

膵臓癌におけるクロマチンリモデリングの役割

京都大学 医学部附属病院 消化器内科
福田 晃久

はじめに

背景

膵臓癌 (PDA) は日本の癌死因第 5 位で増加傾向にあり、5 年生存率が 5% 以下と予後が極めて悪いことから、その病態解明が急務であるが、膵臓癌の分子病理機構は十分に分かっていない。膵臓癌は主に PanIN (pancreatic intraductal neoplasia) と嚢胞性病変の IPMN (intraductal papillary mucinous neoplasm) との 2 つの形態的に異なる前癌病変から発生すると考えられている。(図 1)

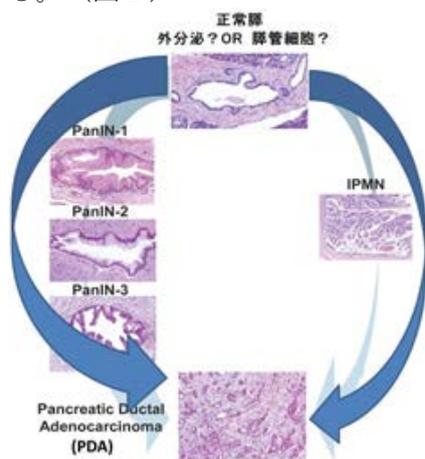


図 1 膵臓癌の発生ルート

PanIN に由来する膵臓癌 (PanIN-PDA) と IPMN に由来する膵臓癌 (IPMN-PDA) とではその予後の違いから、分子病理学的背景が異なると考えられている。PanIN-PDA に関しては様々なモデルマウスが確立されておりその分子病理機構について多くの知見が得られてきたが、IPMN-PDA に関しては最適なモデルマウスが十分に確立されていないこともあり、未だ分子病理機構はよく分かっていない。また、膵臓には外分泌細胞、内分泌細胞、膵管細胞の 3 種類の細胞があるが、いずれの細胞が PDA の起源となるかについても明らかではない。

エピジェネティクスによる遺伝子発現制御が細胞の運命決定・分化・および癌化に重要な役割を果たしていることが最近の研究により明らかになりつつある。なかでもクロマチンリモデリングに重要な働きをする SWI/SNF 複合体は、近年ヒトの様々な癌種において、その構成成分の inactivating mutations が数多く報告されていることから、癌化に関わっていることが強く示唆される。SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体は、9-12 個のサブユニットからなり、その ATP 加水分解作用によって DNA-蛋白間のコンタクトを促進あるいは阻害することにより遺伝子発現を制御している。この中の Brg1 は SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体のなかで必須な catalytic

ATPase サブユニットとしてはたらく。(図2)

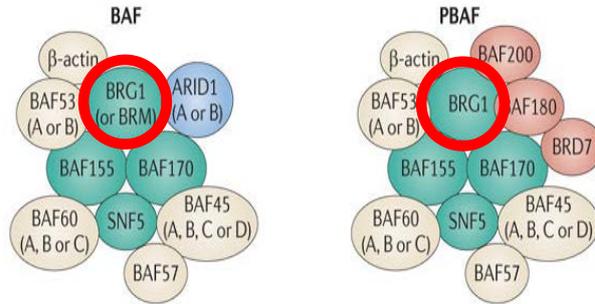


図2 SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体

膵臓癌に関しては、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体のなかで必須な catalytic ATPase サブユニットとしてはたらく Brg1 と、DNA 結合蛋白としてはたらく ARID1a、ARID2 において不活化の遺伝子変異があることが報告された (Biankin et al 2012 Nature) (Jones et al 2008 Science)。また大変興味深いことに、ヒト IPMN 標本の約半数において Brg1 の発現が低下または消失していることが、昨年 John Hopkins のグループから報告された (Dal Molin M et al 2012 Hum Pathol)。しかしながら、クロマチンリモデリングが膵臓癌の発生・進行にどのような働きをしているかについては未だに明らかでない。また、膵臓癌の代表的な前駆病変である IPMN の発生する分子機構については不明である。

目的

以上の背景から、申請者らは、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体によるエピジェネティックな遺伝子発現制御が、膵臓の分化・発癌に重要な働きをしているという仮説をたて、本研究では、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体の catalytic ATPase サブユニットである Brg1 に焦点を当てて、膵臓癌におけるクロマチンリモデリングの役割とその作用機構を明らかにすることを目的とした。

方法

膵臓特異的に KrasG12D を活性化し、かつ SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体の ATPase catalytic サブユニットである Brg1 をノックアウトした Ptf1a-Cre; KrasG12D; Brg1 flox/flox マウスを作成し、解析を行った。

結果 研究成果

膵臓特異的に KrasG12D を活性化し、かつ Brg1 をノックアウトした Ptf1a-Cre; KrasG12D; Brg1 flox/flox マウスを作成し解析した結果、極めて興味深いことに、100%の浸透率で、膵臓癌の前駆病変であるヒト IPMN 様の病変が生じ、さらにその多くで IPMN 様病変から進行して IPMN 由来の膵臓癌 (IPMN-PDA) が発生した(図3)。

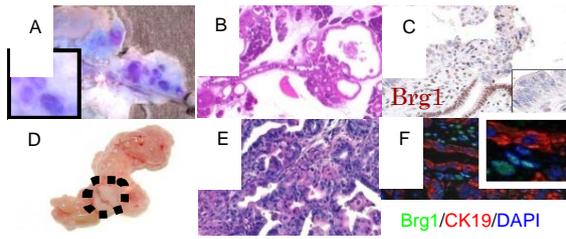


図3 膵臓特異的に KrasG12D クロマチンリモデリング SWI/SNF 複合体の ATPase catalytic サブユニットである Brg1KO (ノックアウト) を加えたマウスに生じた膵臓の嚢胞性病変。
膵管からの色素投与により膵嚢胞性病変が青く染まっている (A)。ヒト IPMN 様の膵嚢胞性病変の HE 染色 (B)。IPMN 様病変の Brg1 陰性の腫瘍性上皮 (C)。IPMN 様病変からさらに IPMN 由来膵臓癌が生じた (D)。マウス IPMN 由来膵臓癌の組織の HE 染色 (E)。マウス IPMN 由来膵臓癌の上皮では Brg1 は発現していない (F)。

まず膵臓特異的に KrasG12D を活性化し Brg1KO を加えたマウスに生じる膵嚢胞性病変のヒト IPMN 病変のモデルマウスとしての妥当性の検討を行った。ヒト膵臓で膵臓癌前駆病変となる嚢胞性病変の鑑別疾患として IPMN と MCN が挙げられるが、その鑑別点として IPMN は膵管との交通があり、MCN は交通が無いことである。そこで膵管からの色素注入および組織像にて、嚢胞性病変と膵管とが交通しているかどうかを調べた結果、膵嚢胞性病変と膵管とが交通していることが明らかになった。さらに MCN に特異的にみとめられる卵巣様間質がみとめられるかどうかについて、エストロゲンレセプター α とプロゲステロンレセプターの染色を行った結果、これらの発現は陰性であった。さらに、IPMN-PDA マウスにおいて、IPMN 病変に多段階的な病理的悪性度の進行 (adenoma carcinoma sequence) がみとめられ、また膵嚢胞性病変と癌上皮との連続性が病理組織学的にみとめられ、IPMN 由来の膵臓癌 (IPMN-PDA) が発生することが明らかになった。

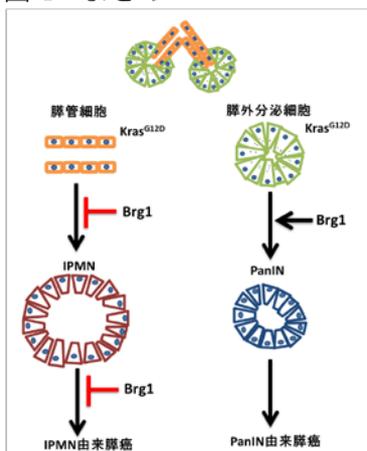
次に IPMN-PDA マウス (Ptf1a-Cre; KrasG12D; Brg1 flox/flox (Brg1 ホモ))、コントロールとして Ptf1a-Cre; KrasG12D (Brg1 ワイルドタイプ) , Ptf1a-Cre; KrasG12D; Brg1 flox/+ (Brg1 ヘテロ) マウス、さらに PanIN-PDA の genetically engineered モデルマウスとして確立されている PanIN-PDA マウス (Ptf1a-Cre; KrasG12D; p53 flox/+) も含めて、生存予後を比較検討した結果、IPMN-PDA マウスでは PanIN-PDA マウスに比べると、有意に予後が良いことがわかった。これはヒト IPMN-PDA が PanIN-PDA に比べると予後が良いことと合致し、この新規 IPMN-PDA マウスモデルが組織学的にだけでなく、生物学的特徴においてもヒト IPMN-PDA をよく再現していた。

さらにマウスに生じた IPMN-PDA および PanIN-PDA からそれぞれマウス膵癌細胞株を樹立し、in vitro での培養を行った。樹立した癌細胞株を用いて RNA deep sequencing を行い、両者のあいだでの遺伝子発現について網羅的に解析した結果、主に転移、浸潤にかかわる pathway に関して、異なる molecular signature を示すことが明らかになった。

考察 まとめ

ヒトの膵臓癌の発生ルートである IPMN・IPMN 由来膵癌に関しては、これまでその発生の分子メカニズムは十分にわかっていなかった。本研究により、エピジェネティックな遺伝子発現制御をおこなうクロマチンリモデリング因子 Brg1 が、膵癌の前癌病変である IPMN、および IPMN 由来膵癌の発生・進行を抑制していることが、マウスの個体レベルではじめて明らかとなった (図4)。

図4 まとめ



また、IPMN および IPMN 由来膵癌の新規遺伝子改変マウスモデルが確立された。さらに、IPMN の起源となる細胞については、膵外分泌細胞ではなくて膵管細胞であることが今回のマウスモデルを用いた実験によりはじめて証明された。

また、本研究により、Brg1 が膵管細胞からの IPMN 形成を抑制する一方で、膵外分泌細胞からの PanIN 形成に重要であることから、Brg1 が活性化 Kras に対して細胞特異的な役割を果たしていることが明らかとなったが、その詳細な分子メカニズムはまだ十分にわかっていない。今後、更なる詳細な分子機構の解明が期待される。さらに今後、他臓器を含めたこの分野の研究の更なる発展が期待される。

さらに、今後、IPMN 由来膵癌に対して、Brg1 をはじめとしたクロマチンリモデリング因子を標的とした新規の分子標的治療法の開発につながる可能性や、膵臓の嚢胞性病変の鑑別に用いられる新規マーカーとして開発につながる可能性が考えられ、今後の発展が期待される。

発表論文

これらの研究結果については下記論文発表した。

von Figura G*, Fukuda A*, Roy N* et al : The chromatin regulator Brg1 suppresses formation of intraductal papillary mucinous neoplasm and pancreatic ductal adenocarcinoma. Nat Cell Biol 16 : 255-267, 2014 *Equal authorship.

参考文献

Biankin, AV. et al. Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. Nature 2012;491:399-405.

Jones, S. et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. Science 2008;321:1801-1806 .

Dal Molin, M. et al. Loss of expression of the SWI/SNF chromatin remodeling subunit BRG1/SMARCA4 is frequently observed in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Hum Pathol* 2012;43:585-91.