

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号 : 2 1 6 0 1

研究種目 : 若手研究

研究期間 : 2019 ~ 2021

課題番号 : 1 9 K 1 7 4 7 0

研究課題名 (和文) MIC-1は胆管癌診療を変えるか ?

研究課題名 (英文) Can MIC-1 improve medical care for biliary tract cancer

研究代表者

杉本 充 (Sugimoto, Mitsuru)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 1 0 7 2 2 4 7 3

交付決定額 (研究期間全体) : (直接経費) 2,100,000 円

研究成果の概要 (和文) : Macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1)はTGF- β スーパーファミリーの一種で胆膵癌で上昇することが報告されているが、主に膵癌で研究が進められてきた。しかし、本研究で我々はMIC-1は胆道癌細胞から分泌されアポトーシスを阻害し、腫瘍の増殖・浸潤を促進することを明らかにした。また、MIC-1を添加された胆道癌細胞株は抗癌剤に抵抗性を示した。さらに血清MIC-1とアポトーシスマーカーM30の組み合わせは早期も含めた胆道癌の良好な診断能を示した。以上より、MIC-1は胆道癌の有用な診断マーカーとなるだけでなく、潜在的な治療ターゲットになり得ると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胆道癌は致死的な疾患であり、有用な診断・予後予測マーカーも存在しない。診断時には切除不能なことも多く、最も効果のみられる化学療法でも生存期間は満足のいく成績ではない。今回の研究結果からMIC-1は胆道癌の早期診断に貢献するものと考えられた。また、MIC-1は腫瘍の進行とも相関しており、予後予測マーカーとしても有用であった。MIC-1は腫瘍増殖を促進していたことから、抗MIC-1抗体などによる胆道癌の治療の発展が期待できる。さらにMIC-1の胆道癌への作用を調べることで、新たな診断マーカー、治療法を作り出すことができる可能性がある。

研究成果の概要 (英文) : Biliary tract cancer (BTC) is a lethal disease; therefore, there is a need for useful biomarkers and treatments. The serum levels of macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1), a member of the TGF- β superfamily, are elevated in pancreaticobiliary cancers. However, the effect of MIC-1 on BTC is unknown. MIC-1 expression was confirmed in BTC tissue specimens and was higher in BTC cells than in normal bile duct epithelial cells, as determined by western blotting and RT-PCR. In cell culture experiments, MIC-1 increased BTC cell proliferation and invasion by preventing apoptosis and inhibited the effect of gemcitabine. In vivo, serum MIC-1 showed a positive correlation with BTC progression and serum M30 levels. The ability to diagnose BTC at an early stage or at all stages was improved by using the combination of MIC-1 and M30. MIC-1 is a useful diagnostic and prognostic biomarker as well as a potential therapeutic target for BTC.

研究分野 : 消化器内科

キーワード : MIC-1 胆道癌 アポトーシス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1 . 研究開始当初の背景

胆道癌は致死的な疾患であり、診断時には広範囲に進展して切除不能・予後不良となる症例が少なくない。切除不能胆道癌の治療としては化学療法が挙げられるが、最も効果的なレジメンでも生存期間中央値は 11-15 か月と満足のいく成績ではない。さらに、胆道癌には特異的な腫瘍マーカーも存在しない。血清 CA19-9 の胆道癌診断の感度は 71-72%であるが、良性の閉塞性黄疸でも上昇することが報告されている。それゆえ、適切な胆道癌の診断・予後予測マーカーが必要とされている。

Macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1)は TGF- β スーパーファミリーの一種であり、各種炎症性疾患、悪性腫瘍において上昇が指摘されている。さらに血清 MIC-1 は膵癌、胆道癌の患者において、他癌や膵胆道良性疾患より上昇することが報告された。しかし、その後は膵癌において主に研究されており、胆道癌における報告はわずかに散見されるのみである。既報にて胆汁中 MIC-1 が早期胆道癌診断に有用であることが報告されているが、胆汁を採取する手技は侵襲的であるという弱点がある。このことからより身体に負担のない診断方法が望まれる。

また、MIC-1 の効果は各腫瘍によって異なり、胆道癌においては癌を促進するのか、妨げるのかは明らかにはなっていない。

2 . 研究の目的

今回、我々は MIC-1 の胆道癌に対する効果を検証し、MIC-1 が胆道癌のバイオマーカー、治療対象となりうるかを明らかにすることを目的とした。

3 . 研究の方法

MIC-1 の胆道癌における発現を、切除組織標本の免疫染色、胆道癌細胞株 2 種 (HuCCT-1、TFK-1) と正常胆管上皮細胞株 (MMNK-1) を用いて Western blot (WB) reverse transcription PCR (RT-PCR) にて検証した。また、胆道癌細胞における MIC-1 の分泌能を調べるため、上記細胞株の培養上清中の MIC-1 を ELISA にて測定した。また、MIC-1 の胆道癌細胞への効果を検証するため、HuCCT-1 と TFK-1 に MIC-1 を添加し、細胞増殖アッセイ、細胞浸潤アッセイ、カスパーゼ 3/7 アッセイ、抗がん剤感受性アッセイを行った。抗がん剤はゲムシタピンを用いた。In vivo study では、胆道癌診断における MIC-1 の有用性を調べるため、胆道癌症例(n = 56)と良性胆膵疾患症例(n = 62)で血清 MIC-1 を ELISA にて測定した。また、同臨床検体で MIC-1 と癌のアポトーシスの関係をみるため血清アポトーシスマーカーも測定した。血清のアポトーシスマーカーとして M30 を ELISA で測定した。

4 . 研究成果

胆道癌の手術標本において胆道癌細胞と正常胆管上皮細胞で MIC-1 の発現がみられた。WB と RT-PCR では、胆道癌細胞株 (HuCCT-1、TFK-1) では正常胆管上皮細胞 MMNK-1 と比較して強く発現していた。また、細胞株培養上清中の MIC-1 は MMNK-1 と比較して HuCCT-1、TFK-1 で有意に上昇していた。MMNK-1 ではほぼ細胞株培養上清中への MIC-1 の分泌は認められなかった。

HuCCT-1,TFK-1 を用いた各種アッセイでは、MIC-1 添加により細胞増殖・

浸潤は促進され、アポトーシスは抑制されていた。また、MIC-1 を添加することによりゲムシタビンに対する感受性は低下していた。

In vivo study では、血清 MIC-1 は Stage の進行と有意に正の相関がみられた。また、MIC-1 は血清アポトーシスマーカーM30 とも有意に正の相関を示した。血清 MIC-1 と M30 の組み合わせは胆道癌診断に有用であり（Area under the curve（AUC）0.813，感度 80.0%，特異度 74.4%）悪性診断能は胆汁細胞診、胆汁細胞診とブラシ細胞診の組み合わせと比較しても有意に高値であった（MIC-1+M30: 77.6% vs 胆汁細胞診 43.9%, $P < 0.01$; MIC-1+M30: 77.6% vs 胆汁細胞診+ブラシ細胞診 49.3%, $P < 0.01$ ）。また、早期胆道癌（UICC stage I/II）診断においても、血清 MIC-1 と M30 の組み合わせは有用であった（AUC 0.743，感度 72.4%，特異度 72.1%）。

以上の結果から MIC-1 は胆道癌細胞から分泌され、アポトーシスを抑制して腫瘍増殖・浸潤を促進していると考えられた。胆道癌症例の切除標本における免疫染色では正常胆管細胞上皮でも発現がみられたが、WB、RT-PCR で正常胆管細胞でも発現がみられたため矛盾しないものと考えられる。正常胆道上皮細胞ではある程度発現しているものの、培養上清中への分泌はみられなかった。

細胞実験では MIC-1 はアポトーシスを抑制していたが、臨床検体の血清では MIC-1 とアポトーシスマーカーM30 は正の相関を示す逆の結果となった。過去の報告では血清 M30 は腫瘍の増大に伴い上昇することが示されている。本研究においては MIC-1 により腫瘍が増大し、結果としてアポトーシスする腫瘍細胞量が増え血清 M30 の上昇につながったものと思われた。

結論として、MIC-1 は胆道癌の診断・予後予測マーカーとして有用であった。また、MIC-1 は胆道癌における潜在的な治療ターゲットになり得ると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------