

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16576

研究課題名（和文）膵臓のKRAS変異バリエーションと癌抑制遺伝子異常による膵がん発生リスク予測

研究課題名（英文）Risk prediction of pancreatic cancer by KRAS mutant variation and tumor suppressor alteration

研究代表者

大森 優子（Omori, Yuko）

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90827833

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：膵臓の前駆病変である膵管内乳頭粘液性腫瘍（以下、IPMN）を対象とした分子病理学的解析により、IPMNの各上皮亜型（胃型、腸型、膵胆道型、好酸性細胞型）の発生進展や悪性化に関する分子異常の特徴を明らかとした。膵管内腫瘍であるIPMNのKRAS、GNAS、がん抑制遺伝子異常の組み合わせによる分子フェノタイプにより、浸潤癌発生リスクやIPMN患者の予後は層別化されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IPMNや膵癌、またその背景膵に発生する膵管内腫瘍性病変のKRAS やGNAS変異バリエーションの多彩性や蓄積度、癌抑制遺伝子異常の蓄積度の評価による、癌化へと進展しやすいIPMNや膵臓全体の分子プロファイリングは、IPMN患者の追跡観察における新たな悪性化リスク層別化の指標と成り得る。その特徴や悪性化リスクに応じて、サーベイランス方法の調整や、積極的な組織診断の併用を行うことで、膵癌早期発見への寄与が示唆される。

研究成果の概要（英文）：The molecular patterns involving the malignant progression are different among epithelial subtypes of IPMNs; gastric-, intestinal-, pancreatobiliary-, and oncocytic-type. The molecular phenotypes of combinatorial genomic alterations of tumor suppressor genes with signature of KRAS and GNAS of intraductal components may stratify the risk of invasion and survival in IPMN patients.

研究分野：人体病理学

キーワード：膵癌 IPMN PanIN クローン進化 悪性化リスク予測

1. 研究開始当初の背景

膵管内乳頭粘液腫瘍（以下、IPMN）には、嚢胞本体の多段階発癌（由来癌）に加え、多中心性発生する微小病変を起源とする膵癌発生（併存癌）が見られ、IPMN 患者は膵癌の高危険群である。現在、IPMN の診断・治療指針は画像的に悪性度が推定されているが、経時的に見たときに、どのような IPMN 患者が由来癌へ進展する危険性が高いのか未だ明らかではない。また、何より、慎重な追跡観察中であっても、突如現れたかの如くして発生する併存癌は、進行癌であることも多く、IPMN 患者の生命予後に大きな影響を与えており、画像的サーベイランスに加え、新規のリスク層別化アルゴリズムが求められている。

我々は、IPMN 関連膵癌切除検体を対象に、同時多発する腫瘍性病変の形態学的、分子病理学的解析を行い、併存癌が発生しやすい IPMN 患者と由来癌が発生しやすい IPMN 患者では、*KRAS*、*GNAS* 変異パターンに特徴づけられる異なる膵臓の分子プロファイルを有している事を報告した (Omori Y., Ono Y., et al. *Gastroenterology* 2019)。IPMN や膵癌、またその背景膵に発生する膵管内腫瘍性病変（以下、PanIN）の *KRAS* や *GNAS* 変異バリエーションの多彩性や蓄積度、癌抑制遺伝子異常の蓄積度の評価による、癌化へと進展しやすい IPMN や膵臓全体の分子プロファイリングは、IPMN 患者の追跡観察における新たな悪性化リスク層別化の指標と成り得る。その特徴や悪性化リスクに応じて、サーベイランス方法の調整や、積極的な組織診断の併用を行うことで、膵癌早期発見への寄与が示唆される。

2. 研究の目的

『膵臓の *KRAS* 変異バリエーションと癌抑制遺伝子異常による膵がん発生リスク予測』を研究課題とし、IPMN とその背景に発生する微小膵管内病変の解析により、IPMN 患者膵全体の分子病理学的特徴を明らかにし、その悪性化リスクの層別化を目的とする。発がんリスクの高い膵臓や IPMN の分子学的特徴を、*KRAS* 変異バリエーションのパターンや *GNAS* 変異型とその変異率、癌抑制遺伝子異常蓄積度の側面から、解明を目標とした。

3. 研究の方法

- (1) 外科的切除された IPMN 由来癌、併存膵癌、IPMN を伴わない通常型膵癌、膵癌未発生 IPMN、非膵癌・非 IPMN 膵臓を集積した。
- (2) 組織学的解析
 - ① 微小膵管内病変の組織学的解析
膵切除検体の全割標本を全て観察し、微小膵管内病変の異型度と多寡、IPMN や関連膵癌との位置関係や分散性を明らかにし、腫瘍性クローンの関連性や多中心性発生の程度を解析した。
 - ② IPMN 上皮亜型の組織学的解析
IPMN の上皮亜型を形態と粘液形質により、胃型、腸型、膵胆道型、好酸性細胞型（膵管内オンコサイト型乳頭状腫瘍、以下 IOPN）に分類した。
- (3) ホルマリン固定パラフィン包埋組織からの試料採取と DNA、RNA 精製
 - ① Needle micro-dissection 法を用いて、微小膵管病変から、NGS 解析に資する質の保たれた核酸を抽出した。
 - ② Needle micro-dissection 法を用いて、同一腫瘍内・複数病変からの試料採取を行い、腫瘍進展経路の追跡を可能とした。
- (4) IPMN と関連膵癌、微小膵管内病変の分子学的解析
 - ① デジタル PCR 法による *KRAS*、*GNAS* 変異解析
 - ② デジタル PCR 法による *KRAS*、*GNAS* コピー数異常解析
 - ③ 免疫組織化学染色法による膵癌関連がん抑制遺伝子（*CDKN2A/p16*、*SMAD4*、*p53*、 β -catenin、*STK11*）の蛋白発現解析
 - ④ 次世代シーケンサーを用いたターゲットアンプリコンシーケンス解析：膵癌、IPMN に関連する 37 遺伝子（*KRAS*、*GNAS*、*CDKN2A/p16*、*SMAD4*、*TP53*、*STK11*、*RNF43*、*CTNNB1* を含む）を網羅する膵腫瘍の解析に特化したカスタムパネルを設計し、遺伝子変異とコピー数異常解析を行った。
 - ⑤ 全エクソーム解析
 - ⑥ RT-PCR 法による融合遺伝子解析
 - ⑦ FISH 法による *KRAS* コピー数解析
- (5) 予後解析

4. 研究成果

(1) IPMN 併存膵癌を、IPMN とは独立して発生した *de novo* 膵癌 (IPMN とは異なる *KRAS* プロファイルを有する) と branch-off 膵癌 (IPMN に隣接して発生し、同一の *KRAS* プロファイルを有する、Omori Y., Ono Y., et al. *Gastroenterology* 2019) に分類し、その背景の微小膵管内病変の *KRAS* 変異解析を行った。*De novo* では膵癌周囲と遠隔領域にはいずれも多彩な *KRAS* パターンを示す腫瘍性クローンが多発する傾向があるのに対し、branch-off では膵癌周囲には同一パターンの腫瘍性クローンの広がりが見られ、遠隔領域には多彩な *KRAS* パターンを示す腫瘍性クローンが多発する傾向があることを見出した。*De novo* と branch-off での発がんメカニズムの違いを明らかにするため、症例数を増やして解析を継続中である。

(2) 60 例の腸型 IPMN を対象とした解析により、腸型 IPMN は胃型 IPMN を母地として発生し、*CDX2* の制御を受けることで腸型形質を獲得し、*CDKN2A/p16* や *TP53*、*WNT* 経路分子異常の蓄積により悪性化することを報告した (Omori Y., et al. *Virchows Arch*, 2020)。

(3) 184 例の IPMN を対象とした解析により、*STK11* 異常を有する IPMN の 5 つの特徴 ; ① *KRAS* 機能活性化変異と相助し、特徴的な形状 (繊細に分岐するシダの葉状の乳頭、好酸性球状体の集簇) の膵胆道型 IPMN を形成する、② IPMN の悪性化に関与し、治療経過を悪化させるリスク因子となる、③ 膵がんドライバー遺伝子異常である *TP53* や *SMAD4* の異常に先行して異常が生じる、④ 下流シグナルであるリン酸化 *AMPK* α 発現の低下により、脂質代謝やミトコンドリア代謝を変化させる、⑤ 上皮間葉転換の転写制御因子である *Snail* の発現を誘導し、細胞接着性を低下させ、浸潤や転移に関与する、を報告した (Omori Y., et al. *Ann Surg*, 2021)。

(4) 43 症例、103 病変を対象とした解析により、胃型、腸型、膵胆道型、好酸性細胞型の 4 つの上皮亜型が混在する IPMN の発生進展経路には、同一の遺伝子変異を有しながら、新たな遺伝子変異の蓄積により変化する *progressive* パターン、一部の遺伝子変異を共有しながら、異なる遺伝子変異が蓄積し、異なる上皮亜型が発生する *divergent* パターン、独立した腫瘍性クローンに始祖する *independent* パターンが存在することを報告した (Kobayashi T., Omori Y., et al. *J Gastroenterol*, 2021)。

(5) 171 症例の高異型度 IPMN と IPMN 由来癌を対象とした解析により、IPMN の上皮亜型によって、その悪性化に関与する分子異常のパターンが異なることを明らかとした。膵胆道型—*CDKN2A/p16*、*p53*、*SMAD4*、*STK11*、腸型—*CDKN2A/p16*、*p53*、*GNAS* 増幅、胃型—*CDKN2A/p16*、*p53*、*SMAD4* (その異常頻度は低い)。さらに、膵管内腫瘍部における 4 つの遺伝子異常 (*CDKN2A/p16*、*p53*、*SMAD4*、*STK11*) の蓄積個数により、浸潤癌発生リスクと、再発リスク、予後が層別化されることを見出した。現在、論文投稿準備中である。

(6) 57 症例の膵胆道発生の好酸性細胞質を有する膵管内腫瘍を対象とした解析により、*ATP1B1-PRKACA*、*DNAJB1-PRKACA*、*ATP1B1-PRKACB* 融合遺伝子は、形態学的に典型的な IOPN の 100% (29/29)、IPMN もしくは胆管内乳頭状腫瘍の各上皮亜型との鑑別を要する非典型的な好酸性細胞腫瘍の 46% (13/28) に認められることを明らかとした。融合遺伝子を有する腫瘍では、*PRKACA*、*PRKACB* mRNA 発現およびタンパク発現と、その下流に位置する転写因子 *CREB* のリン酸化が亢進しており、本融合遺伝子は膵胆道発生好酸性腫瘍のドライバー遺伝子異常であることが明らかとなった。さらに、*PRKACA*、*PRKACA* の発現は、典型的 IOPN において有意に亢進し、多くが *KRAS*、*GNAS* 野生型であり、融合遺伝子が主たるドライバー遺伝子異常として見出された。一方、非典型群ではその発現上昇は軽度に留まり、かつ IPMN の腫瘍内不均一性を示すサブクローナルな遺伝子異常として認められた。現在、論文投稿準備中である。

(7) 胃型 IPMN 12 症例を対象とした全エクソーム解析を行い、83% (10/12) において、クロマチンリモデリング関連遺伝子異常 (*KMT2C*、*KMT2D*、*KMT2A*、*KDM6A*、*ARID1A*、*SMARCA4*、*ARID2*) を同定した。胃型 IPMN の多くは低異型度腫瘍であるが、時に高異型度化し、管状腺癌として浸潤し予後不良となる。胃型 IPMN の悪性化に関する特徴的な分子機構は明らかでなく、その解明は IPMN 患者における分子病理学的サーベイランスや治療戦略への大きな寄与が期待される。今後、標的遺伝子変異解析と蛋白発現解析により、IPMN 悪性化におけるクロマチンリモデリング関連遺伝子異常の意義を明らかとする。

(8) 2 例の IPMN に由来する退形成膵癌を対象とした *multi-regional* 解析により、IPMN と膵癌では共通の遺伝子変異を有し、腫瘍の連続性を示しながら、退形成膵癌では高度な倍数性 (*KRAS* コピー数 中央値 4、最大 26) と異数性を呈することを明らかとした。通常型膵癌に比較して予後良好とされる IPMN 由来癌においても、染色体の高度な構造異常が、予後不良な退形成膵癌発生を誘導することが示された。現在、論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 高橋賢治, 大森優子, 小野裕介, 古川徹, 水上裕輔	4. 巻 43
2. 論文標題 【Liquid biopsyは膵癌の診断・治療をどう変えるか?】IPMNの悪性度評価とliquid biopsy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 33-42
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 無
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 大森優子, 水上裕輔, 古川徹	4. 巻 82
2. 論文標題 【分枝型IPMNの長期予後と進展様式】IPMN由来癌と併存癌 IPMN隣接併存癌	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 肝胆膵	6. 最初と最後の頁 809-813
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 無
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 大森優子, 小野裕介, 谷野美智枝, 唐崎秀則, 山口浩, 古川徹, 真口宏介, 田中伸哉, 水上裕輔	4. 巻 3
2. 論文標題 IPMN関連膵がんの発生・進化に関する分子経路	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 消化器病学サイエンス	6. 最初と最後の頁 49-55
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 無
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 Kobayashi T, Omori Y, Ono Y, Karasaki H, Mizukami Y, Makino N, Motoi F, Unno M, Ueno Y, Furukawa T	4. 巻 56
2. 論文標題 Pathways for the development of multiple epithelial types of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 581-592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-021-01783-2	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 該当する

1. 著者名 大森優子, 水上裕輔, 古川徹	4. 巻 41
2. 論文標題 【IPMN大全】IPMNの分子生物学 IPMNと併存膵癌のクローン進化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 1245-1252
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 無
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 Omori Y, Ono Y, Kobayashi T, Motoi F, Karasaki H, Mizukami Y, Makino N, Ueno Y, Unno M, Furukawa T.	4. 巻 -
2. 論文標題 How does intestinal-type intraductal papillary mucinous neoplasm emerge? CDX2 plays a critical role in the process of intestinal differentiation and progression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-020-02806-8	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 該当する

1. 著者名 Omori Y, Ono Y, Morikawa T, Motoi F, Higuchi R, Yamamoto M, Hayakawa Y, Karasaki H, Mizukami Y, Unno M, Furukawa T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Serine/Threonine Kinase 11 Plays a Canonical Role in Malignant Progression of KRAS-mutant and GNAS-wild-type Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	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) 10.1097/SLA.0000000000004842	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 該当する

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 大森優子, 小野裕介, 森川孝則, 元井冬彦, 樋口亮太, 山本雅一, 唐崎秀則, 水上裕輔, 海野倫明, 古川徹.
2. 発表標題 STK11はKRAS変異/GNAS野生型IPMNの悪性化に関与する.
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子
2. 発表標題 改めてIPMNおよびIPNBの病態を学ぶ IPMNの実際.
3. 学会等名 第62回日本臨床細胞学会総会春季大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子
2. 発表標題 膵病変の切除検体から学ぶ 膵病変, 対比に活かせる病理マッピング.
3. 学会等名 Next TV Symposium消化器病 Up to date (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子
2. 発表標題 微小膵癌の病理学的知見のトピックス.
3. 学会等名 第13回膵癌早期診断研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子, 水上裕輔, 古川徹
2. 発表標題 IPMN関連膵癌の発生経路と発癌素地, 上皮亜型に関連した分子解析.
3. 学会等名 第52回日本膵臓学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子
2. 発表標題 胆道病変の切除検体から学ぶ 胆道病変, 対比に活かせる病理マッピング.
3. 学会等名 Next TV Symposium消化器病 Up to date (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大森優子, 古川徹
2. 発表標題 胆管腫瘍と膵腫瘍 - 遺伝子異常からみた類似性と相違性
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤泰斗, 大森優子, 青野光, 廣瀬勝也, 水間正道, 森川孝則, 海野倫明, 樋口亮太, 本田五郎, 古川徹
2. 発表標題 膵胆道腫瘍におけるPRKACA, PRKACB融合遺伝子の意義
3. 学会等名 第111回日本病理学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Itoh T, Omori Y, Seino M, Hirose H, Date F, Ono Y, Mizukami Y, Mizuma M, Morikawa M, Higuchi R, Honda G, Unno M, Furukawa T
2. 発表標題 Rearrangement and expression of PRKACA/B governs phenotypes of pancreato-biliary oncocytic neoplasms
3. 学会等名 第53回日本膵臓学会大会・第26回国際膵臓学会 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Omori Y, Ono Y, Morikawa M, Date D, Higuchi R, Honda G, Karasaki H, Mizukami Y, Unno M, Furukawa T
2. 発表標題 Molecular Phenotype Stratify the Risk of Invasion and Outcomes of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms
3. 学会等名 第53回日本膵臓学会大会・第26回国際膵臓学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Omori Y, Ono Y, Ito T, Date D, Morikawa M, Motoi F, Higuchi R, Honda G, Karasaki H, Mizukami Y, Unno M, Furukawa T
2. 発表標題 STK11-altered intraductal papillary mucinous neoplasms develop characteristic clinico-patho-biology
3. 学会等名 第53回日本膵臓学会大会・第26回国際膵臓学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Omori Y, Ono Y, Morikawa T, Motoi F, Higuchi R, Yamamoto M, Karasaki K, Mizukami Y, Unno M, Furukawa T.
2. 発表標題 STK11 Plays a Canonical Role in Malignant Progression of a Subset of KRAS-mutant Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms.
3. 学会等名 109th USCAP Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林敏一, 大森優子, 小野裕介, 水上裕輔, 牧野直彦, 元井冬彦, 海野倫明, 上野義之, 古川徹.
2. 発表標題 IPMN組織亜型における遺伝子異常についての相互関係の分子病理学的解析.
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 大森優子
2. 発表標題 IPMN関連膵癌におけるMolecular Subtypeに基づいたクローン進化モデル.
3. 学会等名 第3回神戸消化器懇話会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Omori Y, Ono Y, Kobayashi T, Motoi F, Karasaki H, Mizukami Y, Makino N, Ueno Y, Unno M, Furukawa T.
2. 発表標題 How Does Intestinal-type Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm Emerge? CDX2 Plays a Critical Role in the Process of Intestinal Differentiation and Progression.
3. 学会等名 50th Anniversary Meeting of American Pancreatic Association and Japan Pancreas (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Omori Y, Kobayashi T, Ono Y, Motoi F, Unno M, Mizukami Y, Makino N, Ueno Y, Furukawa T.
2. 発表標題 How dose Intestinal type intradutal papillary mucinous neoplasm emerge?
3. 学会等名 27th United European Gastroenterology Week Barcelona 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大森優子, 小野裕介, 谷野美智枝, 山口浩, 真口宏介, 水上裕輔, 古川徹, 田中伸哉.
2. 発表標題 IPMN関連膵癌におけるmolecular subtypeに基づいたクローン進化モデル.
3. 学会等名 第16回日本病理学会カンファレンス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大森優子, 水上裕輔, 元井冬彦, 海野倫明, 古川徹.
2. 発表標題 腸型IPMNはどのように発生するか? CDX2, MUC2, alcianblue三重染色による 検討.
3. 学会等名 第50回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上裕輔, 大森優子, 唐崎秀則
2. 発表標題 IPMN関連膵臓癌の分子基盤と進展経路
3. 学会等名 第50回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大森優子, 小野裕介, 谷野美智枝, 唐崎秀則, 山口浩, 真口宏介, 田中伸哉, 古川徹, 水上裕輔
2. 発表標題 IPMN関連膵臓癌におけるMolecular subtypeに基づいたクローン進化モデル
3. 学会等名 第36回日本胆膵病態・生理研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mizukami Y, Omori Y, Ono Y, Karasaki H, Tanino M, Yamaguchi H, Furukawa T, Maguchi H, Tanaka S, Okumura T.
2. 発表標題 Pathways of progression from intraductal papillary mucinous neoplasm and the genetic diversity of associated organ field.
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2019 (国際学会)
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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