

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 11 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462125

研究課題名(和文) 膵粘液性嚢胞腫瘍の発生進展におけるエストロゲンレセプターの関与と役割を初めて解明

研究課題名(英文) Role of the estrogen receptor for development and progression of mucinous cystic neoplasm of the pancreas

研究代表者

鈴木 裕 (Suzuki, Yutaka)

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：30407001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：膵粘液性嚢胞腫瘍(MCN)におけるエストロゲンレセプター(ER)やこれらを制御するコリプレッサー(N-CoR)、コアクチベーター(AIB-1, SRC-1)、リン酸化部位(Ser106, Ser118, Ser167)の発現を免疫組織学的に検討。

腫瘍細胞/上皮細胞におけるER- β 1発現と間質細胞でのER- α 、ER- β 1発現では、MCNが通常型膵癌と正常膵管に比し有意に高い結果であった。また、MCNでは腫瘍細胞/間質細胞ともにSRC-1とSer106、Ser118が高率に発現。MCNの発生進展に関してはコアクチベーターやリガンドの依存なくERが活性化している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to compare mucinous cystic neoplasm (MCN), pancreatic invasive ductal carcinoma (DC), and normal pancreas to clarify the roles of ER in the development and progression of MCN. The expression of estrogen receptor (ER-alpha, ER-beta1), corepressor (N-CoR), coactivator (AIB-1, SRC-1), phosphorylation site (Ser106, Ser118, Ser167) were evaluated immunohistochemically.

On tumor epithelial cells, the expression of ER-beta1 was significantly more frequently positive in MCN than in DC and normal pancreas. Furthermore, on stromal cells, the expressions of ER-alpha, ER-beta1 were significantly more frequently positive in MCN than in DC and normal pancreas. In MCN the expression of SRC-1, Ser106, and Ser118 were frequently positive on both tumor epithelial cells and stromal cells. In MCN, ER may play a major role in the development and progression. In particular, it was suggested that ER was activated without depending on the ligand in itself.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵腫瘍の分子生物学的研究

1. 研究開始当初の背景

膵粘液性嚢胞腫瘍 (Pancreatic mucinous cystic neoplasm, MCN) は粘液を多量に産生する嚢胞性腫瘍であり、組織学的に粘液産生性の腫瘍細胞と正常卵巣間質に類似した間質組織である卵巣様間質より構成される。一方、MCN は卵巣に好発する。両腫瘍は病理組織学的に類似し、免疫組織学的にも間質細胞にエストロゲンレセプター (Estrogen receptor, ER) やプロゲステロンレセプター (Progesterone receptor, PgR) の発現が報告されているが、その機能に言及した報告はない。

ER の転写機能の制御はエストロゲンの結合に依存する転写機構とエストロゲンに依存しない転写機構がある。通常、ER はエストロゲン結合部位である AF-2 にコリプレッサー (タンパク複合体) が結合し不活化されている。AF-2 よりコリプレッサーが外れ、エストロゲンとコアクチベーター (タンパク複合体) が結合し、活性化する。また、ER は自身がリン酸化することによってリガンドに依存せずに活性化する。リン酸化部位は AF-1 にあり、ER- では Ser102, Ser104, Ser106, Ser118, Ser167, Ser305、ER- で Ser105 などがある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ER-、ER- やコリプレッサー、コアクチベーターなどの活性化タンパク、リン酸化部位の発現を検討、膵 MCN における ER の機能を解析し、その発生起源と進展機序における ER の機能的関与と役割を解明することにある。

3. 研究の方法

対象は切除され病理学的に診断された膵 MCN 症例 14 例、通常型膵癌 10 例、正常膵管 10 例。

上記症例のパラフィン包埋切片を使用。脱パラフィン後、マイクロウェーブもしくはオートクレーブにて抗原賦活、酵素抗体法で免疫染色。一次抗体は ER-、ER- 1、コリプレッサーである N-CoR、コアクチベーターの SRC-1 と AIB-1、ER のリン酸化部位である Ser106、Ser118、Ser167 を用いた。

まず、ER- と ER- 1 に関して、膵 MCN、通常型膵癌の腫瘍細胞、正常膵管上皮の染色パターンの異同を検討。さらに各対象の間質細胞についても同様に検討した。

続いて、ER の機能に関してコリプレッサー、コアクチベーター、リン酸化部位に関して、膵 MCN の腫瘍細胞と卵巣用間質における発現について検討した。

免疫染色の評価は、強拡大 (400 倍) において無作為に選択した合計 10 視野の中的全細胞および染色陽性細胞をカウント、染色陽性細胞率 (染色陽性細胞数 / 全細胞数) を求め、10% 以上の場合陽性とした。

4. 研究成果

まず、腫瘍/上皮細胞では ER- は MCN、通常型膵癌、正常膵管いずれも全例染色陰性であった。一方、ER- 1 では MCN が通常型膵癌、正常膵管に比し有意に染色陽性率が高い結果であった (表 1)。

表 1. 腫瘍細胞/上皮細胞における ER 発現

| | ER- | ER- 1 |
|--------------|--------|------------|
| MCN (14 例) | 0 (0%) | 10 (71.4%) |
| 通常型膵癌 (10 例) | 0 (0%) | 2 (20.0%) |
| 正常膵管 (10 例) | 0 (0%) | 1 (10.0%) |

*: p<0.05 vs MCN

一方、間質細胞においては、ER-、ER- 1 いずれも MCN が通常型膵癌と正常膵管よりも有意に染色陽性率が高い結果であった (表 2)。

表 2. 間質細胞における ER 発現

| | ER- | ER- 1 |
|--------------|------------|-----------|
| MCN (14 例) | 10 (71.4%) | 9 (64.3%) |
| 通常型膵癌 (10 例) | 0 (0%) | 2 (20.0%) |
| 正常膵管 (10 例) | 0 (0%) | 1 (10.0%) |

*: p<0.05 vs MCN

続いて、MCN におけるコリプレッサー (N-CoR)、コアクチベーター (AIB-1, SRC-1)、リン酸化部位 (Ser106, Ser118, Ser167) の発現を検討した (表 3)。

腫瘍細胞では SRC-1 および Ser106, Ser118 が高率に発現し、間質細胞でも SRC-1, Ser106, Ser118 が高率に発現していた。また、N-CoR は腫瘍細胞、間質細胞いずれも約 30% 程度であった。

表 3. MCN におけるコリプレッサー、コアクチベーター、リン酸化部位の発現 (14 例)

| | 腫瘍細胞 | 間質細胞 |
|----------|------------|------------|
| コリプレッサー | | |
| N-CoR | 5 (35.7%) | 4 (28.6%) |
| コアクチベーター | | |
| AIB-1 | 3 (21.4%) | 5 (35.7%) |
| SRC-1 | 11 (78.6%) | 10 (71.4%) |
| リン酸化部位 | | |
| Ser106 | 14 (100%) | 11 (78.6%) |
| Ser118 | 13 (92.9%) | 12 (85.7%) |
| Ser167 | 0 (0%) | 0 (0%) |

本研究は女性性腺ホルモンに関して、MCN と通常型膵癌および正常膵管を免疫組織学的に比較検討した。とくに、ER は、通常用いられる ER- に加え異なるサブタイプである ER- 1 があり、これに関しての報告は過去にはない。今回、ER- 1 において MCN の腫瘍細胞、間質細胞いずれも通常型膵癌、正常膵管よりも有意に発現陽性率が高く MCN は通常型膵癌や正常膵とは由来が異なる可能性が示唆された。さらに、Moore らの報告では ER- は - 1 から - 5 まで isoform があり、

1 は卵巣、精巣、子宮に、2 は脾臓、胸腺、精巣、卵巣に、5 は脾臓、胎盤、白血球にそれぞれ強く発現する(1)。また、脾臓においては5で発現するが1、2では発現しない。MCNの発生に関してはいくつかの説があるが、ほぼ全例女性の脾体尾部に発生することから、胎生期の左卵巣原基が発生段階で脾原基に一時的に近接し脾内に迷入する、という迷入説が最も有力である。卵巣にも類似した卵巣粘液性嚢胞腫瘍が発生し、女性性腺ホルモン関連マーカーに関して脾MCNと類似した発現パターンを呈する(2)。本研究ではER-1発現に関して、MCNと通常型膵癌、正常膵は有意に異なりっていた。かつ、ER-1の発現組織を考慮すると、MCNが卵巣由来である可能性を強く示唆する結果であったと考えられた。

免疫組織学的にERの発現が証明されたが、これが実際に機能しているのかどうかは不明である。そこで、本研究ではERの機能に關与するコリプレッサー、コアクチベーターなどのタンパク複合体の発現に加え、リガンドに依存なくレセプター自身の活性化を促進するERのリン酸化部位についてもその活性化を検討した。その結果、腫瘍細胞・間質細胞ともにコアクチベーターであるSRC-1が高率に発現陽性となり(腫瘍細胞:78.6%、間質細胞:71.4%)、さらにSer106(腫瘍細胞:100%、間質細胞:78.6%)とSer118(腫瘍細胞:92.9%、間質細胞:85.7%)も高率に陽性となった。各コリプレッサーやコアクチベーターは乳癌や子宮癌の活動性に関する報告が多く、癌だけでなく月経周期別の子宮内膜組織の活動性にも關与すると報告されている。今回の対象症例にはすでに閉経している症例も認めるが、Ser106とSer118に発現陽性例が多く認めたことから、MCN症例にはリガンドであるエストロゲンに依存しない状態でレセプターが活性化し、これがMCNの発生進展に影響している可能性が示唆された。

以上より、本研究よりMCNは通常型膵癌とは異なり、正常膵管と由来組織が異なり、その発生進展に関してはERが關与し、とくにコアクチベーターであるSRC-1やリガンドに依存せずレセプター自体が活性化している可能性が示唆された。

〔参考文献〕

1) Moore JT, McKee DD, Slentz-Kesler K, et al: Cloning and characterization of human estrogen receptor isoforms. *Biochem Biophys Res Commun*, 247: 75-78, 1998.

2) Suzuki Y, Sugiyama M, Abe N, et al: Immunohistochemical similarities between pancreatic mucinous cystic tumor and ovarian mucinous cystic tumor. *Pancreas* 36: e40-46, 2008.

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 0 件)

該当なし

〔学会発表〕(計 2 件)

鈴木裕、中里徹矢、横山政明、小暮正晴、松木亮太、阿部展次、正木忠彦、森俊幸、杉山政則(パネルディスカッション): スコア式による膵IPMNの手術適応と術式、至適郭清範囲. 第77回日本臨床外科学会、平成27年11月28日、福岡県・福岡市.

鈴木裕、杉山政則(統合プログラム): 分枝型IPMNにおける国際ガイドラインの検証 手術適応決定にEUSは必須か? 第56回日本消化器病学会大会(JDDW2014)、平成26年10月25日、兵庫県・神戸市.

〔図書〕(計 0 件)

該当なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

該当なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

該当なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 裕 (SUZUKI, Yutaka)

杏林大学・医学部外科学・助教

研究者番号: 30407001

(2)研究分担者

杉山 政則 (SUGIYAMA, Masanori)

杏林大学・医学部外科学・教授

研究者番号： 2 0 1 9 2 8 2 5

阿部 展次 (ABE, Nobutsugu)
杏林大学・医学部外科学・准教授
研究者番号： 4 0 2 6 6 7 4 7

(3)連携研究者

大倉 康男 (OHKURA, Yasuo)
杏林大学・医学部病理学教室・教授
研究者番号： 3 0 3 1 2 2 8 4