

令和 4 年 5 月 5 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07897

研究課題名(和文) 膵上皮内癌周囲の膵腺房細胞萎縮に着目した膵癌早期診断の基礎的研究

研究課題名(英文) The study to detect early-stage pancreatic cancer based on the data from molecular biology about the atrophic acinar cell surrounding carcinoma in situ.

研究代表者

菅野 敦 (Kanno, Atsushi)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：70509190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：膵腺房細胞を萎縮させ膵発癌を促進させるmRNA, miRNA, 分泌蛋白の候補を絞り込むべく、現在手術を施行した膵癌症例から採取した膵癌組織は術後一部を凍結切片とし、Lasercapture microdissectionの手法を用いて採取されたmRNA, miRNA発現プロファイル、および蛋白の発現の差異を検討している。同様にmicroarrayの手法を用いてその変化を調べ、膵腺房細胞の萎縮と膵癌の進展に関連mRNA, miRNA発現プロファイル、および蛋白候補を抽出している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌早期診断に、限局的な膵実質の萎縮に着目されているが、現在その分枝生物学的データの蓄積はない。本研究から明らかにされた、miRNAやサイトカインのデータから、ERCPから採取した膵液を用いて膵癌の早期診断へ寄与するのみではなく、膵発癌に着目した治療への発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：To detect the mRNA, miRNA, and several cytokines developing the pancreatic ductal carcinoma and making pancreatic acinar cell atrophy, the histological specimens were obtained from pancreatic ductal carcinoma used by laser capture microdissection. The profile of mRNA, miRNA, and several cytokines are checked by protein array used data to acquire from laser capture microdissection.

研究分野：膵癌 膵炎 胆管癌 胆管炎

キーワード：膵癌 早期診断 腺房細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

基礎研究(C) 課題番号 18K07897

研究課題名

膵上皮内癌周囲の膵腺房細胞萎縮に着目した膵癌早期診断の基礎的研究

1. 研究開始当初の背景

・膵発癌に関する様々な研究が数多く報告されている。膵臓は、膵管上皮細胞の他に外分泌機能を司る腺房細胞、膵線維化の中心的役割を担う膵星細胞の存在などが知られている。通常型膵癌は膵管上皮の単なる癌化ではなく、周囲の細胞が形成する環境から発癌し、これらの細胞の相互関係から進展、増大、浸潤や転移を来すことが推測されている。様々な mRNA や miRNA の膵癌細胞における影響や膵癌細胞と膵星細胞の interaction の報告はあるものの、腺房細胞の萎縮、脂肪化と膵発癌の関連の報告は認めない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、膵上皮内癌近傍に認める腺房細胞の萎縮に着目し、各種膵臓関連細胞の共培養および培養上清から候補となる mRNA や分泌蛋白、miRNA の候補を絞り込み、膵発癌の分子機構の解明、ならびに膵癌の早期診断を行うことが目的である。特に、酸化ストレス応答の主要な制御因子である Nrf2 と膵発癌、その近傍における腺房細胞萎縮を明らかにするため、以下の計画を立てた。(1) 各種膵癌細胞株、腺房細胞株、膵星細胞、正常膵管上皮細胞を用いて mRNA、プロテオーム解析、miRNA array を行う(2)絞り込まれた標的遺伝子の強制発現もしくは機能抑制膵癌細胞株もしくは正常膵管上皮細胞株を用いて膵発癌過程を解明する。(3) 変異 K-ras・Keap1 欠損マウスを用いた検討(4)さらに ERCP 下に採取した膵液や十二指腸液を用いてターゲットとなる mRNA や分泌蛋白、miRNA の検出による膵癌早期診断への応用を目指す。

3. 研究の方法

1) 膵臓関連細胞と臨床検体から得る腺房細胞萎縮と膵癌進展関連遺伝子および蛋白発現プロファイルの作成.

-1: Panc1 MiaPaca2 BxPc3 などの膵癌細胞株、膵星細胞、膵腺房細胞、正常膵管上皮細胞、人膵星細胞株を用い、各々の単純培養から得られる細胞上清、および各細胞の組み合わせによる共培養から得られる細胞や細胞上清から、mRNA, miRNA 発現プロファイルの miarray、プロテオミクス解析・メタボローム解析を行う。得られた結果からデータベース解析を行い、膵腺房細胞を萎縮させ膵発癌を促進させる mRNA, miRNA, 分泌蛋白の候補を絞り込む。膵星細胞は従来の方法を用いて不死化した人膵星細胞株を用いる。膵腺房細胞は、手術標本から人膵腺房細胞の primary culture を分離する。

-2 手術を施行した膵癌症例から採取した膵癌組織は術後一部を凍結切片とし、Laser capture microdissection の手法を用いて採取された mRNA, miRNA 発現プロファイル、および蛋白の発現の差異を検討する。同様に microarray の手法

を用いてその変化を調べ、膵腺房細胞の萎縮と膵癌の進展に関連 mRNA, miRNA 発現プロファイル、および蛋白候補を抽出する

-3 先に得られた mRNA, miRNA 発現プロファイル、および蛋白に関するプロファイルと、実際の手術症例から得られた膵癌組織の mRNA, miRNA, 蛋白発現プロファイルの差を比較し、対象となる遺伝子、蛋白を絞り込む。

4 . 研究成果

膵腺房細胞を萎縮させ膵発癌を促進させる mRNA, miRNA, 分泌蛋白の候補を絞り込むべく、現在手術を施行した膵癌症例から採取した膵癌組織は術後一部を凍結切片とし、Lasercapture microdissectionの手法を用いて採取された mRNA, miRNA 発現プロファイル、および蛋白の発現の差異を検討している。同様に microarrayの手法を用いてその変化を調べ、膵腺房細胞の萎縮と膵癌の進展に関連 mRNA, miRNA 発現プロファイル、および蛋白候補を抽出している。膵癌細胞株膵星細胞は従来の方法を用いて不死化した人膵星細胞株を用いることは可能であるが、膵腺房細胞は、手術標本から人膵腺房細胞の primary culture を分離を試みている最中である。膵特異的に Cre-recombinase を発現する Pdx-Cre トランスジェニックマウスと LSL-KrasG12D:LSL-p53 R172H ノックインマウスを交配することによって、膵特異的に活性化型変異 Kras と機能喪失型 p53 を発現し、生後半年以内に高率に膵発癌を来すマウスモデル (KPC マウス) (Hingorani, 2005) においては膵前癌病変として acinoductal metaplasia および PanIN 形成がみられる。KPC マウスと Keap1 欠損マウスを交配すると膵萎縮が認められることから (Hamada, 2017) 膵上皮内癌に似た膵萎縮の分子機構が起きていることが推測される。現在、採取された組織から Lasercapture microdissection の手法を用いて mRNA, miRNA の検討、またマウス血液中のバイオマーカー候補としてはプロテオミクス解析・メタボローム解析を行う予定である。さらに、臨床症例を報告するべく、学会発表を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18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 Kanno Atsushi, Yasuda Ichiro, Irisawa Atsushi, et al.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Adverse events of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration for histologic diagnosis in Japanese tertiary centers: Multicenter retrospective study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13912	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 Hata T, Nakagawa K, Hayashi H, Kanno A, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 An integrated analysis of host- and tumor-derived markers for predicting high-grade dysplasia and associated invasive carcinoma of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surg Today.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-020-01982-z	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 Matsumoto R, Miura S, Kanno A, et al.	4. 巻 59
2. 論文標題 IgG4-related Sclerosing Cholangitis Mimicking Cholangiocarcinoma Diagnosed by Endoscopic Ultrasound-guided Fine-needle Aspiration.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 945-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Masamune A, Kikuta K, Hamada S, Collaborators.	4. 巻 55
2. 論文標題 Nationwide epidemiological survey of autoimmune pancreatitis in Japan in 2016.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 462-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-019-01658-7.	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 Hirono S, Shimizu Y, Ohtsuka T, Kin T, Hara K, Kanno A, et al.	4. 巻 55
2. 論文標題 Recurrence patterns after surgical resection of intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas; a multicenter, retrospective study of 1074 IPMN patients by the Japan Pancreas Society.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 86-99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-019-01617-2.	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 Yoshimachi S, Ohtsuka H, Aoki T, Mizuma M, Kanno A, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Mixed adenoneuroendocrine carcinoma of the ampulla of Vater: a case report and literature review.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 37-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-019-01009-2.	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 Masamune A, Nabeshima T, Kikuta K, Hamada S, Nakano E, Kume K, Kanno A, et al.	4. 巻 54
2. 論文標題 Prospective study of early chronic pancreatitis diagnosed based on the Japanese diagnostic criteria.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 928-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-019-01602-9.	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 Miura S, Kanno A, et al.	4. 巻 34
2. 論文標題 Preoperative biliary drainage of the hepatic lobe to be resected does not affect liver hypertrophy after percutaneous transhepatic portal vein embolization.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surg Endosc.	6. 最初と最後の頁 667-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-019-06813-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 Yoshida T, Hijioka S, Hosoda W, Ueno M, Ikeda M, Ito T, Kanno A, et al.	4. 巻 26
2. 論文標題 Surgery for Pancreatic Neuroendocrine Tumor G3 and Carcinoma G3 Should be Considered Separately.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 1385-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07252-8.	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 Kanno Atsushi, Masamune Atsushi, Hanada Keiji, Kikuyama Masataka, Kitano Masayuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Advances in Early Detection of Pancreatic Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 18 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics9010018	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 Kamisawa Terumi, Kanno Atsushi, Shimosegawa Tooru, Kawa Shigeyuki, Chiba Tsutomu, Okazaki Kazuichi, Takikawa Hajime, Kimura Wataru, Unno Michiaki, Yoshida Masahiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Clinical practice guidelines for IgG4-related sclerosing cholangitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences	6. 最初と最後の頁 9 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jhbp.596	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 Hata Tatsuo, Mizuma Masamichi, Motoi Fuyuhiko, Ishida Masaharu, Morikawa Takanori, Takadate Tatsuyuki, Nakagawa Kei, Hayashi Hiroki, Kanno Atsushi, Masamune Atsushi, Kamei Takashi, Furukawa Toru, Naitoh Takeshi, Unno Michiaki	4. 巻 48
2. 論文標題 Diagnostic and Prognostic Impact of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas With High-Grade Dysplasia and Associated Invasive Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 99 ~ 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001202	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 Tetsuya, Kanno Atsushi, Chiba Tsutomu	4. 巻 48
2. 論文標題 Risk Factors for Pancreatic Stone Formation in Type 1 Autoimmune Pancreatitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pancreas	6. 最初と最後の頁 49 ~ 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MPA.0000000000001210	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 Shimizu Yasuhiro, Hijioka Susumu, Hirono Seiko, Kin Toshifumi, Ohtsuka Takao, Kanno Atsushi, Koshita Shinsuke, Hanada Keiji, Kitano Masayuki, Inoue Hiroyuki, Itoi Takao, Ueki Toshiharu, Matsuo Keitaro, Yanagisawa Akio, Yamaue Hiroki, Sugiyama Masanori, Okazaki Kazuichi	4. 巻 45
2. 論文標題 New Model for Predicting Malignancy in Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 1 ~ 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000003108	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 Yoshida Naoki, Kanno Atsushi, Masamune Atsushi, Nabeshima Tatsuhide, Hongo Seiji, Miura Shin, Takikawa Tetsuya, Hamada Shin, Kikuta Kazuhiro, Kume Kiyoshi, Ueno Masamichi, Shimosegawa Tooru	4. 巻 57
2. 論文標題 Pancreatic Acinar Cell Carcinoma with Multiple Liver Metastases Effectively Treated by S-1 Chemotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 3529 ~ 3535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.0294-17	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 Isayama Hiroyuki, PSC guideline committee Members: Kanno Atsushi, Kubota	4. 巻 53
2. 論文標題 Clinical guidelines for primary sclerosing cholangitis 2017	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1006 ~ 1034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-018-1484-9	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 Kubota Kensuke, Kanno Atsushi,	4. 巻 25
2. 論文標題 Clinical course of type 1 autoimmune pancreatitis patients without steroid treatment: a Japanese multicenter study of 97 patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences	6. 最初と最後の頁 223 ~ 230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jhbp.541	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 Kanno Atsushi, Masamune Atsushi, Hanada Keiji, Maguchi Hiroyuki, Shimizu Yasuhiro, Ueki Toshiharu, Hasebe Osamu, Ohtsuka Takao, Nakamura Masafumi, Takenaka Mamoru, Kitano Masayuki, Kikuyama Masataka, Gabata Toshifumi, Yoshida Koji, Sasaki Tamito, Serikawa Masahiro, Furukawa Toru, Yanagisawa Akio, Shimosegawa Tooru	4. 巻 18
2. 論文標題 Multicenter study of early pancreatic cancer in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 61 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pan.2017.11.007	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 1件)

1. 発表者名 Atsushi Kanno et al.
2. 発表標題 Usefulness of Franseen FNA needles in histopathological diagnosis of autoimmune pancreatitis
3. 学会等名 APA-JPS 50th anniversary meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菅野 敦 ほか
2. 発表標題 当科における自己免疫性膵炎145例の臨床経過
3. 学会等名 第50回 日本膵臓学会 総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦晋 菅野敦 ほか
2. 発表標題 炎症性主膵管狭窄とstage0-I膵癌の臨床像の比較
3. 学会等名 第105回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	濱田 晋 (Hamada Shin) (20451560)	東北大学・医学系研究科・助教 (11301)	
研究分担者	三浦 光一 (Miura Kouichi) (90375238)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	

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