

膵臓癌はなぜ初期診断時に既に手遅れなのか

～癌免疫療法改善策の分子メカニズムの解明～

ポイント

- ・ 難治性癌である膵臓癌において、「発癌」と「浸潤や転移」が同時に進行するメカニズムを解明。
- ・ モデルマウスを用いた動物実験により、ARF6 経路が癌免疫回避に大きく関与することを発見。
- ・ 遺伝子変異がもたらす ARF6 経路メカニズムの解明により、今後の癌免疫治療の進展が期待。

概要

北海道大学大学院医学研究院分子生物学教室の佐邊壽孝教授、消化器外科学教室 II の平野 聡教授らの研究グループは、膵臓癌（膵癌）の悪性度進展と癌免疫回避¹に関する分子メカニズムの解明に成功しました。現在、癌免疫療法は大きな脚光を浴びていますが、その適用範囲や効果はまだまだ限定的です。今回の研究成果は、膵癌だけでなく、多くの癌に対する免疫治療改善に大きく貢献する分子的基盤を示しています。

膵癌は、見つかった時には既に局所浸潤²や転移を起こしていることが多く、5年生存率³は10%以下の難治性癌です。佐邊教授らの研究グループはこれまで癌の浸潤転移や悪性度を駆動する分子メカニズムに関する研究を行っており、その成果として、ARF6⁴と呼ばれるタンパク質とその関連因子群が形成するシグナル経路を明らかにしています。この経路の成り立ちや活性に関する分子生物学的研究を推し進めた結果、今回、KRASとTP53と呼ばれる2つの代表的癌遺伝子変異が関与していることを突き止めました。これらの2つの癌遺伝子変異は、多くの膵癌で同時に見つかることが知られています。今回の研究成果は、多くの膵癌において「発癌」と「浸潤や転移」が同時に進行することを明らかにし、このような膵癌特有の性質がその治療を困難にしていることを示しています。

膵癌に関するマウスモデルは世界中で使われており、このモデルは膵臓のKRASとTP53の両遺伝子に変異を有し、KPCマウスと呼ばれます。今回、このマウスモデルを使って、KPC膵癌細胞はARF6経路を介して浸潤・転移を起こしていること、及びARF6経路が癌免疫回避の根本であることを明らかにしました。このことは、KRASとTP53の変異が同時に起こることが癌の免疫回避に大きく関与することを示しています。ARF6経路の活性化には特定の代謝活性が必須であることも明らかにし、この代謝経路をはじめ、幾つかの異なった分子標的の阻害によって癌細胞の免疫回避能を著しく低下させることが可能であることも実験的に立証しました。

本研究は、文部科学省（新学術研究）、科学研究費補助金（基盤研究）、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）、上原記念生命科学財団、鈴木謙三記念医科学応用研究財団、住友財団基礎科学研究助成、住友電工グループ社会貢献基金、寿原記念財団、小野がん研究助成基金などからの支援を受けて行われました。

なお、本研究成果は、米国東部時間2019年8月5日（月）の週公開のProceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America誌にされました。

【背景】

難治性癌である膵癌の5年生存率は10%以下であり、多くの場合は診断時に局所進行^{*5}や遠隔転移が認められ、抗癌剤抵抗性も高く予後不良です。膵癌は多くの場合は膵管上皮に由来し、*KRAS*変異と*TP53*変異が代表的なドライバー変異^{*6}です。これまでの動物実験から、*KRAS*変異と*TP53*変異とによって膵管癌の浸潤転移性が獲得されることが示唆されていますが、その分子実態は明らかではありません。

研究グループは、過去に低分子量G蛋白質ARF6を基軸とする経路（ARF6-AMAP1経路）が、乳癌等の様々な癌種の浸潤転移等の悪性度進展に関与していることを明らかにしています。さらに、乳癌においては、*TP53*変異がメバロン酸代謝経路^{*7}を介してARF6-AMAP1経路を活性化し、本経路の活性化により乳癌の悪性度進展に関与していることを見出しています。本研究では、ARF6-AMAP1経路が*KRAS*変異と*TP53*変異を有する膵癌の悪性度にも関与していると考え、その仮説の検証とメカニズムの解明を行いました。

【研究手法】

ヒト膵癌細胞株及び膵癌モデルマウス由来の細胞を用いて、ARF6-AMAP1経路因子の発現及び浸潤転移性の解析、ヒト膵癌組織を用いた組織染色により予後との関連について解析を行いました。また、ヒト膵癌細胞株MIAPaCa-2を用いたショ糖密度勾配遠心法による分画法、in vitro translationによるtranslationに関する評価、TCGA^{*8}及びRNA-seq解析^{*9}によるARF6の発現に関わる転写因子の同定を行いました。引き続き、MIAPaCa-2細胞を用いてIFN γ 刺激を行うことにより免疫チェックポイント分子PD-L1の発現を誘導し、PD-L1の細胞内動態及びリサイクリングの解析を行いました。動物実験では、膵癌モデルマウス由来の膵癌細胞をマウスの皮下に移植し、腫瘍増殖能を解析することにより、免疫回避との関連について解析を行いました。

【研究成果】

ヒト膵癌細胞株及び膵癌モデルマウス由来の細胞においてARF6-AMAP1経路因子が高発現し、浸潤転移性等、膵癌の悪性度に関与していることを見出しました。病理標本解析からも、ARF6-AMAP1経路因子群の発現が高くなることにより膵癌悪性予後因子となることを見出しています。ARF6-AMAP1経路因子と膵癌の悪性度に関する分子メカニズムを解析した結果、膵癌のドライバー遺伝子*KRAS*変異と*TP53*変異が協調してARF6-AMAP1経路の発現を高くさせ活性化することを見出しました。その際、*KRAS*変異は翻訳開始因子eIF4Aが依存的にARF6の発現に関与していること、翻訳開始因子eIF4Eが依存的にAMAP1の発現に関与していることを明らかにしました。一方、*TP53*変異は膵癌においてもメバロン酸代謝経路を介してARF6経路を活性化することを明らかにしました。このように、膵癌モデルマウス由来の細胞を用いた動物実験において、ARF6-AMAP1経路が膵癌の免疫逃避に根本的であることを示す結果を得ました。さらに、免疫逃避に関わる免疫チェックポイント分子PD-L1動態にもARF6経路の活性化が深く関与していることを見出しました。

これらの結果から、膵癌のドライバー変異がARF6-AMAP1経路を高発現活性化することにより、浸潤転移等の膵癌の悪性度進展を促進すること、さらにARF6-AMAP1経路はPD-L1の細胞内動態にも関わり、免疫回避を駆動していることが明らかとなりました。

【今後への期待】

難治性膵癌は5年生存率が低く、新たな治療法の創出が待たれています。また、免疫チェックポイント阻害による治療法の大きな課題として、有効性を評価するバイオマーカーがまだ特定されていないことが挙げられます。本研究成果は、ARF6-AMAP1経路が膵癌の免疫チェックポイント阻害による治療法のバイオマーカーになる可能性を示唆しており、また、ARF6-AMAP1経路阻害と免疫チェックポイント阻害の併用療法の有用性が期待されます。

論文情報

論文名	ARF6 and AMAP1 are major targets of <i>KRAS</i> and <i>TP53</i> mutations to promote invasion, PD-L1 dynamics and immune evasion of pancreatic cancer (膵癌ドライバー遺伝子 <i>KRAS</i> 変異と <i>TP53</i> 変異のターゲット ARF6-AMAP1 は浸潤, PD-L1 動態及び癌免疫回避を駆動する)
著者名	橋本 茂 ^{*1,2} , 古川聖太郎 ^{*1,3} , 橋本あり ^{*1} , 蔦保暁生 ^{1,3} , 深尾亜喜良 ⁴ , 坂村由梨佳 ⁴ , Parajuli Gyanu ² , 小野寺康仁 ¹ , 大塚勇太郎 ¹ , 半田 悠 ¹ , 及川 司 ¹ , 畑宗一郎 ¹ , 西川義浩 ⁵ , 水上裕輔 ⁶ , 児玉裕三 ^{5,7} , 村上正晃 ⁸ , 藤原俊伸 ⁴ , 平野 聡 ³ , 佐邊壽孝 ¹ (*共同筆頭著者, ¹ 北海道大学大学院医学研究院分子生物学教室, ² 大阪大学免疫学フロンティア研究センター, ³ 北海道大学大学院医学研究院消化器外科教室 II, ⁴ 近畿大学薬学部医療薬学科生化学研究室, ⁵ 京都大学大学院医学研究科消化器内科学, ⁶ 旭川医科大学消化器・血液腫瘍制御内科学分野, ⁷ 神戸大学大学院医学研究科消化器内科学分野, ⁸ 北海道大学遺伝子病制御研究所分子神経免疫学分野)
雑誌名	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (米国科学アカデミー紀要)
DOI	10.1073/pnas.1901765116
公表日	米国東部時間 2019 年 8 月 5 日 (月) の週 (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 教授 佐邊壽孝 (さべひさたか)

T E L 011-706-5045 F A X 011-706-7865 メール sabeh@med.hokudai.ac.jp

U R L <http://g21001.med.hokudai.ac.jp/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【参考図】

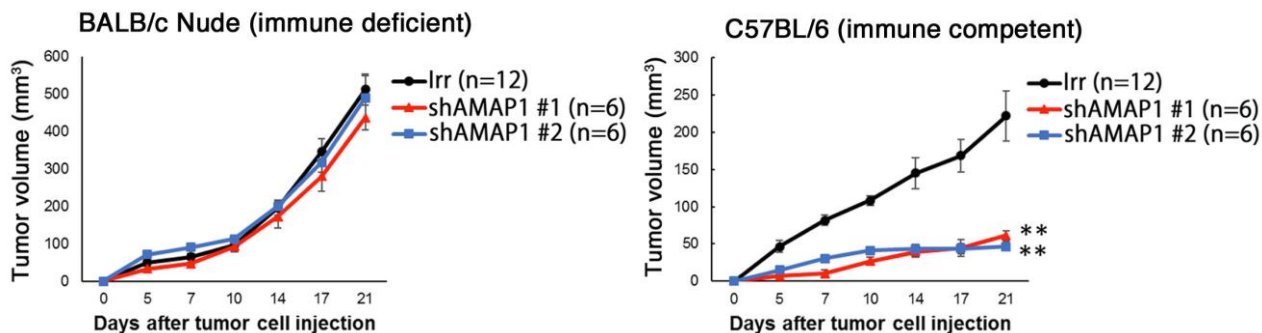


図 1. 膵癌の免疫回避に ARF6-AMAP1 経路が根本的であることを示す実験結果。KPC マウス細胞（コントロール(Irr)と AMAP1 発現抑制(shAMAP1)）を免疫不全マウス(左)と免疫保持マウス(右)の皮下に移植した際の腫瘍増殖能を示す。

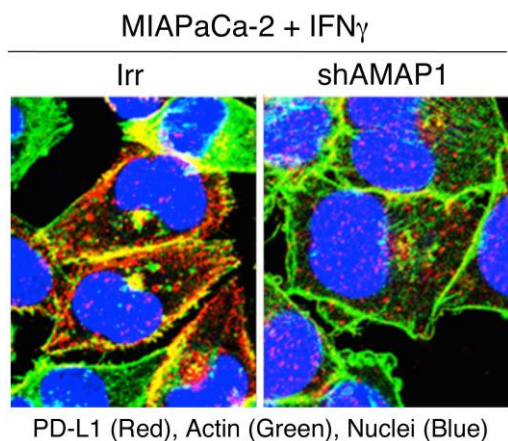


図 2. ARF6-AMAP1 経路による膵癌の免疫回避の分子実態の一端を示す PD-L1 の染色像。IFN γ 刺激した MIAPaCa-2 細胞(コントロール(Irr)と AMAP1 発現抑制(shAMAP1)) における PD-L1 局在を示す。

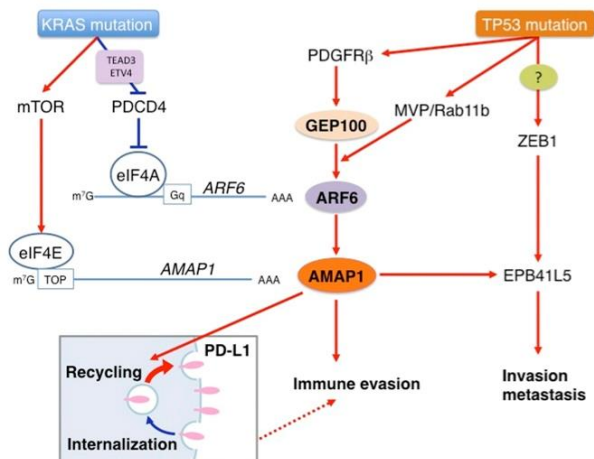


図 3. 膵癌のドライバー遺伝子 KRAS 変異と TP53 変異が ARF6-AMAP1 経路を駆動して免疫回避等の悪性度を誘導する概念図。

【用語解説】

- *1 癌免疫回避 … 癌細胞が免疫の攻撃を回避して自身を守る仕組みのこと。
- *2 浸潤 … 癌が周囲の組織にしみ込むように広がること。一方で「転移」は、からだの離れた部分に癌が飛び火して広がること。
- *3 5年生存率 … 癌と診断された患者のうち、診断から5年後に生存が確認出来た割合。
- *4 ARF6 … 低分子量 G 蛋白質の一種。佐邊教授らの研究グループは、癌細胞の浸潤転移活性、薬剤抵抗性など悪性度進展に関わるシグナル分子であることを報告している。
- *5 局所進行 … 最初に発生した部位から周辺の組織またはリンパ節に広がっている癌。
- *6 ドライバー変異 … 癌の発生や悪性度に関わる遺伝子変異のこと。
- *7 メバロン酸代謝経路 … 生体内のコレステロールを合成する経路。タンパク質の翻訳後修飾に用いられる脂質の合成にも関わる。TP53 変異によって活性化されることが報告されており、この経路を介して ARF6 経路が活性化することを佐邊教授らの研究グループは明らかにしている。
- *8 TCGA … The Cancer Genome Atlas の略で、米国で開始された大型がんゲノムプロジェクトのこと。様々な癌種の遺伝子発現等のデータがウェブに公開されており、データを用いて遺伝子発現等の解析が可能である。
- *9 RNA-seq.解析 … 次世代シーケンサーを用いて遺伝子の発現変動を網羅的に解析する手法。