

平成30年度(第23回)  
弘前大学医学部学術賞  
奨励賞受賞論文

SAITO T, MIZUKAMI H, UMETSU S, UCHIDA C, INABA W, ABE M, TAKAHASHI K, KUDO K, ITABASHI C, YAGIHASHI S, HAKAMADA K. Worsened outcome in patients with pancreatic ductal carcinoma on long-term diabetes: association with E-cadherin1 (CDH1) promoter methylation. *Sci Rep.* 2017;7:18056. doi: 10.1038/s41598-017-18438-z.

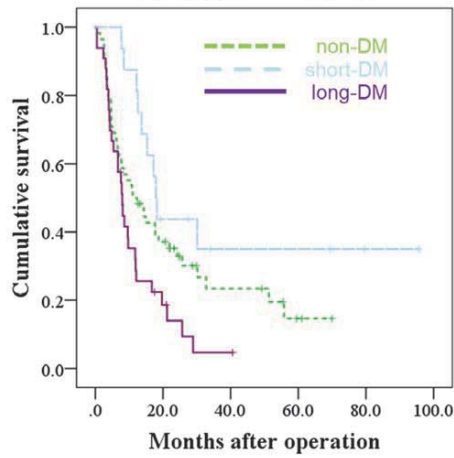
## 2型糖尿病長期罹患により膵導管癌患者の予後は増悪する：E-cadherin1 (CDH1) プロモーター領域のメチル化との関連

国際医療福祉大学病院 小児外科 病院助教  
弘前大学大学院医学研究科 消化器外科学講座  
齋 藤 傑

**【背景】**膵導管癌 (PDC) は悪性度が非常に高く、予後不良であるにもかかわらず、近年世界的に増加傾向にある癌腫である。平成27年の部位別癌死亡率では、男性5位、女性4位と高い死亡率を示している。切除可能な状態であればまず手術が検討されるが、切除不能な状態で発見されることが多く、新規診断法とともにその治療法の確立が望まれている。2型糖尿病 (T2D) は、PDC 発症の危険因子として知られている。さらに、T2D の罹患期間が PDC の予後に影響を及ぼすという報告も存在するが、その機序は未だ明らかになっていない。近年、後天的遺伝子修飾の1つとして知られる遺伝子プロモーター領域のメチル化が多く癌腫の発症・進展に影響を及ぼすことが明らかになってきている。PDC においても、CDKN2A (P16: 細胞周期の制御因子) や CDH1 (E-cadherin1: 細胞接着因子) といった遺伝子プロモーター領域のメチル化が発症・進展に寄与していると報告されている。一般的にメチル化の誘発因子である活性酸素種や炎症性サイトカインは、T2D により産生が亢進される。従って、T2D が PDC メチル化に対し影響を及ぼしている可能性が示唆されるものの、その関連性についての報告はこれまでに存在しない。

**【対象と方法】**2006年10月から2014年12月までの期間で、弘前大学医学部附属病院において PDC と診断され手術を施行された109例と、PDC 既往のない剖検症例42例を対象とした。PDC 症例は、T2D 罹患期間により non-DM (59例)、short-DM (17例) (発症3年未満)、long-DM (33例) (発症3年以上) の3群に分類した。剖検例は、T2D 既往のない Control (23例)、T2D 既往のある T2DM (19例) の2群に分類した。各症例の組織切片を用いて、メチル化特異的 PCR 法による CDKN2A /P16 および CDH1/E-cadherin 1 プロモーター領域のメチル化状態解析、免疫組織化学染色による蛋白発現解析を施行した。メチル化特異的 PCR 法は、まず組織標本から標的部 (癌組織、癌近傍正常組織、非癌組織) をスクリーニング後、FFPE 切片から DNA を抽出した。Epitect Fast DNA Bisulfite kit (Qiagen) を用いて bisulfite 処理を行い、PCR 施行後、電気泳動にて評価した。P16 の免疫組織化学染色は、400倍視野で観察し最も染色核数の多い視野内で、染色された腺管細胞核数/全腺管細胞核数で評価した。E-cadherin 1 の免疫組織化学染色は、HER2 の判定基準に従い、発現の強度により 1+~3+ の3段階に分類し、2+

## 無再発生存率



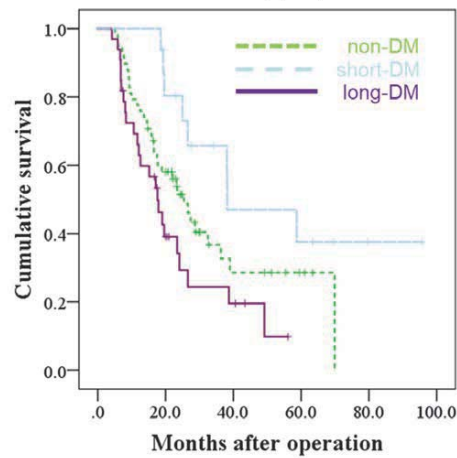
中央値 (months)

non vs short : 14.3 vs 17.9 p=0.158

non vs long : 14.3 vs 8.0 p=0.019

short vs long : 17.9 vs 8.0 p=0.002

## 全生存率



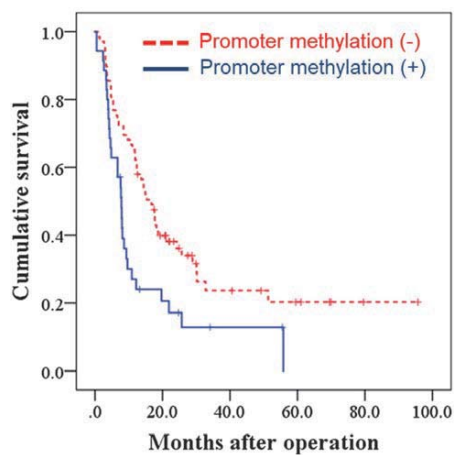
中央値 (months)

non vs short : 26.6 vs 38.2 p=0.090

non vs long : 26.6 vs 17.6 p=0.046

short vs long : 38.2 vs 17.6 p=0.003

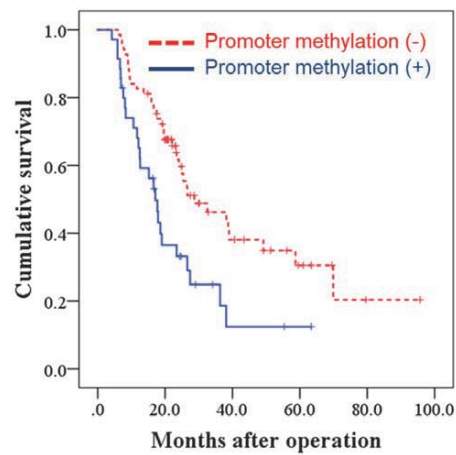
## 無再発生存率



中央値 (months)

(+ ) vs (- ) : 7.8 vs 16.7  
p=0.004

## 全生存率



中央値 (months)

(+ ) vs (- ) : 17.1 vs 28.7  
p=0.002

以下を発現低下と評価，染色不良なものは除外した。PDC 症例では癌組織のみならず，癌近傍正常組織においても解析を行った。PDC 症例の臨床病理学的因子を抽出し，予後因子について検討した。

**【結果】**PDC 症例において，long-DM 群は他 2 群と比較し，有意に低分化な組織型が多かった (non-DM vs short-DM vs long-DM: 22.0% vs 23.6% vs 57.6%)。また，遠隔転移も有意に増加していた (non-DM vs short-DM vs long-DM: 55.9% vs 41.2% vs 78.8%)。メチル化解析では，CDKN2A は PDC 症例の癌組織において，long-DM 群では他 2 群と比較し有意にメチル化が増加していたが (non-DM vs short-DM

vs long-DM: 10% vs 6% vs 30%), 癌近傍正常組織および剖検例では有意差は認められなかった。一方, CDH1 は, PDC 症例の癌組織のみならず癌近傍正常組織においても, long-DM 群では他2群と比較し有意に DNA メチル化が増加していた (癌組織: non-DM vs short-DM vs long-DM: 22% vs 18% vs 61%, 癌近傍正常組織: non-DM vs short-DM vs long-DM: 7% vs 6% vs 30%)。さらに, 剖検例の T2DM 群でも control と比較し有意にメチル化が増加していた (control vs T2DM: 0% vs 30%)。免疫組織化学染色では, CDKN2A は PDC 症例, 剖検例ともに各群での蛋白発現の有意差は認められなかった。一方, CDH1 は PDC 症例の癌組織において long-DM 群では他2群と比較し有意に蛋白発現低下が認められ (score  $\leq$  2: non-DM vs short-DM vs long-DM: 35% vs 23% vs 78%), 癌近傍組織においても低下傾向が認められた (score  $\leq$  2: non-DM vs short-DM vs long-DM: 6% vs 0% vs 17%)。再発・予後解析では, long-DM 群は他2群と比較し有意に無再発生存率が低く (non-DM vs short-DM vs long-DM: 14.3ヶ月 vs 17.9ヶ月 vs 8.0ヶ月), 全生存率も低かった (non-DM vs short-DM vs long-DM: 26.6ヶ月 vs 38.2ヶ月 vs 17.6ヶ月)。また, CDH1 プロモーター領域のメチル化を有する群は, メチル化のない群と比較し有意に無再発生存率が低く (メチル化 (+) vs (-): 7.8ヶ月 vs 16.7ヶ月), 全生存率も低かった (メチル化 (+) vs (-): 17.1ヶ月 vs 28.7ヶ月)。PDC 症例における再発・予後因子の単変量・多変量解析では, long-DM および CDH1 プロモーター領域のメチル化は独立した再発規定因子であり (long-DM: Hazard ratio=1.97, 95%CI=1.21-3.22,  $p<0.05$ , CDH1 プロモーター領域メチル化: Hazard ratio=1.75, 95%CI=1.08-2.83,  $p<0.05$ ), 予後規定因子であった (long-DM: Hazard ratio=1.71, 95%CI=1.01-2.90,  $p<0.05$ , CDH1 プロモーター領域メチル化: Hazard ratio=1.80, 95%CI=1.06-3.05,  $p<0.05$ )。

**【結語】**T2D 長期罹患は PDC における予後不良因子であることが明らかになった。その機序に, CDH1 プロモーター領域のメチル化の亢進が考えられた。T2D および CDH1 プロモーター領域のメチル化は, PDC 患者に対する新たな治療標的になりうると考えられた。