

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591986

研究課題名(和文) 癌における細胞老化関連遺伝子の探索と臨床応用

研究課題名(英文) Analysis of Oncogene-induced-Senescence related genes in cancer for clinical application

研究代表者

伊神 剛 (IGAMI, TSUYOSHI)

名古屋大学・医学部附属病院・病院講師

研究者番号：50420378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：Oncogene induced Senescence関連遺伝子としてHJURP(Holliday junction recognition protein)を同定した。HJURPはヒストンシャペロンの1種である。ヒト胆管癌、膵癌細胞株においてHJURPは高発現しており、HJURPを標的としたsiRNAは細胞増殖を抑制した。またHJURPの発現抑制した膵癌細胞株への抗癌剤の投与は細胞増殖の抑制を増強させた。胆管癌症例、膵癌症例でのHJURP発現と予後は相関しており、HJURPの高発現群では予後不良であり、HJURPは胆管癌、膵癌における予後の予測マーカーになる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Senescence is the irreversible cell cycle arrest for the shortage of telomere. We identified gene HJURP (Holliday junction recognition protein) as Oncogene induced Senescence connection gene. HJURP is one kind of the histone chaperon. HJURP is highly expressed in human cholangiocarcinoma cell strain and pancreatic cancer cell strain. HJURP siRNA suppressed the cell proliferation in cholangiocarcinoma cell strain. In addition, we examined the combination treatment of anticancer agent CDDP and HJURP siRNA. The cell proliferation was inhibited in HJURP siRNA2 group, compared to control siRNA group. HJURP siRNA2 enhanced the effect of anticancer agent CDDP. Next, the prognosis is poor in the overexpression group of HJURP in cholangiocarcinoma and pancreatic cancer. Our data suggested that HJURP may be a prognostic prediction marker in the pancreatic cancer and cholangiocarcinoma.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：Senescence HJURP

1. 研究開始当初の背景

ヒトの初代培養細胞にはヘイフリック限界と呼ばれる分裂回数の制限が存在している。この限界に近づいた細胞は増殖ができない状態となり、細胞老化(Senescence)と呼ばれている。細胞老化はテロメア短縮に起因する不可逆的な細胞の分裂停止のことであり、細胞内のテロメアの長さを監視する機構により一定以上短くなると誘導される。また癌と細胞老化に関して、発癌原因であるテロメアの短縮による染色体の不安定化で誘導される細胞老化で癌化が抑制されることやDNA損傷でのチェックポイントによる染色体修復が不能な場合にも細胞老化やアポトーシスが誘導されることが報告されている。さらにSerranoらは正常細胞での癌遺伝子Rasの強制発現によるテロメアの短縮を伴わない細胞老化と同様な変化を早期細胞老化として報告している(Serrano M et al, Nature 2005)。最近の研究により、いくつかの癌遺伝子においてもテロメアの短縮を伴わない細胞老化の誘導されることが確認されており、現在ではこのような細胞老化はOncogene induced Senescenceと呼ばれている(Di Micco R et al, Nature. 2006)。Oncogene induced Senescenceは癌化を抑制する機構であり、何らかの理由でこの機構を逃れた細胞が癌化していくと考えられ、Oncogene induced Senescenceは発癌に関する重要な機構である。しかしアポトーシスにおける実行分子カスパーゼのような分子が、Oncogene induced Senescenceの機構に存在するのか？細胞がどのようにこの機構を逃れて癌化していくのかなど、そのメカニズムは十分にはわかっていない。

癌の治療方法としては外科治療が主たるものではあるが、発見時に広範囲な周囲臓器浸潤や遠隔転移をきたしていることも多く、その治療成績は満足できるものではない。そのため、外科治療以外の新たな治療法が求められており、新たな治療法の開発を目的とし

て発癌機構に関する研究をおこなってきた。

胆嚢癌の癌化過程において胆嚢結石症や膵胆管合流異常症などが胆嚢癌の危険因子として知られている。われわれは胆嚢癌の癌化過程において胆嚢結石症の粘膜上皮内前癌病変(Bil-IN: biliary intraepithelial neoplasia)では誘導されていない細胞老化が、膵胆管合流異常症における前癌病変(PHP; papillary hyperplasia)では誘導されており、癌化過程は危険因子により異なることを明らかにした(Yamaguchi J et al, Lab Invest 2009)。またこの研究を発展させ、細胞老化に関する研究を進めた。遺伝子発現調節を行なっているポリコムグループタンパクの1つであるEZH2のsiRNAによる抑制により、EZH2を高発現している胆嚢癌細胞TGBC2TKBにおいて細胞老化を誘導できることを明らかにした(図1)。さらにEZH2同様にヒストン修飾するHDAC(ヒストン脱アセチル化酵素)の阻害剤であるSAHAが胆嚢癌細胞株の増殖を抑制することを明らかにした(図2)(Yamaguchi J et al, Cancer Science 2010)。これまでわれわれが行ってきた検討よりOncogene induced Senescence機構からの細胞逃避に関与している遺伝子が、EZH2しかないとは考えられず、EZH2以外にもOncogene induced Senescence機構から細胞逃避に関与している遺伝子が存在していると考えられる。

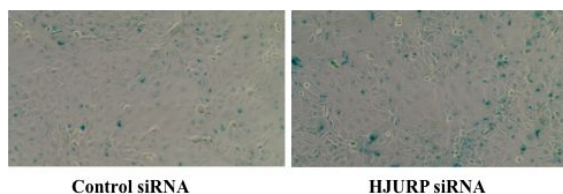
2. 研究の目的

Oncogene induced Senescence機構から細胞逃避に関与する遺伝子をヒト遺伝子siRNAライブラリーにて同定し、そのOncogene induced Senescence機構から細胞逃避からのメカニズムを明らかにする。さらにその結果に基づく新規治療法の開発を行なう。

3. 研究の方法

(1)【ヒト遺伝子siRNAライブラリーを用いたOncogene induced Senescence関連遺伝子の同定】

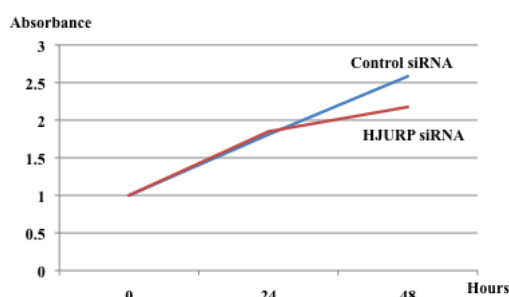
図 2



また HJURP siRNA の導入においてリポソーム法と電気刺激法による導入効率を検討したが、特に有意差は認めなかった。

次に HJURP siRNA2 の胆管癌細胞株 HuCCT1 への導入により細胞増殖の抑制を認めた(図 3)。しかし細胞死誘導能に関しては HJURP siRNA2 導入群とコントロール siRNA 投与群において有意差を認めなかった。

図 3



HJURP siRNA2 の胆管癌細胞株 HuCCT1 への導入後の培養液での IL-6、I-L8 などの発現を検討した。HJURP siRNA2 導入群とコントロール siRNA 投与群において有意差を認めず、HJURP siRNA2 による免疫誘導を認めなかった。HJURP siRNA2 の胆管癌細胞株 HuCCT1 への導入と抗癌剤との併用により HJURP siRNA2 導入群においてコントロール siRNA 投与群より増殖は抑制されていた。増殖抑制能の増強を認め、Senescence の誘導と抗癌剤併用療法の可能性が示唆された。

(3)【Oncogene induced Senescence 関連遺伝子の臨床病理学的検討】

ヒト胆管癌切除標本 58 例、膵癌切除標本 15 例を用いて癌部、正常部のリアルタイム PCR 法による HJURP の発現解析を行なった。HJURP は胆管癌の癌部で発現が亢進していたが、正常部ではほとんど発現を認めなかった。膵癌

においても HJURP は正常部と比較して癌部で発現が亢進していた。また胆管癌症例、膵癌症例において HJURP 発現と予後は関連しており、HJURP の高発現群では予後不良であった。膵癌症例においても HJURP の高発現群では予後不良であり、HJURP は胆管癌、膵癌における予後の予測マーカーになる可能性が示唆された。

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)

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊神 剛 (IGAMI TUYOSHI)

名古屋大学 医学部附属病院 病院講師

研究者番号：50420378

(2) 研究分担者

榑野 正人 (NAGINO MASATO)

名古屋大学 医学系研究科 教授

研究者番号：20237564

横山 幸浩 (YOKOYAMA YUKIHIRO)

名古屋大学 医学部附属病院 講師

研究者番号：80378091

國料 俊男 (KOKURYO TOSHIO)

名古屋大学 医学系研究科 特任講師

研究者番号：60378023

(3) 連携研究者

なし