

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592006

研究課題名(和文) グルコース依存性インスリン刺激ポリペプチドの膵発生と膵癌進展における基盤的研究

研究課題名(英文) Research of the impact of glucose dependent insulintropic polypeptide on pancreatogenesis and on pancreas cancer development

研究代表者

小泉 将之 (Koizumi, Masayuki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・その他

研究者番号：90512351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：臓器発生と発癌は、様々な点で類似点が見られる。本研究は、血糖降下作用をもたらすインクレチンと呼ばれるホルモンのうちGIPに着目し、臓器発生と発癌の類似性の観点から膵細胞の発生における関与および膵癌の進展における関与を明らかにすることを目的とした。膵発生においてGIPが無くなると細胞が細胞に変化する現象が認められた。膵癌におけるGIPおよびGIP受容体の発現パターンを解析したところ、GIP受容体にて癌の進展とともに発現減少が見られ、さらに膵癌の悪性度予測因子である膵発生特異的因子Pdx1との発現に相関があり、pdx1を介するインクレチンの膵癌進展への関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：There are several similarities between organogenesis and carcinogenesis. In this study, we focused on one of the incretin family, GIP(glucose-dependent insulintropic polypeptide) and analyzed the role of GIP on pancreatogenesis as well as on carcinogenesis of the pancreas. Loss of GIP receptor in mouse embryo shows transition of the beta cell to the alpha cell in the developing pancreas, which implies GIP commitment on beta cell development. In the pancreatic cancer specimen, the expression of GIP receptor but not of GIP itself diminishes as the tumor develops from low grade PanIN to the authentic carcinoma. Moreover, the expression of GIP receptor concomitantly diminishes as the Pdx1 decreases in the pancreatic cancer. We previously reported Pdx1 to be an unfavorable prognostic factor, and these results suggest that the GIP develops pancreatic cancer through Pdx1 during the initial stage of the pancreas carcinogenesis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：インクレチン GIP 膵癌 膵発生

### 1. 研究開始当初の背景

食後には血糖を低下させるホルモンのインスリンが膵臓から分泌されるが、糖を経口投与すると経静脈投与時よりも大きなインスリン作用が現れることが明らかになり、このことがインクレチンというホルモン概念の元となっている。その刺激は主に門脈血のブドウ糖であるとされてきたが、消化管由来因子にも分泌刺激を行う能力があるものとされてきた。この消化管粘膜上皮内分泌細胞から分泌され、膵細胞でのインスリン分泌を刺激し血糖降下作用をもたらすインクレチンホルモンは近年、インスリンの働きを増強するとこのことで糖尿病治療薬として注目されている。このインクレチンホルモンはグルカゴンと呼ばれるホルモンの前駆体から作られ、GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide) と GLP-1 (glucagon-like peptide-1) の二種類がある。これまで、インクレチンの作用は治療的観点から血糖降下作用にのみ注目されることが多く、その作用の強い GLP-1 を中心に研究は進んできたが、GIP に関しては機能、動態に関しては未解明であった。

### 2. 研究の目的

本研究では、インクレチン、特に GIP の血糖降下作用以外の作用として膵発生への関与を明らかにすることで、傷害された細胞再生能の回復を目的とした治療的介入の可能性について検討することを目的とした。

更に膵発生と膵癌進展には増殖スピードや転写因子の発現パターンなど、様々な点で類似点が見られることから、膵発生における関与を明らかにし、さらに膵癌進展に演繹することでインクレチンホルモンの膵癌発生、進展における関与を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

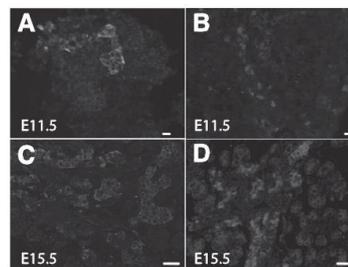
発生期の膵臓における経時的な GIP の局在を同定するために、マウス発生個体の様々な時期の切片を用いて免疫組織学的染色を行う。さらに GIP は分泌蛋白であるため局在部位と産生部位が異なっていないかの確認で in situ hybridization を行う。また、GIP の膵発生における関与を探るために、胎生期の膵臓をマウス胎児より摘出し、3次元培養を行いそこにアンチセンス、siRNA 等を用いて GIP のシグナル抑制実験を行う。以上の実験により、膵臓発生における GIP の関与の可能性、および GIP の膵発生における役割が明らかになる。

ついで、ヒト膵癌および PanIN における GIP、GIPR の発現を検討し、どの段階で GIP が関与するかの検討を行う。更に、ヒト標本において臨床病理学的因子との検討をおこない、膵癌の予後予測因子になり得るか検討を行う。

### 4. 研究成果

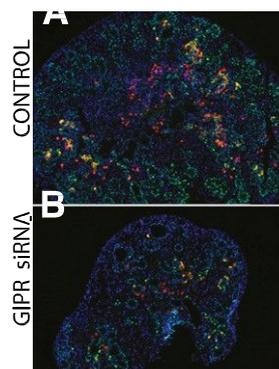
まず、GIP が胎生期にどのようなタイミングでどの部位に発現しているかを検討した。下図のごとく、GIP 陽性細胞は胎生期 9.5 日から認められ、18.5 日まで継続して発現していた。GIP は膵発生のマスターゾーンである Pdx1 およびインスリンの陽性細胞には発現せず、むしろ、グルカゴン陽性細胞と一致して発現が認められた。一方、GIP 受容体は胎生期 15.5 日より前にはグルカゴン陽性細胞に、それ以後にはインスリン細胞に一致し、GIP がグルカゴン陽性細胞から分泌されインスリン陽性細胞において機能を発揮している可能性が示された。

GIP                  GIP 受容体



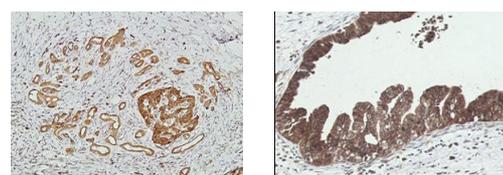
マウス胎生期膵臓の3次元培養において GIP 発現を抑制することによる膵発生への影響を検討したところ、下図の様にインスリン発現細胞が減少し、同時に PDX1 陽性細胞も減少していた。一方、アミラーゼ産生細胞は変化が認められなかった。すなわち、GIP は以前より報告のあった血糖降下作用に加えて、膵発生においてはインスリン産生細胞への分化を促していることが示唆された。

INSULIN / PDX-1 / DAPI



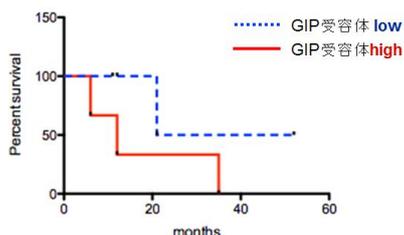
次いでヒト膵癌における GIP の関与を見る目的でヒト膵癌病理標本において GIP 受容体の染色を行ったところ、下図のように前癌病変とされる PanIN および進行癌に GIP は Pdx1 とともに強く発現が見られた。

膵癌                          前癌病変



この発現は興味深いことに Pdx1 の発現部位と一致した。

更に臨床病理学的解析を行ったところ、下記のごとく GIP 受容体発現が多い症例に予後が悪い傾向にあり、GIP は膵癌において Pdx1 を介して悪性度に関与している可能性が示唆された。



以上より GIP は膵癌における悪性化に関与する一因子で有り、その作用は Pdx1 を介しておこなわれている可能性が示唆された。

残念ながら膵癌細胞株に対する GIP 抑制での増殖抑制実験、および GIP のダイレクトな Pdx1 誘導実験は時間、予算の都合上完遂できていない。また、研究期間中に治療的応用に至るまでの結論は得られなかったものの、膵発生、膵癌における GIP の役割について基礎データが蓄積しつつ有り、引き続き粘りづよく研究を進めていく方針である。今後の注目点は、インクレチンの Pdx1 を介した遊走能の獲得、発生、発癌進展におけるその機能的意義である。

#### 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件) 全て査読有り

Prasadan K, Koizumi M, Tulachan S, Shiota C, Lath N, Paredes J, Guo P, El-Gohary Y, Malek M, Shah S, Gittes GK. The expression and function of glucose-dependent insulinotropic polypeptide in the embryonic mouse pancreas.

Diabetes. 2011 Feb;60(2):548-54.

doi: 10.2337/db09-0035.

Meng F, Takaori K, Ito T, Masui T, Kawaguchi M, Kawaguchi Y, Uemoto S.

Expression of SOX9 in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas.

Pancreas. 2014 Jan;43(1):7-14.

Doi: 10.1097/MPA.0b013e3182a70b2f.

Masui T, Kubota T, Aoki K, Nakanishi Y, Miyamoto T, Nagata J, Morino K, Fukugaki A, Takamura M, Sugimoto S, Onuma H, Tokuka A.

Long-term survival after resection of pancreatic ductal adenocarcinoma with para-aortic lymph node metastasis: case report.

World J Surg Oncol. 2013 Aug 14;11(1):195.

doi: 10.1186/1477-7819-11-195.

Masui T, Doi R, Kawaguchi Y, Uemoto S.

Delayed gastric emptying improved by straight stomach reconstruction with twisted anastomosis to the jejunum after pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (PPPD) in 118 consecutive patients at a single institution.

Surg Today. 2012 May;42(5):441-6.

doi: 10.1007/s00595-011-0097-1.

Masui T, Kubora T, Nakanishi Y, Aoki K, Sugimoto S, Takamura M, Takeda H, Hashimoto K, Tokuka A.

The flow angle beneath the gastrojejunostomy predicts delayed gastric emptying in Roux-en-Y reconstruction after distal gastrectomy. Gastric Cancer. 2012 Jul;15(3):281-6.

doi: 10.1007/s10120-011-0107-4.

Masui T, Doi R, Ogawa K, Kami K, Machimoto T, Seo S, Kawaguchi Y, Egawa H, Matsugu Y, Uemoto S.

Successful neoadjuvant treatment with radiochemotherapy and systemic chemotherapy for the locally advanced pancreatic head cancer: report of a case.

Hepatogastroenterology. 2011 Sep-Oct;58(110-111):1809-13.

doi: 10.5754/hge08054.

Zaima C, Kanai M, Ishikawa S, Kawaguchi Y, Masui T, Mori Y, Nishimura T, Matsumoto S, Yanagihara K, Chiba T, Mimori T.

A case of progressive digital ischemia after early withdrawal of gemcitabine and S-1 in a patient with systemic sclerosis.

Jpn J Clin Oncol. 2011 Jun;41(6):803-6.

doi: 10.1093/jjco/hyr045.

Nagai K, Doi R, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi Y, Yoshizawa A, Uemoto S.

Noninvasive intraductal papillary mucinous neoplasm with para-aortic lymph node metastasis: report of a case.

Surg Today. 2011 Jan;41(1):147-52. doi: 10.1007/s00595-009-4210-7.

Ito T, Doi R, Yoshizawa A, Sakikubo M, Nagai K, Kida A, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi Y, Manabe T, Uemoto S.

The distribution of atypical epithelium in main-duct type intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas.

J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2011 Mar;18(2):241-6; discussion 246-9. doi:

10.1007/s00534-010-0337-6.

Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, Hosokawa S, Elbahrawy A, Soeda T, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi M, Takaori K, Doi R, Nishi E, Kakinoki R, Deng JM, Behringer RR, Nakamura T, Uemoto S.

Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine.

Nat Genet. 2011 Jan;43(1):34-41.

doi: 10.1038/ng.722.

Kanai M, Yoshimura K, Asada M, Imaizumi A, Suzuki C, Matsumoto S, Nishimura T, Mori Y, Masui T, Kawaguchi Y, Yanagihara K, Yazumi S, Chiba T, Guha S, Aggarwal BB.

A phase I/II study of gemcitabine-based chemotherapy plus curcumin for patients with gemcitabine-resistant pancreatic cancer.

Cancer Chemother Pharmacol. 2011 Jul;68(1):157-64.

doi: 10.1007/s00280-010-1470-2.

〔学会発表〕(計 13 件)

増井俊彦、土井隆一郎、川口義弥、小泉将之、高折恭一、上本伸二、郭清度から見た膵頭十二指腸切除後脂肪肝発生病因子の検討第 111 回外科学会総会、2011 年 5 月 25 日(紙上開催)

増井俊彦、渡邊栄一郎、中西保貴、久保田豊成、青木恵子、高村通生、杉本真一、武田啓志、徳家敦夫、肝細胞癌派生の肝癌肉腫の 1 例、第 23 回肝胆膵外科学会定期集会、2011 年 6 月 8 日、新宿、東京都

増井俊彦、久保田豊成、青木恵子、中西保貴、杉本真一、高村通生、武田啓志、橋本幸直、徳家敦夫、残胃の形態から見た幽門側胃切除後の Roux stasis syndrome の検討、第 66 回消化器外科学会総会、2011 年 7 月 13 日、名古屋市、愛知県

増井俊彦、久保田豊成、青木恵子、中西保貴、杉本真一、高村通生、武田啓志、橋本幸直、徳家敦夫、#16 転移のある膵癌術後 10 年後の SMA 周囲再発に対して再切除施行し得た 1 例、第 42 回膵臓学会大会、2011 年 7 月 29 日、弘前市、青森県

増井俊彦、久保田豊成、青木恵子、中西保貴、杉本真一、高村通生、武田啓志、橋本幸直、徳家敦夫、膵頭部癌におけるバイパス術に対する至適時期の検討、第 112 回外科学会総会、2012 年 4 月、幕張、千葉県

増井俊彦、久保田豊成、青木恵子、中西

保貴、杉本真一、高村通生、武田啓志、橋本幸直、徳家敦夫、再発形式から見た膵癌神経廓清の意義、第 24 回肝胆膵外科学会定期集会、2012 年 6 月 8 日、新宿、東京都

増井俊彦、久保田豊成、青木恵子、中西保貴、杉本真一、高村通生、武田啓志、橋本幸直、徳家敦夫、膵癌に対する術後補助化学療法に至適時期の検討、第 67 回消化器外科学会総会、2012 年 7 月 13 日、名古屋市、愛知県

増井俊彦、水本雅己、川口道也、岩永康裕、高折恭一、上本伸二、遠隔転移を伴った膵内分泌腫瘍症例に対する外科的介入の意義、第 113 回外科学会総会、2013 年 4 月 11 日、博多市、福岡県

T. Masui, R. Doi, Y. Kawaguchi, M. Mizumoto, Y. Iwanaga, M. Kawaguchi, K. Takaori, S. Uemoto, Prognostic factors for patients with borderline resectable pancreatic cancer after neoadjuvant chemotherapy, 47th Annual Pancreas Club, Orland, Florida 05172013

増井俊彦、水本雅己、川口道也、岩永康裕、高折恭一、上本伸二、Borderline resectable 膵癌に対する術前 GEM/S1 療法の成績、第 25 回肝胆膵外科学会定期集会 2013 年 6 月 12-14 日、宇都宮市、栃木

増井俊彦、水本雅己、川口道也、岩永康裕、高折恭一、上本伸二、再発形式から見た膵内分泌腫瘍に対するリンパ節郭清の妥当性、第 68 回消化器外科学会総会 2013 年 7 月 17-19 日、宮崎市、宮崎県

増井俊彦、水本雅己、川口道也、岩永康裕、高折恭一、上本伸二、再発形式からみた術前化学放射線療法の照射野の検討、第 44 回膵臓学会大会 2013 年 7 月 25-26 日、仙台市、宮城県

増井俊彦、水本雅己、川口道也、岩永康裕、高折恭一、上本伸二、非機能性神経内分泌腫瘍に対する再発因子の検討、第 40 回日本膵切研究会 2013 年 8 月 30-31 日、高松市、香川県

〔図書〕(計 2 件)

増井俊彦、高折恭一、上本伸二、肝転移した神経内分泌腫瘍の治療戦略 - 外科切除 雑誌：肝胆膵 2013 May, 66(5) 811-819

増井俊彦、高折恭一、上本伸二、術前画像診断のポイントと術中の解剖認識、雑誌；臨床外科増刊号 2013 October, 68(11)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小泉 将之 (KOIZUMI MASAYUKI )  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：90512351

(2)研究分担者

増井 俊彦 (MASUI TOSHIHIKO )  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：20452352