



Title	膵嚢胞性腫瘍関連膵癌の発生機構の多様性に関する分子病理学的解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大森, 優子
Description	配架番号 : 2367
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12988号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70391
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuko_Omori_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 大森 優子

学位論文題名

膵嚢胞性腫瘍関連膵癌の発生機構の多様性に関する分子病理学的解析

(A revised model of clonal evolution of intraductal papillary mucinous neoplasm-related pancreatic carcinogenesis)

【背景と目的】膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) は、豊富な粘液産生と膵管内乳頭状増殖を特徴とする腫瘍で、膵癌の前駆病変の一つとされる。IPMN 関連膵癌は、高異型度 IPMN が浸潤癌へ進展する由来浸潤癌と、背景膵に広く分布する PanIN を母地に発生する併存膵癌に大別される。両者において様々な遺伝子の関与が報告されているが、その詳細な発癌機序、進展様式や生物学的表現形の違いは十分に解析されていない。本研究では、分子病理学的アプローチにより、IPMN 関連膵癌の発育進展経路の追跡から、発癌経路の多様性の解明を試みた。

【対象と方法】IPMN 関連膵癌 30 症例 33 病変の全割標本において、IPMN と浸潤癌、さらに背景膵における顕微鏡的膵管内腫瘍性病変 (microscopic neoplastic lesion, MNL) を詳細にマッピングし、各関心病変から個別に DNA を抽出し、代表的な膵癌関連遺伝子 18 遺伝子をカバーするように設計したカスタム遺伝子パネルによるターゲットシーケンスを行った (Thermo Fisher Scientific 社製の次世代シーケンサー Ion PGM システムを使用)。免疫組織化学的に p53 を始めとする癌抑制遺伝子 5 種類の蛋白質発現異常を検討した。

【結果】IPMN 患者における膵癌の発生経路は 3 つの molecular subtype に分類された。一つ目は、IPMN がその分子異常を引き継ぎながら多段階的に浸潤癌へ進展する、“Sequential subtype”である。Sequential subtype 全例に IPMN から浸潤癌への組織学的移行像が確認され、従来の IPMN 由来浸潤癌群に合致した。低異型度 IPMN から高異型度 IPMN、浸潤癌において、同一の *KRAS*、*GNAS* プロファイルを有し、高異型度 IPMN の段階もしくは浸潤の過程で、*SMAD4*、*TP53*、*CDKN2A/p16*、*CTNNB1* 異常の蓄積が見られた。Sequential subtype 膵癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA) の発生に至った index IPMN の分子病理学的特徴は、腸型・胆膵型の頻度が多く、*KRAS* 野生型の割合が多く、*SMAD4* 変異および p53 過剰発現の頻度が高かった。また、従来の併存膵癌とされた IPMN と浸潤癌に組織学的移行像を有さない群は、遺伝学的に 2 つの molecular subtype に分類された。IPMN と PDA が異なる *KRAS* 変異を有し、初期クローンの発生段階から別個の腫瘍であると確定できる“*de novo subtype*”と、IPMN と PDA で共通の *KRAS* 変異を有し、位置的に有意に近接して発生する、初期クローンを共有した母地から、ある段階で 2 つの異なる表現形の腫瘍発生経路に分岐したことが示唆される“*Branch off subtype*”である。Branch off subtype 群の 3 例では組織学的に IPMN と PDA の間をつなぐ主膵管内に低異型度腫瘍性上皮が連続していることが確認された。同一の膵管内腫瘍から双方向に分岐したことを支持する組織学的所見と考え、臨床的な隣接併存膵癌の主たる発生経路と考えられた。予後解析では、Branch off subtype では癌化 module の蓄積は、*de novo subtype* と同等にも関わらず、*de novo subtype* に比較し、有意に無再発生存期間が長

く、Sequential subtype と比較しても長い傾向が見られた。背景膵に分布する MNL の検討では、Sequential subtype の背景膵には *KRAS* 変異とともに *GNAS* 変異率が高値であり、index IPMN と同様の *KRAS*/*GNAS* 変異プロファイルを有する傾向があった。*De novo* subtype および Branch off subtype が発生した背景膵には、多数の MNL が認められ、*KRAS* 変異に見る初期クローンの多様性が示された。腫瘍内の *KRAS* アレル変異頻度は MNL から低異型度 IPMN、さらに高異型度 IPMN の 3 段階で、有意に増加することが示された。

【考察】IPMN 患者の膵臓では多中心発生的な腫瘍化が同時に生じており、その一部に *GNAS* および *TP53*、*SMAD4*、*CDKN2A/p16* 異常が蓄積されることにより、IPMN の発生・進展と浸潤癌の発生に至ると考えられる。IPMN 患者の悪性化リスクの層別化アルゴリズムの構築には index IPMN の組織学的・遺伝学的評価と共に、膵全体の背景因子を併せて評価することが重要である。Sequential subtype PDA 発生の高リスク群の同定には、膵液細胞診・組織診における免疫組織化学的な上皮型の判定や *SMAD4*、*p53* 蛋白発現の評価、膵液や十二指腸液を用いた遺伝子解析の有用性が示唆された。背景因子として、*de novo* subtype と Branch off subtype では多様なクローンの腫瘍化が同時に生じており、併存膵癌が発生しやすい IPMN 患者の膵臓の特徴の一つと考えられる。IPMN 患者の追跡観察中には、画像的精査とともに EUS-FNA などによる組織採取が IPMN の異型度評価や癌の確定診断に推奨されるが、採取された細胞・組織からの形態学的評価や遺伝学的検索はある局所の病変の情報を得ているのみであり、膵臓全体における多中心性発生の評価には直結しない。十二指腸液や膵液、血液を用いた liquid biopsy における核酸解析は、膵全体からの情報を反映する可能性が高く、低侵襲であることから、膵癌発生を予測する有用な手法と考えられる。*KRAS* 変異および *GNAS* 変異の検討には、その変異バリエーションの多様性を含めた質的評価および量的評価が、悪性化経路の予測につながると考えられた。また、IPMN 由来癌および併存膵癌は IPMN 非関連の通常型膵癌よりも予後良好と報告され、それは主に早期に発見されるためと考察されてきた。しかし、本研究では病期によらず、3 群の中では Branch off subtype の無再発生存期間が長かったことから、本 subtype ではエピジェネティックな機構を含めた腫瘍の悪性度を抑制するようなメカニズムの存在が示唆された。

【結論】詳細な病理組織学的検討に基づいた分子病理学的アプローチにより、IPMN に関連した癌化経路の多様性と、その特徴を明らかにした。