

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19910

研究課題名(和文)肝線維化と肝転移の関連性についての検討

研究課題名(英文)The relation between hepatic fibrosis and liver metastasis

研究代表者

近藤 崇之(Kondo, Takayuki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：40626701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：食餌性肥満マウスを作製した。それぞれの肝臓の免疫染色を施行し、食餌性肥満マウスでは肝臓の脂肪性変化や線維化、炎症性変化があることを確認し、NASHモデル肝が作製できていることを確認した。脾注肝転移実験では肝転移数が有意に肝線維化群で多かった(1.9 ± 1.8 , 0.3 ± 0.5 , $p=0.01$)。抗Ki67抗体免疫染色では、肝線維化群肝転移巣で有意に多くの核が染色され、肝線維化群における癌細胞は増殖能が高いことがわかった。大腸癌細胞株はIL-13共培養下で遊走能・浸潤能の有意な上昇を認め、IL-13の濃度依存性に増殖能が上昇することを確認した。

研究成果の概要(英文)：In spleen injection, the number of liver metastasis in NASH group is higher than in normal liver group. In anti-Ki67 antibody in Immunohistochemistry, the number of stained nuclear in liver metastasis foci in NASH group was higher than in normal liver group. The ability of proliferation in Nash group was higher than in normal liver group. The ability of migration and invasion of colon cancer cell line was elevated in co-cultured with IL-13. The ability of proliferation was elevated in a concentration dependent fashion.

研究分野：消化器

キーワード：肝転移 肝線維化 大腸癌

1. 研究開始当初の背景

大腸癌において最も頻度の高い転移臓器は肝臓である。食生活の欧米化に伴い非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)・非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) 等の肥満と深く関わるいわゆる脂肪肝の患者が急激に増えているが、その大腸癌肝転移との関係は十分に解明されていない。そこでわれわれは当科で根治的切除を施行した大腸癌患者 266 例の術前 CT を用いて脂肪肝の指標である liver-to-spleen attenuation ratio (一般に 1 が脂肪肝と考えられる) を測定し、術後肝再発との関係を検討した。脂肪肝の程度に比例して肝転移が生じることが臨床的に明らかとなった。脂肪肝と肝転移に関する基礎的研究の報告は少ないが、食餌性肥満マウス (脂肪肝マウス) に対して脾注肝転移モデルを用いた研究において、脂肪肝マウスでは転移の個数が 4.8 倍多くなることが示された。そのメカニズムとして炎症性サイトカインの関与、脂肪沈着や慢性炎症により肝臓の微小環境変化の影響が考えられているが、明らかにはされていない。(Am J Pathol, 2009)。このような背景により、脂肪肝と肝転移の分子生物学的メカニズムを明らかにするために本研究を着想するに至った。

2. 研究の目的

肥満は臓器への過剰な脂肪沈着と慢性持続性炎症を伴い、生活習慣病をはじめとする数多くの疾患の危険因子である。癌の増殖・転移には臓器の微小環境や炎症が重要な役割を果たすことから、肥満との関連に注目が集まっている。炎症性サイトカインである IL-13 は肥満患者および転移能が高い癌細胞に多く発現していると報告されており、肥満と癌の関係を解き明かす重要なサイトカインの候補であると思われる。本研究は IL-13 に注目し、肥満による肝臓の微小環境変化と大腸癌肝転移のメカニズムの関係を解明することを目的とする。

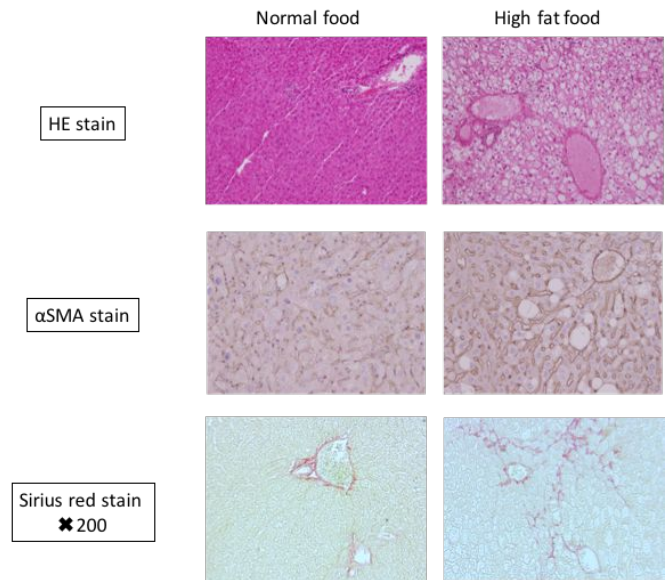
3. 研究の方法

in vitro 及び in vivo において、脂肪肝における IL-13 の発現と肝臓の環境変化および転移形成能変化を確認し、IL-13 の働きから脂肪肝における大腸癌肝転移促進のメカニズムを明らかにする。

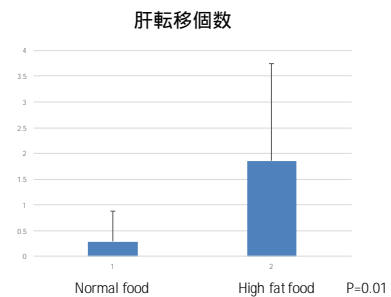
- (1) 脂肪肝と肝転移の関係及び血清 IL-13 濃度の証明
- (2) 癌細胞株における IL-13 および星細胞(Li90)の影響
- (3) NASH 肝モデルマウスを作製し、脾注肝転移モデルの肝転移数の評価
- (4) 肝転移巣の組織学的評価を行う

4. 研究成果

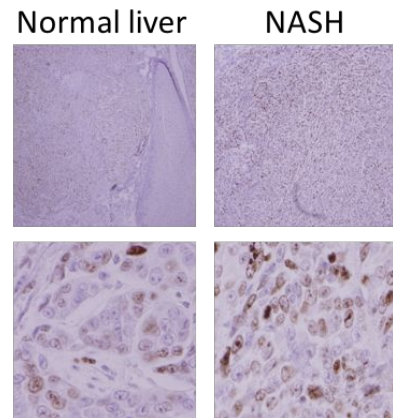
食餌性肥満マウスを作製した。それぞれの肝臓の免疫染色を施行し、食餌性肥満マウスでは肝臓の脂肪性変化や線維化、炎症性変化があることを確認し、NASH モデル肝が作製できていることを確認した。

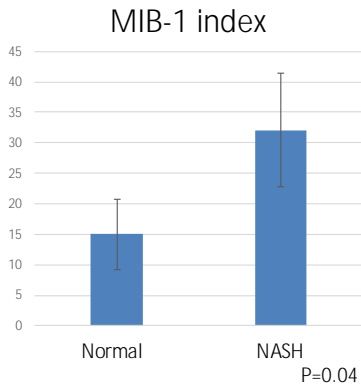


脾注肝転移実験では肝転移数が有意に肝線維化群で多かった (1.9±1.8, 0.3±0.5, p=0.01)



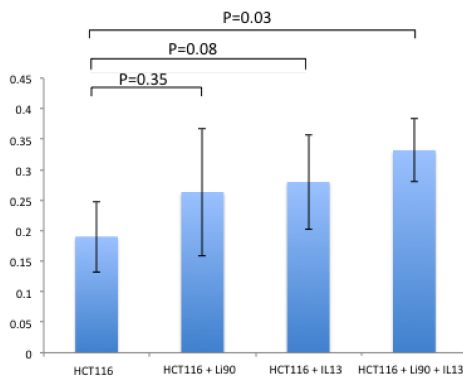
抗 Ki67 抗体免疫染色では、肝線維化群肝転移巣で有意に多くの核が染色され、肝線維化群における癌細胞は増殖能が高いことがわかった。



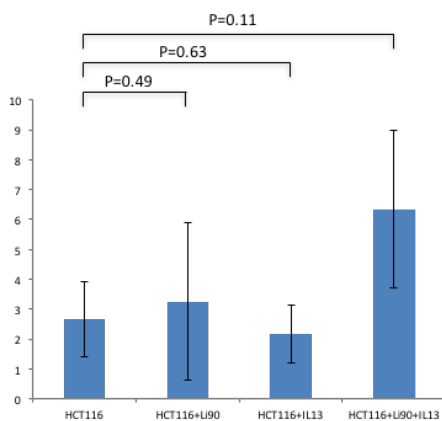


大腸癌細胞株は IL-13 共培養下で遊走能・浸潤能の有意な上昇を認めた。

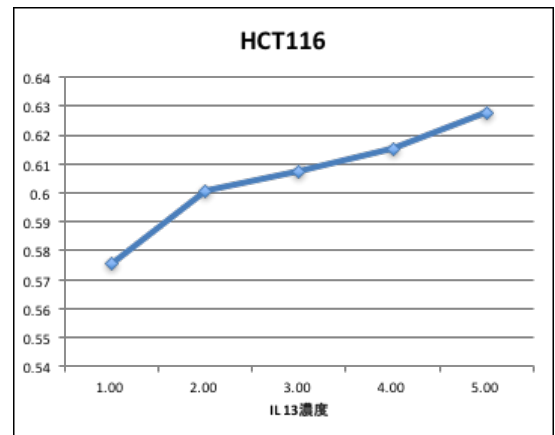
wound healing assay



Invasion assay



大腸癌細胞株は IL-13 の濃度依存性に増殖能が上昇することを確認した。



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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

(1) 岡林剛史、近藤崇之、長谷川博俊、鶴田雅士、石田隆、北川雄光
大腸癌術後肝転移に対する非アルコール性脂肪性肝疾患の影響
第 117 回日本外科学会定期学術集会
2017 年 4 月 29 日(土)
パシフィコ横浜(第 12 会場 会議センター 5F 503 / 神奈川県 横浜市)

(2) 近藤崇之、岡林剛史、長谷川博俊、鶴田雅士、松井信平、島田岳洋、松田睦史、矢作雅史、吉川祐輔、北川雄光
肥満環境と大腸癌肝転移の分子生物学的メカニズムの解明
第 36 回癌免疫外科学会
2015 年 5 月 14 日(木)
奄美観光ホテル(鹿児島県 奄美市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤崇之（Takayuki Kondo）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：40626701