

# 膵癌悪性化の分子機構解明

## －PBRM1 は Vimentin 発現制御を介して膵癌の分化度、転移能を制御する－

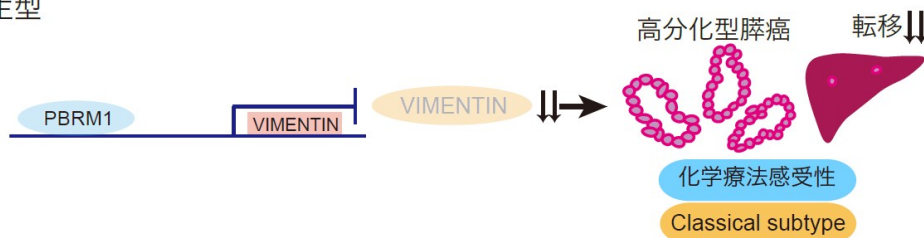
### 概要

膵癌は早期発見が難しく、転移しやすい難治性癌です。京都大学医学研究科消化器内科学の河相宗矩医員、福田晃久准教授、妹尾浩教授らの研究グループは、膵癌悪性化の分子機構の一端を明らかにしました。

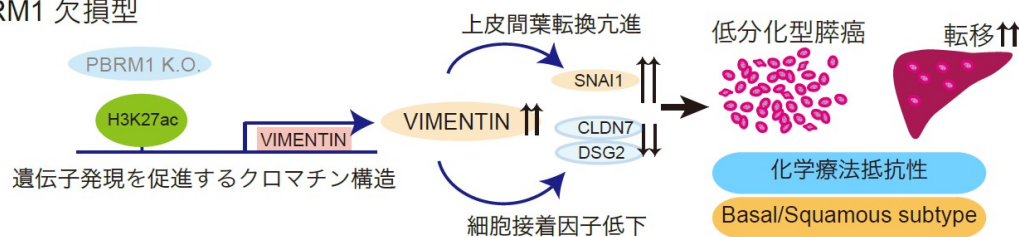
膵癌は、病理的分化度が高く化学療法がまだ比較的効きやすいタイプと、分化度が低く化学療法が非常に効きにくい悪性度の高いタイプに大きく分けられますが、これまでその分子機序については十分に分かっていませんでした。今回、クロマチンリモデリング因子の一つである PBRM1 の発現が低い膵癌は、病理学的に低分化癌・未分化癌、腺扁平上皮癌が多く、予後不良であり、悪性度の高い Basal/Squamous タイプの遺伝子発現プロファイルを呈することが明らかになりました。膵発癌マウスモデルにおいて、PBRM1 の発現を消失させる実験を行ったところ、膵癌の分化度は低くなり、転移が増加し、化学療法に抵抗性を示し、生存期間が短縮しました。PBRM1 欠損膵癌では上皮間葉転換マーカーである Vimentin の発現が増加し、細胞接着因子が低下し、上皮間葉転換が亢進し、転移が増加しました。これに対して薬剤などで Vimentin 発現を阻害すると、膵癌の分化度が高くなり、転移が抑制されました。ヒト膵癌組織においても PBRM1 と Vimentin の発現に負の相関がみられました。以上より、PBRM1 は Vimentin 発現制御を介して 膵癌の病理学的分化度、転移能、化学療法感受性に重要な働きをしていることが明らかになり、悪性度の高い膵癌に対しては Vimentin 阻害剤が有効となる可能性が示されました。

本研究成果は、2025 年 6 月 2 日、国際学術誌「*Journal of Clinical Investigation*」にオンライン掲載されました。

### PBRM1 野生型



### PBRM1 欠損型



PBRM1 は Vimentin 発現制御を介して 膵癌の病理学的分化度、転移能、化学療法感受性を制御している。

## 1. 背景

膵癌は予後不良な難治性癌であり、膵癌の新規治療法の開発は社会的にも重要な喫緊の課題です。膵癌が予後不良である原因として、高率に浸潤や転移をきたす点が挙げられますが、その分子メカニズムは未だ十分に分かっていませんでした。膵癌の転移は、複雑かつ多段階のステップによって成立することがこれまでの研究から明らかになってきていますが、未だ不明な点が多く残されており、その分子機構の解明はがん治療薬開発における重要な課題です。

膵癌は総じて難治性癌ですが、病理学的に分化度が高く、化学療法がまだ比較的効きやすいタイプと、分化度が低くて、化学療法が効きにくい悪性度が極めて高いタイプに大きく分けられます。膵癌の病理組織型による分類では、低分化癌、未分化癌、腺扁平上皮癌は、高分化癌に比べて、化学療法抵抗性、予後不良を示します。また、遺伝子発現プロファイルによる分類があり、Basal/Squamous サブタイプは、Classical サブタイプに比べて、化学療法抵抗性、予後不良を示します。病理組織型による分類と遺伝子発現プロファイルによる分類は相関しており、病理組織型が低分化癌、未分化癌、腺扁平上皮癌の膵癌は Basal/Squamous サブタイプの割合が多く、両者とも予後不良を示します。しかしながら、これまで低分化癌、未分化癌、腺扁平上皮癌の分子機序についてはまだ十分に分かっておらず、有効な治療法も確立されていません。

一方、ヒト膵癌の遺伝子変異は 10 個の分子 signatures に分類され、SWI/SNF クロマチンリモデリング因子はそのうちの一つです。ヒト膵癌の 20%には SWI/SNF サブユニットの不活化遺伝子変異があり、SWI/SNF サブユニットである PBRM1 にはヒト膵癌の 5%に遺伝子変異がありますが、膵癌における PBRM1 の機能はこれまでわかっていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

膵癌患者の手術後の病理標本を免疫染色で検討した結果、PBRM1 の発現が低いほど膵癌の病理学的分化度が低く、術後に再発しやすく、予後不良であることが分かりました。また、TCGA で公開されているオープンデータを用いて、ヒト膵癌の遺伝子発現プロファイルを解析した結果、ヒト膵癌の約 30%で PBRM1 の 1 つまたは 2 つのアリルに欠失を認め、*PBRM1* に欠失のある膵癌は予後不良である Basal/Squamous サブタイプの遺伝子発現プロファイルを示しました。さらに膵腺扁平上皮癌を解析すると、その 8 割において PBRM1 の発現低下を認め、PBRM1 低発現の膵癌は Basal/Squamous サブタイプを示しました。未分化癌においてもその 8 割において PBRM1 の発現低下を認めました。したがって、PBRM1 発現の低い膵癌は、病理学的に低分化癌・未分化癌、腺扁平上皮癌が多く、予後不良であり、悪性度の高い Basal/Squamous サブタイプの遺伝子発現プロファイルを呈することが明らかになりました。

ヒト膵癌における知見を踏まえ、次に膵癌マウスモデルを用いて研究を行いました。マウスの膵臓において、Kras 活性化変異と p53 ヘテロノックアウトした、コントロールの膵発癌モデルマウス「*Ptf1a-Cre; Kras<sup>G12D</sup>; Trp53<sup>+/+</sup>*」(*KPC* マウス)では膵臓に高分化癌が形成されました。一方、上記に加えて PBRM1 をノックアウトしたマウスでは、膵臓に低分化癌、未分化癌が形成されました。さらに転移の有無について解析した結果、コントロールの *KPC* マウスでは肝転移を認めませんでしたが、PBRM1 をノックアウトしたマウス膵癌においては、高率に肝転移をみとめ、予後が短縮しました。さらに、胎生期から PBRM1 をノックアウトする代わりに、Flippase と Cre recombinase による Dual-recombinase システムを用いて、膵癌が形成した後にタモキシフェン誘導にて *Pbrm1* をノックアウトするマウスモデルでも解析した結果、PBRM1 をノックアウトするとコントロールでみられる高分化腺癌から低分化癌、未分化癌へと膵癌の病理組織型が変化し、転移が増加しました。さらに免疫染色の結果、PBRM1 ノックアウト膵癌では、コントロールと比べて上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal transition: EMT) マーカーである Vimentin が高発現していることがわかりました。

さらに、膵癌自然発生マウスモデルを用いて、膵癌に対して標準治療で用いられている抗癌剤ジェムシタビ

ン投与による化学療法の感受性について調べた結果、コントロールの *KPC* マウスでは化学療法に感受性を示し予後が延長しましたが、PBRM1 ノックアウトマウスでは、Basal/Squamous サブタイプの膵癌と同様に化学療法抵抗性を示し、予後の延長はみられませんでした。

したがって、マウスの解析では、PBRM1 野生型の膵癌は、高分化癌で転移は少なく、遺伝子発現プロファイルは Classical subtype で化学療法感受性を示し、一方、PBRM1 ノックアウト膵癌では、低分化癌または未分化癌で転移が多く、Basal/Squamous サブタイプで化学療法抵抗性を示しました。膵癌形成後に PBRM1 をノックアウトしても同様の表現型を示しました。

次にそのメカニズムを解析するために、PBRM1 野生型膵癌と PBRM1 ノックアウト膵癌からマウス膵癌細胞株を作成し、それらに対し ChIP-seq と RNA-seq を行い、両者を網羅的に解析しました。Pbrm1 が転写調節領域に結合する遺伝子のうち RNA-seq でも発現変動を認め、さらにクロマチンオープンマーカである H3K27ac にピークを認める遺伝子を抽出しました。これらの遺伝子のうち転移や EMT に関わる Vimentin に着目しました。Vimentin のプロモーター領域と転写領域の ChIP-seq の解析の結果、PBRM1 が Vimentin のプロモーター領域に直接結合し、転写制御していることが分かりました。さらに、PBRM1 ノックアウト膵癌では、Snai1 などの EMT 関連遺伝子の発現上昇を認め、PBRM1 ノックアウトマウスでは生体内で実際に EMT が起きていることが分かりました。

そこで、次に、「PBRM1 は Vimentin の発現を直接制御することにより、膵癌の病理学的分化度および転移能を規定する」という仮説をたて、Vimentin を阻害することによって PBRM1 ノックアウトの表現型がキャンセルされるかどうか検証しました。Pbrm1 野生型膵癌と PBRM1 ノックアウト膵癌細胞株に short hairpin RNA (shRNA) を使用し、Vimentin をノックダウンし B6 マウスに皮下移植した結果、PBRM1 野生型膵癌では組織型に変化はありませんでしたが、PBRM1 ノックアウト膵癌では組織型が低分化癌から高分化癌に変化しました。さらに、Vimentin をノックダウンした膵癌細胞をマウスの脾臓に注射し、肝転移を解析した結果、PBRM1 野生型膵癌では肝転移の領域に変化はありませんでしたが、PBRM1 ノックアウト膵癌では、Vimentin のノックダウンにより、膵癌の組織型が低分化癌から高分化癌に変化し、肝転移が減少しました。さらに、PBRM1 ノックアウト膵癌のマウスに対して、Vimentin 阻害剤であるシンバスタチン、あるいはウィザフェリン A を投与した結果においても、同様に肝転移が減少しました。したがって、PBRM1 は Vimentin のプロモーター領域に直接結合し、Vimentin の発現制御を介して膵癌の病理学的分化度、転移能を規定することがわかりました。

さらにヒト膵癌において、Vimentin と PBRM1 発現の相関関係について検討しました。ヒト膵癌術後検体の免疫染色で PBRM1 の発現が低いと Vimentin の発現が高いことが分かりました。TCGA 公開データで遺伝子発現プロファイル調べた結果でも、Vimentin 高発現群は Basal/Squamous サブタイプと関連することがわかりました。

以上より、「PBRM1 は Vimentin のプロモーター領域に直接結合し、Vimentin の発現制御を介して膵癌の病理学的分化度、転移能、化学療法感受性に重要な働きをしている」ことがわかりました。すなわち、PBRM1 野生型膵癌は Vimentin の発現は低く、高分化腺癌で、Classical subtype となり、転移が少なく、化学療法感受性を示すのに対して、PBRM1 ノックアウト膵癌では、Vimentin の発現が亢進し、低分化癌・未分化癌で、Basal/Squamous サブタイプとなり、転移が増加し、化学療法抵抗性を示すことが明らかになりました。

### 3. 波及効果、今後の予定

本研究により PBRM1 は Vimentin 発現制御を介して 膵癌の病理学的分化度、転移能、化学療法感受性に重要な働きをしていることが明らかになりました。したがって、悪性度の高い膵癌（低分化癌・未分化癌、腺扁平上皮癌）に対しては Vimentin 阻害剤が有効となる可能性が示されました。今後、悪性度の高いヒト膵癌（低分化癌・未分化癌、腺扁平上皮癌）に対して Vimentin 阻害剤が有効かどうか、プレクリニカルモデル（ヒト

膵がんオルガノイド）を用いた前臨床研究、および臨床研究を行っていく予定です。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は以下の研究費にて行われました。科研費（19H03639, 19K16712, 23K27582, 20H03659, 21K19480, JP22J13158）, AMED 次世代がん（21 cm0106177h0002）, AMED-PRIME（21gm6010022h0004）, ムーンショット型研究開発制度（JPMJMS2022, JP22zf0127009）, 共創の場形成支援プログラム（JPMJPF2018）, 武田科学振興財団生命科学研究助成, 高松宮妃癌研究基金、三菱財団自然科学研究助成、上原記念生命科学財団研究助成、内藤記念科学振興財団研究助成。

#### <用語解説>

1. 上皮間葉転換：上皮系の細胞が上皮マーカーである E-カドヘリン（細胞同士を連結して繋ぎ止める分子）の発現を失い、運動能の高い間葉系細胞の性質を獲得する現象のことで、間葉系形質を獲得した癌細胞は移動・浸潤能が亢進するため、癌の浸潤、転移に重要なステップと考えられています。
2. TCGA（The Cancer Genome Atlas）：米国国立がん研究所と米国国立ヒトゲノム研究所によるプロジェクトで、さまざまな組織におけるがんのゲノムやエピゲノム、トランスクリプトーム、バリエーション情報などのデータを公開している。

#### <研究者のコメント>

「膵癌は最も予後不良な癌腫のひとつで、新規治療法の開発は喫緊の課題です。膵癌は診断時に半数以上に転移が認められ、転移は予後不良の最たる原因です。膵癌の治療において転移を抑制することは非常に重要と考えられます。本研究から、悪性度の高いヒト膵癌（低分化癌・未分化癌、腺扁平上皮癌）に対して Vimentin を標的分子とした膵癌の新規治療法に繋がる可能性が示されました。今後、実際の診療に役立てられるように、研究を発展させて臨床応用に繋げていきたいと考えており、今後も引き続き精進して参ります。」（福田晃久）

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Polybromo 1/Vimentin axis dictates tumor grade, epithelial-mesenchymal transition, and metastasis in pancreatic cancer.（PBRM1/Vimentin は膵癌の分化度、上皮間葉転換、転移を制御する）

著者：河相宗矩、福田晃久\*（責任著者）、池田宗弘、飯森啓、水越健太、岩根康祐、山川剛、尾松万悠紀、並川実桜、藺誠、益田朋典、福永裕一、長尾宗政、荒木理、吉川貴章、小川智、平松由紀子、津田喬之、丸野貴久、中西祐貴、Dieter Saur、鶴山竜昭、増井俊彦、波多野悦朗、妹尾浩。

掲載誌：Journal of Clinical Investigation DOI：10.1172/JCI1177533