



Title	肝細胞癌の進展における表皮型脂肪酸結合タンパク質の機能解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大平, 将史
Description	配架番号 : 2658
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14743号
Issue Date	2021-12-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83876
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masafumi_Ohira_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 大 平 将 史

学 位 論 文 題 名

肝細胞癌の進展における表皮型脂肪酸結合タンパク質の機能解析

(Studies on the role of fatty acid-binding protein 5
in hepatocellular carcinoma progression)

【背景と目的】

Fatty acid-binding protein (FABP) は1972年に初めて報告された細胞内タンパク質であり、哺乳類においては、FABP1、2、3、4、5、6、7、8、9、そして12の10種類のアイソフォームが同定されており、FABP familyを構成している。FABPはlipid chaperoneとも呼ばれているが、細胞内で遊離脂肪酸と結合しその輸送を行う。そのような比較的特異性の低い機能から、細胞内において様々な役割を果たしており、主に脂質の貯蔵や脂肪酸を介したシグナル伝達、脂肪酸β酸化や膜の合成などに関わる。FABP familyの中でも、特にFABP4とFABP5は、生活習慣病との関連やいくつかの癌との関連に関して広く解析されている。

我々は、表皮型脂肪酸結合タンパク質 (epidermal FABP, FABP5) が正常肝細胞と比較して肝細胞癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 細胞で強く発現していることを発見し、その発現がHCCに対する肝切除術後の生存率を増悪させることを報告してきた。しかし、その詳細な分子メカニズムは未だ解明されておらず、FABP5をHCCの治療ターゲットとして開発を進めていく上での課題である。

また、FABPは細胞内タンパク質であるが、血液中に分泌され機能を果たすものもある。例えば、FABP4は脂肪細胞から分泌され、アディポカインとして多彩な機能を果たすことが知られており、癌や生活習慣病の増悪因子であると報告されている。また、FABP5についても脂肪細胞や膵β細胞から分泌されている可能性を示唆する研究結果がある。しかし、血液中FABP5とHCCとの関連性に関する報告はこれまでにない。したがって、HCCの進展において、組織中FABP5のみならず血清FABP5についても解析する必要がある。

本研究の目的は、HCC細胞におけるFABP5の機能を細胞内・細胞外の両面から解析し、FABP5がHCCの進展に関与する機序を解明することである。

【対象と方法】

本研究では、当科で肝切除術を施行したHCC患者の臨床検体 (肝切除組織、血清) やHCCを有さない肝炎症例の血清を用いて、HCCの進展における組織中FABP5と血清FABP5と臨床病理学的所見の関連性を解析し、そこから得られた知見を中心としてHCC細胞株を用いた*in vitro*の実験と公共データベースから取得したデータを解析することで、FABP5がHCCの進展に関わる機序を包括的に検討した。

【結果】

臨床検体を用いた解析においては、HCC患者128例 (HCC群) と、HCCを有さない肝炎患者89例 (肝炎群) を解析した。生存期間解析により、HCC組織中FABP5・血清FABP5共に、HCC患者の

予後増悪因子であることがわかった。また、HCC 組織中 FABP5 発現レベルと血清 FABP5 濃度に相関は認めず、それぞれが独立して患者予後を増悪させていた。*in vitro* の実験によっても、HCC 細胞株からの FABP5 の分泌はほとんど認めず、HCC 細胞への外因性 FABP5 の取り込みも少量にとどまっていた。これらの結果から、HCC の進展においては、HCC 組織中（細胞内） FABP5 と血清 FABP5 は別の因子である可能性が示唆された。

HCC 細胞における細胞内 FABP5 の機能に関しては、HCC 細胞株を用いた実験においては、HCC 細胞の増殖能・遊走能を低下させ、癌細胞の活動性を低下させていると考えられる結果が得られた。そこで、癌微小環境に関わるストレス因子である低栄養状態での HCC 細胞の挙動の変化を確認した。その結果、細胞内 FABP5 はグルコース欠乏環境下での細胞生存能を促進することがわかった。公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) から取得した HCC 症例のデータと、今回作製した FABP5 ノックアウト細胞株の遺伝子発現解析 (RNA-seq) の結果、FABP5 の発現は解糖系・ピルビン酸代謝の抑制や、AFP や DLK-1 などの肝幹/前駆細胞マーカーの発現上昇と関連していた。臨床検体の解析においても、HCC 組織中 FABP5 発現レベルは血清 AFP 値と正の相関を認め、また、組織の分化度が下がるほど FABP5 発現レベルが上昇しており、遺伝子発現解析の結果と整合性のある結果であった。

【考察】

本研究は、HCC における血清 FABP5 と癌組織中 FABP5 の関連性を解析した最初の報告である。血清 FABP5 と癌組織中 FABP5 に相関は認めなかったが、それぞれが独立して予後増悪因子であった。血清 FABP5 は糖尿病と有意に関連しており、生活習慣病と HCC の相互作用を媒介する因子である可能性が考えられた。

FABP5 は様々な癌種（胆管細胞癌、前立腺癌、子宮頸癌など）において高発現し、その患者予後を増悪させていると報告されている。そのメカニズムとしては様々な可能性が検討されているが、癌細胞の挙動の変化としては、増殖・遊走・浸潤能を促進すると結論づけている報告が大多数である。したがって、HCC においても同様の結果が得られると予想されたが、驚いたことに我々の実験ではそれとは逆に FABP5 が癌細胞の増殖・遊走能を抑制しているという結果であった。臨床検体の解析でも、腫瘍サイズと FABP5 発現レベルは逆相関しており、この結果を支持するものであった。しかし、グルコース欠乏環境では FABP5 発現レベルと細胞生存能に正の相関があることが示され、FABP5 は癌微小環境の低栄養ストレス下での細胞生存能を促進している可能性が考えられた。そのメカニズムとして、公共データベースや細胞株の遺伝子発現解析の結果、FABP5 は解糖系の抑制による環境中グルコースの消費低下や、HCC 細胞の cancer stem cell 化とそれによる細胞休眠に寄与している可能性が示唆された。臨床検体の解析から得られた、FABP5 発現と分化度低下の関連性も、癌細胞の stemness を反映した結果である可能性がある。しかし、ここまでの実験結果は細胞株の解析によるものが主であるため、今後の解析においてはオルガノイドやマウスモデルなどのより生体内に近い実験系を用いて詳細な機能解析を進める必要がある。

【結論】

HCC 患者において HCC 組織中 FABP5 と血清 FABP5 は独立した予後増悪因子であり、それぞれが異なったメカニズム・機能で HCC の進展に寄与していると考えられた。また、HCC 細胞内 FABP5 は低グルコース環境での細胞生存能を増強しており、そのメカニズムとしてはエネルギー代謝の変化や HCC 細胞の cancer stem cell 化とそれによる細胞休眠の可能性が示唆された。