

令和 5 年 5 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15966

研究課題名(和文)クロマチン動態に基づいた膵癌の治療層別化・最適化

研究課題名(英文)Stratification and optimization of pancreatic cancer treatment based on chromatin dynamics

研究代表者

加藤 裕之(Kato, Hiroyuki)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：70829788

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：治療最適化にむけた各種膵腫瘍の病態理解は喫緊の課題である。なかでも膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)は膵嚢胞として健診などで指摘される膵臓癌のリスク病変である。患者数は増加の一方、手術以外にIPMNの癌化を予防する治療は確立しておらず、IPMNの腫瘍進展プロセスの理解が必要とされてきた。我々は患者由来IPMN培養モデルを独自に構築し、先進的なゲノム・エピゲノム解析を統合駆使することで、IPMN進展の初期段階から特有のエピゲノム制御機構が疾患形成に関与すること、その責任分子としてMNX1・HNF1Bを同定した。こうした知見はIPMNの病態制御に寄与する可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はIPMNの多様な消化器臓器系譜を模して進展する臨床病理学的特徴に着目し、細胞系譜を司るエピゲノムにこそ、その本質が潜在すると仮説立てることで疾患の本質を追求するに至った。臨床に則した視点と、患者検体の有効活用、先端技術の融和による病態解明手法の有用性を提唱するとともに、蓄積したオミクスデータはIPMNの悪性化過程の解明、並びに新規治療標的を探索する重要な資源になると考える。加えて、本研究を足掛かりに前癌段階のIPMN時点での腫瘍の脆弱性を検討することの重要性や、発癌予防へ向けたIPMN診療のパラダイムシフトを提案する一助となればと考える。

研究成果の概要(英文)：Unraveling the pathogenesis of various pancreatic tumors is an urgent issue for their treatment optimization. Among them, intraductal papillary mucinous tumor (IPMN) is one of the precursor lesions in pancreatic cancers, which is often identified as a pancreatic cyst in health checkups. Although the number of patients with IPMN is increasing, no treatment has been established to prevent IPMN carcinogenesis other than surgical resection. Therefore, understanding of the tumor progression process of IPMN has been warranted.

To achieve this, we have established a series of original patient derived IPMN organoids. By applying cutting-edge genomic and epigenomic analyses to these models, we have identified that IPMN have distinct epigenomic profiles with characteristic addictive behaviors supported by MNX1-HNF1B axis, implying a feasibility for therapeutic implementation in this disease. These findings may contribute to the control of IPMN pathogenesis.

研究分野：膵臓癌

キーワード：膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN) 膵臓癌 オルガノイド 次世代シーケンサー クロマチン エピゲノム
ゲノム構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

各種膵腫瘍の病態理解における分子学的層別化と、治療における最適化は喫緊の課題である。大規模なゲノム解析から膵癌にもサブタイプが存在することが報告されているが、治療への実装という点では未解決の点も多い。

近年、エピゲノムに基づいた疾患解明・治療戦略が盛んになっている。ヒト全ゲノム解析の結果、エキソン領域は全ゲノムの<2%程度を占めるに過ぎず、遺伝子以外のゲノムの非コード領域の重要性が明らかになりつつある。我々はこうした非コード領域がエピジェネティックに疾患や細胞の多様性に果たす役割に焦点をあて、膵腫瘍においても、エピゲノムに基づいた適切な分子生物学的な特徴づけ、並びに疾患の層別化・治療最適化が可能になるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

膵腫瘍には病理学的にいくつかのサブタイプが存在する。なかでも膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) は年率 0.7% で浸潤癌化・併存癌を発症する腫瘍性前駆病変の一つであり、膵発癌全体の 1-2 割を占める。粘液産生性の嚢胞を呈するため画像的指摘が容易であり、健診事業の普及に伴い膵嚢胞の偶発的診断は世界的に増加している。一方、腫瘍進展経路に関しては不明な点が多く、特に IPMN 由来癌と膵上皮内腫瘍性病変 (PanIN) を介する通常型膵癌との分子生物学的な差については未解決の点が多い。我々は細胞固有の表現型を規定するクロマチン動態に着目し、これら膵腫瘍をクロマチンレベルで層別化することで、各群の生存に不可欠なエピゲノム標的を同定し、特異的な治療法を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では患者由来膵腫瘍培養モデルを新たに樹立し、膵発癌過程や癌固有のクロマチン動態と癌の生存能との関わりを探索することで、治療標的としての実装可能性を検証した。具体的には IPMN および IPMN 由来癌・併存癌を含む独自の膵腫瘍オルガノイドライブラリー 23 例に対し、ATAC-seq を用いて各膵腫瘍サブタイプの詳細なクロマチンプロファイリングを行った。加えて Whole Exome-seq, RNA-seq, 並びに ChIP-seq と Hi-C データを統合的に解析し、見出した治療標的に関しては RNA 干渉実験や臨床コホートでの検証も行うことで、エピゲノム・クロマチン構造が膵腫瘍に果たす役割を深く追求した。

4. 研究成果

(1) 患者由来の IPMN・IPMN 由来癌・併存癌オルガノイドを先駆けて樹立することに成功した。樹立したオルガノイドは各々の原発巣の病理像を再現し、IPMN 病変に特異的な *GNAS*, *RNF43*, *KLF4* 変異を認めることを確認した。次いで RNA-seq, ATAC-seq の統合解析を行うと、IPMN、IPMN 由来癌に特徴的な遺伝子発現様式・エピゲノム機構があることが示された (図 1)。すなわち、クロマチン動態と連動して胃型 IPMN では胃上皮マーカーの発現が誘導され、IPMN 由来癌では広汎な消化器腺上皮遺伝子が発現しており、臨床病理学的特徴がクロマチンに基づいて規定されていることを示唆する知見を得た。

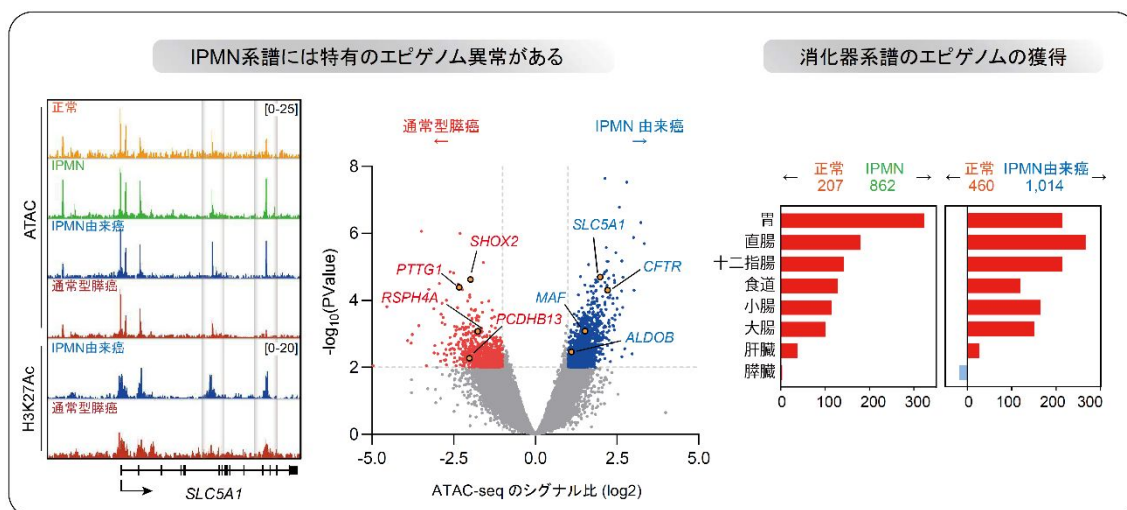


図 1 IPMN や IPMN 由来癌における特有のエピゲノム動態の存在

(2) これら事象の責任因子として、クロマチン開放部に結合する転写因子を解析することで HNF1B を見出した。shRNA や CRISPR 干渉実験にて生存への重要性や標的遺伝子群を比較検討することで、HNF1B の重要性は IPMN 系譜に共通かつ特有のものであることを確認した。さらに IPMN 系譜での HNF1B 発現を直接支持する因子として MNX1 を同定した。約 160 例の当院の IPMN コホートの免疫染色から、PanIN と比して IPMN 形成過程で MNX1 の発現が有意に上昇し、その後の腫瘍進展に影響している可能性を見出した(2022 *Gastroenterology*., PMID: 34953915)。

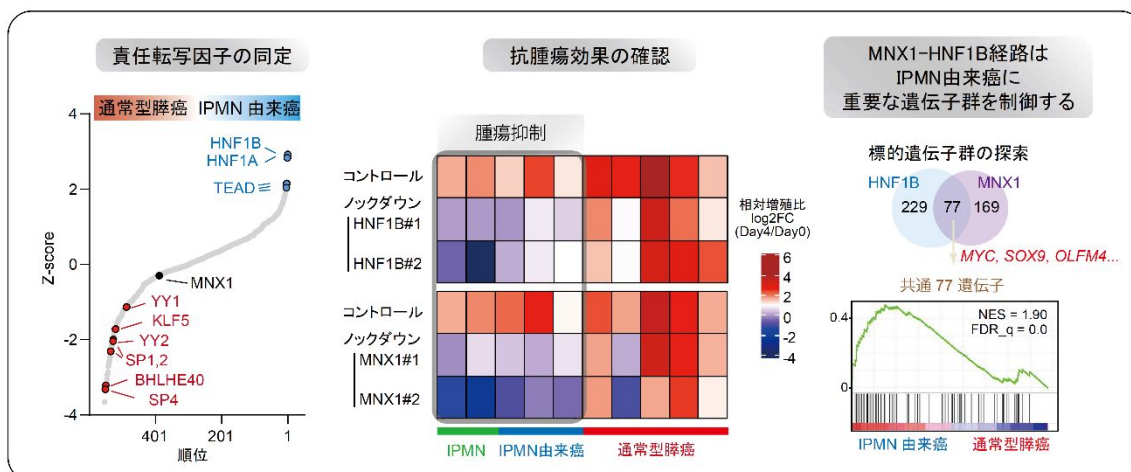


図2 HNF1B, MNX1 を標的した際の IPMN 及び IPMN 由来癌の顕著な腫瘍抑制効果

(3) Hi-C 解析を用いて膵腫瘍のゲノム構造を俯瞰すると、クロマチン動態同様に IPMN 系譜に特徴的なゲノム構造の存在を示唆する知見を得た。続いて、これらゲノム構造と膵臓癌の生物学的特性との関与を検討した。すると膵臓癌の悪性度の指標として確立しているトランスクリプトーム分類とゲノム構造との間に相関があることを見出した。そこでゲノム構造の形成機序を検討した。ゲノム構造構築には転写因子依存性の凝集体が関与するという知見に着目し、ゲノム構造に関与し得る転写因子を探索した。すると転写因子 HNF1B と膵癌サブタイプに応じたゲノム構造の関与が示唆され、HNF1B の強制発現系では悪性度に関わる遺伝子群の発現がゲノム構造と連動していることを確認した。さらに HNF1B を介してゲノムが活性化コンパートメントに凝集する過程を可視化し、転写因子の凝集がゲノム高次構造構築のメカニズムであること、本現象が膵癌の悪性度/サブタイプの規定に重要である可能性を見出した(図3)。こうした機構は HNF1B の凝集体形成に関わると推察される機能ドメインに依存していることも実証した(2023 *Cancer Sci.*, PMID: 36511816)。

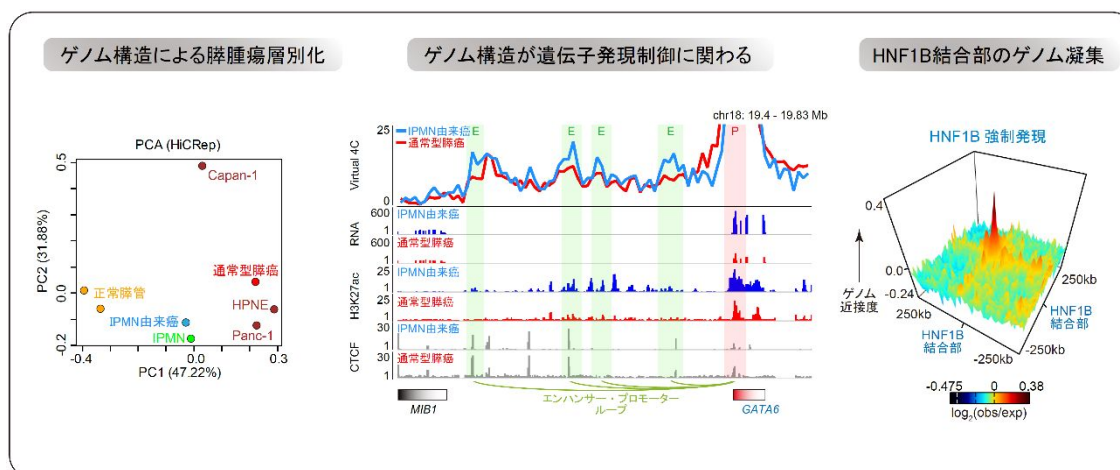


図3 HNF1B を介したゲノム構造による膵腫瘍層別化の可能性

これらの知見は各種膵腫瘍の病態理解、並びに IPMN の病態制御に寄与する可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Kato Hiroyuki, Tateishi Keisuke, Fujishiro Mitsuhiro, Koike Kazuhiko et al.	4. 巻 162
2. 論文標題 MNX1-HNF1B Axis Is Indispensable for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm Lineages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1272 ~ 1287.e16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2021.12.254	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 Kato Hiroyuki, Tateishi Keisuke, Iwadate Dosuke, Yamamoto Keisuke, Fujiwara Hiroaki, Nakatsuka Takuma, Kudo Yotaro, Hayakawa Yoku, Ijichi Hideaki, Otsuka Motoyuki, Kishikawa Takahiro, Takahashi Ryota, Miyabayashi Koji, Nakai Yousuke, Hirata Yoshihiro, Toyoda Atsushi, Morishita Shinichi, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 114
2. 論文標題 HNF1B driven three dimensional chromatin structure for molecular classification in pancreatic cancers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1672 ~ 1685
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15690	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 KATO Hiroyuki, TATEISHI Keisuke, FUJISHIRO Mitsuhiro	4. 巻 38
2. 論文標題 Elucidation of intraductal papillary mucinous neoplasms using patient-derived organoids	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Suizo	6. 最初と最後の頁 10 ~ 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2958/suizo.38.10	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 加藤 裕之
2. 発表標題 クロマチン動態から探る膵腫瘍の層別化
3. 学会等名 第52回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroyuki Kato
2. 発表標題 A multi-omics study in patient-derived organoids reveals MNX1-HNF1B axis to be indispensable for intraductal mucinous papillary neoplasm lineages
3. 学会等名 2021 AACR VIRTUAL SPECIAL CONFERENCE: PANCREATIC CANCER (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤 裕之
2. 発表標題 オルガノイドを用いた膵腫瘍の進展機構の検討
3. 学会等名 2021年度日本消化器関連学会 (JDDW 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroyuki Kato
2. 発表標題 Mapping the chromatin profiles of IPMN lineages to unveil their biological vulnerabilities
3. 学会等名 United European Gastroenterology Week (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyuki Kato
2. 発表標題 Hi-C analysis in patient-derived organoids reveals the impact of three-dimensional chromatin structures on pancreatic cancer transcriptional subtypes
3. 学会等名 AACR Special Conference: Pancreatic cancer (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyuki Kato
2. 発表標題 Large-scale genome structure dynamics shapes transcriptional subtype in pancreatic cancer
3. 学会等名 The Joint Congress of the 26th Meeting of International Association of Pancreatology and the 53rd Annual Meeting of Japan Pancreas Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>【プレスリリース】膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPMN）に重要な腫瘍進展機構を新たに同定 https://www.h.u-tokyo.ac.jp/press/20211223.html</p>

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

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