

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07936

研究課題名（和文）癌由来代謝産物に注目した肝星細胞活性化の分子学的機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Molecular Mechanism of Hepatic Stellate Cell Activation Focusing on Cancer-Derived Metabolites

研究代表者

南 達也（Minami, Tatsuya）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60459401

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、肝細胞がんの進行に大きく関与する肝星細胞の活性化機構について解明しました。特に、肝星細胞の活性化を抑制する役割を持つp62というタンパク質の働きに注目しました。実験では、がん細胞由来の特定の代謝物がp62の発現を減少させることを発見し、これが肝線維化および肝がんの進行を促進することを示しました。これらの知見は、肝がんの治療や予防に向けた新しいアプローチを提供する可能性があります。今後の研究で、代謝物がどのようにしてp62の発現を抑制するのかその詳細な分子機序を解明することが期待されています。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、肝がん進行に寄与する肝星細胞の活性化に関わる分子メカニズムを解明しました。がん細胞が放出する特定の物質が、肝星細胞を活性化させ、肝線維化とがんの進行を促進することを発見しました。この知見は、肝疾患の予防や治療法の開発に向けた新たな方向性を示しており、将来の肝がん治療の改善に貢献する可能性があります。学術的には、疾患の根本的なメカニズムの理解を深め、社会的には治療オプションの拡大を促す成果です。

研究成果の概要（英文）：This study elucidated the activation mechanisms of hepatic stellate cells, which play a significant role in the progression of hepatocellular carcinoma. We focused particularly on the protein p62, known to inhibit the activation of these cells. Our experiments discovered that specific metabolic byproducts from cancer cells decrease the expression of p62, which, in turn, promotes the progression of liver fibrosis and cancer. These findings offer the potential for new approaches to the treatment and prevention of liver cancer. Future research will aim to clarify the detailed molecular mechanisms by which these metabolic byproducts suppress p62 expression.

研究分野：肝臓病学

キーワード：肝星細胞活性化

## 1. 研究開始当初の背景

原発性肝がんの最多を占める肝細胞がんは肝炎ウイルス感染あるいはアルコール性あるいは非アルコール性脂肪肝などの慢性肝障害を背景に発生・進展する。肝星細胞は肝細胞と類洞内皮細胞との間隙（ディッセ腔）に存在する細胞で、慢性肝障害時は活性化される。活性化にともないサイトカインや細胞外マトリックスを産生・分泌し、肝線維化を進行させる。したがって発がんする肝組織の多くは肝星細胞が活性化して線維化が進行している。活性化型星細胞は細胞外マトリックスの構築のみならず、がん微小環境においてがん細胞とシグナル交換することでがんの増悪因子として働くことが知られおり、肝星細胞の活性化制御機構の理解は肝がんの予防あるいは改善につながる可能性がある。

TGF- $\beta$  シグナルは肝星細胞を活性化させる主要因子のひとつとして知られる (Breitkopf, 2006; Inagaki, 2007)。研究分担者の工藤の前研究グループは TGF- $\beta$  シグナルによる肝星細胞の活性化に p62/Sequestosome1 が抑制的に働くことを報告している。ヒト肝組織において p62 は活性化型星細胞で発現が低下しており、動物実験および細胞実験により p62 欠損は星細胞の活性化を惹起することがわかった (Duran, 2016)。マウスでは肝星細胞における p62 発現低下が肝線維化を進行させるだけでなく肝発がんも促進し、肝細胞がんの発生・進展に肝星細胞の活性化が大きな影響をもつことがわかった。

## 2. 研究の目的

予備実験の結果はがん細胞由来の液性因子、その中でも小分子分画に含まれる非タンパク物質が星細胞における p62 の発現低下に強い効果をもつことを示唆した。我々はがん細胞は正常細胞と異なる代謝活性を呈することから、がん細胞に特徴的な代謝産物に肝星細胞の p62 低下、すなわち肝星細胞の活性化責任分子があるのではないかと仮説を立てた。しかし、(1) 具体的な責任分子は何か (2) その責任分子が p62 の発現低下を引き起こす分子学的機序はいかなるものか (3) 生体内においても同分子は肝星細胞の p62 の発現低下を介して肝線維化に寄与しているのか という点についてはこれから明らかにする必要がある。これらの問いに答えることはがん促進的ながん微小環境を形成する活性化型肝星細胞の制御機構を明らかにするうえで大きな意義がある。

したがって本研究は上記学術的問いに答えることで、肝がん由来代謝産物による肝星細胞活性化の分子学的機序を明らかにすることで、将来的には肝星細胞活性化制御を介した肝線維化および肝がんに対する革新的な治療法への基礎を築くことを目的とする。これまでがん細胞由来のケモカイン、サイトカインなどが星細胞を含む間質細胞の活性制御に重要だとする研究が多かったが、本研究では上記前検討の結果を踏まえてそのようなタンパクではなく代謝物を中心とした小分子を標的として責任分子を検討することに主眼をおいている点に独自性がある。

## 3. 研究の方法

### (1) 乳酸による肝星細胞の p62 発現量への影響の検討

がん細胞では解糖系が亢進していることから、解糖系産物である乳酸に注目した。培養星細胞として LX-2 細胞をもちいた。乳酸添加培養条件における LX-2 細胞の p62 発現量をタンパクレベル (イムノブロット)、mRNA レベル (real-time PCR) により評価した。

### (2) 乳酸による p62 遺伝子の転写制御解析

代謝物の中にはエピゲノム修飾酵素の補因子として機能しエピゲノム変化に影響するものが知られる。乳酸自体にそのような作用は報告されていないが、結果としてエピゲノム変化を生じるかは不明である。p62 をコードする Sqstm1 遺伝子のエピゲノム修飾をクロマチン免疫沈降 (ChIP) -PCR, ChIP-seq 解析で評価した。

### (3) ヒト肝組織における関連性の検討

上記 *in vitro* の検討で得られた知見を生体内でも確認するためにヒトデータコホートを利用して乳酸代謝関連酵素の発現量と肝線維化あるいは肝星細胞 p62 発現量の相関性を評価した。

#### 4. 研究成果

(1) 乳酸は肝星細胞の p62 を濃度、時間依存的に減少させた(図 1a, b)。mRNA の低下も見られた(図 1c)。アクチノマイシン D(転写阻害剤)をもちいて p62 mRNA の安定性を評価したが乳酸は mRNA 分子の安定性には影響しなかった。レポーターアッセイにより p62 遺伝子の転写活性が低下していることがわかり、乳酸は mRNA の転写を抑制することで p62 発現量を低下させることがわかった。

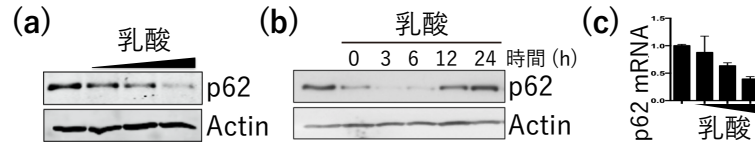


図 1

(2) 乳酸添加により p62 遺伝子のヒストン H3K27 のトリメチル化(転写抑制信号)が増加した(図 2)。これは乳酸がエピゲノム修飾(ヒストンメチル化)を介して p62 遺伝子の転写を抑制していることを示唆する結果である。

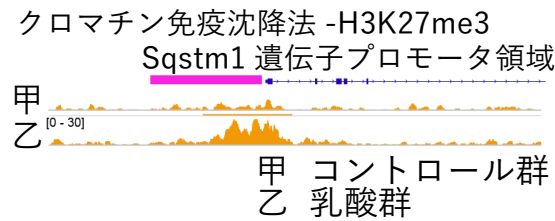


図 2

(3) ヒトデータコホートとして TCGA データをもちいて肝がんの背景肝組織のトランスクリプトームデータで解析をおこなった。乳酸産生に重要な解糖系の律速酵素であるホスホフルクトキナーゼ (PFK) 遺伝子の他、ヘキソキナーゼ (HK1)、ピルビン酸キナーゼ (PKM) と p62 (SQSTM1) 遺伝子の発現量を評価したところ、PFKM 遺伝子は有意に負の相関を示した(ピアソン相関係数-0.15,  $p < 0.05$ )。

本研究の結果、乳酸が肝星細胞の p62 発現をエピゲノム修飾を介して抑制することが明らかになった。

このメカニズムの解明により、乳酸代謝をターゲットとした新たな肝線維化および肝がん治療法の開発が期待される。

社会的には、これにより肝がんの発生を抑制する新しい予防策や、進行した肝がんに対する革新的な治療法が提供される可能性があります。

将来的には、肝疾患の治療における新たなアプローチとして、患者の生活の質の向上に貢献できると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	工藤 洋太郎  (Kudo Yotaro)  (90608358)	東京大学・医学部附属病院・助教    (12601)	

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