

令和元年6月17日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19939

研究課題名(和文) 脂肪酸代謝、酸化ストレスを介したNAFLD/NASH肝細胞癌の発癌・進展機構解明

研究課題名(英文) Functional analysis of the cancer development from fatty acid metabolism and oxidative phosphorylation of HCC based on NAFLD/NASH

研究代表者

中川 茂樹 (NAKAGAWA, Shigeki)

熊本大学・医学部附属病院・寄附講座教員

研究者番号：10594872

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)：肝細胞癌の原因の一つとして非アルコール性脂肪肝炎が挙げられ、日本においても増加しつつある。我々は、非アルコール性脂肪肝炎からの肝細胞癌の発癌に寄与する遺伝子としてTM6SF2という遺伝子に注目し、この遺伝子の発癌における機序を明らかにした。今回の研究においては、網羅的な遺伝子発現のデータベースを用いた解析を中心に行い、TM6SF2が脂肪酸の代謝や酸化リン酸化を介して肝細胞癌の発癌に関わる事が明らかとなり、今後治療標的として期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究においてTM6SF2が非アルコール性脂肪肝炎を背景とした肝細胞癌の発癌に関わっている事が明らかとなった。これにより非アルコール性脂肪肝炎患者の中でも発癌リスクの高い群を同定する事が可能であり、更にはTM6SF2を標的とした発癌予防へと発展する事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Recently, Non-alcoholic fatty liver disease: NAFLD is increasing as a cause of hepatocellular carcinoma: HCC in Japan. We focused on the gene named TM6SF2, as an oncogene which is strongly associated with the development of HCC, and we analyzed the functional role of this gene in the process of cancer development. We used the exhaustive gene expression database and analyzed the association between TM6SF2 expression and molecular pathways, we revealed that the TM6SF2 expression is strongly associated with fatty acid metabolism, oxidative phosphorylation, suggesting that the TM6SF2 regulate the fatty acid metabolism and associated with the development of HCC.

研究分野：肝胆膵領域における手術を中心とした集学的治療

キーワード：肝細胞癌 非アルコール性脂肪肝 遺伝子発現 TM6SF2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌の主な原因肝疾患として C 型肝炎、B 型肝炎、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪肝(炎)[Non-alcoholic fatty liver disease:NAFLD (Non-alcoholic steatohepatitis:NASH)] が知られている。中でも NAFLD(NASH)は主に欧米で増加している疾患として知られていたが、近年本邦においてもその罹患率は増加しつつあり、NAFLD(NASH)から発生した肝細胞癌も増加している。近年 C 型肝炎、B 型肝炎に対する治療及び発癌予防法が開発されている中、NAFLD(NASH)に対する治療及び発癌予防に関しては未だ確立されておらず、その発癌機構の解明及び発癌予防法の開発が急務である。近年、Transmembrane 6 superfamily member 2(TM6SF2)が NAFLD から NASH への進展を予測する因子として同定され、NAFLD(NASH)及び動脈硬化性疾患のリスクファクターとして有用であることが報告された(*Nat Genet. 2014, Hepatology. 2015*)。TM6SF2 の機能として肝細胞における脂肪及びコレステロール代謝への関与が推測されているが、その詳細な機能は未だ不明な点が多く、癌細胞における機能も明らかになっていない。本研究においては、背景肝(非癌組織)における TM6SF2 の発癌・予後予測因子としての有用性、及び肝細胞癌の発癌、進展におけるその機能を明らかにすることを目的とする。

2. 研究の目的

肝細胞癌の主な原因間疾患の 1 つに非アルコール性肝疾患(肝炎): NAFLD(NASH)が挙げられる。欧米を中心に多い疾患であったが、近年本邦においても増加傾向にあり、NAFLD(NASH)からの肝細胞癌も増加傾向にある。NAFLD 及び NASH から肝細胞癌が発生する機序には未だ不明な点が多く、これに対する治療法、発癌予防法の開発が急務である。本研究では、NAFLD(NASH)の進行、予後に影響を与える因子として近年注目されている Transmembrane 6 superfamily member 2(TM6SF2)に注目し、脂肪酸代謝及び酸化ストレスを中心とした機能解析を行い、その発癌・進展における働きを明らかにすることを目的とする。更に TM6SF2 の肝細胞癌の予後・再発予測因子としての有用性及び薬剤感受性予測因子としての有用性を明らかにし、速やかな臨床応用へ向けて研究を進める。

3. 研究の方法

大別して 4 種類の手法で NAFLD(NASH)から肝細胞癌へと進展する過程における TM6SF2 の影響を明らかにする。第一に、ヒト検体における TM6SF2 と臨床病理学的因子及び脂肪酸代謝・酸化ストレスマーカーとの相関関係を検討し、予後・再発予測因子としての意義を明らかにする。第二に、肝細胞癌細胞株を用いた機能解析により、癌細胞内の TM6SF2 の働きを検討し、癌進展における TM6SF2 の役割を明らかにする。第三に、初代継代肝細胞株を用いた(非癌)肝細胞における機能解析により、NAFLD(NASH)から発癌へ至る過程における TM6SF2 の働きを明らかにする。第四に、ヒト組織のスライス培養系(ex-vivo)を用いた現存する薬剤の効果の検証及び効果予測マーカーとしての TM6SF2 の有用性を検討する。これらの手法を用いて NAFLD(NASH)肝細胞癌の発癌・進展機構を明らかにする。

4. 研究成果

我々はこれまでに、パブリックデータベースを用いた解析を行い、TM6SF2 の機能解析を行ってきた。NASH 肝組織のマイクロアレイデータベース(GSE49541)を用いて、TM6SF2 高発現症例において発現が上昇している遺伝子セットを GSEA(Gene Set Enrichment Analysis)を用いて解析したところ、TM6SF2 高発現症例において脂肪酸代謝、酸化的リン酸化、アディポジェネシス等が亢進している事が明らかとなり、TM6SF2 がこれらの反応を制御している可能性が示唆された。また、肝細胞癌組織のマイクロアレイデータベースである GSE9843、GSE16757 を用いた解析においても TM6SF2 高発現症例において脂肪酸代謝、アディポジェネシス等が亢進しており、これらの代謝経路を介して肝細胞癌の悪性度に寄与している事が示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

Nakagawa S, Umezaki N, Yamao T, Kaida T, Okabe H, Mima K, Imai K, Hashimoto D, Yamashita YI, Ishiko T, Chikamoto A, Baba H: Survival impact of lymphocyte infiltration into the tumor of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus-positive or non-B non-C patients who underwent curative resection. *Hepatol Res.* 2018 Feb;48(3):E126-E132. 査読有
doi: 10.1111/hepr.12936. Epub 2017 Aug 10.

Kaida T, Nitta H, Kitano Y, Yamamura K, Arima K, Higashi T, Taki K, Nakagawa S, Okabe H, Hayashi H, Imai K, Hashimoto D, Yamashita YI, Chikamoto A, Ishiko T, Beppu T,

Baba H: Preoperative platelet-to-lymphocyte ratio can predict recurrence beyond the Milan criteria after hepatectomy for patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2016 Nov 2. 査読有 doi: 10.1111/hepr.12835.

Yamashita YI, Imai K, Tsujita E, Kaida T, Yamao T, Umezaki N, Nakagawa S, Hashimoto D, Chikamoto A, Baba H: Selective Venous Occlusions for Reducing Blood Loss During Right Anterior Sectionectomy of the Liver for Hepatocellular Carcinoma. *J Am Coll Surg.* 2017 Feb;224(2):e5-e9. 査読有 doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2016.10.035.

Nakagawa S, Wei L, Song WM, Higashi T, Ghoshal S, Kim RS, Bian CB, Yamada S, Sun X, Venkatesh A, Goossens N, Bain G, Lauwers GY, Koh AP, El-Abtah M, Ahmad NB, Hoshida H, Erstad DJ, Gunasekaran G, Lee Y, Yu ML, Chuang WL, Dai CY, Kobayashi M, Kumada H, Beppu T, Baba H, Mahajan M, Nair VD, Lanuti M, Villanueva A, Sangiovanni A, Iavarone M, Colombo M, Llovet JM, Subramanian A, Tager AM, Friedman SL, Baumert TF, Schwarz ME, Chung RT, Tanabe KK, Zhang B, Fuchs BC, Hoshida Y; Precision Liver Cancer Prevention Consortium: Molecular Liver Cancer Prevention in Cirrhosis by Organ Transcriptome Analysis and Lysophosphatidic Acid Pathway Inhibition. *Cancer Cell.* 2016 Dec 12;30(6):879-890. 査読有 doi: 10.1016/j.ccell.2016.11.004.

Higashi T, Hayashi H, Kitano Y, Yamamura K, Kaida T, Arima K, Taki K, Nakagawa S, Okabe H, Nitta H, Imai K, Hashimoto D, Chikamoto A, Beppu T, Baba H: Statin attenuates cell proliferative ability via TAZ (WWTR1) in hepatocellular carcinoma. *Med Oncol.* 2016 Nov;33(11):123. Epub 2016 Oct 12. 査読有
<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12032-016-0845-6>

Nitta H, Nakagawa S, Kaida T, Arima K, Higashi T, Taki K, Okabe H, Hayashi H, Hashimoto D, Chikamoto A, Ishiko T, Beppu T, Baba H: Pre-treatment double- or triple-positive tumor markers are predictive of a poor outcome for patients undergoing radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Surg Today.* 2017 Mar;47(3):375-384. 査読有 doi: 10.1007/s00595-016-1385-6. Epub 2016 Aug 22.

Nakagawa S, Umezaki N, Yamao T, Kaida T, Okabe H, Mima K, Imai K, Hashimoto D, Yamashita YI, Ishiko T, Chikamoto A, Baba H: Survival impact of lymphocyte infiltration into the tumor of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus-positive or non-B non-C patients who underwent curative resection. *Hepatol Res.* 2017 Jul 11. 査読有 doi: 10.1111/hepr.12936

Nakagawa S, Okabe H, Ouchi M, Tokunaga R, Umezaki N, Higashi T, Kaida T, Arima K, Kitano Y, Kuroki H, Mima K, Nitta H, Imai K, Hashimoto D, Yamashita YI, Chikamoto A, Baba H: Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) regulates tumor angiogenesis and predicts recurrence and prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma. *HPB (Oxford).* 2018 20(10):939-948. 査読有 doi: 10.1016/j.hpb.2018.03.018

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: Lysyl oxidase induces epithelial-mesenchymal transition and predict intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 2019 Mar 28. 査読有 doi: 10.1111/cas.14010. [Epub ahead of print]

学会業績

〔学会発表〕(計 8 件)

A stromal liver gene signature predictive of HCC risk across all liver disease etiologies

Shigeki Nakagawa, Naoki Umesaki, Takanobu Yamao Yuki Kitano, Kensuke Yamamura, Kota Arima, Tatsunori Miyata, Takayoshi Kaida, Yujin Hoshida, Katsunori Imai, Daisuke Hashimoto, Yoichi Yamashita, Akira Chikamoto, Hideo Baba

AACR 2018

肝細胞癌における多中心性及び肝内転移再発予測の為に Molecular gene signature の検討

中川茂樹、梅崎直紀、山尾宣暢、北野雄希、山村謙介、宮田辰徳、美馬浩介、今井克憲、橋本大輔、山下洋市、近本亮、馬場秀夫
第 72 回日本消化器外科学会総会 2017

肝細胞癌における多中心性及び肝内転移再発予測の為に Molecular gene signature の検討

中川茂樹、梅崎直紀、北野雄希、今井克憲、山下洋市、近本亮、馬場秀夫
第 118 回日本外科学会定期学術集会 2018

Lymphocyte 25-gene signature can predict the prognosis of the patients who underwent surgery for pancreatic cancer

Shigeki Nakagawa, Yo-ichi Yamashita, Hirohisa Okabe, Katsunori Imai, Hidetoshi Nitta, Akira Chikamoto, Hideo Baba
第 30 回日本肝胆膵外科学会学術集会 2018

Molecular gene signature predicts HCC recurrence for the precision medicine of HCC patients

Shigeki Nakagawa, Yo-ichi Yamashita, Naoki Umezaki, Yuki Kitano, Tatsunori Miyata, Hirohisa Okabe, Katsunori Imai, Hidetoshi Nitta, Akira Chikamoto, Hideo Baba
第 73 回日本消化器外科学会総会 2018

肝細胞癌のモレキュラーサブクラスと再発、腫瘍マーカーの検討

中川茂樹、山下洋市、岡部弘尚、林洋光、今井克憲、近本亮、馬場秀夫
第 77 回日本癌学会学術総会 2018

末梢血リンパ球数と膵癌根治切除術後再発の相関の検討

中川茂樹、山下洋市、岡部弘尚、林洋光、今井克憲、近本亮、馬場秀夫
第 56 回日本癌治療学会学術集会 2018

肝細胞癌初回切除例における BALAD score による Molecular Subtype 予測と臨床的意義の検討

中川茂樹、山下洋市、岡部弘尚、新田英利、今井克憲、林洋光、近本亮、石河隆敏、馬場秀夫
JDDW 2018

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。