

論 文 内 容 要 旨

Fatty liver creates a pro-metastatic
microenvironment for hepatocellular carcinoma
through activation of hepatic stellate cells

(脂肪肝は肝星細胞の活性化を通し、肝細胞癌の肝内
転移を促進する環境を構築する)

International journal of cancer, 2014, in press.

主指導教員：大段 秀樹 教授
(応用生命科学部門 消化器・移植外科学)

副指導教員：河野 修興 教授
(応用生命科学部門 分子内科学)

副指導教員：田代 裕尊 准教授
(応用生命科学部門 消化器・移植外科学)

御厨 美洋

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

【目的】

肥満人口の増加に伴い、近年脂肪肝を背景とした肝細胞癌(HCC)は増加傾向にあり、临床上重要な問題となっている。一方転移性肝腫瘍の進展や HCC 発癌において活性化肝星細胞の関与が示唆されている。我々はこれまでの検討で、脂肪肝由来の星細胞は、正常肝由来星細胞に比べ活性化状態にあること、また ROCK 阻害剤を用い活性化肝星細胞を制御することにより、脂肪肝における虚血再灌流障害を軽減しうることを報告してきた。そこで、本研究では脂肪肝における HCC の特徴と脂肪肝関連 HCC における肝星細胞の関与を検討し、さらに脂肪肝における活性化肝星細胞の Rho シグナルを制御することにより HCC の進展を制御できないかを検討した。

【方法】

コリン欠乏食あるいは高脂肪食を投与し作成した脂肪肝モデルに対し HCC を投与し、普通食を投与したラットとの間で腫瘍生着率、腫瘍容積、生存率を比較した。両群の肝より肝星細胞を分離し、HCC に対する増殖能促進作用、遊走能促進作用について検討した。肝星細胞培養上清で刺激された HCC 細胞株の Akt および ERK のリン酸化状態をウエスタンブロッティング法で評価した。また単培養および癌との共培養におけるサイトカイン分泌について ELISA 法にて比較した。さらに Rock 阻害剤 Y-27632 投与による脂肪肝由来活性化肝星細胞の癌促進作用の変化を観察した。

【結果】

コリン欠乏食(CDD)を6週与えた脂肪肝ラットに HCC を投与した。脂肪肝ラットでは正常肝ラットに比べ高い腫瘍生着率・腫瘍容積を認め、さらにびまん性の腫瘍浸潤を認めた。また高脂肪食を16週投与した脂肪肝ラットも作成し、それらに HCC を投与したところ、CDD 投与ラットと同様に高い腫瘍生着率・腫瘍容積を認めた。次に正常肝ラットおよび脂肪肝ラットより肝星細胞を分離・採取し以下の検討を行った。1. Migration assay を行った。脂肪肝由来星細胞(HSCFL)存在下では星細胞非存在下・正常肝由来星細胞(HSCNL)存在下に比べ有意に HCC の遊走能が促進された。2. HSCNL/HSCFL 培養上清を採取し、それらを用いて増殖能試験(MTT assay)を行った。HSCFL 培養上清は HSCNL 培養上清に比べ、有意に HCC の増殖能を促進した。3. HSCFL 培養上清で刺激された HCC では HSCNL 培養上清で刺激された HCC に比べより強く Akt および ERK のリン酸化が亢進されていた。4. HSCNL/HSCFL 培養上清中に含まれるサイトカインを ELISA kit を用いて調べた。HSCFL は HSCNL に比べ、VEGF・TGF- β 1 を多く分泌し、さらに HCC との混合培養では相乗的な IL-1 α および MMP-9 の分泌増加を認めた。逆に

MMP などに拮抗し 線維化の方向に働く TIMP-1 は HSCFL が HSCNL より多く分泌していたが、癌との共培養においてはその分泌は有意に減少していた。5. ノードラットに対する HCC 細胞株皮下投与モデルにおいて、HSCFL 同時投与群では、HSCNL 同時投与群・腫瘍単独投与群と比べ生着率・腫瘍重量ともに大きかった。6. ROCK 阻害剤 Y-27632 を投与すると HSCFL の HCC に対する遊走能促進作用や増殖能促進作用は減弱され、HCC に対する Akt および ERK のリン酸化促進作用も減弱していた。さらに Y-27632 を投与された HSCFL は TGF- β 1 の分泌が減少しており、また HCC との共培養においても MMP-9 の分泌が減少した。

【結 論】

脂肪肝は HCC の進展・転移を促進する環境を有し、その一つとして肝星細胞の活性化が関与しており、脂肪肝由来活性化肝星細胞は肝細胞癌との相互作用において腫瘍促進的な微小環境を構築していることが示唆された。また HCC における活性化肝星細胞標的治療において Rho シグナルの制御が重要であることが示唆された。