

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：83802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19068

研究課題名(和文)胆管内乳頭状腫瘍(IPNB)の発生プロセスの病理学的解析

研究課題名(英文)Pathological analysis of development of intraductal papillary neoplasm of bile duct

研究代表者

角田 優子(Kakuda, Yuko)

静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・研究員

研究者番号：90748435

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):胆道癌の前癌/前浸潤性病変として、胆管内乳頭状腫瘍(IPNB)が注目されている。IPNBは組織形態や4種の亜型(胆膵型、胃型、腸型、好酸型)、さらに解剖学的な部位による組織像の違いが報告されている。今回の検討により、形態が膵管内乳頭状粘液性腫瘍と類似し、単調な増殖を示す典型例と、組織像が不均一な非典型例に分類できた。遺伝子の異常を解析したところ、亜型との関連性があり、さらにその他の形態、発生部位、粘液産生と関連性を示すものが認められた。IPNBの発生、進展に関して、亜型やその他の因子を検討し、検討していく必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文): Intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB) is precursor lesion of invasive adenocarcinoma of bile duct. IPNBs are reported to be subdivided into 4 histologic subtypes (intestinal, gastric, oncocytic, pancreato-biliary), and to be heterogeneous with respect to their anatomical site along the biliary tree. In this study, IPNBs can be divided subgroup with respect to histologic similarities to intraductal papillary mucinous neoplasm of pancreas. By gene mutation analysis, some gene mutation showed association with histologic subtypes, subgroups, tumor location, and macroscopic mucin secretion. To investigate mechanisms of tumorigenesis and progression of IPNB, subtypes and other factors related to IPNB should be considered in future.

研究分野：病理学

キーワード：胆管内乳頭状腫瘍 胆道癌

1. 研究開始当初の背景

胆道癌は、膵癌とならび予後不良の難治性の悪性腫瘍であり、有効な抗がん剤の適応も限られている。さらに、発生に関連するリスク疾患・因子に関する研究が少なく、現在、診断される時点で既に進行した手術不能例が多い。現在、この疾患を克服するためには、早期発見および早期段階での外科的切除が最も重要とされている。最近、WHO 消化器腫瘍分類 (2010) で、胆道癌の前癌/前浸潤性病変として、平坦病変 biliary intraepithelial neoplasm (BillIN)、乳頭状病変 intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB)、粘液性嚢胞性病変 mucinous cystic neoplasm (MCN) が初めて記載された。この記載以来、IPNB に関する臨床病理学的な研究が活発に研究されている (文献 1~3)。これらの研究により、IPNB の典型例に関しては、その病理学的、臨床的な特徴についてコンセンサスが得られつつあるが、依然として IPNB の全貌に関しては、十分には解明されていない。また、IPNB の分子、遺伝子異常の解析も始まっており、KRAS や GNAS の突然変異、SMAD4 の発現異常が注目されている (文献 4~7)。IPNB の膵でのカウンターパートと考えられる膵管内乳頭状粘液性腫瘍 (Intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) では、GNAS 変異が 50%前後の症例で検出され、粘液産生と関連が見られる (文献 8) のに対し、IPNB では殆ど陰性~50%前後で報告者により一定していない。これは IPNB の病態の多様性、あるいは IPNB が多様な集団であることを反映している可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では IPNB を WHO2010 の診断基準に従い、胆管腔内で乳頭状の増殖を示す腫瘍と定義した。さらに、IPNB は多様な疾患群からなることを前提とし、病理組織学的な形

態から IPNB の典型例と非典型例に分類し、IPNB の病理像、また遺伝子、分子異常を解析する。次いで IPNB の分子発現の異常や癌関連遺伝子の突然変異を検討することで、IPNB からの発生プロセスを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 2002 年~2014 年 11 月までに当院で外科的に切除された胆管腫瘍 354 症例のうち、肉眼的に同定できた胆管内乳頭状腫瘍 52 例 (男 : 女=35 : 17, 70±9 歳) を対象とし、これらを 4 亜型 (腸型、胃型、好酸型、胆膵型) に分類し、組織学的な観察を行った。さらに、各群の比較を免疫組織化学的な成績などと比較した。なお、52 例中には IPNB に浸潤癌を伴う症例も含む。分類基準は以下のとおりである。

典型例・非典型例の定義と分類: 典型例は、組織学的に均一な像を示し、胆管腔内での高さが 10mm 以上で、管状成分が少ない例とし、非典型例は、高さが 10mm に達しない、管状成分が 30% を超える、異型が目立つ、間質の幅が広い、のいずれかに該当するものとした。

IPNB は膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) の胆道におけるカウンターパートとする位置づけが提唱されていることから、膵 IPMN との類似性を形態的に評価し、A 群: 極めて類似、B 群: 類似するが細胞異型や組織構築がやや異なる、C 群: 一部のみ類似、D 群: 類似しない、の 4 群に分類した。

(2) 次いで、上記 52 例について、代表割面のパラフィン包埋切片から浸潤癌成分を可及的に避け IPNB 病変部を採取し、QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen) を用いて DNA を抽出した。得られた DNA サンプルを QC Kit (Illumina) を用いて評価し、解析可能 (CT < 4) と考えられた 52 例中 41 例につ

いて次世代シーケンサーMiseqにて、腫瘍パネルTruSight Tumor 26 (Illumina)を用いて代表的な体細胞変異の有無を検索した。解析プログラムは Cancer genome interpreter (<https://www.cancergenomeinterpreter.org/home>)を用いた。DNA量が不足していた1例を除いた40例の遺伝子解析の結果について、組織学的所見との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) 組織学的分類について、52例は典型例24例、非典型例28例に分けられた。両群の年齢、性別、亜型(胆膵型、腸型、胃型、好酸型)に差はなかった。非典型例のほとんどが高さ10mm未満であった。典型例は肝内に発生する例が多く、浸潤例は少なく、粘液過剰産生例が多かった。

IPMNとの類似性による分類では、A群19例、B群18例、C群5例、D群10例であった。A群は主に肝内、肝門部胆管に発生し、非浸潤例の割合が高く、異型度も低かった。形質は胃型が多く、胆膵型は少ない傾向にあった。腫瘍は管腔内での高さが高く、粘液産生が目立った。B群は肝内、肝門部、遠位胆管に発生し、形質は腸型が多いが、腸型IPMNに比して粘液産生が少なく、細胞異型も強い。A・B群は膵IPMNの胆管におけるカウンターパートといえた。対してC・D群は肝門部および遠位胆管に発生し、多くが浸潤癌であった。現在定義されているIPNBは複数の基準で分類できる多様な症例群であると考えられ、これらの結果は、最近、日韓の専門家らがIPNBをType 1とType 2に分類して検討することを提唱した(文献9)が、その議論に寄与した。なお、AおよびB群がType 1に該当し、CおよびD群がType 2に該当する。

(2) 遺伝子変異の検索：解析可能であった

40例中31例にTP53、APC、SMAD4、PIK3CA、GNAS、KRAS、CTNNB1、STK11、MET、FBXW7、BRAF、NRAS、PDGFRA、FGFR2、FOXL2のいずれかの遺伝子変異が認められ、AKT1、EGFR、ERBB2、GNAQ、KIT、ALK、CDH1、PTEN、SRC、MAP2K1、MSH6変異は検出されなかった。解析した40例の遺伝子変異と上述のIPNBの各type、亜型を図1に、また遺伝子変異と解剖学的部位を図2に示す。GNAS変異は肝内2例、肝門部2例に見られ、全て膵IPMNに類似した形態(Type 1)を示した。APC変異は腸型5例、胃型1例、形質の混在した分類不能1例にみられたが、好酸型や胆膵型には検出されなかった。SMAD4に変異が見られた5例、CTNNB1の3例、KRAS3例はすべて腸型で、PIK3CAは胃型1例、腸型4例で好酸型と胆膵型には見られなかった。また、p53変異は16例に見られ、粘液産生が有意に少なかった。検索した26遺伝子中に典型例、非典型例を特徴づける共通の変異はなく、診断基準の確立に有用な変異は同定できなかったが、上述のごとく形態、発生部位、粘液産生、亜型と関連を示すものが認められ、腸型のAPC変異など、腫瘍発生については亜型ごとに機序を検討していく必要があると考えられた。IPNBの遺伝子変異と亜型との関連については現在までにまとまった報告はなく、新たな知見である。これらの結果について、現在、論文作成中である。

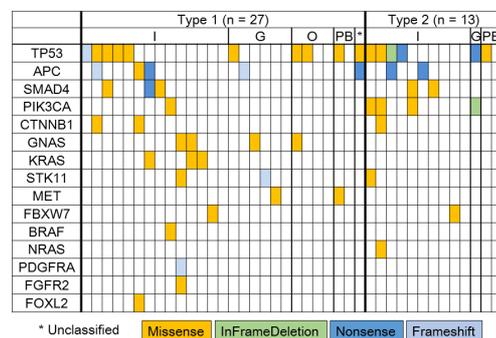


図1 IPNBのtypeおよび亜型と遺伝子変異 (I: 腸型、G: 胃型、O: 好酸型、PB: 胆膵型)

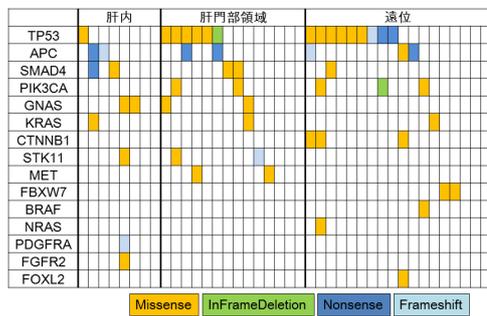


図2 IPNBの解剖学的部位と遺伝子変異

<引用文献>

1. Kubota K et al. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 21(3):176-85, 2014
2. Jung G et al. *J Hepatol* 57(4):787-93, 2012
3. Rocha FG et al. *Hepatology* 56(4):1352-60, 2012
4. Hsu M et al. *Cancer* 119(9):1669-74, 2013
5. Sasaki M et al. *PLoS One* 8(12):e81706, 2013
6. Matthaei H et al. *HPB (Oxford)* 14(10):677-83, 2012
7. Tsai JH et al. *Am J Surg Pathol* 37(12):1862-70, 2012
8. Komatsu H et al. *PLoS One* 9(2):e87875, 2014
9. Nakanuma Y et al. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 25:181-187, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Characterization of intraductal papillary neoplasm of bile duct with respect to histopathological similarities to pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasm.

Nakanuma Y, Kakuda Y, Uesaka K, Miyata T, Yamamoto Y, Fukumura Y, Sato Y, Sasaki M, Harada K, Takase M *Human Pathol.* (2016) 51, 103-113.

doi:10.1016/j.humpath.2015.12.022

Clinicopathological features of intraductal papillary neoplasms of the bile duct: a comparison with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas with reference to subtypes.

Fukumura Y, Nakanuma Y, Kakuda Y, Takase M, Yao T. *Virchows Arch.* 2017 Jul;471(1):65-76.

doi: 10.1007/s00428-017-2144-9.

〔学会発表〕(計 6 件)

角田優子、宮田隆司、上坂克彦、中沼安二
胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) 非典型例を中心とした病理学的検討
第 51 回 日本肝臓学会総会
平成 27 年 5 月 21 日(木) ~ 5 月 22 日(金)
熊本ホテルキャッスル (熊本県熊本市)

角田優子、福村由紀、高瀬優、中沼安二
膵 IPMN との類似性からみた胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) の解析
第 51 回 日本胆道学会学術集会
平成 27 年 9 月 16 日(水) ~ 9 月 17 日(木)
ホテル東日本宇都宮 (栃木県宇都宮市)

Yasuni Nakanuma, Yuko Kakuda, Katsuhiko Uesaka, Takashi Miyata, Yuki Fukumura, Masaru Takase

Intraductal papillary neoplasm of bile duct is a heterogeneous disease with respect to its histopathologic similarities to pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasm

American Association of Studies of Liver Diseases meeting

Nov. 13-17

Moscon west convention center

San Francisco, California

角田優子、杉野隆、中沼安二
胆管内乳頭状腫瘍の遺伝子解析および病理学的検討
第 107 回 日本病理学会総会
平成 30 年 6 月 21 日～6 月 23 日
ロイトン札幌、ホテルさっぽろ芸文館（北海道札幌市）

中沼安二、角田優子
IPNB の提唱とその経緯、そしてこれから
第 107 回 日本病理学会総会
平成 30 年 6 月 21 日～6 月 23 日
ロイトン札幌、ホテルさっぽろ芸文館（北海道札幌市）

福村由紀、角田優子、高瀬優
症例提示；胆管内乳頭状腫瘍（IPNB）診断
コンセンサスの確立に向けて
第 107 回 日本病理学会総会
平成 30 年 6 月 21 日～6 月 23 日
ロイトン札幌、ホテルさっぽろ芸文館（北海道札幌市）

6 . 研究組織

(1)研究代表者

角田優子（KAKUDA, yuko）

研究者番号：90748435

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：

(4)研究協力者

中沼安二（NAKANUMA, yasuni）

福村由紀（FUKUMURA, yuki）

高瀬優（TAKASE, masaru）

芹澤昌邦（SERIZAWA, masakuni）

杉野隆（SUGINO, takashi）