

論文内容の要旨

論文題目 膵管内乳頭粘液性腫瘍における組織亜型分類と
遺伝子異常に関する検討

指導教官 小池 和彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

毛利 大

1. 背景

膵癌は非常に予後不良な悪性疾患であり、その死亡率と罹患率はかなり近似している。早期発見、早期治療のためには発癌と進展のメカニズムを解明することが必要不可欠といえる。通常型膵管癌は正常膵管上皮由来の膵上皮内腫瘍性病変（pancreatic intraepithelial neoplasia : PanIN）に遺伝子異常が多段階的に蓄積し発生することが多いが、一部は異なる前癌病変より発生する。その前癌病変のひとつとして膵管内乳頭粘液性腫瘍（intraductal papillary mucinous neoplasms : IPMN）が知られている。IPMN は最初の報告から 30 年余りが経過し、その特質と、他の膵腫瘍との違いについて研究が進められてきた。IPMN は病理学的に特徴的な形態を示し、その形態とムチン蛋白 MUC1、MUC2、MUC5AC の発現によって gastric、intestinal、pancreatobiliary、oncocytic-type の 4 つのサブタイプに分類可能で

ある。

Pancreatobiliary-type は管状腺癌に関連が深いとされ、一方 intestinal-type はムチンに富んだ膠質癌 (colloid carcinoma) と関連が深いとされている。Gastric-type は一般に異型度が低く、他のサブタイプとともに存在する症例もあり、gastric-type は他のサブタイプの共通の前病変でありそうとする報告がある。局在に関していえば、分枝型の IPMN の多くは gastric-type であり、主膵管型の IPMN の多くは intestinal-type であると報告されている。

これら臨床病理学的な観点に着目すると、IPMN から膵癌への発癌経路にはサブタイプにより、異なるメカニズムと遺伝子異常があることが推察される。IPMN に対する分子生物学的な検討も積み重ねられてきており、KRAS、p16^{INK4a}、TP53、SMAD4/DPC といった膵癌で比較的高頻度で認める遺伝子異常は、IPMN でも認めるが膵癌に比べればやや低い頻度であることが報告されている。一方、膵癌でほぼ認めない BRAF や PIK3CA といった遺伝子異常も IPMN でも頻度は少ないながらも認めることが報告されている。

IPMN のサブタイプは、病変の形態のみならず、進展形式や担癌率においても相違があると考えられているが、その詳しい発生、発育進展様式や、それらの基盤となる分子生物学的メカニズムの差異についてはいまだ不明な点が多い。近年、IPMN のサブタイプ間の遺伝子異常の違いについて検討され始めているがその数は決して多くはない。

以上のことを踏まえて、今回の検討ではこれらサブタイプの特徴について評価し、膵癌と IPMN の関連について検討するために、我々は KRAS、BRAF、PIK3CA の遺伝子変異と、p16^{INK4a}、TP53、と SMAD4/DPC4 の蛋白発現について検討した。

2. 方法

東京大学医学部附属病院において膵切除術を受けた 25 人の IPMN 患者を対象とした。切除標本から作成した、HE 染色とムチンの免疫染色のパターンにより、gastric-、intestinal-、pancreatobiliary-と oncocytic-type の 4 つのサブタイプに分類した。臨床病理学的検討として、対象となる症例について、術前画像評価、手術記録、病理診断を参考に罹患膵管や局在を分類した。術前検査として行われた腹部超音波、超音波内視鏡、CT、MRI/MRCP いずれかにて壁在結節が画像評価可能であったものを壁在結節ありと判定した。嚢胞径や主膵管径については術前画像評価で最大のものを採用した。臨床的背景の、年齢、性別、病変の部位、主膵管径、嚢胞径、壁在結節の有無、壁在結節の大きさ、予後、発見時の有症状率、組織学的な異型度を検討項目とした。

分子生物学的検討として、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから DNA 抽出を行い、KRAS、BRAF、PIK3CA の遺伝子異常について検討するとともに、p16^{INK4A}、TP53、SMAD4、phospho-ERK の蛋白発現について免疫染色を行い検討した。

IPMN のサブタイプ間の統計学的な解析にはカイ 2 乗検定、フィッシャーの正確確率検定、t 検定を使用した。

3. 結果

25 例の IPMN の内訳は gastric-type 11 例、intestinal-type 11 例、pancreatobiliary-type 1 例、oncocytic-type 2 例であった。25 症例のうち、大多数を占めた gastric-type と intestinal-type を比較すると、intestinal-type の方が有意に主膵管径は太く、壁在結節を伴い、組織学的

な異型度が高い傾向を認めた。KRAS の遺伝子変異の頻度は gastric-type は 9/11 (81.8%) と高率であったのに対し、intestinal-type は 3/11 (27.3%) に過ぎず、有意な差をもって gastric-type で高率に KRAS の遺伝子変異を認めた。その下流の MAPK シグナルにおける ERK の活性化をリン酸化抗体を用いて免疫染色で確認したところ、KRAS の遺伝子変異を認めた全例で ERK のリン酸化を認めた。p16^{INK4A}、TP53、SMAD4 の蛋白発現については、intestinal-type の方がやや異常発現の頻度は高かったが統計学的に差はなかった。TP53 の異常集積については、サブタイプではなく、組織学的に高異型な方で高頻度に認めた。

4. 考察

本研究において、我々は IPMN のサブタイプ間における臨床病理学的な違いと遺伝子異常のパターンの違いについて検討を行った。臨床的な側面からいえば、intestinal-type の IPMN は gastric-type の IPMN より悪性度が高い性質を示しているといえる。しかし、今回我々は gastric-type の IPMN には統計学的な有意差をもって、intestinal-type よりも高頻度に KRAS の変異がみられるという知見を得た。今回調べた他の遺伝子 (BRAF、PIK3CA) や蛋白の発現 (p16^{INK4a}, TP53, SMAD4) については gastric-type と intestinal-type の 2 群間において統計学的に有意な差を認めなかった。これらの結果から、gastric-type の IPMN は組織学的には比較的低異型度と考えられているものの、intestinal-type よりもむしろいわゆる通常型膵癌である膵管腺癌 (PDAC) に近い遺伝子異常のパターン、高頻度の KRAS 遺伝子変異と下流の MAPK シグナルの活性化が存在することを考えると、この二者は近い関係に

あることが示唆される。

今回のわれわれの検討でも、症例全体としての IPMN の遺伝子異常の頻度はこれまでの既報と一致している。しかし、今回我々は gastric-type と intestinal-type を比較して、KRAS の変異の頻度に大きな違いがあることを発見したが、これはサブタイプにより IPMN から膵癌へ進展するメカニズムに違いがあることを示唆するといえる。過去に、gastric-type は他のサブタイプの共通の前病変であるという報告がなされている。しかし、多くの gastric-type が KRAS の変異を持ち、intestinal-type の多くには KRAS の変異が見られないことから、KRAS の変異を持つ gastric-type と KRAS の変異を持たない intestinal-type は異なる発癌経路を経ると考えられる。特に、通常型膵癌の発癌過程において KRAS の変異は最も早期に生じる異常であることから、gastric-type と intestinal-type の発癌経路は発癌過程の初期の段階から全く異なっていると考えられる。

一方、intestinal-type の IPMN はしばしば膠質癌に進展することが報告されているが、膠質癌は通常型膵癌にくらべ KRAS の変異の頻度は少ないことが知られている。

また我々の結果だけでなく既報においても intestinal-type の多くは組織学的異型度が borderline - carcinoma であることから、intestinal-type の多くは KRAS に依らず、『腺腫』から『癌』へ進展する発癌経路を経ることが示唆される。

以上のことを踏まえると、IPMN から膵癌への進展には KRAS の変異の有無により異なる、2 つ主要な経路があると提言することができる。ひとつは KRAS の変異と ERK のリ

ン酸化、つまり MAPK シグナルの活性化が高頻度にみられる膵癌で、PanIN から発癌する通常型膵癌と近い経路と考えられ、intestinal-type より gastric-type で重要な経路である。ふたつめの経路は、KRAS 遺伝子変異の頻度のない intestinal-type でよく見られる IPMN 由来浸潤癌で、主膵管に多く、膠質癌の形態を示すことが多い。この 2 つの経路の発癌過程の詳細なメカニズムはいまだ解明されていないが、本研究によって、KRAS の変異の有無がこの 2 つの経路を分かつ非常に重要なステップであることが示唆された。

膵癌の早期発見や治療を考える上で、IPMN のさらなる研究がその一助となることが望まれ、そのためにはサブタイプごとに IPMN を区別して考えることが重要であろうと考えられた。