

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08377

研究課題名（和文）EGFRをターゲットとする新規アプローチを用いたNASH発癌予防法の開発

研究課題名（英文）The development of NASH-HCC prevention targeting EGFR

研究代表者

榎村 敦詩（Umemura, Atsushi）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：30759585

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：代表的な癌シグナルであるEGFRシグナルは慢性肝障害で活性化しており、EGFRを標的としたNASH肝癌予防法を探索した。まず抗癌作用が報告されているホノキオールHNKに着目した。NASH肝癌マウスにHNKを投与したところ、著明な発癌抑制効果を認めた。さらにヒト肝臓検体の解析により、NASH進行例および肝癌症例ではEGFRの分解機構であるGR-MIG6が低下しEGFRシグナルが促進していること、HNKがGR-MIG6を活性化しうることを示した。さらにHNKは線維化進展を抑制しうることを見出した。ドラッグリポジショニングの観点で、臨床に貢献できる知見を得ることができたと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝癌は一度発症すると、再発を繰り返す難治性で予後不良の代表疾患である。正常肝から発症することはまれであり、ウイルス性肝炎や脂肪肝などが進行し、肝硬変を代表とする線維化の進行した状態から肝癌することが一般的である。本研究は、癌シグナルとしてよく知られるEGFRシグナルが、NASH肝で線維化が進行するとともに活性化する可能性、ならびに漢方薬として内服することができる天然化合物ホノキオールが肝癌のみならず、背景肝にも効果を発揮することでNASH肝癌の治療ならびに発癌予防に繋がる可能性を示したことで、学術的のみならず、社会的意義も大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Since EGFR signaling, a representative cancer signal, is activated in chronic liver injury, we searched for a method to prevent hepatocarcinogenesis by targeting EGFR. First, we focused on honokiol (HNK), which has been reported to have anticancer activity, and found that administration of HNK to NASH hepatocellular carcinoma (HCC) mice resulted in marked inhibition of carcinogenesis. Furthermore, analysis of human liver samples showed that GR-MIG6 was decreased and EGFR signaling was promoted in advanced NASH and HCC cases, and that HNK could activate GR-MIG6 in these cases. In addition, we found that HNK can inhibit fibrosis progression in the liver. We believe that we have obtained knowledge that can contribute to clinical practice in terms of drug repositioning.

研究分野：消化器内科学、薬理学

キーワード：EGFR 肝癌 慢性肝障害 Glucocorticoid receptor ERRF11 MIG6 NASH ホノキオール

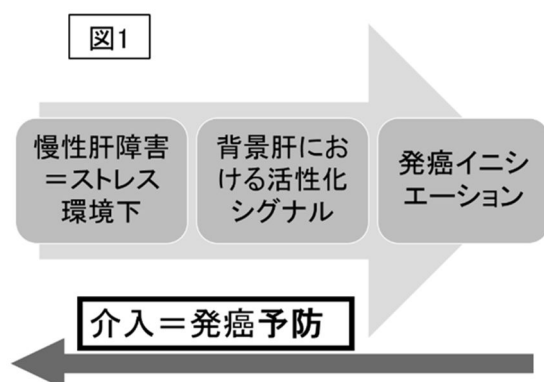
1. 研究開始当初の背景

これまで慢性肝疾患の主体であったウイルス肝炎、特に C 型肝炎は、患者の高齢化や、高率に著効する抗ウイルス薬の登場などにより患者数が減少している。一方で、メタボリック症候群に伴う NAFL (Non-alcoholic fatty liver; 非アルコール性脂肪肝) 患者や、さらに炎症および線維化や肝細胞の風船様腫大などの病像が加わった NASH (Non-alcoholic steatohepatitis; 非アルコール性脂肪肝炎) 患者が増加している。なかでも肝硬変や肝癌に至る可能性がある NASH は、生活習慣病の蔓延とともに増加の一途にあり、慢性肝疾患の主役となった。また、これまで主体であった C 型肝炎からの肝癌患者が減少に転じ、NASH 肝癌が主体と考えられる非 B 非 C 肝癌が増加している。しかしながら、確立した NASH 肝癌の治療・予防法はない。これは、NASH および発癌の病態解明が不十分であるためと考えられ、基礎的検討および臨床検討の両者を併せた研究による新たなアプローチ法の開発が望まれる。

申請者らがこれまでに行ってきた NASH 肝癌モデルマウスの解析結果から、肝発癌における EGFR シグナルの重要性に着目した。EGFR シグナルは慢性肝疾患で広く活性化しており、MET シグナルとともに肝再生・肝機能維持に必須のシグナルである。また、EGFR をターゲットとする分子標的治療薬は、肺癌など多くの癌で臨床応用されている。肝癌では約 60% で活性化しているとの報告もあるが、進行した肝癌に対する EGFR 阻害薬の臨床試験はこれまで成功していない。

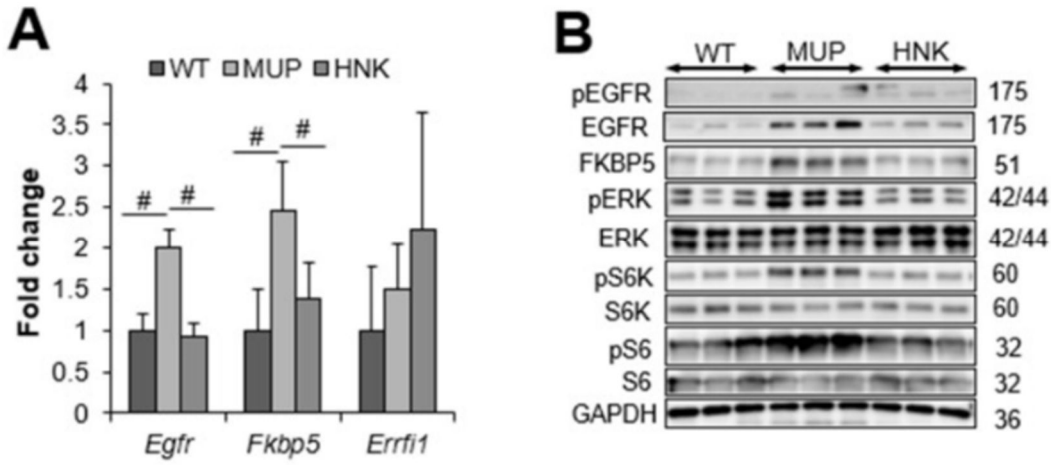
2. 研究の目的

肝癌の原因として重要で、かつ現在世界的に増加中の NASH について、その病態解明を通じて発癌予防法を開発することを目的とした。ほぼすべての肝癌は慢性肝疾患から発症するため、本検討では背景肝、つまり線維化進展や肝硬変に着目して解析することにより、新規アプローチによる発癌予防法の開発を目指した(図1)。本研究は、背景肝における EGFR の活性化が発癌イニシエーションに関わることに初めて着目した検討であり、天然化合物による EGFR 抑制という新規アプローチにより、NASH に対する発癌予防法の確立を目標とするものである。



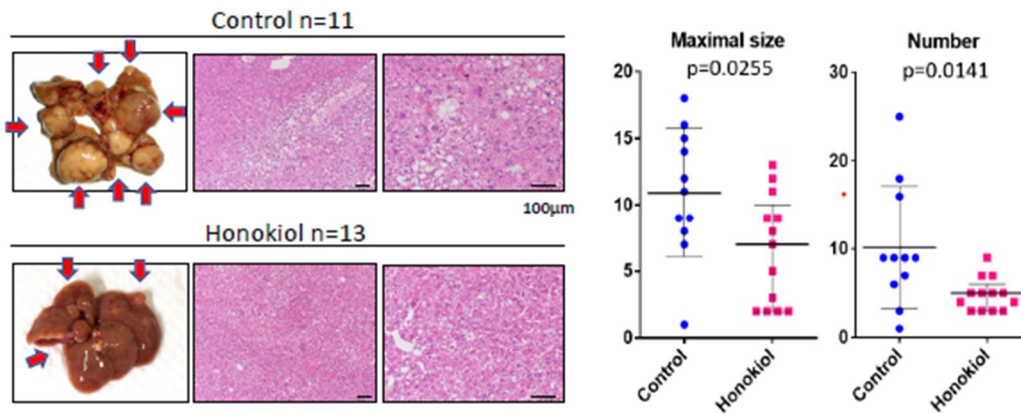
3. 研究の方法

本研究では、以前より申請者らが使用し報告してきた、自然発癌を含めヒト NASH を模倣する独自性の高いマウスモデルを用いる。MUP-uPA トランスジェニックマウスは、肝細胞で発現する Major urinary protein (MUP) プロモーター下に urokinase-type plasminogen activator (uPA) を発現し、強い小胞体ストレスが誘導される。このマウスに高脂肪食を摂食させることにより、経時的に脂肪肝炎から線維化進展を来し、肝癌を自然発症する。肝細胞の風船様腫大、炎症性サイトカインの上昇等、ヒト NASH を模倣した病像を呈するこのモデルにより、小胞体ストレスが NASH 発症の主要因であること、TNF が NASH の進展や発癌に強く関与することを初めて明らかにした。また、NASH 背景肝について解析を行ったところ、EGFR (Epidermal growth factor receptor) の発現が亢進していることを見出した。

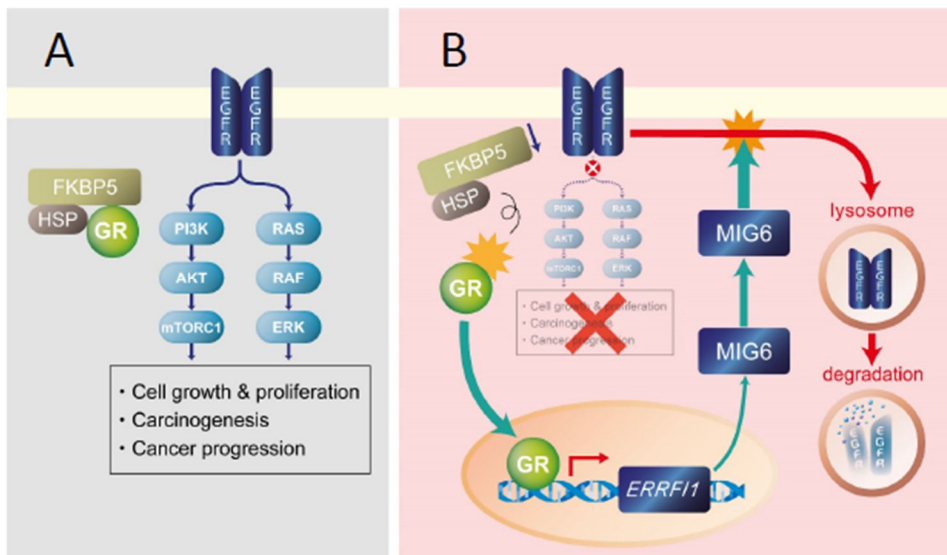


EGFR シグナルは慢性肝障害で高率に活性化し、発癌イニシエーションに関与すると推定されることから、EGFR をターゲットとした肝癌予防法を探索することにした。

発癌予防には、分子標的治療薬などの抗癌剤ではなく、安全に摂取できる天然化合物などが望ましい。そこで化合物検索を行ったところ、ホノキオールという木蓮から抽出され、漢方薬で使用されるコウボクの主成分が抗癌作用を持つと報告されていることに着目した。自然発癌する NASH 肝癌マウスに対し、8 ヶ月齢から 2 ヶ月間にわたり、ホノキオールを週 3 回腹腔内投与したところ、著明な発癌抑制効果を認めた。



次に非癌部の RNA およびタンパク質レベルの EGFR 発現を確認したところ、いずれも顕著に抑制されていた。さらに興味深いことに、ホノキオールが GR-MIG6 を中心とする EGFR 分解機構を促進することを見出した。



4. 研究成果

ヒト肝癌に見られる EGFR 変異は低頻度であることから、EGFR を高発現する肝癌の多くは変異以外の EGFR 活性化機構を獲得していると想定される。MET と共に EGFR は慢性肝障害で活性化し、いずれかのシグナルを抑制すると肝再生不良となることが報告されており、背景肝における EGFR の役割に注目した。EGFR シグナルは慢性肝障害で高率に活性化し、発癌イニシエーションに関与すると推定されることから、EGFR をターゲットとした肝癌予防法を探索することにした。まず、ホノキオールという木蓮から抽出され、漢方薬で使用されるコウボクの主成分が抗癌作用を持つと報告されていることに着目し肝癌にも応用できることを示した。さらに自然発癌する NASH 肝癌マウスに対しホノキオールを投与したところ、著明な発癌抑制効果を認めた。臨床的意義を検討するため行ったヒト肝サンプルの解析結果より、NASH 進行例および肝癌症例では GR-MIG6 を中心とする分解機構の発現低下により EGFR シグナルが促進し発癌リスクが上昇している可能性を明らかにした。

また申請者の検討で EGFR は、NASH 背景肝で活性化していることから、発癌のイニシエーションを担うことが示唆され、発癌予防のターゲットになりうることが判明した。天然化合物ホノキオールが EGFR シグナルを阻害し、生体動物モデルへの投与により肝発癌が抑制されることを見出した。さらに実験系からはホノキオール投与により GR-MIG6 系が活性化することにより EGFR を抑制する可能性が示され、将来の肝癌発症予防に繋がる知見を創出することができたと考えられる。

最終年度は、ホノキオールが発癌前の病態である肝線維化に対し効果を示すかどうかについて検討した。結果、肝星細胞の活性を阻害することで、マウス線維化進展を抑制しうることを見出した。ホノキオールは漢方薬として NASH を含む慢性肝疾患患者に安全に投与することが可能であり、肝線維化進展および肝発癌を抑制する効果を期待することができる。ドラッグリポジショニングの観点で、臨床に貢献できる知見を得ることができたと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okuda Keiichiro, Umemura Atsushi, Umemura Shiori, Kataoka Seita, Taketani Hiroyoshi, Seko Yuya, Nishikawa Taichiro, Yamaguchi Kanji, Moriguchi Michihisa, Kanbara Yoshihiro, Arbiser Jack L., Shima Toshihide, Okanoue Takeshi, Karin Michael, Itoh Yoshito	4. 巻 13
2. 論文標題 Honokiol Prevents Non-Alcoholic Steatohepatitis-Induced Liver Cancer via EGFR Degradation through the Glucocorticoid Receptor/MIG6 Axis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1515-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13071515	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 該当する

1. 著者名 Kataoka S, Umemura A, Okuda K, Taketani H, Seko Y, Nishikawa T, Yamaguchi K, Moriguchi M, Kanbara Y, Arbiser JL, Shima T, Okanoue T, Itoh Y.	4. 巻 22
2. 論文標題 Honokiol Acts as a Potent Anti-Fibrotic Agent in the Liver through Inhibition of TGF- β 1/SMAD Signaling and Autophagy in Hepatic Stellate Cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222413354	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 榎村 敦詩
2. 発表標題 治療・予防法の確立を目指したNASH背景肝における発癌機構の解明
3. 学会等名 第56回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 榎村 敦詩
2. 発表標題 EGFRをターゲットとしたNASH発癌予防法の探求
3. 学会等名 第55回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	University of California, San Diego	Emory University	