

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	肝がん及び胆管がん細胞の上皮間葉転換を評価可能なスクリーニング系の構築				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太

講演題目	間葉系細胞マーカーであるビメンチン遺伝子のプロモーターを用いたレポーターアッセイ系による新規肝胆道系がん治療薬の探索
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>近年、肝胆道系がんの罹患率と死亡率がともに増加している。肝胆道系がんは、がんの進行をコントロール可能な有効な治療法が見出されておらず、今後も死者数が増加することが推察されており、その治療法の創出は世界的な医療課題の一つである。肝胆道系がんは、膵がんと同様に難治性のがんであり、5年生存率は20%程度と非常に低い。以上のことから、肝胆道系がんの新規治療法が求められている。</p> <p>上皮間葉転換 (EMT) は、サイトカイン刺激などにより、細胞が上皮系の性質から間葉系に変化することをいい、遊走能、浸潤能の亢進により、周囲の組織への浸潤、遠方の組織に転移し、がんが拡大する。一方で、肝胆道系がんはその血流量の多さから、主に肝内および胆管内の転移によってがんが進行する。また、EMT は、がん細胞の放射線療法や化学療法耐性獲得の原因と知られるがん幹細胞への分化に関与することも知られている。以上のことから、肝胆道系がん細胞の EMT に伴う転移性、浸潤能の高い間葉系細胞への分化は、がん進行の重要なステップと考えられ、EMT を抑制する医薬品の同定は、肝胆道系がん治療の新規治療法の創出につながる可能性が高い。以上の背景から本研究では、肝胆道系がんの治療薬探索を目的として EMT に注目し、EMT の進行を評価可能な評価系の構築と、構築した EMT 評価系を用いて EMT 抑制作用を有する医薬品の探索を行なうことを目的とした。</p> <p>ヒト胆管がん由来細胞株 (HuCCT-1、KKU-055、TFK-1 及び RBE) の EMT 誘導性を確認するため、間葉系細胞マーカーであるビメンチン遺伝子のプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子の上流に組み込んだレポータープラスミドを用いてレポーターアッセイを行った。その結果、RBE 細胞では、EMT 誘導因子である TGF-β (10 ng/mL) の処置によりレポーター活性が増加したのに対して、HuCCT-1、KKU-055 及び TFK-1 細胞では TGF-β 処置に関わらずレポーター活性は高値を示した。これらのことから、RBE 細胞は上皮系、それ以外の細胞は間葉系の性質を有すると考えられ、RBE 細胞を用いたレポーターアッセイにより被験物質の EMT に対する影響を評価可能と考えられた。次に、米国 FDA 承認医薬品 (1661 種) を用いて、胆管がん細胞の EMT 抑制作用を有する医薬品のスクリーニングを行った。RBE 細胞に TGF-β (10 ng/mL) と被験物質 (10 μM) を共処置し、レポーターアッセイにより EMT への影響を評価した。その結果、TGF-β 処置に伴うレポーター活性の上昇を顕著に抑制した医薬品が多数見出された。その中でも、降圧薬 A が強い抑制作用を示す医薬品として同定された。さらに、RBE 細胞への降圧薬 A の処置は、定量的逆転写 PCR 法において、TGF-β 処置による間葉系細胞マーカー遺伝子 (<i>CDH2</i>, <i>ZEB1</i> 及び <i>VIM</i>) mRNA レベルの増加を抑制した。以上、本研究により降圧薬 A が胆管がん細胞の EMT を抑制する新たな胆管がん治療薬候補として見出された。今後は、降圧薬 A の EMT 抑制作用の分子機序解析を行う予定である。</p>