

## 論文の内容の要旨

論文題目 膵・消化管神経内分泌腫瘍(NEN)肝転移に対する超音波造影剤の有用性  
および NEN における mTORシグナル伝達経路関連タンパク発現の腫瘍学的意義

氏名 中沢祥子

### 要旨

序文：神経内分泌腫瘍(neuroendocrine tumor/neoplasm, NET/NEN)は稀な腫瘍で、多発肝転移などを来す予後の悪い症例も存在する。診断時に遠隔転移を伴っている頻度は膵NENで60～70%、消化管NENで80～90%との報告があり、遠隔転移の部位としては肝転移が最も頻度が高く、次いでリンパ節転移である。肝転移を有する膵・消化管NENは切除不能な肝外病変がない場合に肝切除を中心とした集学的治療が推奨され、転移巣が肝臓に限局している場合、90%以上の減量手術が生命予後とQOLを改善するとの報告がある。しかしNEN肝転移は外科切除を施行しても、その再発率は5年で80%以上と報告され、その多くは2年以内に再発している。NEN肝転移は最も重要な予後因子の一つであり、この肝転移をいかに治療し、制御していくかが予後の改善につながると期待される。

また、膵・消化管NENの分子生物学的特徴はまだ不明な点が多いが、mTOR (mammalian target of rapamycin: 哺乳類ラパマイシン標的タンパク)シグナル伝達経路の関与やDAXX/ATRXの変異などが報告されており、これらの発現や予後との関連がいくつか報告されている。

mTORの発現や活性化については一般的な癌(大腸癌、肺癌、腎癌、乳癌など)において報告されており、mTORシグナル伝達経路は種々の癌の発生・進展に関わっている。NEN組織においてもmTORシグナル伝達経路の構成タンパク質が発現していることがわかってきたが、一般的な癌のものと比べると報告は少ない。さらにNEN原発巣と遠隔転移巣におけるmTORシグナル伝達経路に関与するタンパク質の発現を解析した報告も非常に少なく、遠隔転移を肝転移に限定して原発巣と比較した報告はない。NEN肝転移の治療としては、原発巣と肝転移巣の両方とも当院で切除することもあれば、原発巣は他院ですでに切除され、その後紹介されて異時性肝転移の切除を当院で行うこともあり、両病変が入手出来ないケースも多い。そこで、mTORシグナル伝達経路に関与するタンパク質の肝転移組織における発現程度と予後の関与が指摘できれば、原発巣の切除標本がなく肝転移巣の切除標本のみの症例でも、切除後の転帰の予測におけるバイオマーカーとしての役割や肝転移治療戦略の検討に有用ではないかと考えた。

NEN肝転移をいかにコントロールするかという課題に対して、研究①ではNEN肝転移の外科切除からのアプローチ、研究②では病理因子からアプローチする研究を設定した。

研究①ではNEN肝転移の外科切除について、術中造影超音波(contrast enhanced intraoperative ultrasonography, CE-IOUS)の有用性を評価した。

超音波造影剤が存在しなかった時代において、NEN肝転移巣は術中超音波(intraoperative ultrasonography, IOUS, B-mode IOUS)では腫瘍がはっきり検出できず、切除に苦慮することが多かった。超音波造影剤が登場してからは、CE-IOUSのクッパー相にて肝転移巣がより境界明瞭な腫瘍として描出されるようになり、腫瘍境界を詳細に確認しながら重要な脈管を温存することで肝部分切除を実施することも可能となった。

対象と方法：1998年1月から2013年12月の間に東京大学医学部附属病院肝胆膵外科で膵・消化管NENの肝転移に対し手術を受け、組織学的にNENと確定された、連続する35人、51手術を対象とした。1998年から2006年(前期)の間は、IOUSはB-modeのみが施行され、15人の患者に対し22手術が行われた。2007年に第2世代超音波造影剤(ソナゾイド®)が登場し、IOUSでも使用した。2007年から2013年(後期)までは24人の患者に対し29手術が施行され、B-mode IOUSならびにCE-IOUSの両方を施行した。本研究は、東京大学大学院医学系研究科・医学部の倫理委員会により承認が得られている(審査番号: 2158-(6)、課題名: 肝胆膵領域悪性腫瘍および良性疾患の治療成績・長期予後に関する研究)。

結果：前期の22手術中3手術(14%)において、術前CT画像で検出された腫瘍の一部をB-mode IOUSで同定できなかった。この3手術で術中に同定できなかった腫瘍は合わせて8個で、これらの腫瘍は術前CT画像を参照して、腫瘍が含まれるはずの支配門脈枝をIOUSガイド下に穿刺を行い、インジゴカルミンを約5ml注入し、肝表に出現した染色域の境界を電気メスでマーキングし、同領域を切除する解剖学的肝切除を行った。本研究ではこれを盲目的解剖学的切除と名付けた。後期においては、B-mode IOUSと比較して、CE-IOUSにてNEN肝転移巣の境界が認識しやすくなった症例が79%存在した。また術前画像で検出されていた病変がB-mode IOUSで指摘できなかった症例が29手術中6手術(21%)にあったが、CE-IOUSでその病変が描出可能となった症例が1手術で認められ、完全切除をすることが可能となった。それ以外の5手術では、当該病変に対して盲目的解剖学的切除を行わず経過観察とした。実際、CE-IOUSで検出できなかった病変は、術後のfollow up中の画像検索で該当する箇所が肝転移として指摘を受けなかった。なお本研究では、前期群と後期群の無増悪生存期間(progression free survival, PFS)に差は認めなかった。

考察：NEN肝転移病変におけるCE-IOUSの診断能については未だ報告はないが、大腸癌肝転移におけるCE-IOUSの診断能は、感度97%、特異度60%、陽性的中率95%、陰性的

中率70%、正確度93%と報告されており、術前画像で肝転移と診断されていてもCE-IOUSで陰性としたものは術後肝転移再発を認めなかったと報告されている。我々はNEN肝転移においてもこの結果を適用し、術前画像でNEN肝転移として認識していたがB-mode IOUSおよびCE-IOUSで描出できなかった病変を認めた5手術では盲目的解剖学的切除は施行せずに、クッパー相で描出されている他の病変のみ切除し、その結果肝実質の温存ができたと考えられた。本研究において、CE-IOUSを実施することにより、クッパー相で腫瘍境界が明瞭になり、腫瘍の存在位置を正確に把握することが可能となり、切除範囲を適切に判断することで、大量肝切除を回避することを含めた、肝切除を実施することが可能となった。NEN肝転移は再発しやすいため、繰り返し切除を受ける可能性があり、必要以上に残肝容量を減らさないためにCE-IOUSは有用であると考えられた。

研究②では、膵原発巣組織と膵NEN肝転移巣組織のmTORシグナル伝達経路に関与するタンパク質の発現と臨床転帰との関連を調べるべく、免疫組織化学染色法を用いてKi-67指数ならびにp-mTORとp-RPS6の発現と、臨床病理学的因子や臨床転帰を解析するstudyを計画した。

対象と方法：東京大学医学部附属病院肝胆膵外科にて外科的切除が施行された膵NEN症例および膵NEN肝転移症例(同時性、異時性含む) 85人における腫瘍部標本114 検体を対象とした(1995年1月～2013年12月)。免疫組織化学染色法を用いてKi-67指数ならびにp-mTORとp-RPS6の発現を検討し、臨床病理学的因子や臨床転帰を比較解析した。本研究は、東京大学大学院医学系研究科・医学部の倫理委員会により承認が得られている(審査番号: 10347-(4)、課題名: 消化管・膵神経内分泌腫瘍におけるKi-67測定ならびにmTOR pathway関連タンパク質の発現解析)。

結果：p-mTORおよびp-RPS6の陽性率は、それぞれ43.9%、70.2%であった。本研究では、膵NEN症例群のp-mTORおよびp-RPS6発現において、全生存期間(overall survival, OS)やPFSに関して統計学的に有意な結果は認められなかった。一方、PFSに関する多変量解析では、同時性肝転移有りの症例群とリンパ節転移有りの症例群はPFS不良因子であった(P=0.001, P=0.006)。

本研究では、膵臓を原発とするNENの肝転移巣組織を用いた解析を実施した。その結果、WHO 2019分類において、G1群はG2群よりもOSとPFSが長くなる傾向であった(OS; P=0.06, PFS; P=0.28)。

膵NEN肝転移巣においては、p-RPS6 negative群はpositive群と比較してOSとPFSが長くなる傾向であった(OS; P=0.07, PFS; P=0.17)。さらに本研究では、原発巣組織(膵臓)と対応する肝転移巣組織が得られた症例群(14人)を用いた解析を実施した。結果として、p-

mTORおよびp-RPS6の発現性が原発巣組織とそれに対応する肝転移巣組織との間で変動していることを見出した。

考察：膵NEN肝転移巣組織において、WHO 2019分類のG1群はG2群よりもOSおよびPFS長い傾向であったことから、肝転移巣におけるNEN細胞の増殖性が患者の予後に影響を与える因子と成り得ると示唆され、増殖性に富む細胞により構成されたNENが比較的早期に増悪していることを示唆している。

さらに、原発巣組織(膵臓)と対応する肝転移巣組織を、同時に免疫組織化学染色を行い解析した研究は今まで報告がなく、本研究が初めての実施例となった。p-mTORおよびp-RPS6の発現性が原発巣組織とそれに対応する肝転移巣組織との間で変動していることを見出した。

研究①、②の結論：研究①では、超音波造影剤登場前は、B-mode IOUSで検出できなかった腫瘍に対し盲目的解剖学的切除を施行したが、CE-IOUSを実施することで、切除範囲を適切に判断することが可能となった。NEN肝転移は再発しやすいため、繰り返し切除を受ける可能性があり、必要以上に残肝容量を減らさないためにCE-IOUSは有用であると考えられた。研究②では、NENのmTORシグナル伝達経路に関連するタンパク質の発現について、膵原発の肝転移巣組織を解析すると、肝転移巣においてmTORシグナル伝達経路を構成するタンパク質のp-RPS6が発現しているとOSおよびPFSが短くなる傾向となった。これは肝転移切除後の転帰の予測におけるバイオマーカーとしての役割や肝転移治療戦略の検討に有用である可能性が示唆された。今後も症例数を蓄積した研究の継続が必要である。