

論文内容の要旨

**Telomere length of gallbladder epithelium is shortened  
in patients with congenital biliary dilatation:  
measurement by quantitative fluorescence in situ hybridization**

先天性胆道拡張症患者では胆嚢上皮のテロメア長が短縮している：  
定量的蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法による測定

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野

研究生 青木 悠人

*Journal of Gastroenterology* 掲載予定

(Online First (web 掲載): 2017 年 11 月 5 日)

## 【背景】

先天性胆道拡張（CBD）は、肝外胆管の拡張と膵胆管合流異常（PBM）の両者を伴う先天性奇形である。総胆管と膵管が十二指腸壁外で合流し、Oddi 括約筋の影響が及ばないため、膵液が持続的に胆管系に逆流する。これは、胆道上皮を損傷し、胆嚢を含む胆道の慢性炎症および高い発癌率をもたらす。

一方、テロメアは、染色体の末端に位置する反復 DNA 配列である。テロメアの過度の短縮、つまりテロメア機能不全による染色体不安定性は、様々な臓器の発癌に関与している。本研究では、CBD 患者の胆嚢上皮において、テロメアの過度な短縮が見られるかを検討し、発癌との関係を考察した。

## 【方法】

CBD（17 人）、膵液逆流のない胆嚢結石症（10）、および正常胆嚢（対照 17）から胆嚢の切除標本を得た。パラフィン包埋切片を用いた。テロメアとセントロメアをそれぞれの蛍光色素（Cy3、FITC）付加プローブでハイブリダイズし、核を DAPI で染色し、胆嚢上皮細胞の両者の蛍光光度を測定し、除して **telomere-to-centromere ratio**（TCR）を得た。さらに、同スライド上で TIG-1 培養細胞（34PDL、テロメア長 8.6 kbp）のセルブロック切片を用い、その TCR を用いて標準化した。つまり、胆嚢上皮の TCR をセルブロックの TCR で除し、標準化 TCR（NTCR）として算出した。また、CBD 患者では術直後に胆汁中のアミラーゼ濃度を測定した。

## 【結果】

CBD 患者において、胆汁アミラーゼ濃度と NTCR に有意な相関はなかった。

3 群の年齢については、CBD（中央値 37 歳、範囲 24 - 62 歳、IQR 28.5 - 46 歳）は、対照（中央値 53 歳、範囲 16 - 73 歳、IQR 49 - 47 歳）に対し、有意に若年であった。胆石症（中央値 50 歳、範囲 18 - 87 歳、IQR 43 - 59.75 歳）は、他の 2 群いずれとも有意差はなかった。

CBD、胆嚢結石症および対照群における NTCR は、それぞれ 1.24（四分位範囲（IQR）、1.125-1.52）、1.96（IQR、1.56-2.295）および 1.77（IQR、1.48-2.53）であった。CBD の NTCR は、若年患者であるにもかかわらず、胆嚢結石症および対照（ $p = 0.003$  および  $0.004$ ）よりも、有意に小さかった。

29 歳以下および 30-49 歳の CBD 患者の NTCR は、それぞれ 1.31（ $n=5$ , IQR 1.12 - 1.61）、1.40（ $n=8$ , IQR 1.21 - 1.65）であり、いずれも対照よりも有意に低

値であった ( $p = 0.042$  and  $0.039$ )。

### 【考察】

本研究では、CBD 患者は CBD がない症例に比べ、胆嚢上皮のテロメア長が有意に短縮していることを証明した。さらに、CBD では、テロメア長が早期から有意に減少していた。胆汁アミラーゼ濃度およびテロメア長は、相関を示さなかった。

CBD 患者の胆嚢上皮のテロメア長は、膵液逆流と関係の薄い胆嚢結石症に比べ有意に短縮していた。これは CBD のテロメア短縮は、単に炎症によるのではなく、膵液への暴露がテロメア短縮に強く影響することを示している。また、テロメアの短縮による容易な癌の発生が示唆された。

本研究は成人症例のみが対象となった。しかし、20 歳代でもテロメアがすでに短縮しており、CBD は出生時・小児期からテロメア長に影響すると考えられた。CBD 患者の発癌の平均年齢が、PBM のない胆嚢癌よりも若年であることと一致する。したがって、ガイドラインにおける即時の予防手術の推奨が適切であると考える。

今回、我々は CBD 患者の胆嚢上皮の NTCR を計測した。もちろん、総胆管も、CBD ではテロメアが短縮していると予想している。しかし、対照である正常胆管を得ることの困難から、今回、総胆管上皮は検討していない。一方、CBD は比較的まれな疾患であり、若年患者が多い。一方、肝切除術や胆嚢摘出術は比較的高齢の患者で行われることが多く、対照は、CBD 患者より有意に年齢が高かった。テロメアは加齢によって短縮するため、対照群が短いことが考えられるが、反対に CBD で有意なテロメア短縮を認めた。

我々は、様々な臓器で、癌の背景組織や前癌性病変において、テロメアが短縮していることを報告してきた (NTCR:  $0.73 - 1.51$ )。CBD における胆嚢上皮においても、これらに匹敵するテロメア短縮を認めた。以上から、CBD もまた前癌状態であるといえる。

### 【結論】

我々の知見は、胆嚢上皮のテロメア短縮が CBD 患者の発癌過程において重要な役割を果たすことを示した。つまり、CBD は過度なテロメア短縮を伴う前癌状態と考えられ、本研究の結果は CBD 患者において早期の手術を推奨しているガイドラインを支持する。