

令和 2 年 6 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10686

研究課題名(和文) 膵インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体発現意義の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the significance of progesterone receptor expression in pancreatic insulinoma

研究代表者

青木 豪 (Aoki, Takeshi)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：10636955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体発現の意義を多角的に解析し、これを標的とする新たな治療法の確立するための基盤を構築することにある。本研究の結果を投稿し、Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biologyに投稿しacceptされた。また、同じように希少疾患であるIPNBの病態についても同時に検討。type1とtype2に分けられるこの疾患の遺伝的、病理学的、臨床的特徴を明らかにすべく研究を行なった。この結果に関しても論文化し、投稿。The Journal of Pathologyに掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵神経内分泌腫瘍は希少疾患であるが、増加傾向にある。機能性の特徴を持つ中で最も多いインスリノーマに着目し、プロゲステロン受容体の発現パターンを調べることにより、新たなインスリノーマの特徴を示すことができた。本研究中には成し遂げられなかったものの、今後インスリノーマに対する治療法を検討するにあたり、ホルモン学的特徴が大きな役割を担う可能性は十分にあると思われた。また、IPNBに関しても、未だ知られていない特徴を、遺伝的、病理学的、臨床的な側面から知らしめることができた。

今後さらなる臨床経験をもとに、正確な病態把握と、それに対する治療方針決定に役立つと考えている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to analyze the significance of progesterone receptor expression in insulinoma from multiple perspectives and to establish a basis for establishing new therapeutics targeting. Papers on the results of this research. This paper was accepted in Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. We also examined the pathology of IPNB, a rare disease in the same way. Study were undertaken to determine the genetic, pathological, and clinical characteristics of this disease, divided into type 1 and type 2. A paper on this result was also submitted. Published in The Journal of Pathology.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵神経内分泌腫瘍 インスリノーマ プロゲステロン受容体 希少疾患

1. 研究開始当初の背景

インスリノーマは膵ランゲルハンス島由来の腫瘍である膵神経内分泌腫瘍(pancreatic neuroendocrine tumor: pNET)の一種であり、インスリンの過剰産生を特徴とする。インスリノーマは近年増加傾向にあり、痙攣や昏睡などの低血糖症状が早期から出現することが知られており、小児の場合、長期に渡ると精神障害に移行することがある。また、組織学的所見によりインスリノーマの予後は大きく変わる。低悪性度である G1 は手術で根治が期待できるのに対し、Neuroendocrine cancer (NEC)は根治手術を行っても高頻度に肝転移をきたす悪性疾患である。よって、インスリノーマの根治には早期診断、早期治療が重要であるが、人口 10 万人あたり 1 人以下がかかる稀な疾患であるために研究がすすんではおらず、十分な知見が得られていないのが現状である。すでに臨床応用されているソマトスタチンアナログ製剤であるオクトレオチドや mTOR 阻害剤であるエベロリムスにはインスリノーマに対する一定の治療効果があるものの(Pavel ME, et al. J Clin Oncol 2009, Yao JC, et al. N Engl J Med 2011)、万能ではないため新たな治療戦略が望まれる。

そこで申請者は、プロゲステロン受容体に注目した。プロゲステロン受容体は乳癌において、その活性化によりエストロゲン受容体と協調して腫瘍の抑制効果を誘導することが最近の報告で明らかにされており(Mohammed H, et al. Nature 2015)、pNET においても、細胞増殖抑制に関与することが報告されている(Yazdani S, et al. Neuroendocrinology 2016)。一方、インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体の役割は明らかにされていない。

プロゲステロン受容体は乳癌において、その活性化によりエストロゲン受容体と協調して腫瘍の抑制効果を誘導することが最近の報告で明らかにされており(Mohammed H, et al. Nature 2015)、pNET においても、細胞増殖抑制に関与することが報告されている(Yazdani S, et al. Neuroendocrinology 2016)。一方、インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体の役割は明らかにされていない。

インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体の役割、特に細胞増殖抑制やインスリン産生抑制に対する有効性を明らかにすることにより、プロゲステロン受容体を標的とする、新たな治療戦略の構築が可能になると考えられる。

その結果、NEC などの悪性の経過をたどる多くのインスリノーマ患者を救命することができると予想される。プロゲステロン受容体を標的とする治療戦略はインスリノーマだけではなく、逆に耐糖能が不良な糖尿病患者に対しても応用が可能であり、その点からも非常に意義がある研究テーマと考える。

本研究に先立ち、申請者は当院の pNET 症例 91 例の切除標本に免疫染色を行いプロゲステロン受容体の発現程度を検討した。その結果、プロゲステロン受容体の発現はインスリン、プロインスリンの発現と正の相関を示し、特にインスリノーマにおいて高発現を認めた(図 2)。プロゲステロン受容体はインスリノーマだけではなく、インスリンの発現が認められた非機能性 NET 症例においても、高発現することが示された(未発表)。

2. 研究の目的

膵神経内分泌腫瘍の一種であるインスリノーマは希少がんであり、その病態は十分に解明されていない。申請者はこれまでの検証で、プロゲステロン受容体がインスリノーマにおいて特異的に発現することを明らかにした。本研究の目的は、インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体発現の意義を多角的に解析し、これを標的とする新たな治療法の確立するための基盤を構築することにある。

3. 研究の方法

インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体発現の意義を多角的に解析し、これを標的とする新たな治療法を確立する。

(1)インスリノーマ切除標本と臨床データに基づくプロゲステロン受容体発現インスリノーマ症例における臨床所見の解明。

当院で手術を行ったインスリノーマの組織標本にインスリンとプロゲステロン受容体の免疫染色を行い、それぞれの発現の相関を明らかにする。さらに血中インスリン濃度、生命予後などの臨床所見との照会を行い、プロゲステロン受容体の有無が臨床所見にどのように反映されているか検証する。

(2)インスリノーマ細胞株とインスリノーマ動物モデルを用いたプロゲステロン受容体ノックダウン処置によるインスリノーマの機能の検証。

CRISPR/Cas9 でプロゲステロン受容体の発現を抑制したマウスインスリノーマ細胞株 MIN6 に対し、そしてその MIN6 を肝臓内に注入することで作成するインスリノーマ肝転移マウスに対し、細胞/腫瘍増殖能とインスリン産生能の評価を、プロゲステロン受容体が存在する無処置の MIN6、無処置の MIN6 によるインスリノーマ肝転移マウスと比較することで行う。

(3)プロゲステロン受容体活性化薬や従来の治療薬との組み合わせによるプロゲステロン受容体を標的とする治療法の探索を推進する。

インスリノーマ肝転移動物モデルに対し、プロゲステロン受容体を活性化させることにより腫瘍の増殖能、インスリン産生能が抑制されるか検証する。さらにプロゲステロン受容体活性化薬と従来の治療薬と組み合わせることにより、治療の相乗効果が得られるか併せて検証する。

4. 研究成果

本研究の目的は、インスリノーマにおけるプロゲステロン受容体(PgR)発現の意義を多角的に解析し、これを標的とする新たな治療法を確立するための基盤を構築することにある。

当院で手術を行ったインスリノーマの組織標本を用い、インスリンおよびプロインスリンと、プロゲステロン受容体発現の相関を明らかにすべく、免疫染色を行い、臨床データと照らし合わせた。また、インスリンのみならず、非機能性膵神経内分泌腫瘍の中で、免疫染色上インスリンが陽性であるものと、陰性であるものとの間の相関も確認した。82例のヒトPan-NEN組織(非機能性膵神経内分泌腫瘍: non-functioning Pan-NEN; 以下NF:54例、インスリノーマ28例)を対象とした。結果: PgR発現はインスリノーマでNFに比して有意に高かった($p < 0.001$)。NFにはインスリン発現を伴うIns+NFと、インスリン発現のないIns-NFが存在し、前者が後者に比してPgR発現が有意に高かった($p = 0.03$)。二重免疫染色では、インスリノーマと正常膵ラ氏島におけるPgR発現率が、Ins+NFにおけるそれより高かったが、全インスリン発現細胞に対するPgRとインスリンの共発現率は、Ins+NF、インスリノーマ、正常膵ラ氏島の間で相違は認められなかった。本研究の結果を論文「Progesterone receptor expression in insulin producing cells of neuroendocrine neoplasms」とし、Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biologyに投稿。本年Acceptされた。

また同じように肝胆膵領域の希少疾患であるIPNBの病態についても病理検体を用いて同時期に検討。Type1とType2に分けられるこの疾患の遺伝的、病理学的、臨床的特徴を明らかにすべく研究を行った。この結果に関しても論文を作成。The Journal of Pathologyに掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tachibana Tomoyoshi, Kasajima Atsuko, Aoki Takeshi, Tabata Tomoaki, McNamara Keely, Yazdani Samaneh, Satoko Sato, Fujishima Fumiyoshi, Motoi Fuyuhiko, Unno Michiaki, Sasano Hironobu	4. 巻 201
2. 論文標題 Progesteron receptor expression in insulin producing cells of neuroendocrine neoplasms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 105694 ~ 105694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2020.105694	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 Aoki Yasutaka, Mizuma Masamichi, Hata Tatsuo, Aoki Takeshi, Omori Yuko, Ono Yusuke, Mizukami Yusuke, Unno Michiaki, Furukawa Toru	4. 巻 251
2. 論文標題 Intraductal papillary neoplasms of the bile duct consist of two distinct types specifically associated with clinicopathological features and molecular phenotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 38 ~ 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5398	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9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 橘 知睦、笠島敦子、青木 豪
2. 発表標題 膵神経内分泌腫瘍におけるプロゲステロン受容体発現とインスリン産生の関連
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 青木 豪
2. 発表標題 WHO2017におけるNET-G3とNEC-G3の比較検討
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Aoki T
2. 発表標題 Laparoscopic ventral hernia repair with endoscopic component separation method
3. 学会等名 EAES 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤圭佑、青木 豪
2. 発表標題 1cm以下の直腸神経内分泌腫瘍切除症例の検討
3. 学会等名 第6回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三浦孝之、青木 豪
2. 発表標題 多発性内分泌腫瘍症1型に合併した膵神経内分泌腫瘍に対し中央区域温存膵切除術を施行した1例
3. 学会等名 第6回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 橘 知睦、青木 豪、笠島敦子
2. 発表標題 膵神経内分泌腫瘍のインスリン産生におけるプロゲステロン受容体の関与
3. 学会等名 第117回日本外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 青木泰孝、青木 豪
2. 発表標題 直腸内転移が疑われた直腸神経内分泌腫瘍（NET）の1例
3. 学会等名 第5回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 青木 豪
2. 発表標題 非機能性膵神経内分泌腫瘍における至適リンパ節郭清に関する検討
3. 学会等名 第72回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 青木 豪
2. 発表標題 膵NETの診療ガイドラインの問題点と今後の展望 / 外科治療の観点から診療ガイドラインを考える
3. 学会等名 第48回日本膵臓学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 青木 豪	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医学図書出版株式会社	5. 総ページ数 180
3. 書名 胆と膵 Vol140 No.2 p129-133 膵神経内分泌癌に対する外科治療	

1. 著者名 青木 豪	4. 発行年 2019年
2. 出版社 アークメディア	5. 総ページ数 154
3. 書名 肝胆膵vol.78 No.1 Jan. 2019 p73-78 Debulking surgeryの位置づけ	

〔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	坂田 直昭 (Sakata Naoaki) (50431565)	福岡大学・医学部・准教授 (37111)	