

論文内容の要旨

Expression of cancer stem cell markers in pancreatic
intraepithelial neoplasias and pancreatic ductal adenocarcinomas

膵癌および膵癌前癌病変における癌幹細胞マーカーの発現検討

日本医科大学大学院医学研究科 統御機構病理学分野

大学院生 吳 壮香

International Journal of Oncology Vol. 41, No.2 (2012) 掲載

膵癌は罹患者数、死亡率とも増加傾向にあり、5年生存率は5%未満である。その多くは無症状で経過するために早期発見が困難であり、60~70%が診断時に大血管進展や遠隔転移をきたしているため、切除不能とされる例が多い。また、それらの切除不能例についても化学・放射線療法による十分な治療効果が得られず、予後不良となっている。このため、現在、膵癌の早期発見法および新たな治療法の確立が待たれている。近年、様々な癌組織で癌幹細胞の存在が報告され、癌治療の標的細胞として解析が蓄積されている。癌幹細胞は自己増殖能、多系統への分化、過酷な腫瘍微小環境に耐えられる能力をもつとされる細胞で、癌の増殖、浸潤、転移や再発に関与すると言われている。膵癌においても癌幹細胞の研究が蓄積されてきており、その特異的マーカーとしてはCD133、CD24、CD44、CXCR4、ESA および nestin などが報告されている。他方で、Pancreatic intraepithelial neoplasia(PanIN)に代表される膵癌の前癌病変の存在も提唱されている。PanIN はその病理組織学的異型度により 3 段階に分類される。癌幹細胞と膵癌前癌病変についての研究は多くは見られず、この2つの概念の関連を検討することは重要であると考えられる。

本研究では、浸潤性膵管癌、PanIN における前述の膵癌癌幹細胞マーカーの発現について病理組織学的に検討した。あわせてフローサイトメトリーや quantitative real time PCR を用いてその発現を調べ、これらのマーカーの臨床的な意義も検討した。本研究を通して膵癌の早期発見および新規治療法開発を目指すことを目標とした。

症例は 1995 年から 2011 年までに日本医科大学附属病院外科において手術された浸潤性膵管癌 105 例、腺扁平上皮癌 7 例、未分化癌 1 例を用いた。対照の正常膵組織 6 例は異所性脾の手術時に切除された膵組織を用いた。PanIN は、前述の浸潤性膵管癌、腺扁平上皮癌、未分化癌、正常膵の検体中から検索し、41 病変を採用した。

はじめに各マーカーの染色強度と局在を検討した。正常膵管では CD24、CD44、CXCR4 および nestin はほぼ陰性であったが、CD133、ESA は膵管上皮で陽性となった。PanIN3 では CD44、CD133、nestin は弱陽性となった。CD24、CXCR4、ESA は中程度から高度の発現強度で、それぞれ発現パターンを異にしていた。浸潤性膵管癌においては、CD24 は細胞膜、CXCR4 と nestin は細胞質、ESA は細胞膜・細胞質ともに発現していた。

続いて各マーカーの発現率を解析した。癌幹細胞マーカーのうち CD133 以外は、正常膵管、低グレード PanIN、高グレード PanIN、浸潤性膵管癌の順に発現率の増加が確認された。CD24 は PanIN3、浸潤性膵管癌で有意な発現上昇をみた。CD44、CXCR4 は PanIN2、PanIN3 および浸潤性膵管癌で有意に発現していた。ESA は正常膵以外で有意な発現が見られた。浸潤性膵管癌においては、nestin は正常膵、PanIN1、PanIN2 に比し有意に発現

していた。Ki67、PCNA を用いた増殖能の評価では、前癌病変、浸潤性膵管癌の順に増加していることが確認された。

病理組織像との検討においては、CXCR4、ESA は高分化型浸潤性膵管癌に有意に発現していた。静脈侵襲については CD133 の発現と正の相関が、ESA と負の相関が見られた。臨床病理学的には、いずれのマーカーも全生存率、無病生存率との関連は見られなかったが、nestin の発現は予後不良の傾向があった。過去の文献を参考に共発現と生存率についても解析したが、有意な結果は見られなかった。

次に 8 種の膵癌細胞株を用いて癌幹細胞マーカーの mRNA レベルを検討した。マーカーはさまざまなレベルで発現が確認された。さらに 3 種の細胞株を用いてフローサイトメトリーによるタンパク発現を検討したところ、CD133 の発現が最も低く、CD44 の発現が最も高いという免疫組織とは異なる結果となった。

最後に浸潤性膵管癌の組織型として腺扁平上皮癌と未分化癌における癌幹細胞マーカーの発現を検討した。ESA については腫瘍のうちとくに腺癌成分に有意に発現し、CD44 は、扁平上皮癌成分、未分化成分で有意な発現が見られた。

CD24、CD44 は細胞接着分子、CD133 は細胞極性に関与し細胞運動、細胞分裂に関わるとされている。CXCR4 はケモカインレセプターのうちのひとつ、ESA は形態制御分子、nestin は中間径フィラメントで細胞移動や細胞周期に関与するといわれる。本研究は前癌病変から浸潤癌における発癌過程と癌幹細胞マーカーの発現の関連を検討したもので、マーカーのうち CD133 以外は、前癌病変から浸潤癌に至るまでの過程で段階的に発現していることが示された。各分子は、増殖、分化、浸潤能や組織型などについて様々な面から関与しているものと考えられた。ひとつの特異的マーカーを示したものではないが、腫瘍の特徴や段階などにより主要となるマーカーが異なると推察された。さまざまな段階での癌幹細胞マーカー発現を検討することが発癌メカニズム解析につながり得ると考えられた。