

平成 21 年 6 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18790974
 研究課題名（和文） 膵および卵巣粘液性嚢胞腫瘍の発生起源と進展機序の解明
 研究課題名（英文） Immunohistochemical similarities between pancreatic mucinous cystic tumor and ovarian mucinous cystic tumor

研究代表者
 鈴木 裕 （SUZUKI YUTAKA）
 杏林大学・医学部・医員
 研究者番号：30407001

研究成果の概要：

【背景と目的】膵粘液性嚢胞腫瘍(Pancreatic Mucinous Cystic Tumors, MCT(P))と卵巣粘液性嚢胞腫瘍(Ovarian Mucinous Cystic Tumors, MCT(O))には何らかの共通点の存在が推測されるが、両者を比較検討した報告は少ない。今回我々は種々の抗体の発現を用い免疫組織学的に両腫瘍を比較し、その発生や進展における各抗体の役割を検討した。

【対象と方法】切除例 MCT(P)8 例(腺腫 6 例、腺癌 2 例)、MCT(O)21 例(腺腫 11 例、境界病変 8 例、腺癌 2 例)が対象。パラフィン包埋切片を用い、細胞周期制御因子(p27/kip1, pRb)、性腺関連マーカー(ER, PgR, inhibin- α)、膵胆道系マーカー(CA19-9, DUPAN2)の発現を腫瘍細胞、間質細胞に分け、免疫組織化学的に検討した。浸潤性膵管癌(Invasive ductal cell carcinoma of the pancreas, DC)女性例 7 例、正常膵女性例 8 例、正常卵巣 10 例においても同様の検討を行った。

【結果】腫瘍細胞において MCT(P)と MCT(O)は p27/kip1 と DUPAN2 において、いずれも DC より有意に染色陽性率が高かった。一方、MCT(P)と MCT(O)の間にはいずれの抗体においても有意差を認めなかった。また、腫瘍細胞において MCT(P)浸潤癌と MCT(O)の腺癌 2 例は p27/kip1 に陰性であった。間質細胞では p27/kip1, ER, PgR, inhibin- α において MCT(P)と MCT(O)はいずれも DC より有意に染色陽性率が高かった。一方、MCT(P)と MCT(O)の間にはいずれの抗体においても有意差を認めなかった。

【結語】女性性腺ホルモンは MCT(O)と同様に MCT(P)においてもその発生において大きな役割を担っており、p27/kip1 の欠乏は両腫瘍の進展に関与していることが示唆された。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	700,000		700,000
2007年度	500,000		500,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	1,700,000	150,000	1,850,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目:外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード:膵臓外科学

1. 研究開始当初の背景

膵粘液性嚢胞腫瘍 (Pancreatic mucinous cystic tumor, MCT(P))は1978年、Compagnoらによって最初に報告された。MCT(P)は巨大な球形もしくは楕円形の、多房性ないし単房性嚢胞性腫瘍であり、ほとんどは中年女性の膵体尾部に認め主膵管との交通を有さない。組織学的には粘液産生性の円柱状の腫瘍細胞に裏打ちされ、腫瘍細胞直下には卵巣様間質 ("ovarian-type" stroma, OS)を認める。OSはMCT(P)の腫瘍細胞直下に見られる細胞密度の高い紡錘状細胞から成る間葉系組織のことで卵巣の間質組織にも類似している。

MCT(P)の発生については、いくつかの説が提唱されている。1)内胚葉由来上皮の幼若な間質が女性ホルモンの刺激に反応して増殖し嚢胞を形成するという原始間葉系幹細胞説、2)生殖腺左原基と背側膵原基が発生段階で side by side に位置し、原始卵胞細胞が膵内に組み込まれる迷入説、3)散布された性索間質性の過誤腫としての説が提唱されている。しかし、正確な MCT(P)の発生のメカニズムは依然証明されていない。

一方、MCTは卵巣に好発する(卵巣粘液性嚢胞腫瘍 (Ovarian mucinous cystic tumor, MCT(O)))。肉眼的に卵巣腫瘍でも最も大きい腫瘍とされる。MCT(O)の間質は通常正常卵巣間質に類似し、時折ルテイン細胞に類似する細胞も認められる。

MCT(P)と MCT(O)は多くの共通点を有する。しかし、両者を比較検討した報告は極めて少ない。特に、細胞周期制御システムや胆膵系マ

ーカーを用い両者を比較した報告はいまだ認めない。

2. 研究の目的

本研究では、MCT(P)と MCT(O)の発生進展における共通点を明確にするため、細胞周期制御因子や女性性腺ホルモンマーカー、胆膵系マーカーを用い MCT(P)と MCT(O)を免疫組織学的に比較した。また MCT(P)と浸潤性膵管癌との発生進展機序の差異を明らかにするため同様の比較を行った。

3. 研究の方法

1998年から2003年までに杏林大学医学部附属病院で切除された MCT(P)および MCT(O)の症例を対象とした。患者および家族に対しては病理診断を行うこと、さらに残った組織を保存し研究用に使うことについて術前にインフォームドコンセントを得てから組織採取した。その結果、8例の MCT(P)と 21 例の MCT(O)を登録した。これらの MCT(P)と MCT(O)は膵癌取扱い規約と卵巣腫瘍取扱い規約に従って、腺腫、境界病変、腺癌に分類し、MCT(P)(腺腫:6 病変、腺癌:2 病変(1 例 *in situ* carcinoma, 1 例 *invasive* carcinoma))と 21 例の MCT(O)(腺腫:10 例、境界病変 9 例、腺癌 2 例)を登録した。

同様に、7 例の浸潤性膵癌女性例と 8 例の正常膵組織女性例、10 例の正常卵巣組織をコントロールとして用いた。

上記組織を用い、ヘマトキシリン染色と免疫染色を行った。免疫染色は細胞周期制御因子である p27/kip1, pRb、女性性腺ホルモンマーカーであるエストロゲンレセプター(Estrogen receptor, ER)、プロゲステロンレセプター(Progesterone receptor, PgR)、 α -インヒビリン、そして胆膵系マ

ーカーである CA19-9, DUPAN2 を一次抗体として検討した。

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 視野の中の腫瘍細胞(MCT(P), MCT(O), 浸潤性膵管癌), 正常上皮細胞(正常膵管上皮, 正常卵巣表皮), 間質細胞(OS(MCT(P), MCT(O)間質細胞, 浸潤性膵管癌, 正常卵巣間質)の全細胞および染色陽性細胞をカウントした。その際、細胞周期制御因子(p27/kip1, pRb)や性腺ホルモンレセプター(ER, PgR)については核の染色で、 α -インヒビン、胆膵系マーカー(CA19-9, DUPAN2)については細胞質の染色で判定した。核または細胞質における陽性強度は考慮しなかった。10 視野における染色陽性細胞率(染色陽性細胞数/全細胞数)の平均を求め、抗体ごとに設定したカットオフ値を越えた場合を陽性症例とした。抗体ごとのカットオフ値は、過去の文献を参考に p27kip1 (10-12), pRb(13)では $+>30\%$, ER, PgR(14)では $+>10\%$, α -inhibin(15, 16)では $+>1\%$; CA19-9, DUPAN2(17)では $+>10\%$ と設定した。以上の判定は病理医を含む 2 名の医師の判断により行った。

結果は種々のマーカーの発現陽性症例の頻度を各腫瘍・組織群間で比較検討し、Statview 5.0 (SAS Institute Inc., Berkeley, CA, USA)を用い Fisher 直接法にて解析し、 $p<0.05$ を有意差ありと判定した。

4. 研究成果

肉眼的所見

MCT(P)は表面平滑で線維性の壁を有する球形の嚢胞性腫瘍であり、すべての腫瘍は膵体尾部に存在した(平均腫瘍径 \pm SD, 86 ± 64 mm, $25 - 180$ mm)。嚢胞内腔に壁在結節を有する 2 例は病理組織学的に腺癌であった(壁在結節径 20mm, 25mm)。

一方、MCT(O)も同様に球形の嚢胞性腫瘍であり(平均腫瘍径 \pm SD, 157 ± 7 mm, $65 - 276$

mm)、そのうち 5 例は単房性、16 例は多房性であった。6 例の MCT(O)は嚢胞内に壁在結節を有し、その内訳は病理組織学的に 1 例が腺腫(60mm), 3 例が境界病変(平均結節径 \pm SD, 77 ± 64 mm, $30 - 150$ mm), 2 例が腺癌であった(壁在結節径 105mm, 160mm)。2 例の腺癌の嚢胞内腔は結節による充実成分で満たされていた。

病理組織学的所見

すべての MCT(P)は粘液産生を示す乳頭状、もしくは非乳頭状の立方ないし高円柱上皮に裏打ちされ、上皮細胞下の嚢胞壁内層は卵巣様間質より成り、外層は硝子化した結合組織より成る。卵巣様間質には円形の核とエオジン好性の細胞質を有する類上皮細胞を認め、これらは卵巣におけるルテイン細胞や門細胞に類似していた。すべての MCT(O)も同様に粘液産生性の円柱上皮とより成っていた。MCT(O)の間質は細胞密度の高い紡錘状の細胞よりなり正常卵巣間質に類似していた。

免疫組織学的所見

腫瘍細胞・上皮細胞における免疫組織学的所見

腫瘍細胞・上皮細胞での MCT(P)、MCT(O)、正常卵巣組織の p27/kip1 陽性症例は浸潤性膵管癌や正常膵管上皮に比し有意に高かった(表 1)。MCT(P)の腺癌のうち浸潤癌の 1 例と MCT(O)の腺癌 2 例は p27/kip1 発現は陰性であった。また MCT(P)、MCT(O)、浸潤性膵管癌における pRb 陽性症例は、正常膵管上皮、正常卵巣組織に比し有意に高かった(表 1)。一方、DUPAN2 陽性症例は MCT(P)、MCT(O)、正常卵巣組織で、浸潤性膵管癌や正常膵管上皮よりも有意に低かった(表 3)。CA19-9 染色は MCT(P)、MCT(O)、浸潤性膵管癌の腫瘍細胞、正常膵管上皮症例において陽性例の頻度が高かった(表 3)。しかし、正常卵巣では、卵胞細胞に染色陽性となったものの卵巣表皮には陽性例

は認められなかった。CA19-9, DUPAN2 染色においては正常膵管上皮では膵管腔面の染色を認めたが、MCT(P), MCT(O), 浸潤性膵管癌では腫瘍細胞の細胞質全体が染色されていた。

表 1. 腫瘍細胞・上皮細胞における p27kip1, pRb

	p27kip1	pRb
MCT(P) (n=8)	7 (87.5%)	6 (75%)
MCT(O) (n=21)	16 (76%)	19 (90%)
DC (n=7)	0	5 (71%)
正常膵 (n=8)	0	0
正常卵巣 (n=10)	10 (100%)	0

表 2. 腫瘍細胞・上皮細胞における ER, PgR, α -インヒビリン

	ER	PgR	α -インヒビリン
MCT(P) (n=8)	0	0	0
MCT(O) (n=21)	0	0	0
DC (n=7)	0	0	0
正常膵 (n=8)	0	0	0
正常卵巣 (n=10)	0	10 (100%)	0

表 3. 腫瘍細胞・上皮細胞における CA19-9, DUPAN2

	CA19-9	DUPAN2
MCT(P) (n=8)	8 (100%)	3 (37.5%)
MCT(O) (n=21)	16 (76%)	3 (14%)
DC (n=7)	7 (100%)	7 (100%)
正常膵 (n=8)	8 (100%)	8 (100%)
正常卵巣 (n=10)	0	0

間質細胞における免疫組織学的所見

間質細胞での p27/kip1 陽性症例は MCT(P), MCT(O), 正常卵巣組織で、浸潤性膵管癌に比し有意に高かった(表 4)。女性性腺ホルモンマーカーにおいても ER 陽性症例は MCT(P)、

MCT(O)で、PgR 染色では MCT(P), MCT(O)で、 α -インヒビリン染色では MCT(P), MCT(O)で浸潤性膵管癌よりも有意に高かった(表 5)。正常卵巣間質における女性性腺ホルモンマーカーの免疫反応は PgR で 100%であったのに対し ER では全例陰性であった。 α -インヒビリンの免疫反応においては顆粒膜細胞、莖膜細胞に全例陽性であったが、今回の検討における卵巣間質細胞については全例陰性であった。

表 4. 間質細胞における p27kip1, pRb

	p27kip1	pRb
MCT(P) (n=8)	5 (62.5%)	0
MCT(O) (n=21)	12 (57%)	1 (5%)
DC (n=7)	0	0
正常膵 (n=8)	0	0
正常卵巣 (n=10)	10 (100%)	0

表 5. 間質細胞における ER, PgR, α -インヒビリン

	ER	PgR	α -インヒビリン
MCT(P) (n=8)	5 (62.5%)	6 (75%)	4 (50%)
MCT(O) (n=21)	12 (57%)	15 (71%)	17 (81%)
DC (n=7)	0	0	0
正常膵 (n=8)	0	0	0
正常卵巣 (n=10)	0	10 (100%)	0

表 6. 間質細胞における CA19-9, DUPAN2

	CA19-9	DUPAN2
MCT(P) (n=8)	0	0
MCT(O) (n=21)	0	0
DC (n=7)	0	0
正常膵 (n=8)	0	0
正常卵巣 (n=10)	0	0

MCT(P)と MCT(O)は病理組織学的に粘液産生性の円柱状腫瘍細胞と細胞密度の高い間葉系間質細胞から構成される共通点を有していた。免疫組織学的検討でも、細胞周期制御システム、女性性腺ホルモンシステム、胆膵系マーカーに対し、極めて類似した結果を示した。これらの病理組織学的、ならびに免疫組織学的所見は浸潤性膵管癌とは大きく異なることを確認した。免疫組織学的検討のみでは MCT(P)の発生源の断定は難しいが、その発生・進展において、女性性腺ホルモンの関与が示唆された。また、MCT(P), MCT(O)の、腫瘍細胞には膵への分化傾向を示すものが認められた。MCT(P)と MCT(O)の発生・進展のメカニズムには p27/kip1 を中心とする細胞周期制御システムの関与が示唆された。

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 1 件)

Suzuki Y, Sugiyama M, Abe N, Fujioka Y, Atomi Y: Immunohistochemical similarities between pancreatic mucinous cystic tumor and ovarian mucinous cystic tumor. *Pancreas*, 査読有, 36: e40-46, 2008.

[学会発表] (計 3 件)

1. Suzuki Y: Immunohistochemical similarity between pancreatic mucinous cystic tumor and ovarian mucinous cystic tumor. First Biennial Congress of the Asian-Pacific Hepato-Pancreato-Biliary Association, 21-23 Mar, 2007, Fukuoka.
2. 鈴木裕: 膵および卵巣粘液性嚢胞腫瘍の類似性に関する検討. 第 61 回日本消化器外科学会総会、平成 18 年 7 月 13-15 日、横浜.
3. 鈴木裕: 膵および卵巣粘液性嚢胞腫瘍の免疫組織学的類似性に関する検討: 第 37

回日本膵臓学会総会、平成 18 年 6 月 29
-30 日、横浜.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 裕 (SUZUKI YUTAKA)

杏林大学・医学部・消化器一般外科・医員
研究者番号: 30407001

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし