

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究 C
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591583
 研究課題名（和文）
 胆道癌における Hedgehog シグナル系の発現解析
 研究課題名（英文）
 The Role of Hedgehog Signaling in the Development of Cholangiocarcinoma

研究代表者 安部哲也 (ABE TETSUYA)
 愛知県がんセンター（研究所）・中央実験部・研究員
 研究者番号：90378092

研究成果の概要：

今回我々は、当教室で症例が豊富な胆道癌で hedgehog シグナル系の発現解析を行い、組織型、分化度、粘液形質による発現の違い、また予後との関連を検討し、hedgehog シグナル系が予後因子とらうるか、また hedgehog 経路阻害剤の治療の対象となりうるかを明らかにすることを目的とした。まずは、胆管癌の cell line を用いて RT-PCR を行った結果、hedgehog 遺伝子の中の IHH (Indian Hedgehog), SHH (Sonic Hedgehog) 及び下流遺伝子の発現を確認した。更に、cell line を用いて細胞免疫染色を行い、IHH, SHH, DHH (Desert Hedgehog) とともに、蛋白レベルにおいても発現があることを確認した。次に hedgehog シグナル経路阻害剤である、シクロパミン (Cyclopamine) を用い、増殖が抑制されることを確認した。また、Cyclopamine 使用后、下流遺伝子の増減を確認するため、real time RT-PCR を用いた結果、主に Gli1, Foxm1 (下流遺伝子) において減少が確認された。これらのことから、胆管癌 cell line において SHH, IHH, DHH が発現しているであろうということが、確認され、Cyclopamine は、胆管癌及び下流遺伝子の経路で発現されるであろうと思われる遺伝子を抑制することがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

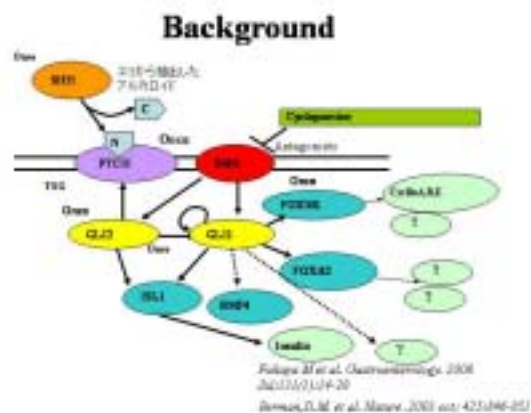
研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：hedgehog、Cyclopamine

1. 研究開始当初の背景

Hedgehog シグナル経路は、胎児期の神経管、肺、皮膚、肋骨、消化管などの器官形成で重要な役割を果たしている。また、成人組織では、胃、大腸、皮膚での分化にも関与している。興味深いことに、近年、髄芽腫、横紋筋肉腫、基底膜細胞癌、肺小細胞癌、膵癌などさまざまな癌で活性化が報告されている (Barman DM et al. Nature 2003 Thayer SP et al. Nature 2003)。またシクロパミン (Cyclopamine) 等経路阻害剤が存在し、治療面でも期待される経路である。我々は胃正常組織、胃癌で Hedgehog シグナル系の発現解析を行い、Hedgehog シグナル系が Diffuse Type 胃癌で特異的に発現しており、Hedgehog 経路阻害剤によってその増殖が抑制されること、また正常胃粘膜では胃腺窩上皮への分化に関与していること、粘液形質の発現に関与していることを明らかにした。(Fukaya M Nimura Y et al. Gastroenterology 2006) 消化器系の癌で、人の臨床検体を使い明確に Hedgehog シグナル系の発現を証明したのは、膵癌と我々が報告した胃癌のみで、胆道癌に関してする報告は皆無である。今回我々は、当教室で症例が豊富な胆道癌で hedgehog シグナル系の発現解析を行い、組織型、分化度、粘液形質による発現の違い、また予後との関連を検討し、hedgehog シグナル系が予後因子とらうるか、また hedgehog 経路阻害剤の治療の対象となりうるかを明らかにする。



2. 研究の方法

胆管癌 celline レベルで、1. RT-PCR 法 2. 細胞免疫染色にて hedgehog シグナル系の発現を確認 3. hedgehog 阻害剤 cyclopamine による hedgehog 経路抑制実験 (セルカウント) 4. リアルタイム RT-PCR 法にて hedgehog 及び下流遺伝子の発現を確認。5. 臨床検体にてヘッジホッグ (IHH) の発現を免疫染色にて確認した。

3. 研究成果

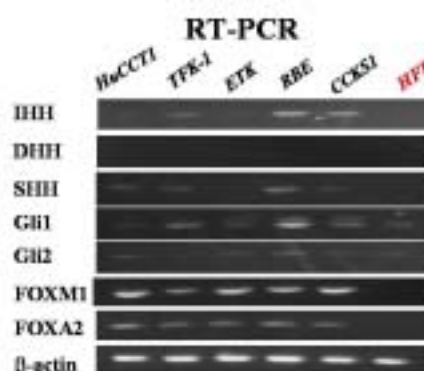


Fig.1
胆管癌細胞株で RT-PCR 法にて Hedgehog 経路の発現を確認した。IHH、

SHH、転写因子である、Gli1、下流遺伝子である、FOXM1、FOXA2の発現を確認した。

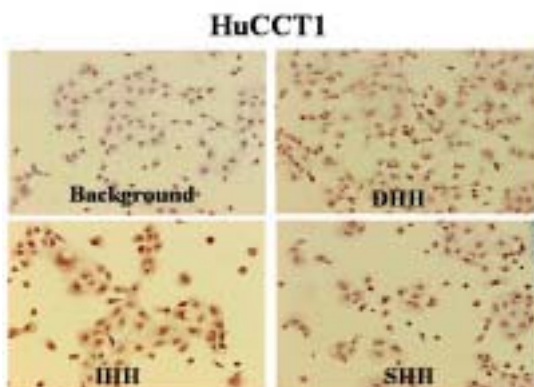


Figure 2
細胞免疫染色を行い、IHH,SHH,DHH(Desert Hedgehog)ともに、蛋白レベルにおいても発現があることを確認した

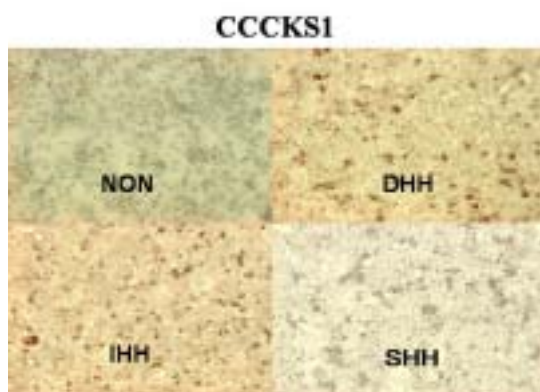


Figure 3
同じく他の胆管癌の cell line を用いても蛋白レベルにおいて発現を確認した。

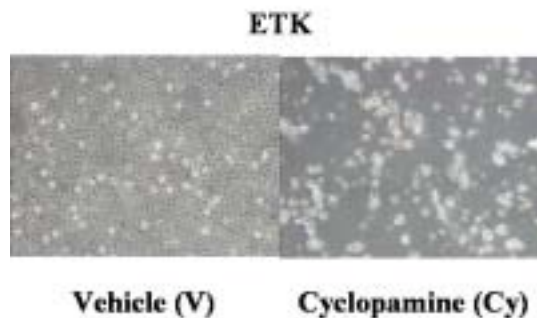


Figure 4
hedgehog シグナル経路阻害剤である、シクロパミン(Cyclopamine)を用い、増殖が抑制されることを確認した。

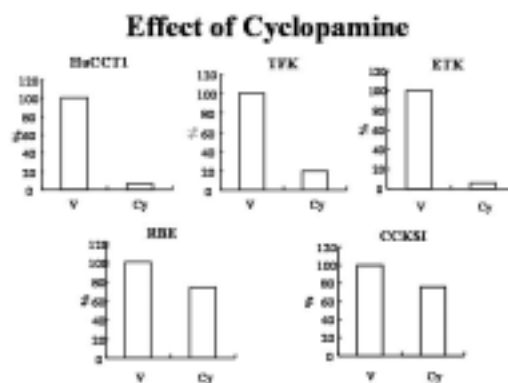


Figure 5
シクロパミンを投与し2日後の細胞数を比較した。胆管癌の cell line で増殖が抑制されることが確認された。

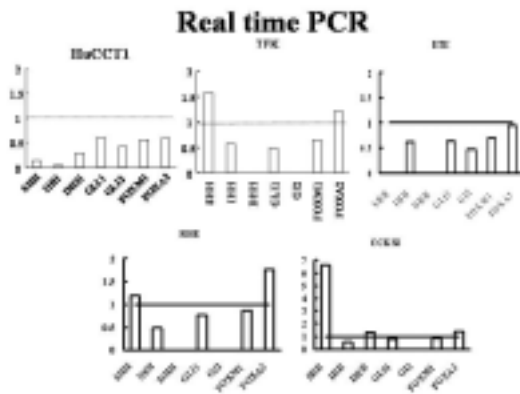


Fig.6

Cyclopamine 使用後、下流遺伝子の増減を確認するため、real time RT-PCR を用いた結果、主に Gli1, Foxm1 (下流遺伝子) において減少が確認された。

以上より hedgehog 経路阻害剤が治療の対象となりうるであろうと、予測された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安部 哲也 (ABE TETSUYA)

愛知県がんセンター (研究所)・中央実験部・研究員

研究者番号：90378092

(2) 研究分担者

横山 幸浩 (YOKOYAMA YUKIHIRO)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80378091

榑野 正人 (NAGINO MASATO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20237564

(3) 連携研究者