

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07995

研究課題名(和文)ミトコンドリアフェリチンによる肝発癌抑制機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of hepatocarcinogenesis suppression by mitochondrial ferritin

研究代表者

原 裕一 (HARA, YUICHI)

川崎医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：60550952

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)：肝発癌マウスの筋肉量を体重に対する筋重量で評価したところ、このマウスモデルの筋重量/体重の平均は2.12に対し、このマウスモデルにDFPを加えると2.91に有意に増加した。さらにこのマウスモデルの肝特異的にミトファジーを抑制したものにDFPを加えたところ筋重量/体重は2.01へと減少しコントロールマウスと有意な差はなかった。また血清中のセレノプロテインPは(DMBA)を塗布し高脂肪食を負荷した肝発癌マウスと比較し、このマウスにDFPを加えたモデルは0.62倍と有意に減少し、さらにこのマウスの肝特異的にミトファジーを抑制したモデルでは1.12倍で処置をしていないマウスと有意な差はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

FTMTは以前からその存在は知られていたが、その発現機構及び機能についてはほとんど知られていない。肝発癌過程でのFTMTの発現の意義については未だ不明である。本研究でその機構が明らかになれば世界で初めての知見となる。またFTMTの発現を促す薬剤は鉄キレート剤のみしか明らかになっていないが、鉄キレート剤はその副作用として、貧血を引き起こすことが予想される。この研究により、FTMTの発現を促す薬剤が明らかとなれば、安全で発癌抑制を期待できる薬剤が開発できることになる。FTMT発現誘導による肝発がん抑制はこれまで行われておらず、これもまた世界で初めての試みである。

研究成果の概要(英文)：When the muscle mass of mice with hepatocarcinoma was evaluated based on muscle weight relative to body weight (muscle weight (mg)/body weight (g)), the average muscle weight (mg)/body weight (g) of this mouse model was 2.12, but when DFP was added to this mouse model, it significantly increased to 2.91 ( $p<0.05$ ). Furthermore, when DFP was added to this mouse model in which mitophagy was specifically inhibited in the liver, muscle weight (mg)/body weight (g) decreased to 2.01, with no significant difference from control mice. Furthermore, compared with mice with hepatocarcinoma that were applied with (DMBA) and fed a high-fat diet, serum selenoprotein P in a model in which DFP was added was significantly reduced to 0.62-fold ( $<0.05$ ). Furthermore, in a model in which mitophagy was specifically suppressed in the liver, serum selenoprotein P was 1.12-fold, not significantly different from untreated mice.

研究分野：hepatology

キーワード：mitochondria mitophagy HCC

### 1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌はいまだに予後不良の疾患であり、非 B 非 C 型の肝細胞がんの増加とともに、早期発見のサーベイランスも困難になってきている。成因別に特化した遺伝子変異の蓄積もないことが明らかにされ、より普遍的な発がん機構の解明と、従来とは異なる観点からの治療開発が必要である。活性酸素種 (ROS) は遺伝子変異を惹起し肝発癌に関与するが、ROS の産生機構として、ミトコンドリア障害やミトコンドリア修復機構の障害が重要であること報告してきた。これらの報告の中で我々はミトコンドリアフェリチン (FTMT) がミトコンドリアの修復機構である mitophagy の key molecule であることを同定し、発癌抑制に FTMT が関与することも明らかにした。

### 2. 研究の目的

本研究では FTMT をノックダウンした肝発癌モデルマウス及びヒト肝組織の癌部、非癌部の変化を検討することで、FTMT の関与する発癌抑制の分子機構を解明し、FTMT を介した新たな肝細胞癌治療を開発する。

### 3. 研究の方法

#### FTMT による肝発癌抑制機構の解明

#### 1. CRISPER-Cas9によるゲノム編集 (受託) によるFTMT肝特異的欠損マウスの作成

FTMT 肝特異的欠損マウスの phenotype を検討するとともに、脂肪肝から肝発癌をきたすマウス (Nature 2013) の手技を用いて FTMT を欠損した NASH 肝発癌モデルを作製、癌部、非癌部の肝細胞における遺伝子変異を検索 (HiCEP 法、次世代シーケンス)。

#### 2. ヒト肝癌患者の検体の癌部、非癌部の肝細胞における FTMT 発現変化の確認 (免疫染色) と遺伝子変化の比較 (HiCEP 法、次世代シーケンス)

#### 3. FTMT 誘導機序の解明

癌部では FTMT が著明に発現低下するがその機序を解明する。

FTMT のプロモーター領域に結合する転写因子が 6 種類報告されている (Scientific Reports 2015) 癌部、非癌部でプロモーター領域に結合する転写因子の増減を ChIP アッセイにて検出する。

癌部、非癌部を比較し、癌部で有意に FTMT を低下させる転写因子が発見できた場合、正常ヒト初代培養細胞 (肝細胞 HH: ScienCell 社) においてその因子を siRNA でノックダウンし、FTMT が実際に低下するか否かを確認する。

#### 4. 研究成果

NAFLD 肝組織による検討では FtMt の発現は電顕で観察される mitophagosome と正の相関を示した ( $r=0.82$ ,  $P<0.01$ )。また FtMt の発現は Matteoni type の進展とともに減少する傾向にあり、Matteoni type の群、Matteoni type の群で層別化すると Matteoni type の群で有意に FtMt の発現が低下した ( $P<0.01$ )。

マウスモデルに DFP を投与すると、病態進展が抑制されていた。肝組織内ではミトファジーが誘導されていた。このマウスモデルに対し、肝特異的にミトファジーを抑制したところ病態進展の抑制がキャンセルされた。DMBA を塗布し高脂肪食を負荷した肝発癌マウスの筋肉量を体重に対する筋重量 (筋重量 (mg)/体重 (g)) で評価したところ、このマウスモデルの筋重量 (mg)/体重 (g) の平均は 2.12 に対し、このマウスモデルに DFP を加えると 2.91 に有意 ( $p<0.05$ ) に増加した。さらにこのマウスモデルの肝特異的にミトファジーを抑制したものに DFP を加えたところ筋重量 (mg)/体重 (g) は 2.01 へと減少しコントロールマウスと有意な差はなかった。また血清中のセレノプロテイン P は (DMBA) を塗

布し高脂肪食を負荷した肝発癌マウスと比較し、このマウスに DFP を加えたモデルは 0.62 倍と有意 ( $<0.05$ ) に減少し、さらにこのマウスの肝特異的にミトファジーを抑制したモデルでは 1.12 倍で処置をしていないマウスと有意な差はなかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Keisuke Hino , Izumi Yanatori , Yuichi Hara , Sohji Nishina	4. 巻 2022 Dec;289(24)
2. 論文標題 Iron and liver cancer: an inseparable connection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS J .	6. 最初と最後の頁 7810-7829
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.16208.	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 該当する
1. 著者名 Hino Keisuke, Yanatori Izumi, Hara Yuichi, Nishina Sohji	4. 巻 -
2. 論文標題 Iron and liver cancer: an inseparable connection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	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) 10.1111/febs.16208	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 Sasaki Kyo, Nishina Sohji, Yamauchi Akira, Fukuda Kotaro, Hara Yuichi, Yamamura Masahiro, Egashira Kensuke, Hino Keisuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Nanoparticle-Mediated Delivery of 2-Deoxy-D-Glucose Induces Antitumor Immunity and Cytotoxicity in Liver Tumors in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 739 ~ 762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcmgh.2020.10.010	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 Honma Yuichi, Miyagawa Koichiro, Hara Yuichi, Hayashi Tsuguru, Kusanaga Masashi, Ogino Noriyoshi, Minami Sota, Oe Shinji, Ikeda Masanori, Hino Keisuke, Harada Masaru	4. 巻 54
2. 論文標題 Correlation of hepatitis C virus-mediated endoplasmic reticulum stress with autophagic flux impairment and hepatocarcinogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 108 ~ 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-020-00271-5	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 -

1. 著者名 Nishina Sohji, Tomiyama Yasuyuki, Ikuta Katsuya, Tatsumi Yasuaki, Toki Yasumichi, Kato Ayako, Kato Koichi, Yoshioka Naoko, Sasaki Kyo, Hara Yuichi, Hino Keisuke	4. 巻 21
2. 論文標題 Long-term phlebotomy successfully alleviated hepatic iron accumulation in a ferroportin disease patient with a mutation in SLC40A1: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC 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) 10.1186/s12876-021-01674-z	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0件

〔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
研究 分 担 者	日野 啓輔	川崎医科大学・医学部・特任研究員	
	(HINO KEISUKE)		
	(80228741)	(35303)	

#### 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
---------	---------