコリン輸送体の遺伝子が有意に抑制されていることが確認された。コリン代謝は、NACRTを受けた膵癌患者の再発に関わる重要な経路の一つである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、これまで不明であった膵癌に対する術前化学放射線療法を受けた患者の治療効果に関わる基礎的なメカニズムを代謝の面から明らかにした。術後再発に関与するメタボライトとそのトランスポーターの関与を明らかにした。

これは今後の個別化治療や治療抵抗性を改善する創薬などにおいて、きわめて重要な情報であり、社会的に大きな課題とされている難治癌の代表格である膵癌の治療成績向上へ繋がる革新的な研究成果と評価される。

研究成果の概要(英文)：Frozen tumor and non-neoplastic pancreas tissues were prospectively obtained from 88 patients with PDAC who underwent curative-intent surgery. Sixty-two patients received NACRT (NACRT group) and 26 patients did not receive neoadjuvant therapy (control group). Comprehensive analysis of metabolites in tumor and non-neoplastic pancreatic tissue were performed by capillary electrophoresis-mass spectrometry. There were significant differences in 27 tumor metabolites between the NACRT and control group. There were significant differences in eight metabolites between good responder and poor responder for NACRT. Among these metabolites, phosphocholine, Carnitine and Glutathione were associated with recurrence-free survival only in the NACRT group. Microarray confirmed marked gene suppression of choline transporters in PDAC tissue of NACRT group. Choline metabolism is one of the key pathways involved in recurrence of the patients with PDAC who received NACRT.

研究分野：消化器外科

キーワード：膵癌 術前化学放射線療法 メタボローム 再発 治療抵抗性 手術

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌(浸潤性膵管癌)は早期発見が困難な上に進行が早く、最も予後が不良な癌の一つである。2016年に術後補助療法の有用性が証明され(Uesaka K, et al. Lancet 2016)、さらに本邦におけるPREP試験により膵癌術前治療の有用性が証明され、膵癌診療ガイドラインにおいても切除可能(R)・境界型膵癌(BR)を含めたすべての膵癌に術前治療を行う事が推奨されている。

申請者らは切除可能(R)・境界型膵癌(BR)に対する術前短期間化学放射線療法(NACRT)の第Ⅰ相試験(UMIN-CTR 26438)を施行し、その結果を報告した(Okano K, et al. Ann Surg Oncol 2017)。本治療は安全性が高く、極めて良好な局所制御効果を有し、有効な治療法であることが証明された。しかし、本術前治療を施行しても、効果が少なく、切除後早期に再発する症例がある一定数認められ、治療抵抗性を有する腫瘍の存在が示唆された。それらの症例は手術先行など個別化した治療が必要であるが、現状では治療法の選択に正確な指標は存在しない。

申請者らは癌の代謝を解明する共同研究を慶應義塾大学先端生命科学研究所と行ってきた。(AMED-CREST:代謝産物解析拠点の創成とがんの代謝に立脚した医療基盤技術開発など)

癌の代謝変化は抗癌剤や放射線療法に対する治療抵抗性に深く関与していることが予測されるが、本研究までに膵癌の治療抵抗性と癌代謝の関連性を詳細に検討した研究は見られなかった。

2. 研究の目的

本研究においては、これまでに蓄積された研究成果と研究体制をもちいて、膵癌に対するNACRTの治療抵抗性メカニズムを代謝と遺伝子変異から解明し、個別化治療や新規治療開発への基盤とし、膵癌治療成績の画期的な向上へ繋げる。

3. 研究の方法

この研究計画では、難治癌の代表とされている膵癌に対する術前治療抵抗性メカニズムを癌代謝と遺伝子変化という視点より解明する事により、今後の成績向上を図ることを目的とする。

解析は切除標本より採取され凍結保存されている組織(癌・非癌部)を用いる。

組織学的効果判定の再評価

術前短期間化学放射線療法(NACRT)の第Ⅰ相試験で切除した症例のプレパラートを病理医と再評価して組織学的治療効果判定(Evans分類)でGrade (癌の膵体残存量が90%以上)/Grade a (10-50%)/ b (51-90%)/ (10%未満)/ (0%)にグループ分けを行う。

膵癌組織のメタボローム解析

メタボローム測定法を用いたイオン性代謝産物の一斉分析を行い、正常組織と癌組織間で有意に変動する代謝産物、代謝経路を調べる。イオン性、中性代謝産物および中性脂質、リン脂質の代謝産物のデータを統計解析、パスウェイ解析を行うことによって、正常組織に比べて膵癌組織で有意に変動する代謝産物を明らかにすると共に、治療抵抗性の腫瘍と治療に反応した腫瘍との癌代謝の相違を検討する。

次世代シーケンサーを用いた代謝・癌関連遺伝子解析

凍結組織サンプルならびにパラフィン包埋切片を用いて遺伝子変異をシーケンス解析で評

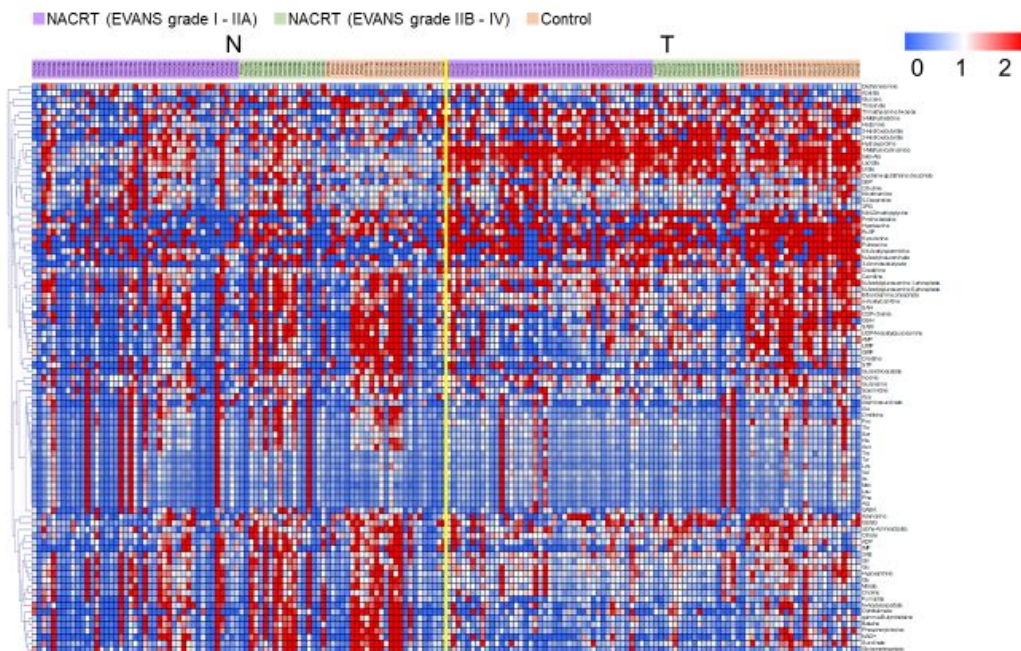
価する。

4. 研究成果

手術を受けた 88 人の膵癌患者から、凍結した腫瘍組織と非腫瘍性膵臓組織を前向きに入手した。対象症例のうち、62 人の患者が NACRT を受け (NACRT 群)、26 人の患者が NACRT を受けなかった (コントロール群)。NACRT 群では、病理学的治療効果を不良群 (Evans grade - A) 43 例と良好群 (Evans grade B-) 18 例に分類した。

腫瘍および非腫瘍性膵臓組織中の代謝物の包括的な分析は、キャピラリー電気泳動-質量分析法 (CE-MS) によって行われた。CE-MS では、定量された 500 以上のイオン性代謝物の中から解析対象となる 90 の代謝物が検出された。

Figure 1. Heat map of metabolite levels in paired normal and PDAC tissues



全例における代謝産物のヒートマップ (Figure 1) では、正常組織と腫瘍組織で明らかな代謝の相違を認める事、さらに腫瘍組織においても NACRT の有無や、NACRT の効果 (Evans 分類) によっても異なった代謝変化が存在することが示唆された。

データ解析により NACRT 群とコントロール群では 27 の代謝産物に有意差があることが明らかとなった。病理学的治療効果判定 (EVANS) による NACRT の反応性良好群と不良群では、8 つの代謝物 (1-MethylNicotinamide, Carnitine, Glucose, Glutathione (red), N-acetylglucosamine 6-phosphate, N-acetylglucosamine 1-phosphate, UMP, Phosphocholine) に有意な差が見られた。

治療効果に影響するメタボライトから、再発に影響する代謝産物を抽出すると、Carnitine、Glucose、Glutathione(red)、Choline、Phosphocholine が同定された。これらの代謝物のう

ち、Phosphocholine、Carnitine、Glutathione (red)は、NACRT 群でのみ無再生存率と関連し、Control 群では有意差は認めなかった。(Figure 2、Figure 3)

Figure 2. Kaplan-Meier curves of disease-free survival by metabolite levels of Choline (A) and Phosphocholine (B)

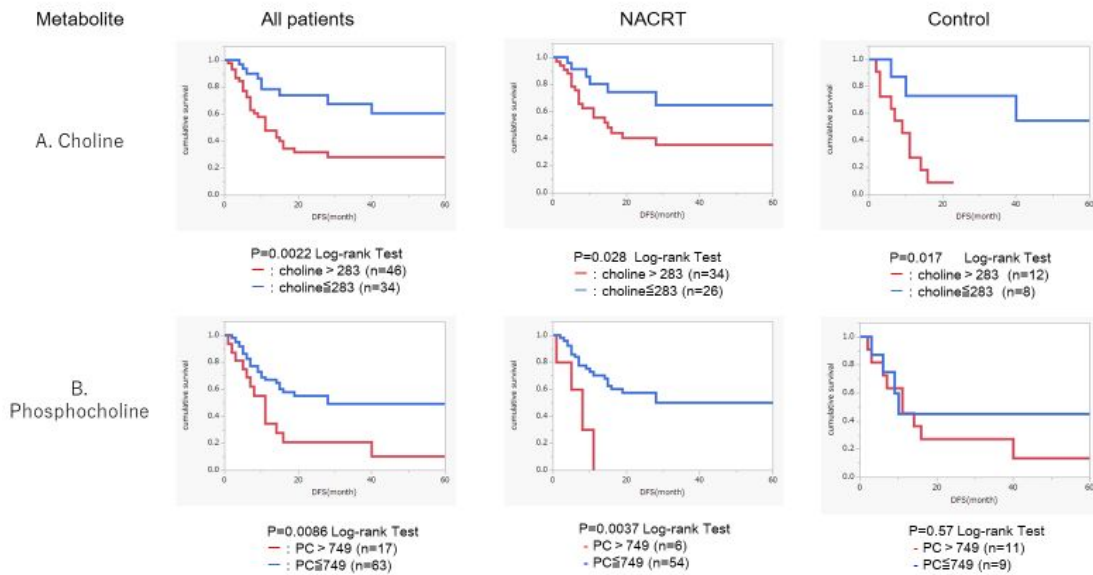
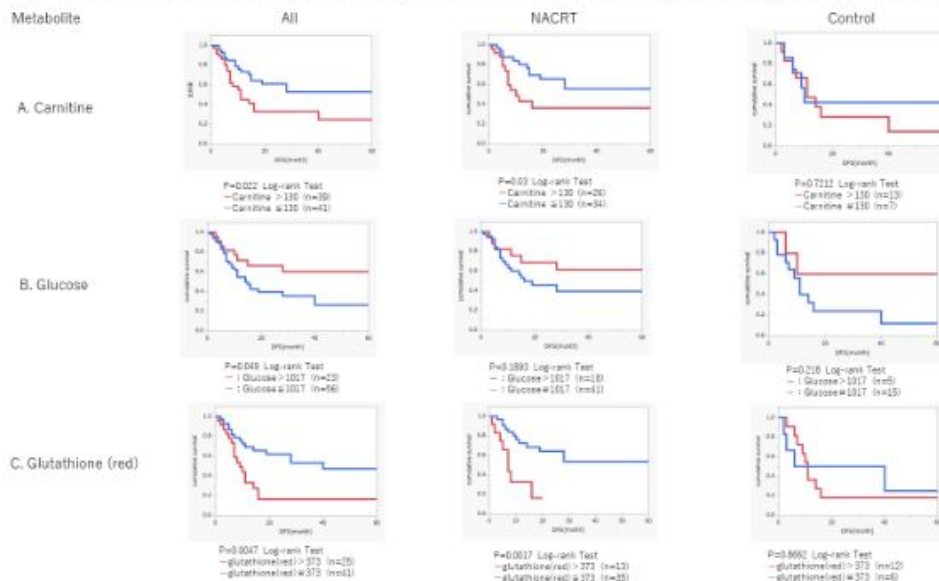
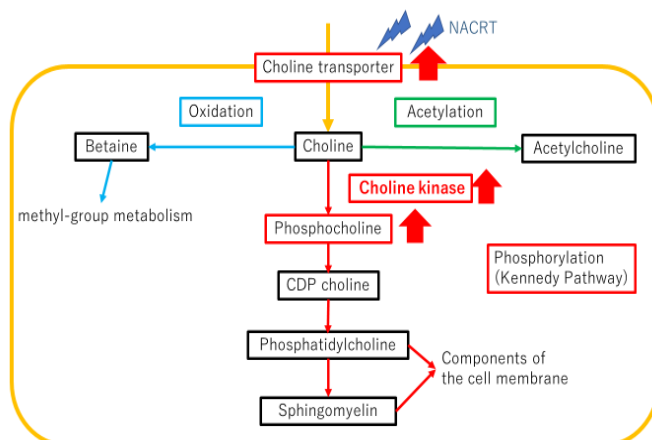


Figure 3. Kaplan-Meier curves of disease-free survival by metabolite levels of Carnitine (A), Glucose (B) and Glutathione (red) (C)



さらにマイクロアレイにより、NACRT 群の腫瘍組織では、コリン輸送体 (CTL1-4 (SLC44A1-44A4)) の遺伝子が顕著に抑制されていることが確認された。



本研究では、膵癌におけるいくつかの重要な代謝上の影響 (図参照 Kennedy Pathway) と、NACRT の標的となりうる遺伝子を解明した。

コリン代謝経路は、NACRT を受けた膵癌患者の再発に関わる重要な経路の一つである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yokohira Masanao, Oshima Minoru, Yamakawa Keiko, Ye Juanjuan, Nakano-Narusawa Yuko, Haba Reiji, Fukumura Yuki, Hirabayashi Kenichi, Yamaguchi Hiroshi, Kojima Motohiro, Okano Keiichi, Suzuki Yasuyuki, Matsuda Yoko	4. 巻 11
2. 論文標題 Adequate tissue sampling for the assessment of pathological tumor regression in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-86152-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi Kiyoyuki, Kobara Hideki, Kamada Hideki, Kohno Toshiaki, Namima Daisuke, Fujita Naoki, Yamana Hiroki, Fujihara Shintaro, Okano Keiichi, Masaki Tsutomu	4. 巻 0
2. 論文標題 Comparison of plastic stent versus metal stent in preoperative biliary drainage for pancreatic head cancer with neoadjuvant chemoradiotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jhbp.929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okano Keiichi, Suto Hironobu, Oshima Minoru, Ando Yasuhisa, Matsukawa Hiroyuki, Kamada Hideki, Kobara Hideki, Masaki Tsutomu, Suzuki Yasuyuki	4. 巻 0
2. 論文標題 Role of Short-Term Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Potentially Resectable Pancreatic Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The American Surgeon	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/0003134821998671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oshima Minoru, Okano Keiichi, Suto Hironobu, Ando Yasuhisa, Kamada Hideki, Masaki Tsutomu, Takahashi Shigeo, Shibata Toru, Suzuki Yasuyuki	4. 巻 20
2. 論文標題 Changes and prognostic impact of inflammatory nutritional factors during neoadjuvant chemoradiotherapy for patients with resectable and borderline resectable pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12876-020-01566-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suto Hironobu, Okano Keiichi, Oshima Minoru, Ando Yasuhisa, Takahashi Shigeo, Shibata Toru, Kamada Hideki, Kobara Hideki, Masaki Tsutomu, Suzuki Yasuyuki	4. 巻 19
2. 論文標題 The predictors and patterns of the early recurrence of pancreatic ductal adenocarcinoma after pancreatectomy: the influence of pre- and post- operative adjuvant therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Surgery	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12893-019-0644-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 和田侑希子、岡野圭一、安藤恭久、須藤広誠、大島稔、隈元謙介、佐藤清敏、曾我朋義、鈴木康之
2. 発表標題 術前化学放射線療法による膵癌代謝の変化
3. 学会等名 第7回 がん代謝研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	曾我 朋義 (Soga Tomoyoshi) (60338217)	慶應義塾大学・環境情報学部(藤沢)・教授 (32612)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	和田 侑希子 (Wada Yukiko)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------