

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10159

研究課題名(和文)肝細胞癌発癌と進展におけるM-CSFの役割の解明と、その臨床応用

研究課題名(英文)Role of M-CSF in hepatocarcinogenesis

研究代表者

細村 直弘 (HOSOMURA, Naohiro)

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号：60402070

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：M-CSFを先天的に欠如しているOP/OPマウスを使用し、腫瘍の増大速度を検討した結果、M-CSFは肝内においてM2M⁺比率を増加させ血管新生を亢進させることにより腫瘍の増大に關与していると考えられた。M-CSFを内服投与することで腫瘍の増大速度に影響があるか調べ、新しい分子標的薬の可能性を検討した。

研究成果の概要(英文)：Aim: The purpose of this study was to investigate effects of M-CSF receptor antagonist on HCC. Materials and Method: C57/BL6 mice were treated with diethyl nitrosamine (DEN) intraperitoneally. For treatment group, M-CSF receptor antagonist (GW2580) was treated every day. Incidence of tumors was assessed after treatment. Mouse HCC cells (MH134) were implanted to same strain C3H mice by subcutaneous injection (1×10^5 /animal). Tumor progression was assessed after 3 weeks. In the nude mouse, human HCC cells (HuH7) were implanted by intra-splenic injection. Tumor progression in the spleen was assessed after 3 weeks. Result: Hepatic tumors diagnosed as hepatocellular adenoma or HCC were observed in animals treated with DEN. In contrast, tumor incidence was significantly reduced in DEN-treated animals with GW2580. Growth of implanted both of HCC was significantly inhibited by GW2580 in vivo. Conclusions: M-CSF and/or its receptor could be a new therapeutic target for HCC.

研究分野：消化器外科学

キーワード：マクロファージ M-CSF 肝細胞癌

1. 研究開始当初の背景

肝臓のマクロファージである Kupffer 細胞は肝臓に存在し、食食による異物除去能、活性酸素やサイトカインなどのメディエーター産生能、抗原提示能など種々の働きを有しており、自然免疫機構において非常に重要な役割を果たしている。これまで申請者らは、肝マクロファージと肝細胞癌発症との関連について検討を行ってきた。一方、macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) はマクロファージの成熟・分化・増殖に関与し、組織での発現は肝臓で強い。最近の報告で、ヒト肝細胞癌において、M-CSF の非腫瘍部における発現と、発癌との関連が報告されている (J. Clin. Oncol. 2008; 26:2707-2716)。しかし、その機序の詳細は未だ解明されていない。また、M-CSF によるマクロファージの VEGF 産生増加と血管内皮細胞の増殖亢進の報告もある (J. Immunol. 2003; 171: 2637-2643)。さらに、実際、最近の申請者らの検討においてジエチルニトロサミン (DEN) 誘発発癌モデルにおいて、M-CSF 欠損マウス (op/op mouse) 群では、wild-type mouse と比較し発癌率が有意に減少していた (Hara and Kono et al. Hepatology Research 2013)。これらの結果は、背景肝に発現する M-CSF により分化した肝マクロファージが産生する炎症性サイトカインならびに VEGF などの血管新生因子が肝細胞癌の増殖を促進させている可能性を強く示唆していると考えられる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、M-CSF 欠損マウスに肝発癌モデルを作製し、M-CSF の肝発癌における役割を、腫瘍関連マクロファージ、血管新生発現の点より検討する。また、当科における肝切除標本を用い、非腫瘍部での M-CSF 発現と、M2 マクロファージ分布、新生血管を検討し、臨床ならびに病理組織学的因子とこれらの発現を統計解析し M-CSF の肝発癌における役割を、基礎的ならびに臨床的に解明する。また、microarray analysis data base を基に subclass 解析を行う。さらに、M-CSF 受容体阻害剤を用いて、肝細胞癌肝転移モデルにおける転移抑制効果を検討した。

3. 研究の方法

検討 I : M-CSF 欠損マウス (op/op) と littermate マウス (LT) に、肝発癌物質であるジエチルニトロサミン (DEN) を投与し肝発癌率と、肝内 M1/M2 M 比と血管新生発現を検討した。

検討 II : 当科で切除した肝細胞癌の手術標本を用いて、背景肝に発現する M-CSF、新生血管発、腫瘍周囲の M2M 分布動態と予後を解析した。

III : 分離肝 M と単球を M-CSF 存在下で共培養し、血管増殖因子産生、血管内皮細胞 (VEC) 増殖を検討した。

IV : C57BL マウスに DEN を投与する肝発癌モデルを作成し、M-CSF 受容体拮抗剤 GW2580 の投与効果を検討した。

V : マウス HCC 株 MH134 を同系マウスの皮下に移植するモデル並びに、ヒト HCC 細胞株 (Huh-7) をヌードマウス脾臓内に移植するモデルで M-CSF 受容体拮抗剤 GW2580 の投与効果を検討した。

4. 研究成果

(1) 結果

検討 I : op/op で発癌率が LT と比較し有意に低下した (図 1)。DEN 投与後の op/op で腫瘍周囲の M1/M2 M 比と血管新生が LT と比較し有意に減少。

検討 II : M-CSF、新生血管発現の高発現群において DFS が有意に短縮。M-CSF 発現は独立した予後因子。

検討 III : 肝 M と単球は、M-CSF 存在下で M-CSF 濃度依存性に VEGF を産生し、肝 M で有意に亢進。VEC は M-CSF と肝 M の共培養条件下で増殖が最も亢進 (図 2)。

検討 IV : DEN 投与による肝発癌は、GW2580 により有意に発癌が抑制された。

検討 V : マウス HCC 株ならびにヒト HCC 細胞株において、GW2580 投与により、腫瘍増殖が有意に抑制された (図 3)。

Incidence of hepatic tumors induced by DEN

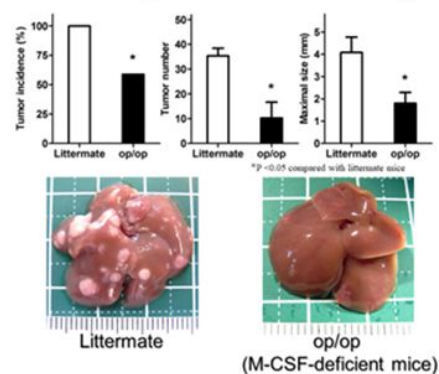


図 1 : M-CSF の肝発癌への関与

Proliferation of the vascular endothelial cells

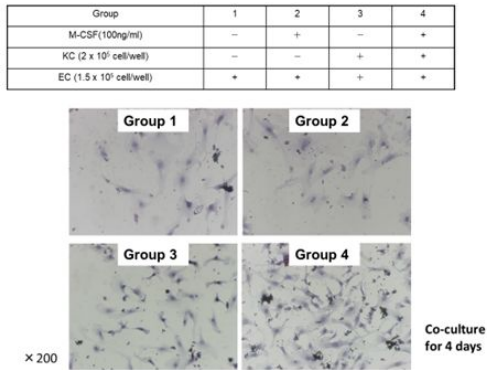
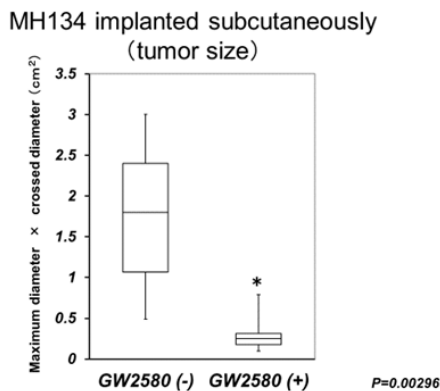


図 2 : M-CSF の血管内皮細胞の分裂へ与える影響

A



B

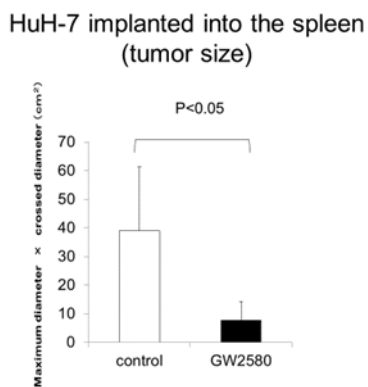


図 3 : M-CSF 受容体拮抗剤による癌増殖抑制効果

(2) 考察

M-CSF を分子標的とする HCC 新規治療の可能性を示唆する。これまで HCC の発生機構に関する研究は、” seeds ” であるウイルスと肝細胞の相互関係を中心に行われており、” soil ” である肝免疫ならびに肝臓の重要な機能を担う肝類洞壁細胞、さらに背景肝に注目した解析はほとんど無い。本研究は、背景肝の肝細胞に発現する M-CSF と肝類洞壁細胞の関連を検討し、これらの因子と肝発癌・進展の関連を解明するものであり、これらに関する報告はこれまで無く、独創的な研究である。現在、肝細胞癌に対する分子標的治療は tyrosine kinase inhibitor であるソラフェニブのみである。その効果は認められているが、十分な治療方法とはいえない。今回の検討結果は、今後 M-CSF が肝細胞癌発症抑制の新たな分子標的となる可能性が強く、肝細胞癌に対する新たな治療手段の開発に繋がる臨床的に非常に重要な研究と考える。

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 1 件)

Kono H, Fujii H, Furuya S, Hara M, Hirayama K, Akazawa Y, Nakata Y, Tsuchiya M, Hosomura N, Sun C Macrophage colony-stimulating factor expressed in non-cancer tissues provides predictive powers for recurrence in hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2016; 22:8779-8789. (IF 3.365) (corresponding author) DOI:10.3748/wjg.v22.i39.8779 PMID:27818593

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細村 直弘 (HOSOMURA Naohiro)
山梨大学・大学院総合研究部・助教
研究者番号：60402070

(2) 研究分担者

河野 寛 (KONO Hiroshi)
山梨大学・大学院総合研究部・准教授
研究者番号：40322127

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()