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 ２５ 日現在

機関番号：１７７０１
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2020～2021
課題番号：２０Ｋ２１６３３

研究課題名（和文）IPMNはなぜ膵癌の危険因子なのか？クローン拡大から膵癌早期診断への挑戦

研究課題名（英文）IPMN as a risk factor for pancreatic ductal adenocarcinoma; challenge for early diagnosis of pancreatic cancer by the assessment of clonal expansion

研究代表者
大塚　隆生（Ohtsuka, Takao）

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：２０３７２７６６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　5,000,000円

研究成果の概要（和文）：IPMNを良性にとどまらせる可能性があるドライバー遺伝子変異XXX（結果を未発表のため具体的名称の記載を省略）を同定しえた。このXXX変異が併存膵癌を合併しないIPMNには起こっておらず、併存膵癌を発生させるIPMNに特徴的な遺伝子変異である可能性が示唆されるとともに、XXX変異を基軸としたクローン拡大を起こしている膵臓に発癌のリスクがあるという仮説を支持できる可能性も示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義
危険因子を有する膵癌発癌過程の機序を解明する学問的意義のみならず、膵癌早期診断法の技術を世界へ向けて発信し、広く世界人類の健康に大きく寄与する社会的意義も有する

研究成果の概要（英文）：We found the driver gene mutation namely XXX (unpublished data) which lead sustained benign intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN). The preliminary experiments demonstrated that this mutation was observed only in IPMN having concomitant pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), but not in IPMN without PDAC. This finding indicates that there possibly exists the clonal expansion in whole pancreatic parenchyma having IPMN with concomitant PDAC.

研究分野：恒常性維持機関の外科学およびその関連分野

キーワード：膵癌　IPMN　ゲノム　予防　ゲノム医療　クローン拡大　早期診断

※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

膵管内乳頭粘液性腫瘍(IPMN; intraductal papillary mucinous neoplasm)では 3~9%に通常型膵癌が合併し、膵癌の高危険群であることは認知されているが、その発生機序は明らかにされていない。膵癌の前癌病変 PanIN と IPMN の初期像は組織学的に極めて類似し、*KRAS* 変異/*GNAS* 野生型と共通の特徴も持つため、同一細胞を起源としている可能性が指摘されている。IPMN は MUC2 陽性腸型と MUC2 陰性非腸型(胃型・胆膵型)の 2 亜型に大きく分類され、通常型膵癌は非腸型 IPMN に合併しやすいことが報告されている。一方、腸型 IPMN は非腸型と比較すると悪性度は高くはなく、腸型 IPMN 発生膵に通常型膵癌は発生しにくい。この MUC2 獲得に *GNAS* 変異の関与が指摘されている。同じく同一臓器に多発する食道癌では飲酒・喫煙による慢性刺激が食道全体に遺伝子変異と前癌病変を蓄積させ、高齢者に食道癌が発生しやすい原因の一つとして提示されたが、同時に癌化に向かわせる遺伝子変異群(*TP53* 変異等)を持つクローンと正常上皮に留まらせる遺伝子変異群(*NOTCH1* 変異等)のクローンの広がり(クローン拡大)に違いが存在することも明らかとなった。高齢者に多い IPMN や膵癌でも同様に慢性刺激から IPMN と PanIN が共通の *KRAS* 変異とは別のドライバー遺伝子変異を介して、それぞれ悪性度の低い IPMN と高い膵癌に独立して膵全体に拡大していく可能性があり、本研究を着想した。

２．研究の目的

膵癌の危険因子である IPMN に注目し、同一膵内に膵癌と IPMN が発症する機序を遺伝子解析に基づくクローン拡大（慢性刺激→共通のドライバー遺伝子変異による臓器全体の遺伝子変異と前癌病変の蓄積→別のドライバー遺伝子変異による膵癌と IPMN の選択と拡大）から解明し、膵癌早期診断に有用なバイオマーカーを探索することを目的とする

3.　研究の方法

(1)網羅的遺伝子解析とクローン拡大解析

IPMN 併存多発膵癌患者の切除標本を用いて同一膵内に発症した IPMN と膵癌(前癌病変 PanIN)からマイクロダイセクションでそれぞれ腫瘍細胞を回収して DNA を抽出し、次世代シークエンサーで網羅的遺伝子変異解析を行う。解析には当該施設で開発した全ゲノム/全エクソン解析に十分な質と量の DNA を抽出できる Tissue Tablet 法で保存した新鮮凍結切片を用いる。その上で Signature 分類と、膵癌と IPMN のドライバー遺伝子変異頻度を比較し、両者を規定する *KRAS* 変異以外のドライバー遺伝子変異を同定する。また系統樹解析も併せて実施する。胃型 IPMN から腸型 IPMN への移行帯は免疫染色ならびに MUC2 染色で判別可能であるため、それぞれの亜型からマイクロダイセクションで DNA を抽出し、*GNAS* 変異が MUC2 発現に関連しているかを確認する。次世代シークエンサー解析で膵癌と IPMN を規定する遺伝子変異を同定できない場合には全エクソン解析を行うが、さらに Signature 分類ができない場合には、プロテオミクス解析へ切り替える。

(2)膵癌早期診断へ向けたバイオマーカー探索

癌化直前ないし超早期癌の段階で観察される遺伝子変異等のバイオマーカーを同定できたら、これをリキッドバイオプシー検体として十二指腸液で検出可能かを検討する。我々はすでに胃カメラ検診に附随して簡便に十二指腸液を採取する方法を確立し、遺伝子変異やタンパク/mRNA の発現異常が膵癌の同定に有用である可能性を報告している。また通常は血中で同定されるエクソソームが消化液中にも存在することを報告している。

4.　研究成果

(1)　IPMN と同一膵内の併存膵癌からそれぞれ DNA を抽出し、それぞれの網羅的遺伝子解析を行った結果、IPMN を良性にとどまらせる可能性があるドライバー遺伝子変異 *XXX* を同定しえた（図 1、結果を未発表のため具体的名称の記載を省略）。この *XXX* 変異は併存膵癌を合併しない IPMN には起こっておらず、併存膵癌を発生させる IPMN に特徴的な遺伝子変異である可能性が示唆されるとともに、*XXX* 変異を基軸としたクローン拡大を起こしている膵臓に発癌のリスクがあるという仮説を支持できる可能性も示された。また *XXX* 変異は MUC2 陽性となる腸型 IPMN では同定できておらず、胃型 IPMN を特徴づけるとともに、さらにその中でも通常型膵癌を発症するリスクを持つ膵臓に起こる可能性があることが示された。

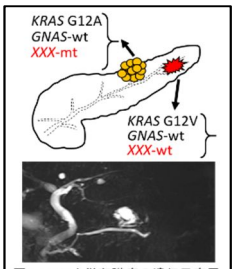

図1. IPMN と併存膵癌の遺伝子変異

病理学的にも IPMN 併存膵癌の背景膵の観察を行い、low grade ~ high grade PanIN の密度が高いことを見出した。これがクローン拡大に伴う現象であることが示唆された （図 2）[1]。

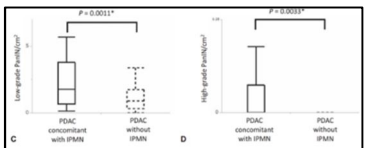

図2. IPMN併存膵癌と前癌病変 (PanIN)の密度

一方、図 3 に見るように膵癌の遺伝子変異数そのものが少ないため[2]、プロテオミクス解析を行う予定としており、既に新鮮標本サンプルを多数採取し、米国ジョンズ･ホプキンス大学での解析待ち状態である。またサンプル採取に関しては、低侵襲ロボット支援下膵切除術を当該施設でも導入することができ（図 4）、これにあわせて品質の良い新鮮切除検体を得ることができるようになった。

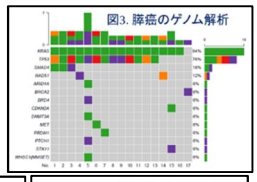

図4. ロボット膵切除導入

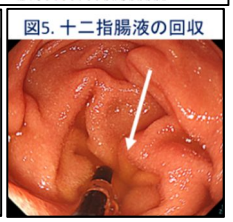
図5. 十二指腸液の回収

(2)　十二指腸液研究では十二指腸液内にもエクソソームが存在し、エクソソーム内の microRNA-YYY が膵癌の診断に有用であることを明らかにした（現在論文投稿中であるため具体的名称の記載を省略）(図 5)。

＜引用文献＞

[1]. Matsuda R, et al. Concomitant intraductal papillary mucinous neoplasm in pancreatic ductal adenocarcinoma is an independent predictive factor for the occurrence of new cancer in the remnant pancreas. Ann Surg 2020; 271(5); 941-948.
[2]. Kimura R, et al. FoundationOne® CDx gene profile for Japanese patients with pancreatic ductal adenocarcinoma: a single institution experience. Surg Today 51(4); 619-626, 2021.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計17件（うち査読付論文　11件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　5件）

１．著者名 Ideno N, Mori Y, Nakamura M, Ohtsuka T.	４．巻 10
２．論文標題 Early detection of pancreatic cancer: role of biomarkers in pancreatic fluid samples.	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Diagnostics	６．最初と最後の頁 1056
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/diagnostics10121056.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 Miyasaka Y, Ohtsuka T, Kimura R, Matsuda R, Mori Y, Nakata K, Watanabe M, Oda Y, Nakamura M.	４．巻 4
２．論文標題 Remnant pancreatic cancer after pancreatic resection for early-stage pancreatic cancer: Is it	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery.	６．最初と最後の頁 448-454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ags3.12340. eCollection 2020 Jul.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

１．著者名 Matsuda R, Miyasaka Y, Ohishi Y, Yamamoto T, Saeki K, Mochidome N, Abe A, Ozono K, Shindo K,	４．巻 271
２．論文標題 Concomitant intraductal papillary mucinous neoplasm in pancreatic ductal adenocarcinoma is an	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Annals of Surgery	６．最初と最後の頁 941-948
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/SLA.0000000000003060	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 Miyasaka Y, Ohtsuka T, Matsuda R, Mori Y, Nakata K, Ohuchida K, Nakamura M.	４．巻 50
２．論文標題 High-risk lesions in the remnant pancreas: fate of the remnant pancreas after pancreatic	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Surgery Today	６．最初と最後の頁 832-840
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-019-01852-3. Epub 2019 Jul 25.	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 Kimura Ryuichiro、Ohtsuka Takao、Kubo Makoto、Kajihara Atsuko、Fujii Atsushi、Watanabe Yusuke、Mori Yasuhisa、Ikenaga Naoki、Nakata Kohei、Shindo Koji、Ohuchida Kenoki、Nakamura Masafumi	4．巻 51
2．論文標題 FoundationOne(R) CDx gene profiling in Japanese pancreatic ductal adenocarcinoma patients: a single-institution experience	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Surgery Today	6．最初と最後の頁 619～626
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-020-02123-2	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 Fujii Atsushi、Masuda Takaaki、Iwata Michio、Tobo Taro、Wakiyama Hiroaki、Koike Kensuke、Kosai Keisuke、Nakano Takafumi、Kuramitsu Shotaro、Kitagawa Akihiro、Sato Kuniaki、Kouyama Yuta、Shimizu Dai、Matsumoto Yoshihiro、Utsunomiya Tohru、Ohtsuka Takao、Yamanishi Yoshihiro、Nakamura Masafumi、Mimori Koshi	4．巻 112
2．論文標題 The novel driver gene ASAP2 is a potential druggable target in pancreatic cancer	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Cancer Science	6．最初と最後の頁 1655～1668
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 Iwamoto Chika、Ohuchida Kenoki、Shinkawa Tomohiko、Okuda Sho、Otsubo Yoshiki、Okumura Takashi、Sagara Akiko、Koikawa Kazuhiro、Ando Yohei、Shindo Koji、Ikenaga Naoki、Nakata Kohei、Moriyama Taiki、Miyasaka Yoshihiro、Ohtsuka Takao、Eto Masatoshi、Akashi Koichi、Nakamura Masafumi	4．巻 512
2．論文標題 Bone marrow-derived macrophages converted into cancer-associated fibroblast-like cells promote pancreatic cancer progression	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Cancer Letters	6．最初と最後の頁 15～27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2021.04.013	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 Hozaka Yuto、Kurahara Hiroshi、Oi Hideyuki、Idichi Tetsuya、Yamasaki Yoichi、Kawasaki Yota、Tanoue Kiyonori、Jinguji Megumi、Nakajo Masatoyo、Tani Atsushi、Nakajo Akihiro、Mataki Yuko、Fukukura Yoshihiko、Noguchi Hirotsugu、Higashi Michiyo、Yoshiura Takashi、Tanimoto Akihide、Ohtsuka Takao	4．巻 13
2．論文標題 Clinical Utility plaand Limitation of Diagnostic Ability for Different Degrees of Dysplasia of Intraductal Papillary Mucinous Neosms of the Pancreas Using 18F-Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography/Computed Tomography	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Cancers	6．最初と最後の頁 4633～4633
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13184633	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 保坂優斗、蔵原弘、田上聖徳、大井秀之、伊地知徹也、山崎洋一、川崎洋太、中条哲浩、又木雄弘、大塚隆生	4．巻 84
2．論文標題 特集「診療ガイドライン改訂後の膵炎診療」　慢性膵炎における膵癌スクリーニングはどのように行うべきか	5．発行年 2022年
3．雑誌名 肝胆膵	6．最初と最後の頁 375～378
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 保坂優斗、蔵原弘、大井秀之、伊地知徹也、米盛圭一、山崎洋一、川崎洋太、田上聖徳、又木雄弘、大塚隆生	4．巻 83
2．論文標題 論文名; 特集「肝胆膵疾患におけるバイオマーカーの意義を探る」　膵癌の膵液miRNA解析とバイオマーカーの意義	5．発行年 2021年
3．雑誌名 肝胆膵	6．最初と最後の頁 659～663
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 保坂優斗、大塚隆生、大井秀之、平瀬雄規、伊地知徹也、田上聖徳、又木雄弘、蔵原弘	4．巻 42
2．論文標題 特集「胆道・膵管上皮内腫瘍の総整理：診断と治療の現状」　膵管上皮内腫瘍(IPMN，IOPN，ITPN，MCN)に対する外科治療の現状と課題	5．発行年 2021年
3．雑誌名 胆と膵	6．最初と最後の頁 567～571
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 井手野昇、守田真規子、大塚隆生、中村雅史	4．巻 82
2．論文標題 特集「分枝型IPMNの長期予後と進展様式」 全国多施設共同研究によるIPMN長期予後	5．発行年 2021年
3．雑誌名 肝胆膵	6．最初と最後の頁 773～778
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 大塚隆生、田中雅夫	4．巻 36
2．論文標題 特集「グローバルな視点からみた膵疾患update」　IPMN国際診療ガイドライン-次期改訂に向けて	5．発行年 2021年
3．雑誌名 膵臓	6．最初と最後の頁 238～244
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 岩屋博道、樋之口真、田ノ上史郎、橋元慎一、川平真知子、有馬志穂、藤野悠介、児島一成、小牧祐雅、佐々木文郷、上村修司、東美智代、大塚隆生、井戸章雄	4．巻 41
2．論文標題 特集「IPMN大全」．　EUS（結節の評価、壁肥厚の意義、併存膵癌の合併）	5．発行年 2020年
3．雑誌名 胆と膵	6．最初と最後の頁 1267～1274
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 渡邉雄介、森泰寿、池永直樹、仲田興平、大塚隆生、中村雅史	4．巻 97
2．論文標題 特集「膵炎・膵がん診療のUp To date」.嚢胞性膵腫瘍と関連する膵癌	5．発行年 2020年
3．雑誌名 臨床と研究	6．最初と最後の頁 575～579
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 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 272
2．論文標題 New Model for Predicting Malignancy in Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Annals of Surgery	6．最初と最後の頁 155～162
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 Tanaka Takako、Okada Reona、Hozaka Yuto、Wada Masumi、Moriya Shogo、Satake Souichi、Idichi Tetsuya、Kurahara Hiroshi、Ohtsuka Takao、Seki Naohiko	４．巻 12
２．論文標題 Molecular Pathogenesis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Impact of miR-30c-5p and miR-30c-2-3p Regulation on Oncogenic Genes	５．発行年 2020年
３．雑誌名 Cancers (Basel)	６．最初と最後の頁 2731～2731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12102731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計5件（うち招待講演　4件／うち国際学会　2件）

１．発表者名 Ohtsuka T
２．発表標題 IPMN; Surveillance? Surgery? Search for the scientific truth?
３．学会等名 2nd PAHPBS International Symposium.（招待講演）（国際学会）（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2020年

１．発表者名 Ohtsuka T
２．発表標題 Multifocal lesions in IPMNs; Intraoperative pancreatic juice cytology.
３．学会等名 HBP Surgical Wekk in Korea 2021（招待講演）（国際学会）（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2021年

１．発表者名 Ohtsuka T
２．発表標題 Guidelines for the management of IPMN of the pancreas.
３．学会等名 第33回日本肝胆膵外科学会学術集会（Web、教育講演）（招待講演）
４．発表年 2021年

１．発表者名 大塚隆生
２．発表標題 「慢性膵炎診療ガイドライン2021改訂の要点と課題」　慢性膵炎の予後
３．学会等名 第53回日本膵臓学会大会（特別企画3、指定演者）
４．発表年 2021年

１．発表者名 大塚隆生
２．発表標題 胆・膵嚢胞性腫瘍の今
３．学会等名 第26回日本消化器病学会九州支部教育講演会（Web、講師）（招待講演）
４．発表年 2021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	山口　浩 (Yamaguchi Hiroshi) (20510697)	東京医科大学・医学部・兼任准教授 (32645)	
研究分担者	三森　功士 (Mimori Koshi) (50322748)	九州大学・大学病院・教授 (17102)	
研究分担者	又木　雄弘 (Mataki Yuko) (10444902)	鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任講師 (17701)	

６．研究組織（つづき）

	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	蔵原　弘 (Kurahara Hiroshi) (70464469)	鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授 (17701)	

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