

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19538

研究課題名(和文)がん抑制遺伝子HNF-4 の再活性化による肝がん分化誘導療法の研究

研究課題名(英文)Hepatocellular carcinoma differentiation by reactivating HNF-4a

研究代表者

山下 太郎 (Yamashita, Taro)

金沢大学・附属病院・准教授

研究者番号：90377432

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：肝がんは年間約3万人が死亡する難治性がんである。HNF-4 は脂質や糖代謝、薬物代謝など肝細胞機能を制御するのみならず、細胞周期を制御するがん抑制遺伝子である。本研究では、分子標的薬や脂質がHNF4Aの遺伝子発現や活性化に与える影響について検討を行った。レゴラフェニブとHDAC阻害剤は細胞増殖を抑制しながらHNF4A遺伝子発現を活性化することが明らかになった。また、polyprenonic acidがHNF4Aを活性化させること、lauric acidがpolyprenonic acidに相加的にHNF-4 を活性化させる作用があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞がんにおいてHNF4Aは遺伝子変異を認めない転写因子であり、かつ活性化されることで細胞増殖を呈しさせる、薬物標的として有用な核内受容体と考えられる。しかしその制御機構や活性化リガンドは未だ十分明らかになっていない。本研究では新たなHNF4A遺伝子発現を活性化させる分子標的薬やHNF4A転写活性を制御する脂質を見出しており、新しい機序に基づく肝細胞がん治療への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Hepatocellular carcinoma is one of the most common deadly cancer in Japan, and approximately 30,000 patients die each year. HNF4A is a nuclear receptor known to regulate lipid, carbohydrate, amino acid, and drug metabolism, but it also work as a tumor suppressor to regulate cell cycle. In this study, we evaluated the potential candidate molecules to regulated HNF4A gene expression or HNF4A transcriptional activation. We found that regorafenib and HDAC inhibitor enhanced the expression of HNF4A in Huh7 HCC cell lines. We further found that polyprenonic acid induced the transcriptional activation of HNF4A, and lauric acid additively activate the function of polyprenonic acid to induce transcriptional activation of HNF4A.

研究分野：消化器内科

キーワード：肝細胞がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝がんは組織学的に肝細胞がんおよび胆管細胞がんからなり、本邦では併せて年間約 5 万人が死亡する。進行がんにおける生存期間中央値は 1 年未満と極めて悪性度の高い難治性がんであり、有効な予防法、治療法の開発が進んでいない。肝硬変症は肝細胞がん、胆管細胞がん発症の危険因子であり、両がんの細胞起源として肝硬変組織で多く出現する肝幹前駆細胞が想定されている。肝前駆細胞から肝細胞への分化誘導を促す核内受容体として HNF-4 が知られており、脂質や糖代謝、薬物代謝など肝細胞機能を制御するのみならず、細胞周期を制御するがん抑制遺伝子であることが示されている。また、HNF-4 は肝再生時には速やかに発現低下が生じることから、細胞増殖に関わるシグナル伝達系で精密に制御されていると想定される。さらに肝がんでは *HNF4A* 遺伝子変異の報告はないことから、肝がん治療における理想的な標的分子の一つと考えられる。

2. 研究の目的

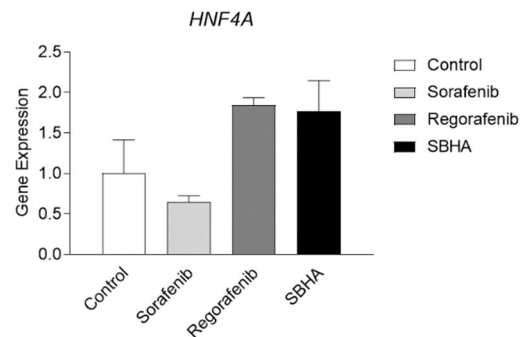
本研究では強力な HNF-4 リガンドの探索および HNF-4 の発現制御機構を解明し、高悪性度肝細胞がんや胆管細胞がんにおいてがん抑制遺伝子 HNF-4 を再発現・活性化させることで難治性肝がんを正常肝組織様に分化させる治療法開発につなげることを目指す。

3. 研究の方法

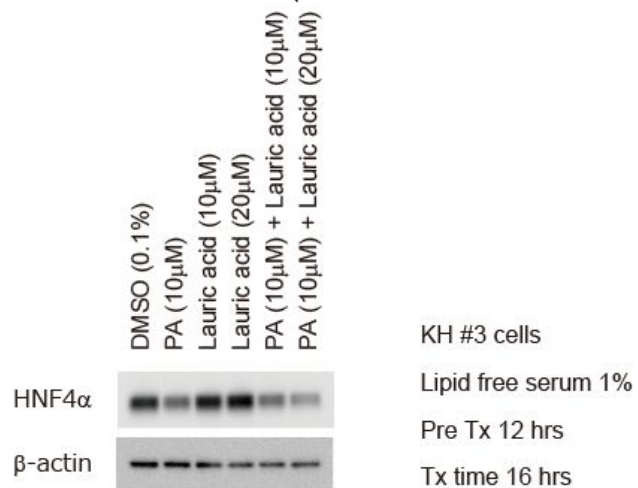
HNF-4 の発現が認められ、かつ Huh7 細胞とは異なり正常肝細胞で発現する薬物トランスポーター-OATP1B3 の発現が維持されている患者由来肝がん細胞を樹立した。ソラフェニブ、レゴラフェニブなどの multiple receptor tyrosine kinase inhibitors やその他脂質ライブラリーを用いて HNF4A 遺伝子および HNF-4 活性に影響を与える薬剤のスクリーニングを行った。肝線維化シグナルの活性化を背景に多段階肝がんを呈するマウスモデルである PDGF-C Tg マウスにおいて EOB-MRI を撮影し、polyprenonic acid を投与し HNF-4 の発現や活性化に与える影響について検討した。

4. 研究成果

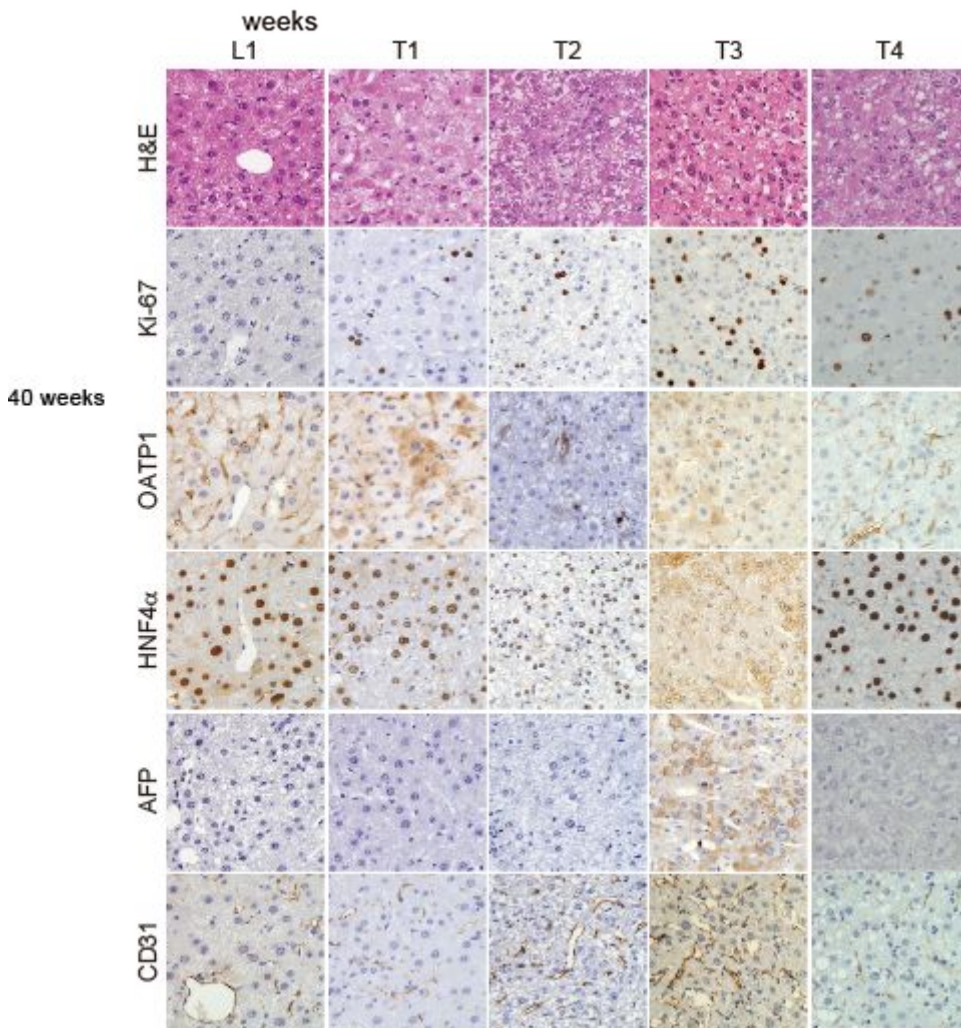
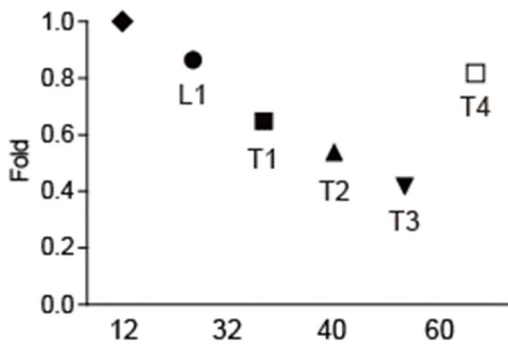
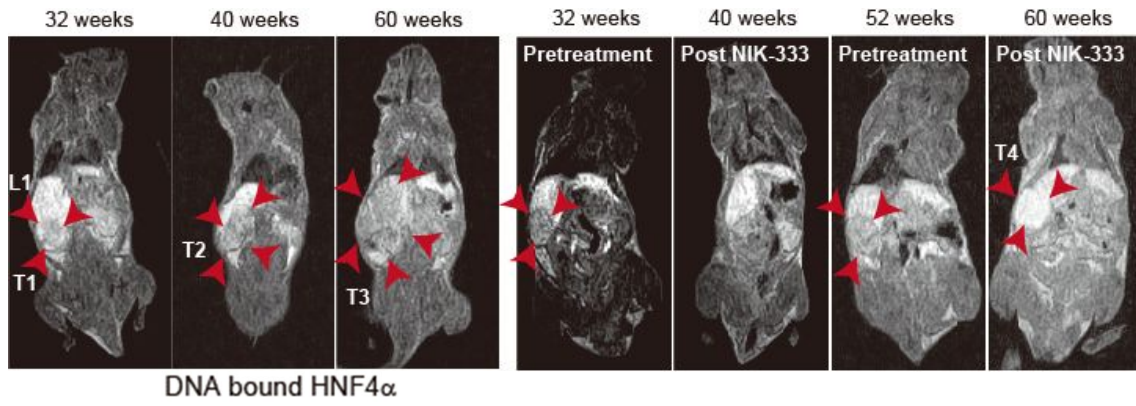
KH 細胞においては分子標的薬であるソラフェニブとそのフッ化産物であるレゴラフェニブに対する HNF4A 遺伝子発現変動に違いが認められ、ソラフェニブでは発現低下が生じるのに比べ、レゴラフェニブでは発現が亢進した。また、HDAC 阻害剤である SBHA 投与は AFP の発現抑制をもたらすが、同時に HNF4A 遺伝子発現を亢進させることも明らかになった。ソラフェニブ抵抗性クローンに対しレゴラフェニブは増殖抑制作用を示すことを我々は見出しており (Hashiba et al, CMGH 2020)、ソラフェニブとレゴラフェニブの作用の違いに HNF4A 遺伝子発現に与える影響がある可能性が示唆された。



また、脂質ライブラリーの探索を行ったところ、Lauric acid が polyprenonic acid に対し additive に HNF4A 分解を誘導することが明らかになった。



さらに、PDGF-C Tg マウスに対し OATP1B3 の発現低下により検出される EOB-MRI 低信号結節は polyprenonic acid 投与 2 か月で消失し、HNF4A の蛋白量の増加、HBE に対する結合活性の増加が認められた。



本研究成果により、極めて類似した構造をもつ分子標的薬や脂質であっても HNF4A に対する作用が異なる事が示され、HNF4A を標的とした新たな薬剤探索の可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 1. Shirasaki T, Honda M, Yamashita T, Nio K, Shimakami T, Shimizu R, et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 The osteopontin-CD44 axis in hepatic cancer stem cells regulates IFN signaling and HCV replication.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific reports.	6. 最初と最後の頁 2222-33
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-31421-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hashiba Tomomi, Yamashita Taro, et al.	4. 巻 20
2. 論文標題 Inactivation of Transcriptional Repressor Capicua Confers Sorafenib Resistance in Human Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 30039-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jcmgh.2020.02.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsuayoshi Suda, Taro Yamashita, Shuichi Kaneko,
2. 発表標題 1. Dickkopf-1 is a new molecular target for the treatment of hepatocellular carcinoma
3. 学会等名 AASLD Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----