

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08362

研究課題名(和文) 微小環境トランスクリプトームによるヒト膵癌理解と治療最適化戦略の確立

研究課題名(英文) Analysis of transcriptome in the tumor microenvironment to explore the pathogenesis and new treatment strategies of human pancreatic cancer.

研究代表者

濱田 毅 (Hamada, Tsuyoshi)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90723461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌組織では、腫瘍細胞と取り巻く細胞が複雑なネットワークを構成し、また膵癌組織も細胞レベルでは不均一であり、これらの因子が癌細胞増殖と治療抵抗性を誘導する。このネットワークの理解が膵癌患者の予後改善に重要である。多施設での組織検体を用いて、膵癌発生に関連する主要な遺伝子変異であるKRAS変異を評価した。膵癌組織において、KRAS変異をもつ細胞の割合が高いほど術後の再発率が高く、生存予後が不良であることを示した。遺伝子の発現解析(RNA解析)や、免疫染色によるタンパク発現の評価を進めており、今後は、使用薬剤、嗜好品などの疫学情報も統合した解析で、膵癌患者の治療を最適化する方法を提案していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多施設での組織検体を用いて、膵癌発生に関連する主要な遺伝子変異であるKRAS変異を評価し、膵癌組織においてこの遺伝子変異をもつ細胞の割合が高いほど術後の再発率が高く、生存予後が不良であることを示した。この新たなバイオマーカー(予測因子)の発見により、より集学的な治療を要する膵癌患者の一群を同定し、今後の治療法開発や個別化治療への発展に寄与する結果を得た。現在、その他の因子(遺伝子の発現や、タンパク発現)の評価を進めており、さらに複合的なデータに基づいて膵癌患者の治療戦略をより良いものとするを旨とする。

研究成果の概要(英文)：The microenvironment of pancreatic cancer consists of tumor cells and a variety of cells in the surrounding stroma. In addition to this immunosuppressive tumor microenvironment, intratumor heterogeneity can lead to progression of tumor cells and treatment resistance. A better understanding of the dynamic network in the tumor microenvironment would help us to improve treatment strategies and prolong survival of patients with pancreatic cancer. Utilizing a multi-institutional cohort of patients with pancreatic cancer, we have shown that KRAS variant allele frequency is inversely associated with recurrence-free and overall survival times. We now conduct gene expression analyses based on profiling of protein and RNA expressions. We will further integrate data on epidemiological factors (common medications, smoking, etc.) into our molecular database and aim to improve prognosis of pancreatic cancer patients through personalizing treatment strategies.

研究分野：膵癌の疫学

キーワード：膵癌 ヒト

1. 研究開始当初の背景

膵癌は豊富な線維性間質による Desmoplasia をその病理学的特徴とする。膵癌腫瘍組織の大部分を占める活性化したがん随伴性線維芽細胞 (CAF) や免疫細胞などの間質系細胞と、産生される膠原線維や増殖因子が腫瘍促進的な微小環境を構成し、膵癌細胞自体の増殖のみならず各種治療に対する抵抗性を誘導する。例えば Gemcitabine+nab-Paclitaxel の併用化学療法においても、nab-Paclitaxel による間質阻害作用を通して腫瘍内 Gemcitabine 濃度が増加することが抗腫瘍効果に寄与すると考えられている。しかしながら一方、遺伝子改変マウスモデルにおける間質の完全除去が膵癌細胞の増殖を逆に活性化したとの相反する知見や、Hh シグナル阻害薬による間質を標的とした臨床試験の不成功などの報告もあり、間質組織の膵癌における役割・重要性についてはまだまだ未解明な点が多い。

解析技術の進歩に伴って単一細胞レベルでのシーケンス・発現解析すら可能となり、例えばヒトの各臓器構成細胞の分子学的プロファイル、さらには加齢など様々な条件下における体細胞の遺伝子発現の不安定化や変異の蓄積についても 1 細胞レベルで解析が可能となった。同時に様々な腫瘍組織を構成する細胞プロファイルについても解析が行われ、各構成細胞の発現プロファイルを基に腫瘍細胞と間質系細胞からなる細胞系譜の全貌を可視化することが可能となった。さらには同じ細胞系譜、たとえば腫瘍内の線維芽細胞についても発現プロファイルの違いから異なる形質と生物学的意義を持つ subpopulation に層別化可能であることが提唱された。

膵癌においても腫瘍細胞の不均一性 heterogeneity はそのサブタイプの違いや薬剤感受性などにも関わることから重要な研究課題である。同時に単一細胞レベルでのシーケンス・発現解析まで可能となった解析技術は、癌細胞以外の間質細胞プロファイルについての多様性をも浮き彫りにしつつある。

2. 研究の目的

本研究では膵癌細胞のみならず腫瘍随伴線維芽細胞 CAF の多様性と臨床情報との相関を検討する。多数の膵癌症例ごとの膵癌細胞および CAF の遺伝子学的・分子学的クラスターと原発組織の病理学的特性および疫学的・臨床データを統合し、相互の相関を解析することで包括的なヒト膵癌の理解を目指す。

3. 研究の方法

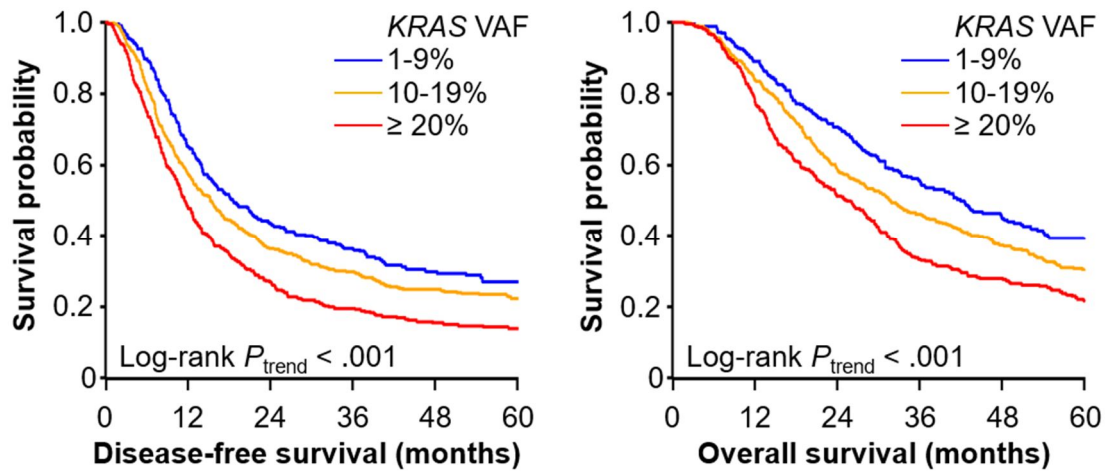
今のところヒト膵腫瘍組織における膵癌細胞および CAF のサブタイプの多様性が、腫瘍の悪性度のみならず最終的な臨床経過にどう影響するかは明らかではない。またその症例ごとの CAF の多様性・不均一性が生じる原因として、何らかの疫学的な背景が関与しているのかどうかについても検証されてはいない。

よって研究者の所属する施設を含めた多施設での膵癌患者の臨床組織検体コホートを用いて研究を行う。まずは膵癌における主要なドライバー遺伝子変異である KRAS 変異を ddPCR で解析する。また RNA 発現解析や、免疫染色による CAF や免疫細胞マーカーを症例ごとに検討する。同時に対応する症例の治療予後などの臨床情報、使用薬剤、嗜好品などの疫学的情報も統合的にデータベース化し、お互いの相関関係を検討することで、いわゆる膵癌の分子・病理・疫学の統合解析 (MPE 解析) を推進する。

4. 研究成果

まずは異なる癌前駆細胞から発生した異なるサブタイプからなる約 30 例の膵癌症例の遺伝子変異および RNA 発現解析を行った。その結果、それぞれに特異的な遺伝子変異パターンが確認できた。さらには RNA 発現によりサブタイプに応じた層別化が可能であり、特異的な分子標的を探索可能であることを確認し、報告した (Gastroenterology PMID34953915)。

さらに本研究では多数例での検討として、多施設共同による約 1400 例のコホートを集積し、KRAS 遺伝子解析、および様々なマーカー遺伝子についての免疫組織学的検討を行った。まずは KRAS 遺伝子変異およびその遺伝子増幅について検討し、その結果、KRAS の変異の有無ではなく、変異例における variant allele frequency (VAF) が、膵癌術後の無再発生存期間および全生存期間と相関するという結果を得た (in submission)。これは、KRAS の VAF の biomarker の有用性を示唆する結果である。



併せて膵癌の不活性型遺伝子変異のサロゲートとして P16 や SMAD4 の欠損、あるいは P53 異常蓄積についても解析中である。また同時に細胞の表面マーカーなどの発現の検討を進めている。具体的に染色している分子は各種 CD 抗原などの免疫細胞マーカー（例：CD3, CD4, CD8 および Foxp3, CTLA4, PD-1, CD45R など）CAF の活性化マーカーである。上記の約 1400 例のコホートについては様々な臨床情報も順調にデータベース化を済ませており、今後様々な分子学的情報との統合による研究成果を報告予定である。

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
研究分担者	立石 敬介 (Tateishi Keisuke) (20396948)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究分担者	中井 陽介 (Nakai Yousuke) (80466755)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	

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