

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19369

研究課題名(和文) Notchシグナル制御による肝癌発生・進展の抑制

研究課題名(英文) Notch Signaling regulates the development of hepatocellular carcinoma.

研究代表者

中野 泰博 (NAKANO, Yasuhiro)

東海大学・医学部・特定研究員

研究者番号：80755439

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)：本研究課題では、肝細胞癌の進展に対するNotchシグナルの作用を検討した。薬剤投与により肝発癌を誘導したあとに、Jag1遺伝子の欠失を誘導したJag1欠失マウスでは、対照マウスと比較し、肝細胞癌の進展が認められた。さらに、Jag1は肝癌細胞がほとんど増殖していない領域の間葉系細胞に発現するのに対して、DII4が高増殖領域の肝癌細胞に発現していることを見出した。これらのことから、肝細胞癌の進展過程では、「分子も領域も発現細胞も」異なるNotchリガンドの発現変化が起こり、このシグナル転換によって肝癌細胞の増殖を促進することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we investigated how differential Notch signaling modulates hepatic carcinogenesis using Jag1 conditional knockout mice. Hepatocellular carcinoma (HCC) was induced in Jag1-floxed (control) and Mx-Cre/Jag1-floxed mice (Jag1 cKO) by diethylnitrosamine (DEN) treatment. In this results, the incidence of HCC occurrence was significantly increased in Jag1 cKO mice compared to that in the control animals. Consistent with this finding, gene expression of DII4 was increased in cancerous tissues in parallel to the Hes1 (a downstream target gene of Notch signaling) expression levels. In addition, the signaling switch from Jag1/Notch2 to DII4/Notch3 was observed in the peripheral region of HCC nodules, where cancer cells were stained positively for Ki67, a cell-proliferation marker. These results suggest that HCC development is promoted by a signaling switch from Jag1/Notch2 to DII4/Notch3, and that DII4/Notch3 signaling could be a potential target to suppress HCC development.

研究分野：発生生物学

キーワード：Notch Notchリガンド 肝細胞癌 肝再生 肝線維化

### 1. 研究開始当初の背景

我が国では、肝炎ウイルス感染による慢性肝炎が原因となり、肝硬変から肝癌へ進行することが大きな社会問題となっていた。近年、肝炎ウイルスに対して有効な治療法が開発された反面、ウイルス除去後の肝発癌が新たな問題となっている。また、メタボリック症候群を背景として、肝線維化から肝硬変・肝癌を合併する非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) への対策が急務となってきた。したがって、肝癌の発生と進展を抑止するための分子機構の解明は、医学的に喫緊な研究課題であると同時に社会的にも急務と言える。

近年の研究から、Notch シグナルは種々の臓器の発癌や転移に強く関与していることが明らかになってきた (*Nat Rev Cancer* 11: 338-351, 2011)。肝臓における癌と Notch シグナルの関連については、肝細胞癌の発生を抑制する (*J Exp Med* 10: 1963-1976, 2011) のに対して、胆管癌の発生には促進的に作用する (*J Clin Invest* 11: 3914-3918, 2012) ことが示唆されているものの、未だ不明瞭な部分も多く、議論の余地が残されている (*Hepatology* 3: 942-952, 2015)。また、Notch シグナルが、発癌過程においていつのよう

### 2. 研究の目的

中野は、これまで肝胆膵の発生・再生における Notch シグナルの意義を明らかにしてきた (*Genes Cells* 20: 500-511, 2015; *Sci Rep* 5: 8581, 2015; *Hepatol Commun* 215-229, 2017)。発生と発癌は多くの共通したメカニズムにより制御されることに加えて、肝癌はマウスに薬剤を投与することにより簡便に誘導できることから、肝癌の発生・進展における Notch シグナルの役割を検討した。

### 3. 研究の方法

薬剤誘導型 Jag1 欠失マウスおよび対照の野生型マウスに対して、3 週齢で diethylnitrosamine (DEN) を腹腔内に単回投与した後、8 週齢で Jag1 の欠損を誘導した。46 週齢の時点で肝組織を採取し、組織学的解析を行った。

### 4. 研究成果

DEN 投与 10 ヶ月後の肝腫瘍発生率は、対照マウス (71%, 9%) に対して Jag1 欠失マウス (Jag1 cKO; 100%, 83%) で有意に上昇した (図 1)。

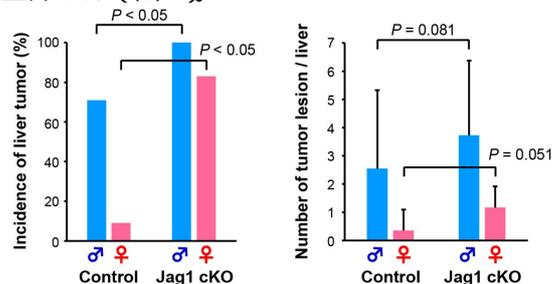


図 1

しかしながら、両マウスの肝癌細胞には Notch 下流因子である Hes1 の発現が同等に認められた (図 2)。

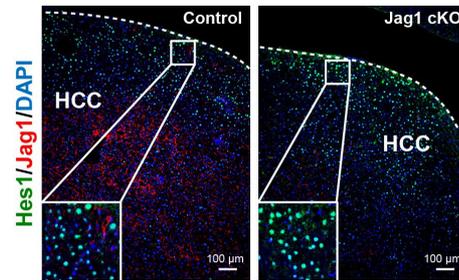


図 2

そこで、Jag1 以外の Notch リガンドの関与を検討したところ、正常部と比較して腫瘍部で Dll4 遺伝子発現が増加し、この Dll4 遺伝子の発現は腫瘍部においては Hes1 遺伝子発現と正の相関を示した (図 3)。

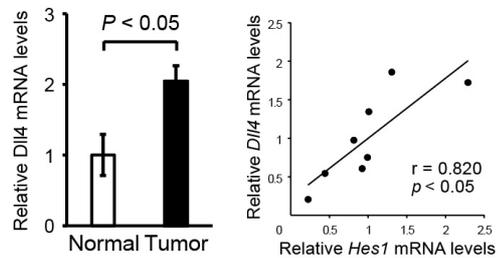


図 3

対照マウスの初期癌病巣では、Jag1 陽性の間葉系細胞に接する肝細胞で Notch2 の核内移行と Hes1 の軽度発現を認める領域と、間葉系細胞は Jag1 陰性で、肝細胞自らが Dll4 を発現し Notch3 の核内移行と Hes1 の強発現を示す領域が混在していた (data not shown)。また、腫瘍辺縁の増殖が活発な部位の肝癌細胞は Dll4 陽性・Hes1 強陽性で、周囲の間葉系細胞が Jag1 陰性であるのに対して、中心部へ向かうにしたがって間葉系細胞が Jag1 を発現し、肝癌細胞の Dll4・Hes1・Ki67 発現は減弱した (図 4)。

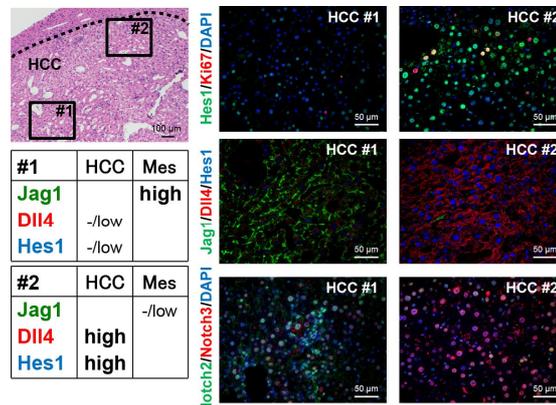


図 4

一方、Jag1 欠失マウスの正常肝細胞では Notch2 の核内移行が消失し、Dll4 の発現と Notch3 の核内移行が認められた (次項・図 5)。

また、野生型マウスの肝細胞に Notch2 の細胞内ドメインを過剰発現させると、Notch3 遺伝子の発現が相対的に減少した（図 6）。

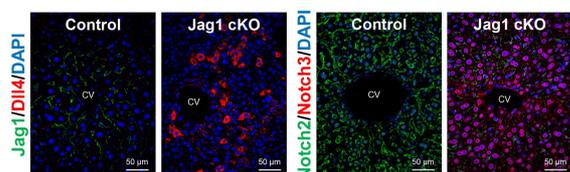


図 5

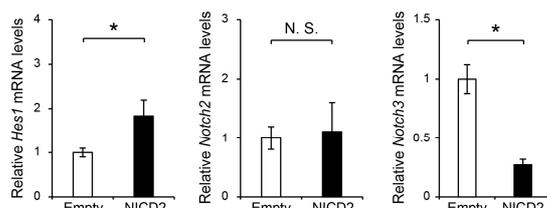


図 6

肝癌の進展過程では、間葉系細胞における Jag1 の発現低下に伴う Notch2 シグナルの減弱と、癌細胞自身の Dll4 をリガンドとする Notch3 シグナルの活性化が起こり、このシグナル転換が肝癌細胞の増殖を促進することが示唆された（図 7）。

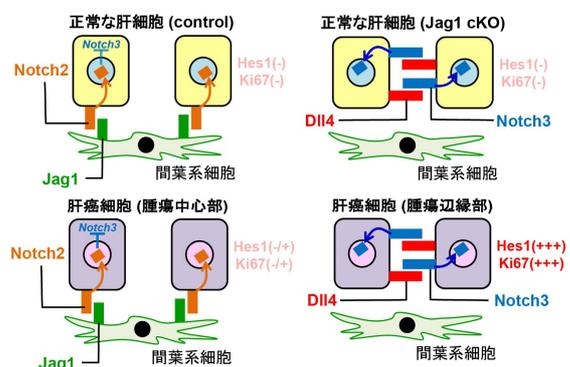


図 7

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yasuhiro Nakano, Sachie Nakao, Hideaki Sumiyoshi, Kenichiro Mikami, Yuri Tanno, Minako Sueoka, Daigo Kasahara, Hiroshi Kimura, Tadashi Moro, Akihide Kamiya, Katsuto Hozumi, Yutaka Inagaki: Identification of a novel alpha-fetoprotein-expressing cell population induced by the Jagged1/Notch2 signal in murine fibrotic liver. *Hepatology Communications* 査読有 1, 215-229, (2017) DOI: 10.1002/hep4.1026

〔学会発表〕(計 11 件)

Yasuhiro Nakano, Katsuto Hozumi, Yutaka Inagaki. The roles of Jagged1 for hepatic progenitor cells in liver development and fibrotic liver

regeneration. CDB Symposium 2018 (2018)

中野泰博, 中尾祥絵, 住吉秀明, 三上健一郎, 丹野友里, 末岡美那子, 笠原大瑚, 木村啓志, 茂呂 忠, 紙谷聡英, 穂積勝人, 稲垣 豊. Jagged1/Notch シグナルを介した線維肝再生における前駆細胞動員機構の解明. 第 16 回日本再生医療学会・総会 (2017)

中野泰博, 住吉秀明, 稲垣 豊. Notch シグナルを介した肝線維化と再生・発癌の病態連繋. 第 53 回日本肝臓学会・総会 (2017)

中野泰博, 中尾祥絵, 丹野友里, 末岡美那子, 笠原大瑚, 住吉秀明, 穂積勝人, 稲垣 豊. Jag1/Notch2 から Dll4/Notch3 へのシグナル転換は肝細胞癌の進展を規定する. 第 24 回肝細胞研究会 (2017)

Yasuhiro Nakano, Sachie Nakao, Yuri Tanno, Minako Sueoka, Daigo Kasahara, Hideaki Sumiyoshi, Katsuto Hozumi, Yutaka Inagaki. Differential Notch Signaling Modulates Experimental Hepatic Carcinogenesis in Mice. *American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) - Liver meeting 2017* (2017)

中野泰博, 中尾祥絵, 丹野友里, 末岡美那子, 笠原大瑚, 住吉秀明, 穂積勝人, 稲垣 豊. 肝癌細胞・間葉系細胞間の Notch シグナルによる肝細胞癌の進展制御. 第 31 回肝臓洞壁細胞研究会学術集会 (2017)

中野泰博, 中尾祥絵, 丹野友里, 末岡美那子, 笠原大瑚, 住吉秀明, 穂積勝人, 稲垣 豊. Notch シグナルによる肝癌進展の制御機構. 第 40 回日本分子生物学会・年会 (ConBio2017) (2017)

中野泰博, 住吉秀明, 稲垣 豊. Notch-Jagged1 シグナルを介した線維肝における肝前駆細胞動員機構の解明. 第 52 回日本肝臓学会・総会 (2016)

中野泰博, 中尾祥絵, 住吉秀明, 三上健一郎, 瀧澤友里, 茂呂 忠, 紙谷聡英, 穂積勝人, 稲垣 豊. 肝発生および線維肝再生過程における肝前駆細胞は、間葉系細胞の Jagged1 をリガンドとする Notch シグナルによって制御される. 第 23 回肝細胞研究会 (2016)

Yasuhiro Nakano, Sachie Nakao, Hideaki Sumiyoshi, Kenichiro Mikami, Yuri Tanno, Daigo Kasahara, Hiroshi Kimura, Tadashi Moro, Akihide Kamiya, Katsuto Hozumi, Yutaka Inagaki. Contribution of Jagged1/Notch Signaling to Murine

Fibrotic Liver Regeneration through Possible Dedifferentiation of Mature Hepatocytes. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) - Liver meeting 2016 (2016)

中野泰博, 中尾祥絵, 住吉秀明, 三上健一郎, 丹野友里, 末岡美那子, 笠原大瑚, 木村啓志, 茂呂 忠, 紙谷聡英, 穂積勝人, 稲垣 豊. Jagged1/Notch シグナルは線維肝再生における肝前駆細胞の動員に機能する. 第 39 回日本分子生物学会・年会 (2016)

〔その他〕

ホームページ等

<http://matrix.med.u-tokai.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中野 泰博 (NAKANO, Yasuhiro)  
東海大学・医学部・特定研究員  
研究者番号: 80755439

### (4) 研究協力者

稲垣 豊 (INAGAKI, Yutaka)

穂積 勝人 (HOZUMI, Katsuto)

紙谷 聡英 (KAMIYA, Akihide)

住吉 秀明 (SUMIYOSHI, Hideaki)

三上 健一郎 (MIKAMI, Kenichiro)