

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07461

研究課題名(和文) 生検膵癌でのRNA結合蛋白 - mRNA複合体発現解析と術前病理診断への応用

研究課題名(英文) Molecular and immunohistochemical analysis of the PODXL and ITGB1 overexpression in pancreatic cancer preoperatively obtained by endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration

研究代表者

降幡 睦夫 (FURIHATA, Mutsuo)

高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・教授

研究者番号：10209158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：超音波内視鏡下穿刺吸引法(Endoscopic Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration：EUS-FNA)による材料を用いた膵癌における術前診断への実用化検討のため、手術適応にある膵癌患者のEUS-FNA生検材料を用い、膵癌関連遺伝子のPODXLとITGB1過剰発現を分子生物学的に検討し、その結果を基に膵癌組織における発現及び各蛋白発現の組み合わせパターンに対し疫組織化学的検討を行い、術前生検材料による遺伝子発現異常を手術材料と比較することで、浸潤進達度・遠隔転移等の臨床病理学的諸因子との関連や、多変量解析による予後評価を行うことが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在膵癌は本邦癌死因の上位を占め、5年生存率も5%以下であり、代表的な予後不良悪性腫瘍の一つである。昨今EUS-FNAにおいて機器及び手技等の改良改革が進み、近年特にその穿刺針改良が施され、得られる検体も組織学的検討に適した質・量を満たす生検材料となり、これら生検及び手術材料から得られた免疫組織化学的検討結果を比較することで、両者の高一致率を確認し、術前生検による癌関連蛋白発現結果をもちいた評価及び組織診断に基づき、術前及び術直後からの化学・放射線療法の選択適応性の有無を評価確立することで、膵癌術後治療方針決定にも応用可能な生検材料による病理診断の可能性を示唆することが出来た。

研究成果の概要(英文)：We investigate whether PODXL and ITGB1 are useful preoperative markers for the prognosis of postoperative pancreatic cancer patients in comparison with the TNM staging system.

Immunohistochemistry was performed using anti-PODXL and anti-ITGB1 antibodies on pancreatic cancer tissue samples preoperatively obtained by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. Univariate analysis revealed that PODXL, TNM stage, lymphatic invasion and the combination of PODXL with ITGB1 are correlated with postoperative survival. Multivariate analysis demonstrated TNM stage and the combination of PODXL with ITGB1 to be correlated with postoperative survival, and the combination of PODXL with ITGB1 most accurately predicted the postoperative outcomes of pancreatic cancer patients before resection. Therefore, upregulation of PODXL and ITGB1 may indicate preoperative neoadjuvant therapy for pancreatic cancer patients by accurately predicting the postoperative prognosis.

研究分野：基礎医学・人体病理学

キーワード：膵癌 超音波内視鏡下穿刺吸引法 免疫組織化学 術前診断 患者予後

### 1. 研究開始当初の背景

現在、膵管癌は本邦癌死因の上位を占め、5年生存率も5%以下であり、代表的な予後不良悪性腫瘍の一つである。膵癌術前診断としては超音波内視鏡下穿刺吸引法 (Endoscopic UltraSound-guided FineNeedle Aspiration: EUS-FNA) による材料を用いた細胞組織学的検討が行われてきたが、概して提出材料の多くは微量の細胞レベルであり、構築を保った十分量の組織レベル検体はごく僅かであることが多く、膵管癌であるか否かは基より、非腫瘍性か腫瘍性であるかの判も含め病理診断に苦慮する症例は皆無とは言いがたい。昨今EUS-FNAにおいて機器及び手技等の改良改革が進み、近年特にその穿刺針改良が施され、得られる検体も組織学的検討に適した質・量を満たす生検材料となり、現在これら材料をもちいた膵癌における術前診断への実用化が検討されつつある。

### 2. 研究の目的

EUS-FNAにて採取された生検材料を用いて、膵癌細胞運動・浸潤・葉状仮足形成に関与するRNA結合蛋白として我々が同定した候補のうち、特にその過剰発現と膵癌の浸潤転移及び患者予後との関係で有意差の得られた膵癌関連遺伝子のPODXLとITGB1過剰発現を分子生物学的に検討し、その結果を基に膵癌組織における発現及び各蛋白発現の組み合わせパターンに対し疫組織化学的検討を行い、術前生検材料による遺伝子発現異常を手術材料と比較することで、浸潤進達度・遠隔転移等の臨床病理学的諸因子との関連や、多変量解析による予後評価を行う。それによって膵癌生検材料による早期段階での治療方針決定や、手術症例における浸潤・転移能を備えた進行癌との鑑別診断の可能性や、その後の外科療法、化学療法等の選択や、再燃癌治療方針決定に利用できることを示すことを目的とする。

### 3. 研究の方法

今回の研究においては、原則として取り扱う膵癌を、膵癌取り扱い規約 (第6版補訂版) に基づく乳頭腺癌、管状腺癌、低分化腺癌の3つの浸潤性膵管癌とするが、比較材料として、上皮内癌症例及び浸潤性膵管癌に付随した上皮内癌病変も取り扱い症例及び材料に含める。高知大学医学部病理学教室及び医学部附属病院に関連した膵管癌の、生検及び手術症例を把握集計し、組織型、進達度、リンパ節転移及び遠隔転移の有無等の、臨床病理学的諸因子に関する基本的な統計学的解析を行う。

生検及び外科的に切除された膵癌に対する免疫組織化学染色で用いる抗体は抗RNA結合蛋白抗体 (特に抗PODXL抗体、抗ITGB1抗体) で、膵癌生検及び手術症例の免疫組織化学的解析に関しては、膵管癌生検及び手術材料の病理組織標本を用い、結合mRNA由来蛋白に対する抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。膵管癌手術症例に関しては、結合mRNA由来蛋白発現と、組織型、進達度、リンパ節及び遠隔転移の有無等の臨床病理学的諸因子と患者予後との関連を、多変量解析を主体に統計学的に病態解析した。免疫組織化学的染色に関してはVentana社の自動免疫染色装置Ventana automated IHC systemを使用し、染色の効率化及び染色性の均一化を図った。

#### 4 . 研究成果

手術適応にある膵癌患者 ( stage 0, IA, IB, IIA, IIB, III ) のEUS-FNAによる生検材料を用いて、我々が今まで膵癌関連遺伝子産物として同定した癌細胞運動・浸潤に  
関与するRNA結合蛋白、特に抗PODXL抗体、抗ITGB1抗体を用いてのそれらの過剰発現を  
分子生物学的に検討し、その結果を基に膵癌手術材料組織における発現及び各蛋白発  
現の組み合わせパターンに対して疫組織化学的検討を行い、これら生検及び手術材料  
から得られた免疫組織化学的検討結果を比較することで、両者の高一致率を確認した  
( Taniuchi K et al. PLoS One, 17(3), e0265172, 2022 )。以上、術前生検による癌  
関連蛋白発現結果をもちいた評価及び組織診断に基づき、術前及び術直後からの化  
学・放射線療法の選択適応性の有無を評価確立することで、膵癌術後治療方針決定に  
も応用可能な生検材料による病理診断の可能性を示唆することが出来た。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Taniuchi K, Ueno M, Yokose T, Sakaguchi M, Yoshioka R, Ogasawara M, Kosaki T, Naganuma S, Furihata M	4. 巻 17(3)
2. 論文標題 Upregulation of PODXL and ITGB1 in pancreatic cancer tissues preoperatively obtained by EUS-FNAB correlates with unfavorable prognosis of postoperative pancreatic cancer patients.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0265172.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0265172.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fukuhara H, Yamamoto S, Lai HW, Karashima T, Kurabayashi A, Furihata M, Inoue K	4. 巻 38
2. 論文標題 Real-world experience with 5-aminolevulinic acid for photodynamic diagnosis of bladder cancer (2nd report): Reduced bladder recurrence after PDD-TURBT.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Photodiagnosis Photodyn Ther.	6. 最初と最後の頁 102757
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pdpdt.2022.102757.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka C, Furihata K, Naganuma S, Ogasawara M, Yoshioka R, Taniguchi H, Furihata M, Taniuchi K	4. 巻 35(2)
2. 論文標題 Establishment of a mouse model of pancreatic cancer using human pancreatic cancer cell line S2-013-derived organoid.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Human cell.	6. 最初と最後の頁 735-744
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13577-022-00684-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kurabayashi A, Furihata K, Iwashita W, Tanaka C, Fukuhara H, Inoue K, Furihata M, Kakinuma Y	4. 巻 290
2. 論文標題 Murine remote ischemic preconditioning upregulates preferentially hepatic glucose transporter-4 via its plasma membrane translocation, leading to accumulating glycogen in the liver.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life sciences.	6. 最初と最後の頁 120261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2021.120261.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Inoue K, Fukuhara H, Yamamoto S, Karashima T, Kurabayashi A, Furihata M, Hanazaki K, Lai HW, Ogura SI	4. 巻 113(2)
2. 論文標題 Current status of photodynamic technology for urothelial cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 392-398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15193.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kameyama A, Ye J, Shimomura A, Yokohira M, Nakano-Narusawa Y, Yamakawa K, Mukai Y, Sanomura T, Okuyama H, Miyatake N, Furihata M, Tanaka C, Kitazawa R, Bando Y, Suemitsu Y, Kojima M, Mino-Kenudson M, Suzuki Y, Okano K, Matsuda Y	4. 巻 21(8)
2. 論文標題 Reproducibility and prognostic significance of area of residual tumor (ART) in post-neoadjuvant resections of pancreatic ductal adenocarcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pancreatology.	6. 最初と最後の頁 1506-1515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pan.2021.09.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukuhara H, Kurabayashi A, Furihata M, Setuda S, Takahashi K, Murakami K, Tanaka T, Inoue K	4. 巻 29
2. 論文標題 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic diagnosis using fluorescence ureterorenoscopy for urinary upper tract urothelial carcinoma ~Preliminary prospective single centre trial~	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Photodiagnosis Photodyn Ther.	6. 最初と最後の頁 101617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pdpdt.2019.101617.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurabayashi A, Iwashita W, Tanaka C, Naganuma S, Furihata M, Inoue K, Kakinuma Y	4. 巻 253
2. 論文標題 Murine Remote Ischemic Preconditioning Suppresses Diabetic Ketoacidosis by Enhancing Glycolysis and Entry Into Tricarboxylic Acid Cycle in the Liver.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Life Sci.	6. 最初と最後の頁 117748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2020.117748.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taniuchi K, Furihata M, Naganuma S, Sakaguchi M, Saibara T	4. 巻 14(6)
2. 論文標題 Overexpression of PODXL/ITGB1 and BCL7B/ITGB1 accurately predicts unfavorable prognosis compared to the TNM staging system in postoperative pancreatic cancer patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0217920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0217920.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 倉林 睦, 岩下和花, 田中千遥, 長沼誠二, 降幡睦夫
2. 発表標題 糖尿病ケトアシドーシスに対する後肢虚血-再灌流刺激の効果とその機序
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長沼誠二, 齋藤伴樹, 水本綾佳, 松本光太郎, 小松 葵, 倉林 睦, 田中千遥, 岩下和花, 大橋真也, 武藤 学, 玉野井冬彦, 降幡睦夫
2. 発表標題 鶏卵CAM (Chorioallantoic Membrane) を用いた食道扁平上皮癌患者 腫瘍由来移植モデルの病理組織像
3. 学会等名 第38回日本ヒト細胞学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 常風友梨, 谷内恵介, 長沼誠二, 内田一茂, 降幡睦夫
2. 発表標題 膀胱癌細胞の運動・浸潤に関わるWASF2の固定
3. 学会等名 第38回日本ヒト細胞学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長沼誠二, 谷内恵介, 耕崎拓大, 坪井麻記子, 倉林 睦, 田中千遥, 岩下和花, 降幡睦夫
2. 発表標題 膵癌予後規定因子 ARHGEF4 の同定
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北島清彰, 北島彰子, 竹内 保, 降幡睦夫, 宇高恵子
2. 発表標題 WT1 抗原を標的とした前立腺癌に対するペプチドワクチン療法の臨床試験 (第 20 報)
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉林 睦, 岩下和花, 田中千遥, 長沼誠二, 降幡睦夫
2. 発表標題 後肢虚血-再灌流刺激がもたらす糖尿病ケトアシドーシスに対する抑止効果とその機序に関する検討
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	倉林 睦  (KURABAYASHI Atsushi)  (40346713)	高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・准教授   (16401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷内 恵介  (TANIUCHI Keisuke)  (50626869)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・准教授    (16401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関