

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 年度～2008 年度

課題番号：19590795

研究課題名 (和文) 肝癌由来増殖因子と受容体の発現・活性化調節による肝癌増殖の制御

研究課題名 (英文) Growth suppression of hepatocellular carcinoma by the regulation of the expression and activation of hepatoma-derived growth factor and its receptor

研究代表者：中村 秀次 (NAKAMURA HIDEJI)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20237423

研究成果の概要：

1. HDGF 受容体の同定と細胞内シグナル伝達機構の解析。

グルタチオンアガロースを用いてリコンビナント HDGF カラムを作成し、HuH-7 肝癌細胞の細胞抽出液をアプライし、よく洗浄後、グルタチオンで結合蛋白を溶出し、2 次元電気泳動にて解析した。HDGF 結合蛋白を質量分析にて同定した。既知の増殖因子受容体の一つを HDGF 受容体の候補として同定した。HDGF 受容体を欠損する細胞を用いて、HDGF 受容体を遺伝子導入した HDGF 受容体高発現株を作製した。HDGF 受容体高発現株細胞抽出液を用いた抗 HDGF 抗体による免疫沈降 (IP) 後、抗 HDGF 受容体抗体による Western blot、また抗 HDGF 受容体抗体による IP 後、抗 HDGF 抗体による blot にて、相互の結合を確認した。ヨードラベルした HDGF を用いて、HDGF 受容体高発現株および親株で Scatchard 解析し、HDGF の特異的結合を確認した。HDGF 受容体高発現株および肝癌細胞株を用いて、HDGF 投与により細胞増殖が促進されること、更に、HDGF 受容体蛋白がリン酸化され、細胞内の ERK がリン酸化されることを明らかにした。

2. HDGF 高発現、または発現低下により変動する遺伝子の解析。

HepG2 および SK-Hep-1 肝癌細胞を用いて、HDGF 高発現株、更に shRNA を用いて HDGF ノックダウン株を作成した。HDGF 高発現およびノックダウンした HepG2 肝癌細胞を用いて、細胞レベルおよびヌードマウスで形成される腫瘍における遺伝子発現変化を DNA chip にて解析した。細胞および形成された腫瘍において HDGF にて発現誘導されている遺伝子として 6 遺伝子、抑制される遺伝子として 4 遺伝子を明らかにした。

3. HDGF 発現抑制による in vivo での肝癌の増殖抑制の解析。

HDGFshRNA を用いて SK-Hep-1 細胞の HDGF ノックダウン細胞株を 2 クローン作成した。抗 HDGF 抗体にて HDGF 発現抑制を確認した。HDGFshRNA により HDGF をノックダウンした SK-Hep-1 細胞株を用いて、in vivo および in vitro で細胞増殖能を検討した。HDGF ノックダウン細胞は軟寒天培地での足場非依存性増殖能は抑制された。HDGF ノックダウン細胞では親株および Mock 細胞に比して、ヌードマウス皮下での腫瘍形成能が抑制された。以上より、HDGF 発現抑制により肝癌増殖を制御できる可能性が示唆された。

4. HDGF の Promoter 領域の解析。

HDGF 遺伝子の上流について、塩基長の異なる数種類の遺伝子を PCR にて獲得し、dual-luciferase vector に組み込み、HDGF の promoter 領域の dual-luciferase reporter assay 系を確立した。この HDGF promoter luciferase reporter assay 系を用いて、ビタミン K2 による HDGF 発現抑制が HDGF の promoter 領域に作用していること、その作用部位が -1~150 に存在することを明らかにした。更に、この HDGF promoter luciferase reporter assay 系にて、IFN により HDGF の発現が制御されることを明らかにした。HDGF の発現制御法を探索する上で重要である。

5. 肝癌患者血漿中 HDGF 濃度の測定。

我々が確立した HDGF ELISA 測定系を用いて、慢性肝疾患患者血漿中の HDGF 濃度を測定した。肝癌患者では、慢性肝炎、肝硬変患者に比し、有意に陽性率および血漿 HDGF 値が高値であった。肝癌のサイズが大きいほど、病期が進行するほど高値を示した。興味あることに、AFP 陰性肝癌の約半数に血漿 HDGF の上昇が認められた。血漿 HDGF は、特に AFP を補完する肝癌の腫瘍マーカーとして利用できる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝臓病学

1. 研究開始当初の背景

日本における肝臓の死亡率は第4位であり、年間35,000人の患者さんが肝臓により亡くなっている。インターフェロンの導入により肝臓の発生はかなり抑制されており、またRFAの導入により肝臓の治療成績および生存率が向上しているが、未だ十分とは言い難い。肝臓の新たな抑制法、および肝臓の新たな治療法の開発が期待されている。我々は、増殖因子、増殖因子受容体、更に細胞内シグナル伝達経路からのアプローチにより、肝臓の増殖メカニズムの解析を行い、新たな肝臓の増殖制御法の開発を目指して研究を行っている。今回、我々が発見した肝臓由来増殖因子HDGFを中心として、肝臓増殖におけるHDGFの作用機序をより詳細に解析することにより、HDGF-HDGF受容体シグナル系の制御システムの構築による肝臓増殖制御の新たな治療法の開発を目指した基礎的研究を行う。

我々は完全無血清培地にて増殖するヒト肝細胞由来培養株HuH-7の調整培地から線維芽細胞のDNA合成を促進する活性として新規なヒト肝臓由来増殖因子HDGFを精製し、そのcDNAをクローニングした(中村ら、JBC(1994))。HDGFは線維芽細胞のみならず、HuH-7細胞を含む数種の肝臓細胞の増殖を促進する活性を有している。HDGFは、肝がん培養上製中から発見されたが、いわゆる分泌シグナルを有しない。一方HDGF分子のC末端側に核移行シグナルが存在し、核に移行し核にも存在する。更に核に移行することにより増殖活性を発揮する、ことを報告してきた(貴島ら、JBC(2002), Everett, JBC(2001))。しかし、培養上製中に存在すること、細胞外から添加することにより増殖活性が認められることは事実であり、HDGFの受容体の存在も示唆されている(貴島ら、HGE(2002), Dietz, JBC(2005))。更に、HDGFのN末端約100アミノ酸配列に著しいホモロジー(HATH領域と言う。最近、このHATH領域内にPWPPドメインの存在が明らかにされた(Stec, FEBS Lett(2000))を有するHDGF関連蛋白の存在が明らかになり、HDGFはHDGFファミリーを形成する新しいタイプの増殖因子である(伊豆本ら、BBRC(1997))。

マウス肝臓自然発生モデルでの解析にて、肝臓におけるHDGF mRNAおよびHDGF蛋白の高発現と肝臓発生より先行する肝臓内でのHDGFの発現上昇を明らかにして、肝臓発生との関連性を明らかにした(吉田ら、JGH(2003))。HDGFを強制的に高発現させるとHepG2肝臓細胞は増殖速度が亢進し、アンチセンスHDGFによるHDGFの発現抑制にて肝臓細胞の増殖が抑制されることを明らかにし、HDGFが肝臓細胞の増殖を促進させることを証明した(貴島ら、JBC(2002), HGE(2002))。ヒト肝臓においても、肝臓周囲の慢性肝炎、肝硬変の肝臓組織に比べて肝臓においてHDGFが高発現していること、更に興味あることに、肝臓切除患者の予後の解析から、切除肝臓組織におけるHDGFの発現が肝臓の再発と生命予後と関連性を有することを明らかにした(吉田ら、ASO(2006), Hu, Cancer(2003))。すなわち、HDGF高発現の患者では再発率は高く、生命予後も悪い成績であり、HDGFは肝臓の再発、生存の独立した予後予測因子である。このことは、HDGFは肝臓の生物学的悪性度と関連していることを示唆している。肺癌細胞での解析でも、HDGF高発現にて癌細胞の浸潤能が亢進し、再発、生命予後と関連していることが報告されている(Zhang, Cancer Res(2006), 岩崎らOncol Rep(2005), Ren, JCO(2004))。また、HDGFは造腫瘍能を有し、HDGFを高発現するstable transformantsのNIH3T3細胞は、ヌードマウスで腫瘍を形成することを証明した(奥田ら、Cancer Sci(2005))。更に、HDGFはそれ自身の血管内皮細胞、血管平滑筋細胞の増殖促進活性(奥田ら、Cancer Sci(2005), Everett, JCI(2000), AJP(2004))のみならず、VEGFを誘導することを明らかにし(奥田ら、Cancer Sci(2005))、その両方の作用にて、血管新生、血管造成因子として肝臓の増殖に深く関与していることが示唆される。

以上より、HDGFは、肝臓の増殖、更に生物学的悪性度にも深く関与している、新しいタイプの因子であり、HDGFの発現制御、HDGFの活性発現の抑制は肝臓の治療に応用できる可能性が強く示唆される。

2. 研究の目的

肝癌由来増殖因子 HDGF は、我々が発見し、クローニングした新しいタイプの増殖因子である。HDGF 受容体は未だ発見されておらず、細胞内シグナル伝達および核内における作用発現機序も解明されていない。以上より本研究では主として以下の5点について解析する。

1. HDGF 受容体の同定と細胞内シグナル伝達機構を解明する。
2. HDGF の promoter 領域の解析を行い、HDGF の誘導機構を解析する。
3. HDGF 高発現により誘導される遺伝子、HDGF 発現低下により誘導および抑制される遺伝子を解析し、HDGF により制御されている遺伝子を解析する。
4. HDGF 発現抑制により *in vivo* での肝癌の増殖が抑制されるかどうか解析する。
5. 肝癌患者血漿中 HDGF 濃度を測定して、血漿中 HDGF の臨床的意義を解析する。

肝癌由来増殖因子 HDGF は、我々が発見し、クローニングした新しいタイプの増殖因子である。HDGF 受容体は未だ発見されておらず、細胞内シグナル伝達および核内における作用発現機序も解明されていない。HDGF promoter 領域の解析から HDGF の誘導機構が明らかとなり、また HDGF 受容体が同定され、肝癌における HDGF のシグナル伝達機構が明らかとなれば、HDGF の発現制御および活性発現抑制による新たな肝癌の増殖制御方法の開発が可能になるものと思われる。

3. 研究の方法

- (1) プル・ダウン法による HDGF 結合蛋白の分離。
- (2) 質量分析による蛋白の同定。
- (3) 免疫沈降・ウェスタンブロット法。
- (4) HDGF 受容体高発現株のクローニング。
- (5) HDGF・HDGF 受容体の Scatchard 解析。
- (6) HDGF 高発現肝癌細胞のクローニング。
- (7) HDGF ノックダウン肝癌細胞のクローニング。
- (8) HDGF 高発現肝癌細胞、HDGF 発現抑制肝癌細胞の足場非依存性コロニー形成の測定。
- (9) HDGF 高発現肝癌細胞、HDGF 低発現肝癌細胞のヌードマウスにおける腫瘍形成能の測定。
- (10) HDGF promoter region のクローニング。
- (11) HDGF promoter reporter assay 法の確立と dual-luciferase reporter assay による HDGF promoter 活性の測定。
- (12) 肝癌患者血漿中の血漿 HDGF 値の測定。患者さんには文書あるいは口頭で説明して、了解を得た後測定した。

4. 研究成果

- (1) HDGF 受容体の同定と細胞内シグナル伝達機構の解析。
 - ① HDGF 受容体の同定。グルタチオンアガロースを用いてリコンビナント HDGF カラムを作成し、HuH-7 肝癌細胞の cell lysate をアブライシ、十分に洗浄後、グルタチオンで HDGF と結合蛋白を溶出し、2 次元電気泳動にて解析した。HDGF 結合蛋白を質量分析にて同定した。既知の増殖因子受容体の一つが HDGF 受容体の候補として同定された。体の候補として同定された。
 - ② HDGF と HDGF 受容体の結合の確認。

HuH-7 細胞の細胞抽出液を用いて、免疫沈降 (IP)・Western blot 法を行った。すなわち、抗 HDGF 抗体による IP 後抗 HDGF 受容体抗体による Western blot、また抗 HDGF 受容体抗体による IP 後抗 HDGF 抗体による Western blot にて、相互に結合することを確認した。次に、HDGF 受容体を欠損する細胞を海外より供与を受け、HDGF 受容体を遺伝子導入した HDGF 受容体高発現株をクローニングした。この作製した HDGF 受容体高発現株を用いて、HDGF 受容体と HDGF の特異的結合をヨードラベルした HDGF を用いて Scatchard 解析した。HDGF 受容体欠損親株をネガティブコントロールとして使用した。HDGF と HDGF 受容体との結合は高親和性結合であり (Kd : 2.3-2.4pM)、HDGF は HDGF 受容体の Ligand として作用していることを確認した。

③ HDGF 受容体のリン酸化。HDGF 受容体高発現株 (L6-HDGF-R) および HuH-7 細胞を用いて、HDGF 受容体のリン酸化の有無を検討した。リコンビナント HDGF 100ng/ml 投与後の Cell lysate を抗 HDGF 受容体抗体にて免疫沈降後抗リン酸化チロシン (p-Tyr) 抗体を用いて Western blot 法にて解析した。HDGF 受容体は HDGF 投与により有意に Tyr のリン酸化が認められた。

④ 細胞内シグナル伝達機構の解析。細胞内受容体以降の MAP kinase の活性化について検討した。HuH7 細胞を用いて、HDGF 投与後経時的に ERK1/2 のリン酸化を、抗 ERK1/2 抗体で免疫沈降後抗 p-ERK1/2 抗体 Immunoblot 法にて検討した。HDGF 投与後 10 分をピークとして ERK1/2 はリン酸化された。

⑤ HDGF 受容体を介した細胞増殖活性。HDGF 受容体高発現株と Mock 細胞を用いて、リコンビナント HDGF 投与による細胞増殖能を検討した。Mock 細胞は HDGF 添加しても細胞数にほとんど変化を示さなかったが、HDGF 受容体高発現株は HDGF 投与により濃度依存的に細胞増殖が促進された。

以上より、今回同定された HDGF 受容体は HDGF を Ligand とすること、HDGF によりリン酸化されること、更に引き続いて細胞内の ERK もリン酸化されるシグナル伝達機構が存在すること、が明らかとなった。

(2) HDGF 高発現、または発現低下により変動する遺伝子の解析。HDGF 高発現 HepG2 肝癌細胞を用いて、細胞レベルおよびヌードマウスで形成される腫瘍における遺伝子発現変化を DNA chip にて解析した。HDGF 高発現 HepG2 肝癌細胞はヌードマウスで豊富な血管誘導を伴う腫瘍形成の亢進を示した。In vitro および in vivo において発現誘導される遺伝子として 6 遺伝子、抑制される遺伝子として 4 遺伝子が認められた。3 倍以上発現誘導された遺伝子としては Chitinase 3-like 2, Plasminogen activator (urokinase, u-PA), Coagulation factor II receptor (F2R), Matrix metalloproteinase 1, Platelet-derived growth factor alpha (PDGF-A), Ankyrin 1 であり、一方発現抑制された遺伝子は Connective tissue growth factor 他 3 遺伝子であった。増殖因子および受容体に限れば、細胞レベルでは大きな変化はないがヌードマウスで形成された腫瘍で発現誘導されていた遺伝子は、上記の PDGF-A と Tyrosine kinase with Ig and

EGF-like domains (Tie-1), Amphiregulin (Schwannoma-derived growth factor), Axl receptor tyrosine kinase, Bone morphogenic protein 6 (BMP6), Leukemia inhibitory factor (LIF), EphA2 (epithelial cell receptor protein tyrosine kinase)の7遺伝子であった。HDGFがこれら遺伝子を発現誘導あるいは抑制するメカニズムは未だ解明されていないが、HDGFがこれらの遺伝子の発現変化を介して癌細胞の増殖、悪性能に深く関与していることが示唆される。

(3) HDGF発現抑制による *in vivo* での肝癌増殖抑制の解析。HDGFshRNAを用いてSK-Hep-1細胞のHDGFノックダウン細胞株を2クローン(sh1, sh3)作成した。抗HDGF抗体にてHDGF蛋白の発現はsh1で64%、sh3で40%抑制されていた。

① HDGFノックダウンSK-Hep-1細胞株の *in vitro* における細胞増殖能の検討。HDGFノックダウン細胞の10%FCS存在下での細胞増殖能はMock細胞に比し、sh1で約35%、sh3で11%抑制された。更にHDGFノックダウン細胞の軟寒天培地でのコロニー形成能を検討した。HDGFノックダウン細胞sh1はMock細胞に比し足場非依存性コロニー形成能は有意に(約50%)抑制された。

② HDGFノックダウンSK-Hep-1細胞株およびHepG2細胞株の *in vivo* における腫瘍増殖能の検討。HDGFノックダウン細胞をヌードマウス皮下に接種して経時的に腫瘍形成能を測定した。HDGFノックダウン細胞ではMock細胞に比し、ヌードマウスでの腫瘍形成が有意に(50~80%)抑制された。

以上より、HDGF発現抑制により肝癌増殖を制御できる可能性が示唆された。

(4) HDGFのPromoter領域の解析。

HDGF遺伝子の5'上流について、塩基長の異なる数種類の遺伝子をPCRにて獲得し、HDGF promoter regionをクローニングした。これら遺伝子をdual-luciferase vectorに組み込み、HDGFのpromoter領域のdual-luciferase reporter assay系を確立した。このHDGF promoter luciferase reporter assay系を用いて、ビタミンK2によるHDGF発現抑制がHDGFのpromoter領域に作用して(或いは、介して)いること、更にその作用部位が-1~150に存在することを明らかにした。また、IFN投与によりHDGFの発現が抑制されることを明らかにした。今後、HDGFを発現抑制する薬剤が更に明らかになれば、HDGFを選択的に発現制御する薬剤デザインも可能となることが推測され、新たなHDGFの発現制御法を思索する上で重要であると思われる。

(5) 肝癌患者血漿中HDGF濃度の測定。我々はヒト血漿中のHDGF濃度のELISA測定系を確立した。確立したHDGF ELISA測定系を用いて、慢性肝疾患患者血漿中HDGF濃度を測定した。肝癌症例132例(C型109例、B型14例、NBNC7例)で測定した。血漿HDGF値0.3ng/ml以上を陽性とした。血漿HDGF陽性率は全症例で40.2%であり、Stage III/IV(陽性率52.7%、平均値1.806 ng/ml)ではStage I/II(31.2%、0.762 ng/ml)に比し有意に陽性率が高く、高値を示した($p=0.013$)。画像上単発肝癌62例での検討にて、陽性率には有意な差を認めなかったが(26.7%、30.0%)、血漿HDGF値では腫瘍径30mm以下0.858 ng/ml、30mm以上3.264

ng/mlであり、30mm以上では有意に高値を示した($p=0.044$)。血漿HDGF値は腫瘍径の増大に伴い高値を示した。一方、血漿HDGF値と血清AFP値およびAFP-L3分画との間に相関は認められない。AFP陰性でも血漿HDGF値の陽性例が存在し、AFP陰性症例27例中13例(48.1%)で陽性を示した。AFP陰性症例での血漿HDGF値(平均1.969 ng/ml)はAFP陽性例のHDGF値(平均0.998 ng/ml)より高い傾向であった。AFPのカットオフ値を100 ng/mlとした場合、AFP 100 ng/ml以上での血漿HDGF陽性率42.9%に対し、100 ng/ml以下でも38.1%の陽性率を示した。一方、AFP上昇症例105例中65例(61.9%)で血漿HDGFは陰性であった。更に、血漿HDGF値と血清PIVKA-IIとの間にも相関は認められない。PIVKA-II陰性症例63例中21例(33.3%)で血漿HDGF値の上昇を認めた(平均値0.724 ng/ml)。一方、PIVKA-II上昇症例52例中21例(40.4%)で血漿HDGFは陰性であり、血漿HDGF値はPIVKA-II陽性症例で高値(平均値1.732 ng/ml)を示す傾向であった。血清AFPおよびPIVKA-II両者とも陰性症例17例中では8例(47.1%)が血漿HDGF値の上昇を示した。血漿HDGF平均値は2.20 ng/mlであり、Stage Iが3例、Stage IIが3例であった。

以上より、肝癌患者では、慢性肝炎、肝硬変患者に比し、有意に陽性率および血漿HDGF値が高値であった。腫瘍サイズが大きいほど、病期が進行するほど血漿HDGFは高値を示した。肝癌患者、特にStage I, IIの肝癌患者ではAFP陰性症例は15~20%存在する。これらAFP陰性肝癌の約半数に血漿HDGFの上昇が認められたことより、特に早期肝癌症例において、血漿HDGF値はAFPとPIVKA-IIを補完する腫瘍マーカーとして肝癌の診断に有用であると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計10件)

1) Yamamoto T, Nakamura H, Liu W, Cao K, Yoshikawa S, Enomoto H, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iijima H, Hada T, Nishiguchi S. Involvement of hepatoma-derived growth factor in the growth inhibition of hepatocellular carcinoma cells by vitamin K2. *J Gastroenterol*, 44(3), 228-235, 2009. (査読有)

2) Salvi M, Sarno S, Cesaro L, Nakamura H, Pinna LA. Extraordinary pleiotropy of protein kinase CK2 revealed by weblogo phosphoproteome analysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1793, 847-859, 2009. (査読有)

3) Enomoto H, Nakamura H, Liu W, Yamamoto T, Okuda Y, Yoshida K, Imanishi H, Saito M, Shimomura S, Nishiguchi S. Hepatoma-derived growth factor is induced in liver regeneration. *Hepatol Res*, 2009, in press. (査読有)

4) Liu W, Nakamura H, Deng H, Enomoto H, Yamamoto T, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Nishiguchi S. A higher expression of hepatoma-derived growth factor in hepatocellular carcinoma cells and more tumor growth *in vivo*. *Trends in Cancer Research*, 2009, in press. (査読有)

5) Nakamura H, Liu W, Enomoto H. Role of Hepatoma-derived Growth Factor in Cancer.

Trends in Cancer Research, 2009, in press. (査読有)

6) 榎本平之, 中村秀次, 今西宏安, 康典利, 岩田恵典, 齋藤正紀, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 胎生期未分化肝細胞の増殖における HDGF (Hepatoma-derived growth factor) の役割. 消化器疾患における Translational Research, アークメディア, 229-230, 2008. (査読無)

7) Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, Morii E, Yasuda T, Doki Y, Aozasa K, Uyama H, Nakamura H, Monden M. Expression Level of Hepatoma-Derived Growth Factor Correlates with Tumor Recurrence of Esophageal Carcinoma. Ann Surg Oncol, 14, 2141-2149, 2007. (査読有)

8) Liu W, Nakamura H, Yamamoto T, Ikeda N, Saito M, Ohno M, Hara N, Imanishi H, Shimomura S, Yamamoto T, Sakai, T, Nishiguchi S, Hada T. Vitamin K2 inhibits the proliferation of HepG2 cells by up-regulating the transcription of p21 gene. Hepatol Res, 37, 360-365, 2007. (査読有)

9) Uyama H, Nagano H, Nakamura H, Murakami T, Nakamura H, Monden M, Hayashi N. New chemotherapy for patients with advanced hepatocellular carcinoma: Pilot study of beta-interferon and doxorubicin one-shot intra-arterial chemotherapy. Hepatol Res, 37, 1018-1025, 2007. (査読有)

10) Uyama H, Nakamura H, Hayashi E, Ogawa H, Enomoto H, Yoshida K, Okuda Y, Yamamoto M, Hada T, Hayashi N. Triple therapy of initial high-dose interferon with ribavirin and amantadine for patients with chronic hepatitis C. Hepatol Res, 37, 325-330, 2007. (査読有)

[学会発表] (計 20 件)

1. 榎本平之, 中村秀次, 今西宏安, 康典利, 岩田恵典, 齋藤正紀, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 肝細胞癌の増殖における HDGF (Hepatoma-derived growth factor) の役割. 国際科学振興財団 第 16 回浜名湖シンポジウム, 12. 20-21, 浜松, 2008.

2. 中村秀次, 山本晃久, 劉衛東, 榎本平之, 岩田恵典, 康典利, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平, 村口正宏, 大本安一. 肝癌患者血漿中の HDGF 濃度の測定. 第 67 回 日本癌学会学術総会, 10. 28-30, 名古屋, 2008.

3. Nakamura H, Yamamoto T, Liu W, Enomoto H, Yoshikawa S, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iijima H, Nishiguchi S. Involvement of hepatoma-derived growth factor in the growth inhibition of hepatocellular carcinoma cells by vitamin K2. 59th AASLD The Liver Meeting 2008, 10.31-11.4, SanFrancisco, 2008.

4. Enomoto H, Nakamura H, Liu W, Yamamoto T, Imanishi H, Koh N, Iwata Y, Saito M, Shimomura S, Iijima H, Nishiguchi S. Involvement of hepatoma-derived growth factor (HDGF) in the proliferation of hepatoma cells. 59th AASLD The Liver Meeting 2008, 10.31-11.4, SanFrancisco, 2008.

5. 榎本平之, 中村秀次, 西口修平. 未分化幹細胞の増殖因子 Hepatoma-derived growth factor は, oval cell に発現しその増殖に関与する. (シンポジウム) 第 12 回日本肝臓学会大会, 10. 1 - 4, 東京, 2008.

6. 劉衛東, 中村秀次, H. Deng, 山本晃久, 吉

川昌平, 岩田恵典, 榎本平之, 康典利, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 肝癌細胞に対する HDGF の抗アポトーシス活性. 第 12 回日本肝臓学会大会, 10. 1 - 4, 東京, 2008.

7. 中村秀次, 山本晃久, 榎本平之, 吉川昌平, 片瀬竜司, 池田直人, 秦一美, 坂井良行, 岩田恵典, 康典利, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 肝癌患者における肝癌由来増殖因子 HDGF の血漿濃度の測定意義. 第 44 回日本肝臓学会総会, 6. 5-6, 愛媛, 2008.

8. 劉衛東, 中村秀次, 山本晃久, 吉川昌平, 榎本平之, 康典利, 岩田恵典, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. ビタミン K2 による肝癌細胞の Tyro 3 受容体の発現抑制. 第 44 回日本肝臓学会総会, 6. 5-6, 愛媛, 2008.

9. 榎本平之, 中村秀次, 山本晃久, 劉衛東, 今西宏安, 齋藤正紀, 吉川昌平, 坂井良行, 山田天輔, 中野宏明, 片瀬竜司, 池田直人, 秦一美, 岩田恵典, 康典利, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. Hepatoma-derived growth factor (HDGF) の肝癌細胞増殖促進作用. 第 44 回日本肝臓学会総会, 6. 5-6, 愛媛, 2008.

10. Liu W, Nakamura H, Yamamoto T, Enomoto H, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iijima H, Nishiguchi S. Role of tyro 3 receptor in the cell proliferation by hepatoma-derived growth factor. 18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 3.23-26, Seoul, Korea, 2008.

11. Yoshikawa S, Iijima H, Nakano H, Yamada D, Sakai Y, Katase R, Hata H, Enomoto H, Ikeda N, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Nakamura H, Tsujimura T, Hirota S, Nishiguchi S. Diagnosis of hepatic tumor with kupper imaging using sonazoid and levovist. 18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 3.23-26, Seoul, Korea, 2008.

12. Koh N, Yamada D, Nakano H, Sakai Y, Katase R, Yoshikawa S, Yamamoto T, Hata H, Ikeda N, Iwata Y, Enomoto H, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iijima H, Nakamura H, Kim SR, Nishiguchi S. The prevention of hepatocarcinogenesis of the patients with 1b genotype and high viral load by long-term natural interferon alpha sequential therapy after peg-interferon α -2b/ribavirin combination therapy. 18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, 3.23-26, Seoul, Korea, 2008.

13. 榎本平之, 中村秀次, 西口修平. 新規増殖因子 Hepatoma-derived growth factor (HDGF) 肝癌増殖における役割. (シンポジウム) 第 88 回日本消化器学会近畿支部例会, 2. 16, 大阪, 2008.

14. 劉衛東, 中村秀次, 曹科, 山本晃久, 康典利, 岩田恵典, 榎本平之, 今西宏安, 齋藤正紀, 下村壯治, 西口修平. HDGF の肝癌細胞増殖促進における Tyro3 受容体の関与. 第 37 回日本肝臓学会西部会, 12. 7-8, 長崎, 2007.

15. 榎本平之, 中村秀次, 西口修平. Hepatoma-derived growth factor による腫瘍増殖と血管新生の関連についての検討. 第 11 回日本肝臓学会大会, 10. 18, 神戸, 2007.

16. 中村秀次, 山本晃久, 榎本平之, 吉川昌平, 池田直人, 秦一美, 康典利, 原直樹, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西口修平, 村口正宏, 大本安一. 肝病患者血漿中の肝癌由来増殖因子 HDGF 濃度の測定. 第 11 回日本肝臓学会大会, 10. 18-19, 神戸, 2007.
17. 山本晃久, 中村秀次, 曹科, 劉衛東, 吉川昌平, 榎本平之, 康典利, 原直樹, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. ビタミン K2 による肝がん由来増殖因子 HDGF の発現制御機序の解析. 第 11 回日本肝臓学会大会, 10. 18-19, 神戸, 2007.
18. 山本晃久, 中村秀次, 劉衛東, 曹科, 吉川昌平, 榎本平之, 岩田恵典, 康典利, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西口修平. Regulation of Hepatoma-derived Growth Factor Expression by Vitamin K2. 第 66 回日本癌学会学術総会, 10. 3-5, 横浜, 2007.
19. 曹科, 劉衛東, 中村秀次, 山本晃久, 榎本平之, 吉川昌平, 康典利, 岩田恵典, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西口修平. Vitamin K2 suppresses the expression of fibroblast growth factor receptor 3 in Hepatocellular carcinoma cells. 第 66 回日本癌学会学術総会, 10. 3-5, 横浜, 2007.
20. 劉衛東, 中村秀次, 周小輝, 曹科, 山本晃久, 今西宏安, 齋藤正紀, 原直樹, 榎本平之, 吉川昌平, 下村壯治, 西口修平. ビタミン K2 による肝細胞癌の PDGF 受容体 alpha の発現抑制. 第 43 回日本肝臓学会総会, 5. 31-6. 1, 東京, 2007.
- [図書] (計 5 件)
- 1) Nakamura H, Yoshida K, Tomita Y. Hepatocellular carcinoma: Prognosis using hepatoma-derived growth factor immunohistochemistry. Methods of Cancer Diagnosis, Therapy and Prognosis, M.A. Hayat (Ed.), Elsevier/Academic Press, Vol. V, Chapter 26, p333-342, 2009.
- 2) Nakamura H. Impact of hepatoma-derived growth factor on hepatocellular carcinoma. Current Research in Hepatology, Research Media, Vol. 2, 45-56, 2008.
- 3) Tomita Y, Uyama H, Nakamura H. Pancreatic cancer: Hepatoma-derived growth factor as a prognostic factor. Methods of Cancer Diagnosis, Therapy and Prognosis, M.A. Hayat (Ed.), Elsevier/Academic Press, Vol. III, Chapter 18, p183-189, 2008.
- 4) Nakamura H. Hepatoma-derived growth factor in cancer development and progression. Research Advances in Cancer, Global Research Network (GRN), 7, 91-100, 2007.
- 5) Iwasaki T, Kawahara K, Nakamura H, Nakagawa K. Expression of hepatoma-derived growth factor in thoracic malignancy: Non-small-cell lung cancer, malignant pleural mesothelioma and thymoma. Tumor Markers Research Focus, D.H. Chang (Ed.), Nova Biochemical Books, Nova Science Publishers, New York, 33-46, 2007.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 新規肝癌マーカー

発明者: 中村秀次、大本安一、村口正宏、藪内洋一、森豊樹、大神圭子、岩田房子、村田

香

権利者: 兵庫医科大学、大塚製薬株式会社

種類: 特許

番号: 特願 2007-209544

出願日: 平成 19 年 8 月 10 日国内出願、

平成 20 年 8 月外国出願)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村秀次 (NAKAMURA HIDEJI)

兵庫医科大学 医学部 准教授

研究者番号: 20237423

(2) 研究分担者

今西宏安 (IMANISHI HIROYASU)

兵庫医科大学 医学部 講師

研究者番号: 60340957

榎本平之 (ENOMOTO HIRAYUKI)

兵庫医科大学 医学部 助教

研究者番号: 40449880