

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09095

研究課題名（和文）NASH肝癌切除後における再発促進の機序解明に関する研究

研究課題名（英文）Mechanism of recurrence progression after hepatectomy in non-alcoholic steatohepatitis

研究代表者

山田 眞一郎（YAMADA, Shinichiro）

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：30579884

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)における肝発癌促進の機序解明を目指す、NASHにおける病態解明に繋げることである。まずNASH発癌モデル作成を試みたが、線維化を伴う脂肪肝のみで発癌を認めなかった。このモデルは作成に長期間を要するため、NASH肝切除モデルにおける大腸癌肝転移形成を正常肝と比較する検討に変更した。正常肝とNASH肝を比較すると、NASH肝で有意に腫瘍径は小さく、NASH肝で有意にIL-6、SAA1発現が低下していた。以上より、NASH肝では転移形成環境に関わる因子の発現が低下しており、肝切除後の腫瘍形成が抑制されると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年食生活の欧米化に伴い、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)の罹患率は急激に増大している。大腸癌肝転移の根治は外科手術が第一選択となるが、肝転移形成におけるNASHの影響については未だ不明な点が多い。本研究によりそのメカニズムを解明することは、今後増加するであろうNASH肝の転移巣切除の可否等の決定に重要な役割を果たすと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to investigate the mechanism of progressed hepatocarcinogenesis after hepatectomy in NASH. However, model of NASH carcinogenesis could not be established. So, colon cancer liver metastasis model after hepatectomy in NASH was investigated. Tumor diameter was significantly smaller in NASH liver than normal liver after hepatectomy. Furthermore, expressions of IL-6 and SAA1 mRNA were significantly lower in NASH liver compared with normal liver. From these findings, liver metastasis was suppressed after hepatectomy in NASH liver due to suppressed metastatic niche.

研究分野：大腸癌肝転移 肝切除 非アルコール性脂肪肝炎

キーワード：NASH 肝切除

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、ウイルス性肝炎由来の肝細胞癌(HCC)が減少し、非アルコール性脂肪肝炎(NASH)由来のHCCが増加しており、将来最大の原因となることは明らかである。我々は、自然発症NASHモデルのTSODマウスを用いて、NASH肝では肝星細胞(HSC)のマーカーである α -SMA や IL-6/IL-1 といった炎症性サイトカインが上昇し、肥満関連の腸内細菌が増加すること、さらに漢方薬である大建中湯(TU-100)を用いてこれらのサイトカインや肥満関連腸内細菌が減少し、NASHの進展や肝発癌が抑制されることを見出した(論文投稿中)。HCCは、根治切除後も高率に再発することが大きな問題であり、NASH-HCCも例外ではない。経験的に、肝切除によるストレスで肝再生とともに発癌も促進されることは知られているが、詳細な機序は不明である。このメカニズムを解明し予防に努めることは肝臓外科に携わるものの急務である。我々は以前より、肝再生や発癌に腫瘍微小環境であるHSCやクッパー細胞(KC)に着目しており、切除後発癌にも大きな影響を与えていると考えられ、TSODマウスの発癌と同様にTU-100の抑制効果を期待している。

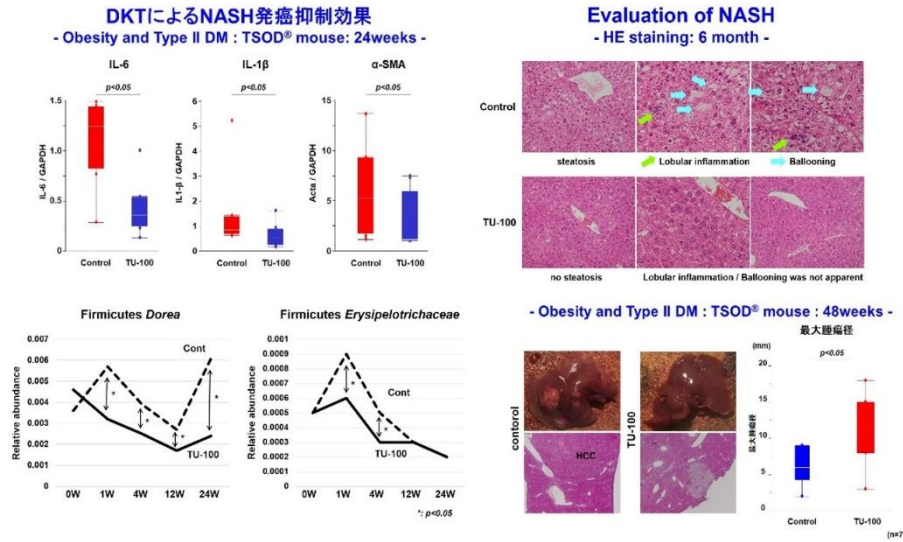


図1: DKT (TU-100)によるNASH・発癌抑制効果

2. 研究の目的

本研究は、微小環境を構成するHSC、KCによるNASH肝癌切除後再発の機序解明を目的とし、TU-100の効果を含めた治療戦略について検討する。

3. 研究の方法

C57BL/6J雄性マウスにWestern diet投与に加えCCI4を腹腔内投与することにより、NASH発癌モデル(Tsuchida et al. J Hepatol. 2018)を作成し、さらに肝切除を加えることでNASH肝切除後発癌モデルの作成を行う。正常肝とNASH肝で腫瘍形成を比較し、微小環境との関連を検討する予定であったが、NASH形成のみで発癌は認めなかった。モデル作成に長期間を要するため、当初の予定を変更し、NASH肝における肝切除が大腸癌肝転移に与える影響の検討を行うこととした。8週齢C57BL/6J雄性マウスを用い、(1)Control群(normal diet給餌)(2)NASH群(western diet給餌)に分類し、2、6、8、16週の時点でマウス大腸癌細胞株MC38を 2.0×10^5 個脾注し、2週間後に犠死させる。さらにこの2群の脾注時に30%肝切除を加えることで、NASH肝切除後転移モデルを作成した。肝臓・腫瘍の肉眼的評価に加え、肝臓におけるmetastatic niche(IL-6, STAT3, SAA1, MMP9 mRNA)を測定する。

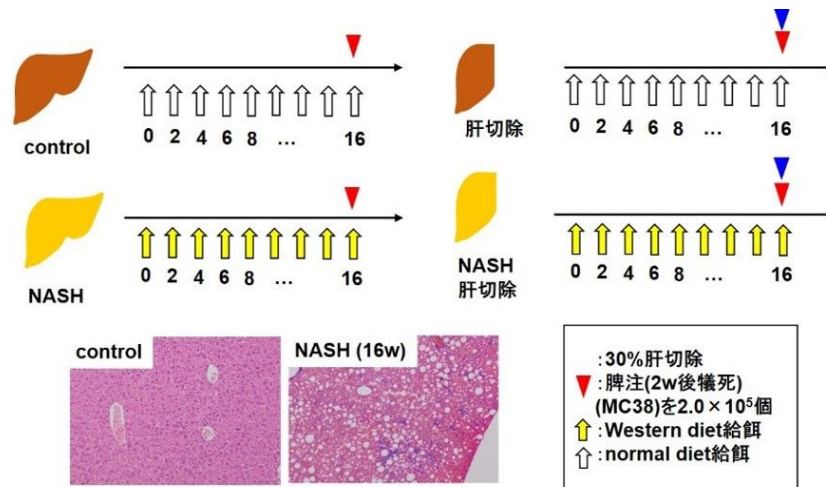


図2: NASH/肝切除転移性肝癌モデルの作成

4. 研究成果

NASHにおける肝転移形成について、まず肝切除なしのモデルで確認した。16週 western diet を給餌すると、線維化を伴う脂肪化を認め、NASH形成を確認した。肝転移形成に関して、NASH肝では正常肝に比べ腫瘍形成が抑制されていた。また metastatic niche に関する SAA1, IL-6, STAT3, MMP9 の mRNA 発現が低下しており、SAA1 の蛋白発現の低下も Western blot で確認した。

Status of metastatic liver cancer in NAFLD - 16 week -

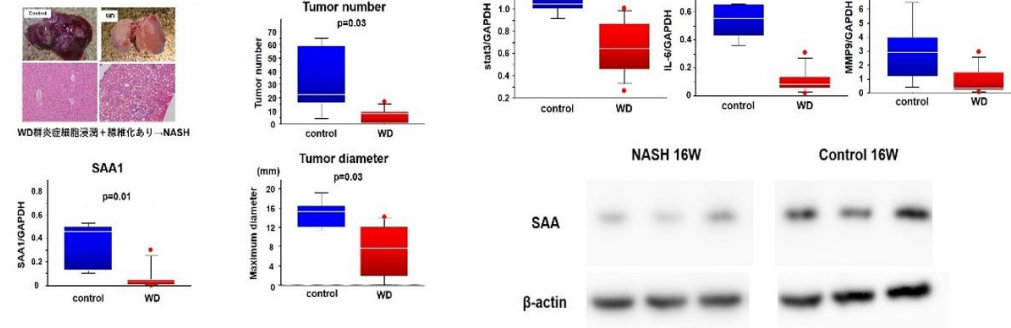


図3: NASH肝における転移抑制のメカニズム

続いて 30%肝切除を加えた肝切除後転移モデルを作成した。肝切除後でも NASH 肝における腫瘍形成が抑制されており、IL-6, SAA1 mRNA 発現の低下を認めた。

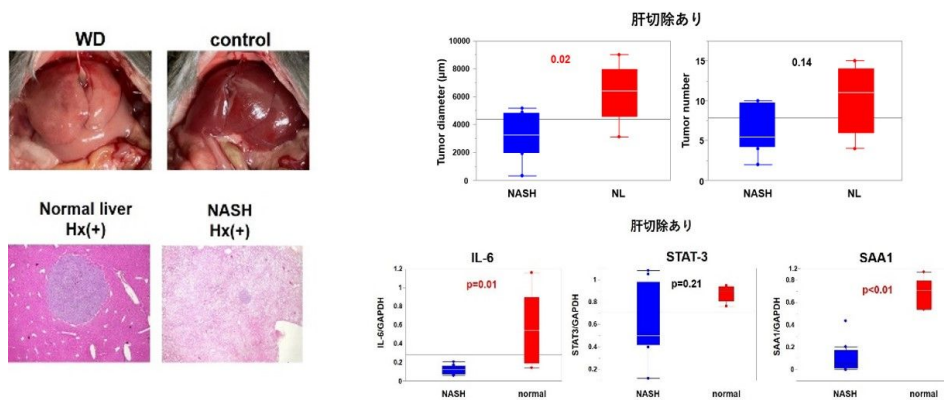


図4: NASH肝切除モデルにおける転移形成(preliminary data)

以上より、NASH肝では metastatic niche に関わる因子の発現が抑制されており、肝切除を加えた状態でも正常肝に比べて転移形成が抑制されることを見出した。今後は腸内細菌の変化や TU-100 の影響について検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shohei Okikawa, Yuji Morine, Yu Saito, Shinichiro Yamada, Kazunori Tokuda, Hiroki Teraoku, Katsuki Miyazaki, Shoko Yamashita, Tetsuya Ikemoto, Satoru Imura, Mitsuo Shimada	4. 巻 47
2. 論文標題 Inhibition of the VEGF signaling pathway attenuates tumor associated macrophage activity in liver cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 71-71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazunori Tokuda, Yuji Morine, Katsuki Miyazaki, Shinichiro Yamada, Yu Saito, Masaaki Nishi, Takuya Tokunaga, Tetsuya Ikemoto, Satoru Imura, Mitsuo Shimada	4. 巻 12
2. 論文標題 The interaction between cancer associated fibroblasts and tumor associated macrophages via the osteopontin pathway in the tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 333-343
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Luping Gao, Yuji Morine, Shinichiro Yamada, Yu Saito, Tetsuya Ikemoto, Kazunori Tokuda, Katsuki Miyazaki, Shouhei Okikawa, Chie Takasu, Mitsuo Shimada	4. 巻 112
2. 論文標題 The BAFF/NF B axis is crucial to interactions between sorafenib-resistant HCC cells and cancer-associated fibroblasts.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3545-3554
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Luping Gao, Yuji Morine, Shinichiro Yamada, Yu Saito, Tetsuya Ikemoto, Kazunori Tokuda, Chie Takasu, Katsuki Miyazaki, Mitsuo Shimada	4. 巻 16
2. 論文標題 Nrf2 signaling promotes cancer stemness, migration, and expression of ABC transporter genes in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One	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） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shuhai Chen, Yuji Morine, Kazunori Tokuda, Shinichiro Yamada, Yu Saito, Masaaki Nishi, Tetsuya Ikemoto, Mitsuo Shimada	4. 巻 59
2. 論文標題 Cancer associated fibroblast induced M2 polarized macrophages promote hepatocellular carcinoma progression via the plasminogen activator inhibitor 1 pathway.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 59-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikawa M, Yuji Morine, Shinichiro Yamada, Katsuki Miyazaki, Kazunori Tokuda, Yu Saito, Yusuke Arakawa, Tetsuya Ikemoto, Satoru Imura, Mitsuo Shimada	4. 巻 5
2. 論文標題 Prognostic prediction of resectable colorectal liver metastasis using the apparent diffusion coefficient from diffusion-weighted magnetic resonance imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 252-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山田眞一郎, 陳述海, 島田光生, 森根裕二, 居村暁, 池本哲也, 齋藤裕, 徳田和徳, 沖川昌平, 岩橋祥子, 宮崎克己
2. 発表標題 The role of PAI-1 expression in tumor microenvironment of HCC
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田眞一郎, 森根裕二, 居村暁, 池本哲也, 齋藤裕, 徳田和憲, 沖川昌平, 山下祥子, 宮崎克己, 島田光生
2. 発表標題 The multifaceted effect of DKT on gastrointestinal disease focusing on microbiome and HSC
3. 学会等名 第82回臨床外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田眞一郎, 高露萍, 森根裕二, 居村暁, 池本哲也, 齋藤裕, 宮崎克己, 島田光生
2. 発表標題 Nrf2 signaling promotes cancer stemness, migration ability and expression of ABC transporters in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cell
3. 学会等名 第31回日本癌発生学会総会
4. 発表年 2020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
研究分担者	齋藤 裕 (SAITO Yu) (50548675)	徳島大学・病院・講師 (16101)	
研究分担者	森根 裕二 (MORINE Yuji) (60398021)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・准教授 (16101)	
研究分担者	居村 暁 (IMURA Satoru) (90380021)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・徳島大学専門 研究員 (16101)	削除：2021年3月8日

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
---------	---------