



2024年9月5日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

低酸素環境による肺がんの悪性転化メカニズムを解明 —ヒストン脱メチル化薬剤による高度悪性肺がん治療の可能性に期待—

慶應義塾大学医学部医化学教室の佐藤俊朗教授、藤井正幸准教授らの研究チームは、今回、悪性度の高い肺がん患者から臓器のミニチュアである肺がん「オルガノイド」の樹立に成功し、Wntと呼ばれる増殖シグナルがなくても増殖できることを見出しました。これらの肺がんは、低酸素環境などの腫瘍環境によってエピゲノム（注1）が変化し、「腺扁平上皮がん」と呼ばれる病理像を示す組織へと悪性変化することを解明しました。

本研究チームは、さまざまな病期の肺がん患者組織から、オルガノイドを樹立し、総計65例からなるライブラリーを作成しました。このライブラリーの解析から、ほとんどの肺がんでは増殖因子であるWnt/R-spondinによるシグナルの活性化を必要とする中、少数の肺がんオルガノイドではWnt/R-spondinがなくても増殖できることを見出しました。Wnt/R-spondinに依存する肺がんオルガノイドは、一般的な肺がんの組織型である腺がんの病理組織構造を示します。一方、Wnt/R-spondinに依存しない肺がんは、多層に積み重なる充実構造の形態、そして、本来発現しない扁平上皮細胞（注2）マーカーの発現を示しました。また、ヒストン脱メチル化（注3）酵素であるKDM6Aの遺伝子変異あるいは低酸素環境による活性低下は、このような組織構造の変化や増殖因子に依存しない増殖を促し、悪性転化の原因になることも突き止めました。さらに研究チームは、ヒストンメチル化を抑制するEZH2阻害剤（注4）が、悪性度の高い肺がんの治療薬として有望であることを実証しました。死亡率が高く、依然として増加傾向にある肺がんの新たな治療法の確立が期待できます。

本研究成果の詳細は、2024年9月4日（英國時間）に英科学誌 *Nature Cell Biology* 電子版に掲載されました。

1. 研究の背景

肺がん（以下、「肺がん」という。）は、他のがんが減少する中、依然として増加傾向にある疾患です。死亡率も高く、2022年段階のがんによる死亡原因では、男性では4位、女性では3位であり（出典：国立研究開発法人国立がん研究センター「人口動態統計がん死亡データ」https://ganjoho.jp/reg_stat/index.html）、75歳未満の患者の5年生存率は8.5%と極めて低く、1993～2011年までの過去9年間ほとんど改善していません（出典：同センター「地域がん登録によるがん生存率データ」https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/data/dl/index.html#a30）。このことは日本において大きな社会課題となっており、新たな治療法の確立が求められています。

肺がんの多くは、腺がんと呼ばれる単層の上皮形態を示しますが、一部の肺がんは、細胞

が積み重なり、皮膚などで特徴的に見られる多層の扁平上皮構造を示します。このような構造のがんは「腺扁平上皮がん」と呼ばれ、臨床的な悪性度が高くなることが知られています。

これまでの研究で、腺扁平上皮がんの一部は「KDM6A」という遺伝子に変異をもつことがわかっています。KDM6Aは、ヒストンH3のメチル化リジン27(H3K27)特異的な脱メチル化酵素であり、エピゲノム制御による転写の活性化に関与します。しかし、ヒトの膵がんにおいて、KDM6Aの機能がどのように腺扁平上皮がんへの悪性転化に関わっているかのメカニズムは不明でした。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

主要な発見:

1) 悪性度の高い膵がん患者から膵がんオルガノイド・ライブラリーを作成

これまで佐藤教授と藤井准教授らは、手術で患者から採取した膵がん細胞を用いて、幹細胞から作る3次元の組織様構造をもった臓器のミニチュアである「オルガノイド」を作成し、膵がんオルガノイド・ライブラリーを作成してきました。しかし、この採取方法では、膵がんの中でも手術可能な早期フェーズのがんが中心となり、悪性度の高い膵がんの研究は進まないという課題がありました。

そこで研究チームは悪性度の高い膵がん・26例を新たに従来の膵がんのオルガノイド・ライブラリーに加え、総計60例を超えるオルガノイド・ライブラリーへと拡充しました。新たに追加したものを受け、悪性度の高い膵がん患者由来のオルガノイドは、内視鏡による生検や患者腹水から作成しています(図1)。これにより、ヒトの膵がんの臨床的、生物学的な多様性を網羅することができ、がんの進行や悪性化の要因について、遺伝子の変異と発現、細胞生物学的な特徴などから迫ることが可能になりました。

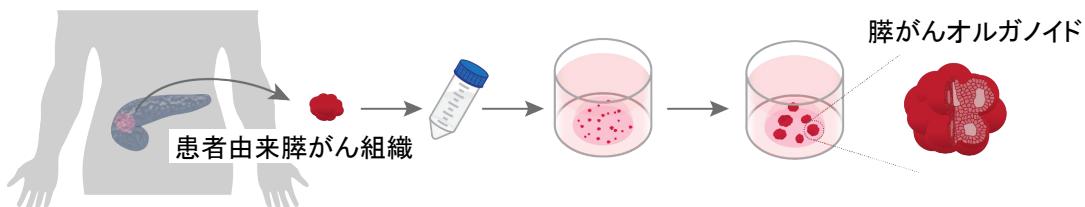


図1 オルガノイド作成の流れ

2) 膵がんは腺がんから扁平上皮がんへと悪性転化する

一般的に、がんは、周囲の環境に頼らずに増殖する能力があります。実際、正常の膵臓細胞は5つの増殖因子に依存して増殖しますが、膵がん細胞はより少ない因子だけで増殖できることがわかっています。今回、膵がんオルガノイドを用いた悪性度の解析では、5つの増殖因子のうち、Wntシグナル(注5)を活性化するWntおよびR-spondinの2つに注目して研究を進めました。その結果、Wnt/R-spondinに依存的な膵がんのオルガノイドは、腺がんの特徴である中腔構造をとり、Wnt/R-spondin非依存的な膵がんのオルガノイドは、多層に積み重なる充実構造のがん形態となることがわかりました。

また、その充実構造をよく調べてみると、細胞が重層する扁平上皮構造を示していることを見出しました。このような形態は悪性度の高い膵がんの亜型として見られるもので、腺扁平上皮がんの特徴と合致します。一般的に、身体の組織のうち、外界と接している皮膚や口腔粘膜などの上皮は多層の扁平上皮構造をもち、体の内側と接する上皮は、腸管の上皮のよ

うに単層構造を示します。元来、膵がんは、後者のように単層構造（腺がんの形態）を示しますが、悪性度が高くなると多層構造（扁平上皮がんの形態）となるのです。

さらに、遺伝子変異を解析したところ、悪性度の高い膵がんオルガノイドにおいては、膵管上皮が、形質転換に関連する転写因子（注 6）である TP63 の異所性発現によって扁平上皮化することがわかりました。そこで、本研究においては、単層構造の膵がんオルガノイドに TP63 を発現させたところ、扁平上皮構造に形態が変化し、逆に、腺扁平上皮がんの TP63 をノックアウトすると、単層構造に戻ることを見出しました。

3) 膵がん細胞はエピゲノム変化によって悪性転化する

一般的に、消化器上皮において、腸や膵臓などの単層上皮では GATA6、食道などの扁平上皮では TP63 と呼ばれる転写因子が、マスタースイッチとして発見しています。では、膵がん細胞で、単層上皮から扁平上皮構造の組織変化に伴い、マスタースイッチが GATA6 から TP63 に代わってしまったのはなぜでしょうか？

皮膚の細胞が iPS 細胞に変化するように、マスタースイッチが変わることによって、元々の細胞にあったアイデンティティが別の細胞のアイデンティティに変わることがあります。このような変化は、ゲノム異常ではなくエピゲノム変化が誘導していると考えられています。

本研究では、こうしたエピゲノム変化により、膵がんのアイデンティティが変化し、悪性転化を引き起こしていることもわかりました。具体的には、腺扁平上皮がんの研究等でエピゲノムの変化に寄与すると知られている KDM6A 遺伝子に注目しました。KDM6A は、ヒストン H3 のメチル化リジン 27 (H3K27) 特異的な脱メチル化酵素であり、エピジェネティックな転写制御に関与するがん抑制遺伝子です。本研究において、このエピゲノム変化を制御する KDM6A と、転写因子である GATA6 を共にノックアウトすると、膵がんの腺がんとしてのアイデンティティが喪失しました。さらに、Wnt 増殖因子のない状態でオルガノイドを培養すると、TP63 が発現し、腺扁平上皮がんとなりました。

実際、膵がん細胞におけるこうしたアイデンティティの変化（注 7）が、膵がん細胞の悪性度に影響すると考えられます。膵がんの約 10% は、通常の腺がんでみられる導管細胞のように振る舞うことを止め、食道や気管の上皮細胞のように扁平上皮細胞に似た状態になり始めます。このアイデンティティの変化により、膵がん細胞は、他では見られない血流が乏しい乏血管性の環境でも増殖できるようになると考えられます。

4) 低酸素環境は、腺扁平上皮がんへの悪性化を誘導することを発見

ただし、先行研究から、すべての扁平上皮細胞に KDM6A の変異が起こるわけではないとわかつっていました。また、膵がんは血流に乏しく、低酸素環境でも発育すること、KDM6A の機能には酸素が不可欠であることも知られていました。

そこで、本研究においては、低酸素環境下では KDM6A の活性が低下することにより、KDM6A の変異がなくても、腺扁平上皮がんへの変化が誘導される可能性を考えました。

具体的には、膵がんオルガノイドを、Wnt および酸素が欠損した環境に曝露し続けました。その結果、約 2 ヶ月の培養期間を経て、オルガノイドは腺がんから腺扁平上皮がんへと変化することを見出しました。KDM6A の脱メチル化機能が低酸素によって低下することでメチル化が進行し、アイデンティティの変化を促進させたと考えられます。

この結果、低酸素環境が、膵がんの腺扁平上皮がんへの悪性転化を促進する上で重要な役

割を果たしていることが示唆されました（図2）。

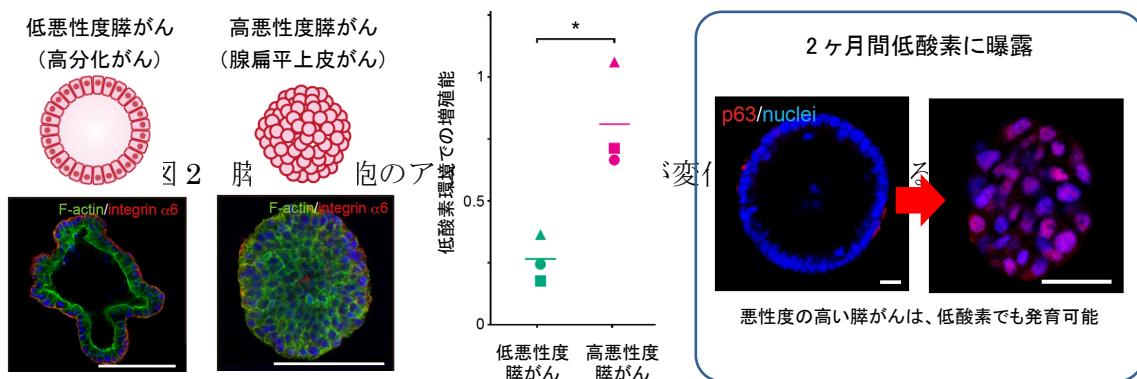


図2 肺がん細胞のアイデンティティが変化し、悪性化する

研究の社会的意義と展望：

進行した肺がんは、最も予後の悪いがんの1つです。その病態理解と治療薬開発が望まれています。今回の研究で、患者から摘出した悪性度の高い肺がんからオルガノイドを樹立し、遺伝学的な異常と生物学的な変化を統合的に解析したことは、肺がんの悪性度のメカニズムを解明する上で、画期的なことです。

本研究の結果は、低酸素環境におけるKDM6A活性の減少によるメチル化の促進が、アイデンティティの変化を生み、肺がんの悪性化を進展させることを示しています。そこで、この逆の反応、つまり、脱メチル化を進めることによって、悪性化を抑制することができると考えられます。実際、脱メチル化を促進する（正確にはH3K27のトリメチル化を抑制する）EZH2阻害剤と呼ばれる薬剤の投与により、扁平上皮細胞への形質転換の引き金となる分子変化を逆転させ、腺扁平上皮がんオルガノイドの増殖を抑制することもわかりました。エピゲノム変化によるアイデンティティ異常は肺がん以外にも一部の肺がんや前立腺がんなどで認められ、その多くは治療抵抗性や予後と関係しています。この研究の結果から、このようなアイデンティティの変化によって悪性度や治療抵抗性が増す他のがんに対しても、エピゲノム標的治療が効果的であることが示唆されます。

今回明らかになった肺がん悪性化メカニズムとEZH2阻害剤投与の有効性に基づいたエピゲノム創薬（図3）は、難渋する肺がん治療の突破口になりうると期待されます。

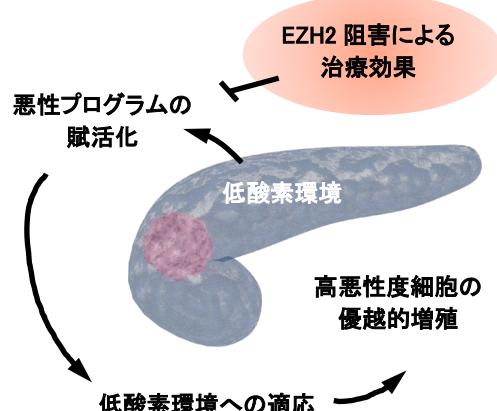


図3 低酸素環境によるがん悪性化抑止を標的とした治療開発へ道

3. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構 ムーンショット型研究開発事業 ムーンショット目標2 研究開発プロジェクト「生体内ネットワークの理解による難治性がん克服に向けた挑戦」、戦略的創造研究推進事業 ERATO タイプ「佐藤オルガノイドデザインプロジェクト」、JSPS 科研費 JP16K07148、JP19K07739、JP22K07241、JP22H04995、JP23K27677、公益財団法人武田科学振興財団の支援によって行われました。

4. 論文

タイトル : Wnt-deficient and hypoxic environment orchestrates squamous reprogramming of human pancreatic ductal adenocarcinoma

タイトル和訳 : Wnt 欠損・低酸素環境がヒト膵がんの扁平上皮リプログラミングを駆動する

著者名日本語表記 : 玉川空樹、藤井正幸、戸ヶ崎和博、清野隆史、川崎慎太郎、高野愛、利光孝太、高橋シリラット、太田悠木、股野麻未、川崎健太、町田雄二郎、関根茂樹、待永明仁、笹井研、児玉裕三、垣内伸之、小川誠司、平野智紀、妹尾浩、北郷実、北川雄光、岩崎栄典、金井隆典、佐藤俊朗

掲載誌 : *Nature Cell Biology*

DOI : 10.1038/s41556-024-01498-5

【用語解説】

(注 1) エピゲノム:ゲノム (genome) に上位を表す epi-が接頭語として付いた単語であり、主にゲノム異常 (遺伝子変異や染色体異常) によらないゲノム修飾による遺伝子発現制御を表します。エピジェネティックな修飾にはヒストンのメチル化やアセチル化による修飾や、DNA 自体のメチル化などがあげられます。

(注 2) 扁平上皮細胞 : 口、食道、気道、膣、子宮頸部、肛門などの組織の表面に見られる扁平上皮を作る、平らな形状の細胞のことです。

(注 3) 脱メチル化 : 分子からメチル基を除去する化学過程のこと。ヒストンのメチル化については、ヘテロクロマチン形成、X 染色体不活性化、転写制御といったさまざまな生物学的プロセスに関与していることがわかっています。ヒストン脱メチル化酵素は、ヒストンタブに付加されたメチル基 (-CH₃) を除去する酵素。KDM6A はヒストン 3 の 27 番目アミノ酸であるリジンのメチル基を除去し、一般的には遺伝子やタンパク質の発現上昇に寄与します。

(注 4) EZH2 阻害剤 : EZH2 はヒストン 3 リジン 27 をメチル化する酵素であり、KDM6A とは逆の働きをします。KDM6A の活性が低いがんでは、EZH2 阻害剤を用いて EZH2 の働きを抑えることで KDM6A が優位となり、エピゲノム異常をリバランスすることができると考えられます。

(注 5) Wnt シグナル : 細胞分裂や栄養代謝、蛋白分泌など、細胞が持つさまざまな機能は外部あるいは内部からの信号 (シグナル) によって制御されており、Wnt シグナルは主に細胞の生存や複製などを司っています。

(注 6) 転写因子 : DNA に直接結合し、遺伝子の発現を亢進あるいは抑制するタンパク質。多くのシグナルの下流には転写因子があり、転写因子の活性を通じて遺伝子発現および細胞

機能を制御しています。

(注7) アイデンティティの変化：とある細胞が何の細胞であるか（アイデンティティ）はその細胞が所属する組織によって厳密に決まっています。例えば、腸の細胞は腸の細胞として生まれ、容易に胃や膵臓の細胞にはなりません。例えがんであっても多くの場合は元のアイデンティティがある程度保たれますが、なかには腺扁平上皮がんのようにアイデンティティが変わってしまうこともあります。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部医化学教室

教授 佐藤 俊朗（さとう としろう）

TEL : 03-5363-3063 FAX : 03-3353-6247

E-mail : t.sato ” AT” keio.jp ※E-mail アドレスは AT の部分を@に変えてください。

<https://organoidmed.org/>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：飯塚・岸

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<https://www.med.keio.ac.jp>