

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07401

研究課題名(和文)十二指腸癌発生過程の分子病理学的解析

研究課題名(英文)Molecular analysis of duodenal carcinogenesis

研究代表者

関根 茂樹(Shigeki, Sekine)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医長

研究者番号：10321879

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)：144病変の十二指腸腺腫、54病変の十二指腸癌を対象として、形質発現、ミスマッチ修復異常および遺伝子変異の解析を行った。APC変異が腺腫で高頻度である一方(85%)、腺癌では低頻度であったことから(9%)、臨床的に治療対象となっている十二指腸腺腫の多くは浸潤癌への進展リスクが低い病変であると考えられた。腺腫では組織学的亜型ごとに特徴的な遺伝子変異が認められ、形態的分類の妥当性が示された。腺腫、腺癌のいずれにおいてもGNAS変異が胃型形質を示す腫瘍に特徴的な分子異常であると考えられた。ミスマッチ修復異常は十二指腸癌に高頻度に認められ、治療選択の観点からもその検索の臨床的重要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在臨床的に切除されている十二指腸腺腫の多くが、比較的浸潤癌への進展リスクの低い病変であることが示唆された。また、十二指腸癌の発生経路の分子生物学的多様性がより明らかになった。十二指腸癌はミスマッチ修復異常を示す腫瘍の頻度が高く、その検索の臨床的意義が高いと考えられた。

研究成果の概要(英文)：A total of 144 duodenal adenomas and 54 adenocarcinomas were subjected to analysis for immunohistochemical phenotypes, mismatch repair status, and genetic alterations. It was observed that APC mutations were frequent in adenomas but rare in adenocarcinomas, indicating that clinically detected adenomas were generally associated with a low risk of malignant progression. Furthermore, distinct genetic alterations were found in specific adenoma subtypes, supporting the validity of the current morphological classification. Notably, GNAS mutations were identified as a genetic characteristic of gastric-type adenomas and adenocarcinomas. Additionally, a high frequency of mismatch repair deficiency was observed in adenocarcinomas, underscoring the clinical significance of mismatch repair deficiency testing.

研究分野：病理学

キーワード：十二指腸 腺腫 腺癌

1. 研究開始当初の背景

腸型腺腫は十二指腸癌の主な前駆病変と考えられてきた。特に家族性大腸腺腫症では腸型腺腫を背景とした発癌が古くから知られており、十二指腸においても大腸と同様の adenoma-carcinoma sequence が主な発癌経路と考えられてきた。一方で、近位十二指腸においては胃上皮分化を示す腺癌が発生し、これらは腸型腺腫からの進展とは異なる経路を介した発癌である可能性が示唆されている。特に近年、非乳頭部十二指腸癌の解析から、胃上皮分化を示す腺癌は近傍にしばしば胃腺窩上皮化生または異所性胃粘膜を伴っていることが報告されており、これらの異所性胃上皮が胃型形質を示す腺癌の発生に関わっていることが示唆される。

十二指腸は表層を被覆する腸型上皮に加え、粘膜下層にブルンナー腺と呼ばれる分泌腺を有している。このブルンナー腺の存在する領域では潰瘍や炎症などに伴う再生・過形成性変化において、胃腺窩上皮が出現することが知られており、胃上皮化生は粘膜修復過程に伴って、一過性にブルンナー腺から出現する反応性変化と考えられてきた。また、もう1つの異所性胃上皮として、十二指腸近位部には異所性胃底腺粘膜がしばしば認められ、これは先天性異所性組織と考えられてきた。

しかしながら、これまでに我々は十二指腸に認められるこれらの異所性胃型上皮を対象として遺伝子変異検索を行い、高頻度に *GNAS*, *KRAS* 変異が認められることを明らかにしている。この所見は反応性ないし異所性組織と考えられてきたこれらの異所性胃型上皮の少なくとも一部は、遺伝子変異を背景とした増殖性病変であることを示すものである。さらに、我々は十二指腸癌における *GNAS* 変異が、胃型形質を示す腺癌にも共通して認められることを見出しており、この所見はさらに遺伝子変異の観点からも異所性胃上皮が胃型腺癌の前駆病変であることを支持する所見と考えられる(図1)。

このように、典型的な腸型、胃型の腺癌はそれぞれ、腸型腺腫、異所性胃上皮を背景として発生することが示唆されているが、十二指腸癌全体を大きくこれらの2群に分けてその組織発生を説明できるかは不明である。また、これまでの十二指腸癌の遺伝子解析では、大腸癌でも多く認められる *TP53*, *KRAS*, *APC*, *SMAD4*, *PIK3CA* などの変異に加えて、ミスマッチ修復異常や *ERBB2* 変異が比較的高頻度に見られると報告されているが(表1) これらの分子異常を十二指腸癌発生過程の中でどのように位置づけていくべきか、現時点では不明である。

一方、異所性胃上皮は極めてありふれた病変であり、これが胃型腺癌の前駆病変であったとしても、治療やフォローアップの対象病変になるとは考えにくい。また、腺腫に関しても腺癌への進展リスクについては十分にわかっていない。非浸潤性十二指腸腫瘍に関する臨床上的の問題点として、解剖学的な構造および壁の菲薄さなどのため、胃・大腸と比較して内視鏡切除と比較して高頻度に穿孔などの合併症が生じることが挙げられる。これらのことから、十二指腸癌前駆病変については、適切な臨床的対応を考慮する上で、その進展経路のみならず、浸潤癌への進展リスクを明らかにすることが必要と考えられる

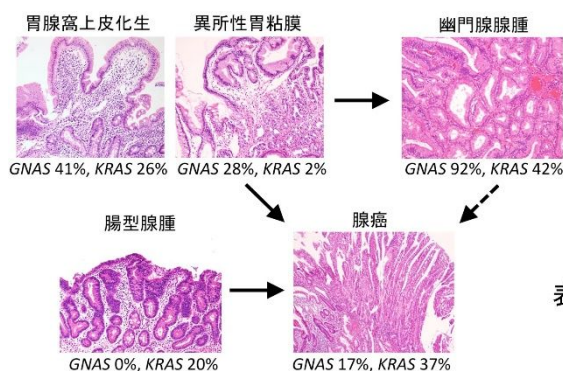


図1: *GNAS*および*KRAS*変異の頻度から想定される胃型・腸型十二指腸癌の発生過程(文献1, 3)

これまでに十二指腸癌で高頻度に変異が報告されている遺伝子

<i>TP53</i>	<i>PIK3CA</i>
<i>KRAS</i>	<i>ARID1A</i>
<i>APC</i>	<i>CDKN2A</i>
<i>SMAD4</i>	<i>ERBB2</i>

表1: 各報告で10%以上の症例で変異が報告されている遺伝子. 赤字は複数の論文で共通するもの

Laforest A. *Eur J Cancer*. 2014
Schrock AB. *JAMA Oncology*. 2017
Hänninen UA. *Plos Genetics*. 2018

2. 研究の目的

本研究では非浸潤性病変から十二指腸癌に至る発生経路の多様性を形態および分子病理学的解析により明らかにすることを目指す。この目的のため、十二指腸癌発生の各段階にあたる、異所性胃上皮・腺腫・腺癌などの非浸潤性病変を主な対象として、遺伝子異常と病理学的所見の統合的な解析を行うことで、十二指腸腫瘍の進展のそれぞれの段階における形態的特徴と遺伝子変異の関係を解析する。

3. 研究の方法

144 病変の十二指腸腺腫のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて、免疫染色による形質発現解析、ミスマッチ修復タンパク発現解析および次世代シーケンサーによる遺伝子変異解析を行った。また、これらの腺腫がどのような腺癌に進展していくのかを明らかにするため、54

病変の十二指腸癌を同様の手法で解析し、形質と遺伝子変異の観点から比較を行った。

4. 研究成果

十二指腸腺腫は5年程度の検索で解析に必要と考えられる症例を確保することが可能であったが、一方、十二指腸腺腫は極めてまれな腫瘍であるため、解析対象症例を蒐集するために20年程度の範囲で検索を行った。予備的検討を行った結果、古い検体では遺伝子変異解析に用いるDNAの質が低く、広範な変異解析を行うことが難しかった。このため、変異解析はこれまでの報告で早期病変の段階から頻度が高いとされている遺伝子、*APC*, *CTNNB1*, *RNF43*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *GNAS*の変異集積領域を対象とした。

解析対象とした腺腫および腺癌の比較からは年齢、性別、十二指腸内での発生部位には有意な差を認めなかった。性別、発生部位の一致は腺腫が腺癌の前駆病変であることを支持する所見と考えられる。一方、年齢は腺腫から腺癌への進展にかかる時間を考慮すると腺癌の年齢が高いことが予想されるが、これに反した所見であった。

免疫染色では腺腫は組織学的分類に対応する粘液の発現が認められた。腺癌では免疫組織学的形質は臨床病理学的特徴との相関は見られなかった(図2)。遺伝子変異解析においては*APC*変異集積領域の変異は腺腫において高頻度である一方(85%)、腺癌では低頻度であった(9%)。腺腫は形態的に腸型腺腫(86%)、幽門腺腫(7%)、胃型腺腫NOS(6%)、腺窩上皮型腺腫(1%)に分類した。サブタイプごとの解析では腸型腺腫が最も高頻度に

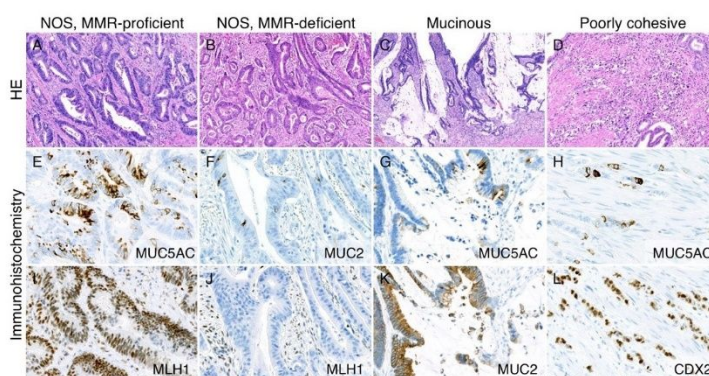


図2：十二指腸腺腫における免疫染色

*APC*変異を有していたが(89%)、幽門腺腫(70%)、その他の胃型腺腫でも認められた(56%, 図3)。腺腫と腺癌における*APC*変異頻度の違いは、*APC*変異を有する腺腫が腺癌への進展リスクが低い病変であることを示唆すると考えられた。腫瘍の形質発現の相関の検討からは、腺腫、腺癌のいずれにおいても*GNAS*変異がMUC5AC発現を示す病変に高頻度に認められることから、胃型形質を示す腫瘍に特徴的な分子異常であると考えられた。

ミスマッチ修復異常は腺腫では極めてまれであったが(1%)、腺癌では20%に認められた。ミスマッチ修復異常は十二指腸癌に高頻度であり、免疫チェックポイント阻害剤使用などの治療選択の観点から、その検索が臨床的に重要であると考えられる。また、ミスマッチ修復異常を示す症例の半数異常はリンチ症候群の診断がついている、もしくはベセスダ基準を満たしており、リンチ症候群関連腫瘍としての十二指腸癌の重要性が示唆される病変であった。

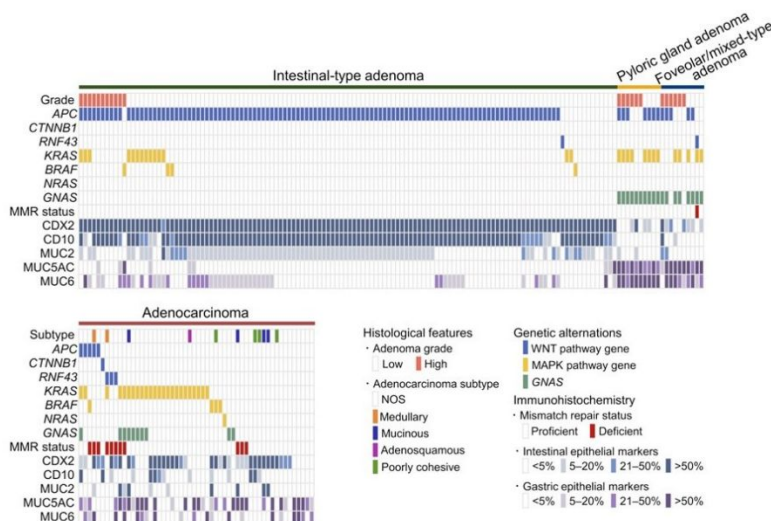


図3：十二指腸腺腫・腺癌における遺伝子変異と形質の関連

遺伝性腫瘍症候群診断の観点からも十二指腸癌におけるミスマッチ修復異常検索の重要性が示唆される。

以上の結果をもとに、現在、十二指腸現在、明確に類型化がされていないが、類型化が可能と考えられる非浸潤性腫瘍について、より詳細な解析を進めている。また、ミスマッチ修復異常を伴う腫瘍において、リンチ症候群に伴う病変と散発例の特徴に注目し、検索を進めている。

文献：Ishizu K, Hashimoto T, Naka T, Yatabe Y, Kojima M, Kuwata T, Nonaka S, Oda I, Esaki M, Kudo M, Gotohda N, Yoshida T, Yoshikawa T, Sekine S. APC mutations are common in adenomas but infrequent in adenocarcinomas of the non-ampullary duodenum. *J Gastroenterol.* 2021 Nov;56(11):988-998. doi: 10.1007/s00535-021-01823-x.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ishizu Kenichi, Hashimoto Taiki, Naka Tomoaki, Yatabe Yasushi, Kojima Motohiro, Kuwata Takeshi, Nonaka Satoru, Oda Ichiro, Esaki Minoru, Kudo Masashi, Gotohda Naoto, Yoshida Teruhiko, Yoshikawa Takaki, Sekine Shigeki	4. 巻 56
2. 論文標題 APC mutations are common in adenomas but infrequent in adenocarcinomas of the non-ampullary duodenum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 988 ~ 998
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-021-01823-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------