

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		ニトロソアミン高感受性の CYP2A 遺伝子ノックイン胃発がんマウスの作製
研究代表者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター 研究所・施設長・今井俊夫
研究分担者	所属・職名・氏名	国立がん研究センター 研究所・ユニット長・戸塚ゆ加里
	所属・職名・氏名	国立がん研究センター 研究所・ユニット長・平岡伸介
受入担当教員	職名・氏名	教授・大島正伸
【研究目的】	我が国のがんの死亡のうち、男性で 40%、女性で 5%は喫煙が原因と考えられているがニトロソアミン類等化学物質が主発がん要因であり、代謝酵素の CYP2A6 の高活性が肺がん、大腸がん及び膀胱がんのリスクと関連することが示されている。ニトロソアミン類に対する種間の発がん感受性差の原因の詳細は不明であるが、肝マイクロゾームの CYP2A5/2A6 によるクマリン 7-水酸化酵素活性は、マウス、ラットに比しハムスターでは 3 倍以上、ヒトでは更に 10 倍近く高活性であることが知られておる。本研究ではニトロソアミン感受性マウス胃がんモデルの作製と関連する基礎データの蓄積を目的とし実施した。	
【研究内容・成果】	コンディショナルにヒト CYP2A6 を過剰発現させニトロソアミンに高感受性を示すノックインマウスを作製し喫煙関連がんの動物モデルを確立することを計画し、現在当該キメラマウスから F1 が得られた段階である（国立がん研究センター開発研究費にて実施中）。本共同研究では、マウスにおける CYP2A6 の内因性オルソログである CYP2A5 を CRISPR-Cas9 システムを用いてノックアウトし、ニトロソアミンに対する感受性を野生型マウスと比較するための検討を開始した。具体的には、C57BL 系統の ES 細胞（DS フェーマ製）に guide RNA（crRNA:tracrRNA）と Cas9 タンパク質を 1 つのベクターで発現するシステム（SBI 製）を Fu GENE HD Transfection Reagent を用いて導入した。ノックアウトの標的とした部位は CYP2A5 遺伝子の Exon1 あるいは Exon2 の PAM 配列近傍とした。ES 細胞に対する遺伝子ノックアウト処置と並行し、ICR 雌マウスを用いて PMSG と hCG（あすか製薬製）にて過排卵処置した後自然交配し、2 日後に卵管還流により 2 細胞期胚を採集し培養液中にて 8 細胞期胚にした後 CYP2A5 遺伝子をノックアウトした ES 細胞と共培養することによりキメラマウスの作製を試みた。その結果、無処置対象としてベクターを導入しなかった ES 細胞と ICR マウス胚との共培養ではキメラマウスが得られたが（写真）、ベクター導入した ES 細胞を用いた共培養では 4 例の仮親に移植した胚からは死産などによりキメラマウスが得られなかった。現在も検討を継続しているが、原因は明らかにできていない。	
【成果等】	【主な論文発表】 Kitahashi, T., Takahashi, M., Imai, T.: Biphasic alterations in expression and subcellular localization of MUC1 in pancreatic ductal carcinogenesis in Syrian hamsters. <i>Pancreas</i> 44, 76-86 (2015)	
	【学会発表】 なし	
	【その他特筆事項】 なし	

