

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：84409

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16354

研究課題名（和文）膵癌治療で有用な治療耐性膵癌患者を同定するバイオマーカーの確立

研究課題名（英文）To investigate the useful biomarker gene for the management of pancreatic cancer.

研究代表者

山田 大作（Yamada, Daisaku）

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪国際がんセンター（研究所）・その他部局等・消化器外科医長

研究者番号：60571396

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）：膵癌の治療耐性を獲得する症例を同定できるバイオマーカーの同定を目的とした、再発治療抵抗性に関して後方視的検討を行い、再発部位が肝転移であった症例は治療抵抗性を示し、一方で肺転移再発の症例は治療の反応性が比較的良好であることを証明した。そこで、肝転移再発症例および肺転移再発症例の手術後血清サンプルを用いてmicroRNAの網羅的遺伝子発現検査を行い、治療抵抗性のちがう膵癌のバイオマーカー候補遺伝子としてmiR26aを同定した。末梢血中でmiR26aは肺転移症例で高く、肝転移症例では術前治療後低く、標本で標的蛋白発現がmiR26aの発現と逆相関していることから癌部と相関があることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の過程で、1本の英文論文（Surg Today 2018）、1回の国内学会発表（第78回日本癌学会総会）を行った。腫瘍転移部位と予後の報告はほぼ同時期に相次いで報告され（Ann Surg 2018, Ann Surg 2018）社会的意義が大きいと思われた。一方同定した遺伝子は腫瘍特性把握に重要であったが、バイオマーカーとして本来の目的と合致しなかった。肝転移が予後不良であることから、門脈血サンプルを加えてさらなる検討を行う予定である。本研究は現時点で元来の目的達成までは到達できていないが、次の研究の礎へと繋がる研究となっており、学術的意義も大きかったと考えている。

研究成果の概要（英文）：The site of metastasis (lung/ liver) was dependent on the oncological phenotype of the pancreatic cancer (PC) in the primary site, and the aim of this study was to detect the candidate biomarker gene predicting the tumor phenotype using blood gene samples. The site of metastasis after surgery was investigated in 138 patients with PC whether the patients' prognosis were related to, and the prognosis of patients who developed liver metastasis were dismal compared to those with lung metastasis. Six patients with PC which developed liver or lung metastasis after surgery were investigated, and a microarray analysis for microRNA (miR) was performed, and the analysis detected miR-26a-5p as a candidate gene. The set of expressions, the candidate miR expression in serum and the target expression in resected specimen in 25 PC patients. Both less expression of miR-26a-5p and high expression of ITGA5 indicated liver metastasis.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵癌 リキッドバイオプシー microRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

通常型膵臓癌(以下、膵癌)は、5年生存率が7%と報告される予後不良な難病疾患である[1]。進行した状態で診断される症例が全体の80%程度であること、手術可能な症例であっても術後再発が80%と非常に高率に認められることが原因と考えられている。このため、近年の膵癌の標準治療戦略としては手術を主軸とした集学的治療がとられているが[2]一定の治療効果を示す一方で、個別化が進まない現在の画一的な治療戦略ではその効果には限界がある。膵癌治療が、当初は有効であったにも関わらず、続けていくことで有効ではなくなっていく原因として、癌細胞の治療耐性獲得が関与していると考えられる[3-6]。こうした治療抵抗性獲得のしやすい症例を予測できるのであれば、そうした症例を選別してより強力な抗癌剤治療を、場合によっては術前から行う必要があると考えられる。

2. 研究の目的

治療効果を予測する有用なバイオマーカーを開発することを本研究の目的とし、癌のリキッドバイオプシーとして注目を集めている血中のmicroRNAを検討し、目的に有用なバイオマーカーとなるものがあるかを調査した。

3. 研究の方法

以下の項目について順次検討を行い、候補遺伝子を同定する。

(1) 保存している治療前後血清を用いて候補遺伝子を同定する。

再発した症例およびしなかった症例に分けて治療前血清および手術後血清のペアからmicroRNAを抽出し、網羅的遺伝子比較を用いて比較し、有用な遺伝子を同定する。

(2) 同定した候補遺伝子が実際に診断能をもつかについて検証する

(1)で同定した候補遺伝子について、手術症例を用いて検証を行う。マイクロアレイに用いたサンプルとは別の治療前・手術後血清中の候補遺伝子の発現を調べ、標的遺伝子の発現について切除標本を用いて評価し検証を行う。

4. 研究成果

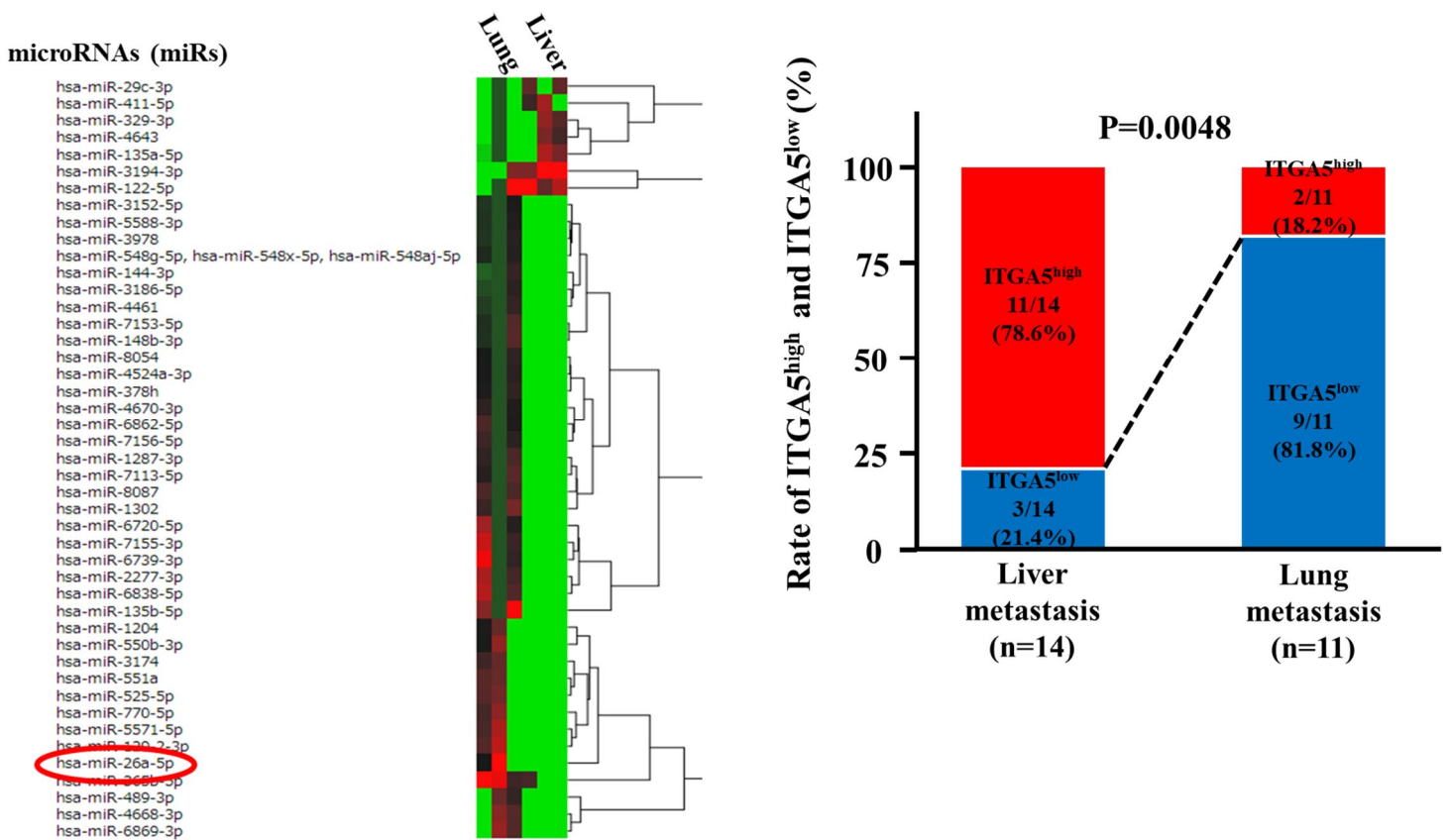
(1) 保存している治療前後血清を用いて候補遺伝子を同定した。

再発形式の違いによる治療反応性の違いを比較検討したところ、再発後の平均生存期間が最も長い肺転移(14.9ヶ月)と最も短い肝転移(8.9ヶ月)には再発後生存期間に有意な差があり、再発部位が肝転移であった症例は治療抵抗性を示し、一方で肺転移再発の症例は治療の反応性が比較的良いことが示され[7]、さらにほぼ同時期に同様の報告が相次いだ[8, 9]。そこで、術後血中microRNAの比較を行うことで、各転移をきたす癌細胞に関与したバイオマーカーを検索できると考え、肝転移した症例と肺転移した症例の再発形式別で分けた血中microRNAの網羅的解析を行った。この結果いくつかの候補遺伝子が抽出できた(下左図)。この中でmiR26a-5pはインテグリンの1種であるITGA5を標的遺伝子として肝転移に関わることが知られており[10]、腫瘍特性把握に重要となる可能性が考えられた。

(2) 同定した候補遺伝子の検証。

(1)の結果から注目したmiR26a-5pについて、同遺伝子の発現が高い症例では、ITGA5の発現が抑制され、再発形式としては肝転移が少なく肺転移が多いのかについて検証を行った。(下右図)結果としてITGA5の発現が低い症例では、肝転移再発が少なく肺転移再

発が多いことを証明した .



転移形式によって術後膵癌患者血中 microRNA の発現は確かに大きく変化しているものがあり , miR26a は腫瘍特性把握に重要であった . しかし , バイオマーカーとしては発現の低下が肝転移を示唆しており , 有用なバイオマーカーとして臨床応用するのは困難であった . 現在までの結果は , 腫瘍関連の研究報告から候補遺伝子を絞り込む形であったが , 大きく変化している遺伝子の中には転移先臓器で反応したのものがある可能性は高く , 臓器の同定という意味では他にも有望な遺伝子を同定できる可能性は高い . しかし一方で肝転移に関与するバイオマーカーの同定という意味では門脈血サンプルを加えて検討するほうがより腫瘍の影響を反映すると考えられた . パイロットスタディとして門脈血サンプルを加えた検討を行ったところ膵癌患者における門脈血の miR 発現は末梢血の発現と大きく違うことが証明されたため , 今後さらなる症例で門脈血を採取し , 予後情報確認後バイオマーカーを検討し , 基礎実験へ進む予定である .

結語

予後不良な難病の一つである膵癌治療向上のため , 再発形式別に採取した血液サンプルを用いて血中遺伝子検索をしたところ , 再発に関わる遺伝子の同定に成功した .

< 引用文献 >

1. Eguchi, H., et al., *Prolonged Neoadjuvant Therapy for Locally Advanced Pancreatic Cancer*. Dig Surg, 2018. **35**(1): p. 70-76.
2. Satoj, S., et al., *Role of adjuvant surgery for patients with initially unresectable pancreatic*

- cancer with a long-term favorable response to non-surgical anti-cancer treatments: results of a project study for pancreatic surgery by the Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery.* J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2013. **20**(6): p. 590-600.
3. Yamada, D., et al., *Role of crosstalk between interleukin-6 and transforming growth factor-beta 1 in epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance in biliary tract cancer.* Eur J Cancer, 2013. **49**(7): p. 1725-40.
 4. Nakashima, S., et al., *BRCA/Fanconi anemia pathway implicates chemoresistance to gemcitabine in biliary tract cancer.* Cancer Sci, 2015. **106**(5): p. 584-91.
 5. Sakamoto, T., et al., *A Histone Deacetylase Inhibitor Suppresses Epithelial-Mesenchymal Transition and Attenuates Chemoresistance in Biliary Tract Cancer.* PLoS One, 2016. **11**(1): p. e0145985.
 6. Tomihara, H., et al., *MicroRNA-181b-5p, ETS1, and the c-Met pathway exacerbate the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma after radiation therapy.* Cancer Sci, 2017. **108**(3): p. 398-407.
 7. Yamada, D., et al., *The investigation of the survival time after recurrence in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma for individualization of adjuvant chemotherapy.* Surg Today, 2018. **48**(10): p. 952-962.
 8. Groot, V.P., et al., *Patterns, Timing, and Predictors of Recurrence Following Pancreatectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.* Ann Surg, 2018. **267**(5): p. 936-945.
 9. Groot, V.P., et al., *Defining and Predicting Early Recurrence in 957 Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma.* Ann Surg, 2018.
 10. Zaidel-Bar, R., et al., *Functional atlas of the integrin adhesome.* Nat Cell Biol, 2007. **9**(8): p. 858-67.

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 0件）

1. 著者名 Yamada Daisaku, Eguchi Hidetoshi, Iwagami Yoshifumi, Asaoka Tadafumi, Noda Takehiro, Kawamoto Koichi, Gotoh Kunihito, Kobayashi Shogo, Mori Masaki, Doki Yuichiro	4. 巻 48
2. 論文標題 The investigation of the survival time after recurrence in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma for individualization of adjuvant chemotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 952 ~ 962
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-018-1674-3	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Go Shinke, Daisaku Yamada, Hidetoshi Eguchi, Yoshifumi Iwagami, Yoshito Tomimaru, Hirofumi Akita, Takehiro Noda, Kunihito Gotoh, Shogo Kobayashi, Masaki Mori, Yuichiro Doki
2. 発表標題 Is the site of metastasis after surgery for pancreatic cancer predicted by the preoperative sample?
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----