

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10510

研究課題名（和文）筋線維芽細胞に着目した肝内胆管癌、膵癌の治療法について

研究課題名（英文）A novel approach in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma or pancreatic cancer: Focusing on the stromal myofibroblast

研究代表者

祝迫 恵子 (Iwaisako, Keiko)

同志社大学・生命医科学部・教授

研究者番号：70625300

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）：肝内胆管癌の臨床検体について解析を行ったところ、意外なことに癌組織における線維化が高度であるほど予後が良好である傾向が認められた。一方、背景の非癌部については、線維化が高度であるほど予後が不良であった。線維芽細胞の浸潤と線維化に相関があり、さらに免疫細胞の中で制御性T細胞の浸潤が多いほど予後が不良であることが見いだされた。また、線維化について、構成成分であるコラーゲンについてそのサブタイプの解析を行った。癌部は非癌部と比較してtype IIIの割合が高く非癌部のtype IIIと癌部への制御性T細胞の浸潤に相関見られたことから、筋線維芽細胞が免疫細胞の応答性に影響し、予後に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝内胆管癌や膵癌は、大変予後が不良な癌で近年の癌免疫療法などの発展による予後改善もなかなか期待できないのが現状である。ほかの癌との違いを、手術で摘出した癌の組織を用いて解析することで、その性質や特徴を詳細に解析し、治療の手掛かりとなる性質を見出すことがこの研究の目的である。我々は、肝内胆管癌に浸潤する免疫細胞の特徴と線維化のについて新たな知見を見出すことができた。この知見を治療法へと展開させたい。

研究成果の概要（英文）：Analysis of clinical specimens of cholangiocarcinoma showed that the higher the fibrosis of the cancerous tissue, the better the prognosis. On the other hand, in the non-tumor of the liver, the higher the fibrosis, the worse the prognosis. There was a correlation between fibroblast infiltration and fibrosis, and the more regulatory T cells infiltrating tumor, the worse the prognosis. For fibrosis, the subtype of collagen, which is a component, was analyzed. The proportion of type III in tumor was higher than that of non-tumor areas, and a correlation was observed between type III non-tumor areas and the infiltration of regulatory T cells into tumor. It was suggested that it may influence prognosis and contribute to the prognosis.

研究分野：肝疾患

キーワード：線維化 癌免疫

1. 研究開始当初の背景

【肝胆膵領域の癌患者の現状】

原発性肝癌は、大きく肝細胞癌と胆管細胞癌にわけられる。肝細胞癌の約 60%は慢性 C 型肝炎に起因するとされてきたが、近年 C 型肝炎ウイルス除去療法が飛躍的に発達したことで、今後は患者数の減少が期待される。しかし、胆管細胞癌や膵癌は近年増加しており、化学療法の奏効率が低く極めて予後の悪い癌であるため、有効な治療法開発が望まれている。図 1 は、病期を問わず癌の部位別に見た相対生存率で、肝胆膵領域の癌の 10 年生存率はいずれも 20%以下と低く、手術ができなかった進行症例に限れば、10 年生存率はほぼ 0%である。

【肝内胆管癌と膵癌の特徴】

日本人の原発性肝癌(肝細胞癌、胆管細胞癌)300 例の網羅的ゲノム解析により、1 つの腫瘍あたり平均で約 10,000 カ所もの遺伝子変異があると報告され(Fujimoto et al. Nature Genetics 2016)、肝癌細胞の性質はかなり多様であり、治療標的となりうる共通性の高い遺伝子変異や癌抗原を見出すことが困難であることが示唆された。また、膵癌は癌関連遺伝子の多段階的な変異の積み重ねが発症のベースにあることが知られているが、クロモスリプシス(少数の染色体に崩壊と再構成が起こる現象)によってさらに多様性を獲得していることが報告された(Notta et al. Nature 2016)。腫瘍内に多様性があると、治療感受性のクローンが治療によって縮小しても治療抵抗性のクローンが増大するため、臨床的に難治性を呈すると考えられている。一方、肝内胆管癌と膵癌は病巣が硬く、病理組織学的に他の癌種と比較して過剰な細胞外基質の蓄積、つまり線維化という共通した特徴がみられる(図 2. 祝迫未発表データ参照)。しかし、腫瘍間質において、細胞外基質や液性因子を産生して線維化の中心的な役割を果たしている筋線維芽細胞については、未だ不明な点が多い。申請者は、肝線維化における筋線維芽細胞の起源として、これまで知られていた肝星細胞とは別に、門脈域の線維芽細胞が存在することを同定し、活性化のメカニズムが異なることを報告した(Iwaisako et al. PNAS. 2014)。また、膵線維化においても、筋線維芽細胞の起源は膵星細胞のみではないことを確認している(投稿中)。

【仮説:線維化を伴う肝内胆管癌や膵癌では、筋線維芽細胞が癌の進展をサポートする中心的役割を果たしている(図 3 に概略を示した)】

腫瘍間質の筋線維芽細胞は、起源、形質、機能が不均一な細胞集団であり、その性状は臓器によって大きく異なるといわれている。申請者は、臨床検体を用いた予備検討から、肝内胆管癌と膵癌の腫瘍間質には -smooth muscle actin(-SMA)を発現する筋線維芽細胞が豊富に存在することを確認している。肝臓と膵臓には、臓器固有の線維芽細胞のほかに、油滴を持った星細胞と呼ばれる間葉系細胞が存在し、筋線維芽細胞の起源となっている。これらを起源とする筋線維芽細胞が、腫瘍間質において i)細胞外基質の過剰な蓄積(=線維化)を引き起こし、ii)癌細胞の増殖を促し、iii)免疫抑制的な環境を形成して癌細胞に対する免疫反応を減弱させるなど、多面的な役割を果たすことで癌の進展をサポートしている、という仮説をたて本研究を企画した。

2. 研究の目的

肝内胆管癌や膵癌は、いずれも極めて多様な遺伝子変異を有することが報告されており、単一の治療標的を見出すことは困難であると考えられる。一方、ほとんどの症例で、病理組織学的に「腫瘍間質の線維化」という共通した所見が認められる。癌組織に共存する線維化は、癌の進展をサポートしていると考えられているが、肝臓や膵臓における線維化の責任細胞である筋線維芽細胞については不明な点が多い。本研究では、線維化を伴う肝内胆管癌と膵癌について、筋線維芽細胞が癌細胞、間質細胞、免疫細胞にどのように作用し、癌の進展をサポートしているのかを解析することにより、新たな治療法を見出すことを目的とした。

3. 研究の方法

肝内胆管癌の約 70 例の臨床検体について、病理組織学的解析、免疫組織学的解析、凍結組織を用いた遺伝子発現解析を行い、臨床情報と比較検討を行った。線維化の評価は、パラフィン切片のシリウスレッド染色を行うことにより評価した。さらに偏光顕微鏡を用いて、線維部の主な構成成分であるコラーゲンについて type 1 と type 3 のサブタイプの解析を行った筋線維芽細胞、免疫細胞について、各細胞の特異的マーカーを指標に、免疫組織学的染色や RRT-PCR による遺伝子発現解析によって、組織への浸潤の有無とその多寡を評価した。

4. 研究成果

癌組織における線維化が高度であるほど予後が良好である傾向が認められた。これは、当初の仮説とは逆の結果であった。一方、背景の非癌部については、線維化が高度であるほど予後が不良であった。筋線維芽細胞の浸潤と線維化に相関が確認され、さらに免疫細胞の中で制御性 T 細胞の浸潤が多いほど予後が不良であることが見いだされた。一般的に癌部の CD8 陽性細胞が予後

の指標と考えられているが、CD8 陽性 T 細胞よりも制御性 T 細胞のほうが関連が強い結果であった。また、線維部位のコラーゲンのサブタイプ解析の結果、癌部は非癌部と比較して type 1 の割合が高かった。非癌部の type 1 と癌部への制御性 T 細胞の浸潤に相関見られたことから、筋線維芽細胞が免疫細胞の応答性に影響を与え、予後に寄与する可能性が示唆された。

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 2件）

1. 著者名 Tomoaki Yoh, Etsuro Hatano, Yosuke Kasai, Hiroaki Fuji, Kiyoto Nishi, Kan Toriguchi, Hideaki Sueoka, Mikiko Ohno, Satoru Seo, Keiko Iwaisako, Kojiro Taura, Rina Yamaguchi, Masato Kurokawa, Jiro Fujimoto, Takeshi Kimura, Shinji Uemoto and Eiichiro Nishi	4. 巻 25
2. 論文標題 Serum Nardilysin, a Surrogate Marker for Epithelial-Mesenchymal Transition, Predicts Prognosis of Intrahepatic Cholangiocarcinoma after Surgical Resection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 619-628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-0124.	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 Yoshinobu Ikeno, Satoru Seo, Keiko Iwaisako, Tomoaki Yoh, Yuji Nakamoto, Hiroaki Fuji, Kojiro Taura, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, Shimon Sakaguchi and Shinji Uemoto	4. 巻 16
2. 論文標題 Preoperative metabolic tumor volume of intrahepatic cholangiocarcinoma measured by 18F-FDG-PET is associated with the KRAS mutation status and prognosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-018-1475-x	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 Ikeno Y, Seo S, Iwaisako K, Yoh T, Nakamoto Y, Fuji H, Taura K, Okajima H, Kaido T, Sakaguchi S, Uemoto S	4. 巻 16
2. 論文標題 Preoperative metabolic tumor volume of intrahepatic cholangiocarcinoma measured by 18F-FDG-PET is associated with the KRAS mutation status and prognosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Transl Med.	6. 最初と最後の頁 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-018-1475-x.	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 2件）

1. 発表者名 Hiroaki Fuji, Keiko Iwaisako, Masataka Asagiri, Satoru Seo, Kojiro Taura, Toshimi Kaido, Hideaki Okajima and Shinji Uemoto
2. 発表標題 Effort toward clinical application of cancer immunotherapy against intrahepatic cholangiocarcinoma.
3. 学会等名 8th International Forum of Liver Surgery (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Fuji, Keiko Iwaisako, Masataka Asagiri, Satoru Seo, Kojiro Taura, Toshimi Kaido, Hideaki Okajima and Shinji Uemoto
2. 発表標題 The involvement of regulatory T cells for intrahepatic cholangiocarcinoma in cancer immunity.
3. 学会等名 The 53rd Congress of the European Society for Surgical Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤 浩明、祝迫 恵子、朝霧 成拳、瀬尾 智、田浦 康二郎、海道 利実、岡島 英明、坂口 教子、坂口 志文、上本 伸二
2. 発表標題 肝内胆管癌に対する癌免疫療法の臨床応用にむけた取り組み
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018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