

Title	CTGF Mediates Tumor-Stroma Interactions between Hepatoma Cells and Hepatic Stellate Cells to Accelerate HCC Progression
Author(s)	牧野, 祐紀
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72203
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 牧野 祐紀

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 竹原 徹郎
	副 査	大阪大学教授 菊池 卓
	副 査	大阪大学教授 熊 御 淳

論文審査の結果の要旨

本論文は肝細胞癌における結合組織増殖因子 (connective tissue growth factor; CTGF) の意義を明らかにした論文である。臨床検体および肝発癌モデルマウスを用いた検討により、CTGFは肝細胞癌で高発現しており、肝細胞癌の増大進展に促進的に作用していることが示された。また細胞株およびを用いた検討により、CTGFは肝癌細胞に直接作用するのではなく、肝癌組織中に存在する肝星細胞に作用し、IL-6等のサイトカイン産生を促して肝癌細胞の増殖を促進していることを明らかにした。さらにCTGFを介した肝癌細胞と肝星細胞の腫瘍間質反応は、抗CTGF中和抗体により阻害し得ることを示した。

本論文は肝細胞癌における微小環境の分子機構の一端を明らかにするのみならず、抗CTGF中和抗体の新規薬剤としての可能性も明らかにした。そのため本論文は基礎的観点・臨床的観点の両面において極めて有意義な研究成果を有するものであり、博士(医学)の学位授与に値すると思われる。

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	牧野 祐紀
論文題名 Title	CTGF Mediates Tumor-Stroma Interactions between Hepatoma Cells and Hepatic Stellate Cells to Accelerate HCC Progression (CTGFは肝癌細胞と肝星細胞の腫瘍間質反応に関与し肝細胞癌の増大進展を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>肝細胞癌(HCC)は世界の癌の死因の第3位を占める難治癌である。現在さまざまな薬物療法の開発がすすめられているものの未だ十分な治療効果は得られておらず、新たな治療標的分子・治療薬剤の開発が期待されている。</p> <p>結合組織増殖因子(CTGF; connective tissue growth factor)は細胞外マトリックスタンパクの一種であり、肝臓を含めた種々の臓器の線維化に関与する分子である。CTGFはいくつかの癌との関連も示唆されているが、HCCとの関連は明らかとなっていない。そこで本研究では、HCCにおけるCTGFの意義について解明し、新規治療標的としての可能性について検討することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>HCC切除検体93例において、CTGFは非癌部に比し癌部で発現が上昇しており、特に癌細胞において強い発現を認めた。CTGFを高発現するHCCは低発現のHCCに比し血中DCP値、腫瘍個数、予後不良の肉眼型の割合、門脈浸潤陽性率が高値であり、臨床的高悪性度であった。また癌組織中にはαSMA陽性肝星細胞が存在しており、CTGFを高発現するHCCは低発現のHCCに比し、αSMAの発現量も高かった。</p> <p>肝細胞特異的Kras変異マウス(LSL-Kras^{G12D/+} Alb-Cre^{+/-}; Kras^{G12D}マウス)ではヒトHCCに類似した肝腫瘍が形成された。腫瘍部では非腫瘍部に比しCTGFの発現上昇を認め、特に癌細胞において強い発現を認めた。また腫瘍部にはαSMA陽性肝星細胞が存在しており、CTGFの発現量はαSMAの発現量と正の相関を認めた。</p> <p>Kras^{G12D}マウスにおいて肝細胞特異的にCTGFを欠損させると(CTGF^{f1/f1} LSL-Kras^{G12D/+} Alb-Cre^{+/-})、肉眼的腫瘍形成率、腫瘍個数、腫瘍径、肝重量体重比が低下し、肝癌の増大進展が抑制された。CTGF欠損Kras^{G12D}マウスの腫瘍部ではαSMA陽性領域が減少し、PCNA陽性肝癌細胞数が減少していた。</p> <p>5種類の肝癌細胞株(HepG2、PLC/PRF/5、Huh7、Hep3B、HLF)において、CTGFの発現量はHepG2が最も高く、PLC/PRF/5が最も低かった。In vitroおよびxenograftモデルにおいて、PLC/PRF/5にCTGFを強制発現させても細胞増殖に変化は認めなかったが、肝星細胞株LX-2との共培養/共接種下においてはコントロール細胞に比し細胞増殖が亢進した。HepG2に対しCTGF中和抗体を添加しても細胞増殖に変化は認めなかった。In vitroおよびxenograftモデルにおいてHepG2とLX-2を共培養/共接種すると、HepG2単独時に比し細胞増殖は亢進したが、CTGF中和抗体の存在下においては、LX-2によるHepG2の増殖促進効果は消失した。</p> <p>LX-2との共培養により、HepG2のp-STAT3の発現が上昇した。LX-2においてsiRNAによりIL-6の発現を抑制すると、共培養してもHepG2のp-STAT3の発現は上昇せず、HepG2の細胞増殖も亢進しなかった。単独培養時においてLX-2はIL-6を分泌しており、HepG2はIL-6を分泌していなかったが、LX-2とHepG2を共培養すると、LX-2のIL-6分泌が亢進した。LX-2に対しCTGFのリコンビナントタンパクを添加すると、IL-6の分泌が亢進した。HepG2とLX-2の共培養下においてCTGF中和抗体を添加すると、LX-2のIL-6分泌が低下し、HepG2のp-STAT3の発現が低下し細胞増殖が抑制された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>CTGFはHCCで発現上昇しており、HCCの増大進展を促進する分子であることが示唆された。肝癌細胞から産生されるCTGFは肝星細胞に作用し、IL-6等のサイトカインを分泌することにより肝癌細胞の細胞増殖を促進することが明らかとなった。CTGFによる肝癌細胞と肝星細胞の腫瘍間質反応は中和抗体により制御可能であり、CTGF中和抗体がHCCに対する新規薬剤になり得ることが示唆された。</p>	