

# 膵臓の神経内分泌腫瘍における発癌・進展機構の解明

東京医科歯科大学医学部附属病院 病理部

助教 木脇 祐子

(共同研究者)

香川大学医学部 病理病態学・生体防御医学講座 腫瘍病理学 教授 松田 陽子

## はじめに

膵神経内分泌腫瘍 (pancreatic neuroendocrine neoplasm : pNEN) は、膵腫瘍の中では1-2%と稀な腫瘍で、50-60歳代の中高年に発症のピークがある。65歳以上の高齢発症のpNENでは初診時に切除不能でなくとも急速進行しやすいことが知られている。近年、pNENの網羅的遺伝子解析により、加齢に深く関わるテロメラーゼ調節遺伝子の一つ、DAXX (Death-Domain Associated Protein)、ATRX ( $\alpha$ -Thalassemia/mental retardation syndrome X-linked) の発現減少、MEN1 (Multiple Endocrine Neoplasia-1 Gene) 異常、mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) 経路の活性化などが腫瘍形成に深く関連することが解明され、pNENにおいてATRX/DAXXはテロメラーゼ非依存性のテロメア伸長機構 (alternative lengthening of telomeres : ALT) の抑制因子であることが解明されている。しかし、これらの遺伝子異常と臨床的病理学的因子や予後との関係は不明な点が多い。本研究はpNENが「ランゲルハンス島過形成→腺腫→低悪性度NEN→高悪性度NEN→神経内分泌癌」という多段階発がんの過程を経るという仮説の下、pNENの発癌機構を解明することを目指す。その上で今回は、ATRX/DAXXのタンパク発現およびALTの状態と臨床病理学的因子との関連について検討し、ATRX/DAXX異常やALTがpNENの進展や悪性化に関連するか否かを検討した。本研究により、高齢者におけるpNENの悪性化のメカニズムを解明し、その予防、診断、治療方針の決定に向けた基礎的情報が得られる可能性がある。

## 結 果

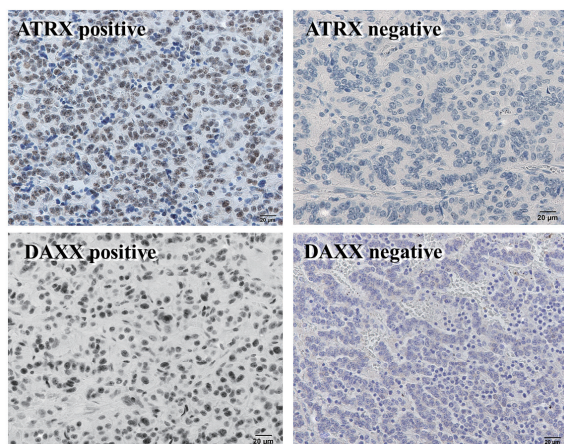
2001年～2018年、東京医科歯科大学附属病院で切除されたpNEN症例42例を解析対象とした。患者42症例の臨床病理学的な因子を表1に示す。

表 1. 神経内分泌腫瘍 42 症例の臨床病理学的因子

Variables	All patients n=42		
Gender		Perineural invasion, no. (%)	
Male no. (%)	26 (61.9)	Absent, no. (%)	28 (66.7)
Female no. (%)	16 (38.1)	Present, no. (%)	14 (33.3)
Age, mean (range, SD), yr	57.6 (19-77, 14.1)	Functional status	
Location of tumor		Nonfunctional, no. (%)	34 (81.0)
Head and uncinata, no. (%)	18 (42.9)	Functional, no. (%)	8 (19.0)
Body and tail, no. (%)	24 (57.1)	Insulinoma, no. (%)	5 (11.9)
Tumor size, median (IQR)		Gastrinoma, no. (%)	3 (7.1)
≤ 2cm	16 (38.1)	Lymph node metastasis	
>2cm	26 (61.9)	Absent, no. (%)	26 (61.9)
Ki67 index, %, median (IQR)	4.8, 2.3	Present, no. (%)	16 (38.1)
WHO grade		Liver metastasis	
G1, no. (%)	20 (47.6)	Absent, no. (%)	33 (78.6)
>G2, no. (%)	22 (52.4)	Present, no. (%)	9 (21.4)
Lymphovascular invasion		P values in bold represent significant statistical differences.	
Absent, no. (%)	16 (38.1)		
Present, no. (%)	26 (61.9)		

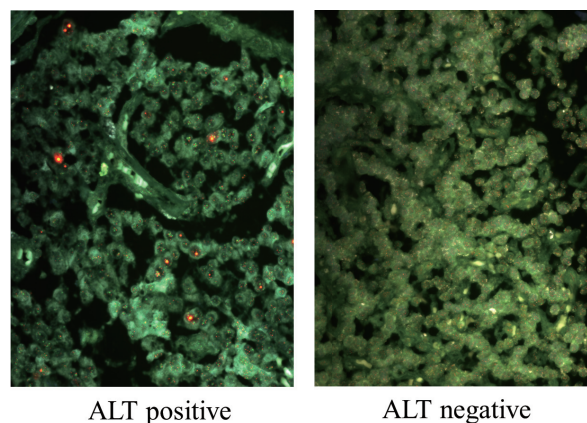
pNEN 42症例に対し、ATRX、DAXX免疫染色を施行した。ATRXは陽性例18例、陰性例24例であり、DAXXは陽性例10例、陰性例32例であった。各々の代表的な染色例を図1に示す。テロメアプローブを用い42症例にテロメアFISHを施行した。その結果、強いテロメアシグナルを示すALT陽性例は17例、ALT陰性例は25例であった。テロメアFISHの代表的な写真を図2に示す。

図 1. ATRX, DAXXの免疫染色結果



All images are shown at × 400 magnification

図 2. テロメアFISHによるALT検出結果



ALT結果を元にpNEN患者を陽性/陰性の2群に分け、各臨床病理学的因子について単変量解析を行った所、腫瘍径、WHO grade、リンパ節転移の有無、ATRXまたはDAXXの免疫染色での発現消失の有無の項目で2群間に有意差が認められた。更にCox比例ハザードモデルによる多変量解析では、リンパ節転移の有無において無病生存期間に有意差が認められた。単変量解析、多変量解析結果を表2に示す。

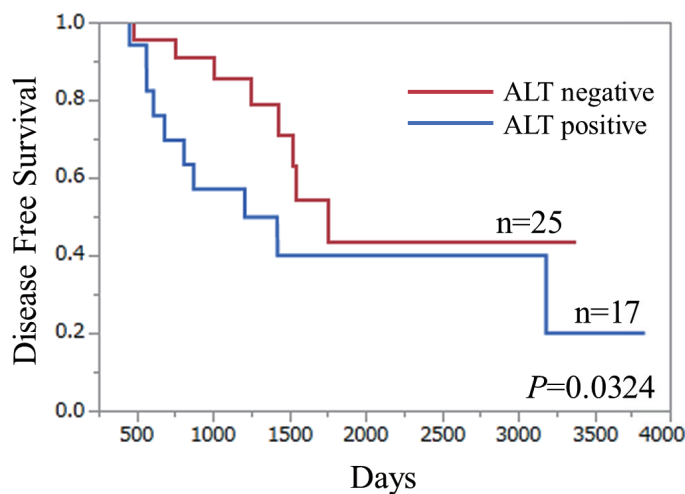
表2. ALTの状態による臨床病理学的因子の単変量解析、多変量解析結果]

Variables	All patients n=42	ALT n=42		P	Multivariate Analysis		
		Negative n=25	Positive n=17		HR*	95%CI	P
<b>Gender</b>				<b>1</b>			
Male no. (%)	26 (61.9)	15	11				
Female no. (%)	16 (38.1)	10	6				
Age, mean (range, SD), yr	57.6 (19-77, 14.1)						
<b>Location of tumor</b>				0.7549			
Head and uncinate, no. (%)	18 (42.9)	10	8				
Body and tail, no. (%)	24 (57.1)	15	9				
<b>Tumor size, median (IQR)</b>				0.0004			0.1959
≤2cm	16 (38.1)	15	1				
>2cm	26 (61.9)	10	16				
<b>Ki67 index, %, median (IQR)</b>	4.8, 2.3						
<b>WHO grade</b>				0.0068			0.8064
G1, no. (%)	20 (47.6)	15	5				
≥G2, no. (%)	22 (52.4)	10	12				
<b>Lymphovascular invasion</b>				0.1949			
Absent, no. (%)	16 (38.1)	12	4				
Present, no. (%)	26 (61.9)	13	13				
<b>Perineural invasion, no. (%)</b>				0.1836			
Absent, no. (%)	28 (66.7)	19	9				
Present, no. (%)	14 (33.3)	6	8				
<b>Functional status</b>				<b>1</b>			
Nonfunctional, no. (%)	34 (81.0)	20	14				
Functional, no. (%)	8 (19.0)	5	3				
Insulinoma, no. (%)	5 (11.9)	3	2				
Gastrinoma, no. (%)	3 (7.1)	2	1				
<b>Lymph node metastasis</b>				0.0291	2.8601-14.97-		0.0238
Absent, no. (%)	26 (61.9)	19	7		77.1181		
Present, no. (%)	16 (38.1)	6	10				
<b>Liver metastasis</b>				0.4463			
Absent, no. (%)	33 (78.6)	21	12				
Present, no. (%)	9 (21.4)	4	5				
<b>ATRX</b>				0.2124			
Negative, no. (%)	25 (59.5)	17	8				
Positive, no. (%)	17 (40.5)	8	9				
<b>DAXX loss</b>				0.757			
Negative, no. (%)	16 (38.1)	9	7				
Positive, no. (%)	26 (61.9)	16	10				
<b>DAXX or ATRX</b>				0.0312			0.4904
Negative, no. (%)	32 (76.2)	16	16				
Positive, no. (%)	10 (23.8)	9	1				

P values in bold represent significant statistical differences; HR, hazard ratio;

更に、 Kaplan-Meier法による無病生存期間の予後解析では、ALT陽性群の法がALT陰性群と比較して有意に予後が悪いという結果が得られた。予後曲線を図3に示す。

図3. Kaplan-Meier法によるALT陽性群、陰性群における無病生存率の比較



## 考 察

今回の検討の結果、pNEN 42例中25例（59.5%）がALT陽性であった。単変量解析でALT陽性は腫瘍径が大きく（2cm以上）、Gradeが高く（G2以上）、リンパ節転移を伴う症例で有意に多いことが分かった。また、予後解析ではALT陽性症例群の方が無病生存期間が有意に短い事が判明した。過去の報告でもALT陽性が肝転移のしやすさと相関することが報告されていることから<sup>(1)</sup>、ALT陽性は腫瘍の高悪性化に関与する事が予測される。これまでにALTはATR<sub>X</sub>、DAX<sub>X</sub>発現消失と関係することが指摘されており<sup>(2)</sup>、今回の解析でもATR<sub>X</sub>またはDAX<sub>X</sub>のタンパクレベルでの発現消失がALT陽性と有意に相関し、過去の報告を裏付ける結果となった。ATR<sub>X</sub>とDAX<sub>X</sub>は相互作用しテロメアにおけるクロマチンリモデリング等の多彩な機能に関連することが知られているが<sup>(2)</sup>、ATR<sub>X</sub>、DAX<sub>X</sub>の異常を各々単独で解析した際には、各々の発現消失の頻度と臨床病理学的因子や予後との関係は報告間で必ずしも一致しなかった。これよりATR<sub>X</sub>、DAX<sub>X</sub>の異常が異なる機序で起きていることが示唆され、今後の検討を要する。また、一定頻度のpNENにおいてテロメア維持機構の異常がALTないしATR<sub>X</sub>/DAX<sub>X</sub>の発現異常によってもたらされると考えられるが、代表的なテロメア維持機構であるテロメララーゼ活性との関連については過去の報告が少数存在するにとどまり<sup>(3)</sup>、今後の研究課題としたい。

## 要 約

ALT陽性のpNENは、腫瘍径の大きさ、高いWHO grade、リンパ節転移、無病生存期間の短縮といった臨床病理学的な高悪性度の因子と関連することが解明された。ALT陽性はATR<sub>X</sub>、DAX<sub>X</sub>の発現異常と有意な相関を示すことからpNENの腫瘍進展のメカニズムにクロマチンリモデリング機構の異常が関与することが示唆される。

## 文 献

1. Pea A et al. Genetic Analysis of Small Well-differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors Identifies Subgroups With Differing Risks of Liver Metastases. doi: 10.1097/SLA.0000000000003022. [Epub ahead of print] , 2018
2. Christopher M. Heaphy et al. Altered Telomeres in Tumors with ATR<sub>X</sub> and DAX<sub>X</sub> Mutations. Vol. 333, Issue 6041, p.425-428, 2011
3. Perrem K. Coexistence of alternative lengthening of telomeres and telomerase in hTERT-transfected GM847 cells, 21 (12) :3862-75, 2001