

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18085

研究課題名（和文）胆汁酸およびアルコールが食道扁平上皮発癌に及ぼす影響

研究課題名（英文）Influence of bile acids and alcohol on esophageal squamous cell carcinogenesis

研究代表者

市原 もも子（Ichihara, Momoko）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50835246

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究で食道正常上皮に対するアルコールおよび胆汁酸の暴露が扁平上皮癌の発生に及ぼす影響を検討した。COVID-19の感染拡大のため、オルガノイド作成に必要なヒトサンプルの採取が困難であったため、主にin vitroの実験を行った。ヒト由来の食道上皮細胞株を用いて、アルコール、胆汁酸の単剤投与および併用が食道上皮に及ぼす影響を評価した。アルコールおよび胆汁酸を2ヶ月以上にわたり長期間暴露し、DNA損傷の有無をH2axを用いて免疫蛍光染色で評価した。結果はアルコール単剤でもDNA損傷を起こしていることが分かり、またDCA単剤、アルコールとDCA併用でさらにDNA損傷を誘導していることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究のin vitroでの結果、アルコールおよび胆汁酸の両方が食道扁平上皮細胞にDNA損傷を引き起こし発癌に寄与する可能性が示唆された。胆汁酸の食道逆流がバレット食道やバレット上皮癌に関与していることは広く知られているが、食道扁平上皮の発癌に胆汁酸が影響していることは知られていない。食道扁平上皮癌患者は異所性癌や多発癌さらに異所性再発を来することが知られており、食道扁平上皮の発癌機序を明らかとすることでこれらの治療および予防が可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study investigated the effects of alcohol and bile acid exposure for normal esophageal epithelium on the development of squamous cell carcinoma. Due to the spread of COVID-19 infection, it was difficult to collect human samples for organoid preparation, so we mainly conducted in vitro experiments. We evaluated the effects of single and combined administration of alcohol and bile acids on human esophageal epithelial cell line. The cells were exposed to alcohol and bile acids for a long period of time over 2 months, and the presence of DNA damage was evaluated by H2ax using immunofluorescence. The results showed that alcohol alone induced DNA damage, and that DCA alone or combination with alcohol and DCA further induced DNA damage.

研究分野：食道癌

キーワード：食道癌 アルコール 胆汁酸 扁平上皮癌

1. 研究開始当初の背景

アルコールは食道扁平上皮癌の高リスク因子として広く知られるが、その発癌プロセスは十分に解明されていない。我々はアルコールの上皮浸透作用に着目し、この浸透作用を介した発癌のメカニズムの解明を計画した。一方、胆汁酸はバレット腺癌のリスク因子であるが、自験例の検討では食道扁平上皮癌患者は高率に食道裂孔ヘルニアおよび胆汁逆流の併存を認め、食道扁平上皮癌の発癌においても胆汁酸の関与が示唆される結果を得ている。そこで今回我々は食道内に逆流した胆汁酸がアルコールの浸透作用により食道扁平上皮の基底層細胞まで浸透し、DNA 損傷を引き起こし発癌するという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では食道正常上皮に対するアルコールおよび胆汁酸の暴露が扁平上皮癌の発生に及ぼす影響を検討する。

3. 研究の方法

・ Cell line を用いた 2 次元でのアルコールおよび胆汁酸が細胞の遺伝子変異に及ぼす影響
新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の感染拡大のため、オルガノイド作成に必要なヒトサンプルの採取が困難であったため、主に in vitro の実験を行った。
まずテロメラーゼの活性化で不死化させたヒト由来の食道上皮細胞株 (EPC2- hTERT) を用いて、アルコール、胆汁酸の単剤投与および併用が食道上皮に及ぼす影響を評価した。胆汁酸には 2 次胆汁酸であるデオキシコール酸 (DCA) を使用し、アルコールおよび DCA を 2 ヶ月以上にわたり長期暴露し、DNA 損傷の有無を蛍光免疫染色で検証した。

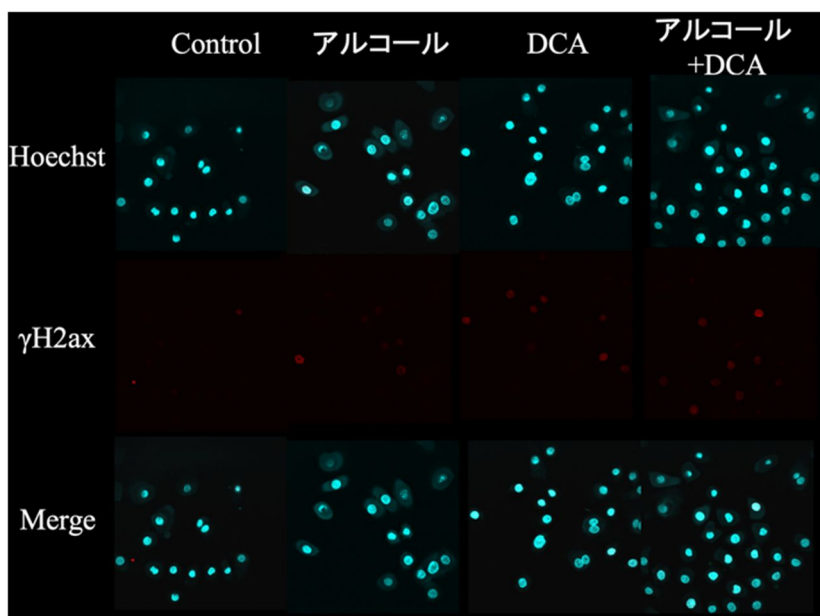


図 1 アルコールと DCA の長期曝露における DNA 損傷
(免疫蛍光染色)

4 . 研究成果

まず予備実験として、食道上皮細胞株に暴露するアルコールおよび DCA の濃度を 0.05%~1%、10 μ M~200 μ M にそれぞれ振り分け、48 時間で曝露し、Cell viability を評価した。結果として、アルコールの濃度は 0.5% では Cell viability に影響を与えなかったが、1% で Cell viability が 80% に減弱した。DCA 単剤の濃度は 20 μ M までは Cell viability の低下は認められなかったが、50 μ M、100 μ M、200 μ M でそれぞれ Cell viability は 80%、50%、30% であった。アルコールと DCA の併用では、アルコール 0.1% + DCA 50 μ M で Cell viability が 70%、アルコール 0.1% + DCA 100 μ M で Cell viability が 50% であった。

予備実験の結果から、単剤投与でのアルコールの濃度を 1%、DCA の濃度を 100 μ M、アルコールと胆汁酸の併用は 0.1% + 100 μ M に設定し、2 次元で食道上皮細胞株に長期曝露を行った。DNA 損傷の指標である H2ax を用いて免疫蛍光染色を行い、アルコール単剤でも DNA 損傷を起こしていることが分かり、また DCA 単剤、アルコールと DCA 併用でさらに DNA 損傷を誘導していることが分かった (図 1)

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
---------	---------