

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390067

研究課題名（和文） 膵との発生学的近似性、組織学的類似性からみた胆道疾患の新たな病因病態研究

研究課題名（英文） Pathogenetical and etiological study on biliary diseases with respect to embryological close relation and cellular similarities to pancreas

研究代表者 中沼 安二  
(NAKANUMA YASUNI)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：10115256

研究成果の概要（和文）：胆道と膵は、発生学的に前腸内胚葉からほぼ同時期に派生し、またその組織構造や細胞形質も類似することが知られている。この胆道と膵との発生学的、解剖学的近似性、また細胞学的、組織学的類似性に着目し、胆道の疾患の病因と病態を膵との関連性で検討した。主な結果は以下に要約される。i) 胆道と膵との炎症性疾患の一部（IgG4 関連硬化性疾患、アルコール性疾患など）は、しばしば合併し、共通の病理像を呈した。ii) 膵管癌と胆管癌は、その発癌機序（前癌病変を含む）、病態、生物学的態度に類似性がみられた。iii) さらに胆管内乳頭状腫瘍と膵管内乳頭状腫瘍はその形態や形質が類似していた。今回の研究で、胆道疾患と膵疾患の成り立ちと病態に類似性があり、今回得られた成績は、今後の治療医学に応用可能と考えられた。

研究成果の概要（英文）：Biliary tract and pancreas derive from endoderm foregut almost same time, and both show similar tissue and cellular structures and phenotypes. With respect to these similarities, the etiology and pathogenesis of biliary tract diseases were examined. The data obtained in this study were summarized as follows. i) Some of inflammatory diseases of the biliary tract and pancreas such as IgG4-related sclerosing disease and alcoholic pancreatitis and biliary disease were frequently overlapped and showed similar pathological features. ii) Pancreatic duct adenocarcinoma and biliary tract carcinoma including their pre-neoplastic lesions showed similar pathological and phenotypic features. iii) Intraductal papillary tumor of the pancreas and biliary tract also showed similar features and phenotypes. In conclusion, the data obtained in this study based on the similarities between pancreas and biliary tract were applicable in the therapeutical approaches of the biliary tract diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2010 年度 | 8,500,000  | 2,550,000 | 11,050,000 |
| 2011 年度 | 3,400,000  | 1,020,000 | 4,420,000  |
| 2012 年度 | 1,600,000  | 480,000   | 2,080,000  |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 13,500,000 | 4,050,000 | 17,550,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：付属腺、胆道腫瘍、膵腫瘍、膵外分泌腺

## 1. 研究開始当初の背景

胆道と膵の発生過程で、膵多分化遺伝子 Pdx1、内胚葉分化抑制遺伝子 Hes1、膵内分泌促進遺伝子 Ngn3、膵外分泌促進遺伝子 p48 等が前腸、胆道と膵に発現し、胆道と膵の分化に重要である。マウス胎生期胆道には膵の内・外分泌腺成分が分布し、これら腺成分の量が発生条件下で変動し、胆道での Hes1 発現が胆道の膵への分化を抑制するとされている。我々はヒトの胆道周囲に分布する付属腺に膵外分泌腺が混在していることを報告した。現在、膵疾患、特に膵癌では、胎生期に発現する Pdx1 等の遺伝子が再発現し、これらの異常を背景に小膵管、腺房、膵島を中心に前癌病変 pancreatic intraepithelial neoplasm(PanIN) が形成され、癌へと進展することが報告されている。

## 2. 研究の目的

胆道と膵の発生・分化には共通する複数の遺伝子が関与しており、同時期に前腸から派生し、発生学的に近似性がある。またヒト胆道周囲には付属腺が生理的に分布し、同部に膵外分泌腺が混在しており、組織学的に類似性がある。本研究では、胆道周囲付属腺が分化の抑制された膵腺組織と仮定し、これを検証する。次いで、胆道と膵の近似性、類似性から胆道疾患と膵疾患には共通する疾患プロセスが存在すると仮定し、いくつかの胆道疾患、特に胆道腫瘍の発生病理で膵腫瘍と共通する病的機序をサーベイする。本研究では、従来の「胆道固有の解剖・生理を基盤とした胆道疾患の病態研究」から、「膵との共通性、類似性を視野に入れた胆道疾患の病態解析」へのパラダイムシフトを目指す。

## 3. 研究の方法

ヒト胆道と膵の組織成分の類似性を検討する。まず、胆道周囲腺が不完全な膵腺組織である可能性を、組織標本を用い、形態、蛋白・遺伝子レベルで検討する。次に、培養胆道上皮と膵管上皮の遺伝子発現を網羅的に解析し、類似性を検討する。培養胆道上皮に膵多分化遺伝子 Pdx1 の遺伝子導入を行い、Pdx1 強発現による胆道上皮での遺伝子発現の変動や形態変化を明らかにする。胆道癌の初期病変 BillN、膵癌の初期病変 PanIN を用い、免疫染色、ISH 法、microdissection 法、RT-PCR 法を用い、BillN と PanIN の比較を行う。胆道腫瘍の発生・進展に、胎生期の胆道・膵で発現する遺伝子、特に Pdx1 の再発現とその意義、

さらに Pdx1 再発現に関連して発現する癌関連の遺伝子異常を検索する。胆道癌の初期病変である BillN の分類に関する国際コンセンサスを形成する。胆道と膵の双方に発生する炎症性疾患および形成異常を比較し、共通する病態の関与を蛋白、遺伝子発現の観点から検討する。

## 4. 研究成果

胆管系と膵管系は、発生学的にほぼ同じ時期に前腸系より派生する。これが、ヒトの胆道系疾患の発生の疾患理解になりうる可能性を検討した。特に、胎生期の胆管では膵形成促進転写因子である

PDX1 (Pancreatic and duodenal homeobox1) が発現するが、出生と共に PDX1 の発現が低下し、逆に膵形成抑制因子である

HES1 (Hairy and enhancer of sprit 1) の発現が胆管上皮に発現した。

胆管癌と膵癌は肉眼病理像、組織像が類似している。また、膵形成促進の転写因子である PDX1 の発現が、胆管癌でしばしばみられた。胆管癌の前癌病変である上皮内腫瘍性病変 (biliary intraepithelial neoplasm, BillN) では、BillN の異型度の進展とともに、PDX1 の発現が増強した。この現象は、膵癌の前癌病変である PanIN (pancreatic intraepithelial neoplasm) でも同様にみられた。

進行型の肝門部胆管癌と進行型膵癌では、その組織像が類似している。PDX1 を発現する例は、類似の予後を示し、膵管と胆管に由来する癌は、類似した生物学的態度を示した。なお、末梢型胆管癌や混合型肝癌の胆管癌成分では、PDX1 の発現は低率で、肝門型胆管癌とは生物学的態度が異なっており、その発癌機序が異なる可能性が示唆された。

胆管内に発生する乳頭状腫瘍と主膵管内に発生する乳頭状腫瘍は、形態像や形質像が類似することは、以前から報告している。今年度はさらに、胆管周囲付属腺に発生する嚢胞性乳頭状腫瘍と膵の分枝型の乳頭状腫瘍が類似することを明らかにした。いずれも胃型の粘液形質を発現し、一部は癌化することが示された。

## 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 28 件)

1. Sato H, Nakanuma Y, Kozaka K, Sato Y, Ikeda H. Spread of hilar cholangiocarcinomas via peribiliary

- grand network: a hither-to-unredognized route of periductal infiltration. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013. 6(2):318-22 査読有
2. Hsu M, Sasaki M, Igarashi S, Sato Y, Nakanuma Y. KRAS and GNAS mutations and P53 overexpression in biliary intraepithelial neoplasia and intrahepatic cholangiocarcinomas. *Cancer.* 2013. DOI 10.1002/cncr.27955 査読有
  3. Sasaki M, Matsubara T, Yoneda N, Nomoto K, Tsuneyama K, Sato Y, Nakanuma Y. Overexpression of enhancer of zeste homolog 2 and MUC1 may be related to malignant behavior in intraductal papillary neoplasm of the bile duct. *Histopathology.* 2013, 62(3):446-57. 査読有
  4. Okamura A, Harada K, Nio M, Nakanuma Y. Participation of natural killer cells in the pathogenesis of bile duct lesions in biliary atresia. *J Clin Pathol.* 2013. 66(2):99-108. 査読有
  5. Sato Y, Harada K, Sasaki m, Nakanuma Y. Histological characteristics of biliary intraepithelial neoplasia-3 and intraepithelial spread of cholangiocarcinoma. *Virchows Arch.* 2013, 362(4):421-7 査読有
  6. Sato Y, Ren XS, Nakanuma Y. Caloli' s disease: Current knowledge of its biliary pathogenesis obtained from an orthologous rat model. *International Journal of Hepatology.* 2012, 107945, 査読有 DOI 10.1155/2012/107945
  7. Sato Y, Harada K, Sasaki M, Yasaka T, Nakanuma Y. Heat shock proteins 27 and 70 are potential biliary markers for the detection of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol.* 2012, 180(1):123-30. 査読有
  8. Igarashi S, Matsubara T, Harada K, Ikeda H, Sato Y, Sasaki M, Matsui O, Nakanuma Y. Bile duct expression of pancreatic and duodenal homebox 1 perihilar cholangiocarcinogenesis. *Histopathology.* 2012, 61(2):266-76. 査読有
  9. Matsubara T, Sato Y, Sasaki M, Harada K, Nomoto K, Tsuneyama K, Nakanuma Y. Immunohistochemical characteristics and malignant progression of hepatic cystic neoplasms in pomparison with pancreatic counterparts. *Hum Pathol.* 2012, 43(12):2177-86. 査読有
  10. Nakanuma Y, Sato Y, Ikeda H, Harada K, Kobayashi M, Sano K, Uehara T, Yamamoto M, Ariizumi S, Nyun Park Y, Choi JH, Yu E. Intrahepatic Cholangiocarcinoma with predominant "Ductal Plate Malformation" pattern: A new subtype. *Am J Surg Pathol.* 2012, 36(11):1629-1635. 査読有
  11. Gandou C, Harada K, Sato Y, Igarashi S, Sasaki M, Ikeda H, Nakanuma Y. Hilar cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma share similar histopathologies, Immunophenotypes, and development-related molecules. *Hum Pathol.* 2012. DOI 10.1016/j.humpath.2012.08.004 査読有
  12. Nakanuma Y, et al. Caroli' s disease: Current Knowledge of its biliary pathogenesis obtained from an orthologous rat model. *International Journal of Hepatology.* 2012. DOI Article ID 107945, 10 pages, 2012. 10.1155/2012/107945, 査読有
  13. Nakanuma Y, et al. Significance of IgG4-positive cells in extrahepatic cholangiocarcinoma: Molecular mechanism of IgG4 rection in cancer tissue. *Hepatology.* 2012. DOI: 10.1002/hep.25627 , 査読有
  14. 中沼 安二 ほか、特集：胆膵腫瘍組織分類のエビデンスを問う 胆管内腫瘍の組織委分類とそのエビデンス、胆と膵、2011. 32(12):1331-1338. 査読有
  15. Nakanuma Y, et al. Cyst-forming intraductal papillary neoplasm of the bile ducts: description of imaging and pathologic aspects. *AJR Am J Roentgenol.* 2011, 197(5):1111-1120. 査読有
  16. Nakanuma Y, et al. Intraductal papillary neoplasm arising from peribiliary glands connecting with the inferior branch of the bile duct of the anterior segment of the liver. *Pathol Int.* 2011, 61(12):773-777, 査読有
  17. Nakanuma Y, et al. Intraductal papillary neoplasm of the bile dict in liver cirrhosis with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2011, 17(14):1923-1926, 査読有
  18. Nakanuma Y, et al. Mucinous cystic neoplasms of the liver: a clinicopathological study and

- comparison with intraductal papillary neoplasms of the bile duct. *Mod Pathol.* 2011, 24(8):1079-1089, 査読有
19. Nakanuma Y, et al. Recent progress of IgG4-related hepatobiliary diseases with emphasis on pathologic aspects and differential diagnosis. *Diagnostic Histopathology*, 2011, 17(10):454-461, 査読有
  20. 中沼 安二 ほか、肝内胆管、胆道、膵の腫瘍分類:WHO の新たな試みを含めて、肝粘液嚢胞性腫瘍(画像所見を中心に)、肝胆膵、2011, 62(1):141-147, 査読有
  21. 中沼 安二 ほか、肝内胆管、胆道、膵の腫瘍分類:WHO の新たな試みを含めて、胆管周囲付属腺と胆管腫瘍発生-胆管内乳頭状腫瘍の発生を注目して、肝胆膵、2011, 62(1):127-131, 査読有
  22. 中沼 安二 ほか、肝内胆管、胆道、膵の腫瘍分類:WHO の新たな試みを含めて、病理・発癌の観点から、肝胆膵、2011, 62(1):17-28, 査読有
  23. Nakanuma Y, et al. Tumorigenesis and phenotypic characteristics of mucin-producing bile duct tumors: an immunohistochemical approach, *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2010, 17(3):211-222, 査読有
  24. Nakanuma Y. A novel approach to biliary tract pathology based on similarities to pancreatic counterparts: Is the biliary tract an incomplete pancreas?, *Pathol Int*, 2010, 60(6):419-429, 査読有
  25. Nakanuma Y, et al. Intraductal tubular neoplasm of the common bile duct: Case Report, *Pathol Int.* 2010, 60(7):516-519, 査読有
  26. Nakanuma Y, et al. Wisteria floribunda agglutinin-positive mucin 1 is a sensitive biliary marker for human cholangiocarcinoma. *Hepatology*, 2010, 52(1):174-182, 査読有
  27. Nakanuma Y, et al. IgG4-Related Disease: A Cross-sectional Study of 114 Cases, *Am J Surg Pathol*, 2010, 34(12):1812-1819, 査読有
  28. Nakanuma Y, et al. Pathological classification of intrahepatic cholangiocarcinoma based on a new concept, *World J Hepatol.* 2010, 2(12):419-427, 査読有
- [学会発表] (計 25 件)
1. Nakanuma Y. Biliary tract carcinoma and pancreatic duct adenocarcinoma show similar phenotypes and behaviors suggestion of similar background and development. *Cholangiocarcinoma Tokyo 2013.* 2013 年 2 月 8 日、昭和大学 4 号館、東京都
  2. Sato Y, Harada K, Sasaki M, Nakanuma Y. Characterization of possible precursors of intraductal papillary neoplasm of the bile duct involving peribiliary glands. *The Liver Meeting 2012.* 2012 年 11 月 9 日, HYNES CONVENTION CENTER, Boston, USA.
  3. Sato Y, Gandou C, Harada K, Sasaki M, Nakanuma Y. Perihilar cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma share similar histopathologies, immunophenotypes and development-related molecules: a suggestion a common carcinogenetic process. *The Liver Meeting 2012.* 2012 年 11 月 10 日, HYNES CONVENTION CENTER, Boston, USA.
  4. Sato Y, Harada K, Sasaki M, Nakanuma Y. Validation of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *The Liver Meeting 2012.* 2012 年 11 月 11 日. HYNES CONVENTION CENTER, Boston, USA.
  5. 佐藤 保則、中西 喜嗣、中沼 安二. B 分枝型胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB, branch type) の病理学的特徴とその発生進展様式、第 48 回日本胆道学会学術集会、2012 年 9 月 20 日、京王プラザホテル、東京都
  6. 佐藤 保則、松原 崇史、原田 憲一、佐々木 素子、松井 修、中沼 安二、胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) の側方進展病変と胆管上皮層内腫瘍 (BillN) の免疫組織化学的形質の比較検討、2012 年 7 月 20 日、第 48 回日本肝癌研究会、石川県立音楽堂、石川県
  7. 丸藤 ちひろ、佐藤 保則、五十嵐 紗耶、池田 博子、原田 憲一、佐々木 素子、中沼 安二、肝門部胆管癌での胎生期発現タンパク質の発現様式: 病理学的意義に着目して、2012 年 7 月 20 日、第 48 回日本肝癌研究会、石川県立音楽堂、石川県
  8. 佐藤 保則、原田 憲一、佐々木 素子、中沼 安二、胆管癌の発癌過程における S100 ファミリータンパク質の発現動態の解析、第 48 回日本肝臓学会総会、

- 2012年6月7日、石川県立音楽堂、石川県
9. Nakanuma Y, et al. IgG4 rection in biliary cancers—signification and mechanism, The 101<sup>st</sup> USCAP ANNUAL MEETING, 2012年3月18日、Vancouver Convention Centre, CANADA.
  10. 中沼 安二 ほか、肝嚢胞性腫瘍における免疫組織化学的検討、第47回日本肝臓学会総会、2011年6月2日、ホテルグランパシフィック LE DAIBA, 東京都
  11. 中沼 安二、免疫異常からみた消化器疾患—免疫病理の観点から、第97回日本消化器病学会総会、2011年5月13日、京王プラザホテル、東京都
  12. 中沼 安二 ほか、表層進展を示す胆管癌の病理組織学的検討、第100回日本病理学会総会、2011年4月28日、パシフィコ横浜、神奈川県
  13. 中沼 安二 ほか、原発性硬化性胆管炎(PBC)に発生した胆管内発育を主体とする肝内胆管癌の一例、第100回日本病理学会総会、2011年4月28日、パシフィコ横浜、神奈川県
  14. 中沼 安二 ほか、肝嚢胞性腫瘍における免疫組織化学的検討、第100回日本病理学会総会、2011年4月28日、パシフィコ横浜、神奈川県
  15. 中沼 安二 ほか、肝内結石症の肝門部・肝内胆管における上皮内癌の出現様式に関する検討、第100回日本病理学会総会、2011年4月28日、パシフィコ横浜、神奈川県
  16. 中沼 安二 ほか、胆道系自然免疫を介した硬化性胆管炎の病態発生機構、第100回日本病理学会総会、2011年4月28日、パシフィコ横浜、神奈川県
  17. 中沼 安二 ほか、Aberrant expression of pancreatic stem cell markers in the biliary tree relates to intrahepatic cholangiocarcinogenesis in hepatolithiasis. USCAP, 2011年2月28日、Henry B Gonzales Convention Center, USA.
  18. 中沼 安二 ほか、Sonic hedgehog(SHH) expression in biliary intraepithelial neoplasia(BiIIN), peribiliary glands, and intrahepatic cholangiocarcinomas. USCAP, 2011年2月29日、Henry B Gonzales Convention Center, USA.
  19. 中沼 安二 ほか、Pathological analysis and significance of biliary neuroendocrine tumors. The Liver Meeting 2010, 2010年10月30日、HYNES CONVENTION CENTER, USA.
  20. 中沼 安二 ほか、K-RAS mutation and P53 overexpression in biliary intraepithelial neoplasia(BiIIN), peribiliary glands, and cholangiocarcinomas. The Liver Meeting 2010, 2010年10月29日、HYNES CONVENTION CENTER, USA.
  21. 中沼 安二、Intraductal papillary neoplasm of bile duct(IPNB) and its progression, Korean Association of Pancreatobiliary Diseases, 2010年9月12日、Grand Hilton Hotel, KOREA.
  22. 中沼 安二、会長講演、肝内胆管の解剖と病理、第14回日本肝臓学会大会、2010年10月13日、パシフィコ横浜、神奈川県
  23. 中沼 安二、教育講演：胆道の臨床病理—BiIINを中心として、第46回日本胆道学会学術集会、2010年9月24日、リーガロイヤルホテル広島、広島県
  24. 中沼 安二 ほか、IgG4陽性形質細胞浸潤を伴う胆道癌の病理学的検討、第47回日本消化器免疫学会総会、2010年7月8日、大津プリンスホテル、滋賀県
  25. 中沼 安二、胆道嚢胞性疾患の病理、WHO新分類を中心に、第22回日本肝胆膵外科学会・学術集会、2010年5月26日、東北大学百周年記念会館川内萩ホール、宮城県
- [図書] (計 5件)
1. Nakanuma Y, Sato Y, Harada K. Springer Science+ Business Media, Methods in Molecular Biology, Epithelial Cell Culture protocols, Second Edition. 2012, 469ページ
  2. Nakanuma Y, et al. Churchill Livingstone, MacSween's Pathology of the Liver, 2011, 491-562.
  3. 中沼 安二ほか、(株)前田書店、IgG4関連疾患アトラス、2012年、200ページ
  4. Nakanuma Y, et al. IARC, WHO Classification of Tumours of the Digestive System; World Health Organization of Tumours Intrahepatic cholangiocarcinoma, 2010, 217-224
  5. 全陽(編集 中沼 安二)、文光堂、腫瘍病理鑑別診断アトラス 肝癌 Biliary intraepithelial neoplasia(BiIIN), 2010, 272ページ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中沼 安二 (NAKANUMA YASUNI)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：10115256