

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462110

研究課題名(和文)膵管上皮内腫瘍性病変(PanIN)における分化誘導関連遺伝子発現の解析

研究課題名(英文) Analysis of trans-differentiation genes in pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN)

研究代表者

高折 恭一 (Takaori, Kyoichi)

京都大学・学内共同利用施設等・准教授

研究者番号：10329485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵管内乳頭状粘液性腫瘍(IPMN)におけるSex determining region Y-box 9 (SOX9)の役割に明らかにすることを目的に、IPMN78病変においてSOX9発現を免疫組織学的に検討した。SOX9は、正常膵、IPMN、浸潤癌で発現を認めた。IPMNではSOX9陽性細胞は乳頭状増生の低層部に限局していたが、浸潤癌ではSOX9の発現は上皮全体に拡大した。正常膵とIPMNにおいて、SOX9とCD44の発現パターンは類似しており、IPMNにおいてSOX9とCD44は共発現していることが認められた。結論として、SOX9発現の変化がIPMNの悪性化に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Sex determining region Y-box 9 (SOX9) is a gene which plays a key role in the embryologic development, differentiation and maintenance of organs. In order to evaluate the potential role of SOX9 in intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) of the pancreas, we collected 27 pathological tissues from 19 IPMN cases and assessed the expression of SOX9 by immunohistochemistry in 78 lesions. At the results, SOX9 was expressed in the normal pancreas, IPMN and invasive carcinoma. SOX9 positive cells were confined to the lower portions of the papillary structures of IPMN. However, SOX9 was expressed in the entire epithelium once the neoplasms advanced to high-grade dysplasia and invasive carcinoma. The expression pattern of SOX9 was similar to that of CD44 in a normal pancreas and IPMN. Double staining detected co-localization of SOX9 and CD44 in IPMN. In conclusions, changes in the SOX9 expression pattern may be involved in the mechanisms of the malignant progression of IPMN.

研究分野：膵臓外科

キーワード：膵腫瘍 膵癌 分化誘導関連遺伝子 SOX9

1. 研究開始当初の背景

膵癌は極めて予後不良の疾患であり、わが国における膵癌死亡者数は増加の一途を辿っている。膵が予後改善には、臨床的には効果的な集学的治療の実践が求められる。

さらに、治療を得る根本的な治療を開発するためには、早期診断・早期治療が必要であり、膵癌前駆病変の基礎的研究を行い、膵癌発生メカニズムを解明することが重要となる。1999年、米国 Johns Hopkins 大学の Hruban 教授ら欧米のシンクタンクのメンバーにより、膵癌前駆病変に対して膵管上皮内腫瘍性病変 (PanIN) という用語が提唱された。この当初の定義では、PanIN は末梢膵管にのみ存在すると定義されたが、本研究代表者の高折は、PanIN は末梢膵管のみではなく、中枢膵管を含めた全ての膵管系に存在することを指摘した。また、主膵管や分枝膵管に発生するとされる膵管内乳頭状粘液性腫瘍 (IPMN) も、膵癌の前駆病変であるため、PanIN と IPMN の鑑別法が必要であることも指摘してきた { J Gastroenterology 38:311-313, 2003 }。

そこで、2003年に高折と Hruban は国際共同会議を開催し、PanIN と IPMN の新しい定義を作成した { Am J Surg Pathol. 28:977-87:2004 }。この新しい定義によって、PanIN は膵管内のあらゆる部位に存在することが明示された。さらに、PanIN と IPMN の鑑別に関する指針を示し、膵癌前駆病変を網羅的に解析していく基盤を整えた。これまでの研究から、PanIN 病変には膵癌と同様の遺伝子異常が段階的に蓄積していることが認められており (図1)、膵癌前駆病変であることの根拠のひとつとなっている。

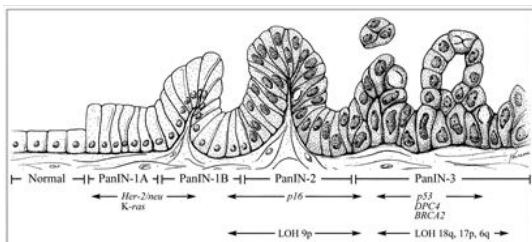


図1. PanIN の進展過程と遺伝子異常の模式図

下段に示した代表的な遺伝子異常の蓄積により、PanIN が進展していくと想定されている (Artwork by Jennifer Parsons, M.A.)

しかし、PanIN や IPMN をはじめとする膵癌前駆病変がどのような細胞から発生するのかという問題、すなわち膵癌の起源については不明な点が多く残されていた。膵癌の発生起源として腺房細胞・腺房中心細胞・膵管上皮細胞・内分泌系細胞が候補として上げられ、議論が繰り返されてきた { 高折恭一. 膵上皮内癌の疾患概念 : 膵臓 15:426 ~ 438:2000 }。しかし、これらの膵癌前駆病変がどのような細胞から、どのような経過により発生するのかは、これまで不明であった。

Sex determining region Y-box 9 (SOX9) はさまざまな臓器において発生・分化・再生維持に関与する遺伝子で、これまで膵外分泌細胞の多くが SOX9 を発現する膵管上皮細胞および腺房中心細胞に由来することが示されている { Nature Genetics 43:34-41:2011 }。SOX9 が、膵癌前駆病変の発生と、浸潤癌へ進展する過程で、どのような役割を果たしているのかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、膵癌前駆病変・膵癌における SOX9 をはじめとする分化誘導関連遺伝子の発現プロファイルを詳細に検討することにより、膵癌の発生メカニズムにおける SOX9 の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

PanIN 病変を周囲に有する膵癌、IPMN、正常膵において、SOX9 発現を免疫組織学的に検討した。さらに、癌幹細胞マーカーとされる CD44 との二重染色を行うことにより、SOX9 陽性細胞が、発癌過程でどのような役割を持つのかを検討した。

4. 研究成果

SOX9 は、正常膵、IPMN、浸潤癌で発現を認めた (図2-4)。IPMN においては SOX9 陽性細胞は乳頭状増生の低層部に局限していた (図3) が、高度異形や浸潤癌では、SOX9 の発現は上皮全体に拡大した (図4)。

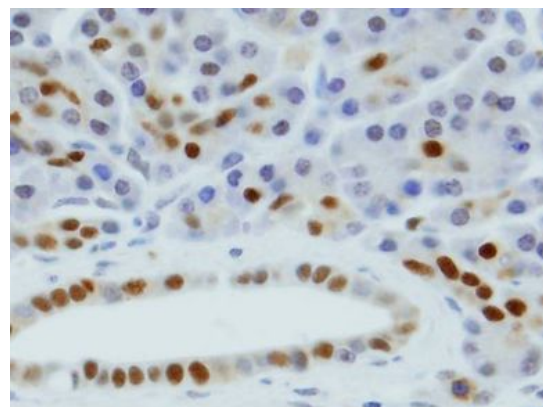


図2. 正常膵における SOX9 発現

正常膵においては、腺房中心細胞と膵管上皮細胞に散発的な SOX9 発現を認めた (SOX9 免疫染色、強拡大)

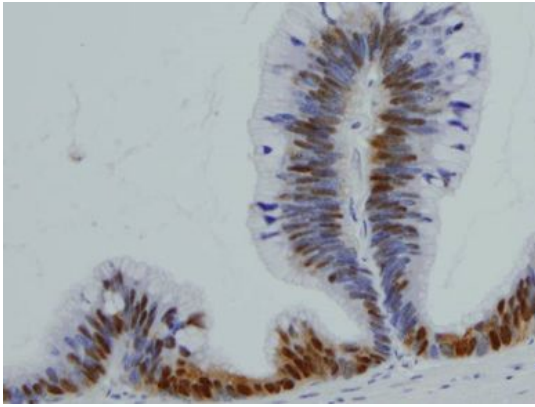


図3 . IPMN における SOX9 発現

IPMN 乳頭状増生の低層部には強いSOX9 発現を認めたが、乳頭状構造の高層部においてはSOX9 の染色レベルは低かった (SOX9 免疫染色、経拡大)

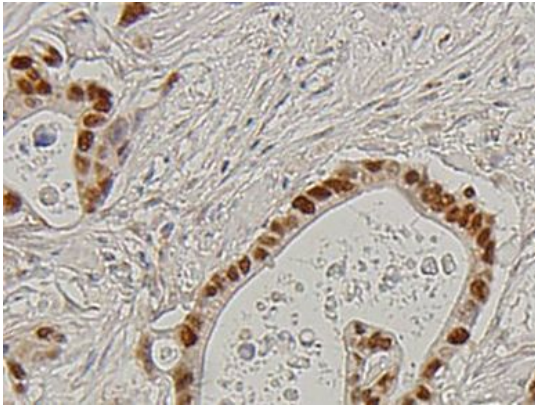


図4 . 膵癌における SOX9 発現

膵癌浸潤部では、上皮様細胞の核にSOX9 発現を認めた (SOX9 免疫染色、強拡大)

正常膵と IPMN において、SOX9 と CD44 の発現パターンは類似していた (図5)。膵癌浸潤部ではSOX9 とCD44 は殆どすべての上皮様癌細胞に発現を認めた (図5)。二重染色では、IPMN 乳頭構造低層部および膵癌浸潤部において、SOX9 とCD44 は共発現していることが認められた (図6,7)。

考察として、今回 IPMN で認められたSOX9 の発現パターンは、胃や小腸粘膜における発現パターンと類似しており、乳頭状構造の低層部に強い発現を認めた。小腸粘膜ではSOX9 は progenitor を標識していると考えられており、IPMN においてもSOX9 陽性脂肪が progenitor となっている可能性がある。

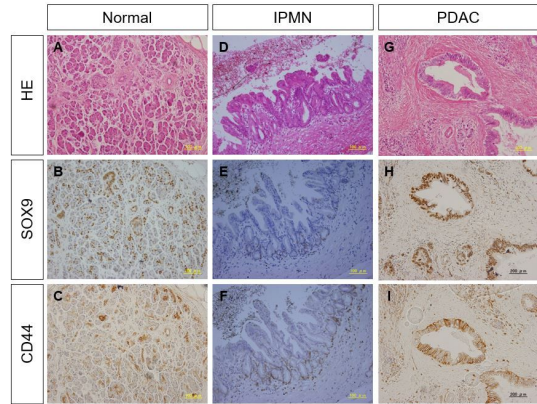


図5 . 正常膵・IPMN・膵癌における SOX9 と CD44 の発現パターン

A/B/C : 正常膵においては CD44 の発現は腺房中心細胞の細胞膜と膵管上皮細胞の一部に認めた。

D/E/F : IPMN では、CD44 発現はSOX9 と同様に乳頭状構造の低層部で認められた。

G/H/I : 膵癌浸潤部ではSOX9 とCD44 は殆どすべての上皮様癌細胞に発現を認めた。

(左から正常膵・IPMN・膵癌、上から HE 染色、SOX9 免疫染色、CD44 免疫染色)

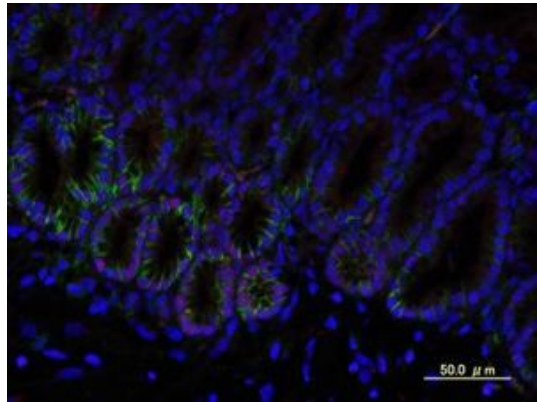


図6 . IPMN における SOX9 と CD44 の二重蛍光免疫染色と Hoechst 核染色

IPMN 乳頭状構造の低層部にSOX9 (赤色) とCD44 (緑色) の共発現を認める。青色はHoechst 核染色。

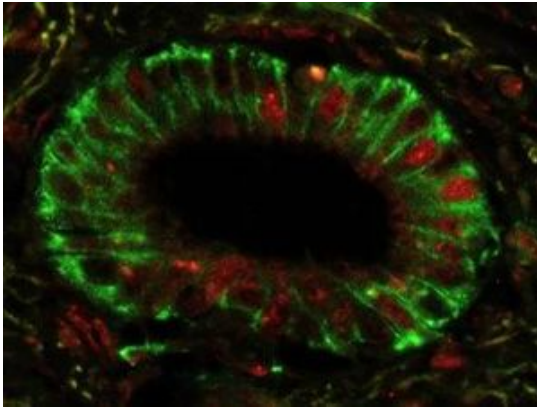


図7. 膵癌におけるSOX9とCD44の二重蛍光免疫染色

膵癌浸潤部では、SOX9とCD44が上皮様腫瘍細胞に広範に共発現している。

一方、CD44は細胞-細胞、細胞-細胞間基質を接着させる接着分子のひとつで、消化管で広く発現しているが、膵腺房細胞には発現を認めないことが知られている。本研究においても、正常な膵臓では、CD44の発現は腺房細胞には認めず、腺房中心細胞と膵管上皮細胞に認められた。また、CD44は癌幹細胞を標識するとも考えられている。本研究において、二重蛍光免疫染色では、SOX9とCD44が、IPMN乳頭構造低層部の腫瘍性上皮と膵癌浸潤部上皮様細胞に共発現していることが認められたのは、興味深い知見と考えられる。結論として、SOX9発現の変化がIPMNの悪性化のメカニズムに参与していることが示唆された。

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2件)

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

Meng F, Takaori K, Ito T, Masui T, Kawaguchi M, Kawaguchi Y, Uemoto S. *Pancreas*. 2014;43(1):7-14. doi: 10.1097/MPA.0b013e3182a70b2f. PMID: 24212241

International Association of Pancreatologists (IAP)/European Pancreatic Club (EPC) consensus review of guidelines for the treatment of pancreatic cancer.

Takaori K, Bassi C, Biankin A, Brunner TB, Cataldo I, Campbell F, Cunningham D, Falconi M, Frampton

AE, Furuse J, Giovannini M, Jackson R, Nakamura A, Nealon W, Neoptolemos JP, Real FX, Scarpa A, Sclafani F, Windsor JA, Yamaguchi K, Wolfgang C, Johnson CD; IAP/EPC study group on the clinical managements of pancreatic cancer. *Pancreatol*. 2016;16(1):14-27. doi: 10.1016/j.pan.2015.10.013. PMID: 26699808

[学会発表](計3件)

Takaori K. Pancreatic adenocarcinoma: Toward early diagnosis and treatments through investigation of precursor lesions. GASTRO2013 APDW WCOG, Shanghai, China, September 21-24, 2013.

Takaori K. Keynote lecture: IAP/EPC consensus review of guidelines for the clinical managements of pancreatic cancer. Combined EPC&IAP Meeting 2014. Southampton, UK, June 24-18, 2014.

高折恭一：基調講演「IPMN/MCN国際診療ガイドライン」第101回日本消化器病学会総会。2014年4月24日、仙台。

[図書](計1件)

Takaori K, Uemoto S. Artery-First Approaches to Pancreaticoduodenectomy. In *Multimodality Management of Borderline Resectable Pancreatic Cancer*, edited by Katz MHG, Ahmad SA, Springer International Publishing (Switzerland), pp 223-236, 2016.

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

高折 恭一 (Takaori, Kyoichi)

京都大学

学際融合教育研究推進センター・准教授

研究者番号：10329485