

氏 名	こ 森 淳 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3237 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Activation-induced cytidine deaminase links bile duct inflammation to human cholangiocarcinoma (ヒト胆管発癌過程における Activation-induced cytidine deaminase の発現に関する検討)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 坂 井 義 治 教 授 清 水 章

論 文 内 容 の 要 旨

多くのヒト癌は、慢性炎症を背景に発症することが知られている。事実、ヒト胆管癌も原発性硬化性胆管炎など胆管上皮の慢性炎症を特徴とする病変から高頻度に発生することが示されてきた。しかしながら、このような胆道系の慢性炎症から胆管癌が発生する分子機構については不明である。

Activation-induced cytidine deaminase (AID) は DNA 上のシチジンを脱アミノ化することによりウリジンに変換させる DNA 編集酵素である。AID は生理的条件下ではリンパ節の胚中心における活性化 B 細胞に特異的に発現し、免疫グロブリンの可変領域への遺伝子変異導入に必須の役割を果たしている。しかしながら、AID の過剰発現により様々な遺伝子への変異導入を介してリンパ系腫瘍の発生に関与しているとの知見が、ヒトリンパ系悪性腫瘍の検討や AID を全身に発現する AID トランスジェニックマウスの表現型の解析から明らかにされている。興味深いことに、このマウスはリンパ系腫瘍とともに、肺癌や肝癌などの上皮性腫瘍も発生しうることが判ってきた。そこで本研究では、ヒト胆管細胞における AID の発現とその制御機構を検討することにより、DNA 変異活性を有する AID がヒト胆管発癌に寄与している可能性を明らかにすることを目的とした。

まずはじめに、原発性硬化性胆管炎の病態形成において中心的役割を果たす炎症性サイトカインである $\text{TNF-}\alpha$ に着目し、胆管培養細胞における $\text{TNF-}\alpha$ 刺激前後の AID の発現量の比較検討を行った。胆管癌由来の胆管培養細胞株に $\text{TNF-}\alpha$ 刺激を加えることにより AID の発現が有意に亢進することがわかった。この $\text{TNF-}\alpha$ による AID の発現誘導は細胞内転写因子 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ により制御されていることが明らかとなった。以上の検討から、AID は $\text{TNF-}\alpha$ 刺激により $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 依存性に胆管細胞中に発現誘導されることが明らかとなった。

次に、AID の過剰発現が胆管細胞における遺伝子変異生成に関与するかを検討する目的で、胆管癌培養細胞に AID を持続的に発現し、癌関連遺伝子への変異の有無の解析を行ったところ、p53、INK4A/p16 など複数の発癌関連遺伝子に変異が生成することが確認された。

次に、臨床検体を用いて、ヒト肝組織中の胆管上皮における AID の発現を Real-time RT-PCR 法により検討した。正常肝組織では AID の発現はほとんど認められなかったが、肝内胆管癌組織中では AID の有意な発現上昇を認めた。同時に、非癌部肝組織において炎症のない肝組織に比べ、炎症を伴う肝組織において、AID の発現が有意に上昇していることが明らかとなった。

最後に、ヒト AID に特異的な抗体を用いて、様々なヒト胆管組織における AID 蛋白の発現についての免疫組織学的検討を行った。原発性硬化性胆管炎症例の慢性炎症を伴う胆管上皮においては AID 蛋白が高頻度に発現上昇していることが確認された。また肝内胆管癌症例においても、腫瘍細胞に AID 蛋白の発現が高率に認められた。以上のヒト臨床検体の解析結果から AID は胆管癌組織のみならずその前癌状態とされる慢性炎症下にある胆管上皮においても AID 発現が亢進していることが明らかとなった。

本研究により、AID はヒト胆管細胞において炎症性サイトカイン刺激により発現が誘導されること、胆管細胞における AID 発現の結果、発癌に関連した遺伝子に変異が生成することが明らかとなった。DNA 編集酵素である AID の胆管細胞における異所性の発現は、胆管発癌過程における遺伝子変異の生成蓄積に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

胆管癌は胆管由来の悪性新生物で、胆管上皮の慢性炎症が胆管癌の発生において重要な役割を果たしていると考えられてきたが、その発癌の分子機序は不明である。

本研究において申請者は、DNA 編集酵素である Activation-induced cytidine deaminase (AID) に着目し、ヒト胆管癌における遺伝子変異の蓄積への AID の関与についての検討を行った。

In vitro における検討で、AID は炎症性サイトカイン刺激により胆管癌培養細胞において発現誘導されることを示した。また、胆管癌培養細胞を用いた AID 誘導活性化系での検討からは胆管癌培養細胞における AID 発現により p53、p16、c-myc 遺伝子などさまざまな発癌関連遺伝子に変異が誘導されることが確認された。ヒト胆管組織中の AID 発現の検討からは、正常胆管では AID の発現はほとんど認められないのに対し、胆管癌及びその危険因子とされる原発性硬化性胆管炎における胆管上皮で AID の発現が著明に上昇していることを明らかとした。以上の検討から、炎症性サイトカインで誘導される AID の過剰発現が、胆管上皮における体細胞遺伝子変異の生成に関与することにより胆管発癌に寄与している可能性が示唆された。

以上の研究はヒト胆管発癌過程における遺伝子変異蓄積の分子機構の解明に貢献し、癌研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位申請者は平成 20 年 3 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。