

令和元年6月10日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10609

研究課題名(和文)胆道癌・肝内胆管癌・膵癌におけるsynuclein gamma発現の意義

研究課題名(英文) Gamma-Synuclein serves as a novel prognostic factor of extrahepatic and intrahepatic cholangiocarcinoma via promoting cell migration.

研究代表者

日比 泰造(Hibi, Taizo)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・共同研究員

研究者番号：10338072

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)：2001年から2016年に慶應義塾大学病院にて根治的切除した肝内胆管癌(51例)、肝外胆管癌(98例)計149例のパラフィン切片から免疫染色によりSNCGの発現を調査し、SNCGの発現は32例(21%)に認められた。臨床病理学的因子との検討では神経浸潤とは有意な関連はなく、SNCG陽性群はSNCG陰性群よりも低分化と関連していた。それらは肝内胆管癌、肝外胆管癌においても同様の結果であった。SNCG陽性例は多変量解析にて予後不良因子として同定された。胆管癌細胞株17種類のうちSNCG発現をしていた3発現株を同定し、siRNAでノックダウンし、遊走能を調べたところsiRNAにより抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

道癌は膵癌と同様に予後不良な癌種であり、神経浸潤の頻度も高いがその浸潤、転移機構とSNCGの関連については知られていない。SNCGは新規抗がん剤のターゲットや抗がん剤抵抗性との関連も報告されており、胆道癌におけるSNCGの機能解析により新規抗がん剤開発や治療成績の向上、新規バイオマーカーとなりうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Methods: One hundred and forty nine cases of extra hepatic cholangiocarcinoma (ECC) and intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) were divided immunohistochemically into SNCG positive and negative groups. Clinicopathological factors and outcomes were compared between the groups. We selected BTC cell lines with SNCG overexpression from 17 BTC cell lines and examined the association between SNCG and cell proliferation or migration. Results: SNCG expression was observed in 32 (21.4%) cases and correlated with poorer differentiation ( $P = 0.001$ ) and lymph node metastases ( $P = 0.001$ ). Multivariate analyses revealed SNCG expression as an independent poor prognostic factor of overall survival ( $P = 0.008$ ) and recurrence-free survival ( $P = 0.006$ ). In vitro assays demonstrated SNCG silencing suppressed cell migration significantly and a part of cell proliferation.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：胆管癌 Synuclein

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

我々は慶應義塾大学医学部病理学教室坂元研究室との共同研究においてマウスを用いた神経浸潤モデルを作成することに成功した。(Koide N et al. Clin Cancer Res 2006; 12:2419-26) その後のプロテオーム解析により Synuclein-gamma (SNCG)が過剰発現していることが分かり、さらに我々は膵癌のヒト検体において高発現群が予後不良であり、さらに神経浸潤に関わることを認め、マウスモデルでも神経浸潤に関連することを報告してきた。(Hibi T et al. Clin Cancer Res 2009; 15:2865-71)

一方、胆道癌は膵癌と同様に予後不良な癌種であり、神経浸潤の頻度も高いがその浸潤、転移機構と SNCG の関連については知られていない。SNCG は新規抗がん剤のターゲットや抗がん剤抵抗性との関連も報告されており、胆道癌における SNCG の機能解析により新規抗がん剤開発や治療成績の向上、新規バイオマーカーとなりうると考えられる。

## 2. 研究の目的

- (1) 胆道癌における SNCG の発現と臨床病理学的因子との関連、予後への影響を解析する。
- (2) 胆道癌の細胞株を用いて SNCG の機能解析を行う。

## 3. 研究の方法

- (1) 2001 年から 2016 年において慶應義塾大学病院にて根治的に切除した肝内胆管癌(51 例)、肝外胆管癌(98 例)計 149 例の検体から作成したパラフィン切片を免疫染色により SNCG (1H10D2; Santacruz Biotechnology) の発現を調査し、臨床病理学的因子と予後の関連を調査した。
- (2) 共同研究者である慶應義塾大学医学部病理学教室 尾島英知らが保有する胆管癌細胞株 17 種類を用いて、免疫染色および quantitative RT-PCR により発現株を同定した。
- (3) (2)にて同定した発現株を siRNA を用いてノックダウンし、細胞浸潤、細胞増殖と SNCG の関連を調査した。

## 4. 研究成果

(1) において SNCG の発現は 32 例(21%)に認めた。(Figure 1) 臨床病理学的因子との検討では神経浸潤とは明らかな関連はなく、SNCG 陽性群は SNCG 陰性群よりも低分化であることと関連していることがわかった。それらは肝内胆管癌、肝外胆管癌においても同様の結果であった。

さらに SNCG 陽性例は非常に予後不良であり (Figure 2), 多変量解析においても強力な予後規定因子として同定された。[全生存期間(odds ratio, 2.4; 95% CI, 1.2- 4.3;  $P = 0.008$ ) and 無再発生存期間 (odds ratio, 2.3; 95% CI, 1.3- 3.9;  $P = 0.008$ ).]

(2) 胆道癌細胞株のうち NCC-BD1, NCC-BD3, NCC-CC6-1 において SNCG が高発現していることがわかった。

(3) 上記 SNCG 高発現 3 細胞株を利用し、siRNA によりノックダウンできることを確認した (Figure 3)

細胞増殖試験では NCC-CC6-1 で細胞増殖が抑制されたが、残りの 2 細胞では有意差を認めなかった。細胞遊走能を Wound healing assay で調べたところ NCC-BD1, NCC-CC6-1 において遊走能が siRNA により抑制されることがわかった。(Figure 4)

Figure 1 陽性例 (A, B 肝外胆管癌, C, D 肝内胆管癌)

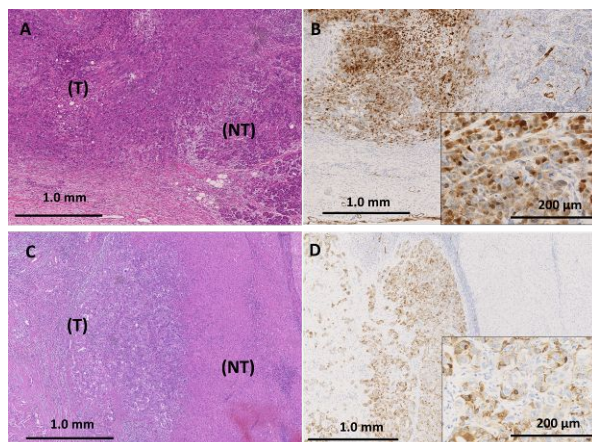


Figure 2 Kaplan Meyer 曲線

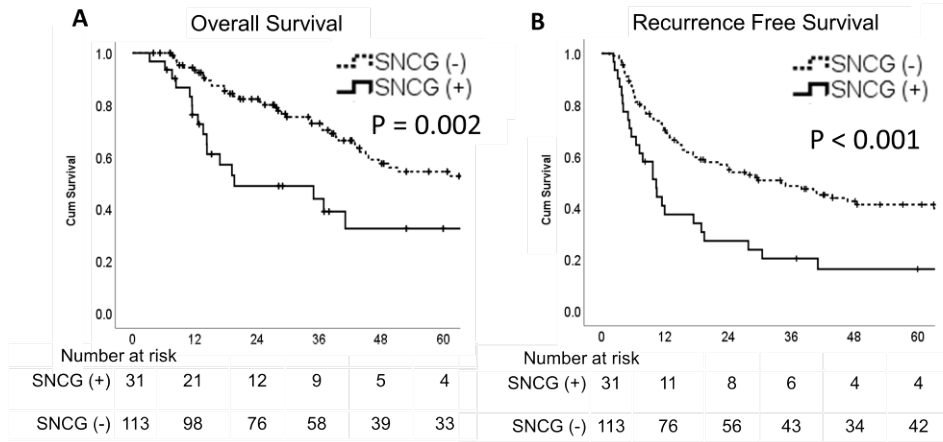


Figure 3 *In vitro* assay Western blotting

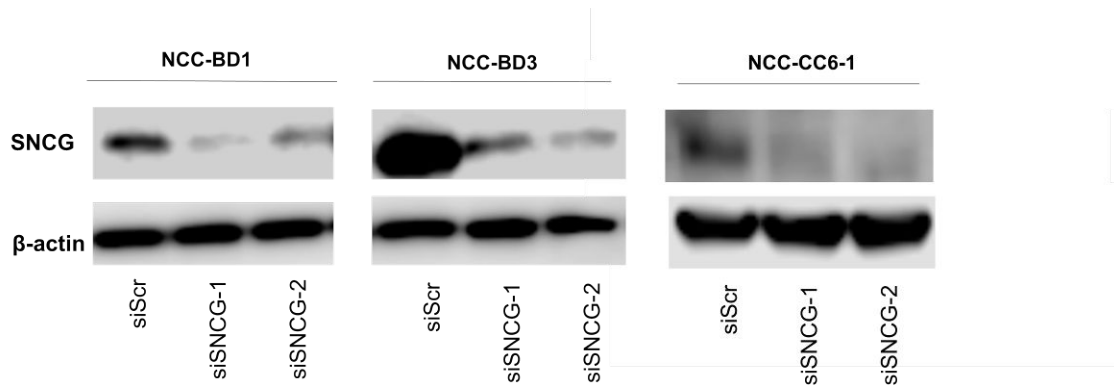
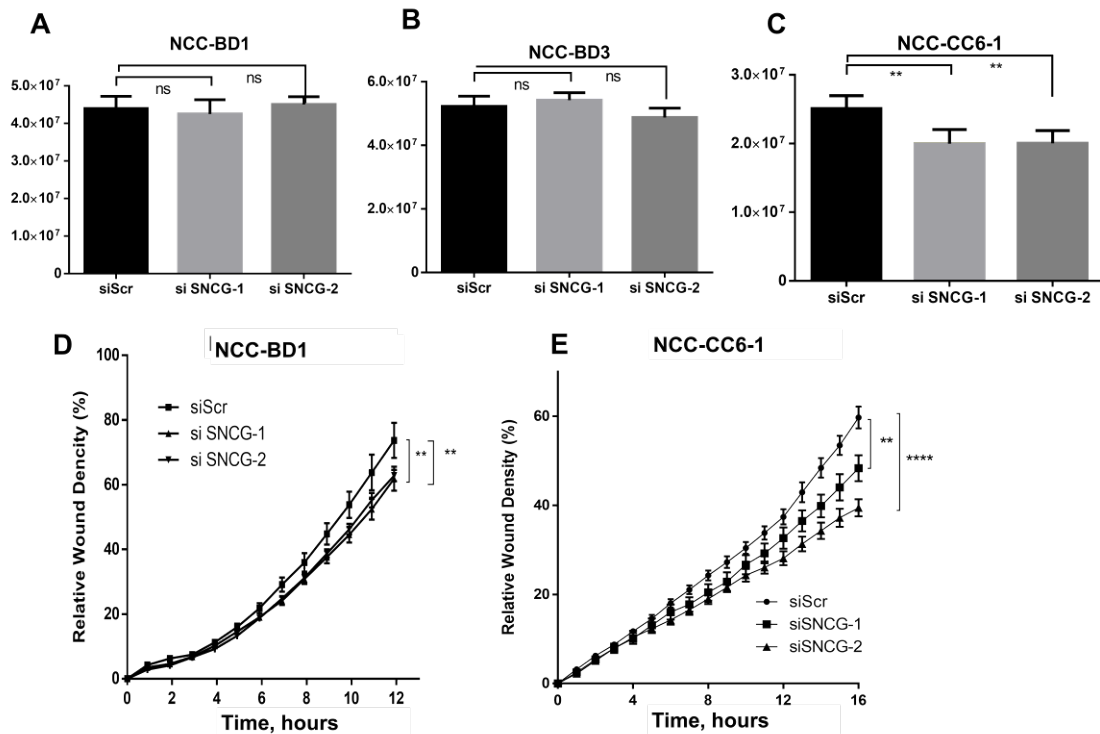


Figure 4 細胞増殖試験/ 細胞遊走試験



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1. Hibi T, Sapisochin G. What is transplant oncology? Surgery. 2019;165:281-285. 査読：有
2. Hibi T, Itano O, Shinoda M, Kitagawa Y. Liver transplantation for hepatobiliary malignancies: a new era of "Transplant Oncology" has begun. Surg Today. 2017;47:403-415. 査読：有

〔学会発表〕(計4件)

1. Hibi T. Role of lymph node dissection for intrahepatic cholangiocarcinoma, 2017 Gastrointestinal Cancers Symposium (国際学会)
2. 竹村裕介、日比泰造、北川雄光. 肝内胆管癌の局在とリンパ節転移様式に基づいた郭清意義：リンパ節コンパートメント分類の導入. 2017年 日本外科学会学術集会
3. Yusuke Takemura, Taizo Hibi, Yuko Kitagawa. Patterns of lymph node metastases in intrahepatic cholangiocarcinoma. 2017 Asian pacific hepato-pancreas biliary association conference (国際学会)
4. 竹村裕介、日比泰造、北川雄光. Clinical implication of compartment classification for perihilar Intrahepatic cholangiocarcinoma. 2017年 日本消化器外科学会総会

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

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：

該当なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：尾島 英知  
ローマ字氏名：OJIMA, Hidenori

研究協力者氏名：竹村 裕介  
ローマ字氏名：TAKEMURA, Yusuke

研究協力者氏名：大島 剛  
ローマ字氏名：OSHIMA, Go

研究協力者氏名：北郷 実  
ローマ字氏名：KITAGO, Minoru

研究協力者氏名：阿部 雄太  
ローマ字氏名：ABE, Yuta

研究協力者氏名：八木 洋  
ローマ字氏名：YAGI, Hiroshi

研究協力者氏名：山岸 せり  
ローマ字氏名：YAMAGISHI, Seri

研究協力者氏名：堀 周太郎  
ローマ字氏名：HORI, Shutaro

研究協力者氏名：久保田 直人  
ローマ字氏名：KUBOTA, Naoto

研究協力者氏名：坂本 亨宇  
ローマ字氏名：SAKAMOTO, Michiie

研究協力者氏名：北川 雄光  
ローマ字氏名：KITAGAWA, Yuko

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。