

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590582

研究課題名（和文）胆嚢がん最多発国チリにおける本症発生に関わる遺伝的感受性の解析

研究課題名（英文）Genetic susceptibility to gallbladder cancer in Chilean people

研究代表者

土屋 康雄（TSUCHIYA YASUO）

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：60334679

研究成果の概要：チリにおける胆嚢がんの発生に関わる遺伝的感受性の検討を病院ベース症例対照研究（コントロール群 99 名、患者群：胆石症患者 144 名、胆嚢がん患者 65 名）を用いて行った。胆石形成、カプサイシン代謝、及び薬物代謝酵素などに関する遺伝子多型の頻度分析を行った結果、チリ女性では、アポ蛋白 B の変異 T/T 型（ $P = 0.010$, OR: 0.14, 95% CI: 0.03-0.63）とコレステロールエステル輸送タンパク質の変異 T/T 型（ $P = 0.012$, OR: 5.04, 95% CI: 1.43-17.8）の存在が胆嚢がん発生と関係していることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：チリ、胆嚢がん、遺伝要因、胆石形成、カプサイシン代謝

1. 研究開始当初の背景

胆嚢がん最多発国である南米チリにおける胆嚢がんのリスクファクタに関する疫学的研究で、胆石症に加えて赤唐辛子の摂取頻度が本症発生に関連することを明らかにした。しかし、その基本的メカニズムについては明確な結論を得るまでに至っておらず、今後の課題として残されている。

チリにおける胆嚢がんの発生頻度は 10 万人当たり 12 (12/100,000) であり、一般成人における胆石症の頻度 (28.5%) に比べて極めて低いことから、これらの環境要因に加えて遺伝要因が胆嚢がん発生のリスクを上昇

させている可能性がある。しかし、チリにおける環境要因に対する遺伝要因の検討はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

チリ胆嚢がんの発生における環境－遺伝相互作用を明らかにするため、胆石形成、及び唐辛子の辛味成分であるカプサイシンの代謝に関する遺伝子変異の頻度を調べ、胆嚢がん発生リスクとの関連を明らかにすること。さらに、日本とハンガリーで検討された薬物代謝酵素、細胞周期の制御に関する遺伝子変異との関係を明らかにすること。

3. 研究の方法

研究デザインは、病院ベース症例対照研究である。

コントロール群として胆石と癌非保有の下肢静脈瘤、あるいはヘルニア患者 99 名(男性 28 名、女性 70 名)を、患者群として胆石症患者 144 名(男性 25 名、女性 119 名)と胆嚢がん患者 65 名(男性 8 名、女性 57 名)を対象者とした。いずれもチリの Sotero del Rio 病院を受診した患者である

男女の胆嚢がん患者群の平均年齢(男性 61.13 ± 9.92, 女性 56.47 ± 11.16)はコントロール群(男性 42.79 ± 14.56, 女性 45.77 ± 14.06)、及び胆石症患者群(男性 44.68 ± 12.08, 女性 42.45 ± 8.84)に比べ有意に高かったため、年齢調整した後に 3 群間の比較を行い、オッズ比(OR)と 95%信頼区間(95% CI)を求めた。

対象者の DNA は血液あるいはパラフィンブロック標本から市販の DNA 抽出キットを用いて抽出した。

遺伝子多型の検討は以下に示す 12 種、計 16 の SNP について行った。主に用いた方法は TaqMan SNP Genotyping Assay であるが、low density lipoprotein receptor-related protein associated protein 1 (LRPAP1)、glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1)、glutathione S-transferase theta 1 (GSTT1) については allele-specific PCR 法を用いた。

(1) 胆石形成に関する遺伝子

- ① アポリポ蛋白 B (Apo B, rs693)
- ② アポリポ蛋白 E (rs429358, rs7412)
- ③ コレステロールエステルの輸送タンパク質 (CETP, rs708272)
- ④ LRPAP1 (rs1799749)

(2) カプサイシン代謝に関する遺伝子

- ① CYP2E1 (rs2031920, rs6413432)
- ② CYP2C9 (rs1799853, rs1057910)
- ③ CYP3A4 (rs12721627)

(3) 薬物代謝酵素、細胞周期の制御に関する遺伝子

- ① CYP1A1 (rs4646903, rs1048943)
- ② CYP1A2 (rs762551)
- ③ TP53 (rs1042522)
- ④ GSTM1
- ⑤ GSTT1

4. 研究成果

(1) 胆石形成に関する遺伝子

① Apo B (rs693)

女性胆嚢がん患者群の Apo B の変異 T/T 型の頻度 (3/57) はコントロール群 (14/70) に比べ有意に低かった (P = 0.010, OR: 0.14, 95% CI: 0.03-0.63)。さらに、男女合計でも Apo B の変異 T/T 型の頻度 (6/65) はコントロール群 (19/98) に比べ有意に低かった (P = 0.030, OR: 0.28, 95% CI: 0.09-0.88)。

女性のコントロール群と胆石症患者群間、及び胆石症患者群と胆嚢がん患者群間、ならびに男性の 3 群間には有意差は認められなかった。

胆嚢がん発生に Apo B の変異 T/T 型が関与しているという結果は、インド人を対象として行われた症例対照研究 (Singh MK et al. Hum Genet, 2004) でも得られており、チリ人女性でも同様の結果が得られた。Apo B の T/T 型の存在は胆嚢がんのリスクを低くしていることが示唆された。

遺伝子型	コントロール群 n (%)	胆石症患者群 n (%)	胆嚢癌患者群 n (%)
男性			
C/C	11 (39.3)	10 (40.0)	2 (25.0)
C/T	12 (42.9)	13 (52.0)	3 (37.5)
T/T	5 (17.8)	2 (8.0)	3 (37.5)
C/T + T/T	17 (60.7)	15 (60.0)	6 (75.0)
女性			
C/C	25 (35.7)	41 (34.5)	30 (52.6)
C/T	31 (44.3)	65 (54.6)	24 (42.1)
T/T	14 (20.0)	13 (10.9)	3 (5.3)
C/T + T/T	45 (65.3)	78 (65.5)	27 (47.4)

② CETP (rs708272)

女性胆嚢がん患者群の CETP の変異 T/T 型の頻度 (18/57) は胆石症患者群 (20/119) に比べ有意に高かった (P = 0.012, OR: 5.04, 95% CI: 1.43-17.8)。

しかし、女性のコントロール群と胆石症患者群間、及びコントロール群と胆嚢がん患者群間、ならびに男性の 3 群間には有意な差は認められなかった。

胆嚢がん発生に CETP の変異 T/T 型が関与しているという結果は、調べた限りにおいては認められず、チリ女性を対象とした本結果が世界初であると思われる。チリ女性では T/T 型の存在が胆嚢がんのリスクを 5 倍高くと考えられた。

遺伝子型	コントロール群 n (%)	胆石症患者群 n (%)	胆嚢癌患者群 n (%)
男性			
C/C	5 (17.9)	9 (36.0)	4 (50.0)
C/T	20 (71.4)	11 (44.0)	2 (25.0)
T/T	3 (10.7)	5 (20.0)	2 (25.0)
C/T + T/T	23 (82.1)	16 (64.0)	4 (50.0)
女性			
C/C	18 (25.7)	42 (35.3)	16 (28.1)
C/T	40 (57.2)	57 (47.9)	23 (40.3)
T/T	12 (17.1)	20 (16.8)	18 (31.6)
C/T + T/T	42 (74.3)	77 (64.7)	41 (71.9)

(2) カプサイシン代謝に関する遺伝子

男女ともコントロール群と患者群の 3 群間にはいずれの遺伝子多型の頻度にも有意差は認められなかった。

唐辛子の辛味成分であるカプサイシンには変異原性有りとする報告と無しとする報告があり、一定の見解が得られていない。

今回検討したカプサイシン代謝に関する遺伝子多型の頻度には 3 群間に有意な差が認められなかったことから、カプサイシン以外の物質、たとえば唐辛子に付着しているア

ラトキシンなどのカビ毒なども本症発生と関係している可能性が示唆された。

従って、今後、検討した以外のカプサイシン代謝に関する遺伝子変異やアフラトキシン代謝に関する遺伝子変異の検討も必要であると考えられた。

(3) 薬物代謝酵素、細胞周期の制御に関する遺伝子

① CYP1A1 (rs4646903)

男性の胆嚢がん患者群の CYP1A1 rs4646903 の C/T 型の頻度 (1/8) は胆石症患者群の頻度 (13/25) に比べ有意に低かった ($P = 0.040$, OR: 0.02, 95% CI: 0.001-0.84)。さらに、男性胆嚢がん患者群の C/T + C/C 型の頻度 (3/8) は胆石症患者群の頻度 (20/25) に比べ有意に低かった ($P = 0.030$, OR: 0.04, 95% CI: 0.002-0.74)。

しかし、男性のコントロール群と胆石症患者群間、及びコントロール群と胆嚢がん患者群間、ならびに女性の 3 群間には有意差は認められなかった。

今回の検討では、男性の例数がいずれの群においても少なかつたことからこれらの差についてはさらに例数を増やして検証する必要があると考えられた。

遺伝子型	コントロール群 n (%)	胆石症患者群 n (%)	胆嚢癌患者群 n (%)
男性			
T/T	12 (42.9)	5 (20.0)	5 (62.5)
C/T	12 (42.9)	13 (52.0)	1 (12.5)
C/C	4 (14.2)	7 (28.0)	2 (25.0)
C/T + C/C	16 (57.1)	20 (80.0)	3 (37.5)
女性			
T/T	20 (28.6)	45 (37.8)	22 (38.6)
C/T	34 (48.6)	55 (46.2)	22 (38.6)
C/C	16 (22.8)	19 (16.0)	13 (22.8)
C/T + C/C	50 (71.4)	74 (62.2)	35 (61.4)

② CYP1A1 (rs1048943)

男性の胆嚢がん患者群の CYP1A1 rs1048943 の A/G + G/G 型の頻度 (3/8) は胆石症患者群の頻度 (19/25) に比べ有意に低かった ($P = 0.040$, OR: 0.05, 95% CI: 0.003-0.87)。一方、胆石症患者群の変異 G/G 型の頻度 (8/25) はコントロール群の頻度 (3/28) に比べ有意に高かった ($P = 0.020$, OR: 7.29, 95% CI: 1.36-39.1)。さらに、胆石症患者群の A/G + G/G 型の頻度 (19/25) はコントロール群の頻度 (13/28) に比べ有意に高かった ($P = 0.028$, OR: 3.81, 95% CI: 1.15-12.6)。

しかし、男性のコントロール群と胆嚢がん患者群間、ならびに女性の 3 群間には有意差は認められなかった。

日本とハンガリーの女性では胆嚢がん患者群の A/G 型の頻度はコントロール群に比べ有意に高かったが、チリ女性では有意差は認められなかった。この差は胆嚢がん発生に関わる環境要因の違い (日本: 農薬などの環

境汚染化学物質、チリ: 唐辛子摂取) で説明できると考えられた。

遺伝子型	コントロール群 n (%)	胆石症患者群 n (%)	胆嚢癌患者群 n (%)
男性			
A/A	15 (53.6)	6 (24.0)	5 (62.5)
A/G	10 (35.7)	11 (44.0)	1 (12.5)
G/G	3 (10.7)	8 (32.0)	2 (25.0)
A/G + G/G	13 (46.4)	19 (76.0)	3 (37.5)
女性			
A/A	24 (34.3)	52 (43.7)	28 (49.1)
A/G	32 (45.7)	51 (42.9)	21 (36.9)
G/G	14 (20.0)	16 (13.4)	8 (14.0)
A/G + G/G	46 (65.7)	67 (56.3)	29 (50.9)

(4) 以上の結果をまとめると、

- ・チリ女性の胆嚢がん発生には、Apo B の変異 T/T 型と CETP の変異 T/T 型の存在が関係していることが示唆された。
- ・チリ男性では CYP1A1 rs4646903 と rs1048943 の変異型の存在は胆嚢がん発生に予防的に作用していると考えられたがさらに例数を増やした検討が必要である。
- ・検討したカプサイシン代謝に関する遺伝子多型の頻度には男女とも 3 群間で有意な差は認められなかった。

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 2 件)

- ① Kimura A, Tsuchiya Y, Lang I, Zoltan S, Nakadaira H, Ajioka Y, Kiyohara C, Oyama M, Nakamura K, Yamamoto M. Effect of genetic predisposition on the risk of gallbladder cancer in Hungary. Asian Pacific J Cancer Prev, 9, 391-396, 2008, 査読有。
- ② Tsuchiya Y, Kiyohara C, Sato T, Nakamura K, Kimura A, Yamamoto M. Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferase class mu, and tumor protein p53 genes and the risk of developing gallbladder cancer in Japanese. Clin Biochem, 40, 881-886, 2007, 査読有。

[学会発表] (計 3 件)

- ① (Tsuchiya Y), Calvo A, Baez S, Pruyas M, Nakamura K, Yamamoto M, Genetic polymorphisms of CYP1A1, GSTM1, and TP53 and gallbladder cancer risk in Chilean people, XXXI Congreso Panamericano de Gastroenterologia, 2008 年 11 月 13 日, Santiago, Chile.

② (Shibuya N), Kasahara S, Baez S, Calvo A, Tsuchiya Y, Yamamoto M, Mutagenicity of red chili pepper as a risk factor for gallbladder cancer in Chile, XXXI Congreso Panamericano de Gastroenterologia, 2008年11月13日, Santiago, Chile.

③ (Serra I), Tsuchiya Y, Garcia-Larsen V, Yamamoto M, Villegas R, Diet and biliary free fatty acids in Chilean patients with gallstones, XXXI Congreso Panamericano de Gastroenterologia, 2008年11月13日, Santiago, Chile.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.niigata-u.ac.jp/hyg/hygiene.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土屋 康雄 (TSUCHIYA YASUO)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：60334679

(2) 研究分担者

山本 正治 (YAMAMOTO MASAHARU)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：40018693

中村 和利 (NAKAMURA KAZUTOSHI)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：70207869

(3) 研究協力者

Alfonso Calvo

チリ Sotero del Rio 病院・内視鏡医

Sergio Baez

チリ Sotero del Rio 病院・外科医

Martha Pruyas

チリ Sotero del Rio 病院・病理医