



HOKKAIDO UNIVERSITY

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 [全文の要約]
Author(s)	大平, 将史
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2658 他
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/2115/83877
Type	doctoral thesis
File Information	Masafumi_Ohira_summary.pdf



学 位 論 文 (要 約)

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)

2021年12月

北 海 道 大 学

大 平 将 史

学 位 論 文 (要 約)

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)

2021年12月

北 海 道 大 学

大 平 将 史

【背景と目的】

脂肪酸結合タンパク質 (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 と呼ばれ、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、特に脂肪細胞型 FABP (adipocyte FABP, FABP4) と表皮型 FABP (epidermal FABP, FABP5) は、生活習慣病やいくつかの癌との関連について広く解析されている。

我々は、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。その代表が FABP4 で、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 に関しても脂肪細胞や膵 β 細胞から分泌されている可能性を示唆する研究結果や、血液中 FABP5 と生活習慣病や乳癌との関連性を報告した研究が散見される。しかし、血液中 FABP5 と HCC との関連性についての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 92 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。しかし、HCC 組織中 FABP5 発現レベルと血清 FABP5 濃度に相関は認めなかった。*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 は別の因子であると考えられた。

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で、FABP5 が 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。臨床検体の解析においても、HCC 組織中 FABP5 発現レベルは腫瘍サイズと逆相関しており、臨床的にも FABP5 は HCC 細胞の増殖を抑制している可能性が示唆された。一方で、培地交換をせずに長期間培養した結果、FABP5 KO 細胞では培地中の栄養の枯渇により速やかに細胞死を起こしたのに対し、野生型細胞は一部が生存していると考えられる結果となっていた。その結果を踏まえて、癌微小環境に関わるストレス因子である低グルコース環境での 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していることがわかった。

公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov/>) から取得した HCC 症例のデータと、今回作製した FABP5 KO 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、複数の肝幹/前駆細胞マーカーの発現上昇と関連していた。そこで、HCC における癌幹細胞 (Cancer stem cells, CSCs) マーカーの発現状態を解析したところ、FABP5 の発現とそれらの遺伝子の発現は正の相関を示す傾向があり、FABP5 が HCC における CSCs の誘導・維持に関わっている可能性が示唆された。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、FABP5 の発現と HCC 組織の幹細胞性の関連が示唆される結果であった。

【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 は糖尿病と有意に相関

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 における本実験でも同様の結果が得られると予想されたが、実際はそれとは逆に FABP5 が癌細胞の増殖・遊走能を抑制しているという結果が得られた。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 CSCs へのリプログラミング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、癌細胞の幹細胞性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 CSCs へのリプログラミングと、それによる細胞休眠の可能性が示唆された。