

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16370

研究課題名（和文）肝胆膵領域癌におけるがん代謝関連遺伝子Nrf2の機能解析と新規治療法の開発

研究課題名（英文）Functional analysis and development of novel treatment targeting for Nrf2 in hepatobiliary pancreatic cancer

研究代表者

北野 雄希 (Kitano, Yuki)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：40814760

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）：本研究にてNrf2が腫瘍免疫を介して肝胆膵領域癌進展に与える影響について分析した。膵癌細胞株を用いたin vitro実験ではNrf2は腫瘍の増殖に関与していた。Nrf2とPD-L1発現の間には正の相関を認めた。膵癌において、PD-L1高発現群とCD8低発現群は予後不良であった。胆管癌においては、Nrf2とPD-L1発現の間に相関関係はみられなかったが、Nrf2とCD8発現には負の相関関係を認めた。胆管癌において、PD-L1高発現群とCD8低発現群は予後不良であった。

肝胆膵領域癌（特に膵癌と胆管癌）においてNrf2が腫瘍免疫と関連して腫瘍進展を促し、患者予後の悪化に関与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝胆膵領域癌は有効な抗癌剤や分子標的治療薬が限られており、その予後は未だに不良である。基礎研究及び臨床研究により分子標的治療薬に代表される革新的な治療法を開発することが喫緊の課題である。“がん代謝”は、がん細胞の発育・進展において非常に重要な役割を担っており、近年がん研究において注目されている。Nrf2はがん代謝の主要な制御遺伝子であると報告され、さらに腫瘍免疫と複雑に関連していると言われている。本研究により、肝胆膵領域癌においてNrf2が腫瘍免疫と関連して腫瘍進展を促し、患者予後に与える影響について検討した。

研究成果の概要（英文）： In this study, we analyzed the effect of Nrf2 on the progression of hepatobiliary-pancreatic cancer through tumor immunity. In vitro experiments using pancreatic cancer cell lines showed that Nrf2 could affect tumor growth. We found that there was a correlation between Nrf2 and PD-L1 expression in pancreatic cancer from the TCGA database. Immunohistochemistry using resected pancreatic cancer showed a poor prognosis in the PD-L1 high expression group and the CD8 low expression group. In cholangiocarcinoma, although there was no correlation between Nrf2 and PD-L1 expression, there was a negative correlation between Nrf2 and CD8 expression. Immunohistochemistry using resected cholangiocarcinoma showed a poor prognosis in the PD-L1 high expression group and CD8 low expression group.

We might show that Nrf2 promotes tumor progression in association with tumor immunity in hepato-biliary-pancreatic cancer and causes poor patient prognosis.

研究分野：外科腫瘍学

キーワード：がん代謝 腫瘍免疫 免疫チェックポイント バイオマーカー 肝胆膵領域癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

“がん代謝”は、がん細胞の発育・進展において非常に重要な役割を担っている。Warburg は、がん細胞では解糖系を使用してATPを産生することで、がん細胞の増殖・進展に有利な環境を自ら作り出していると報告した。近年、トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析、メタボローム解析により、がん代謝に関わる遺伝子や代謝産物が明らかになり、解糖系だけでなく、アミノ酸代謝や脂肪酸代謝などもがん細胞の増殖・進展に有利な環境を作り上げることに関与し、がん細胞の生存、増殖、転移などを可能にしていることが明らかになった。

一方、抗腫瘍免疫能を賦活化する治療（抗PD1抗体薬）が臨床応用され、“腫瘍免疫”に着目した治療に関わるバイオマーカー探索や、新たな治療標的探索の重要性は高まっており、これらの免疫回避機構に関わるメカニズム解明は極めて重要な注目度の高い研究課題である。近年、この免疫回避機構に“がん代謝”が関与するという報告があり、今回“がん代謝”と“腫瘍免疫”の関連と、膵癌進展に関与するメカニズム解明のため研究を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、肝胆膵領域癌において、がん代謝関連バイオマーカーNrf2の発現意義をグローバルなデータベースを用いて解明する。さらにがん代謝と腫瘍免疫との関連を解析することで、腫瘍内における免疫回避機構のメカニズムの解明を行う。さらに新規治療法の開発や、予後不良な患者集団や免疫療法の有効な患者を選別できる可能性があり、新たな治療ストラテジーの確立につながりうると考える。

3. 研究の方法

細胞株を用いた *in vitro* 実験

膵癌細胞株を用いて、Nrf2 が細胞増殖に及ぼす影響を解析する。

臨床検体を用いた肝胆膵領域癌の免疫染色

当科では様々な肝胆膵領域癌（膵癌、肝細胞癌、胆管癌など）に対し、年間 200 例以上の手術を行っており、全ての切除標本がパラフィン包埋切片として保管されている。Nrf2 や各種免疫細胞の免疫染色を行い、臨床データとの解析を行う。

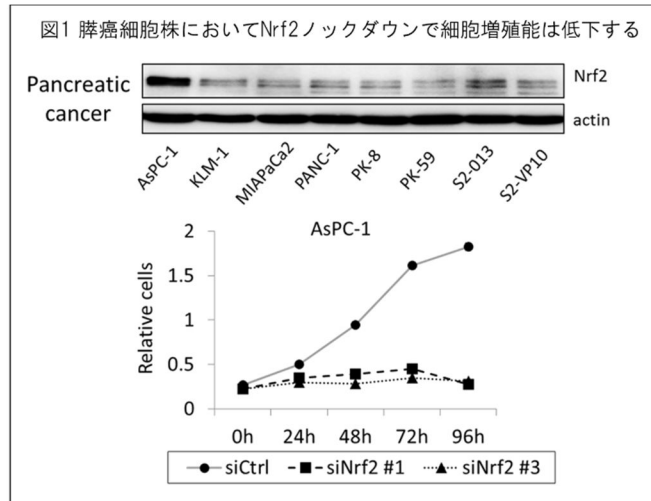
パブリックデータベースを用いた解析

臨床検体の免疫染色から得られたデータを元に、validation を行う。

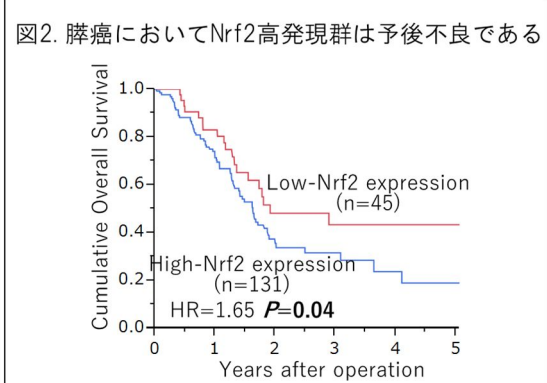
4. 研究成果

Nrf2が膵癌進展に関与する機序を解明すべく、8種の膵癌細胞株（AsPC-1, KLM-1, MIAPaCa2, PANC-1, PK-8, PK-59, S2-013, S2-VP10）を用いて *in vitro* の実験を行った。AsPC-

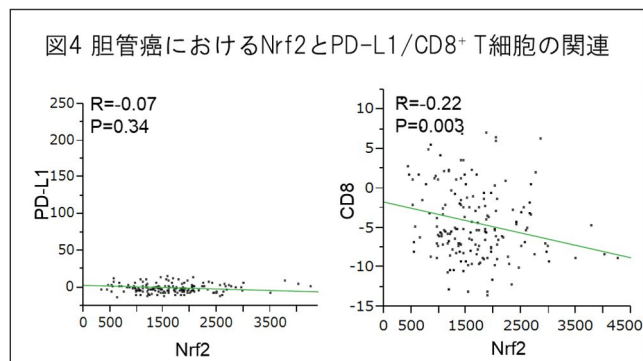
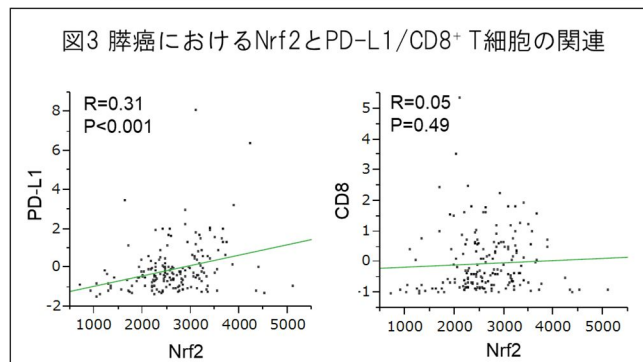
1がNrf2高発現株であり、growth assayではAsPC-1のNrf2ノックダウンにて著名な増殖能の低下を認めた(図1)。TCGAデータベースでは膵癌においてNrf2高発現群は低発現群に比べ有意差をもって全生存率の低下を認めた(HR=1.65, P=0.04)(図2)。同データベースを用いて、膵癌におけるNrf2と腫瘍免疫の関連を解析した。Nrf2とPD-L1発現の間には正の相関を認めたものの(R=0.31,



P<0.001)、Nrf2とCD8発現の間には相関を認めなかった(R=0.05, P=0.49)(図3)。膵癌切除標本を用いて、これら免疫細胞の免疫染色を行った。PD-L1高発現群は低発現群と比べ、有意差をもって全生存率の低下を認めた(P=0.006)。TCGAデータベースにても同様にPD-L1高発現群は低発現群と比べ、予後不良であった(P=0.004)。また切除標本の免疫染色にてCD8低発現群は高発現群と比べ全生存率の低下を認めた(P<0.001)(Cancer Sci, 2018)。



次に胆管癌におけるNrf2と腫瘍免疫の関連を解析した。Nrf2とPD-L1発現の間には相関関係はみられなかったが(R=-0.07, P=0.34)、Nrf2とCD8発現には負の相関関係を認めた(R=-0.22, P=0.003)(図4)。胆管癌切除標本を用いて、これら免疫細胞の免疫染色を行った。PD-L1高発現群は低発現群と比べ、有意差をもって全生存率の低下を認めた(P<0.001)(Ann Surg Oncol, 2019)。CD8低発現群は高発現群と比べ全生存率の低下を認めた(P=0.02)(Br J Cancer, 2018)。



本研究により、肝胆膵領域癌(特に膵癌と胆管癌)においてNrf2が腫瘍免疫と関連して腫瘍進展を促し、患者予後の悪化に関与している可能性を示すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 20件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Tsukamoto Masayo, Imai Katsunori, Ishimoto Takatsugu, Komohara Yoshihiro, Yamashita Yo ichi, Nakagawa Shigeki, Umezaki Naoki, Yamao Takanobu, Kitano Yuki, Miyata Tatsunori, Arima Kota, Okabe Hirohisa, Baba Yoshifumi, Chikamoto Akira, Ishiko Takatoshi, Hirota Masahiko, Baba Hideo	4. 巻 110(1)
2. 論文標題 PD L1 expression enhancement by infiltrating macrophage derived tumor necrosis factor leads to poor pancreatic cancer prognosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 310 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kitano Yuki, Yamashita Yo-ichi, Nakao Yosuke, Itoyama Rumi, Yusa Toshihiko, Umezaki Naoki, Tsukamoto Masayo, Yamao Takanobu, Miyata Tatsunori, Nakagawa Shigeki, Okabe Hirohisa, Imai Katsunori, Chikamoto Akira, Ishiko Takatoshi, Baba Hideo	4. 巻 27
2. 論文標題 Clinical Significance of PD-L1 Expression in Both Cancer and Stroma Cells of Cholangiocarcinoma Patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 599 ~ 607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07701-4	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 Nakao Y, Okabe H, Yamashita Y, Itoyama R, Yusa T, Kitano Y, Arima K, Miyata T, Nakagawa S, Imai K, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 A case of acute perforated cholecystitis with intracystic tumor thrombus of hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Canc Conf J	6. 最初と最後の頁 43-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Matsumoto T, Okabe H, Yamashita Y, Yusa T, Itoyama R, Nakao Y, Yamao T, Umzaki N, Tsukamoto M, Kitano Y, Miyata T, Arima K, Nitta H, Hayashi H, Imai K, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 49(1)
2. 論文標題 Clinical role of fludeoxyglucose (18F) positron emission tomography/computed tomography ((18)F-FDG PET/CT) in patients with pancreatic neuroendocrine tumors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surg Today	6. 最初と最後の頁 21-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-018-1703-2	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 Yamao T, Yamashita Y, Imai K, Umezaki N, Tsukamoto M, Kitano Y, Arima K, Miyata T, Nakagawa S, Okabe H, Hayashi H, Chikamoto A, Ishiko T, Baba H	4. 巻 39(2)
2. 論文標題 Clinical significance of preoperative hepatocellular carcinoma with high lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein, but low alpha-fetoprotein.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 883-889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13189.	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 Kitano Yuki, Yamashita Yo-ichi, Nakagawa Shigeki, Okabe Hirohisa, Imai Katsunori, Chikamoto Akira, Baba Hideo	4. 巻
2. 論文標題 Effectiveness of surgery for recurrent cholangiocarcinoma: A single center experience and brief literature review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjsurg.2019.02.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adam R, Kitano Y	4. 巻 3
2. 論文標題 Multidisciplinary approach of liver metastases from colorectal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	6. 最初と最後の頁 50-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12227.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kitano Y, Baba Y, Nakagawa S, Miyake K, Iwatsuki M, Ishimoto T, Yamashita Y, Yoshida N, Watanabe M, Nakao M, Baba H	4. 巻 244(3)
2. 論文標題 Nrf2 promotes oesophageal cancer cell proliferation via metabolic reprogramming and detoxification of reactive oxygen species.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Pathol	6. 最初と最後の頁 346-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5021.	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 Kitano Y, Okabe H, Yamashita Y, Nakagawa S, Saito Y, Umezaki N, Tsukamoto M, Yamao T, Yamamura K, Arima K, Kaida T, Miyata T, Mima K, Imai K, Hashimoto D, Komohara Y, Chikamoto A, Ishiko T, Baba H	4. 巻 118(2)
2. 論文標題 Tumour-infiltrating inflammatory and immune cells in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Br J Cancer	6. 最初と最後の頁 171-180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/bjc.2017.401.	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 Miyata T, Yamashita Y, Baba Y, Harada K, Yamao T, Umezaki N, Tsukamoto M, Kitano Y, Yamamura K, Arima K, Nakagawa S, Okabe H, Imai K, Hashimoto D, Chikamoto A, Shimokawa M, Baba H	4. 巻 9(29)
2. 論文標題 Prognostic value of LINE-1 methylation level in 321 patients with primary liver cancer including hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 20795-20806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25124.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuroda D, Sawayama H, Kurashige J, Iwatsuki M, Eto T, Tokunaga R, Kitano Y, Yamamura K, Ouchi M, Nakamura K, Baba Y, Sakamoto Y, Yamashita Y, Yoshida N, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 21(2)
2. 論文標題 Controlling Nutritional Status (CONUT) score is a prognostic marker for gastric cancer patients after curative resection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 204-212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-017-0744-3.	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 Nakagawa S, Okabe H, Ouchi M, Tokunaga R, Umezaki N, Higashi T, Kaida T, Arima K, Kitano Y, Kuroki H, Mima K, Nitta H, Imai K, Hashimoto D, Yamashita Y, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 20(10)
2. 論文標題 Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) regulates tumor angiogenesis and predicts recurrence and prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 HPB (Oxford)	6. 最初と最後の頁 939-948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hpb.2018.03.018.	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 Umezaki N, Hashimoto D, Nakagawa S, Kitano Y, Yamamura K, Chikamoto A, Matsumura F, Baba H	4. 巻 48(8)
2. 論文標題 Number of acinar cells at the pancreatic stump predicts pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surg Today	6. 最初と最後の頁 790-795
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-018-1656-5.	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 Arima K, Yamashita Y, Hashimoto D, Nakagawa S, Umezaki N, Yamao T, Tsukamoto M, Kitano Y, Yamamura K, Miyata T, Okabe H, Ishimoto T, Imai K, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 216(1)
2. 論文標題 Clinical usefulness of postoperative C-reactive protein/albumin ratio in pancreatic ductal adenocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Surg	6. 最初と最後の頁 111-115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjsurg.2017.08.016.	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 Kuramoto K, Beppu T, Nitta H, Imai K, Masuda T, Miyata T, Koga Y, Kitano Y, Kaida T, Nakagawa S, Okabe H, Hayashi H, Hashimoto D, Yamashita Y, Chikamoto A, Kikuchi K, Baba H	4. 巻 38(1)
2. 論文標題 Hepatic resection followed by hepatic arterial infusion chemotherapy for hepatocellular carcinoma with intrahepatic dissemination.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 525-531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Koga Y, Beppu T, Miyata T, Kitano Y, Tsuji A, Nakagawa S, Arima K, Kuramoto K, Okabe H, Imai K, Hayashi H, Nitta H, Yamashita Y, Chikamoto A, Ishiko T, Baba H	4. 巻 38(7)
2. 論文標題 Predicting poorly differentiated hepatocellular carcinoma that meets the milan criteria.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 4093-4099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12699.	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 Kinoshita K, Beppu T, Miyata T, Kuramoto K, Yoshida Y, Umesaki N, Kitano Y, Nakagawa S, Okabe H, Nitta H, Imai K, Hayashi H, Yamashita Y, Komori H, Horino K, Misumi A, Baba H	4. 巻 38(3)
2. 論文標題 A case of 15-year recurrence-free survival after microwave coagulation therapy for liver metastasis from gastric cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 1595-1598
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Yamamura K, Hashimoto D, Kitano Y, Kuroda D, Eto T, Arima K, Kaida T, Miyata T, Nakagawa S, Imai K, Yamashita Y, Chikamoto A, Matsumura F, Baba H	4. 巻 84(12)
2. 論文標題 Multiple primary cancers in patients with pancreatic cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am Surg	6. 最初と最後の頁 e514-e516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Yamashita Y, Imai K, Yusa T, Nakao Y, Kitano Y, Nakagawa S, Okabe H, Chikamoto A, Ishiko T, Yoshizumi T, Aishima S, Maehara Y, Baba H	4. 巻 2(3):
2. 論文標題 Microvascular invasion of single small hepatocellular carcinoma ≤ 3 cm: Predictors and optimal treatments.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	6. 最初と最後の頁 197-203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12057.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Umezaki N, Hashimoto D, Nakagawa S, Yamao T, Tsukamoto M, Kitano Y, Arima K, Yamamura K, Miyata T, Okabe H, Chikamoto A, Matsumura F, Baba H	4. 巻 4(1)
2. 論文標題 Cystic gastric metastasis from pancreatic cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surg Case Rep	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-018-0443-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koga Y, Beppu T, Imai K, Kuramoto K, Miyata T, Kitano Y, Nakagawa S, Okabe H, Okabe K, Yamashita Y, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 4(1)
2. 論文標題 Complete remission of advanced hepatocellular carcinoma following transient chemoembolization and portal vein ligation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surg Case Rep	6. 最初と最後の頁 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40792-018-0510-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----