

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	御厨 美洋
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・ 2 項該当		
論 文 題 目			
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)			
論文審査担当者			
主 査 教 授 浅 野 知一郎 印			
審査委員 教 授 青 山 裕 彦			
審査委員 講 師 菅 野 啓 司			
〔論文審査の要旨〕			
<p>近年の肥満人口の増加に伴い、脂肪肝に合併した肝細胞癌(HCC)は増加傾向にあり、臨床 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 発癌においては活性化肝星 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 阻害剤を用い肝星細胞の活性化を制御 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 討した。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。</p> <p>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 を経門脈的に 接種し、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 エスタンブロットティング法で評価した。また肝星細胞を単培養、あるいは癌と共培養を行 い、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への影響について検討した。</p>			

コリン欠乏食(CDD)を6週与えた脂肪肝ラットにHCCを接種した。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を接種したところ、CDD投与ラットと同様、普通食投与ラットより有意に高い腫瘍生着率・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。HCCの遊走能は、脂肪肝由来星細胞(HSCFL)との共培養条件下では、単独培養あるいは正常肝由来星細胞(HSCNL)との共培養に比べ、有意に促進されていた。2. HSCNLおよびHSCFL培養上清を採取し、それらをHCCに添加し、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、AktおよびERKのリン酸化がより強く亢進していた。4. HSCNLおよびHSCFL培養上清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- $\beta$  1を多く分泌し、さらにHCCとの混合培養条件下では相乗的なIL-1 $\alpha$ およびMMP-9の分泌増加を認めた。逆にMMPなどに拮抗し、線維化促進に働くTIMP-1はHSCFLがHSCNLより多く分泌していたが、HCCとの共培養条件下においては、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細胞株皮下移植モデルにおいて、HSCFL同時移植群では、HSCNL同時移植群・腫瘍単独移植群と比べ生着率・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からはTGF- $\beta$  1の分泌が減少しており、またHCCとの共培養においてもIL-1 $\alpha$ の分泌が減少していた。

以上より脂肪肝はHCCの進展・転移を促進する環境を有していることが示された。そのメカニズムの一つとして、脂肪肝内では星細胞が活性化されており、肝細胞癌と相互作用することで腫瘍増殖に促進的な微小環境が構築され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を標的とする治療としては、Rhoシグナルの制御が有望であることが示唆された。

以上の結果から、本論文は脂肪肝における肝細胞癌の進展促進の機序として星細胞の活性化が関わっていることを示し、これに対する新規治療の可能性を示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が御厨美洋に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。