



大阪科学・大学記者クラブ 御中

(同時資料提供先：文部科学記者会、科学記者会)

2022年9月27日

大阪公立大学

## がん細胞が肝臓へ転移するメカニズムを解明 —がん細胞の侵入経路を特定—

### <本研究のポイント>

◇肝類洞内皮細胞 (LSEC) ※<sup>1</sup>内に形成されるギャップ (iGap) に注目。

◇肝臓へのがん転移では、がん細胞が肝類洞内皮細胞 (LSEC) と相互に作用することで LSEC 内の小孔を破壊し、がん細胞が細胞内へ直接侵入するメカニズムが明らかに。

### <概要>

大阪公立大学大学院 医学研究科 肝胆膵病態内科学の Truong Huu Hoang 大学院生、河田 則文教授、獣医学研究科 獣医学専攻の松原 三佐子准教授らの研究グループは、がん細胞が肝臓へ転移する経路を特定し、それに関わる分子機構を明らかにしました。

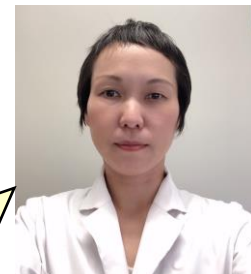
肝臓は様々な臓器由来のがん細胞が転移しやすい臓器です。転移初期段階ではがん細胞が微小環境※<sup>2</sup>と相互に作用して転移を助長している可能性が報告されていますが、そのメカニズムの全容は明らかではありませんでした。肝臓の肝類洞内皮細胞 (LSEC) には小孔が無数に開いており肝臓の機能維持に寄与していますが、病理学的条件下では LSEC の小孔が破壊されギャップ (iGap) 形成が生じることから、本研究グループは LSEC の iGap が肝臓への転移に関わっているのではないかと考え、本研究を開始しました。

本研究において、肝転移マウスモデルを作製しオミックス解析※<sup>3</sup>を行ったところ、がん細胞が LSEC と相互作用すると LSEC で MMP9※<sup>4</sup>、ICAM1※<sup>5</sup>、炎症性サイトカインの発現が誘導され、LSEC の iGap 形成が促進されることが明らかになりました。さらに、電子顕微鏡と三次元形態観察を用いてがん細胞が LSEC へ直接突起を伸ばし iGap から肝実質内へ侵入すること、LSEC の iGap 形成数とがん細胞を脾臓経由で注射後に肝臓に形成された腫瘍数とが正の相関を示すことを明らかにしました。

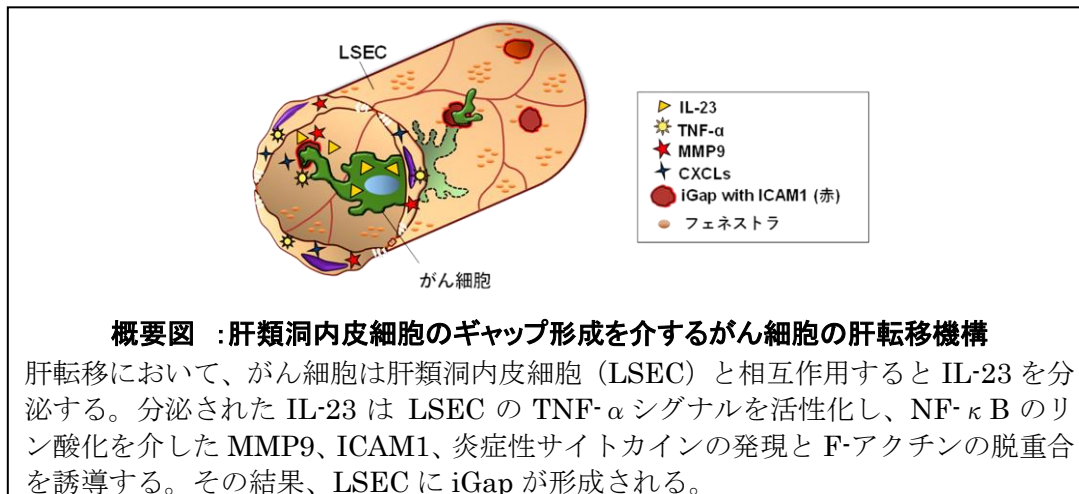
本研究成果は、肝臓へのがん転移の予防や治療薬の開発に繋がると期待されます。

本研究成果は、2022年9月29日(木)3時(日本時間)に『Science Advances』(IF=14.136)にオンライン掲載されました。

本研究では、「がん細胞が LSEC-iGap 形成を誘導し、ギャップを介して肝臓内へ侵入する」という転移に関する新しい現象を明らかにしました。この研究成果により、LSEC-iGap 形成を標的とした新規肝転移治療法の開発を目指して研究に邁進しています。



松原 三佐子准教授



## ■掲載誌情報

雑誌名： Sciences Advances (IF=14.136)

論文名： Cancer cells produce liver metastasis via gap formation in sinusoidal endothelial cells through pro-inflammatory paracrine mechanisms

著者： Truong Huu Hoang, Misako Sato-Matsubara, Hideto Yuasa, Tsutomu Matsubara, Le Thi Thanh Thuy, Hiroko Ikenaga, Dong Minh Phuong, Ngo Vinh Hanh, Vu Ngoc Hieu, Dinh Viet Hoang, Hoang Hai, Yoshinori Okina, Masaru Enomoto, Akihiro Tamori, Atsuko Daikoku, Hayato Urushima, Kazuo Ikeda, Ninh Quoc Dat, Yutaka Yasui, Hiroji Shinkawa, Shoji Kubo, Ryota Yamagishi, Naoko Ohtani, Katsutoshi Yoshizato, Jordi Gracia-Sancho, Norifumi Kawada

掲載 URL： [Science Advances | AAAS](https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abc1234)

## <研究の背景>

がん関連死の約 90%は転移が原因であり、肝臓は、胃腸の悪性腫瘍、黒色腫、乳がんおよび肉腫など様々な臓器由来のがん細胞が最も転移しやすい臓器です。さらに、肝転移切除後の 5 年生存率は 30-50%と低く、転移を抑制する治療法の開発は急務です。一般に、がん細胞の転移初期段階には微小環境が複雑に相互作用し、がん細胞の転移を助長している可能性があります。その中でも、特にがん細胞と肝類洞内皮細胞（LSEC）との相互作用を理解することは、がん細胞の肝臓への転移を阻害することを目的とした新しい治療薬を開発する上で重要です。LSEC は径 120 nm の小さな孔が無数に開いており、この小孔を通して血液の液性成分やカイロミクロンのような小粒子を自由に肝細胞側へ取り込むことができます。同時に、体内の解毒機能を担う LSEC は、血液から運ばれる有毒物質に絶えず晒されています。そのため、化学療法や一部の化学物質による病理学的条件下において、フェネストラ<sup>※6</sup>の破壊が起こり、細胞内のギャップ形成（iGap、直径 200 nm 以上）が生じます。本研究グループは、このような LSEC の特殊な形態的特徴に着目し、がん細胞との細胞間相互作用メカニズムを詳細に調べることで、転移に関する新しい現象を明らかにしました。

## <研究の内容>

マウス肝がん細胞由来の Hepa1-6 細胞株を脾臓内に注入し、in vivo の肝転移マウスモデルを作製しました。まず、LSEC の iGap 形成を誘導することが知られているアセトアミノフェン（APAP）<sup>※7</sup>を注射した 6 時間後、LSEC を走査電子顕微鏡で観察すると LSEC-iGap 形成は対象群に比べ、APAP 投与群で有意に増加しました。また、HE 染色像から、APAP 投与 3 日後の観察により、APAP 投与群で肝臓内の腫瘍形成数の増加を認めました。次に、チオアセトアミド<sup>※6</sup>

誘導肝線維化マウスモデルを作製し、同上の方法で Hepa1-6 細胞を脾臓内に注入後、肝臓内の転移巣の局在を調べました。その結果、非線維部で多数の iGap が形成され、その非線維部では線維部に比べて転移 Hepa1-6 細胞由来の腫瘍数が有意に増加していました (図 1)。

そこで、Hepa1-6 細胞を脾臓内に注入した 6 時間後に肝類洞内を走査電子顕微鏡で観察したところ、がん細胞の肝臓実質内への侵入像を捉えることに成功しました。また、がん細胞の侵入像をより詳細に観察をするためにアレイトモグラフィ法を用いて 1 個のがん細胞が 1 個の LSEC 内を通過する 3 次元画像を得ることができました (図 2)。

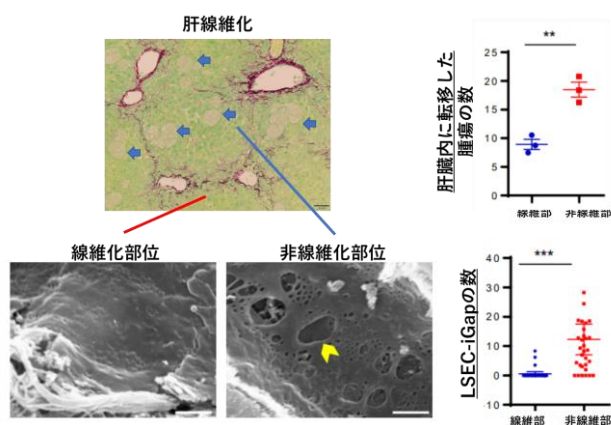


図 1. チオアセトアミド誘導肝線維化マウスモデルにおいて非線維部でのみ多数の iGap 形成が観察され、Hepa1-6 細胞の肝内腫瘍形成数が増加した。

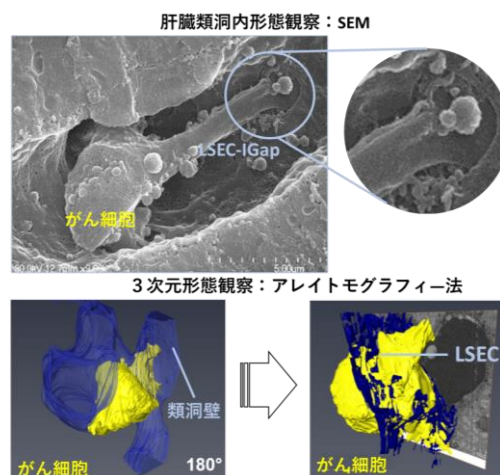


図 2. 走査電子顕微鏡および 3 次元トモグラフィ法にて、類洞内の Hepa1-6 細胞が肝臓内へ侵入する様子を捉えた。

さらに、がん細胞と LSEC を共培養して遺伝子解析を行った結果、Hepa1-6 細胞では IL-23 が発現上昇し、LSEC では TNF- $\alpha$  シグナルが活性化しました。また、TNF- $\alpha$  シグナルの下流分子である、MMP9、ICAM1、炎症性サイトカインの発現が誘導されました。さらに、リコンビナント TNF- $\alpha$  およびがん細胞との共培養により LSEC の F-アクチン脱重合<sup>※9</sup>が起これりて iGap 形成が観察され、TNF- $\alpha$  中和抗体により本現象は抑制されました。ヒトにおいて肝細胞がん (HCC) の血管侵入を伴う HCC 患者の外科的手術組織検体を用いて MMP9 と ICAM1 発現を調べたところ、これらの分子の発現は肝がんの肝内転移数および患者の全生存率と相関しました。さらに、腫瘍部における MMP9 の高発現は無再発生存期間と負の相関を示しました。これらの結果を基に、MMP 発現誘導剤 (MCT) を培養 LSEC に投与すると iGap 形成は促進し、一方、MMP 阻害剤および MMP2/9 低分子阻害剤は iGap 形成を消失させました。また、これらの阻害剤は Hepa1-6 細胞の肝内腫瘍形成を大幅に減少させました。この結果は、がん転移を防ぐための治療標的として MMP9 が有望であることを示唆しています (図 3)。以上の研究成果により、「がん細胞が LSEC における iGap 形成を TNF- $\alpha$ -MMP9 経路で惹起し、iGap を介して肝実質内へ侵入する」という転移に関する新しい現象を明らかにしました。

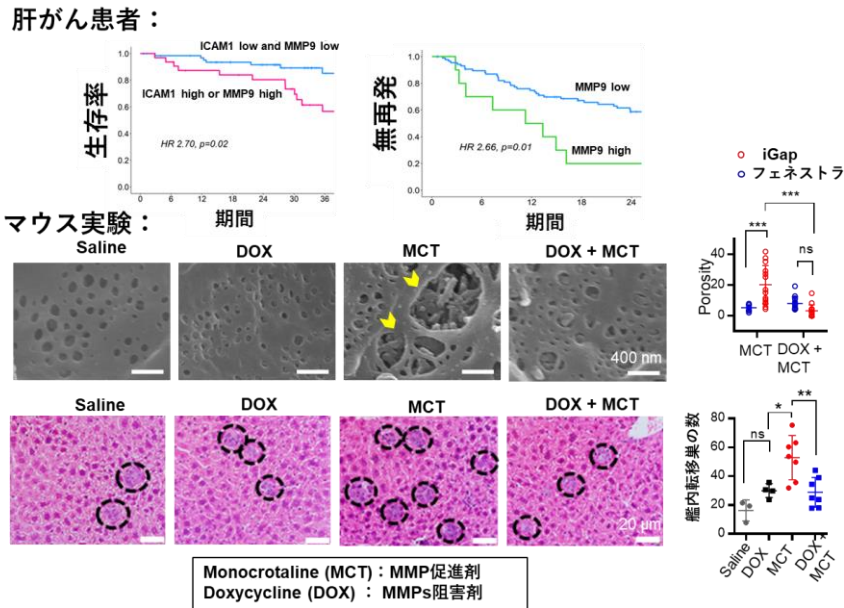


図3. ヒト肝がんMMP9・ICAM1高発現はHCC患者の全生存および再発期間と相関を示した(上図)。MMP阻害剤投与はLSEC-iGap形成を抑制し、肝転移を軽減した(下図)。

#### <今後の展開>

本研究は、iGap形成を阻害する薬剤はがん転移の予防や治療に繋がる可能性があるという、今までにない視点に基づく研究であり、今後の抗がん転移治療法の開発に大きく貢献すると確信しています。また、既に世界の研究グループによるマウス実験の結果からMMP9を標的とした治療薬の有効性が期待され、がんや線維症など慢性疾患に対する臨床治験が進んでいますが、多くの薬は副作用が問題となり中止となっています。そこで本研究グループはMMP9の局所的な作用をさらに明らかにできれば副作用を軽減した薬の開発に繋がると考え、MMP9を標的とした新しい治療薬の開発を目指します。

#### <資金情報>

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。

日本学術振興会 基盤研究(C)「肝星細胞活性化における不可逆的スイッチ機構の解明」(研究代表者:松原 三佐子) JP21K07968.

日本学術振興会 基盤研究(B)「肝細胞のがん化における細胞間相互作用を介した星細胞の役割」(研究代表者:河田 則文) JP19H03641.

国立研究開発法人 日本医療研究開発機構(AMED) 肝炎等克服緊急対策研究事業「革新的技術を用いた抗線維化療法の開発に関する研究」領域に関する研究開発課題「肝微小血管構成細胞由来セクリトームとその関連遺伝子のバイオインフォマティクス解析に基づく肝硬変の分子理解と治療法開発」(研究開発代表者:河田 則文) JP21fk0210050.

日本医療研究開発機構(AMED)の革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)「微生物叢と宿主の相互作用・共生の理解と、それに基づく疾患発症のメカニズム解明」領域における研究開発課題「腸肝軸を介した腸内細菌叢が関わる肝疾患発症メカニズムの解明とその制御」(研究開発代表者:大谷直子) JP21gm1010009.

#### <補足説明>

※1.肝類洞内皮細胞(Liver sinusoidal endothelial cell, LSEC): 肝臓の毛細血管内皮細胞だが、細胞質に多数の小孔(フェネストラ)を有し、基底膜を欠くなど他の血管内皮細胞と異なる特徴的な形態を有す。

※2.微小環境：細胞ががん化し、腫瘍化や浸潤、転移する際の周辺細胞の生体反応（マクロファージなどの免疫細胞の浸潤、線維芽細胞の増殖および血管新生の誘導など）がもたらす特殊な環境のこと。

※3.オミックス解析：生命を構成する様々な生体反応に関わる分子（RNA やタンパク質、代謝物など）を網羅的、包括的に解析する手法。

※4.MMP9 (Matrix Metaroproteinase 9): タンパク質分解酵素の一種。好中球ゼラチナーゼ、IV型コラゲナーゼおよびゼラチナーゼ B とも呼ばれる。変性コラゲナーゼ（ゼラチン）と IV 型、V 型、XI 型コラゲナーゼに対して基質特異性を示す。ヒト MMP9 は 92 kDa (前駆型)と 82 kDa (活性型) がある。

※5.ICAM1 (Intercellular adhesion molecule 1, 細胞間接着分子 1) : 免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーであり、CD54 (Cluster of differentiation 54)としても知られる。細胞表面の糖たんぱく質であり、一般的に血管内皮細胞と免疫細胞に発現している。

※6.フェネストラ：LSEC の 100–150 nm の大きさの小孔のこと。ラテン語で「窓」を意味する。フェネストラにより血液成分と肝細胞の物質交換が容易になると考えられている。

※7.アセトアミノフェン (Acetaminophen, APAP) : 解熱、鎮痛薬の一つ。APAP は視床下部の体温調節中枢に作用し、血管や汗腺を広げることで対外へ熱を逃がすことを促進し解熱させる。APAP は肝臓で代謝、排出されるため、過剰量摂取は副作用として肝障害がある。

※8.チオアセトアミド：有機化合物。マウスに薬剤を投与することで、線維化を伴う慢性肝炎を誘発する。

※9.アクチン脱重合：アクチン重合とはアクチンの単量体（G-アクチンという）が結合して、細長い線維（F-アクチンという）の形成をいう。アクチンフィラメントの分子が脱落しバラバラに解けることをアクチン脱重合という。

**【研究内容に関する問い合わせ先】**

大阪公立大学大学院獣医学研究科

担当：松原 三佐子

TEL：072-463-5297

E-mail：[mmatsubara@omu.ac.jp](mailto:mmatsubara@omu.ac.jp)

大阪公立大学大学院医学研究科

担当：河田 則文

TEL：06-6645-3897

E-mail：[kawadanori@omu.ac.jp](mailto:kawadanori@omu.ac.jp)

**【報道に関する問い合わせ先】**

大阪公立大学 広報課

担当：上嶋 <sup>かみしま</sup> 健太

TEL：06-6605-3411

E-mail：[koho-list@ml.omu.ac.jp](mailto:koho-list@ml.omu.ac.jp)