

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460998

研究課題名(和文)肝細胞がんに対するガレクチン9の抗腫瘍効果の基礎的研究

研究課題名(英文)Anti-tumor effect of galectin 9 in hepatocell carcinoma:Basic study

研究代表者

正木 勉 (masaki, tsutomu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：30335848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌のGal-9の抗腫瘍効果について検討したところ、in vitro, in vivoにおいて、microRNAを介した、強力なアポトーシス誘導を引き起こし、細胞増殖抑制効果を引き起こした(Int J Oncol. 2015 Jun;46(6):2419-30)。更に、他の癌腫、胆管細胞癌(Oncol Rep. 2015 Oct;34(4):1761-70)、胃癌(Oncol Rep. 2016 Feb;35(2):851-60)、胆嚢癌(Int J Oncol. 2016 Mar;48(3):1165-74)についてもGal-9抗腫瘍効果をin vitro, in vivoでもたらした。

研究成果の概要(英文)：Anti-tumor effects of galectin-9 was detected in hepatocellular carcinoma cell induced the strong apoptosis through microRNA in vitro and in vivo (Int J Oncol. 2015 Jun;46(6):2419-30) In addition, the antitumor effect of galectin-9 was also detected in cholangiocarcinoma (Oncol Rep. 2015 Oct; 34 (4): 1761-70), gastric cancer (Oncol Rep. 2016 Feb; 35 (2): 851-60), gallbladder cancer(Int J Oncol. 2016 Mar; 48 (3): 1165-74).

研究分野：Gastroenterology

キーワード：Hepatocellular carcinoma Gal-9 microRNA Cancer

## 1. 研究開始当初の背景

我々は、これまで、20年に渡り、肝がん、胃がん、大腸がんの分子機構について、研究を続け、これらの癌において、マイクロRNAの変化(Mol Cancer Ther 11:549-560, 2012)、癌遺伝子の活性化(Int J Oncol 37:829-835, 2010.)、レセプター型チロシンキナーゼの増強(Exp Ther Med 2: 399-403, 2011, Int J Oncol 36:101-106, 2010)、細胞周期の破綻(Oncol Rep 26: 1363-1368, 2011)、血管新生分子の活性化(Int J Oncol 33: 1157-1163, 2008)について検討し、消化器癌の新たな治療標的分子の基礎研究を推し進めてきたが、まだ満足できるものではない。よって、新しい視点による、肝細胞がんの発癌・進展機構の解明とそれに基づいた治療薬の開発が必要である。

我々は、1998年にGal-9を世界に先駆け、生理活性物質として同定(J Biol Chem. 273: 16976-16984, 1998)して以来、Gal-9の生理活性作用の研究が、内外を通じて大幅に増加してきた。我々も、Gal-9と病態との関連性に関して、T細胞のみならず自然免疫担当細胞であるマクロファージや樹状細胞の活性化を通して炎症の抑制・癌免疫の亢進を誘導することを明らかにしてきた(Science 318:1141-1143, 2007, J. Immunol, 181: 7660-7669, 2008, J. Immunol., 181: 7660-7669, 2008., Clin Immunol, 130: 322-330, 2009)。

また、我々は癌の進展や治療に関して、Gal-9は、T細胞性免疫機構以外の自然免疫を介して働くという新しい考え方を提供することも出来た(Nat Immunol 13:832-42, 2012)。これらの我々の過去の研究から、Gal-9が肝がんの発生・進展抑制に参与することは容易に推測することができる。このような、我々の過去の研究データから、肝細胞がんに対してもGal-9が抗腫瘍効果をもたらす、その抗腫瘍効果に関連するマイクロRNAが存在するのではないかと考えた。Gal-9は、肝がん細胞の増殖を抑制し、その抑制機構に、特定のマイクロRNAが関与する可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、Gal-9の肝がん抑制効果に関して、T細胞性免疫機構以外の新しい機構に関連する分子(細胞周期分子、アポトーシス関連分子、血管新生分子、チロシンキナーゼレセプター分子、マイクロRNA)を網羅的に解析し、新たなGal-9の癌抑制機構を探りたい。

## 3. 研究の方法

(1)Gal-9のin vitro, in vivoにおける肝がん細胞増殖抑制実験とGal-9投与により変化する細胞周期分子、血管新生分子、アポトーシス関連分子、レセプター型チロシンキナーゼ関連分子の網羅的解析。

(2)ヌードマウス移植肝がんにおけるGal-9の腫瘍増殖抑制効果およびGal-9-K0マウス

を用いた腫瘍発育の検討

(3)Gal-9の投与により、細胞株、腫瘍組織で変化するマイクロRNAの網羅的検討とクラスター解析。

(4)Gal-9の投与により変化するマイクロRNAの中で、腫瘍抑制効果に関連するマイクロRNAを同定し、そのマイクロRNA遺伝子の予測と実験的検証

## 4. 研究成果

肝細胞癌のガレクチン-9の抗腫瘍効果について検討したところ、in vitro, in vivoにおいて、microRNAを介した、強力なアポトーシス誘導を引き起こし、細胞増殖抑制効果を引き起こした(Int J Oncol. 2015 Jun;46(6):2419-30)。更に我々は、他の胆管細胞がん(Oncol Rep. 2015 Oct;34(4):1761-70)、胃癌(Oncol Rep. 2016 Feb;35(2):851-60)、さらに胆嚢癌(Int J Oncol. 2016 Mar;48(3):1165-74)についてもGal-9抗腫瘍効果をin vitro, in vivoでもたらした。この科研期間中に肝細胞癌だけではなく、他の癌腫、胆管細胞がん、胃癌、胆のう癌のガレクチン-9の抗腫瘍効果まで発展させる、予想以上の効果を上げられた。

## 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5件)

Tadokoro T, Morishita A, Fujihara S, Iwama H, Niki T, Fujita K, Akashi E, Mimura S, Oura K, Sakamoto T, Nomura T, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Himoto T, Hirashima M, Masaki T.

Galectin-9: An anticancer molecule for gallbladder carcinoma.

Int J Oncol. 2016 Mar;48(3):1165-74.

doi: 10.3892/ijo.2016.3347. Epub 2016 Jan 19.

Takano J, Morishita A, Fujihara S, Iwama H, Kokado F, Fujikawa K, Fujita K, Chiyo T, Tadokoro T, Sakamoto T, Nomura T, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Kobara H, Mori H, Niki T, Hirashima M, Masaki T.

Galectin-9 suppresses the proliferation of gastric cancer cells in vitro.

Oncol Rep. 2016 Feb;35(2):851-60.

doi: 10.3892/or.2015.4452. Epub 2015 Nov 26.

Kobayashi K, Morishita A, Iwama H, Fujita K, Okura R, Fujihara S, Yamashita T, Fujimori T, Kato K, Kamada H, Niki T, Hirashima M, Okano K, Suzuki Y, Masaki T.

Galectin-9 suppresses cholangiocarcinoma

cell proliferation by inducing apoptosis but not cell cycle arrest.  
Oncol Rep. 2015 Oct;34(4):1761-70.  
doi: 10.3892/or.2015.4197.  
Epub 2015 Aug 10.

Fujita K, Iwama H, Sakamoto T, Okura R, Kobayashi K, Takano J, Katsura A, Tatsuta M, Maeda E, Mimura S, Nomura T, Tani J, Miyoshi H, Morishita A, Yoneyama H, Yamana Y, Himoto T, Okano K, Suzuki Y, Niki T, Hirashima M, Masaki T.  
Galactin-9 suppresses the growth of hepatocellular carcinoma via apoptosis in vitro and in vivo.  
Int J Oncol. 2015;46(6):2419-30.  
doi: 10.3892/ijo.2015.2941. Epub 2015 Mar 30.

Kadowaki T, Morishita A, Niki T, Hara J, Sato M, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Masaki T, Hattori T, Matsukawa A, Hirashima M.  
Galactin-9 prolongs the survival of septic mice by expanding Tim-3-expressing natural killer T cells and PDCA-1+ CD11c+ macrophages.  
Crit Care. 2013 Dec 9;17(6):R284.  
doi: 10.1186/cc13147.

[学会発表](計 15 件)

藤田浩二、大浦杏子、正木勉、  
肝臓における代謝・炎症・発癌について  
第 41 回日本肝臓学会西部会、2015 年 12 月 3 日、名古屋市

Morishita A, Tadokoro T, Sakamoto T, Tani J, Miyoshi H, Yoneyama H, Masaki T.  
Galactin-9 Suppresses Nonalcoholic Steatohepatitis-Associated Hepatocellular Carcinoma.  
23 rd United Europe Gastroenterology Week 2015. 10.24-28, Spain

藤田浩二、坂本鉄平、正木勉、  
肝細胞癌の腫瘍マーカーとしての血清ガレクチン-9 濃度の検討、  
第 51 回日本肝臓学会総会、2015 年 5 月 22 日、熊本市

田所智子、森下朝洋、米山弘人、三好久昭、谷丈二、野村貴子、坂本鉄平、藤田浩二、三村志麻、明石瑛美子、大浦杏子、正木勉、  
劇症肝炎におけるガレクチン-9 の有効性について  
第 51 回日本肝臓学会総会、2015 年 5 月 22 日、熊本市

小林聖幸、藤田浩二、大倉亮一、山下拓磨、西岡智子、谷 丈二、三好久昭、坂本鉄平、藤森崇之、加藤清仁、鎌田英紀、森下朝洋、米山弘人、正木勉、  
胆管細胞癌におけるガレクチン-9 による増

殖抑制効果の検討  
第 51 回日本肝臓学会総会、2015 年 5 月 21 日、熊本市

藤田浩二、坂本鉄平、正木勉、  
ガレクチン-9 は肝癌細胞の増殖を in vitro 及び in vivo で抑制する  
第 50 回日本肝臓学会総会、2014 年 5.29-30、東京都

岩間久和、藤田浩二、井町仁美、村尾孝児、正木勉  
ヒト・マイクロRNA の生起時期と発現量及びターゲット機能

日本進化学会、2014 年 8 月 21-24 日、高槻市  
小林聖幸、大倉亮一、藤田浩二、龍田美和、桂 明子、野村 圭、谷 丈二、三好久昭、坂本鉄平、藤森崇之、加藤清仁、鎌田英紀、有友雄一、小野昌弘、米山弘人、樋本尚志、正木勉

胆管細胞癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制：in vitro 及び in vivo での検討  
第 50 回日本肝臓学会総会、2014 年 5.29-30、東京都

藤田浩二、森下朝洋、正木勉  
ガレクチン-9 は肝細胞癌の増殖を in vitro 及び in vivo で抑制する  
第 40 回日本肝臓学会西部会 2013 年 12 月 6-7 日、岐阜県

藤田浩二、山名由花、坂本鉄平、大倉亮一、小林聖幸、前田瑛美子、三村志麻、野村貴子、谷 丈二、三好久昭、森下朝洋、米山弘人、樋本尚志、平島光臣、正木勉

ガレクチン-9 による肝細胞癌の増殖抑制効果の検討  
第 21 回浜名湖シンポジウム 2013 年 12 月 21-22 日、静岡県

小林聖幸、大倉亮一、藤田浩二、藤森崇之、野村 圭、加藤清仁、有友雄一、小野昌弘、鎌田英紀、谷丈二、三好久昭、正木勉

胆管細胞癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制：in vitro の検討  
第 55 回日本消化器病学会大会 2013 年 10 月 9-12 日、東京都

大倉亮一、小林聖幸、藤田浩二、坂本鉄平、桂 明子、龍田美和、豊田由花、藤森崇之、野村 圭、谷 丈二、三好久昭、加藤清仁、小野昌弘、有友雄一、鎌田英紀、正木勉

膵癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制効果の検討  
第 55 回日本消化器病学会大会 2013 年 10 月 9-12 日、東京都

藤田浩二、山名由花、坂本鉄平、大倉亮一、小林聖幸、野村 圭、野村貴子、三村志麻、谷 丈二、三好久昭、米山弘人、正木勉

肝細胞癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制効果の検討  
第 17 回日本肝臓学会総会、2013 年 10.9-12、東京都

小林聖幸、野村 圭、藤田浩二、大倉亮一、龍田美和、桂 明子、谷 丈二、三好久昭、坂本鉄平、藤森崇之、加藤清仁、鎌田英紀、

有友雄一、小野昌弘、米山弘人、樋本尚志、  
正木勉

胆管細胞癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制効果の検討

第 49 回日本肝臓学会総会、2013 年 6.6-7、  
東京都

藤田浩二、山名由花、坂本鉄平、野村 圭、  
谷 丈二、三好久昭、三村志麻、野村貴子、  
小林聖幸、大倉亮一、米山弘人、樋本尚志、  
正木勉

肝細胞癌におけるガレクチン-9 の増殖抑制効果の検討

第 49 回日本肝臓学会総会、2013 年 6.6-7、  
東京都

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

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

正木 勉 (MASAKI, Tsutomu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：3 0 3 3 5 8 4 8

### (2) 研究分担者

谷 丈二 (TANI Joji)

香川大学・医学部・助教

研究者番号：0 0 5 9 6 0 7 5

樋本 尚志 (HIMOTO Takashi)

香川県立保健医療大学・保健医療学部・  
教授

研究者番号：2 0 3 2 5 3 4 3

三好 久昭 (MIYOSHI Hisaaki)

香川大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：4 0 5 9 2 3 1 6

平島 光臣 (HIRASHIMA Mitsuomi)

香川大学・医学部・研究員

研究者番号：7 0 1 0 9 7 0 0

米山 弘人 (YONEYAMA Hirohito)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：8 0 2 9 4 7 5 0