



Title	Hepatic stellate cells in hepatocellular carcinoma promote tumor growth via growth differentiation factor 15 production
Author(s)	明神, 悠太
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81916
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	明神 悠太
論文題名 Title	Hepatic stellate cells in hepatocellular carcinoma promote tumor growth via growth differentiation factor 15 production (肝星細胞はGDF15の産生を介して肝細胞癌の発育進展に寄与する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 肝細胞癌はWHOの統計によると全世界で罹患者数が6位であるが、死亡数が3位を占める難治性癌である。そのほとんどの症例で背景肝は線維化を認める。肝臓に存在する肝星細胞は、アルコールや酸化ストレス、ウイルス性肝炎といった活性化刺激により静止型から活性化型星細胞へ変化する。活性化星細胞となるとコラーゲン産生を行い、線維化進展において中心的な役割をになうと考えられている。また、がん微小環境に存在する癌関連線維芽細胞の起源は活性化した星細胞であるとされているが、肝星細胞と腫瘍細胞の相互作用は明らかではない。活性化した星細胞では、細胞内分解系の一つであり、不良オルガネラを分解する機構として働くオートファジーが亢進していることが報告されている。オートファジーの変化が肝星細胞の活性化に関わり、ひいては肝癌の発育進展に寄与している可能性があると考えた。これらの背景をもとに、星細胞オートファジーを介した細胞間相互作用を解明することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ヒト肝星細胞LX-2、ヒト肝癌細胞株HepG2、Hep3B、Huh7を使用した。GFP- LC3-RFP -LC3 ΔGを強制発現したLX-2細胞を用いて、オートファジーを評価した。肝星細胞特異的にAtg7・GDF15を欠損したGFAP-Atg7 KO, GFAP-GDF15 KOマウスを作成し、ストレプトゾトシン接種と高脂肪食負荷で肝発癌（STAM発癌）を誘導した。臨床検体は肝癌切除検体および肝癌患者血清を用いた。 LX-2細胞のオートファジーは、各種肝癌細胞株と共培養すると亢進した。FACSにて癌細胞とLX-2細胞を分離し肝癌細胞の細胞数を定量すると、肝癌細胞数は共培養により増加した。LX-2のAtg7を欠損すると、肝癌細胞増殖促進効果は消失した。免疫不全マウスに肝癌細胞をLX-2と共に皮下移植すると、ゼノグラフト腫瘍増殖は促進した。共移植するLX-2のAtg7を欠損すると、腫瘍増殖促進は消失した。GFAP-Atg7 KOマウスにSTAM発癌を誘導すると、20週齢の時点でWTマウスに比して腫瘍個数・最大腫瘍径は有意に小さく、腫瘍部のKi67陽性細胞は減少した。単培養LX-2細胞、肝癌細胞と共培養時のLX-2細胞、共培養時のAtg7 欠損 LX-2細胞の遺伝子発現をRNAシーケンスで網羅的に検討すると、共培養によりGDF15の発現が最も上昇し、Atg7欠損により増加が軽減した。LX-2細胞のGDF15を欠損すると、肝癌細胞と共培養時の肝癌細胞増殖促進効果、および肝癌細胞と共移植時のゼノグラフト腫瘍増大促進効果は消失した。GDF15の受容体であるGFRALを肝癌細胞で欠損させると、LX-2細胞との共培養による肝癌細胞増殖促進効果は消失した。GFAP-GDF15 KOマウスにSTAM発癌を誘導すると、背景肝の肝炎、線維化、脂肪化の程度に差を認めなかったが、WTマウスと比して最大腫瘍径が有意に小さく腫瘍部のKi67陽性細胞が減少した。ヒト臨床サンプルでは、非腫瘍部に比して腫瘍部でGDF15の発現は有意に上昇していた。免疫染色にて間質細胞がGDF15陽性となる症例は、非癌部では約2割であったが癌部では約5割と高く、GDF15陽性の間質細胞数も癌部で有意に多かった。肝癌患者の血清GDF15濃度高値群では低値群と比して生存期間が有意に短かった。 〔総 括(Conclusion)〕 肝星細胞のオートファジー亢進を介したGDF15の発現増加は肝癌の発育進展に寄与する	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 明 神 悠 太	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 竹原 敏 子
	副 査 大阪大学教授 吉森 保
	副 査 大阪大学教授 山口 徹

論文審査の結果の要旨

癌組織内には、癌細胞以外に、線維芽細胞や免疫細胞、血管内皮細胞といった正常細胞や、血管、リンパ管、結合組織なども存在し、癌細胞の周囲に癌の増殖に有利な癌微小環境を構築する。肝星細胞は、肝臓が損傷をうけると活性化し、線維芽細胞として組織の修復に関わる。線維芽細胞は様々な増殖因子を放出し、活性化した肝星細胞が肝癌細胞と相互作用して、癌の進展に関与しているのではないかと考えられていたが詳細な機序は不明であった。本論文では肝癌細胞によって肝星細胞のオートファジーが亢進することを明らかにした。さらに、オートファジーの亢進により肝星細胞からGDF15を分泌させることによって、肝癌細胞の増殖が促進することを明らかにした。肝星細胞のGDF15を欠損させた肝癌モデルマウスでは、肝癌進展は抑制された。また、ヒト肝癌組織中の肝星細胞でもGDF15の発現を認め、血清GDF15濃度が高い肝細胞癌症例は予後が不良であることを明らかにした。本論文は学位に値するものと認める。