

研究報告書  
平成30年度：A課題

2020年4月27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 愛知県がんセンター研究所

住 所 愛知県名古屋市千種区鹿子殿 1-1

研究者氏名 田口 歩



(研究課題)

細胞表面タンパクを標的とする新規睥癌治療法の開発

---

平成31年3月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

## 研究課題

### 細胞表面タンパクを標的とする新規膵癌治療法の開発

愛知県がんセンター

分子診断トランスレーショナルリサーチ分野 分野長

田口 歩

2019年3月1日付で助成金交付のあった上記A課題について、助成金交付期間が終了したので期間中の進捗を報告する。

## 背景・研究目的

膵癌は、診断時に70-80%が切除不能であり、その五年生存率がわずか5-10%と、極めて予後が悪い癌である。さらに膵癌の死亡数はこの30年で8倍以上に増加し、年間3万人以上となっている。次世代シーケンシングなどの進歩によって、分子生物学的な知見は集積しつつあるものの、決定的な膵癌の治療法の開発には至っておらず、革新的なアプローチによって膵癌の克服に取り組む必要がある。

細胞表面タンパクは、癌において機能的に重要な役割を果たしているだけでなく、その局在により、抗体などの免疫治療の直接的な標的として非常に有望である。また、HLA分子によって細胞表面に提示されているがん特異的抗原（ネオアンチゲン）も、がんワクチンなど免疫治療の有望な標的である。申請者は、癌細胞株を用いた細胞表面タンパクの網羅的プロテオーム（サーフェスオーム）解析によって、癌特異的タンパクやHLAクラスI結合ペプチドの同定を行ってきた。癌細胞株は分子生物学的解析において極めて優れたツールではあるが、*in vitro*での培養により元来の腫瘍内における性質や不均一性を失っている可能性がある。そこで、今回この技術を腫瘍検体に応用し、腫瘍内の癌細胞表面で、どのようなタンパクが実際に発現しているのかを詳細に解析することで、新たな膵癌治療標的の探索を行った。サーフェスオーム解析は、細胞表面タンパクの単離に非常に多くの細胞を必要とするが、外科手術時に十分な量の検体を得る機会は少なく、また手術前に化学療法を受けている症例も多い。PDXモデルは、ヒト癌組織を非常によく再現する優れたモデルであることから、本研究では、治療前の膵癌患者から超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）で採取された生検検体を用いてPDXモデルを樹立し、PDX腫瘍を用いてサーフェスオーム解析を行った。

## 結果

### 1. 膵癌 PDX マウスモデルの樹立

2019年4月から、愛知県がんセンター病院消化器内科において、治療前の膵癌患者77例からEUS-FNAで採取された生検検体を用いてPDXモデルを樹立した。移植後3か月以上経過した49例中28例(57%)で腫瘍の生着を確認できた。EUS-FNA検体を用いた膵癌PDXモデルの作成効率は一般に20~30%とされるが、当分野では、非常に高い作成効率が得られた。

### 2. 膵癌 PDX 腫瘍の多層オミクス解析

2020年3月までに5例の膵癌PDX腫瘍のプロテオーム解析が終了し、組織ライセートとサーフェスオームでそれぞれ6348個、4602個のタンパクが同定され、またリン酸化タンパク解析において、リン酸化部位9257個が同定できている。特にサーフェスオームについては、これまでにあまり膵癌との関連が示唆されていない、いくつかの受容体型チロシンキナーゼ、CD抗原、癌・精巣抗原が組織ライセートに比較して強く濃縮されて高発現しており、有望な新規治療標的となりうると思われた。

HLAクラスI結合ペプチドの解析では、プロトコールの最適化を行い、1例のPDX腫瘍で80個のペプチドを同定した。NetMHCpanを用いてこれらのペプチドのHLA-A24への結合性を予測したところ、46%のペプチドが強いHLA-A24への結合親和性（ $IC_{50} < 100nM$ ）を示し、高い免疫原性を持つペプチドが非常に多く含まれていることが示唆された。

## 今後の展望

現在50例を目標に膵癌PDX腫瘍の解析を進めている。サーフェスオーム解析で同定された、治療標的として有望な細胞表面タンパクについては、免疫組織学的染色など臨床検体での検出法を確立するとともに、膵癌培養細胞株の実験系を中心に、膵癌における機能的重要性やその制御機構について検討中である。HLAクラスI結合ペプチドについては、プロテオゲノミクスと de novo シーケンシングを応用して、ゲノム情報からは同定し得ない、新規がん抗原同定法の開発を行っている。

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、研究助成のご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深謝申し上げます。