

研究報告書
平成29年度：A課題

2020年 5月 1日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 京都大学大学院 医学研究科
外科（肝胆膵・移植外科）

住 所 〒606-8507
京都市左京区聖護院川原町 54

研究者氏名 河合 隆之



(研究課題)

肝細胞癌における keratin 19 陽性癌幹細胞を標的とした新規治療戦略構築

平成30年 1月29日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

背景

肝細胞癌の治療効果を改善するためには、その転移・再発の中心的役割を担う癌幹細胞を標的とした新規治療法の開発が重要である。これまでに我々は、keratin 19 (K19) を肝細胞癌における新規癌幹細胞マーカーとして同定し、K19 陽性癌幹細胞が TGF β /Smad pathway の制御を介した上皮間葉転換 (Epithelial mesenchymal transition, EMT) を担うことを示してきた。また、臓器の細胞成分を薬剤によって除去し細胞外基質のみを得る (脱細胞化) 技術を応用し、正常肝・硬変肝由来脱細胞化肝臓を用いた新たな 3 次元立体培養技術を報告してきた。本研究は、この 3 次元立体培養技術を用いて、各種背景肝における K19 陽性肝細胞癌癌幹細胞の挙動とその転移メカニズムを明らかにすることを目的とする。

方法

脱細胞化技術を用いてラット正常肝由来細胞外基質 (Normal extracellular matrix, NECM) および四塩化炭素にて誘導したラット線維化肝由来細胞外基質 (Fibrotic extracellular matrix, FECM) を作製した。NECM と FECM を用いて肝細胞癌の細胞株を再細胞化し組織培養を行い、7 日間培養後にそれぞれの細胞特性を検証した。

結果

K19 による免疫染色の結果、FECM で培養された肝細胞癌細胞では NECM で培養された場合と比較して K19 陽性細胞が有意に多く維持されていることが確認された。また、K19 陽性細胞を多く含む FECM で培養された肝細胞癌細胞では、snail/slug といった EMT に関わる転写因子や間葉系マーカー (vimentin/MMP9) の遺伝子発現が有意に亢進し、上皮系マーカー (E-cadherin) の遺伝子発現が有意に低下していた。免疫染色による解析においても、FECM で培養された肝細胞癌細胞では vimentin 陽性細胞が増加しており、E-cadherin 陽性細胞が減少していた。Ki67 染色による増殖能の評価においては、FECM で培養された肝細胞癌細胞で Ki67 染色陽性細胞が有意に増加していた。さらに化学療法抵抗性の評価として 5-FU を培地に添加し TUNEL 染色でアポトーシスを検証したところ、FECM で培養された肝細胞癌細胞では TUNEL 陽性細胞が有意に減少していた。

結語

肝細胞癌において、肝線維化は K19 陽性癌幹細胞の維持を通して腫瘍増殖や EMT に関与している可能性が示唆された。

学会発表

Impact of liver cirrhosis in keratin 19-positive cancer stem cells associating human hepatocellular carcinoma

河合隆之, 石井隆道, 宮内雄也, 大島侑, 川本浩史, 南貴人, 小島秀信, 小木曾聡, 福光剣, 安近健太郎, 上本 伸二

第 31 回日本肝胆膵外科学会学術集会、香川

謝辞

本研究遂行にあたり、研究助成のご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。