

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03753

研究課題名(和文) ゲノム医療が導く究極の膵癌予防法・予防的膵全摘術の適応患者とは？

研究課題名(英文) Genetic assessments to detect patients requiring prophylactic total pancreatectomy for the prevention of pancreatic cancer.

研究代表者

大塚 隆生 (Ohtsuka, Takao)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：20372766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析により膵癌発症予防につながる遺伝子変異マーカー探索を行った研究である。膵癌発症高危険群である膵管内膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)に着目し、クローン拡大によるfield cancerization理論に基づく発癌機序を背景に、膵癌を発症するIPMNの遺伝子変異解析によりKLF4を同定した。KLF4はiPS細胞作製に必要な山中遺伝子の一つであり、癌化ではなく良性の特徴を維持する変異である。さらに遺伝子変に関連するタンパクの発現異常解析、ならびに遺伝子変異を惹起する慢性炎症刺激の原因となる細菌叢探索でも重要な所見をえることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

依然、予後不良な膵癌の生存率向上のためには発症予防対策、早期診断法開発、新規治療法開発を行っていかなければならないが、本研究はその中で発症予防を目指したものである。膵癌発症高危険群として膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN)に注目し、膵癌発症を予想できるマーカーを同定できたことは、膵癌発症の機序解明と膵癌発症前治療の開発へ発展していく可能性を秘めた学術的意義を持つばかりでなく、広く国民の健康増進につながる社会的意義を有する。

研究成果の概要(英文)： Intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) of the pancreas was known as high risk for the development of pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). The aims of this study were to detect the genetic characteristics of IPMN having concomitant PDAC to apply this characteristic for the prevention of PDAC. Genetic alterations were comprehensively assessed using resected specimens of IPMNs of the pancreas and concomitant cPDAC, and presence of mutation of KLF4 is the good candidate as the marker for the possible development of cPDAC. To clarify the detailed mechanism of the development of PDAC in the pancreas with IPMN via KLF4 mutation and application of this specific marker to cancer prevention are the future challenges. Proteomics assessment is also conducted to support the genetic modification in cancer progression. In addition, microbiota assessment as the source of chronic inflammation demonstrated that several specific microbiome are involved in the progression of IPMN.

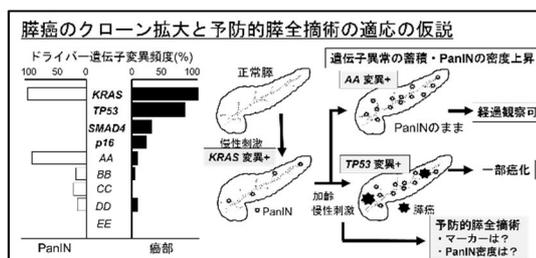
研究分野：消化器外科関連

キーワード：膵癌 発癌 早期診断 ゲノム 予防 クローン拡大

## 1. 研究開始当初の背景

膵癌の5年生存率は10%未満で、全ての固形癌の中で最も予後不良である。その発症機序の解明、早期診断法ならびに有効な予防法・治療法開発の全ての点で対策が遅れており、最近まで解決法を見出せないでいる。病理学的に膵癌周辺には前癌病変である PanIN (Pancreatic Intraepithelial Neoplasm) が多発していることは経験的に知られており、本来膵癌は多発 PanIN 病変を背景に同一膵内に多発発症すると予想されていた。一方、最近では早期診断患者や集学的治療奏功患者も徐々に増え、膵癌切除後長期生存が得られた患者に残膵癌が高率に発症することが明らかとなり、上記の予想が現実のものとなり、膵癌診療ガイドライン 2022 年改訂版でもクリニカル・クエシジョンとして取り上げられている。膵癌の field cancerization は加齢、慢性膵炎、喫煙、糖尿病、germline mutation などの慢性刺激により膵全体に遺伝子変異と前癌病変が蓄積され、膵全体が発癌準備状態にあると考えられている。特に一度発癌した膵臓は全体が発癌リスクを持つと考えられるため、全ての膵癌患者が潜在的に膵全摘術の適応となる可能性がある。しかしどの患者のどの部位に発癌するかを正確に捉えることができる方策は解明されておらず、効率的な診断法開発や予後改善には至っていない。また膵切除術は手術難度が高く、特に膵全摘術は膵機能廃絶による患者 QOL の著しい低下の観点からも行わない傾向にあったが、近年ではポータブル式人工膵臓の普及に加え、強力な膵酵素薬も流通し、膵全摘術後の膵内外分泌機能の補充も十分に行えるようになりつつあり、徐々に膵全摘術が普及しつつある。膵癌の遺伝子変異はメジャー4 (*KRAS*, *TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A*) が知られる、さらに *BRCA1/2* 変異などの遺伝性膵癌では *KRAS* 変異とは異なるドライバー遺伝子変異を介した発癌経路が示唆されている。また *KRAS* 変異単独では発癌しないことが知られており、前癌病変の PanIN や膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN; Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm) でも *KRAS* 変異は高率に認められる。膵癌と同様に同一臓器内に多発する食道癌では、飲酒や喫煙などの経年的な慢性刺激により遺伝子変異を蓄積させた前癌病変の密度が高くなり (クローン拡大) 確率的に飲酒・喫煙歴のある高齢者に食道癌が発生するリスクが高くなると報告された [Nature 2019;565,312- 7]。この際、癌化に向かわせる遺伝子変異群 (*TP53* 変異等) と正常上皮にとどまらせる遺伝子変異群 (*NOTCH1* 変異等) の違いが存在することも明らかとなった。

クローン拡大を膵癌に当てはめると、経年的な慢性刺激で膵全体に *KRAS* 変異が蓄積され PanIN の密度が上昇し、この中で *TP53* などのメジャー4 遺伝子変異が加わった場合に発癌に向かうことは食道癌の結果からも予想できる。一方、どれほどの PanIN 密度の上昇が発癌の確立を高くするのか、*KRAS* 以外のメジャー4 遺伝子変異を発癌前に捉えることが可能であるのか、また PanIN のままに留まらせる遺伝子変異 (食道癌の *NOTCH1* 変異に相当) が存在するかは明らかでない。すなわち本研究課題の核心をなす学術的「問い」は膵癌発症機序がクローン拡大で説明でき、予防的膵全摘術の適応患者を適切に選択できるのか? ということである (右図)。



ゲノム解析に基づく発癌予防のための予防的

臓器切除術は *BRCA1/2* 遺伝子変異を持つ家族性乳癌の予防的乳房切除術・卵巣切除術が海外では実臨床で行われている。一方、膵癌領域ではまだ行われてはいないが、近年のゲノム医療の発展や膵全摘術後管理の改善から、ゲノム解析に基づく究極の膵癌予防法である予防的膵全摘術を考慮することは可能な時代になったと思われる。クローン拡大から膵癌の field cancerization の機序を解明し、予防的膵全摘術の真の適応患者を明らかにしようとする本研究課題はこれまで行われたことがなく極めて独自性が高い。またリキッドバイオプシー検体として血液や尿が注目される中、十二指腸液に着目している点が本研究グループの特徴でもある。十二指腸液は腫瘍に直接接触した膵液を多量に含み、すでに我々は DNA の遺伝子変異、タンパクや RNA 発現異常のいずれの探索にも成功している [Pancreas 2015;44,311-20; Pancreas 2017;46, 1288-95.]。以上のようにゲノム解析に精通し実績のあるスタッフにより行われる本研究課題は、本研究グループのみで実施可能である。膵癌は本邦で部位別死亡数の第 4 位であるが、米国ではすでに第 3 位であり、世界的に増加傾向にあるものの、根本的な解決策のないまま死亡数が増加の一途をたどっている。本研究成果が仮説通りに得られれば、field cancerization を基盤とする膵癌発症機序を解明する学問的効果とともに、より明確な膵癌発症高危険群の同定から新たな膵癌治療法 (予防法) 導入により、広く世界の健康増進に寄与する社会的効果が期待できる。また発症機序が明らかになれば膵切除術を必要としない膵癌発症予防薬の開発につながる可能性も秘めている。

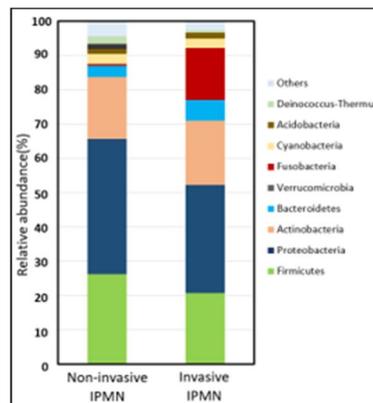
## 2. 研究の目的

本研究の目的は前述の「膵癌発症機序がクローン拡大で説明でき、予防的膵全摘術の適応患者を適切に選択できるのか?」という仮説が正しいかをゲノム解析から明らかにして膵癌発症機序の一端を解明し、根本的な解決策のなかった膵癌治療法の新たな戦略を構築していくとともに、個別化治療に重点が置かれている現在のゲノム医療の新たな方向性としての予防医学の可能性



Bacteroidetes 門の比率が高かった。形態分類別でみると有意差がないものの、主膵管型は Firmicutes 門の比率が低く、Proteobacteria 門、Fusobacteria 門の比率が高い傾向を認めた。また組織亜型でみると、非腸型は腸型に比べて Firmicutes 門の比率が有意に高く、一方、腸型では有意差はないものの Fusobacteria 門の占める割合が高いことが分かった。

最も重要な研究結果は IPMN 併存膵癌の新規マーカー候補として *KLF4* 変異を同定できたことである。*KLF4* 変異は良性 IPMN で頻度の高い変異であることが報告されており、また併存膵癌を有する IPMN も良性の分枝型 IPMN の頻度が高いことも指摘されていたため、本研究結果はそれを支持するものであった。良性の分枝型 IPMN の頻度は非常に高く、その中で併存膵癌を発症するものの予測が課題であった。本研究は *KLF4* 変異の存在が膵癌発症を予測するマーカーとなる可能性を示したもので、将来の膵癌発症予防や膵癌早期診断へつながる道筋をつけた意義を有する重要な研究成果であった。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kimura Ryuichiro, Ohtsuka Takao, Kubo Makoto, Kajihara Atsuko, Fujii Atsushi, Watanabe Yusuke, Mori Yasuhisa, Ikenaga Naoki, Nakata Kohei, Shindo Koji, Ohuchida Kenoki, Nakamura Masafumi	4. 巻 51
2. 論文標題 FoundationOne(R) CDx gene profiling in Japanese pancreatic ductal adenocarcinoma patients: a single-institution experience	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 619 ~ 626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-020-02123-2	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 -
1. 著者名 Fujii Atsushi, Masuda Takaaki, Iwata Michio, Tobo Taro, Wakiyama Hiroaki, Koike Kensuke, Kosai Keisuke, Nakano Takafumi, Kuramitsu Shotaro, Kitagawa Akihiro, Sato Kuniaki, Kouyama Yuta, Shimizu Dai, Matsumoto Yoshihiro, Utsunomiya Tohru, Ohtsuka Takao, Yamanishi Yoshihiro, Nakamura Masafumi, Mimori Koshi	4. 巻 112
2. 論文標題 The novel driver gene ASAP2 is a potential druggable target in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1655 ~ 1668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14858	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 Iwamoto Chika, Ohuchida Kenoki, Shinkawa Tomohiko, Okuda Sho, Otsubo Yoshiki, Okumura Takashi, Sagara Akiko, Koikawa Kazuhiro, Ando Yohei, Shindo Koji, Ikenaga Naoki, Nakata Kohei, Moriyama Taiki, Miyasaka Yoshihiro, Ohtsuka Takao, Eto Masatoshi, Akashi Koichi, Nakamura Masafumi	4. 巻 512
2. 論文標題 Bone marrow-derived macrophages converted into cancer-associated fibroblast-like cells promote pancreatic cancer progression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 15 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2021.04.013	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 -

1. 著者名 Hozaka Yuto, Kurahara Hiroshi, Oi Hideyuki, Idichi Tetsuya, Yamasaki Yoichi, Kawasaki Yota, Tanoue Kiyonori, Jinguji Megumi, Nakajo Masatoyo, Tani Atsushi, Nakajo Akihiro, Matakai Yuko, Fukukura Yoshihiko, Noguchi Hirotsugu, Higashi Michiyo, Yoshiura Takashi, Tanimoto Akihideo, Ohtsuka Takao	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical Utility and Limitation of Diagnostic Ability for Different Degrees of Dysplasia of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas Using 18F-Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography/Computed Tomography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4633 ~ 4633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13184633	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 保坂優斗、蔵原弘、田上聖徳、大井秀之、伊地知徹也、山崎洋一、川崎洋太、中条哲浩、又木雄弘、大塚隆生	4. 巻 84
2. 論文標題 特集「診療ガイドライン改訂後の膵炎診療」 慢性膵炎における膵癌スクリーニングはどのように行うべきか	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 肝胆膵	6. 最初と最後の頁 659 ~ 663
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 保坂優斗、蔵原弘、大井秀之、伊地知徹也、米盛圭一、山崎洋一、川崎洋太、田上聖徳、又木雄弘、大塚隆生	4. 巻 83
2. 論文標題 特集「肝胆膵疾患におけるバイオマーカーの意義を探る」 膵癌の膵液miRNA解析とバイオマーカーの意義	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 肝胆膵	6. 最初と最後の頁 659 ~ 663
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 保坂優斗、大塚隆生、大井秀之、平瀬雄規、伊地知徹也、田上聖徳、又木雄弘、蔵原弘	4. 巻 42
2. 論文標題 特集「胆道・膵管上皮内腫瘍の総整理：診断と治療の現状」 膵管上皮内腫瘍(IPMN, IOPN, ITPN, MCN)に対する外科治療の現状と課題	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 567 ~ 571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 井手野昇、守田真規子、大塚隆生、中村雅史	4. 巻 82
2. 論文標題 特集「分枝型IPMNの長期予後と進展様式」 全国多施設共同研究によるIPMN長期予後	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 肝胆膵	6. 最初と最後の頁 773～778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 大塚隆生、田中雅夫	4. 巻 36
2. 論文標題 特集「グローバルな視点からみた膵疾患update」 IPMN国際診療ガイドライン-次期改訂に向けて-	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 膵臓	6. 最初と最後の頁 238～244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Ideno N, Mori Y, Nakamura M, Ohtsuka T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Early detection of pancreatic cancer: role of biomarkers in pancreatic fluid samples.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 1056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics10121056.	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 Miyasaka Y, Ohtsuka T, Kimura R, Matsuda R, Mori Y, Nakata K, Watanabe M, Oda Y, Nakamura M.	4. 巻 4
2. 論文標題 Remnant pancreatic cancer after pancreatic resection for early-stage pancreatic cancer: Is it more frequent compared to advanced-stage cancer?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery.	6. 最初と最後の頁 448-454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12340. eCollection 2020 Jul.	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 Matsuda R, Miyasaka Y, Ohishi Y, Yamamoto T, Saeki K, Mochidome N, Abe A, Ozono K, Shindo K, Ohtsuka T, Kanetake C, Nakamura M, Oda Y.	4. 巻 271
2. 論文標題 Concomitant intraductal papillary mucinous neoplasm in pancreatic ductal adenocarcinoma is an independent predictive factor for the occurrence of new cancer in the remnant pancreas.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 941-948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000003060.	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 -

1. 著者名 Miyasaka Y, Ohtsuka T, Matsuda R, Mori Y, Nakata K, Ohuchida K, Nakamura M.	4. 巻 50
2. 論文標題 High-risk lesions in the remnant pancreas: fate of the remnant pancreas after pancreatic resection for pancreatic cancer and intraductal papillary mucinous neoplasms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 832-840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-019-01852-3. Epub 2019 Jul 25.	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 -

1. 著者名 Yokoyama Sieya, Iwaya Hiromichi, Akahane Toshiaki, Hamada Taiji, Higashi Michiyo, Hashimoto Shinichi, Tanoue Shiroh, Ohtsuka Takao, Ido Akio, Tanimoto Akihide	4. 巻 50
2. 論文標題 Sequential evaluation of MUC promoter methylation using next generation sequencing based custom made panels in liquid based cytology specimens of pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostic Cytopathology	6. 最初と最後の頁 499 ~ 507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dc.25022	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 Iwaya Hiromichi, Tanimoto Akihide, Toyodome Koshiro, Kojima Issei, Hinokuchi Makoto, Tanoue Shiroh, Hashimoto Shinichi, Kawahira Machiko, Arima Shiho, Kanmura Shuji, Akahane Toshiaki, Higashi Michiyo, Suzuki Shinsuke, Ueno Shinichi, Ohtsuka Takao, Ido Akio	4. 巻 13
2. 論文標題 Next-Generation Sequencing Analysis of Pancreatic Cancer Using Residual Liquid Cytology Specimens from Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Biopsy: A Prospective Comparative Study with Tissue Specimens	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 1078 ~ 1078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics13061078	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 -

1. 著者名 Hozaka Yuto, Oi Hideyuki, Satake Souichi, Uchino Yoshinori, Goto Yuichi, Idichi Tetsuya, Tanoue Kiyonori, Yamasaki Yoichi, Kawasaki Yota, Mataka Yuko, Kurahara Hiroshi, Nakajo Akihiro, Higashi Michiyo, Tanimoto Akihide, Sugiura Tsuyoshi, Ohtsuka Takao	4. 巻 173
2. 論文標題 Are intratumoral microbiota involved in the progression of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas?	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgery	6. 最初と最後の頁 503 ~ 510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.surg.2022.10.003	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5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Ohtsuka T
2. 発表標題 Guidelines for the management of IPMN of the pancreas
3. 学会等名 第33回日本肝胆膵外科学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大塚隆生
2. 発表標題 「慢性膵炎診療ガイドライン2021改訂の要点と課題」 慢性膵炎の予後
3. 学会等名 第53回日本膵臓学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ohtsuka T
2. 発表標題 IPMN; Surveillance? Surgery? Search for the scientific truth?
3. 学会等名 2nd PAHPBS International Symposium. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ohtsuka T
2. 発表標題 Multifocal lesions in IPMNs; Intraoperative pancreatic juice cytology.
3. 学会等名 HBP Surgical Wekk in Korea 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ohtsuka T
2. 発表標題 High risk stigmata and worrisome features of IPMN-over or under estimation?
3. 学会等名 74th Congress of Korean Surgical Society. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022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	谷本 昭英 (Tanimoto Hideaki) (10217151)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授  (17701)	
研究分担者	山口 浩 (Yamaguchi Hiroshi) (20510697)	埼玉医科大学・医学部・准教授  (32409)	
研究分担者	三森 功士 (Mimori Koshi) (50322748)	九州大学・大学病院・教授  (17102)	

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	東 美智代 (Higashi Michiyo) (60315405)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・准教授  (17701)	
研究分担者	蔵原 弘 (Kurahara Hiroshi) (70464469)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教  (17701)	
研究分担者	又木 雄弘 (Mataki Yuko) (10444902)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任講師  (17701)	
研究分担者	井手野 昇 (Ideno Noboru) (90883421)	九州大学・医学研究院・助教  (17102)	

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