慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	膵がん組織における相互排他的な線維芽細胞亜型の制御機構の解明及び患者層別への応用
Sub Title	Elucidation of the clinical significance and regulatory mechanisms of mutually exclusive fibroblast subtypes in the pancreatic cancer microenvironment
Author	眞杉, 洋平(Masugi, Yohei)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	ヒト膵癌組織には、癌細胞の数倍もの間質が混在し、それらは互いに密接に関わりつつ癌の進展に寄与する。近年、膵癌における免疫・間質を含めた腫瘍微小環境を包括的に標的とした新規治療戦略の開発が試みられ、成果を上げつつある。本研究は、膵癌間質を多角的な定量指標（線維芽細胞サブタイプ、コラーゲン沈着量、免疫細胞浸潤等）により特徴化し、臨床病理学的意義を持つ膵癌患者層別を提唱する（目的１）、有力な治療標的候補として見出した、相互排他的な線維芽細胞サブタイプの制御機構を解明する（目的２）、の2項目を達成し、膵癌に対する新規治療戦略の道標となる成果を創出する。本年度、次の研究成果を得て、目的１を概ね達成した。 まず膵癌組織切片を用いた多重蛍光染色を行い、ACTA2（alpha smooth muscle actin）及びFAP（fibroblast activation protein alpha）の発現レベルにより相互排他的に認識される2種類の線維芽細胞サブタイプを見出し、それらがヒト膵がんにおける主要な間質細胞であることを見出した。次に、組織内局在を保ったまま、これら線維芽細胞サブタイプならびにコラーゲン量をピクセル単位で測定することを可能にした組織定量システムを開発した。この新規技術を用いることで、予後・免疫反応を含む詳細な分子病理学的情報の付与された患者検体215例の未治療膵癌の全切除切片について、癌間質の組成を測定した。次いで、間質組成により膵癌間質を①collagen-rich type ②FAP-dominant-fibroblast-rich type ③ACTA2-dominant-fibroblast-rich typeの3つに分類すると、患者予後はきれいに層別化された。さらに、各々の間質タイプを有する膵癌は、癌細胞の分子学的性格（網羅的遺伝子発現に基づく分子サブタイプ・SMAD4遺伝子異常）や免疫抑制活性が有意に異なることが示された。ヒト臨床検体を用いた客観的かつ再現性の高い解析を基盤とするこれら一連の研究成果は、膵癌に対する新規治療戦略開発ならびに患者層別化のために示唆に富む結果であり、原著論文として報告した(Clin Caner Res 2021；表紙に採用、ハイライトペーパーに選出)。 Pancreatic cancer is characterized by abundant desmoplastic stroma. Emerging evidence suggests a promising therapeutic effect of stroma-modifying therapies that target immune and non-immune stromal elements in the pancreatic cancer microenvironment. Specific aims of this study are as follows: Aim 1: To develop a novel classification system of pancreatic cancer patients according to quantitative data on major stromal factors (i.e., collagen, fibroblasts, tumor-infiltrating immune cells) Aim 2: To elucidate regulatory mechanisms of two mutually-exclusive fibroblast subtypes in the pancreatic cancer microenvironment. This year, we successfully obtained the following results to achieve Aim 1. Firstly, we identified mutually exclusive fibroblast subtypes that express distinct levels of ACTA2 (alpha smooth muscle actin) and FAP (fibroblast activation protein alpha) as dominant fibroblast subpopulations within human pancreatic cancer tissues, using multiplex fluorescent immunohistochemistry Then, we developed a pixel-by-pixel image analysis system to digitally differentiate and quantify these fibroblast subtypes in pancreatic tumor tissues. Quantitative computation of these principal fibroblast subtypes, intratumoral collagen, and CD8-positive T cells using whole-tissue sections from 215 treatment-naïve pancreatic cancers allowed us to identify three distinct stroma types (collagen-rich stroma, FAP-dominant-fibroblast-rich stroma, and ACTA2-dominant-fibroblast-rich stroma) that were differentially associated with patient outcomes. Besides, these three stroma types correlated with transcriptome-based molecular subtypes, tumor SMAD status, and restricted CD8-positive cell infiltration. Our human tissue–based quantitative analyses likely provided new insights into the clinical importance of stroma-based pancreatic cancer subtyping in facilitating the development of multidisciplinary treatment strategies against this lethal malignancy (Clin Cancer Res 2021; selected as cover image and one of highlighted papers).
Notes	
Genre	Research Paper

URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200254

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2020 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2021 年 3 月 29 日

研究代表者	所属	医学部中央診療施設等	職名	専任講師	補助額	300 （A） 千円
	氏名	眞杉 洋平	氏名（英語）	Yohei Masugi		

研究課題（日本語）

膵がん組織における相互排他的な線維芽細胞亜型の制御機構の解明及び患者層別への応用

研究課題（英訳）

Elucidation of the clinical significance and regulatory mechanisms of mutually exclusive fibroblast subtypes in the pancreatic cancer microenvironment

１．研究成果実績の概要

ヒト膵癌組織には、癌細胞の数倍もの間質が混在し、それらは互いに密接に関わりつつ癌の進展に寄与する。近年、膵癌における免疫・間質を含めた腫瘍微小環境を包括的に標的とした新規治療戦略の開発が試みられ、成果を上げつつある。本研究は、膵癌間質を多角的な定量指標（線維芽細胞サブタイプ、コラーゲン沈着量、免疫細胞浸潤等）により特徴化し、臨床病理学的意義を持つ膵癌患者層別を提唱する（目的1）、有力な治療標的候補として見出した、相互排他的な線維芽細胞サブタイプの制御機構を解明する（目的2）、の 2 項目を達成し、膵癌に対する新規治療戦略の道標となる成果を創出する。本年度、次の研究成果を得て、目的1を概ね達成した。まず膵癌組織切片を用いた多重蛍光染色を行い、ACTA2（alpha smooth muscle actin）及び FAP（fibroblast activation protein alpha）の発現レベルにより相互排他的に認識される 2 種類の線維芽細胞サブタイプを見出し、それらがヒト膵がんにおける主要な間質細胞であることを見出した。次に、組織内局在を保ったまま、これら線維芽細胞サブタイプならびにコラーゲン量をピクセル単位で測定することを可能にした組織定量システムを開発した。この新規技術を用いることで、予後・免疫反応を含む詳細な分子病理学的情報の付与された患者検体 215 例の未治療膵癌の全切除切片について、癌間質の組成を測定した。次いで、間質組成により膵癌間質を①collagen-rich type ②FAP-dominant-fibroblast-rich type ③ACTA2-dominant-fibroblast-rich type の 3 つに分類すると、患者予後はきれいに層別化された。さらに、各々の間質タイプを有する膵癌は、癌細胞の分子学的性格（網羅的遺伝子発現に基づく分子サブタイプ・SMAD4 遺伝子異常）や免疫抑制活性が有意に異なることが示された。ヒト臨床検体を用いた客観的かつ再現性の高い解析を基盤とするこれら一連の研究成果は、膵癌に対する新規治療戦略開発ならびに患者層別化のために示唆に富む結果であり、原著論文として報告した(Clin Caner Res 2021；表紙に採用、ハイライトペーパーに選出)。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Pancreatic cancer is characterized by abundant desmoplastic stroma. Emerging evidence suggests a promising therapeutic effect of stroma-modifying therapies that target immune and non-immune stromal elements in the pancreatic cancer microenvironment. Specific aims of this study are as follows:
Aim 1: To develop a novel classification system of pancreatic cancer patients according to quantitative data on major stromal factors (i.e., collagen, fibroblasts, tumor-infiltrating immune cells)
Aim 2: To elucidate regulatory mechanisms of two mutually-exclusive fibroblast subtypes in the pancreatic cancer microenvironment.

This year, we successfully obtained the following results to achieve Aim 1. Firstly, we identified mutually exclusive fibroblast subtypes that express distinct levels of ACTA2 (alpha smooth muscle actin) and FAP (fibroblast activation protein alpha) as dominant fibroblast subpopulations within human pancreatic cancer tissues, using multiplex fluorescent immunohistochemistry Then, we developed a pixel-by-pixel image analysis system to digitally differentiate and quantify these fibroblast subtypes in pancreatic tumor tissues. Quantitative computation of these principal fibroblast subtypes, intratumoral collagen, and CD8-positive T cells using whole-tissue sections from 215 treatment-naïve pancreatic cancers allowed us to identify three distinct stroma types (collagen-rich stroma, FAP-dominant-fibroblast-rich stroma, and ACTA2-dominant-fibroblast-rich stroma) that were differentially associated with patient outcomes. Besides, these three stroma types correlated with transcriptome-based molecular subtypes, tumor SMAD status, and restricted CD8-positive cell infiltration. Our human tissue-based quantitative analyses likely provided new insights into the clinical importance of stroma-based pancreatic cancer subtyping in facilitating the development of multidisciplinary treatment strategies against this lethal malignancy (Clin Cancer Res 2021; selected as cover image and one of highlighted papers).

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）
Ogawa Y., Masugi Y., Abe T., Yamazaki K., Ueno A., Fujii-Nishimura Y., Hori S., Yagi H., Abe Y., Kitago M., Sakamoto M.	Three Distinct Stroma Types in Human Pancreatic Cancer Identified by Image Analysis of Fibroblast Subpopulations and Collagen	Clin Cancer Res	2021 Jan