

30. 微小環境由来のサイトカインによる肝癌促進機構の解明

大谷 直子

東京理科大学 理工学部 応用生物科学科

Key words : 肥満, 肝がん, 細胞老化, SASP

緒 言

肥満は糖尿病や心血管性疾患を増悪させるだけでなく、大腸がん、前立腺がんなど、様々ながんのリスクファクターであることが疫学的に示されている。特に脂肪肝肝炎を素地として発症する肝がんは肥満が重要なリスクファクターであることが示されている。しかし、その分子メカニズムの詳細は十分には明らかになっていない。

著者らはマウスにおいて全身で Ras シグナルを活性化処理をし、高脂肪食を与え肥満させると、肝臓がんの発症が著しく促進されることを見出した。そして、その発症機構のひとつとして、肥満で増加したグラム陽性腸内細菌の代謝物、デオキシコール酸が腸肝循環を介して肝臓に到達し、肝臓の間質に存在する線維芽細胞である肝星細胞の細胞老化を誘導し、細胞老化を起こした肝星細胞から様々な炎症性サイトカインやプロテアーゼなどが分泌され、肝がんを促進的ながん微小環境を形成することが、肝がん進展の原因のひとつであることを明らかにした¹⁾。最近発見された、この細胞老化にともない分泌タンパクが産生される現象は、「細胞老化随伴分泌現象」と呼ばれ (Senescence-associated secretory phenotype, SASP) その生体における作用の解明が、近年注目されている^{2,3)}。この肝星細胞における SASP 現象は、ヒトの脂肪肝肝炎にともない発症する肝がん、いわゆるヒトの NASH (non-alcoholic steatohepatitis) にともなう肝がん組織においても認められ、ヒトにおいても、SASP が肥満誘導性肝がんの発症に関与すると考えられた。しかし、SASP 因子のうち、実際にどのようなサイトカインやプロテアーゼが作用し、肝がんを促進・進展させるのか、その分子メカニズムの詳細は十分には解明されていない。

著者らはその解明に取り組み、マイクロアレイや組織染色の結果、サイトカインの 1 つ IL-X が、肥満誘導性肝がん部の肝星細胞において著しく高発現していることを見出した。本研究では肥満誘導性肝がん部の肝星細胞から分泌される SASP 因子と考えられる IL-X が、がん進展にどのように関わるのか検討することとした。

方 法

1. 肝がん誘発の方法

生後 5 日目のマウスの背中に DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) を塗布し、その時点から普通食または高脂肪食 (離乳前は母マウスに高脂肪食) を与え続け 30 週齢時に解析した。この手法で高脂肪食摂取マウスの 30 週齢の解剖時にはほぼ 100 % のマウスに脂肪肝肝炎をともなう肝がんが発生した。

2. 免疫細胞の解析方法

上記の方法で肝がんを誘発し、その腫瘍部、非腫瘍部からリベレース処理等により免疫細胞を採取した。その後、免疫細胞の表面マーカーや細胞内因子等を染色し、フローサイトメトリーの手法を用いて免疫細胞の種類や性質を同定した。

結 果

1. IL-X のノックアウトマウスでは肥満誘導性肝がんが減少する傾向にある

今回著者らは IL-X の高発現が、肝がんの促進に関係するかどうかについて調べるため、IL-X ノックアウトマウスを用いて、同様の肥満誘導性肝がん誘発実験を行ったところ、野生型と比較して、IL-X ノックアウトマウスでは腫瘍形

成が有意に減少しており（腫瘍数平均：野生型 23.6 個に対し、IL-X ノックアウトマウスで 16.7 個）IL-X が肥満誘導性肝がんの促進因子である可能性が明らかになった。

2. IL-X を介した抑制性 T 細胞の活性化が抗腫瘍免疫機構を抑制する可能性がある

本研究においては、DBMA と高脂肪食により肝がんを誘発し、その腫瘍部および非腫瘍部から免疫細胞を採取し、フローサイトメトリーの手法を用いて免疫細胞の種類や性質を調べた。制御性 T 細胞のマーカーとしては Foxp3 を用いた。その結果、肥満誘導性肝がんの肝臓には、腫瘍部、非腫瘍部ともに IL-X のレセプター陽性の制御性 T 細胞の数が普通食の肝臓に比べて有意に増加していた（図 1A）。さらに IL-X は腫瘍部に著しく多く存在することが確認された（図 1B）。これらの結果から、肥満誘導性肝がんにおいて IL-X による制御性 T 細胞の増加が抗腫瘍免疫機構を抑制する可能性があることが示唆された。

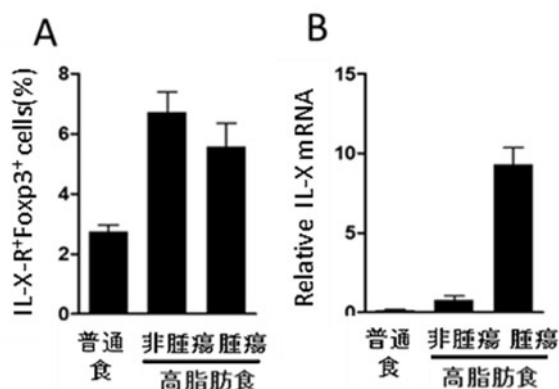


図 1. 腫瘍部における制御性 T 細胞 (Treg) の動態

A: IL-X のレセプター陽性 Treg が高脂肪食摂取マウスの肝臓で増加する。

B: IL-X の発現は腫瘍部で著しく増加する。

考 察

肥満は様々ながんのリスクファクターであることが疫学的に示されている。肥満は脂肪肝肝炎を素地として発症する肝がんの重要なリスクファクターであることが示されている。そこで著者らは肥満によりどのような機構が肝がんを進展させるのか検討した。近年、がん微小環境において、抗腫瘍免疫が抑制されることががんの進展に重要であることが明らかになってきている。我々の体の中では、正常細胞からしばしばがん細胞が発生するが、がん細胞が少数発生しても、それは生来体に備わっている、がん免疫監視機構により排除されている。肉眼的に検出できるくらいのがん組織に進展するのは、がん細胞がそのがん免疫監視機構を逃れ、増殖し続けた結果であることが明らかになってきている。がん細胞ががん免疫監視機構を逃れる場合、抗腫瘍免疫を抑制する作用のあるいくつかの細胞が活性化することがわかってきている。抗腫瘍免疫を抑制する作用のある細胞として、M2 マクロファージ、MDSC (Myeloid-derived Suppressor Cells)、制御性 T 細胞といった、過剰な免疫反応を抑制する働きのある細胞が知られている。これらの細胞は、通常の感染症などで炎症の収束に重要な細胞であるが、がん細胞が増殖し、がん組織が増大しているがん微小環境においては、がん細胞やがん微小環境の細胞群によって活性化し、がんを進展させる役割を担うことが知られている。

今回著者らの研究では、これらの抑制性免疫細胞の一種、制御性 T 細胞が、肥満誘導性肝がんでは有意に増加することが示された。制御性 T 細胞は転写因子 Fxp3 により誘導され、過度な免疫反応を抑制する機能を持つ T 細胞であるが、がん微小環境においてはがん細胞を攻撃する生体防御機構としての抗腫瘍免疫を抑制し、かえってがんの進展を促してしまうということが知られている。本研究では、サイトカインの 1 つ IL-X が、肥満誘導性肝がん部の肝星細胞において著しく高発現していることを見出した。また、IL-X は IL-X のレセプターに結合し、そのレセプター陽性細胞を活性化することが知られている。そこで肥満誘導性肝がんモデルの腫瘍部で、IL-X のレセプター陽性細胞が存在する

かどうかをフローサイトメトリーの手法を用いて調べた。非常に興味深いことに、IL-X のレセプター陽性の制御性 T 細胞が、肥満マウスの脂肪肝（非腫瘍部・腫瘍部とも）で有意に増加していることを見出した（図 1A）。一方 IL-X の発現はがん部で著しく上昇しており（図 1B）、がん部では IL-X が IL-X のレセプター陽性制御性 T 細胞に作用している可能性が考えられる。これらの結果から、IL-X により IL-X レセプター陽性制御性 T 細胞が増加・活性化して抗腫瘍免疫を抑制し、肥満誘導性肝がんの進展に働いている可能性がある。今後、がん微小環境における IL-X のさらなる分子機構を調べ、この機構が肥満誘導性肝がんの治療や予防に役立つのか検討していく予定である。

共同研究者

共同研究者は東京理科大学・理工学部・応用生物科学科の蒲池史卓、羅智文、中村大、山崎翔太、新井達也、東京理科大学・生命医科学研究所の久保允人、東京理科大学・薬学部の原田陽介、東京大学・医科学研究所の中江進である。

文 献

- 1) Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E, Ohtani N. *Nature*. 2013 Jul 4;499(7456):97-101. doi: 10.1038/nature12347.
- 2) Roles and mechanisms of cellular senescence in regulation of tissue homeostasis. Ohtani N, Hara E. *Cancer Sci*. 2013 May;104(5):525-30. doi: 10.1111/cas.12118.
- 3) An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, Rodier F, Toussaint W, Mitchell JR, Laberge RM, Vijg J, Van Steeg H, Dollé ME, Hoeijmakers JH, de Bruin A, Hara E, Campisi J. *Dev Cell*. 2014 Dec 22;31(6):722-33. doi: 10.1016/j.devcel.2014.11.012.