

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：82654

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17391

研究課題名（和文）IDH変異に伴う肝内胆管発癌プロセスの包括的解明

研究課題名（英文）Comprehensive elucidation of intrahepatic biliary carcinogenesis induced by IDH mutations

研究代表者

藤原 弘明 (Fujiwara, Hiroaki)

公益財団法人朝日生命成人病研究所・その他部局等・教授（移行）

研究者番号：00814500

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）：クロマチンリモデリング関連遺伝子の変異、及びホスファチジルイノシトール3-キナーゼ経路（PI3K）の異常をIDH1変異と組み合わせることで、正常肝内胆管上皮細胞から胆管癌に至る多段階的発癌モデルを作成することに成功した。今後は、IDH1変異のプロファイルによって形成されるモデルの組織像が異なるという点に着目し、網羅的遺伝子発現解析等の手法によりその背景にある分子メカニズムの解析へと計画を進めていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、がん遺伝子パネル検査が保険適応となるなど、がん治療の個別化に向けた潮流は顕著になりつつある。基本的な戦略は各患者ごとに異なる癌固有の遺伝子変異に即した治療を行う、という方向性になるが、残念ながら現状ではそのような治療を享受することの出来る患者は1割程度と少ない。IDH変異は肝内胆管癌の約20%に存在する変異であるが、変異陽性癌に対する有効な治療法は目下確立されていない。本研究の成果により、その発癌に至るメカニズムを解明することが出来れば、IDH変異特異的に有効な治療法の開発へと繋げていくことが期待される。

研究成果の概要（英文）：By combining mutations in chromatin remodeling-related genes and abnormalities in the phosphatidylinositol 3-kinase pathway with IDH1 mutation, we succeeded in creating a multi-step carcinogenesis model from normal intrahepatic biliary epithelial cells to cholangiocarcinoma. As the next step, focusing on the histological differences between the IDH-wildtype models and IDH-mutant ones, we will plan to elucidate the molecular mechanism by several methods including comprehensive gene expression analysis.

研究分野：胆道疾患

キーワード：胆管癌 代謝 エピゲノム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH)1/2 は、細胞内でイソクエン酸を α -ケトグルタル酸 (α -KG) に変換する酵素である。 α -KG は DNA やヒストンの脱メチル化酵素の活性を調節する重要なメタボライトであり、遺伝子発現に影響する。変異型 IDH は、野生型が産生した α -KG を、変異特異的代謝産物である 2-ヒドロキシグルタル酸 (2-HG) に変換するが、2-HG は前述の α -KG 依存性酵素群の活性を阻害するため、エピゲノム異常を誘発し発癌に寄与する oncometabolite と称する論文もある (Cancer Cell. 2011 18;19(1):17-30)。

胆管癌における IDH 変異はユニークな疫学的特徴を有する。変異陽性胆管癌は全て肝内に限局する ICC であり、肝外胆管癌には認めない (Nat Genet. 2015;47(9):1003-10)。また、ICC のリスクファクターである肝吸虫症やウイルス性肝炎の陰性例に特異的に見出される (Nat Commun. 2015;6:6120)。また共存する変異遺伝子も限られており、逆に KRAS 変異や TP53 変異とは相互排他的であることから、IDH 自身のドライバー変異としての重要性が示唆されている (Clin Cancer Res. 2018;24(17) 4154-4161)。

しかしながら、この変異が与える生物学的作用の多様性と標的となるクロマチン制御および代謝の動的変化の複雑性を含め、いまだ IDH1/2 変異陽性癌の特性には不明な点も多い。また癌種によってもその臨床学的特徴が異なることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では IDH 変異が単独あるいは共存する遺伝子異常と協調することにより正常肝内胆管からの発癌にどのような意義を持つのか、その重要性を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

正常マウス肝より樹立したマウス肝内胆管細胞へ、IDH1 変異の他、クロマチンリモデリング関連遺伝子の変異や、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) シグナル異常を組み合わせて導入し、ヌードマウス皮下へ移植することで、腫瘍形成能や形成される腫瘍の組織像について解析した。標的細胞への遺伝子導入については、組み換えレンチウイルスを利用し、抗生剤 (ハイグロマイシン、ピューロマイシン) 耐性により安定発現株のみを選択した。

4. 研究成果

まず、野生型 IDH1 発現胆管細胞と変異型 IDH1 発現胆管細胞へ、幾つかのクロマチンリモデリング関連遺伝子異常を単独で追加導入したところ、IDH1 変異との共存によりオートファジーの亢進や鉄代謝の亢進といった、興味深い変化を示した。しかしながら、ヌードマウス皮下腫瘍の形成には至らなかった。エピゲノム異常の蓄積を期待し、長期継代株 (20 回以上、約半年間) での検討も行ったが結果は不変であった。

続いて、PI3K シグナル経路の異常として Pten KO を組み合わせたところ、変異型及び野生型 IDH1 発現胆管細胞はヌードマウス皮下への腫瘍形成能を示したものの、形成効率が低く (3-10%) 実験モデルとしての利用を継続していくことは困難が予想された。

③そこで Pten KO に加え、で検討したクロマチンリモデリング関連遺伝子を複数組み合わせで導入したところ、変異型及び野生型 IDH1 発現胆管細胞はいずれも高いヌードマウス皮下腫瘍形成能を獲得した (60-80%)。これら形成された皮下腫瘍の組織像を解析したところ、単層の胆管上皮組織から、重層化した異型上皮、更には上皮内癌 BillN (biliary intraepithelial neoplasia)-3 を形成するもの、一部ではあるが胆管癌を形成するものまで、幅広く発癌の各段階を模した構造を呈していた (図 A、B)。また、野生型 IDH1 発現胆管細胞由来の腫瘍と比較して、変異型 IDH1 発現胆管細胞由来の腫瘍は、形成された癌や非癌部上皮における細胞異型及び構造異型が強く、IDH1 変異の有する発癌ドライバーとしての性質を反映した結果と考えられた (図 B)。

今後は、本プロジェクトにより樹立に成功した変異 IDH1 陽性肝内胆管癌の多段階的発癌モデルを利用し、その分子生物学的メカニズムの解明及び有効な治療標的分子の同定へと計画を進めていく予定である。

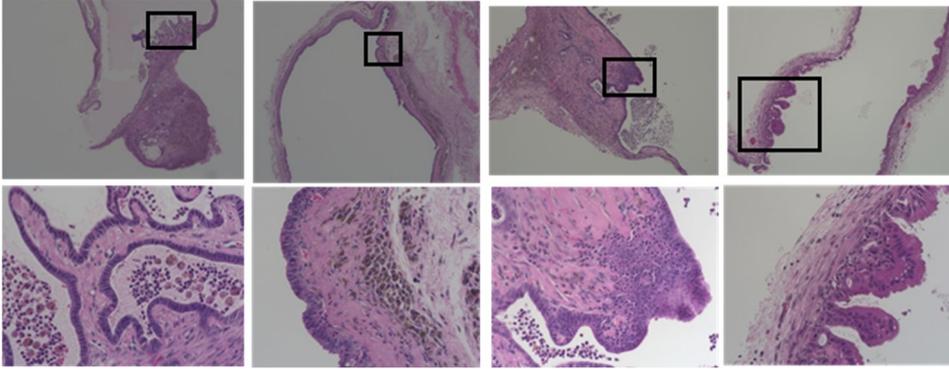


図 A : 形成された皮下腫瘍の組織像

左端及び中央左側 : IDH1 野生型、右端及び中央右側 : IDH1 変異型

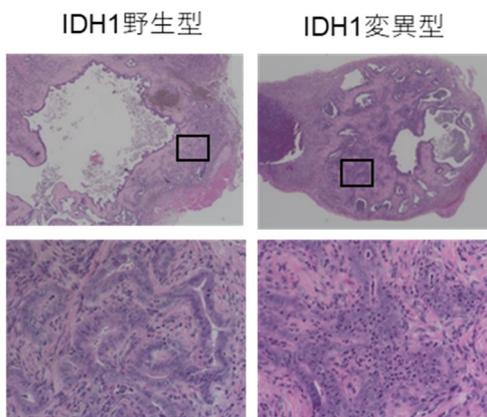


図 B :

形成された胆管癌の IDH1 変異プロファイルによる組織像の差異

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Fujiwara H, Takahara N, Tateishi K, Tanaka M, Kanai S, Kato H, Nakatsuka T, Yamamoto K, Kogure H, Arita J, Nakai Y, Kasuga M, Ushiku T, Hasegawa K, Koike K	4. 巻 35
2. 論文標題 5-Aminolevulinic acid-mediated photodynamic activity in patient-derived cholangiocarcinoma organoids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 484-490
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.suronc.2020.10.011	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 Fujiwara Hiroaki, Tateishi Keisuke, Misumi Kento, Hayashi Akimasa, Kato Hiroyuki, Nakatsuka Takuma, Suzuki Nobumi, Hayakawa Yoku, Nakagawa Hayato, Tanaka Yasuo, Ijichi Hideaki, Kogure Hirofumi, Nakai Yosuke, Isayama Hiroyuki, Hasegawa Kiyoshi, Fukayama Masashi, Soga Tomoyoshi, Koike Kazuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Mutant IDH1 confers resistance to energy stress in normal biliary cells through PFKP-induced aerobic glycolysis and AMPK activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-55211-w	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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤原弘明、高原楠晃、小池和彦
2. 発表標題 患者由来オルガノイドを用いた胆管癌診断における5-アミノレブリン酸の有用性の検討
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 藤原弘明、立石敬介、小池和彦
2. 発表標題 胆道癌ゲノム医療に向けたIDH変異陽性肝内胆管癌の標的分子に関する基礎的検討
3. 学会等名 第55回日本胆道学会学術集会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 藤原弘明、三角健人、林玲匡、加藤裕之、中塚拓馬、田中康雄、伊地知秀明、深山正久、曾我朋義、小池和彦
2. 発表標題 肝内胆管上皮におけるIDH1変異の機能的役割
3. 学会等名 第56回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Hiroaki Fujiwara, Keisuke Tateishi, Hiroyuki Kato, Takuma Nakatsuka, Yasuo Tanaka, Hideaki Ijichi, and Kazuhiko Koike
2. 発表標題 Increased susceptibility to BET inhibition in IDH1-mutant intrahepatic cholangiocarcinoma.
3. 学会等名 Digestive Disease Week (DDW) 2019
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 藤原弘明、高原楠昊、中井陽介、立石敬介、春日雅人、小池和彦
2. 発表標題 ヒト臨床検体由来オルガノイドを利用した、5-アミノレブリン酸による胆管癌の光線力学的診断の可能性についての検討
3. 学会等名 第31回日本光線力学学会学術講演会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 金井祥子、藤原弘明、藤城光弘
2. 発表標題 患者組織検体を用いた原発性硬化性胆管炎における特異的分子病態の探索
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Hiroaki Fujiwara, Keisuke Tateishi, Hiroyuki Kato, Takuma Nakatsuka, Keisuke Yamamoto, Yotaro Kudo, Kiyoshi Hasegawa, Tomoyoshi Soga, Kazuhiko Koike and Mitsuhiro Fujishiro
2. 発表標題 Mutant IDH1 creates the tumorigenic precondition in biliary cells through PFKP-induced aerobic glycolysis and AMPK activation
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2022
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 藤原弘明、高原楠昊	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 3ページ
3. 書名 Medical Practice	

〔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
---------	---------