

研究報告書

特定課題：希少がん

(平成28年度)

平成 31年 4月 30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 国立がん研究センター研究所

住所 中央区築地5-1-1

研究者氏名 大木理恵子



(研究課題)

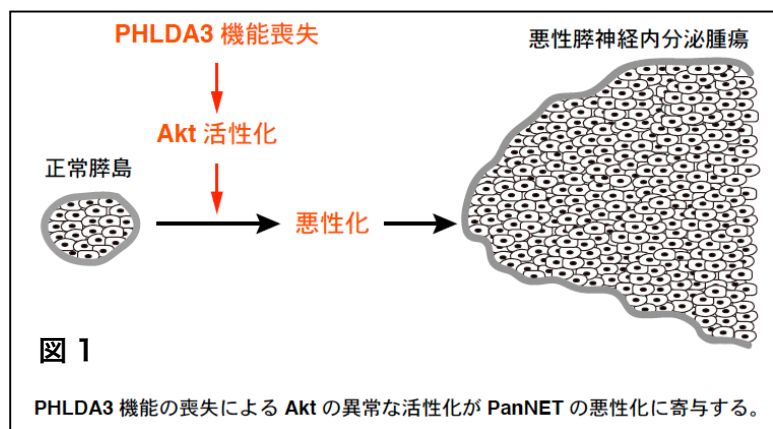
希少がんである神経内分泌腫瘍のがん抑制遺伝子 PHLDA3 の機能解析～臓器を超えた神経内分泌腫瘍の統合的理解に向けて～

平成29年 2月 13日付助成金交付のあった標記特定課題：希少がんについて研究が終了致しましたのでご報告いたします。

研究目的

本研究の目的は、希少がんであるヒトの神経内分泌腫瘍 (neuroendocrine tumor; 以下 NET) の症例解析とモデルマウスの作製・解析を通じて神経内分泌腫瘍の本態を解明することである。NET は、神経内分泌細胞に由来する腫瘍であり、膵臓、下垂体、甲状腺、消化管、肺など全身の様々な臓器に生じる。希少がん故にサンプルの収集が難しいことやマウスモデルの開発が遅れていることにより、未だ腫瘍発生機序は十分に解明されていない。

我々は、機能未知であった PHLDA3 遺伝子が、新規 p53 標的遺伝子であり、Akt 抑制因子である事を見だし、肺と膵臓の NET において、がん抑制遺伝子として機能している事を明らかにした (Cell, 2009, PNAS, 2014)。膵 NET の詳細な解析により、PHLDA3 遺伝子は約 70% と非常に高頻度に LOH を呈すること、さらにはメチル化と LOH の 2 hit により機能が失われていることが示された (図 1)。また、PHLDA3 欠損マウスでは、膵島過形成や下垂体 NET 発症など、いくつかの組織の神経内分泌細胞の異常増殖、さらには腫瘍が高頻度で発生する事を明らかにした。これらの事から、我々は、PHLDA3 が様々な組織に由来する NET 共通のがん抑制遺伝子であり、PHLDA3 による Akt 抑制が NET 抑制において中心的な役割を持つと考えており、このことを本研究課題で証明したいと考えている。本研究は、組織を超えた NET 共通のがん抑制メカニズムの解明につながる。各種の希少 NET を統合して扱うことが可能になれば、NET 研究とそれに続く創薬や治療法の開発が加速すると予想される。



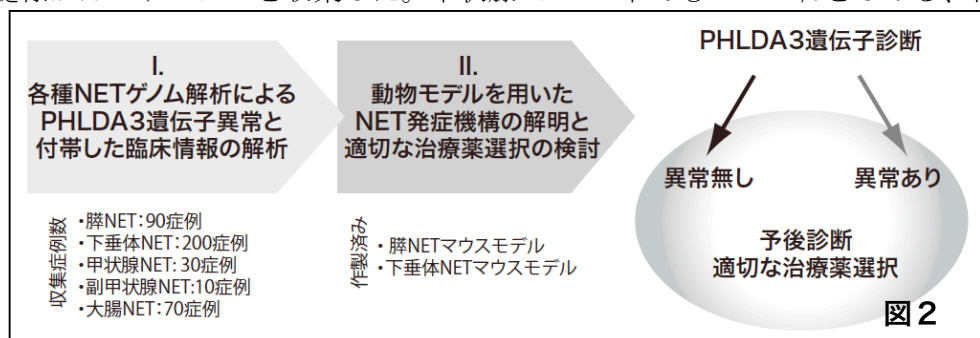
研究結果

臨床医との緊密な連携のもと集めた詳細な臨床情報の付帯したヒト NET 臨床サンプルを用いたゲノム解析と、NET マウスモデルを用いた解析を行い、希少がんである NET の本態の解明を目指して研究を行った (図 2)。

(1) ヒト NET 臨床サンプルを用いたゲノム解析

研究計画初年度である平成 28 年度までに、全 90 症例の膵 NET、エベロリムスなどによる治療を施した症例を 30 症例ほど収集した。

また、ヒト下垂体 NET (下垂体腺腫) 検体を希少な症例を含む 200 症例収集した。なお、下垂体 NET のうち ACTH 産生型および TSH 産生型の下垂体 NET は非常に希少な症例であるが、我々はこれらの症例についても約 20 症例ずつ収集する事ができている。甲状腺 NET には、乳頭がん、濾胞がん、髄様がん、低分化がん、未分化がんがある。これまでに乳頭がん、濾胞がん、髄様がんのサンプルを収集した。甲状腺 NET の中でも 1~2% をしめる、特に希少な髄様がんのサンプルも 20 サンプル収集した。副甲状腺 NET には、良性の副甲状腺腺腫と悪性の副甲状腺がんがある



が、これらの症例を収集した。(計8)また、大腸 NET の症例も 70 収集した。平成 29 年度は、これらのサンプルの PHLDA3 遺伝子の LOH 解析と点突然変異解析を中心としたゲノム解析を行った。さらには同定されたゲノム異常と患者予後・治療薬奏功の関連の解析を行う。まだ予備実験の段階ではあるが、様々な NET で PHLDA3 遺伝子の異常が検出されており、来年度も研究を続けることで、各種 NET における PHLDA3 遺伝子の重要性を明らかにできると考える。

(2) 動物モデルを用いた解析

PHLDA3 遺伝子を欠損した膵 NET・下垂体 NET のモデルマウスの構築と解析を行う。平成 28 年度に、PHLDA3 遺伝子を欠損した悪性膵 NET 及び下垂体 NET を発症するマウスモデルの構築を終えた。平成 29 年度は、これらのマウスの詳細な解析を進めた。マウスで得られた結果をヒト NET の症例と比較し、ヒト NET のモデルとなるか考察した。

・膵 NET のモデルマウスの作出と解析

発症した膵 NET の病理組織分類の詳細な解析を行った。マウスが発症する下垂体 NET について、(a) Ki67 陽性率および (b) 産生するホルモンを解析し、ヒト膵 NET と比較する。悪性のヒト膵 NET においては高い Ki67 陽性率が観察されることから、Ki67 染色による解析を行った。

・下垂体 NET のモデルマウスの作出と解析

これまでに以下のことが明らかになっている (未発表データ)。

(a) 18-24 ヶ月齢の雌マウスにおいて高頻度で下垂体腫瘍を認めた。

(b) PHLDA3 欠損マウスに生じた下垂体腫瘍を HE 染色した結果、腫瘍は下垂体前葉由来の下垂体 NET であることがわかった。

PHLDA3 欠損マウスにおいてヒト下垂体 NET と同様の腫瘍が観察されたことから、PHLDA3 欠損マウスが発症する下垂体 NET について、(a) Ki67 陽性率および (b) 産生するホルモンを解析し、ヒト下垂体 NET と比較する。ホルモン染色による下垂体 NET の分類に加え、悪性のヒト下垂体 NET においては高い Ki67 陽性率が観察されることから、Ki67 染色による悪性度の解析を行った。