



Title	DJ-1の浸潤性胆管癌に対するバイオマーカーとしての有効性に関する検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	田畑, 佑希子
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13290号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/71884
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2425
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yukiko_Tabata_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(医学) 氏名 田畑 佑希子

学位論文題名

DJ-1 の浸潤性胆管癌に対するバイオマーカーとしての有効性に関する検討
(DJ-1 is a useful biomarker for invasive extrahepatic cholangiocarcinoma)

【背景と目的】 肝外胆管癌 (extrahepatic cholangiocarcinoma: EHCC) は、いまだ予後不良な悪性腫瘍の一つであり、その要因の一つに診断が比較的困難である点が挙げられる。近年では画像診断の精度が高まり、生検法の技術も向上しているが、生検検体では胆汁うっ滞により正常胆管上皮にも炎症性変化を伴うことが多いため、細胞診や病理組織診断の正確性は十分とは言えない。血清腫瘍マーカーについても、臨床応用されているものは carcinoembryonic antigen (CEA) や carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) など消化器癌で広く使用されているマーカーのみで、EHCC に特異的なものはない。また、EHCC において根治を得られる治療法は現時点で手術のみであるが、標準治療となる術式は肝外胆管・尾状葉切除を伴う肝葉切除や膵頭十二指腸切除と極めて侵襲の大きな術式であり、重篤な術後合併症や手術関連死は他の消化器外科手術の中でも最も高率である。そのため、EHCC の診断や治療を行う上で、診断に有用なマーカーのみならず、術後予後やリンパ節・遠隔転移の予測因子となりうる新規バイオマーカーの開発も期待されている。

北海道大学大学院医学研究院消化器外科学教室 II では新規胆道癌バイオマーカー同定を目的として、liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) -based proteomics の手法を用いて胆管癌組織で発現が亢進している蛋白を 38 種類抽出した。その中の一つである DJ-1 遺伝子は 1 番染色体の短腕に位置し、家族性パーキンソン病の原因遺伝子である PARK7 と同一であることが明らかになっている。DJ-1 蛋白は複数の機能について報告があり、悪性腫瘍では乳癌、非小細胞肺癌、膵癌、食道扁平上皮癌、喉頭癌など、多くの腫瘍で同蛋白の過剰発現が報告されているが、癌化における正確な役割についてはいまだ不明である。また、これまで DJ-1 蛋白の発現と EHCC の臨床病理学的因子や術後予後との関連について検討した報告はない。

本研究では DJ-1 の免疫組織学的 (immunohistochemical: IHC) 染色の手法を確立し、多数症例の浸潤性 EHCC 患者の臨床検体に対して IHC 染色を行うことにより、浸潤性 EHCC 組織と非腫瘍性胆管上皮での発現の頻度と局在を明らかにし、さらに発現の高低による臨床病理学的特徴、ならびに術後予後の差異について検討した。また、血清 DJ-1 蛋白値についても現在まで EHCC との関連性は報告されておらず、本研究では血清 DJ-1 値を健常者と浸潤性 EHCC 患者で測定・比較し、DJ-1 が新たな血清バイオマーカーとして提案可能かを検討した。

【対象と方法】 6 種のヒト由来細胞株に対して Western blot と IHC 染色を行い、DJ-1 の IHC 染色手法を検討した。浸潤性 EHCC 患者 96 例の手術検体から作成された tissue micro array (TMA) を用いて IHC 染色を行うことにより、浸潤性 EHCC 組織 96 検体と非腫瘍性胆管上皮 66 検体における DJ-1 発現を評価した。さらに、DJ-1 蛋白発現の高低による臨床病理学的特徴、ならびに術後予後の差異について評価した。

浸潤性 EHCC 患者 28 例より手術直前に採血した血清に対して、ELISA 法により血清 DJ-1 蛋白値を測定し、健常者 10 例と比較した。浸潤性 EHCC 患者はさらにリンパ節もしくは遠隔臓器に転移のない 12 例 (転移陰性群) と転移を有する 16 例 (転移陽性群) に亜分類し検討した。

【結果】 細胞株での Western blot と IHC 染色により決定した IHC 染色手法を用いて、臨床検体の TMA に対して IHC 染色を行い DJ-1 蛋白の発現を評価した。非腫瘍性胆管上皮細胞では核

に陽性が 18 例 (27.3%)、細胞質に陽性が 7 例 (10.6%)であり、EHCC では核に陽性が 39 例 (40.6%)、細胞質に陽性が 28 例 (29.2%)であった。細胞質における発現は、浸潤性 EHCC 細胞は非腫瘍性胆管上皮細胞と比較して有意に陽性頻度が高かった ($p=0.006$)。核、細胞質ともに DJ-1 陽性群と陰性群の間に臨床病理学的因子の差はなかった。また、浸潤性 EHCC 症例群において、DJ-1 細胞質陰性群は、陽性群と比較して予後不良であった。

血清 DJ-1 値の中央値は、健常者では 27.0 (3.2-118.7) ng/ml、EHCC 患者では 28.7 (13.0-83.3) ng/ml であり、有意差はなかった ($p=0.353$)。EHCC 患者のうち、転移陰性群では 27.6 (13.1-83.3) ng/ml、転移陽性群 16 例では 40.9 (17.6-75.4) ng/ml であり、転移陽性群で血清 DJ-1 が高い傾向にあった ($p=0.137$)。

【考察】 本研究では、浸潤性 EHCC 組織で非腫瘍性胆管上皮と比較して DJ-1 蛋白が高発現であり、浸潤性 EHCC 患者では細胞質での DJ-1 蛋白低発現群で予後不良であった。血清 DJ-1 値については、健常者と浸潤性 EHCC 患者では差を認めなかったが、転移陽性群で血清 DJ-1 値が高値となる傾向があった。

この結果から、浸潤性 EHCC 患者では腫瘍組織での細胞質における DJ-1 蛋白低発現は予後不良の予測因子として、術前血清 DJ-1 の高値が転移の予測因子として有用なバイオマーカーとなり得ると期待される。

課題として、浸潤性 EHCC 患者において DJ-1 蛋白が予後や転移に関連する機序については検討されていない点が挙げられる。本研究の結果ならびに乳癌に関する多施設からの研究結果より、浸潤性 EHCC 細胞から DJ-1 蛋白が細胞外分泌された結果を反映して、IHC 染色での腫瘍組織での細胞質陰性かつ血清 DJ-1 高値となっていると推測し、それに基づいて細胞外分泌され血清中に存在する DJ-1 蛋白が転移に関わっているとの仮説を立てた。仮説の検証のためには、乳癌で検討されているように、細胞株と細胞培地内、さらには浸潤性 EHCC 患者の whole section と血清での DJ-1 蛋白発現の有無を対応させた検討が必要である。

【結語】 浸潤性 EHCC 組織での細胞質における DJ-1 低発現と血清 DJ-1 値の高値が、EHCC での予後不良や転移の予測因子として有用なバイオマーカーとなりうると考えられた。