

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：24405

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16967

研究課題名（和文）老化関連分泌因子誘発肝がんの分子機序解析

研究課題名（英文）Molecular mechanism of senescence-associated secretory factor-induced liver cancer

研究代表者

小田桐 直志 (Odagiri, Naoshi)

大阪公立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：10623241

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：老化ヒト肝星細胞ではANGPTL4・IL-8・PF4V1（老化3因子）の遺伝子発現が増加しているが、この老化3因子が血管新生・細胞増殖・炎症誘発などの点で肝がん病態進展に与える影響を検証することを目的とした。肝がん細胞（HepG2、Li-7、SNU387）への老化3因子の蛋白添加実験を行ったが、細胞増殖への直接的影響は確認できなかった。血管新生への影響について解析するためヒト類洞内皮細胞（LSEC）を用いた実験を行ったが、CXCR1・CXCR2の遺伝子発現はLSECではほとんど見られず、IL-8は血管新生に対する影響は乏しいと考えられ、炎症誘発作用への影響を解析する必要があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々はヒト肝星細胞の老化関連分泌因子と肝発癌との関連に注目し研究を行った。我々は極力単純化した実験系での生理機能の立証を試みたが、肝がん細胞の増殖や血管新生などに直結する直接的な生理作用を見出すことはできなかった。肝微小環境においてこうした老化関連分泌因子は複雑な相互作用を有しているものと考えられ、それらの解明には今後もさらなる研究が必要である。細胞老化と発がんの関連性については様々な臓器システムで注目されている分野であり、このような機序の解明は癌に対する新たな治療開発の可能性につながってくると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Gene expressions of ANGPTL4, IL-8, and PF4V1 are already reported to be increased in senescent human hepatic stellate cells (HSCs). We aimed to examine the effect of these three senescence-associated secretory factors of HSCs on the progression of liver cancer in terms of angiogenesis, cell proliferation, and pro-inflammatory effect. However, Addition of IL-8, ANGPTL4, and PF4V1 protein to liver cancer cells showed no direct effect on proliferation. In experiments using human sinusoidal endothelial cells (LSECs), gene expressions of CXCR1 and CXCR2 (main receptors of IL-8) was barely observed in LSECs, suggesting that IL-8 has no direct physiological function on LSECs. Further study for the pro-inflammatory effect of IL-8 in microenvironment of HCC is needed.

研究分野：肝臓病学

キーワード：肝細胞癌 細胞老化 分泌因子 化学療法

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性肝炎の終末像は、背景肝疾患に問わず、肝硬変・肝がんである。しかし、肝硬変・肝がんに対する特効薬は存在せず、また、肝硬変から肝がんへ至る分子機序は不明な点が多い。興味深いことに、肝硬変から肝がんへ進展する症例の多くは70歳以上の高齢者である。また、近年では慢性C型肝炎に対する治療が飛躍的に進歩しているが、その一方でC型肝炎ウイルス(HCV)除去後の肝発がん(SVR肝がん)の症例も増加しており、その詳細な機序は未だ不明のままである。これは加齢や慢性炎症による臓器老化と肝がんが関連あることを示唆しているが、その要因は分かっていない。

2. 研究の目的

加齢や慢性肝炎に伴って生じてくる肝がんは、その病態進行に肝間質との相互作用が少なからず影響していると考えられている。近年、肝星細胞の老化に伴って分泌される液性因子が肝がんの病態進行に寄与することが報告されているが、ヒト慢性肝疾患における老化肝星細胞の実態やその生理的意義については不明な点が多い。本研究では、申請者がこれまでの研究で見出したヒト肝星細胞の老化関連分泌因子(ANGPTL4・IL-8・PF4V1; 老化3因子)に着目し、肝がんの病態進展における作用、特に癌微小環境の変化を運命付ける因子を同定してその病態生理学的意義を明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

1) 老化3因子が肝がん細胞の増殖に与える影響に関する検証

HepG2・Li-7・SNU387といったヒト肝がん細胞株を用い、ANGPTL4やPF4V1の蛋白をこれらの細胞に添加し、その細胞数をWSTアッセイにより評価し、その増殖に与える影響を調べた。

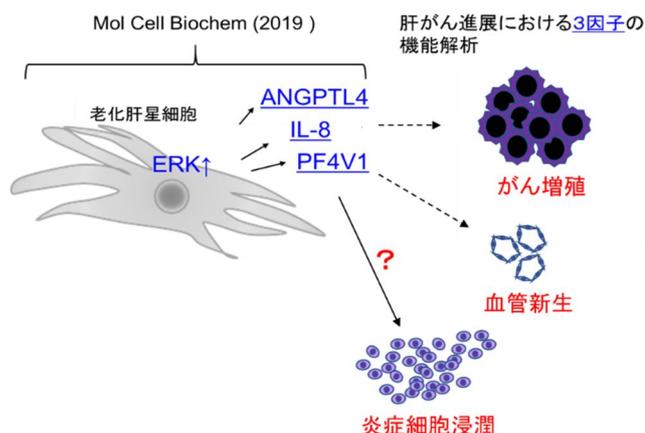
2) 老化3因子と内皮細胞との関連性に関する検証

内皮細胞のモデルとしてヒト類洞内皮細胞(LSEC)を用い、老化LSECにおける老化3因子の遺伝子発現やIL-8受容体遺伝子であるCXCR1・CXCR2の発現を解析した。

3) 肝細胞癌に対する化学療法患者における関連性の探索

アテゾリズマブ・ベバシズマブによる全身化学療法を施行した肝細胞癌患者における治療前血中IL-8濃度と最良治療効果との関連性について解析した。

4. 研究成果



老化ヒト肝星細胞(HSC)ではANGPTL4・IL-8・PF4V1(以下、老化3因子)の遺伝子発現が増加しており、本研究ではこの老化3因子に注目して、肝がん細胞の増殖、血管新生、炎症細胞浸潤などの観点から、老化3因子が肝がん病態進展に与える影響を検証することを目的としている。HSCの老化3因子であるANGPTL4とPF4V1の生理機能に着目し、肝がん細胞(HepG2、Li-7、SNU387)にANGPTL4蛋白やPF4V1蛋白を添加して増殖能に与える影響を解析したが、有意な変化は認められず、肝がん細胞の増殖能への直接的関与は否定的と考えられた。

血管新生に与える影響については、市販のヒト類洞内皮細胞(LSEC)を用いて老化3因子の遺伝子発現やIL-8の受容体として知られているCXCR1・CXCR2の遺伝子発現を測定した。その結果、ANGPTL4とPF4V1の遺伝子発現は老化LSECでも増加していることが判明し、これらの因子はLSECにも共通した老化関連分泌因子であることが示唆された。一方、IL-8の遺伝子発現は老化LSECで低下し、またIL-8の主要な受容体であるCXCR1・CXCR2の遺伝子発現はLSECではほとんど見られず、IL-8はLSECにおいては直接的な生理機能は有していない可能性が考えられた。また、老化3因子と炎症促進作用については今回十分検討できておらず、更なる検証が必要であ

と思われる。

さらに、肝星細胞の老化関連分泌因子である IL-8 を含むサイトカインの血中濃度と肝細胞癌患者における化学療法との関連性にも着目した。現在、切除不能肝細胞癌に対してはアテゾリズマブ・ベバシズマブ併用療法 (Atezo+Bev) が第一選択として行われている。2020 年 12 月から 2022 年 8 月にかけて、当科において Atezo+Bev を導入した切除不能肝細胞癌 38 例を対象とし、治療開始前と治療開始後 4-7 日における血液検体を用いて IL-8 の血漿中濃度を測定し、Atezo+Bev の治療効果との関連について解析した。治療効果判定が行われた 34 例において、最良治療効果が CR/PR の群 (n=14) は、SD/PD の群 (n=20) に比較したが、これまでの検討では IL-8 と Atezo+Bev の治療効果との関連性を見出すことはできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Odagiri Naoshi, Tamori Akihiro, Kotani Kohei, Motoyama Hiroyuki, Kawamura Etsushi, Hagihara Atsushi, Fujii Hideki, Uchida?Kobayashi Sawako, Enomoto Masaru, Kawada Norifumi	4. 巻 -
2. 論文標題 A case of hepatocellular carcinoma with “pseudoprogression” followed by complete response to atezolizumab plus bevacizumab	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12328-023-01761-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Odagiri N, Matsubara T, Sato-Matsubara M, Fujii H, Enomoto M, Kawada N.	4. 巻 27
2. 論文標題 Anti-fibrotic treatments for chronic liver diseases: The present and the future.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Mol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 413-424
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3350/cmh.2020.0187	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 小田桐 直志、河田 則文	4. 巻 111
2. 論文標題 肝線維化進展の分子機序、血中肝線維化マーカー	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本内科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 15-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 小田桐直志、榎本 大、武藤芳美、小谷晃平、元山宏行、小塚立蔵、川村悦史、萩原淳司、藤井英樹、打田佐和子、田守昭博、久保正二、河田則文
2. 発表標題 2 次治療以降例に注目したアテゾリズマ ブ・ベバシズマブの有効性・安全性と治療中止後の 後治療成績
3. 学会等名 第58回 日本肝臓学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田桐 直志、榎本 大、武藤 芳美、小谷 晃平、元山 宏行、川村 悦史、萩原 淳司、藤井 英樹、打田 佐和子、河田 則文
2. 発表標題 高齢肝細胞癌に対するアテゾリズマブ・ベバシズマブ の有効性・安全性
3. 学会等名 第24回日本高齢消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田桐 直志、榎本 大、萩原 淳司、河田 則文
2. 発表標題 75歳以上の高齢肝細胞癌に対するアテゾリズマブ・ベバシズマブ の有効性と安全性
3. 学会等名 日本消化器病学会近畿支部第117回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田桐直志、榎本 大、武藤芳美、小谷晃平、元山宏行、小塚立蔵、川村悦史、萩原淳司、藤井英樹、打田佐和子、河田則文
2. 発表標題 アテゾリズマブ+ベバシズマブ併用療法施行中にPseudoprogressionを呈した切除不能肝細胞癌の1例
3. 学会等名 第27回日本肝がん分子標的治療研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田桐直志、Minh Phuong Dong、Hai Hoang、Thanh Thuy Le Thi、小谷晃平、小塚立蔵、元山宏行、川村悦史、萩原淳司、藤井英樹、打田佐和子、榎本大、田守昭博、河田則文
2. 発表標題 切除不能肝細胞癌に対する血管新生阻害剤の効果予測における可溶性免疫チェックポイント蛋白の有用性
3. 学会等名 第57回 日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小田桐直志、萩原淳司、吉田香奈子、小谷晃平、元山宏行、小塚立蔵、木村健二郎、川村悦史、藤井英樹、打田佐和子、田中肖吾、天野良亮、櫻本大、竹村茂一、田守昭博、久保正二、河田則文
2. 発表標題 当院における切除不能肝細胞癌に対するアテゾリズマブ・ベパシズマブ併用療法の初期投与経験
3. 学会等名 第24回 日本肝がん分子標的治療研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Naoshi Odagiri, Atsushi Hagihara, Kohei Kotani, Hiroyuki Motoyama, Ritsuzo Kozuka, Etsushi Kawamura, Hideki Fujii, Sawako Uchida, Masaru Enomoto, Akihiro Tamori, Shogo Tanaka, Ryosuke Amano, Shigekazu Takemura, Shoji Kubo, Norifumi Kawada
2. 発表標題 Efficacy and safety of atezolizumab plus bevacizumab for advanced hepatocellular carcinoma
3. 学会等名 JSH International Liver Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Odagiri, N; Enomoto, M; Hai, H; Le, TTT; Dong, MP; Suoh, M; Kotani, K; Hagihara, A; Uchida, S; Tamori, A; Kawada, N
2. 発表標題 EARLY CHANGE IN THE PLASMA LEVELS OF CIRCULATING SOLUBLE IMMUNE CHECKPOINT PROTEINS IN PATIENTS WITH UNRESECTABLE HEPATOCELLULAR CARCINOMA TREATED BY LENVATINIB OR TRANSCATHETER ARTERIAL EMBOLIZATION
3. 学会等名 AASLD The Liver Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------