

令和元年6月6日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08347

研究課題名(和文) 肝・胆道癌の発癌・進展における鉄代謝関連蛋白発現調節機構の病理学的解明

研究課題名(英文) Pathological investigation of iron regulatory protein in the progression of hepatobiliary malignancy

研究代表者

相島 慎一 (Aishima, Shinichi)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：70346774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌(HCC)は再発が多く有効な治療法の確立が望まれている腫瘍である。肝臓は鉄の貯蔵を担う臓器であり、鉄蓄積は酸化ストレスを介した肝発がんを促すことが知られている。複雑なメカニズムによって制御される鉄代謝はがん細胞生存にとって極めて重要であり、HCCにおける鉄代謝関連タンパクの役割を明らかにすることは重要である。本研究により癌部におけるTFR1高発現は、AFP高値($p<0.0001$)、低分化($p<0.0001$)と関連しTFR1高発現が予後不良であった。以上よりHCCにおけるTFR1の高発現は、肝切除後の再発および生存における予後不良因子であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞癌(HCC)は有効な治療法の確立が望まれている腫瘍である。肝臓は鉄の貯蔵を担う臓器であり、鉄の蓄積は酸化ストレスを介した肝発がんを促進する。鉄の代謝にかかわる遺伝子は多数あり複雑なメカニズムによって鉄代謝は制御され、がん細胞においても鉄の代謝は細胞の生存にとって極めて重要である。今回、鉄代謝の重要なたんぱく質であるトランスフェリン受容体1(TFR1)の高い発現がHCCの腫瘍形成や脱分化に関連し、生存にもかかわることが明らかになった。TFR1の発現はほかの悪性腫瘍でも高い発現が確認されており、がんの治療も期待されているたんぱく質である。

研究成果の概要(英文)：Hepatocellular carcinoma (HCC) is the second leading cause of cancer mortality worldwide. An excess of iron in liver tissue causes oxidative stress, leading to hepatocellular carcinogenesis. Iron metabolism, which is regulated by a complex mechanism, is important for cancer cell survival. The aim of this study is to clarify the role of iron regulatory protein in the progression of HCC and in patient outcome. High expression of TFR1 in HCC was associated with liver cirrhosis ($p<0.0001$), higher alpha-fetoprotein (AFP) ($p<0.0001$), smaller tumor size ($p=0.0022$), poor histological differentiation ($p<0.0001$) and morphological features ($p<0.0001$). Multivariate analysis for both overall survival and recurrence-free survival indicated that high TFR1 expression was a significant prognostic factor for poor outcome. TFR1 overexpression suggests a higher risk of recurrence and death in HCC patients following liver resection.

研究分野：消化器病理学

キーワード：肝細胞癌 鉄代謝 トランスフェリン受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝臓における鉄代謝

鉄はトランスフェリンに結合した後、門脈を経由して肝臓へ運ばれる。肝臓は鉄の貯蔵臓器として機能し、肝臓は消化管上皮での鉄吸収を抑制するhepcidin を産生する。一方、肝細胞内への鉄の取り込みは、細胞膜に存在するTransferrin receptor 1/2(TFR1/2)に加え、Divalent metal transporter 1(DMT1)が担い、細胞外への鉄の排泄にはferroportin が働く。

鉄は細胞内の酸化還元反応に必須の金属であるが、過剰に細胞内に蓄積すると細胞傷害をもたらす。慢性障害肝においては肝細胞でのhepcidin 産生が低下することにより、腸管からの過剰な鉄吸収および肝臓への沈着が促進され、その結果、肝細胞内の酸化ストレスがDNA 障害をもたらすことで肝臓がんを誘発すると考えられている。

ヒト肝癌組織検体では背景肝の鉄沈着とは対照的に、肝細胞癌結節内は鉄染色陰性結節として認識され、過剰な鉄沈着を認めないことから、1)癌細胞は不必要な鉄を排泄する仕組みを有する、2)癌細胞による鉄の利用が亢進していることが推測される。悪性腫瘍では鉄代謝蛋白が腫瘍の悪性度に関わる可能性が示唆される。

国内外の研究動向とこれまでの研究成果

肝細胞癌ではhepcidin 発現が抑制され、ferroportin が発現が減弱している(Wang Q et al. 2013)ことから、癌細胞内には十分量の鉄が存在すると予想される。また鉄の取り込みを促すTFR1が高発現する一方で、TFR2 発現については一定の見解が得られていない。さらにTFR 非依存性の鉄取り込み機序が重要とする報告もある(Herbison CE. 2009)。以上より、肝細胞癌では諸刃の剣である鉄を細胞内に取り込みうまく利用していると予測される。

IL-6 刺激によるSTAT3 シグナルは肝細胞でのhepcidin を誘導し (Wrighting DM. 2006)、マクロファージが肝癌細胞HuH7 のhepcidin 発現を促すことが知られている (Matak P. 2009)。私たちは肝細胞癌組織中の腫瘍関連マクロファージ(TAM)が産生するIL-6 がSTAT3 経路を介して肝癌細胞の増殖や浸潤を促進することを突き止めた(Mano Y, Aishima S. Pathobiology 2013)。すなわち、腫瘍内マクロファージの存在は肝細胞癌のhepcidin 発現を亢進させる可能性があり、IL-6/STAT3 シグナルによるhepcidin 発現調節機構は興味深いと思われる。さらに低酸素環境で誘導されるHypoxia-inducible factor-1 (HIF1)は嫌気性解糖系を担うGlucose transporter (GLUT)発現を亢進させるとともに、トランスフェリン受容体を増加させることで癌細胞への鉄の取り込みを促すことが予想される。

悪性腫瘍における鉄代謝

大腸粘膜では鉄の細胞外運搬に、ferroportin とともにhephaestin が働いており、大腸癌においてはこれら二つの蛋白発現が減弱し、癌が進行するとさらに発現が低下する(Brookes MJ et al. 2006)。乳癌ではferroportin の減弱が癌細胞の増殖を促進する(Zhang S et al. 2014)。Glioblastoma においてはTFR2 を介したERK1/2 のリン酸化による血管新生を誘導するためTFR2が治療標的として期待されている(Calzolari A et al. 2010)。アルテミシニン誘導体(アルテスネイト)は、癌細胞が含有する鉄と反応しフリーラジカルを発生させることで癌細胞選択的に細胞死を誘導することが期待されている。

2. 研究の目的

肝炎・肝硬変では鉄が過剰に沈着しており、鉄が誘導する酸化ストレスが発癌に関わる。鉄は細

胞を傷害する一方で、細胞機能を維持するために必要な金属であり、肝癌細胞では鉄代謝が適切に制御されていると予測される。また体内からの鉄の除去や癌細胞内での鉄を標的とした新たな癌治療も期待されている。本研究は、鉄代謝関連蛋白発現を肝細胞癌手術検体で検討し、その発現調節機構を癌細胞株において検討することで、肝・胆道癌の発癌・進展における鉄代謝蛋白の役割と臨床的意義を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1年目：対象症例の解析に必要な臨床情報（特に血清鉄、フェリチンの値、術前腫瘍マーカー、背景肝疾患種類、手術方法など）のデータベース化を行った。対象症例を300例ほどピックアップして、主要な臨床情報、病理学的評価が可能であった症例を選択した。対象癌症例の適切な代表的癌部、非癌部に対して、ベルリン青染色による鉄沈着の程度を組織学的に評価した。

2年目：ヒト肝癌臨床検体における鉄代謝関連因子のmRNA 定量的発現の解析。切除標本の凍結組織から肝癌部分と非癌肝組織よりRNA を抽出しcDNA ライブラリーを作成した。これらに対しターゲットとなるhepcidin、ferroportin、TfR1/2、DMT1、トランスフェリン受容体について順次、real-time PCR 法を用いてmRNA発現の定量的解析を行った。mRNA量を定量化して、20例の検討を行った。

3年目：mRNA発現を癌部と非癌部で比較し、癌部で特に高発現していたTFR1と発現に差が無かったTFR2、hepcidin、ferroportinを対象として210例の切除標本に対して免疫組織化学的染色を行った。それぞれの鉄代謝関連タンパク発現の多寡と臨床病理学的な相関関係について統計的に検討するとともに、蛋白発現の局在について癌細胞内、腫瘍内での分布、腫瘍分化度や腫瘍細胞の構築の違いなどの点から詳細に観察した。

4. 研究成果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。