

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591992

研究課題名(和文) 消化器癌の悪性化機序を促進する炎症性因子の同定と制御に関する基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文) Basic and clinical studies regarding to the identification of inflammatory factors promoting the malignant transformation mechanism in digestive organ cancer

研究代表者

上野 真一 (Ueno, Shinichi)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・特任教授

研究者番号：40322317

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：炎症遷延化を引き起こすHMGB1と呼応するTLR-4、マクロファージ/TAMの動態、またEMTの存在について、ヒト肝癌(HCC)を用いて検討し、TAMに対する独自の抗FR イムノトキシンによる制御を検討した。HMGB1レベルとTAM数、またTAM数と予後の相関がみられた。EMTに関する知見では、転写因子ZEB-1も関与した。一方、TAMの制御に関して、抗FR イムノトキシンをヌードマウスHepG2皮下移植モデルに投与したところ、著名な腫瘍増殖抑制効果が認められた。以上の結果より、組織HMGB1とこれらにより誘導されるTAMによる腫瘍組織悪性化(形質転換)への可能性の関連が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the cancer transformation of human hepatocellular carcinoma (HCC), the change of HMGB1 and its receptor TLR-4 with tissue macrophage (TAM) were analyzed. Moreover, the usefulness of FrB immunotoxin against TAM was studied if it could diminish tumor's malignant transformation. In HCC, correlations of HMGB1 level and number of TAM, and the number of TAM and patients prognosis were seen. For the knowledge about EMT, transcription factor ZEB-1 participated, too. On the other hand, after giving FrB immunotoxin to nude mouse HepG2 transplant model under skin, a clear effect of tumor promotion was seen. With these considerations, it was suggested that HMGB1 and derived TAM would contribute to the malignant transformation of HCCs, and FrB immunotoxin could be a treatment strategy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：HCC TAM TLR-4 HMGB1 FrB immunotoxin ZEB-1

1. 研究開始当初の背景

がんの発生や再発には、組織の炎症が密接に関与している。がんの浸潤・転移能の獲得にも組織炎症が密接に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

炎症遷延化を引き起こす HMGB1 とそれに呼応する TLR-4、その存在母体であるマクロファージ/TAMの動態、また EMT など癌形質転換の存在の有無について、ヒト肝癌 (HCC) を用いて検討し、その病態解明とともに腫瘍関連マクロファージ (TAM) に対する申請者ら独自の抗 FR イムノトキシンによる制御法の検討する。

3. 研究の方法

H23 年度: 肝細胞癌 (HCC) の HMGB1 発現と悪性化の関係について臨床検体 75 例を用いて検索 (mRNA ないし蛋白発現の推移)。

H24 年度: EMT (上皮間葉転換) に関与するとされる Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB-1) の働きと EMT マーカーについての検討。

H25 年度: マウス肝癌モデルに対する FrB イムノトキシンの投与効果など。

4. 研究成果

1) 肝細胞癌 (HCC) の HMGB1 発現 (mRNA ないし蛋白発現) の推移より、とくに発癌過程において HMGB1 が関与している知見を得た。逆に浸潤能や転移能亢進の時期には、HMGB1 低下が認められ、これは先に実証した RAGE の推移と一致した。

2) EMT (上皮間葉転換) に関与するとされる Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB-1) の働きと EMT マーカーについての検討を外科的切除が行われた初発 HCC 症例 108 例を対象として、ZEB-1 および E-cadherin の発現を評価した。HCC において ZEB-1 陽性例は 21.3% と少ないものの、その予後は有意に不良であった。また、E-cadherin 減弱も HCC における予後不良因子であったが、ZEB-1 陽性と E-cadherin 減弱を兼ね備えた群ではさらに予後が不良であった。これは、ZEB-1 の発現により E-cadherin の減弱が起こり、いわゆる EMT によると考えられる腫瘍悪性度の亢進が関与していると推察される。

3) ヒト肝癌 (HCC) において、組織 HMGB1 レベルと TAM 数の相関がみられ、TAM 数と予後の相関もみられた。その TAM の制御に関して、抗 FR イムノトキシンをヌードマウス HepG2 皮下移植モデルに対して投与したところ、著名な腫瘍増殖抑制効果が認められた。以上の結果より、組織 HMGB1 とこれらにより誘導される TAM、また組織悪性化 (形質転換) への可能性の関連が強く示唆されたことになる。現在も、動物モデルを用いて、炎症遷延化を引き起こす HMGB1 とそれに呼応する TLR-4、その存在母体であるマクロファージ

/TAM の動態、そこから引き起こされる TGF- $\beta$  と IL-6 亢進の有無、また ZEB1, Snail, Slug 等の転写因子の活性化と EMT など癌形質転換の存在の有無についてより詳細に検討を加えている。

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)

(1) Hashiguchi M, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Hiwatashi K, Minami K, Ando K, Mataka Y, Maemura K, Shinchi H, Ishigami S, Natsugoe S. Clinical implication of ZEB-1 and E-cadherin expression in hepatocellular carcinoma (HCC). BMC Cancer. 2013 Dec 5;13:572. doi: 10.1186/1471-2407-13-572.

(2) Ishigami S, Arigami T, Uenosono Y, Okumura H, Kurahara H, Uchikado Y, Setoyama T, Kita Y, Kijima Y, Nishizono Y, Nakajo A, Owaki T, Ueno S, Natsugoe S. Clinical implications of DLL4 expression in gastric cancer. J Exp Clin Cancer Res. 2013 Jul 30;32:46. doi: 10.1186/1756-9966-32-46.

(3) Kurahara H, Takao S, Maemura K, Mataka Y, Kuwahata T, Maeda K, Sakoda M, Iino S, Ishigami S, Ueno S, Shinchi H, Natsugoe S. M2-polarized tumor-associated macrophage infiltration of regional lymph nodes is associated with nodal lymphangiogenesis and occult nodal involvement in pN0 pancreatic cancer. Pancreas. 2013 Jan;42(1):155-9. doi: 10.1097/MPA.0b013e318254f2d1.

(4) Megumi K, Ishigami S, Uchikado Y, Kita Y, Okumura H, Matsumoto M, Uenosono Y, Arigami T, Kijima Y, Kitazono M, Shinchi H, Ueno S, Natsugoe S. Clinicopathological significance of BMP7 expression in esophageal squamous cell carcinoma. Ann Surg Oncol. 2012 Jun;19(6):2066-71. doi: 10.1245/s10434-011-2024-5. Epub 2011 Sep 13.

(5) Kurahara H, Takao S, Maemura K, Mataka Y, Kuwahata T, Maeda K, Ding Q, Sakoda M, Iino S, Ishigami S, Ueno S, Shinchi H, Natsugoe S. Epithelial-mesenchymal transition and mesenchymal-epithelial transition via regulation of ZEB-1 and ZEB-2 expression in pancreatic cancer.

J Surg Oncol. 2012 Jun 1;105(7):655-61.  
doi: 10.1002/jso.23020. Epub 2011 Dec 27.

〔学会発表〕(計 11 件)

(1) Motoyuki Hashiguchi, Shinichi Ueno,  
Masahiko Sakoda, Satoshi Iino, Kiyokazu  
Hiwatashi, Yuko Matak, Kosei Maemura,  
Hiroshi Kurahara, Hiroyuki Shinchi and  
Syoji Natsugoe

Clinical implication of ZEB-1 and  
E-cadherin expression in hepatocellular  
carcinoma (HCC)

IHPBA World Congress 2014

2014 年 3 月 22 日 ~ 27 日 Seoul, Korea

(2) H. Kurahara, S. Takao, K. Maemura, Y.  
Matak, M. Sakoda, S. Iino, S. Ueno, H.  
Shinchi and S. Natsugoe

Significance of M2-polarized  
tumor-associated macrophage infiltration  
of regional lymph nodes in pN0 pancreatic  
cancer

IHPBA World Congress 2014

2014 年 3 月 22 日 ~ 27 日 Seoul, Korea

(3) 橋口真征, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野聡,  
南幸次, 安藤慶, 川崎洋太, 又木雄弘, 前村  
公成, 新地洋之, 夏越祥次

HCC における ZEB-1 および E-cadherin 発現に  
ついての検討

"第 21 回日本消化器関連学会週間

平成 25 年 10 月 9 日 ~ 12 日東京都

(4) 橋口真征, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野聡,  
南幸次, 安藤慶, 又木雄弘, 前村公成, 新地  
洋之, 夏越祥次

HCC における ZEB1 発現についての検討

第 113 回日本外科学会定期学術集会

2013 年 4 月 11 日 ~ 13 日福岡市

(5) 安藤慶, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野聡,  
南幸次, 蔵原弘, 橋口真征, 又木雄弘, 前村  
公成, 石神純也, 新地洋之, 夏越祥次

肝細胞癌と HMGB1 発現についての検討

第 113 回日本外科学会定期学術集会

2013 年 4 月 11 日 ~ 13 日福岡市

(6) 橋口真征, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野聡,  
南幸次, 安藤慶, 川崎洋太, 前村公成, 又木  
雄弘, 桑畑太作, 前田光喜, 新地洋之, 夏越  
祥次

HCC における ZEB 1 発現についての検討

第 74 回日本臨床外科学会総会

2012 年 11 月 29 日 ~ 12 月 1 日東京都

(7) 安藤慶, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野聡,  
南幸次, 橋口真征, 蔵原弘, 又木雄弘, 前村  
公成, 石神純也, 新地洋之, 夏越祥次

肝細胞癌における HMGB-1 発現の検討

第 23 回日本消化器癌発生学会総会

2012 年 11 月 15 日 ~ 16 日鳴門市

(8) 飯野聡, 上野真一, 迫田雅彦, 南  
幸次, 安藤慶, 又木雄弘, 前村公成, 新  
地洋之, 夏越祥次

肝切除における肝予備能評価の新しい問題  
点: 特に nonBnonC-HCC に対する予備能評価

第 67 回日本消化器外科学会総会

平成 24 年 7 月 18 日 ~ 20 日富山

(9) 安藤慶, 上野真一, 迫田雅彦, 飯野  
聡, 蔵原弘, 南幸次, 橋口真征, 又木  
雄弘, 前村公成, 石神純也, 新地洋之,  
夏越祥次

肝細胞癌(HCC)患者における最近の宿主側・  
腫瘍側因子の変化と対応

第 112 回日本外科学会定期学術集会

2012 年 4 月 12 日 ~ 14 日

(10) 南幸次, 上野真一, 迫田雅彦, 飯  
野聡, 安藤慶, 前村公成, 又木雄弘,  
石神純也, 夏越祥次

HCC におけるマクロファージ、単球の分布な  
らびに新規マーカーとしての葉酸レセプタ  
ーの発現の検討

第 112 回日本外科学会定期学術集会

2012 年 4 月 12 日 ~ 14 日千葉市

(11) 飯野聡, 上野真一, 迫田雅彦, 安  
藤慶, 南幸次, 又木雄弘, 前村公成,  
新地洋之, 夏越祥次

新時代の HCC 治療における肝予備能評価の問  
題点と方針

第 112 回日本外科学会定期学術集会

2012 年 4 月 12 日 ~ 14 日千葉市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野真一 (UENO SHINICHI)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・特任  
教授

研究者番号: 40322317

(2) 研究分担者

夏越祥次 (NATSUGOE SHOJI)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
研究者番号: 70237577

迫田雅彦 (SAKODA MASAHIKO)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号: 40418851

石神 純也 (ISHIGAMI SUMIYA)  
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・准教授  
研究者番号：90325803