

患者由来オルガノイドを用いた高齢者膵癌に対する 至適治療戦略の構築

九州大学病院 肝臓・膵臓・胆道内科

講師 藤森 尚

(共同研究者)

九州大学病院 肝臓・膵臓・胆道内科	助教	植田 圭二郎
九州大学病院 肝臓・膵臓・胆道内科	臨床助教	村上 正俊
九州大学病院 肝臓・膵臓・胆道内科	特任助教	松本 一秀
九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学	大学院生	大野 彰久

はじめに

膵癌の多くは診断時に切除不能で5年生存率は9%と極めて予後不良である。その内訳は65歳以上の高齢者が大半を占めており、高齢人口の増加に伴い罹患率、死亡数が増加傾向であり、今後癌全体における死亡割合の上位を占めることが確実視されている。切除不能膵癌に対する化学療法として塩酸ゲムシタビン・ナブパクリタキセル併用療法 (GnP) あるいはmodified FOLFIRINOX療法 (mFFX) が標準治療として施行されているが、治療効果の事前予測は困難であり、化学療法が奏功しない症例も多い。高齢者にとっては有害事象が強く出ることもあり、患者ごとにあわせた治療の最適化 (precision medicine) の確立が急務である。早期診断や新規治療法の開発も併せると、基礎研究と橋渡しとなるトランスレーショナルリサーチの重要性は高い。

近年解析技術の進歩により、膵癌は比較的予後の良い「Classicalサブタイプ」と予後不良な「Basal-likeサブタイプ」の大きく2つに分類されること⁽¹⁾、サブタイプ分類が治療反応性や予後と相関すること⁽²⁾が報告され、膵癌の最適医療の手掛りになると考えられている。しかし、実臨床の診療現場においてサブタイプ分類が活用されるには至らず、その推定すら困難な現状があり、臨床応用へのハードルは高い。そこで本研究では膵癌患者由来オルガノイド (patient-derived organoid; PDO) を活用した膵癌サブタイプ分類の臨床応用の促進、特に高齢膵癌患者に特化した至適治療戦略の構築を目的とする。また、膵癌の予後不良の主因である遠隔転移を制御する転移促進因子の解明にも挑む。

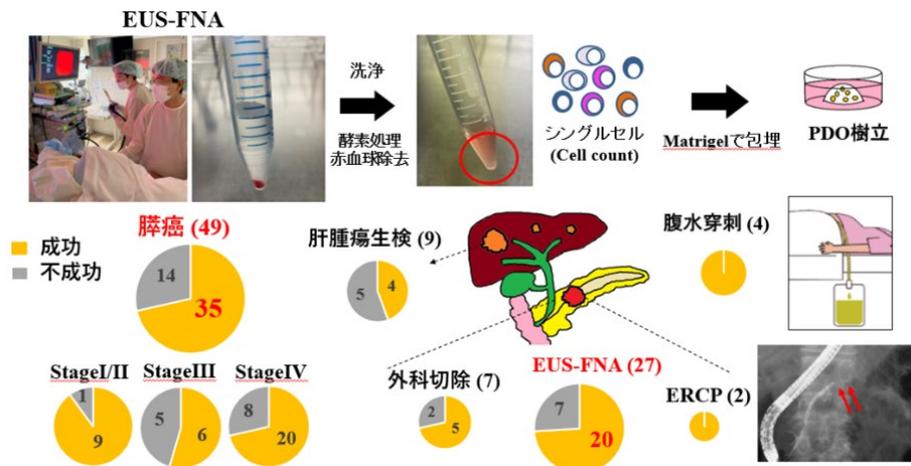
結 果

1. サンプル採取～PDO樹立・ライブラリー作成

本研究計画について当院倫理審査委員会の承認後、サンプル採取とPDO樹立について、

本研究期間を通じて継続した。具体的には、診断時のEUS-FNA検体、肝転移巣の経皮肝腫瘍生検検体、外科切除により得られた組織検体、ERCPによる膵液、腹水穿刺から得られた腹水など、各種臨床検体の一部から

図1 膵癌PDOライブラリーの作成

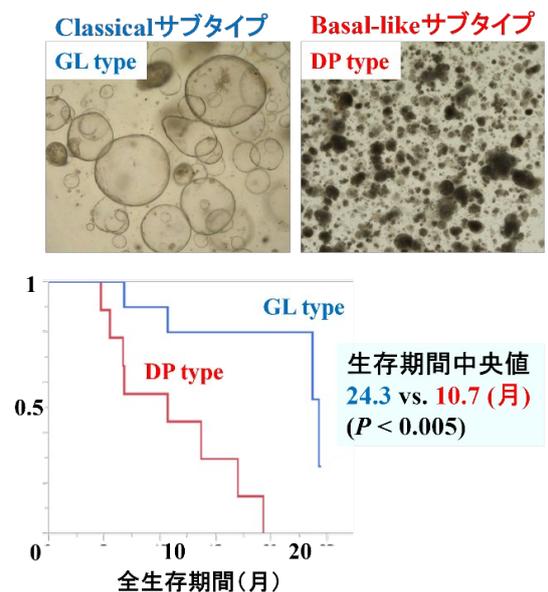


PDO樹立を試みた。洗浄、酵素処理、赤血球除去にてシングルセル化を行い、生細胞数をカウント後、Matrigelで包埋し、幹細胞性維持、細胞生存・増殖に必要な種々のニッチ因子を調整したmediumで培養を行った。結果として、49サンプル中35のPDO (32症例)の樹立に成功した (図1 樹立効率: 71.4%)。EUS-FNAからの樹立成績は良好であり、幅広い病期の膵癌患者や種々の臨床検体からPDO樹立が可能であった。

2. 膵癌サブタイプモデルとしての形態学的分類の臨床応用

1.で樹立した膵癌PDOはその形態により腺管様の構造を示すタイプ (Gland-like; GL type) と内部で密に増殖するタイプ (Densely proliferated; DP type) に大別できることを見出した (図2)。GL type、DP typeそれぞれの代表的なPDOからRNAを抽出し (n=3ずつ)、網羅的遺伝子発現解析 (RNA-seq) を施行したところ、形態分類とMoffitらの分類が相関することが明らかとなった。すなわち、GL type = ClassicalとDP type = Basal-likeのサブタイプと相関していた。更に、患者背景を揃えるためにステージ3及びステージ4の膵癌患者に限定して、全生存期間 (OS)

図2 PDOの形態分類と予後



を比較した。GL typeではDP typeに比べてOSが有意に良好であり (GL vs DP; 24.3 vs 10.7ヶ月)、GL typeはmFFX療法が良好な治療効果を示していた (図2)。一方、DP typeの予後は不良であったが、GnP療法が有効な傾向にあった。このPDOの形態分類は、EUS-

FNAなどのサンプル採取から1-2週間の期間で判別可能であることから、実臨床における化学療法のレジメン選択に役立つ可能性が示唆された。PDOを用いたin vitroの検討でも、DP typeではGL typeに比較して抗癌剤感受性が有意に低下していた。In vivo, in vitroの両者で同様の結果が得られたことから、PDOの形態分類を用いた治療戦略の確立は有望かつ再現性があり、膵癌のprecision medicine確立への足掛かりになると考えている。

3. PDOを用いた肝転移メカニズムの解明

膵癌術後に肺転移再発と肝転移再発をきたした症例における原発巣切除組織を用いたbulkのRNA-seq、及びTCGAなどの公開データベースを用いた検討から、肝転移再発と関連する遺伝子Xを同定した。肝転移を有する遠隔転移症例と、肝転移を有さない局所進行切除不能症例からそれぞれPDOを作成し、遺伝子Xの発現を評価したところ、肝転移を有する症例で遺伝子Xの発現が増加していた。今後、サブタイプ分類と遺伝子Xの関連性を評価する。更に遺伝子Xを過剰発現させたPDOを用いて、増殖能や抗癌剤感受性について評価することで、肝転移メカニズムの一端を明らかにする検討を進めている。

考 察

本研究を通じて、切除不能膵癌患者の様々な臨床検体から、効率良くPDOを樹立する方法を確立した。更に膵癌PDOの形態学的相違がClassical/Basal-likeサブタイプ分類や生命予後・薬剤感受性と関連することを新たに見出した。今後、PDOライブラリーを更に拡充し、PDO形態分類と予後予測・治療反応性との関連性について検討を進める。追加検証で、その妥当性が確認されれば、薬剤選択を含むPDOの臨床応用へ大きな足掛かりとなる。また、高齢膵癌患者を含めて、治療抵抗性や予後不良に大きく関わるのは肝転移である。本研究で肝転移と関連し、治療標的となりうる遺伝子Xが同定された。今後遺伝子Xの機能解析を更に進めることで、膵癌肝転移のメカニズム、ひいては膵癌の悪性化機序の一端が明らかになると期待される。

高齢者膵癌に目を向けると、本研究の対象としてPDOを樹立した全35例中、21例が65歳以上、7例が75歳以上の高齢者であった。検討の範囲内で、高齢者に特徴的な遺伝子異常や患者背景などは抽出されなかった。ただし、GL typeにmFFXの有用性を示唆する結果が得られたことは膵癌のprecision medicine確立に向けた大きな進歩であったと考えている。進行膵癌患者に対する化学療法として、多剤併用療法であるmFFX療法はGnP療法に比べて毒性が強く、有害事象の発生頻度が一般的に高い。そのため、実臨床においてmFFX療法を高齢者へ導入することには躊躇する場面が多い。本研究結果から、「高齢者膵癌患者からPDOを樹立し、GL typeであれば高齢者においてもmFFX療法を導入する」という治療戦略が検討されうる。有害事象が懸念される場合は、例えばmFFX療法を減量投与することで、GnP療法に比べて安全かつ有効な治療を高齢者においても提供できる可能性が考え

られた。

本研究結果及びPDOを用いた他の研究結果を纏め、Journal of Gastroenterology誌に報告した⁽³⁾。

要 約

切除不能膵癌の5年生存率は9%と極めて予後不良であり、高齢人口の増加に伴い、罹患率・死亡数が増加し、癌全体における死亡割合の上位となることが確実視されている。現行の化学療法の事前効果予測は困難であり、膵癌precision medicineの確立が急務である。本研究では、基礎研究と実臨床の橋渡しとなるトランスレーショナルリサーチのツールとして膵癌PDOに着目した。切除不能膵癌患者における診断時のEUS-FNA検体、肝転移巣に対する腫瘍生検検体、外科切除組織、ERCPによる膵液、更に腹水など、様々な臨床サンプルからのPDO樹立を検証した。結果として、49サンプル中35のPDO（32症例）の樹立に成功した（樹立効率：71.4%）。EUS-FNAからの樹立成績が特に良好であった。PDOの肉眼的形態分類から、GL typeとDP typeの2種類に大別することができ、それぞれClassical、Basal-likeのサブタイプと相関することが明らかとなった。すなわち形態分類から分子生物学的サブタイプ予測が可能となり、これは実際の膵癌患者の予後とも大きく関わっていた。また、PDOを用いて肝転移と関連する遺伝子Xの機能解析も進めている。本研究結果は、膵癌precision medicineの足掛かりとなり、最終的には高齢者を含めた膵癌の至適治療戦略の確立に繋がるものである。

文 献

1. Moffitt RA, Marayati R, Flate EL, et al. Virtual microdissection identifies distinct tumor- and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Genet*: 47: 1168-78, 2015.
2. Chan-Seng-Yue M, Kim JC, Wilson GW, et al. Transcription phenotypes of pancreatic cancer are driven by genomic events during tumor evolution. *Nat Genet*: 52: 231-40, 2020.
3. Matsumoto K, Fujimori N, Ichihara K, et al. Patient-derived organoids of pancreatic ductal adenocarcinoma for subtype determination and clinical outcome prediction. *J Gastroenterol*: 59: 629-40, 2024.