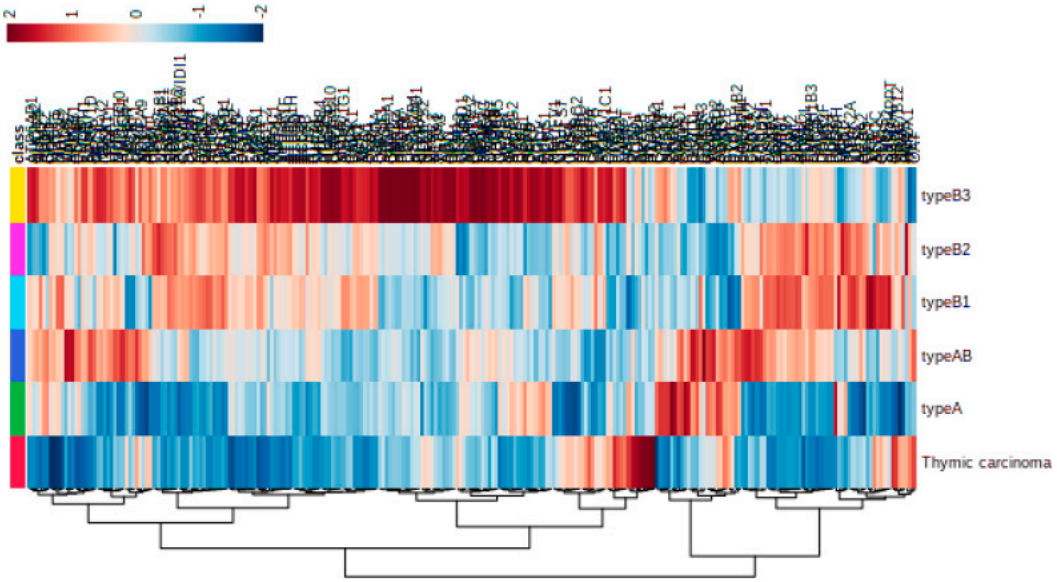
178　胸腺上皮性腫瘍における新規治療ターゲットの同定	上妻　由佳

【目的】胸腺腫および胸腺癌を含む胸腺上皮性腫瘍は縦隔腫瘍の 20%を占める最も頻度が高い疾患であるが、発症頻度が 10 万人につき 0.44〜0.68 人と稀な疾患である。胸腺上皮性腫瘍は多くが無症状であり、5 年無再発生存率は正岡 I 期、II 期では 90%を超えるものの、III期では 67%、IVa 期で 38%、IVb 期で 48%と進行期の予後は不良である。胸腺上皮性腫瘍に対して根治が望める唯一の方法は手術であるが、再発・切除不能な胸腺上皮性腫瘍に対する治療の選択肢は限られている。本研究では、次世代プロテオミクス「iMPAQT : *in vitro* proteome-assisted MRM for protein absolute quantification」法を用いて胸腺上皮性腫瘍における新規治療ターゲットの同定を目的とした。

【方法】ヒト胸腺上皮性腫瘍組織(胸腺腫 type A、AB、B1、B2 各 3 例、type B3 4 例、胸腺癌 4 例を用いて、iMPAQT 法により 342 種の代謝酵素を網羅的に定量解析した。

【結果】組織型毎に各グループの 代謝酵素発現量の違いが明瞭であり、特に胸腺癌及び TypeA グループでは全体的に発現量が低く TypeB3 で発現量が高い傾向にあった。One-way ANOVA では 68 種の代謝酵素が $p<0.05$ を示しており、エンリッチメント解析の結果、 多くはプリン代謝等の核酸合成寄与する因子であった。胸腺癌のグループでは多くの代謝酵素は他のグループよりも発現量が低かったが、核酸合成に関与する一部の代謝酵素に関しては胸腺癌グループで顕著に増加していた。

胸腺上皮性腫瘍の組織型による酵素発現の違い



178. 胸腺上皮性腫瘍における新規治療ターゲットの同定

上妻　由佳

国立病院機構 九州医療センター 臨床研究センター 呼吸器外科

Key words：胸腺上皮性腫瘍，胸腺腫，胸腺癌，プロテオミクス

緒　言

胸腺腫および胸腺癌を含む胸腺上皮性腫瘍は縦隔腫瘍の 20%を占める最も頻度が高い疾患であるが、発症頻度が 10 万人につき 0.44～0.68 人と稀な疾患である。胸腺上皮性腫瘍は多くが無症状であり、5 年無再発生存率は正岡 I 期、II 期では 90%を超えるものの、III期では 67%、IVa 期で 38%、IVb 期で 48%と進行期の予後は不良である。胸腺上皮性腫瘍に対して根治が望める唯一の方法は手術であるが、再発・切除不能な胸腺上皮性腫瘍に対する治療の選択肢は限られている。本研究では、次世代プロテオミクス「iMPAQT：*in vitro* proteome-assisted MRM for protein absolute quantification」法を用いて胸腺上皮性腫瘍における新規治療ターゲットの同定を目的とした。

胸腺上皮性腫瘍に対して根治切除が可能な症例は手術が第一選択となる。再発・切除不能な胸腺上皮性腫瘍に対しては、プラチナ製剤ベースの化学療法の有効性が報告されているが、大規模なランダム化比較試験はなく、標準レジメンが確立されていない。進行例においては化学放射線治療や手術を合わせた集学的治療が必要となる。

胸腺上皮性腫瘍に対する分子標的治療も多く試みられてきた。胸腺癌のおよそ 80%に c-KIT が発現しており、c-kit 変異陽性の胸腺癌において imatinib の奏功が報告されたが、*c-KIT* 遺伝子変異は 10%にとどまり、臨床試験では十分な奏功を示せなかった［1］。マルチキナーゼ阻害薬である sorafenib、sunitinib についても同様であり、これらの効果はいずれも限定的であった［2］。

近年、胸腺上皮性腫瘍において PD-L1 が高発現であることが報告され、PD-1／PD-L1 経路を標的とした免疫チェックポイント阻害薬の臨床試験が行われている［3］。しかし、胸腺上皮性腫瘍を対象に抗 PD-1 抗体である pembrolizumab の有効性を検討した第Ⅱ相試験では奏効率は 21.2%に過ぎず、さらに、他の癌腫に比較して重篤な免疫関連有害事象の頻度が高いことが報告された［4］。胸腺癌のみを対象とした pembrolizumab の第Ⅱ相試験においても、奏効率は 22.5%と同程度の結果であった［5］。また、切除不能胸腺癌を対象とした抗 PD-1 抗体である nivolumab の有効性を検討した第Ⅱ相試験では奏効率が 0%であった［6］。その他にも抗 PD-L1 抗体である avelumab や pembrolizumab と IDO1 阻害薬の併用療法など複数の臨床試験が行われているが、これまでに報告された治療効果や副作用の観点から、免疫療法の実臨床での応用は難渋する可能性が高いと考えられ、新規治療ターゲットの同定が喫緊の課題である。

これまで様々な手法により胸腺上皮性腫瘍の遺伝子解析が報告されてきた。Petrini らは 28 例の胸腺上皮性腫瘍を対象にエクソソームシークエンスを用いて、比較的予後の良好な type A ならびに type AB 胸腺腫において *GTF2I* 遺伝子のミスセンス変異が高頻度にみられる一方、胸腺癌では *TP53*、 *CYLD*、*CDKN2A*、*BAP1*、*PBRM1* 遺伝子の変異が多いことを明らかにした［7］。Radovich らは 117 の胸腺上皮性腫瘍のエクソソームシークエンスを行い、*HRAS*、*NRAS*、*TP53*、*GTF2I* 変異が高頻度であることを報告した［8］。しかし、これらは有効な治療標的の同定には至っていない。

一方、胸腺上皮性腫瘍におけるプロテオミクス解析の報告はわずかである。Wang らは胸腺腫と胸腺正常細胞におけるプロテオミクス解析を、液体クロマトグラフ質量分析（LC-MS/MS）を用いて行った［9］。61 のタンパクが正常組織と比較して上昇しており、desmoyokin が type A と type B3 の胸腺腫分類に有効であったと報告している。Lai らは 21 例の胸腺腫（type AB 8 例、type B2 8 例、type B3 5 例）に対して LC-MS/MS を用いたプロテオミクス解析を行い、これらの分類に COL17A2 というタンパクが有用であったと報告した［10］。これらの 2 つの報告はいずれも、

プロテオミクス解析による胸腺腫の分類について検討したものであるが、これらの結果が示すように胸腺上皮性腫瘍においては、組織亜型により多様な分子生物学的動態が存在するものと考えられる。本研究では臨床検体を用いた網羅的なプロテオミクス解析により、胸腺上皮性腫瘍の病態を解明し、治療標的の同定を目的とした。

方　法

手術により切除されたヒト胸腺上皮性腫瘍組織（胸腺腫 type A、AB、B1、B2 各 3 例、type B3 4 例、胸腺癌 4 例）を用いて、iMPAQT 法により 342 種の代謝酵素を網羅的に定量解析した。iMPAQT 法は網羅的なヒトタンパク質ライブラリー（*in vitro* proteome）と高感度な定量プロテオミクスの手法である MRM 法を組み合わせることで、短時間で多数の高精度タンパク質定量を可能とした新規テクノロジーである。iMPAQT 法は九州プロサーチ LLP にて行った。

結果および考察

1. iMPAQT 法による代謝酵素の発現解析

今回、iMPAQT 法により 342 種の代謝酵素定量分析を実施した。今回の解析では 249 種の代謝酵素が検出された。今回解析を行った 20 例について、組織型毎に変動のみられた代謝酵素についてヒートマップを作製した（図 1）。代謝酵素の発現量、発現パターンは組織型毎に大きく異なった。

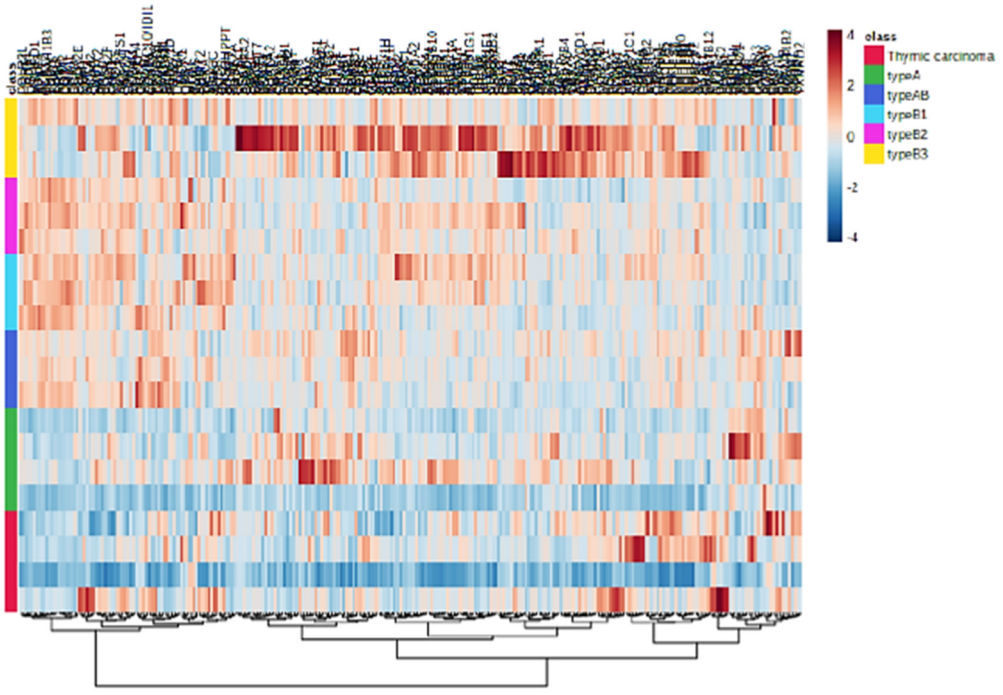


図 1. iMPAQT 法による主な変動酵素
胸腺上皮性腫瘍における代謝酵素の発現を組織型毎に示した。

次に一元配置分散分析（one-way ANOVA）を行い、組織型による代謝酵素発現量の違いを検討した。$P<0.05$ となった代謝酵素（68 項目）について、ヒートマップの作製及びエンリッチメント解析を行った（図 2）。主にプリン代謝、ピリミジン代謝、TCA サイクル、糖代謝などが亢進していたが、多くはプリン代謝など核酸合成に関連する因子であった。胸腺癌では他の組織型と比較して代謝酵素の発現量が低い傾向にあったが、一部の代謝酵素については胸腺癌で顕著に発現量が上昇していた。

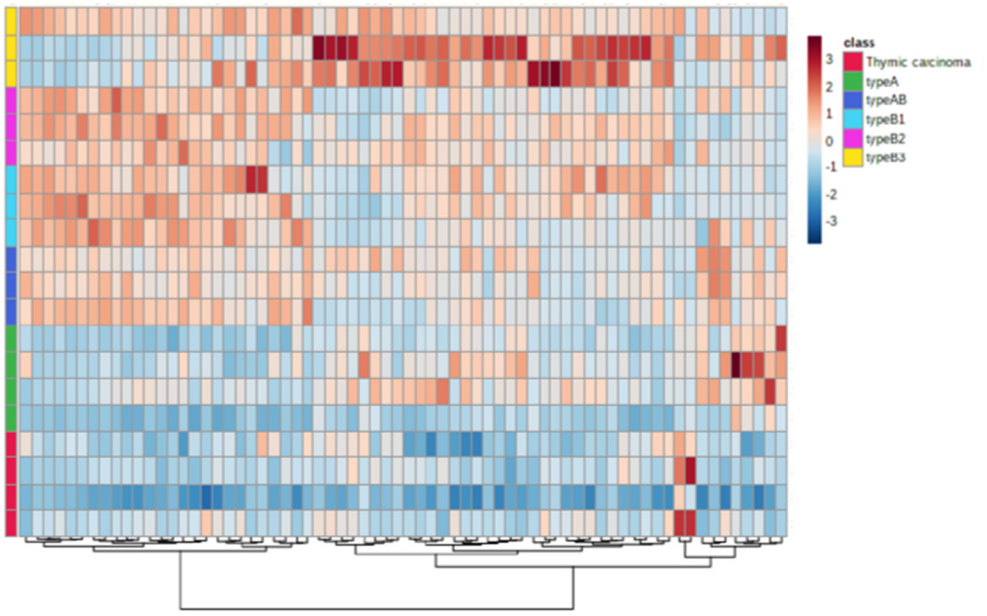


図 2. 組織型による代謝酵素の発現

エンリッチメント解析による代謝酵素の発現を示した。組織型により代謝酵素の発現分布、発現量に大きな違いがみられた。

胸腺上皮性腫瘍は組織型により腫瘍悪性度が異なるものの、進行期では十分な治療法が確立されておらず、今回、新規治療標的の同定を目的として、プロテオミクスによる代謝酵素の発現についての解析を行った。本研究では胸腺上皮性腫瘍において、組織型毎に代謝酵素の発現が大きく異なり、多様な分子学的動態がその病態に関与しているものと考えられた。これらは腫瘍学的悪性度の違いや薬剤への反応性など治療選択においても重要な役割を果たしていると推察される。今後、更なる病態の解析とそれに基づいた治療法の探索が必要である。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、九州大学大学院消化器・総合外科の田川哲三、竹中朋佑である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深謝いたします。

文　献

1) Schirosi, L., N. Nannini, D. Nicoli, et al., Activating c-KIT mutations in a subset of thymic carcinoma and response to different c-KIT inhibitors. Ann Oncol 2012; 23: 2409-2414. doi: 10.1093/annonc/mdr626.

2) Thomas, A., A. Rajan, A. Berman, et al., Sunitinib in patients with chemotherapy-refractory thymoma and thymic carcinoma: an open-label phase 2 trial. Lancet Oncol 2015; 16: 177-186. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71181-7.

3) Yokoyama, S. and H. Miyoshi, Thymic tumors and immune checkpoint inhibitors. J Thorac Dis 2018; 10: S1509-s1515. doi: 10.21037/jtd.2017.10.157.

4) Cho, J., H.S. Kim, B.M. Ku, et al., Pembrolizumab for Patients With Refractory or Relapsed Thymic Epithelial Tumor: An Open-Label Phase II Trial. J Clin Oncol. 2019 Aug 20;37(24):2162-2170. doi: 10.1200/JCO.2017.77.3184.

5) Giaccone, G., C. Kim, J. Thompson, et al., Pembrolizumab in patients with thymic carcinoma: a single-arm, single-centre, phase 2 study. Lancet Oncol 2018; 19: 347-355. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30062-7.
6) Katsuya, Y., H. Horinouchi, T. Seto, et al., Single-arm, multicentre, phase II trial of nivolumab for unresectable or recurrent thymic carcinoma: PRIMER study. Eur J Cancer 2019; 113: 78-86. doi: 10.1016/j.ejca.2019.03.012.
7) Petrini, I., P.S. Meltzer, I.K. Kim, et al., A specific missense mutation in GTF2I occurs at high frequency in thymic epithelial tumors. Nat Genet 2014; 46: 844-849. doi: 10.1038/ng.3016.
8) Radovich, M., C.R. Pickering, I. Felau, et al., The Integrated Genomic Landscape of Thymic Epithelial Tumors. Cancer Cell 2018; 33: 244-258.e210. doi: 10.1016/j.ccell.2018.01.003.
9) Wang, L., O.E. Branson, K. Shilo, et al., Proteomic Signatures of Thymomas. PLoS One 2016; 11: e0166494. doi: 10.1371/journal.pone.0166494.
10) Lai, L.-C., Q.-L. Sun, Y.-A. Chen, et al., Using proteomic profiling to characterize protein signatures of different thymoma subtypes. BMC Cancer 2019; 19: 796. doi: 10.1186/s12885-019-6023-4.