

令和 3 年 10 月 20 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08716

研究課題名（和文）若年胆管細胞癌の遺伝的な発症リスクの検証

研究課題名（英文）Genetic risk verification of juvenile-onset cholangiocarcinoma

研究代表者

川村 悦史（Kawamura, Etsushi）

大阪市立大学・大学院医学研究科・登録医

研究者番号：60419710

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、印刷労働者に発症した胆管癌の術後検体を使い、マイクロアレイ法により発癌に関わる5種の癌関連遺伝子を抽出した。我々はこの中からSKIという遺伝子に注目した。ヒト胆管癌細胞株を使った解析において、SKIが細胞周期およびMAPK経路のタンパク発現（p21、p27、リン酸化ERK1/2）および細胞増殖の制御に関与するという結果が得られた。これらはSKIと胆管癌細胞の増殖の関係を世界で初めて示したものである。我々は本成果を胆管癌における診断マーカー及び核酸医薬品の開発基盤となる様に発展させるべく、研究を続けている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

平成25年3月、大阪市で校正印刷に用いられた有機溶剤1, 2-ジクロロプロパンは胆管癌最大のリスク因子として労災認定された。この物質は大気中や公共水域にも含まれ発癌リスク集団は想定以上である。労災請求数は大阪市が最多である。我々は地元大学の取組みとして、印刷所労働者の胆管癌切除検体から癌抑制遺伝子SKIを抽出し、その癌抑制能を突き止めた。さらに、SKIの持つ胆管癌抑制機序の鍵となるDNA配列の探索をしている。我々の取組みは、消化器癌の中で難治性とされる胆管癌の研究において疫学的かつ分子生物学的に意義があるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Using postoperative cholangiocarcinoma specimens from printing workers, we extracted five genes involved in carcinogenesis by microarray analysis. We focused on the tumor suppressor gene SKI, and found that SKI is involved in the regulation of protein expressions related to cell cycle and MAPK pathway (p21, p27, and phosphorylated ERK1/2) in the proliferation of human cholangiocarcinoma cells. This is the first time that the relationship between SKI and cholangiocarcinoma cell proliferation has been demonstrated. We are continuing our research to develop these results as a basis for the development of diagnostic markers and nucleic acid drugs for cholangiocarcinoma.

研究分野：肝臓病学

キーワード：胆管癌 印刷所労働者 有機溶剤 癌抑制遺伝子 mRNA microRNA SKI p21

1. 研究開始当初の背景

平成25年3月、校正印刷に用いる塩素系溶剤(1, 2-ジクロロプロパン)は胆管癌最大のリスク因子とし労災認定された(図1)。この物質は、大気中や公共水域にも含まれ、発癌リスクの高い集団は想定以上である。労災請求数は我々の地元・大阪市が最多であり、我々はハイリスク者の胆管癌診療に従事してきたが発癌機序に不明な点が多い。胆管上皮細胞で起こる発癌プロセスの分子機構まで追求している研究は少ない。我々は、厚生労働省「職業性胆管癌に対する総合的診断法の確立」研究班員としてリスク因子の解析および胆管癌の診断マーカー探索(Sci Rep. 2015)を行ってきた。



図1 平成25年3月28日
南日本新聞・改

2. 研究の目的

前述の印刷事業所の同じ労働条件で胆管癌未発症例もあり、我々は、この個人差は遺伝的要因によるという仮説を立てた。本研究は、胆管癌発症に関わる遺伝子探索と発症の分子機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

我々は平成27-30年度科研費(No. 15K08716)により印刷労働者胆管癌症例を含む術後検体24例を使ったマイクロアレイ解析、主成分解析、microRNAデータベース検索を経て、既報のないmicroRNAとこれらが制御する癌遺伝子mRNAを探索した。我々は、さらに米国立生物工学情報センターのデータベースを使い、抽出した癌関連遺伝子の機能を検索した。

4. 研究成果

我々は胆管癌発症に関わると考えられるmicroRNA 20種とこれらと密接な制御関係にある5種のkey遺伝子mRNA(癌抑制遺伝子SKI含む)を抽出した。塩素系溶剤の吸引曝露時の代謝酵素をコードするCYP2E1 mRNAおよびGSTT1 mRNAは含まれなかった。我々はヒト胆管癌細胞株OZにおける図2の様な細胞数測定結果を得た(CCK8アッセイ)。(a)機能欠損型SKI遺伝子(siSKI)を導入すると3日目、5日目と増殖、(b)SKI-flag遺伝子(SKI)を導入すると1日目、2日目と増殖抑制がみられた。図3は、

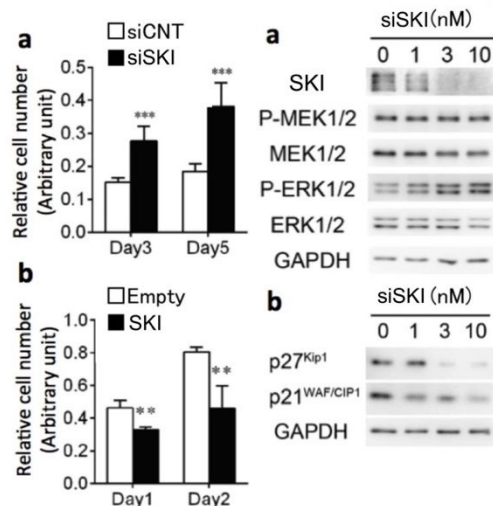


図2

図3

CNT、GAPDH: 対照
***、**: t検定にて有意差あり

siSKIを導入したOZ株において細胞増殖関連タンパクの発現（MAPK経路および細胞周期）を解析したものあり、(a)ERK1/2のリン酸化(MAPK経路)の促進、(b)p21^{WAF/CIP1}およびp27^{kip1}発現(細胞周期)の抑制がみられた。図2~3はヒト胆管癌細胞の増殖を抑制する機能を持つ遺伝子(SKI)を特定し、その機序に細胞周期、MAPK経路が関与する可能性を示したものである。現在、我々はSKIの持つ胆管癌抑制機序の鍵となるDNA配列を特定する為に、SKI mRNAの翻訳を阻害する複数の小分子核酸microRNAの探索をしている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計2件）

①久保正二、河田則文、村上善基、川村悦史他、検診結果、職業性胆管癌の特徴と胆管癌の危険因子.労災疾病臨床研究事業費補助金 平成28年度 総括・分担研究報告書、査読無、2017、pp17-24.

②Murakami Y, Kubo S, Kawada N, Kawamura E, et al. Comprehensive analysis of transcriptome and metabolome analysis in Intrahepatic Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma, Scientific Reports, 査読有, 2015, 5, <https://www.nature.com/articles/srep16294>.

〔学会発表〕（計0件）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：胆道癌又は膵癌治療剤

発明者：川村 悦史、松原 勤、河田 則文、池田 一雄

権利者：公立大学法人大阪

種類：特許願

番号：特願No. 2019-207404号

出願年：2019

国内外の別：国内

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：河田 則文

ローマ字氏名：(KAWADA, Norifumi)

所属研究機関名：大阪市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：30271191

研究分担者氏名：久保 正二

ローマ字氏名：(KUBO, Shoji)

所属研究機関名：大阪市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：80221224

研究分担者氏名：村上 善基

ローマ字氏名：(MURAKAMI, Yoshiki)

所属研究機関名：大阪市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：00397556

(2)研究協力者

研究協力者氏名：池田 一雄

ローマ字氏名：(IKEDA, Kazuo)

研究協力者氏名：田守 昭博

ローマ字氏名：(TAMORI, Akihiro)

研究協力者氏名：松原 勤

ローマ字氏名： (MATSUBARA, Tsutomu)

研究協力者氏名：竹村茂一

ローマ字氏名： (TAKEMURA, Shigekazu)

研究協力者氏名： 祝迫恵子

ローマ字氏名: (IWAISAKO, Keiko)

研究協力者氏名：田中肖吾

ローマ字氏名： (TANAKA, Shogo)

研究協力者氏名：木下正彦

ローマ字氏名： (KINOSHITA, Masahiko)

研究協力者氏名：伊藤 得路

ローマ字氏名： (ITO, Tokuji)

研究協力者氏名：大黒 敦子

ローマ字氏名： (DAIKOKU, Atsuko)

研究協力者氏名：小田桐 直志

ローマ字氏名： (ODAGIRI Naoshi)

研究協力者氏名：高田 さゆり

ローマ字氏名: (TAKADA, Sayuri)

研究協力者氏名：樋口 萌

ローマ字氏名： (HIGUCHI, Moe)

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、研究者個人に帰属されます。