

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：15501
研究種目：若手研究
研究期間：2021～2023
課題番号：21K16475
研究課題名（和文）腫瘍および宿主両面からみた複合バイオマーカー探索にもとづく膵癌個別化治療への展開

研究課題名（英文）Development of Personalized Therapy for Pancreatic Cancer Based on the Exploration of Composite Biomarkers from Both Tumor and Host Perspectives

研究代表者
中島 正夫（Nakajima, Masao）
山口大学・医学部附属病院・診療助教（4日/週）

研究者番号：00875487
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）：本研究により、以下の2点が明らかとなった。膵癌に対する術前化学療法（NAC）施行例において、NACの種類によってPBMCの変化に違いを認めること、NAC前後の腫瘍マーカーおよびPBMCの遺伝子発現変化を解析することで、術後早期遠隔転移再発を予測しうること。に関してはCA19-9が正常値まで下がらない症例や、NAC前後PBMCの遺伝子X発現の変化が高度である症例は術後遠隔転移再発の可能性が高いことが明らかとなった。さらに、CA19-9とPBMCの解析結果を統合することで、より高率に術後遠隔転移再発を予測しうることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、術前化学療法後に腫瘍マーカーであるCA19-9が正常値まで下がらない膵癌症例は、術後に遠隔転移再発の可能性が高いことが示唆された。これにより、原発巣の切除を行わないという新たな治療方針の策定の可能性が示された。さらに、この基準に加えて、術前後の末梢血単核細胞（PBMC）の変化を解析することにより、術後早期再発を高確率で予測し、不要な手術を回避する可能性が示唆された。このアプローチは、個別化した集学的治療提供のコンセプト確立に寄与するものであり、学術的・社会的に意義ある成果を得た。また、これら高リスク症例に対して化学療法を継続することで、膵癌治療全体の成績向上が期待される。

研究成果の概要（英文）：This study has elucidated the following two key findings in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy (NAC) for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC): 1) Different types of NAC lead to variations in PBMC changes. 2) By analyzing changes in tumor markers and PBMC gene expression before and after NAC, it is possible to predict early postoperative distant metastasis recurrence. Specifically, it was found that patients whose CA19-9 levels do not decrease to normal and those with significant changes in the expression of gene X in PBMC before and after NAC are more likely to experience distant metastasis recurrence postoperatively. Furthermore, integrating the analysis results of CA19-9 and PBMC suggests a higher probability of predicting postoperative distant metastasis recurrence more accurately.

研究分野：Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery

キーワード：PDAC PBMC tumor marker gene expression

1. 研究開始当初の背景

膵癌は肉眼的に根治切除を施行しても遠隔転移再発をきたす可能性が高く、その治療成績は依然として不良である。特に、術後早期に遠隔転移再発 (Early recurrence : ER) を来す症例の予後は極めて不良である。その原因の一つとして、膵癌は他癌腫とは異なり、臨床上市摘し得ない微小転移が切除時には既に併存していることが強く示唆される。したがって、膵癌根治のためには、手術のみならず、これら微小転移の制御を含めた集学的治療が必須となる。近年、集学的治療の一つとして術前化学療法 (Neo adjuvant chemotherapy : NAC) の有用性が報告され、今後標準療法となる可能性が非常に高い (Unno M, et al. Surg Today. 2019)。申請者らも膵癌に対する NAC および外科的切除を組み合わせた集学的治療の前向き観察研究を 2017 年より施行し、ある一定の治療効果を得ている。しかし、化学療法のレジメンは複数存在するほか、奏効率は患者毎に様々であり、その選択基準や治療期間を患者毎に決定するシステムは依然として確立されていない。さらに、NAC 施行例においても ER 症例は依然として存在し、同症例の予後は極めて不良である (図 1)。そのため、ER 症例を術前に予測しうるバイオマーカー探索が急務である。ER 症例のバイオマーカーとして、CA19-9 を始めとした腫瘍側因子の有用性が報告されている一方で、宿主側因子に関する報告はこれまで存在しない (Truty, M. J., Ann Surg. 2021)。

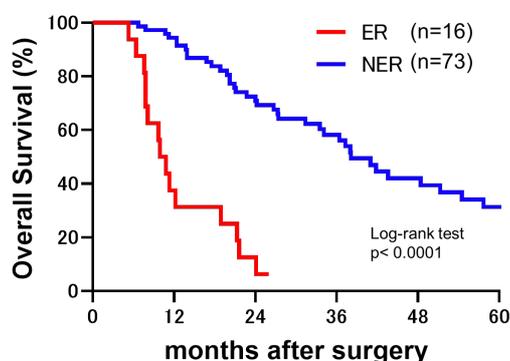


図 1 : 教室における膵癌 NAC 症例の生存解析

2. 研究の目的

本研究は、患者の宿主因子に着目し膵癌に対する集学的治療としての NAC 適格症例・レジメン選定のため、新たな複合マーカーの探索を目的とする。近年のチェックポイント阻害剤開発に伴い、癌免疫領域の研究は加速度的に進歩し、膵癌においても宿主免疫状態が腫瘍進展に密接に関わっている事が明らかとなってきた。そこで NAC 前、後の患者 PBMC の変化を解析し、患者アウトカムとの関連を検討する。この新規マーカーを治療早期に適用することで ER 症例の予測を通じた NAC 適格症例・レジメン選定が可能となりさらには、ER

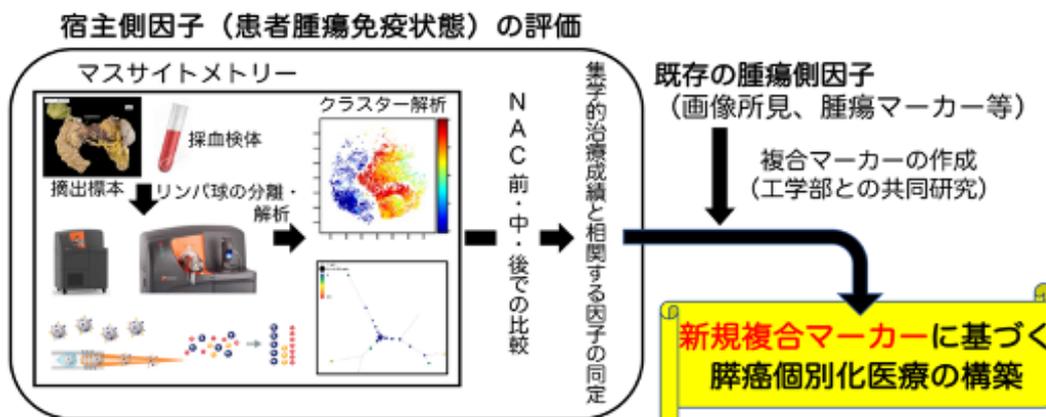


図 2 : 本研究の概要図

症例に対する不必要な手術が回避可能となるなど、個別化した集学的治療提供のコンセプトを確立し膵癌治療成績の向上を期待する（図2）。

3. 研究の方法

まず当教室で膵癌に対して NAC 施行後根治切除を行った 53 例を対象とし、ER 症例（6 か月以内再発）に寄与する臨床的因子を検討した。続いて、術後早期に再発を認めた 4 例と、長期無再発の 4 例を対象と NAC 前後の血液から分離した PBMC に対してフローサイトメトリーによるリンパ球フェノタイプの解析を行った。さらに次世代シーケンサー（NGS）を用いて PBMC の遺伝子発現状況の包括的な解析を行った。対象として、術後長期無再発（2 年以上）症例 2 例、早期再発（1 年以内）症例 1 例、NAC 中に病勢進行（PD）を認めた 1 例を選択した。また、化学療法レジメンによる差違も検討するため、modified FOLFIRINOX (mFFX)を投与した 4 例と Gemcitabine+Nab-paclitaxel (GnP)を投与した 4 例を選択した。得られた RNA-seq データから PBMC の包括的な Immune signature を評価するため、6 つのアルゴリズム (XCELL、TIMER、QUANTISEQ、MCPcounter、EPIC、CIBERSORT+ABS) を用いた。最後に、より詳細な変化を検討するため、NAC 前後 PBMC の RNA 変化 (DEG) を解析した。

4. 研究成果

NAC 後 PDAC 切除 53 症例の検討では、先行研究と同様に NAC 後の血中 CA19-9 値が術後早期再発に関与する有意な因子として同定された ($p=0.047$)。NAC 後 CA19-9 値 ≤ 100 ng/ml の 34 症例は 4 例 (10.5%) を除き術後早期再発を認めなかった一方で、100~500 ng/ml の 11 症例は 3 例 (27%) に、500 以上の 8 症例は 4 例 (50%) に早期再発を認めた（図3）。つまり、ER の術前予測において CA19-9 値だけでは限界があり、特に NAC 後 CA19-9 値が 100~500 ng/ml の症例群における ER 症例を同定する新規マーカーの検討が必要と考えられた。

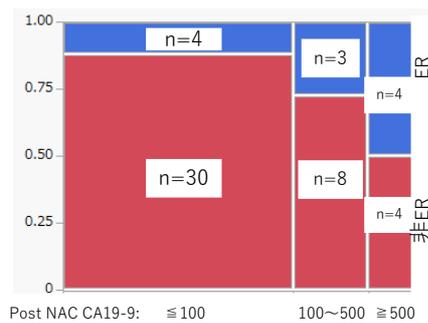


図3：NAC 後 CA19-9 値と ER の関係

そこで、まず ER 症例 4 例と、長期無再発 4 症例を対象として、PBMC における T 細胞フェノタイプの NAC 前後の変化と患者アウトカムの関連を評価した。結果、明らかな相関は見出せず単一因子の評価は限界があると考えた。続いて、PBMC の網羅的 RNA-seq 解析を行った。結果、mFFX 投与症例では臨床経過に関わらず全症例で NAC 後に CD8+T 細胞の占める割合の増加を認めた。さらに長期無再発症例は CD4+T 細胞の占める割合が NAC 後

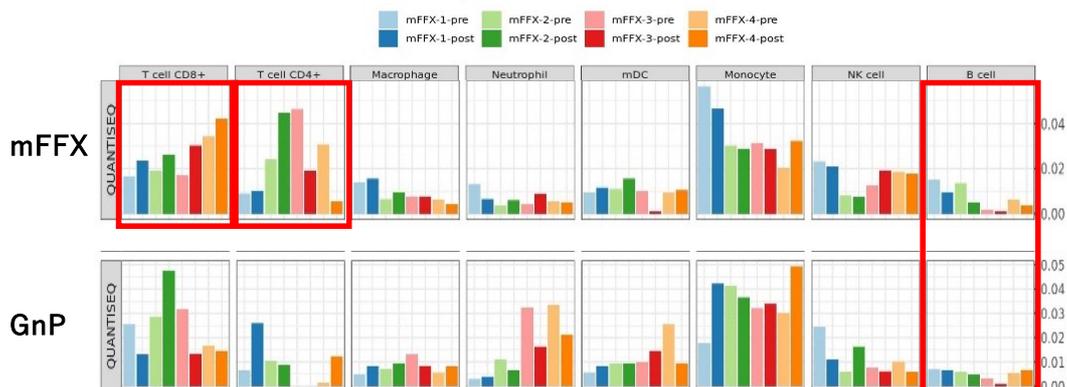


図4：NAC 前後 PBMC の免疫細胞フェノタイプの変化

に増加していた一方で、ER 症例は低下していた。化学療法レジメン間の比較では、同傾向は GnP 症例では認められなかった。一方で、化学療法レジメンに関わらず長期無再発症例では B 細胞の占める割合の NAC 後低下を認めた (図 4)。この結果を FCM 解析でも確認したところ確かに同様の結果である事を確認した。

最後に、NAC 前後における PBMC の遺伝子発現変化を検討した。結果、NAC レジメンにかかわらず ER 症例全例で NAC 後に上昇を認めている遺伝子として Gene X を同定した。そこで腭癌 NAC 後に切除を行った 12 症例 (長期無再発 8 症例、ER4 症例) を対象に validation を行った。結果、全ての ER 症例は NAC 前と比較して NAC 後に PBMC の Gene X 発現が上昇していた (図 5, 6)。内 2 症例は、NAC 後の C19-9 値が 100~500

ng/ml の症例が 2 症例含まれていた。一方で、非 ER 症例 8 例の内、2 症例は NAC 後 Gene X 発現の上昇を認めたが、同症例は NAC 後 CA19-9 値は 100 ng/ml 以下であった。また、非 ER 症例の内 1 症例は NAC 後 CA19-9 値が 500 以上と高値であったが、Gene X 発現は低下していた。

以上の結果より、NAC 後 CA19-9 値

が高値 (500 ng/ml 以上) である症例や、正常値まで下がらない症例 (100~500 ng/ml) のうち NAC 後に PBMC の遺伝子 X 発現が上昇している症例は術後遠隔転移再発の可能性が高いことが明らかとなった。つまり、CA19-9 値と PBMC の解析結果を統合することで、より高率に術後遠隔転移再発を予測する可能性が本研究によって示唆された。今後は症例数を増やしてその妥当性を検討するとともに、そのメカニズムに関しても明らかにしてゆく予定である。

No.	グループ	RFS (月)	再発部位	CA19-9 (ng/ml)		Gene X		Gene X Ratio Post/pre
				pre NAC	post NAC	pre	post	
1	非ER	55	-	1002	39.7	2.67	1.37	0.51
2	非ER	26	-	15.4	13.8	1.25	0.73	0.58
3	非ER	35	-	2	2	0.93	0.58	0.63
4	非ER	29	-	848	668	0.75	0.51	0.68
5	非ER	12	-	26.2	17.2	1.41	1.17	0.83
6	非ER	24	-	189.6	47.2	1.82	1.78	0.98
7	非ER	21	-	21.8	8.5	0.64	0.88	1.39
8	非ER	17	-	6.7	15	0.51	0.68	1.34
9	ER	-	播種	330	351	0.5	0.66	1.33
10	ER	2	肝・播種	5479	2182	0.21	0.32	1.52
11	ER	-	播種	354	286	0.34	0.49	1.44
12	ER	2	肝	285	14624	0.23	0.35	1.52

図 5 : Validation 12 例の NAC 前後の臨床背景と Gene X 発現変化

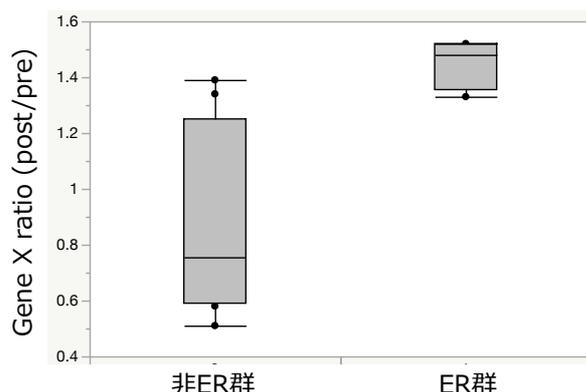


図 6 : NAC 前後 PBMC 中の Gene X 発現変化と ER の関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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