

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 5 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17423

研究課題名（和文）免疫組織・分子生物学手法による十二指腸上皮性腫瘍のバイオマーカー探索

研究課題名（英文）Search for biomarkers of duodenal epithelial tumors by immunohistological/
molecular biological methods

研究代表者

皆月 ちひろ（Minatsuki, Chihiro）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10800740

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）：消化管癌の中で比較的頻度が低いものの、近年増加傾向である十二指腸腫瘍について、日常臨床で腫瘍マーカーとして使用可能なマーカーを探索することと、腫瘍の発症や増大に寄与している遺伝子を発見することを目的として研究を行った。その結果、胃型のマーカーや消化管分化マーカーの発現亢進もしくは低下が腫瘍の悪性度と関連していることを突き止めた。また、遺伝子発現解析という手法を用いて、腫瘍と腫瘍でない部分を比較することで腫瘍部分で働く遺伝子群を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

まれであるために十二指腸腫瘍の性質や悪性度の高さなどはよくわかっておらず、指針がないためにそういった病気を持つ方への対応にも難渋することがあったが、消化管腫瘍の中でもどのような傾向を持つ腫瘍であるかがわかれば治療薬の選択にも貢献することができ、また、腫瘍で働く遺伝子群を同定したため、その中から特に重要な遺伝子を絞ることができれば今後の治療方法の発展にも大きく貢献できる。

研究成果の概要（英文）：Although duodenal tumors are relatively rare among gastrointestinal tumors, it has been increasing recently. We aimed to search for some markers that could be used as tumor markers in routine clinical practice and to discover genes that contribute to the onset and growth of tumors. As a result, it was found that the upregulation or downregulation of the expression of gastric type markers and gastrointestinal differentiation markers is associated with the malignancy of the duodenal epithelial tumors. In addition, using a technique of comprehensive gene expression analysis, we identified a group of genes that work in the tumor part by comparing the tumor and the non-tumor part.

研究分野：消化器病学

キーワード：十二指腸上皮性腫瘍 免疫組織学 分子生物学

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。

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初、家族性大腸ポリポシスと関連のない、孤発性十二指腸上皮性腫瘍が消化管上皮性腫瘍の中では比較的まれな疾患であるにもかかわらず、世界的にもその発見頻度が増加傾向であることが報告されていた。その理由としては、以前と比べて内視鏡検査及び機器の精度が向上したこと、検診で内視鏡検査が行われる頻度が上昇したこと、十二指腸内にも上皮性腫瘍が発見されることが実地医家も含めて広く浸透したことなどが挙げられる。また、ハイボリュームセンターであっても、十二指腸上皮性腫瘍の治療をする頻度はそれほど高くない施設が多い中、東京大学医学部附属病院では紹介患者も含めて十二指腸上皮性腫瘍の内視鏡治療症例数が多く、関連施設も合わせると、幅広い症例から得られる知見があると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、十二指腸上皮性腫瘍の免疫組織学的解析を行い、臨床に還元可能な免疫組織学的所見の同定を目指すことと、十二指腸上皮性腫瘍のコード遺伝子・非コード遺伝子の網羅的発現解析を行い、発症・促進の分子機序の解明することである。

3. 研究の方法

まず、一つ目の目標に関しては、東京大学医学部附属病院並びにその関連施設において、内視鏡的に切除された十二指腸上皮性腫瘍の組織標本を用いて癌マーカー、消化管分化マーカーの免疫組織学的染色を行った。癌マーカーとしては、Ki-67、p53、消化管分化マーカーとしては、MUC2、MUC5AC、MUC6、CDX1、CDX2 を用いた。その結果と、十二指腸上皮性腫瘍の臨床的特徴や背景因子との比較を行った。臨床的特徴としては、腫瘍径、腫瘍の色調、肉眼的所見、腫瘍の存在部位、組織学的所見について、背景因子としては、年齢、性別についての解析を行った。我々は既に内視鏡的に切除された検体において、消化管分化マーカーのうち、MUC2、CDX1、CDX2 といった腸型マーカーを発現する腫瘍は組織学的に良性の腫瘍、深達度も浅い腫瘍が多いといった悪性度が低い特徴を有し、対照的に MUC5AC、MUC6 といった胃型マーカーを発現する腫瘍は悪性で、深達度もより深いといった悪性度が高い特徴を有する可能性について発表している。同様の傾向が内視鏡切除の対象となる病変に限らず、外科的切除の対象となるような進行癌でも観察可能かどうかについての検討を行った。

次に、二つ目の目標に関して、治療予定の十二指腸上皮性腫瘍 8 症例の腫瘍部と非腫瘍部それぞれの生検 1 回分の組織検体から全 RNA 抽出を行い、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。内視鏡生検検体は非常に小さいが、腫瘍部から採取しすぎると、その後の治療に大きく影響するため、生検により必要十分な量が採取できるかを確認するため、Nanodrop により、RNA の純度の確認と定量を行い、さらに Agilent 2010 Bioanalyzer による RNA の質のチェックを行った。生検組織 10mg から、quality に問題のない全 RNA を 3~5 µg 抽出する系の作成に成功した。十二指腸上皮性腫瘍において発現が低下、あるいは上昇している候補遺伝子群を同定し、腫瘍部と非腫瘍部において、マーカーとして重要と考えられる遺伝子群を同定するべくクラスター解析を行った。発現差が大きい遺伝子を同定し、候補遺伝子については抗体を作成し、臨床検体においてその有用性について検討を行う予定だった。

4. 研究成果

1) 十二指腸上皮性腫瘍において、免疫組織学的所見を得ることを目標にした研究では、進行癌でも消化管分化マーカーの発現は同様の傾向を示した。すなわち、腸型マーカーを発現する腫瘍は深達度が比較的浅く、特にリンパ節転移傾向が少ないといった特徴がみられた。遠隔転移については、外科的切除、もしくは内視鏡切除の対象となる症例を対象としているため、非常に少なかったため、解析は行ったが有意差は出なかった。一方、胃型マーカーを強く発現する腫瘍は、深達度が深い腫瘍に多いため、腫瘍の深部浸潤傾向が示唆され、リンパ節転移傾向が高いなど悪性度が高い特徴がみられた。さらに、進行癌の一部には消化管分化マーカーの発現全体が低下する傾向もみられ、従来報告のあった胃型マーカーを発現する腫瘍は悪性度が高いという特徴とは異なる、新たな知見と考えられた。リンパ節転移や遠隔転移、深部浸潤の傾向と分化マーカーの発現の傾向が一致すれば、重要な予後因子として臨床に還元可能であると考ええる。今後、さらに症例数を増やし、胃型マーカーを発現する腫瘍と形質発現が低下する腫瘍との臨床病理学的特徴や、背景因子、予後や臨床経過の相違についての検討を行うと、臨床に還元可能な有益な情報になりうるものと考ええる。

2) 次に全症例の腫瘍由来 RNA・周辺正常粘膜由来 RNA を用いて RT-PCR による発現の検証を行い、十二指腸腫瘍で発現異常を来たす遺伝子群の同定をおこなった。クラスター解析により、腫瘍部と非腫瘍部の発現差が大きい遺伝子は明瞭に分けることができた。さらに、十二指腸上皮性腫瘍において腫瘍部・周辺非腫瘍部で 2 倍以上の発現差を呈した 626 遺伝子を

同定することができた。そこで、(1) 腫瘍促進活性・抗腫瘍活性、(2) 消化管分化との関連、(3) 病理組織型との相関、(4) 背景十二指腸粘膜との関係に着目して解析を行ない、癌化との関連、あるいはマーカーとして重要と考えられる遺伝子群を同定することを目標として候補遺伝子を絞りこんだが、難渋したため、以降に予定していた工程については今後の課題になっている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------