

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1日現在

機関番号：15401
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21591774
 研究課題名（和文） 膵腫瘍性疾患におけるテロメア・テロメラーゼ活性化機構の解析と分子標的療法の確立
 研究課題名（英文） Analysis of telomere and telomerase activation mechanism in pancreatic neoplasms for molecularly targeted therapy
 研究代表者
 村上 義昭（MURAKAMI YOSHIAKI）
 広島大学・医歯薬学総合研究科・准教授
 研究者番号：10263683

研究成果の概要（和文）：

膵腫瘍において hTERT の免疫染色が術前膵液細胞診へ臨床応用可能であるかを検討した。hTERT 発現による良悪性診断は、感度 85%、特異度 82%、正診率 84%と膵液細胞診単独より良好であり、hTERT 発現を免疫組織学的に評価することは、膵腫瘍の良悪性診断に有用で臨床応用可能と考えられた。十二指腸乳頭部癌においてテロメラーゼ活性および hTERT 発現と予後の関連を検討した。テロメラーゼ活性と hTERT 発現には相関が認められ、テロメラーゼ高活性群は低活性群と比較して有意に予後不良であり、十二指腸乳頭部癌の予後予測指標となると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We did an analysis of preoperative pancreatic juice specimens to evaluate the feasibility of detection of hTERT expression by immunohistochemistry for preoperative diagnosis of pancreatic malignancy. The sensitivity, specificity, and overall accuracy of hTERT expression were 85%, 82%, and 84%, respectively which were higher than those of cytology. We examined telomerase activity and hTERT expression in ampullary carcinoma to determine whether these parameters could be used as indicators of prognosis. High telomerase activity and strong hTERT expression may serve as new prognostic markers for evaluating the prognosis of patients with resected ampullary carcinoma.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
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：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：癌、膵腫瘍性疾患、テロメア・テロメラーゼ、免疫療法、遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

膵癌は浸潤・転移傾向が強く、その診断・治療は非常に困難である。我々は膵癌診断のバイオ・マーカーとして長年にわたり発癌に関わるテロメア、テロメラーゼの基礎研究を

行ってきた。テロメラーゼの主たる触媒因子 human telomerase reverse transcriptase (hTERT) は 1997 年にクローニングされて以来バイオ・マーカーとして有望視され、我々は膵液細胞診を利用した膵癌診断に有用であ

ることを発見した (Hashimoto Y, *Surgery*, 2008)。近年、注目されている膵管内乳頭粘液性腫瘍 intraductal papillary-mucinous neoplasm (膵 IPMN) は、腺腫から浸潤癌までの一連の病変を含み、多段階発癌を示唆する腫瘍である。我々は前癌病変も含めた膵 IPMN 発癌過程において、テロメア短縮・テロメラーゼ活性化と癌化との関連について世界に先駆けて報告した (Hashimoto Y, *J Gastroint Surg*, 2008)。今回、発癌過程におけるテロメア・バイオロジーに注目し、膵癌診断における「超」前癌病変を捕捉し、テロメラーゼ関連因子を利用した治療法の開発と確立を目的に本研究を立案した。

2. 研究の目的

①膵腫瘍において hTERT が術前良悪性診断のバイオマーカーとして術前膵液細胞診へ臨床応用可能であるかを検討する。

②十二指腸乳頭部癌においてテロメラーゼ活性および hTERT 発現が臨床病理組織学的因子や予後と関連があるかを検討する。

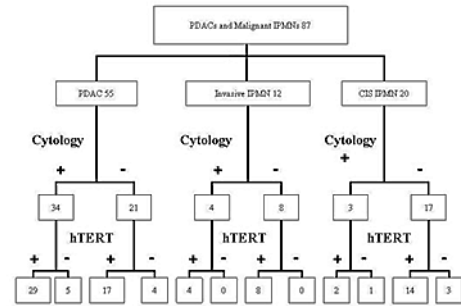
3. 研究の方法

①膵切除症例で、術前膵液細胞診検体が入手可能であった浸潤性膵管癌 48 例 55 検体、膵 IPMN 43 例 53 検体、慢性膵炎 6 例 7 検体を対象とし、抗 hTERT 抗体を用いて免疫組織染色法にて hTERT の発現を検討した。浸潤性膵管癌及び IPMN の invasive carcinoma, carcinoma *in situ* を悪性、IPMN の borderline lesion, adenoma、慢性膵炎を良性として感度・特異度・正診率を評価した。

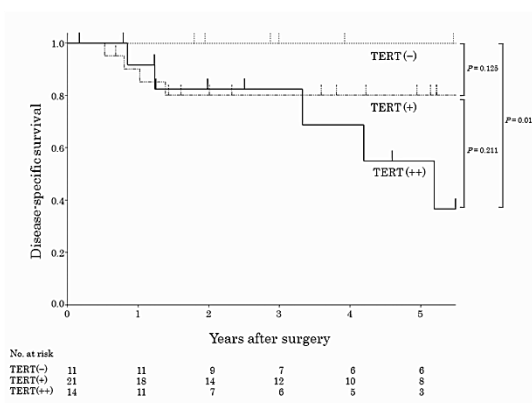
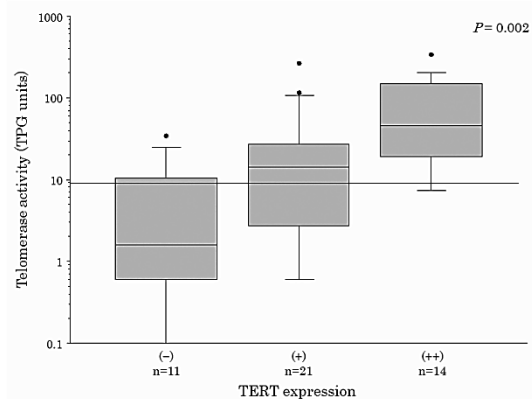
②十二指腸乳頭部癌切除 46 例を対象とし、テロメラーゼ活性は凍結標本を用いて TRAPEze® XL Telomerase Detection Kit による TRAP アッセイにて測定し、hTERT 発現はパラフィン包埋標本を用いて免疫組織染色法にて検討した。テロメラーゼ活性および hTERT 発現と臨床病理組織学的因子の相関および予後との関連について単変量・多変量解析で検討した。

4. 研究成果

①悪性疾患では 87 検体中 74 検体で hTERT 陽性、良性疾患では 28 検体中 23 例で hTERT 陰性であり、hTERT 発現による細胞診の良悪性診断は感度 85.1%、特異度 82.1%、正診率 84.3%であった。一方、細胞診では Class 4,5 を悪性、Class 1~3 を良性とすると感度 47.1%、特異度 89.3%、正診率 57.4%であった。また、膵 IPMN の borderline lesion における hTERT の発現は 9 検体中 5 検体で陽性であった。以上より、術前膵液細胞診に加えて hTERT 発現を免疫組織学的に評価することは、膵腫瘍の良悪性診断に有用で臨床応用可能である。



②テロメラーゼ活性は 42 例 (91%) に検出され 27 例が高活性 19 例が低活性に分類された。hTERT は 35 例 (76%) に発現し 14 例が強陽性、21 例が弱陽性に分類された。テロメラーゼ活性と hTERT 発現には相関が認められ ($P=0.002$)、中低分化型において hTERT 発現が多く認められた。テロメラーゼ高活性群は低活性群と比較して有意に予後不良であった ($P=0.031$)。臨床病理組織学的因子を含めた単変量解析では、中低分化型 ($P=0.029$)、腫瘍深達度 T2-3 ($P<0.001$)、リンパ節転移陽性 ($P=0.013$)、Stage II ($P=0.009$)、神経周囲浸潤陽性 ($P<0.001$)、テロメラーゼ高活性 ($P=0.031$) が有意な予後不良因子であった。多変量解析ではテロメラーゼ活性のみが独立した予後不良因子であった (ハザード比: 11.3, $P=0.043$)。以上より、テロメラーゼ活性および hTERT 発現は十二指腸乳頭部癌の予後予測指標となりうる。



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 9 件)

1. Sakabe R, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Kondo N, Nakashima A, Ohge H, Sueda T, Hiyama E: Prognostic Significance of Telomerase Activity and Human Telomerase Reverse Transcriptase Expression in Ampullary Carcinoma. Ann Surg Oncol. 査読有 2012 Feb 10. [Epub ahead of print]
2. Kondo N, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Nakashima A, Sueda T: Combined Analysis of Dihydropyrimidine Dehydrogenase and Human Equilibrative Nucleoside Transporter 1 Expression Predicts Survival of Pancreatic Carcinoma Patients Treated with Adjuvant Gemcitabine Plus S-1 Chemotherapy after Surgical Resection. Ann Surg Oncol. 査読有 2012 Nov 16. [Epub ahead of print]
3. Kondo N, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Nakashima A, Ohge H, Sueda T: Prognostic impact of dihydropyrimidine dehydrogenase expression on pancreatic adenocarcinoma patients treated with S-1-based adjuvant chemotherapy after surgical resection. J Surg Oncol. 査読有 2011 Aug 1;104(2):146-54.
4. Kato Y, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Hiyama E, Sueda T: Impact of intratumoral thymidylate synthase expression on prognosis after surgical resection for ampullary carcinoma. J Surg Oncol. 査読有 2011 Jun 1;103(7):663-8.
5. Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hayashidani Y, Hashimoto Y, Nakashima A, Yuasa Y, Kondo N, Ohge H, Sueda T: Number of metastatic lymph nodes, but not lymph node ratio, is an independent prognostic factor after resection of pancreatic carcinoma. J Am Coll Surg. 査読有 2010 Aug;211(2):196-204.
6. Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Yuasa Y, Sueda T: Prognostic impact of para-aortic lymph node metastasis in pancreatic ductal adenocarcinoma. World J Surg. 査読有 2010 Aug;34(8):1900-7.
7. Kondo N, Murakami Y, Uemura K, Hayashidani Y, Sudo T, Hashimoto Y, Nakashima A, Sakabe R, Shigemoto N, Kato Y, Ohge H, Sueda T: Prognostic impact of perioperative serum CA 19-9 levels in patients with resectable pancreatic cancer. Ann Surg Oncol. 査読有 2010 Sep;17(9):2321-9.
8. Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hayashidani Y, Hashimoto Y, Nakashima A, Sueda T: Invasive intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas: comparison with pancreatic ductal adenocarcinoma. J Surg Oncol. 査読有 2009 Jul 1;100(1):13-8.
9. Nakashima A, Murakami Y, Uemura K, Hayashidani Y, Sudo T, Hashimoto Y, Ohge H, Oda M, Sueda T, Hiyama E: Usefulness of human telomerase reverse transcriptase in pancreatic juice as a biomarker of pancreatic malignancy. Pancreas. 査読有 2009 Jul;38(5):527-33.

[学会発表] (計 7 件)

1. Sakabe R, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Nakashima A, Sueda E, Hiyama E: High expression of telomerase is an independent prognostic factor in ampullary carcinoma. Digestive Disease Week (DDW) 2011 Poster Session. May 7-10, 2011. Chicago, USA
2. 坂部龍太郎, 村上義昭, 上村健一郎, 首藤毅, 橋本泰司, 中島亨, 大毛宏喜, 末田泰二郎, 檜山英三: 胆道癌におけるテロメラーゼおよび TERT 発現の検討. 第 66 回日本消化器外科学会総会. 2011 年 7 月 13-15 日. 名古屋
3. 坂部龍太郎, 村上義昭, 上村健一郎, 首藤毅, 橋本泰司, 中島亨, 近藤成, 末田泰二郎: 胆道癌における human telomerase reverse transcriptase 発現の検討. 第 23 回日本肝胆膵外科学会学術集会. 2011 年 6 月 8-10 日. 東京
4. 坂部龍太郎, 村上義昭, 上村健一郎, 首藤毅, 橋本泰司, 中島亨, 大毛宏喜, 末田泰二郎, 檜山英三: 十二指腸乳頭部癌におけるテロメラーゼ活性および hTERT 発現の検討. 第 111 回日本外科学会定期学術集会. 2011 年 5 月 26-28 日. 東京
5. Nakashima A, Murakami Y, Uemura k, Hayashidani Y, Sudo T, Hashimoto Y, Ohge H, Sueda T, Hiyama E. Detection of Human Telomerase Reverse Transcriptase expression by immunohistochemistry in Pancreatic Juice. Digestive Disease Week (DDW) 2009 Poster Session. May 30-June 4,

2009. Chicago, USA

6. 中島亨, 村上義昭, 上村健一郎, 林谷康生, 首藤毅, 橋本泰司, 中村浩之, 大毛宏喜, 末田泰二郎, 檜山英三: 臍腫瘍におけるテロメラーゼ活性化機構を用いた術前診断への応用. 第 64 回日本消化器外科学会総会. 2009 年 7 月 16-18 日. 大阪
7. 中島亨, 村上義昭, 上村健一郎, 林谷康生, 首藤毅, 中村浩之, 長谷諭, 大毛宏喜, 末田泰二郎, 檜山英三: 臍液細胞診における hTERT を用いた良悪性診断の有用性. 第 109 回日本外科学会定期学術集会. 2009 年 4 月 2-4 日. 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 義昭 (MURAKAMI YOSHIAKI)
広島大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 10263683

(2) 研究分担者

檜山 英三 (HIYAMA EISO)
広島大学・自然科学研究支援開発センター・教授
研究者番号: 00218744

首藤 毅 (SUDO TAKESHI)
広島大学・医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 10423378

(3) 連携研究者

()
研究者番号: