

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16749

研究課題名(和文)慢性炎症に起因するメタボライトを介したNASH肝癌の発癌メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of molecular mechanism underlying NASH-HCC development by oncometabolite in chronic inflammation.

研究代表者

有馬 浩太(Arima, Kota)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：10792616

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):肝癌はウイルス性肝炎を介したものが主流であったが、感染予防や新規抗ウイルス薬の開発により減少傾向にある。一方、食生活の欧米化などにより肥満や生活習慣病を背景とした非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)由来の肝癌が増加しており、NASH肝癌の発癌予防および新規治療戦略が必要不可欠である。本研究では、NASH肝癌における15-PGDHの発現意義を明らかにした。今後網羅的代謝物解析を行い、15-PGDH下流シグナルがNASHおよびNASH肝癌増大を誘導する詳細なメカニズム解明を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで肝癌はウイルス性肝炎を介したものが主流であったが、近年は肥満や生活習慣病を背景とした非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を背景としたNASH肝癌が世界中で増加している。従来の肝癌とは全く異なるメカニズムで生じており、発がん予防および治療のため詳細なメカニズム解明が必要であるが、当研究は大腸がんなどに深く関与しているプロスタグランジンシグナルがNASH肝癌の発がん・進展に深く関連している可能性を明らかにした。さらなる解析により、NASH肝癌浸潤の新たな分子メカニズムの解明に繋がる。

研究成果の概要(英文):Hepatocellular carcinoma (HCC) has been mostly occurred in the liver cirrhosis derived from hepatitis virus infection, however, HCC which is occurred in the liver derived from non-alcoholic steatohepatitis (NASH) has been increased recently. In the current study, we found that accumulation of PGE2 signal induced NASH-HCC development in NASH-HCC mice model and PGE2 signal might induce NASH-HCC development through immune cell exhaustion. Further analysis using comprehensive approach could inform research effort of developing NASH-HCC prevention strategies through anti-inflammatory modifications.

研究分野:腫瘍生物学、消化器外科学

キーワード:肝癌 非アルコール性脂肪性肝炎 プロスタグランジン

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肝癌はウイルス性肝炎を介したものが主流であったが、感染予防や新規抗ウイルス薬の開発により減少傾向にある。一方、食生活の欧米化などにより肥満や生活習慣病を背景とした非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 由来の肝癌が増加しており、NASH 肝癌の発癌予防および新規治療戦略が必要不可欠である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、NASH 肝癌または肝癌前癌病変における 15-PGDH の発現意義を明らかにするとともに、網羅的代謝物解析をおこない NASH 肝癌の進展に繋がる PGE<sub>2</sub> シグナル代謝物を探索することであった。NASH 肝癌において PGE<sub>2</sub> 経路の下流において癌の増殖・進展に最も重要な代謝物・代謝経路を同定することで、新たな新規治療戦略となると考えられる。

### 3. 研究の方法

NASH 肝癌モデルマウスを樹立し、我々が樹立した 15-Pgdh 遺伝子欠損マウスとの交配を行なって、15-PGDH 発現が NASH 肝癌形成に与える影響の評価を行う。次に、形成した肝腫瘍内の各種遺伝子発現解析、代謝物解析を行い、活性化または不活化している代謝経路同定や免疫状態との関連を比較検討する。同定した代謝経路の機能解析を行なったのち、最終的に治療標的となり得る pathway を同定する。並行して、熊本大学消化器外科で手術を行なった多数の臨床サンプルを用いて、免疫組織学的染色や qRT-PCR を用いた発現解析を行う。以下に、研究計画を具体的なステップに分けて記載する。(1) NASH 肝癌モデルマウスの 15-Pgdh 遺伝子をノックアウトし、15-PGDH 発現の NASH 肝癌への影響を評価する (2) 形成した NASH 肝腫瘍の発現解析を行い、活性化または不活化している代謝経路同定や免疫状態との関連を比較検討する (3) 臨床サンプルを用いた 15-PGDH 発現と臨床病理学的因子との統合解析を行う。

### 4. 研究成果

(1) NASH 肝癌モデルマウスが生後 15~20 週で肝腫瘍を発生することを確認した上で、我々が樹立した 15-Pgdh 遺伝子欠損マウスとの交配を行った。15-Pgdh ホモ欠損マウスは動脈管開存により生後まもなく死亡するため、生後すぐにインドメタシン投与が必要であるが、今回は何度も try したが 15-Pgdh ホモ欠損マウスを生存させることができなかったため、15-Pgdh ヘテロ欠損マウスで表現系を確認することとした。15-Pgdh ヘテロ欠損マウスは、15-Pgdh wild type マウスと比較して有意に肝腫瘍が増大し、腫瘍数も増加した (図 1)。背景肝の状態も 15-Pgdh ヘテロ欠損マウスの方が病理学的に NASH が進行していることも判明した (図 2)。

図 1

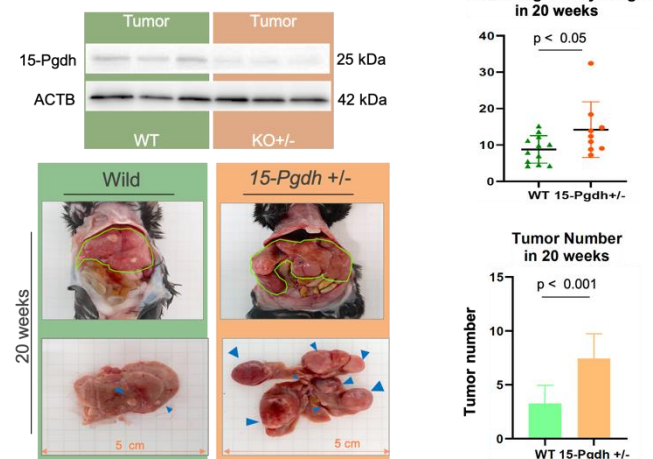
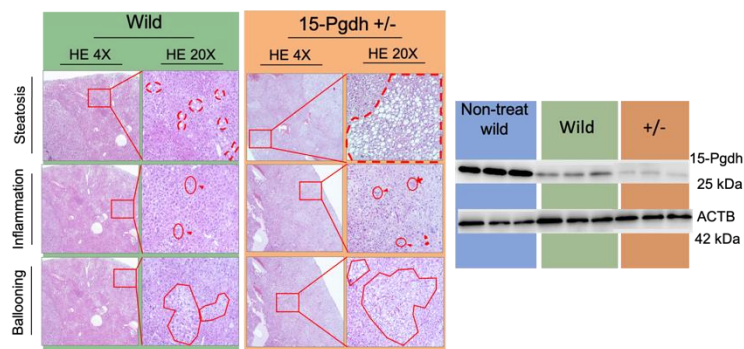


図 2



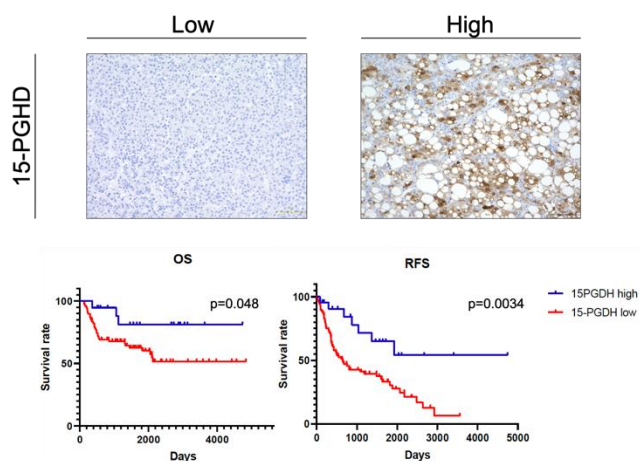
(2) 形成したマウス肝腫瘍の遺伝子発現解析を行なった。

15-Pgdh ヘテロ欠損 NASH 肝癌モデルマウスでは、wild type と比較して有意に Ki-67 発現が上昇しており、腫瘍細胞の増殖能が亢進していることが示唆された。腫瘍細胞中の免疫細胞の発現を FACS で評価したところ、15-Pgdh ヘテロ欠損 NASH 肝癌モデルマウスでは CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、NK cell、NKT cell とも増加していたが、PD1、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  などいわゆる exhaust を示唆する遺伝子発現が上昇しており、15-Pgdh 発現低下による肝腫瘍増大に抗腫瘍免疫の低下が関与している可能性が示唆された。引き続き免疫細胞の解析継続に加え、腫瘍の RNA sequence およ

び代謝物網羅的解析を行い、さらなるメカニズム解明を検討している。

(3) 熊本大学消化器外科で切除を行なった non-B non-C の HCC でかつ NASH を背景肝として HCC を発症した症例 100 例に対して 15-PGDH の免疫組織学的染色を行った。22 例が高発現、78 例が低発現であったが、15-PGDH 低発現群で有意に低分化癌が多く、15-PGDH 低発現群で有意に無再発生存期間が短縮していた (図 3)。

図3



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Arima K, Nitta H, Beppu T, Nakagawa S, Okabe H, Imai K, Chikamoto A, Yamashita YI, Yamashita Y, Baba H.	4. 巻 39
2. 論文標題 Impact of Repeated Hepatectomy on Liver Regeneration in Hepatocellular Carcinoma: A Propensity Score-based Analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 965 ~ 970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.13200	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 Umezaki N, Nakagawa S, Yamashita YI, Kitano Y, Arima K, Miyata T, Hiyoshi Y, Okabe H, Nitta H, Hayashi H, Imai K, Chikamoto A, Baba H	4. 巻 110
2. 論文標題 Lysyl oxidase induces epithelial mesenchymal transition and predicts intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2033 ~ 2043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14010	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 Elmezayen HA, Okabe H, Baba Y, Yusa T, Itoyama R, Nakao Y, Yamao T, Umezaki N, Tsukamoto M, Kitano Y, Miyata T, Arima K, Hayashi H, Imai K, Chikamoto A, Yamashita YI, Baba H.	4. 巻 50
2. 論文標題 Clinical role of serum programmed death ligand 1 in patients with hepatocellular carcinoma: Where does it come from?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 569 ~ 576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-019-01920-8	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 Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, Miyake K, Kariya R, Kubota S, Yokomizo-Nakano T, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Itoyama R, Bu L, Fu L, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 34
2. 論文標題 Inflammation-driven senescence-associated secretory phenotype in cancer-associated fibroblasts enhances peritoneal dissemination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108779 ~ 108779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108779	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 Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, Komohara Y, Itoyama R, Koiwa M, Yasuda T, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 80
2. 論文標題 Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing $\alpha$ 1 Integrin, Enhancing Drug Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3222 ~ 3235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-3803	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Ishimoto T, Arima K, Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, Yasuda T, Itoyama R, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Baba H.
2. 発表標題 Inhibition of 15-PGDH causes Kras-driven tumor expansion through prostaglandin E2-ALDH1 signaling in the pancreas.
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (国際学会)
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
---------	---------