

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09039

研究課題名(和文)膵IPMNの代謝変化の解明による悪性化のバイオマーカーおよび新規治療標的の同定

研究課題名(英文) Identification of Cancer Biomarker and Novel Therapeutic Molecutargets by Elucidation of Metabolism in IPMN of Pancreas

研究代表者

平下 禎二郎 (Hirashita, Teijiro)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：10527758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)の癌化に伴う代謝変化を解明し、悪性化のバイオマーカー同定、癌進行に関わる因子からの新規治療標的の同定を行った。腺腫から腺癌への発癌に伴いGLUT1発現が亢進し、糖代謝が変化した。臨床ではIPMNの癌化とFDG-PETが関連し、腺腫・腺癌の鑑別の感度85%、特異度96%であった。IPMN発癌過程でmTORC1が活性化し、mTORC1は糖代謝に関連した。IPMNオルガノイドは作成可能だが成功率が低く、治療標的の同定への利用には至らなかった。mTORC1活性の抑制は癌細胞増殖を抑制するが、pS6の予後との相関はなく、発癌段階での影響が強いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IPMNは手術時期決定のためには腺腫と腺癌の鑑別が重要であり、今回その鑑別のためのバイオマーカーの同定を行った。発癌に伴うGLUT1発現の亢進が明らかとなり、FDG-PETはIPMNの癌化を診断する有用な検査法であることがわかった。また、「有効な治療法の確立」のため、mTORC1活性に伴う浸潤メカニズムの解明と治療標的の同定を行い、mTORC1活性抑制ががんの増殖抑制につながるということがわかり、今後実際のIPMNにおける治療のターゲットの一因子となりうる。

研究成果の概要(英文)：We plan to identify biomarkers for malignant transformation and new therapeutic target by investigating the role of S6 phosphorylation and the significance of glucose metabolic changes in IPMN.

GLUT1 expression increased with carcinogenesis from adenoma to adenocarcinoma, and glucose metabolism changed at the same time. Clinically, there was an association between IPMN carcinogenesis and FDG-PET, and it was useful to diagnose as adenoma or adenocarcinoma with a sensitivity of 85% and a specificity of 96%. During IPMN carcinogenesis, mTORC1 was activated in adenocarcinoma, and mTORC1 was associated with glucose metabolism.

Although IPMN organoids can be created, the success rate was low. They were not useful to identify therapeutic targets. Suppression of mTORC1 activity leads to suppression of proliferation in pancreatic cancer cells, and pS6 and GLUT1 are not correlated with prognosis in the clinical cases. mTORC1 activity was considered to have a strong effect on carcinogenesis.

研究分野：膵腫瘍

キーワード：膵管内乳頭粘液性腫瘍 糖代謝 FDG-PET mTORC1

1. 研究開始当初の背景

膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN)は、健診や他疾患の精査の画像検査により偶発的に見つかる無症候性のもも含め、診断頻度が増加傾向にある膵嚢胞性疾患のひとつである。大腸癌と同様に adenoma carcinoma sequence を経て癌化することが解明されて注目されている。

IPMN は国際診療ガイドラインにより、画像所見によって治療方針が決定されている。しかし、未だに術前に腺癌 (悪性) と診断をされた切除症例の一部には腺腫 (良性) の診断にとどまる症例も存在する。また進行癌になると通常型膵癌同様に予後不良であり、適切な時期での手術が必要である。そのためいかにして悪性化を診断するかが重要であり、そのためには「悪性化のバイオマーカーの同定」が重要である。

また、切除後に浸潤癌の診断であれば補助化学療法が、進行癌で手術適応外となれば化学療法が行われるが、そのレジメンは通常型膵癌に準じて行われている。IPMN は通常型膵癌と発症や検出される遺伝子異常も異なるため、「有効な治療法の確立」が必要である。

2. 研究の目的

本研究では IPMN における、癌化バイオマーカーの同定による悪性化診断 (腺腫・腺癌の適切な鑑別) 法の確立、癌の進行・浸潤に関わる因子の検討による新規治療標的の同定、を目指す。

3. 研究の方法

【IPMN の悪性化のバイオマーカーの同定】

腺腫と腺癌症例における mTORC1 活性上昇に関わる遺伝子異常や、mTORC1 活性変化による代謝経路の変化を明らかにし、さらに粘液内に含まれる代謝産物との関係を検討し、最終的には粘液内に含まれる代謝産物で検出可能な癌に特異的なバイオマーカーの同定を目指す。

(1) IPMN における代謝の変化の解明

IPMN の診断と PET/CT の関係を検討する。具体的には、術前に施行した PET/CT と組織学的因子 (腺腫/腺癌、サブタイプ (胃型や腸型)、mTORC1 活性) と関連の有無を検討、その結果をもとに、糖代謝に関わる酵素の発現 (GLUT, HK, GPI など) との関連を調べる。また糖代謝だけでなく、核酸合成や脂肪代謝なども考慮する。

(2) IPMN 発癌過程における mTORC1 活性化メカニズムの解明

mTORC1 活性化を引き起こすシグナル経路に関わるシグナル伝達因子の活性 (RTK・pERK・pAKT・pS6K など) の評価を免疫染色で行い癌化との関連を検討する。mTORC1 活性を引き起こす遺伝子異常の探索のため、手術検体 (パラフィン切片) を Laser-Captured Microdissection (LCM) 法を用いて腺腫部分・腺癌部分を選択的に回収しゲノムを回収し、高解像度アレイ Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法と次世代シーケンシング法 (RG 社) にて解析する。

(3) 嚢胞内粘液の代謝産物による IPMN の悪性度の比較

IPMN 切除症例について手術中に嚢胞内粘液を採取する。GC-MS メタボロミクスによる代謝産物評価を行い (1) (2) の結果や IPMN の悪性度と比較検討する。

【mTORC1 活性に伴う浸潤メカニズムの解明と治療標的の同定】

mTORC1 活性の上昇により引き起こされる IPMN の浸潤のメカニズムを明らかにすることで、新たな治療標的の同定、治療法の確立を目指す。

(1) IPMN の浸潤における mTORC1 活性上昇の意義の解明

手術検体で mTORC1 活性や前の検討で同定した代謝産物の免疫染色を行い、IPMN の臨床病理学的因子 (進行度、サブタイプ、再発、予後) との関係を検討する。癌の浸潤に重要とされる HIF1a や EMT 関連因子などを免疫組織学的に解析し、mTORC1 活性の浸潤への影響を明らかにする。

(2) IPMN オルガノイドを用いた、新たな治療標的の同定

手術検体より組織回収 (10 mm³) を行い、患者由来の IPMN オルガノイドの樹立を行う。オルガノイドを用いて新たな治療標的として mTORC1 の阻害剤 (PF-4691502) やこれまでの検討で同定した浸潤に重要である因子の阻害薬を用いた増殖抑制効果について検討する。mTORC1 が抗がん剤耐性に関与する可能性も考え、すでに使用されている TS-1 や Gemcitabine との併用なども行うことで、具体的な治療法の確立を目指す。

4. 研究成果

【IPMN の悪性化のバイオマーカーの同定】

IPMNにおける代謝の変化の解明：免疫染色で GLUT1 の発現が腺腫から腺癌への発癌に伴って亢進しており、その時に糖代謝の変化が起きていることを明らかにしており、臨床においても IPMN の癌化と PET/CT の関連を症例を増やしながらか検討を継続し、SUV-max のカットオフ値を 3.5 とした感度 85%、特異度 96% で良悪性の鑑別に有用であった。

IPMN 発癌過程における mTORC1 活性化メカニズムの解明：mTORC1 活性化を示す pS6 は腺癌で発現が亢進し、pS6 の発現と糖代謝に関連があることを明らかにした。

【mTORC1 活性に伴う浸潤メカニズムの解明と治療標的の同定】

IPMN の浸潤における mTORC1 活性上昇の意義の解明：mTORC1 活性の抑制は腺癌細胞の増殖抑制につながり、臨床においては pS6 や GLUT1 は予後との相関はなく、発癌の段階での影響が最も強いものと考えられた。

IPMN オルガノイドを用いた、新たな治療標的の同定：IPMN オルガノイドは作成可能ではあるが、標本からの組織採取の難しさから成功率が低く、治療標的を同定するための検査には至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hirashita Teijiro, Hirashita Yuka, Iwashita Yukio, Endo Yuichi, Kiyonaga Maki, Matsumoto Shunro, Hijiya Naoki, Moriyama Masatsugu, Murakami Kazunari, Inomata Masafumi	4. 巻 4
2. 論文標題 S6 ribosomal protein phosphorylation is associated with malignancy of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 571 ~ 579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ags3.12367	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Teijiro Hirashita, Shota Amano, Masahiro Kawamura, Atsuro Fujinaga, Hiroaki Nakanuma, Takahide Kawasaki, Yoko Kawano, Takashi Masuda, Yuichi Endo, Masayuki Ohta, Masafumi Inomata
2. 発表標題 mTORC1 activation is associated with glucose uptake and malignancy of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas
3. 学会等名 第32回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Teijiro Hirashita
2. 発表標題 S6 ribosomal protein phosphorylation is associated with glucose uptake and malignancy of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas
3. 学会等名 51st Annual Meeting of the American Pancreatic Association
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平下禎二郎ほか
2. 発表標題 膵管内乳頭粘液性腫瘍における腺腫と非浸潤癌の術前画像診断.
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2023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	猪股 雅史 (Inomata Masafumi) (60315330)	大分大学・医学部・教授 (17501)	
研究分担者	岩下 幸雄 (Iwashita Yukio) (60534203)	大分大学・医学部・客員研究員 (17501)	
研究分担者	平下 有香 (Hirashita Yuka) (70771955)	大分大学・医学部・病院特任助教 (17501)	

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
---------	---------