

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 22 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011 年度

課題番号：21590403

研究課題名（和文） 膵腫瘍の癌化および浸潤様式：分子標的治療へのアプローチをめざして

研究課題名（英文）Cancerization and invasion of pancreatic neoplasm: Toward the approach for targeted therapy

研究代表者

清水 道生（SHIMIZU MICHIO）

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：60226256

研究成果の概要（和文）：

IPMN 由来癌は intestinal type IPMN からのもが多く、その多くは粘液癌であった。Gastric type からのもので一部は pancreatobiliary type を経由していると推測された。膵癌症例の腫瘍辺縁部における浸潤様式は、小葉内、小葉間、混合型浸潤パターンに分けられ、免疫組織化学で一見すると腺房細胞やランゲルハンス島への分化を思わせる場合でも、ほとんどの症例は既存の腺房細胞やランゲルハンス島の細胞に癌細胞が浸潤し、それらの組織を巻き込み、置換しつつある像と考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Most of the cases of pancreatic adenocarcinoma derived from IPMN were derived from intestinal type IPMN. As for the pattern of invasion in pancreatic carcinoma, most advanced pancreatic cancers revealed a mixed replacement pattern (interlobular replacement pattern and intralobular replacement pattern) as well as a haphazard growth pattern. Entrapped normal pancreatic structures within the area of invasive carcinoma were easily and clearly identified by using triple immunostains. The distribution or the extent of such entrapped normal cells differed depending on the cases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：診断病理学，膵腫瘍

1. 研究開始当初の背景

PanIN および IPMN に関しては、2003 年に米国 Baltimore の Johns Hopkins Medical Institutions にて両者の概念を再検討する国際会議が開かれ、本研究代表者はその日本の代表として会議に出席し、その内容は論文として発表された (Am J Surg Pathol 2004;28:977-987)。その後さらに、IPMN と MCN の治療に関する国際的なガイドラインの作成について国際会議が行われ、本研究代表者はその病理学的立場の代表として出席し、その国際ガイドラインも論文として発表された (Pancreatology 2006;6:17-32)。

今回の研究は、これらの論文で一部取り上げられた今後の問題点を含めたもので、それに加えて我々のこれまでの検討でさらに説明する必要のある事項が含まれている。今回は、従来我々が検討してきた粘液形質や遺伝子異常に加えて、最近のトピックスといえる分子標的治療に大きく関わる癌の増殖、浸潤といった標的分子に着目して検討を行い、それらの結果を踏まえて、病理組織学的診断基準の精度向上と膵腫瘍、特に膵癌の分子標的治療への可能性の追求を主眼としている。

2. 研究の目的

膵管上皮に由来する癌としては、浸潤性膵管癌が最も多いが、この浸潤性膵管癌の前駆病変として最近注目されているのが pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) である。それに基づいた段階的発癌モデルも提唱されている (Hruban RH et al. Am J Surg Pathol 2004;28:977-987)。また、IPMN 由来の浸潤性膵管癌としては粘液癌が多く、特に intestinal type IPMN 由来のものが多く、粘液性嚢胞腫瘍 (mucinous cystic neoplasm, MCN) では、その浸潤についての明確な診断基準がなされていない。

本研究では、我々がこれまでに行ってきた膵腫瘍における研究成果に加えて、分子標的治療のターゲットといえる上皮・間葉系細胞変移 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、細胞増殖、血管新生などに着目し、通

常型の浸潤性膵管癌、IPMN および IPMN 由来の浸潤性膵管癌、粘液性嚢胞腫瘍 (mucinous cystic neoplasm, MCN) および MCN 由来の浸潤性膵管癌について比較検討を行う。さらに膵癌で見られる扁平上皮への分化 (squamous differentiation) の意義についても検討する。

具体的には、これまで明確にされていない以下の4つの問題点を解明することを目的とする。

- (1) PanIN と gastric type IPMN の相互関係
- (2) IPMN 由来癌の pathway についての検討
- (3) 膵癌の浸潤に関する病理組織学的診断基準の検討
- (4) 膵癌の浸潤様式についての検討

3. 研究の方法

「PanIN と gastric type IPMN の相互関係」、および「IPMN 由来癌の Pathway」についての研究では、外科切除例からの IPMN 症例および IPMN 由来癌症例を抽出する。抽出された IPMN 症例の IPMN 病変周囲における PanIN 病変を抽出する。IPMN 症例の亜分類と PanIN 病変の grading を行い、PanIN と IPMN の粘液形質での比較 (MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6)、免疫組織化学での比較 (KRAS2, TP/p53, CDKN2A/p16, SMAD4/DPC4)、細胞増殖・血管新生での比較 (EGFR, VEGF-A, VEGFR)、上皮・間葉系変移での比較 (HIF-1, E-cadherin) を行う。同様に、IPMN 由来癌についても IPMN の subtype、組織型の検討、IPMN の grading の検討を行う。ついで、gastric type, intestinal type, oncocytic type IPMN 症例における癌化症例の免疫組織学的検討を行う。

膵癌の浸潤に関する病理組織学的診断基準に関する研究では、外科切除例からの膵癌症例 (但し、IPMN 由来、MCN 由来のものを含む) の抽出し、代表的腫瘍中心部と辺縁部の標本を選択し、浸潤の程度についての検討する。さらに残存する既存腺房細胞、膵管上皮、内分泌細胞の程度についての検討し、浸

潤部の間質成分についての検討を行う。既存膵管上皮に関しては EVG 染色，内分泌細胞に関しては chromogranin A などの免疫組織染色を行う。また，膵癌の浸潤様式および扁平上皮への分化についての研究では抽出された膵癌症例の浸潤様式・扁平上皮への分化を HE 標本および免疫組織化学的に分析する。

4. 研究成果

PanIN 病変病変では PanIN-1, 2 に相当するいわゆる low-grade PanIN が gastric type IPMN の周囲に存在している症例が多く，intestinal type IPMN ではその傾向が少なかった。さらに粘液形質に関しては low-grade PanIN と gastric type IPMN では NMUC1(-), MUC2(-), MUC5AC(+), MUC6(+/-) で，両者はほぼ同じと考えられた。なお，MUC に関しては症例により若干のばらつきがみられた。細胞増殖に関しても有意な差は認められなかった。血管新生に関しては評価が困難で，一定の傾向は得られなかった。また，今回の検討中に ITPN (intraductal tubulopapillary neoplasm) と判断できる病変を認めた。

一方，IPMN 由来癌に関しては，報告例をみるとその定義が一定しておらず，典型例は intestinal type IPMN からの mucinous carcinoma といえるが，問題となるあるいは鑑別すべき症例として以下の傾向が認められた。1) pancreatic adenocarcinoma で duct が cystic change を示したもの，2) pancreatic adenocarcinoma で，その周囲に拡張した PanIN 病変が存在するもの，3) pancreatic adenocarcinoma とその周囲に[隣接するのではなく]IPMN が存在する場合などが，代表的なもので，明らかな IPMN から連続して adenocarcinoma が認められる症例に限定する必要があると考えられた。また IPMN 由来癌は intestinal type からのものが圧倒的に多く，その多くは粘液癌であった。Gastric type から浸潤癌は発生するが，その一部は pancreatobiliary type を経由していると推測された。

膵癌（腺癌）症例について，癌の辺縁部で

どのように正常膵へ浸潤していくのかについて検討した結果では，腫瘍辺縁部における浸潤様式は大きく，小葉内浸潤パターン，小葉間浸潤パターン，混合型浸潤パターンに分けられた。高分化型では混合型が多く，中分化型では半数が小葉内主体の浸潤様式を示し，低分化型はいずれも混合型を示した。さらに，CK19, trypsin, chromogranin A の免疫三重染色，またリンパ管侵襲に関しては D2-40 の免疫染色を行い，正常膵の膵管，腺房細胞，ランゲルハンス島にどのように浸潤していくのか観察を行った。一見すると膵管癌の腺房細胞やランゲルハンス島細胞への分化を示すような像がみられたが，HE 染色の所見と詳細に対比してみると，実際には既存の腺房細胞やランゲルハンス島の細胞に癌細胞が浸潤し，それらの組織を巻き込み，置換しつつある像であることが確認された。

癌の発育様式に関しては，腺癌細胞が高分化型であれ，低分化型であれ，いずれも膨張性発育というよりは浸潤性に増殖する傾向が強いと考えられた。症例によっては癌が浸潤していても，既存の膵管，腺房，あるいはランゲルハンス島がある程度残存する症例や，ほぼ全置換性に浸潤する症例があり，どの成分が残存するかは症例によって開きがみられた。正常膵組織の残存率をみる限りでは，ランゲルハンス島の残存率が最も高く，腺房および膵管に関しては症例により異なる傾向がみられた。ランゲルハンス島の残存率が最も高かったことから，特にランゲルハンス島に着目して検討を行った。CK19, trypsin, chromogranin A の免疫三重染色による検討では，desmoplastic な間質でのランゲルハンス島以外に，腺癌部の異型腺管に entrap される形で孤在性，連続性，もしくは集簇性にランゲルハンス島が認められた。この entrap されたランゲルハンス島は主として癌細胞の基底側に位置していた。また，詳細に観察するとこれらのランゲルハンス島細胞には異型性はみられず，HE 染色でも認識可能であった。逆にランゲルハンス島内に癌の腺管が entrap されていると思われる症例

も存在した。検索した範囲では膵癌細胞自体が endocrine differentiation を示したと考えられる症例は認められなかった。免疫組織化学的に、一見 endocrine differentiation を示すような症例であっても、膵癌症例においてはまずランゲルハンス島の entrapment と考えるべきであると思われた。

扁平上皮への分化について検討した結果では、当院症例では腺扁平上皮癌の頻度が高く、全体の 12% にみられた。これらの症例では少なくとも 30% 以上が扁平上皮癌成分であり、定義上問題のない症例であった。また、免疫組織化学的に p63, CD44, CK5/6 が扁平上皮への分化を示す部分で陽性であった。なお、CD5/6 に関しては腺癌成分でも陽性を示すものの、その染色性は扁平上皮癌部に比べ弱い傾向がみられた。

上皮・間葉系変移に関しては、今回の検討では明瞭な結果は得られなかったが、今後は浸潤様式を分析する上で、3 次元的な解析が必要になると思われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1. Furukawa T, Hatori T, Fujita I, Yamamoto M, Kpbayashi M, Ohike N, Morhoshi T, Egawa S, Unno M, Takao S, Osako M, Yonezawa S, Mino-Kenudson M, Lauwers GY, Yamaguchi H, Ban S, Shimizu M: Prognostic relevance of morphological types of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. Gut 2011;60:509-516, 査読有
2. Ban S, Satoh H, Satoh M, Ishido Y, Nakayama N, Yamaguchi H, Shimizu M: Invasive ductal carcinoma of the pancreas tail with noninvasive growth through the nondilated main pancreatic duct and macroscopically cystic invasive carcinomatous glands. Ann Diagn Pathol 2011;15:476-480, 査読有
3. Ban S, Yamaguchi H, Shimizu M:

Pancreatic intraductal lesions with possible relationship with gastric type intraductal papillary mucinous neoplasm: pyloric gland-type intraductal tubular adenoma and intraductal oncocytic papillary neoplasm. Histopathology 2009;55:270-276, 査読有

4. Motosugi U, Ichikawa T, Yamaguchi H, Nakazawa T, Katoh R, Itakura J, Fujii H, Sato T, Araki T, Shimizu M: Small invasive ductal adenocarcinoma of the pancreas associated with lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis. Pathol Int 2009;59:744-747, 査読有

5. Shimizu K, Itoh T, Shimizu M, Hori Y: CD133 expression pattern distinguishes intraductal papillary mucinous neoplasms from ductal adenocarcinomas of the pancreas. Pancreas 2009;38:e207-214, 査読有

6. Shimizu Y, Jin L, Yamaguchi H, Morosugi U, Sannohe S, Nagata K, Sakurai T, Murata S, Yasuda M, Shimizu M: Detection of lymphatic invasion in resected cases of primary pancreatic cancer based on immunohistochemistry of D2-40. Ann Diagn Pathol 2009;13:168-172, 査読有

7. Yamaguchi H, Shimizu M, Ban S, Koyama I, Haroti T, Fujita I, et al.: Intraductal tubulopapillary neoplasms of the pancreas distinct from pancreatic intraepithelial and intraductal papillary mucinous neoplasms. Am J Surg Pathol 2009;33:1164-1172, 査読有

[学会発表](計 4 件)

1. Shimizu M: Triple immunostains for assessment of invasive patterns of pancreatic carcinoma. 4th Asian-Oceanic Pancreas Association, September 2, 2011, Korea, Jeju
2. Shimizu M: Invasive and growth patterns of ductal carcinoma of the

pancreas: early versus advanced stage ,
The Pathologists Meeting CAP 2010 ,
September 26, 2010 , U.S.A. , Chicago .

3. 清水道生 : 免疫三重染色を用いた膵管癌
の浸潤様式に関する検討 . 第 57 回日本臨床
検査医学会学術集会 , 2010 年 9 月 11 日 , 東
京 , 京王プラザホテル

4. 清水道生 : 膵臓の PanIN 病変と IPMN : そ
の相互関係と pathway について . 第 56 回日
本臨床検査医学会学術集会 , 2009 年 8 月 27
日 , 北海道 , 札幌コンベンションセンター

〔図書〕(計 1 件)

清水道生 : 病理医・臨床医のための病理診断
アトラス . “ 彩の国さいたま ” 病理診断セミ
ナーからのメッセージ . ベクトルコア , 東京 ,
2009

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

清水 道生 (SHIMIZU MICHIO)
埼玉医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 60226256