

論文の内容の要旨

論文題目 膵管内乳頭粘液性腫瘍経過観察中の膵発癌症例における臨床的特徴と遺伝子異常に関する検討

氏名 高木 馨

膵癌は診断時に進行癌であることが多く、その予後は一般的に極めて不良である。膵癌患者数は男女ともに増加傾向であり癌の死亡原因の第4位となっている。予後改善のためには早期発見、早期治療が重要であり、そのためには膵癌発生の機序を解明することが必要である。一部の膵癌は膵管内乳頭粘液性腫瘍 (Intraductal papillary mucinous neoplasm: IPMN) から発生することが知られている。我々は IPMN が年率 0.95% の高い発癌リスクを有することを報告しており、それ以降も IPMN と膵発癌の関連に関しては数多く報告されている。IPMN の患者を経過観察することにより膵癌の発生を早期に捉えられる可能性があり、予後の改善が期待できる。

IPMN に関連した膵発癌には二通りの様式が考えられており、IPMN 上皮が悪性転化し浸潤癌化する IPMN 由来浸潤癌と、IPMN とは別個に浸潤癌が発生して通常型膵癌と同様の腫瘍を形成する IPMN 併存膵癌がある。これらの鑑別は画像診断に基づく IPMN と膵癌の連続性の有無および、IPMN 上皮から浸潤癌への組織学的移行像の有無によりなされる。しかし、IPMN と膵癌が近接している場合には鑑別が難しいことも多い。また、IPMN 由来浸潤癌と、IPMN 併存膵癌、IPMN を有さない膵に発生した通常型膵癌の三者が生物学的に同等であるのか否かに関しては未だ不明な点が多い。

膵癌で高頻度に認められる遺伝子異常は IPMN においても比較的頻度は低いと認められている一方で、近年 *GNAS* 変異が IPMN に認められることが報告された。これまでのところ、通常浸潤性膵管癌や他の膵嚢胞性疾患では *GNAS* 変異は検出されておらず、IPMN に高頻度かつ特異的な遺伝子異常であると考えられているが、IPMN の発生や膵発癌に果たす役割は明らかでない。また、膵癌においては膵上皮内腫瘍性病変 (pancreatic intraepithelial neoplasia: PanIN) と呼ばれる前駆病変からの発癌に *KRAS*、*p16^{INK4A}*、*TP53*、*SMAD4* などの遺伝子異常が関与すると考えられているが、当研究室はさらにヒストン脱メチル化酵素である *KDM6B* および標的遺伝子の *C/EBP α* の関与について報告している。IPMN に関連した膵発癌におけるこれらの遺伝子異常との関連は報告されていない。

これまでの IPMN の切除症例を用いた分子生物学的な検討は、発癌に至るまでの詳細な経過が含まれていないものが多い。当施設ではこれまで長年にわたり多数例の膵嚢胞患者を経過観察しており、2006 年に経過観察中の膵発癌に関する報告をしている。その後 10 年が経過し、多数の症例が集積されたため、今回は IPMN 症例に限定して新たに解析を行った。さらに、経過観察中に膵発癌を認め、切除された症例の臨床的特徴と上記の遺伝子

異常について検討することにより、IPMNの自然史を理解し発癌の特徴を明らかにすることを目的とした。

まず、1994年1月から2014年12月までの間に、東京大学医学部附属病院においてIPMNと診断された1164例のうち、診断時に膵癌の合併や手術適応となる病変を認めず経過観察の方針となった分枝型IPMN965人の患者を対象として、経過観察中の膵発癌率を検討した。IPMN診断時の平均年齢は67.9歳であった。502人(52%)が男性、463人(48%)が女性であった。この対象患者を中央値46か月にわたり経過観察を行った。経過観察中に膵発癌を39例に認め、年率0.89%の発癌率であった。26例は膵切除が行われた。7例は診断時に切除不能であり、6例は高齢等の理由により非切除となった。IPMN由来癌(上皮内癌を含む)が21例、IPMN併存膵癌が18例あった。膵癌のSIRは21.3(95%信頼区間15.2-29.1)であった。

次に、上記の切除例26例のうち、浸潤癌とIPMN上皮の両方を標本に含む14例、および通常型の浸潤性膵管癌の切除症例から術前の画像検査で膵嚢胞性病変を認めていなかった連続10例(対照群)につき、臨床病理学的・分子生物学的特徴を検討した。切除標本からIPMN上皮と浸潤癌をレーザーマイクロダイセクションで切り出し、DNAを抽出した。*GNAS*エクソン8のコドン12、*KRAS*エクソン2のコドン12、13を含む領域をPCRで増幅し、パイロシーケンス法にて遺伝子変異を解析した。さらに、p16^{INK4A}、TP53、SMAD4、phospho-ERK、KDM6B、C/EBP α の各タンパク発現につき免疫組織化学にて評価した。

14例中7例がIPMN由来浸潤癌、7例がIPMN併存膵癌と診断された。IPMN由来浸潤癌のうち3例はIPMNに壁在結節を認めたが4例には認めなかった。IPMN由来浸潤癌と併存膵癌の比較において経過観察開始時の所見には差は認められなかった。IPMNの非浸潤癌の上皮部分の組織亜型では由来浸潤癌ではgastric typeが3例(43%)に対し併存膵癌では6例(86%)であり併存膵癌に多い傾向があった。また、併存膵癌症例におけるIPMNの組織学的な異型度は5例(71%)がlow grade dysplasiaであり、いずれもgastric typeであった。IPMN由来浸潤癌の2例、併存膵癌の1例に一部粘液癌の成分を認めた。浸潤癌の腫瘍径、局所進行度、リンパ節転移、遠隔転移、ステージに群間差はなかった。

壁在結節を認めたIPMN由来浸潤癌の3例(100%)に*GNAS*変異が陽性で、いずれも同じ変異を非浸潤部に認め、由来浸潤癌として矛盾しなかった。IPMN併存膵癌7例の浸潤癌部3例(43%)に*GNAS*変異を認め、このうち非浸潤部に同じ変異を認めたのは1例(14%)のみであった。壁在結節を認めなかったIPMN由来浸潤癌の4例のうち、2例は浸潤癌部と非浸潤部の両方が*GNAS*変異陽性で一致し、もう2例は非浸潤部のみが*GNAS*変異陽性で浸潤癌部と一致しなかった。対照の浸潤性膵管癌では全例が*GNAS*野生型であった。*KRAS*変異は各群において高頻度に認められた。

免疫染色では、p16^{INK4A}の発現減弱がIPMN併存膵癌の1/14例(14%)にのみ、非浸潤部と浸潤癌部の両方に認めた。一方、対照群では全例に発現減弱を認め、統計学的有意差を

持って高頻度であった。また、KDM6B 減弱の頻度は、IPMN 由来浸潤癌で 0/7 例 (0%)、併存膵癌で 3/7 例 (43%) であり、いずれも対照群 10/10 (100%) より有意に低かった。

phospho-ERK 発現、TP53 異常集積、SMAD4 発現減弱は 3 群間で差はなく、非浸潤部と浸潤癌部にも差は認めなかった。

IPMN に関連して発癌した症例において、GNAS 変異陽性の浸潤癌は GNAS 野生型の方が変異型と比較して腫瘍径が大きく、膵外進展やリンパ節転移が多い傾向があったが統計学的に有意ではなかった。

5 例 (71%) の膵癌死を IPMN 由来浸潤癌に認めたのに対し、併存膵癌では膵癌死を認めていない。対照群と比較して IPMN 関連膵癌で再発までの期間が長い傾向があったが統計学的有意差はなかった。IPMN 関連膵癌症例において、浸潤癌部の GNAS 変異、KRAS 変異の有無による累積無再発率に統計学的有意差は認めなかった。

IPMN の嚢胞内に結節が出現し、嚢胞外の腫瘍と連続性を認め、さらに病理診断により組織学的移行像を認めた場合には IPMN 由来浸潤癌であると比較的容易に診断できる。今回の検討でも IPMN 由来浸潤癌と診断した 3 例は術前の画像所見にて明らかな壁在結節を認め、さらに非浸潤部と浸潤癌部の GNAS 変異が一致していることもこれを支持する所見であった。壁在結節を認めない IPMN 由来浸潤癌 4 例のうち 2 例は非浸潤部と浸潤癌部の GNAS 変異が一致していたため、由来浸潤癌であることが支持されるが、嚢胞の壁外に進展する非典型的なタイプであると考えられた。残りの 2 例は、浸潤癌の GNAS 変異が非浸潤部とは異なり陰性であった。これらについては、IPMN の近傍から発生した併存膵癌が浸潤して IPMN との境界が不明瞭化したため由来浸潤癌と診断された可能性がある。このような症例においては鑑別が難しいため、GNAS 等の分子マーカーが有用であると考えられた。

IPMN 併存膵癌に GNAS 変異陽性例を 3 例認めており、そのうち 2 例は IPMN の GNAS 変異が陰性であった。本研究の症例は発癌前の画像所見があるため、併存膵癌が発生した部位には元来嚢胞性病変がなかったことが確認されている。したがって、嚢胞という形態を取らない組織から IPMN 由来浸潤癌が発生するという機序が考えられた。併存膵癌と診断される症例の中には、生物学的には IPMN 由来の癌が含まれている可能性があり、本研究で認めた GNAS 変異型の 3 例はそれを示唆すると考えられる。

また、IPMN 併存膵癌に関しては、GNAS 野生型であった場合には真に IPMN 由来ではない膵癌である可能性と、嚢胞を形成していない GNAS 野生型の IPMN 由来癌である可能性の二つのパターンが考えられる。GNAS 以外にも IPMN に特異的なマーカーがあれば、それらを組み合わせる通常型の浸潤性膵管癌と詳細に比較することによりこの二つのパターンを鑑別できるようになることが期待される。

p16^{INK4A} は細胞周期の G1 期から S 期への移行を制御する役割を持つ腫瘍抑制遺伝子であり、KDM6B は PanIn において高発現し、膵癌の進行とともに減弱することが示されており、腫瘍抑制遺伝子である INK4A-ARF の発現を促進することが報告されている。IPMN

関連の膵癌ではこれらが浸潤性膵管癌に比して高頻度に発現が保たれているため、浸潤性膵管癌よりも悪性度が低い可能性がある。

以上を踏まえると、IPMNに関連した膵発癌には①IPMN内に生じた結節が浸潤癌化するIPMN由来浸潤癌、②IPMN内に結節を作らずに嚢胞の外側に進展するIPMN由来浸潤癌、③嚢胞として認識できるIPMNとは別個に発生するIPMN由来浸潤癌、④IPMNとは独立して発生するIPMN併存膵癌の4つのパターンが考えられる。④の中には通常型の浸潤性膵管癌とは異なる生物学的性質を示す膵癌が含まれる可能性がある。③④のタイプの鑑別はIPMNに特異的なマーカーを組み合わせて用いることで可能になり得る。このような臨床所見と分子生物学的所見の解明が進めば、経過観察の方針、予後の予測や治療方針の決定に際して有用な情報を与える可能性はあるため、今後は手術検体のみならず膵液やEUS-FNA検体などの臨床検体を用いた検討も考慮される。近年ではIPMNや膵癌に関連した多数の遺伝子異常が次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析することが可能になっており今後こういった手法を取り入れることによりIPMNに関連した膵癌と浸潤性膵管癌の差についてはさらに解明される可能性があると考えられた。