

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06982

研究課題名(和文) ヒト膵前がん病変の検証と膵発がん促進サイクルの解明

研究課題名(英文) validity of precancerous lesion and research for pancreatic carcinogenesis

研究代表者

田中 麻理子 (Tanaka, Mariko)

東京大学・医学部附属病院・病院講師

研究者番号：50645710

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵発がんはacinar-to-ductal metaplasia(ADM)からはじまる多段階発がんが想定されているがADMのヒト検体での記述は進んでいない。本研究では外科切除検体ならびに剖検膵の検討から、ヒトでは慢性膵炎などの炎症状態や膵管閉塞の末梢側でADMが好発することが明らかとなった。免疫組織学的検討により、ヒトADMでは一つの病変内において転写因子などの発現に多彩性があることが見出された。また、膵発がんで重要とされるEVI1を膵管上皮細胞と膵癌細胞でノックダウンするとmicroRNAの発現変動が生じ、結果RAS経路の変動をきたすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵発がん初期の変化の記載はアプローチが難しくマウスモデルでの検討が主であるが、ヒト検体での現象を記述することで今後の膵癌研究の発展に貢献する意義を持つ。また、ゲノム研究の発展に伴いがんにおける遺伝子変異の描出が進んでいるが、遺伝子変異によらない発がん経路を見出すことは新たな診断・治療をもたらす可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Starting point of pancreatic carcinogenesis is acinar-to-ductal metaplasia (ADM). Previous research of ADM was mainly based on mouse model. I revealed that human ADM was occurred in inflammatory status and expressed several organ-specific transcriptional factors within one AMD lesion.

EVI1 was an important transcriptional factor for pancreatic carcinogenesis. EVI1-depletion caused the change of microRNA expression in pancreatic cancer/duct cells.

研究分野：病理学

キーワード：膵臓癌 前癌病変 ADM

1. 研究開始当初の背景

膵がんは予後不良な癌腫で、新規高感度バイオマーカーや新規治療介入法の確立やまた、その発生における生物学的機構が必須の課題である。近年、膵がんのゲノム状態が解明され、膵がんでは **KRAS**, **TP53**, **SMAD4**, **CDKN2A** 遺伝子変異 (**Big 4** 変異) が **driver mutation** の基軸を成す。また、膵がんでは多段階発癌が提唱され、**acinar-to-ductal metaplasia (ADM)**、**pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN)** を経て浸潤がんに至ると考えられている。マウス腺房細胞に変異型 **KRAS** を導入すると **ADM** 形成が起こり **PanIN** へ進展するが、その過程で腺房細胞特異的転写因子群のエピジェネティックな抑制が起こる (**Schneider Nat Rev Cancer. 2017**)。一方、ヒトでの **ADM** の検討は進んでいない。

さて、**KRAS** 変異は **low-grade PanIN** 段階の 9 割以上で見られ (**Kanda, Gastroenterology. 2012**) また、膵がんの一部では複数の **KRAS** 変異が存在し、**KRAS** 野生型症例においても **RAS-MAPK** 経路活性化につながる変異がみられる (**Cancer Genome Atlas Research Network Cancer Cell. 2017**)。つまり、**RAS-MAPK** 経路の活性化が膵がんにとって重要であり、これは **KRAS** 変異単独で想定される以上の活性量を要求される場合もあると考えられる。発がん過程における **KRAS** 変異と協調して作用する発がん促進機構の解明は早期の治療・診断介入の上でも重要な課題である。

2. 研究の目的

申請者は、これまで、膵発がん早期の分化異常に注目し、**claudin-18 (CLDN18)** と転写因子 **Ecotropic virus integration 1 site (EVI1)** が前がん病変から浸潤がんまで高発現し、**EVI1-miRNA-96-KRAS/Glypican-1 axis** が膵発がんを促進することを見出し、**RAS-MAPK** 経路の重要性を明らかにしてきた (**J Histochem Cytochem 2011. Oncogene 2014. Oncotarget 2017.**)。本研究はその継続課題として、膵発がんのスタートポイントとされる **ADM** のヒトでの特徴を抽出すること、並びに **KRAS** 変異と協調的に作用する発がん促進機構として **microRNA** に着目しその振る舞いの明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1. ヒトにおけるADMの特徴

東京大学医学部附属病院における 2010 年から 2020 年の外科的膵切除症例 (膵癌、他癌、非癌) および剖検症例を用いて臨床病理学的検討を行った。ヒト **ADM** 検体にて、マウス **ADM** で発現変化が報告されている因子を中心に免疫組織化学的検討を行った。

2. EVI1下流の発がん促進ループの検索

膵発がんにおいて **KRAS** と協調的に発がんを促進する **EVI1** を軸に、発がん促進機構の描出を行った。膵管上皮細胞と膵がん細胞での **EVI1** ノックダウンを行い、**EVI1** 下流の **microRNA** 発現変動を **real time PCR assay** で検討した。**microRNA microarray** 解析と **pathway** 解析を用いて網羅的発現変動を検証し、細胞株を用いて増殖能、移動能などの検討を行った。

4 . 研究成果

1. ヒトにおけるADMの特徴

ヒトでは慢性膵炎や自己免疫性膵炎などの炎症状態、膵管閉塞の末梢側において ADM が好発する一方で、必ずしも膵癌の背景膵に多くみられるわけではなかった。これは PanIN とは異なる傾向である。また、形態学的には、**duct ectasia** 様の ADM と、ADM 内に PanIN 様の粘液上皮の出現を見るものが存在することが見出された。

免疫組織学的検討では、ADM では同一病変内で腺房特異的転写因子の発現と膵管特異的分子の発現が一細胞ごとに異なることが明らかとなった(図1)。また、RAS-MAPK 経路関連分子の発現は多くの ADM でみられなかった。

ヒト ADM では RAS-MAPK 経路の活性化はあまり起こっていない一方でダイナミックな転写因子等の発現変動が生じており、KRAS 変異以前の膵発がん素地形成を調べる上で重要な病変と考えられる。

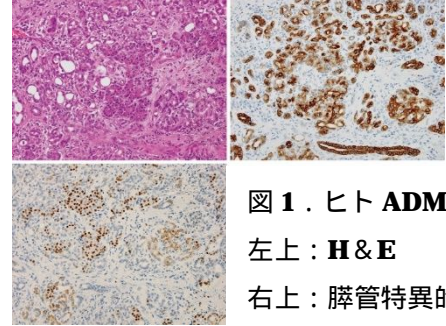


図1 . ヒト ADM

左上 : H & E

右上 : 膵管特異的分子

右下 : 腺房特異的分子

2 . EVI1下流の発がん促進ループの検索

膵管上皮細胞と膵がん細胞での real time PCR assay、網羅的解析により、EVI1 下流で microRNA の発現変動が生じることが明らかとなった。これらの microRNA の変化は oncogenicity を有すること、標的遺伝子候補群は RAS 経路に關与することが見出された。



図2 . EVI1 による microRNA 発現変動。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20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 Tumor Budding in Intrahepatic Cholangiocarcinoma: A Predictor of Postsurgery Outcomes. Tanaka M, Yamauchi N, Ushiku T, Shibahara J, Hayashi A, Misumi K, Yasunaga Y, Morikawa T, Kokudo T, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Fukayama M.	4. 巻 43
2. 論文標題 Tumor Budding in Intrahepatic Cholangiocarcinoma: A Predictor of Postsurgery Outcomes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol.	6. 最初と最後の頁 1180-1190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001332.	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 Yoshihara R, Komai T, Nagafuchi Y, Tsuchida Y, Shoda H, Tanaka M, Ushiku T, Fujio K.	4. 巻 69
2. 論文標題 Eosinophilic cholangitis with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: A case report and review of the literature.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 154-156.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.08.002. Epub 2019 Aug 31.	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 Soroida Y, Nakatsuka T, Sato M, Nakagawa H, Tanaka M, Yamauchi N, Wake T, Nakagomi R, Kinoshita MN, Minami T, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Tanaka Y, Endo M, Nakamura A, Kobayashi T, Kurihara M, Hikita H, Sato M, Gotoh H, Iwai T, Fukayama M, Ikeda H, Tateishi R, Yatomi Y, Koike K.	4. 巻 45
2. 論文標題 A Novel Non-invasive Method for Predicting Liver Fibrosis by Quantifying the Hepatic Vein Waveform.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ultrasound Med Biol.	6. 最初と最後の頁 2363-2371.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ultrasmedbio.2019.05.028.	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 Oyama H, Tada M, Takagi K, Tateishi K, Hamada T, Nakai Y, Hakuta R, Ijichi H, Ishigaki K, Kanai S, Kogure H, Mizuno S, Saito K, Saito T, Sato T, Suzuki T, Takahara N, Morishita Y, Arita J, Hasegawa K, Tanaka M, Fukayama M, Koike K.	4. 巻 158
2. 論文標題 Long-term Risk of Malignancy in Branch-Duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gastroenterology.	6. 最初と最後の頁 226-237.e5.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2019.08.032.	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 Furukawa T, Fukushima N, Itoi T, Ohike N, Mitsuhashi T, Nakagohri T, Notohara K, Shimizu M, Tajiri T, Tanaka M, Yamaguchi H, Yanagisawa A, Sugiyama M, Okazaki K.	4. 巻 48
2. 論文標題 A Consensus Study of the Grading and Typing of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 480-487.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001270.	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 Tanaka Mariko, Shibahara Junji, Ishikawa Shumpei, Ushiku Tetsuo, Morikawa Teppei, Shinozaki-Ushiku Aya, Hayashi Akimasa, Misumi Kento, Tanaka Atsushi, Katoh Hiroto, Sakuma Kei, Kokudo Takashi, Inagaki Yoshinori, Arita Junichi, Sakamoto Yoshihiro, Hasegawa Kiyoshi, Fukayama Masashi	4. 巻 474
2. 論文標題 EV11 expression is associated with aggressive behavior in intrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 39 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-018-2476-0.	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 Tanaka M, Ushiku T, Ikemura M, Takazawa Y, Igari T, Shimizu M, Yamaguchi H, Fukushima N, Sakuma K, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Watadani T, Nakai Y, Koike K, Fukayama M.	4. 巻 7
2. 論文標題 Pancreatic Lipomatous Hamartoma: A Hitherto Unrecognized Variant.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol	6. 最初と最後の頁 891-897
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001075.	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 Sano M, Takahashi R, Ijichi H, Ishigaki K, Yamada T, Miyabayashi K, Kimura G, Mizuno S, Kato H, Fujiwara H, Nakatsuka T, Tanaka Y, Kim J, Masugi Y, Morishita Y, Tanaka M, Ushiku T, Nakai Y, Tateishi K, Ishii Y, Isayama H, Moses HL, Koike K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Blocking VCAM-1 inhibits pancreatic tumour progression and cancer-associated thrombosis/thromboembolism.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gut.	6. 最初と最後の頁 320608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/gutjnl-2020-320608.	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 Takumida H, Izumi S, Sakamoto K, Hashimoto M, Ishii S, Suzuki M, Takasaki J, Tanaka M, Igari T, Hojo M.	4. 巻 59
2. 論文標題 Sustained coronavirus disease 2019-related organizing pneumonia successfully treated with corticosteroid.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Respir Investig.	6. 最初と最後の頁 377-381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2020.12.005.	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 Fujiwara H, Takahara N, Tateishi K, Tanaka M, Kanai S, Kato H, Nakatsuka T, Yamamoto K, Kogure H, Arita J, Nakai Y, Kasuga M, Ushiku T, Hasegawa K, Koike K.	4. 巻 35
2. 論文標題 5-Aminolevulinic acid-mediated photodynamic activity in patient-derived cholangiocarcinoma organoids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 484-490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2020.10.011.	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 Hamada T, Oyama H, Nakai Y, Tada M, Koh H, Tateishi K, Arita J, Hakuta R, Ijichi H, Ishigaki K, Kawaguchi Y, Kogure H, Mizuno S, Morikawa T, Saito K, Saito T, Sato T, Takagi K, Takahara N, Takahashi R, Tanaka A, Tanaka M, Ushiku T, Hasagawa K, Koike K.	4. 巻 30
2. 論文標題 ABO Blood Group and Risk of Pancreatic Carcinogenesis in Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.	6. 最初と最後の頁 1020-1028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1055-9965.EPI-20-1581.	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 Kiritani S, Kaneko J, Ito D, Morito M, Ishizawa T, Akamatsu N, Tanaka M, Iida T, Tanaka T, Tanaka R, Asakura T, Arita J, Hasegawa K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Silk fibroin vascular graft: a promising tissue-engineered scaffold material for abdominal venous system replacement	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 21041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78020-y.	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 Takeuchi M, Sato J, Manaka K, Tanaka M, Matsui H, Sato Y, Kume H, Fukayama M, Iiri T, Nangaku M, Makita N.	4. 巻 66
2. 論文標題 Molecular analysis and literature-based hypothesis of an immunonegative prostate small cell carcinoma causing ectopic ACTH syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocr J.	6. 最初と最後の頁 547-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ18-0563.	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 wada N, Nakao T, Daimon M, Nawata K, Tanaka M, Komuro I.	4. 巻 18
2. 論文標題 Multiple calcified amorphous tumors in a patient with end-stage renal disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Echocardiogr .	6. 最初と最後の頁 125-126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12574-019-00416-1.	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 Fukayama M, Miyagaki T, Akamata K, Suzuki S, Tanaka M, Sato S.	4. 巻 45
2. 論文標題 Japanese familial anetoderma: A report of two cases and review of the published work.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1459-1462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14672.	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 Saito K, Isayama H, Sakamoto Y, Nakai Y, Ishigaki K, Tanaka M, Watadani T, Arita J, Takahara N, Mizuno S, Kogure H, Ijichi H, Tateishi K, Tada M, Hasegawa K, Fukayama M, Kokudo N, Koike K.	4. 巻 35
2. 論文標題 A phase II trial of gemcitabine, S-1 and LV combination (GSL) neoadjuvant chemotherapy for patients with borderline resectable and locally advanced pancreatic cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Med Oncol.	6. 最初と最後の頁 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12032-018-1158-8.	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 Ito K, Sakamoto Y, Isayama H, Nakai Y, Watadani T, Tanaka M, Ushiku T, Akamatsu N, Kaneko J, Arita J, Hasegawa K, Kokudo N.	4. 巻 22
2. 論文標題 The Impact of MDCT and Endoscopic Transpapillary Mapping Biopsy to Predict Longitudinal Spread of Extrahepatic Cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Gastrointest Surg.	6. 最初と最後の頁 1528-1537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11605-018-3793-y.	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 Hiroyoshi J, Yamashita S, Tanaka M, Hayashi A, Ushiku T, Kaneko J, Akamatsu N, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Contrast-enhanced intraoperative ultrasound in the resection of colorectal liver metastases with intrabiliary growth.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 348-353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-018-0858-0.	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 Iwashita T, Nakai Y, Mukai T, Togawa O, Matsubara S, Hatano Y, Hara A, Tanaka M, Shibahara J, Fukayama M, Isayama H, Yasuda I.	4. 巻 63
2. 論文標題 A 19-Gauge Histology Needle Versus a 19-Gauge Standard Needle in Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration for Solid Lesions: A Multicenter Randomized Comparison Study (GREATER Study).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dig Dis Sci.	6. 最初と最後の頁 1043-1051.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-018-4913-y.	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 Fujiwara N, Nakagawa H, Enooku K, Kudo Y, Hayata Y, Nakatsuka T, Tanaka Y, Tateishi R, Hikiba Y, Misumi K, Tanaka M, Hayashi A, Shibahara J, Fukayama M, Arita J, Hasegawa K, Hirschfield H, Hoshida Y, Hirata Y, Otsuka M, Tateishi K, Koike K.	4. 巻 67
2. 論文標題 CPT2 downregulation adapts HCC to lipid-rich environment and promotes carcinogenesis via acylcarnitine accumulation in obesity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Gut.	6. 最初と最後の頁 1493-1504.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/gutjnl-2017-315193.	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中麻理子
2. 発表標題 浸潤性膵管がんにおける micropapillary 成分の意義
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安永瑛一, 田中麻理子, 有田淳一, 長谷川潔, 牛久哲男
2. 発表標題 膵神経内分泌腫瘍におけるクロマチンリモデリング因子発現の腫瘍内不均一性および転移再発巣との比較検討
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安永瑛一, 田中麻理子, 有田淳一, 長谷川潔, 牛久哲男
2. 発表標題 膵神経内分泌腫瘍におけるクロマチンリモデリング因子発現の腫瘍内不均一性および転移再発巣との比較検討
3. 学会等名 第20回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 田中麻理子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学図書出版	5. 総ページ数 1193-1198
3. 書名 胆と膵「IPMN 悪性度診断の要点 (PanIN と IPMN の共通点: 相違点も含めて)」	

1. 著者名 田中麻理子、牛久哲男	4. 発行年 2021年
2. 出版社 , 医学書院	5. 総ページ数 282-287
3. 書名 胃と腸「空腸・回腸：小腸腺腫・腺癌」	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------