

トランスジェニックマウスモデルを用いた肝発がん 制御分子の研究

著者	中本 安成
著者別表示	Nakamoto Yasunari
雑誌名	平成16(2004)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2003-2004
ページ	8p.
発行年	2005-03
URL	http://doi.org/10.24517/00057036

トランスジェニックマウスモデルを 用いた肝発がん制御分子の研究

研究課題番号：15590631

平成 15 年度～平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）

研究成果報告書

平成 17 年 5 月

研究代表者 中本安成

(金沢大学・医学部附属病院・講師)

目次

研究課題	1
課題番号	1
研究組織	1
交付決定額	1
研究発表	2
はしがき	4
研究成果	
Interferon- γ -mediated hepatocarcinogenesis in mice treated with diethylnitrosamine	6
Aberrant expression of serine/threonine kinase Pim-3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines	32
Different procarcinogenic potentials of lymphocyte subsets in a transgenic mouse model of chronic hepatitis B	42
Mechanisms of viral hepatitis induced liver injury	50
Potential interaction between CCR1 and its ligand, CCL3, induced by endogenously produced interleukin-1, in human hepatomas	58
Analysis of the CD8-positive T cell response in Japanese patients with chronic hepatitis C using HLA-A*2402 peptide tetramers	68
Enhanced anti-tumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing	79

both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma.

Reduced chemical hepatocarcinogenesis in interferon- γ receptor knockout mice. 89

平成 15 年度～平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）

研究成果報告書

1. 研究課題

トランスジェニックマウスモデルを用いた肝発がん制御分子の研究

2. 課題番号： 15590631

3. 研究組織

研究代表者： 中本安成（金沢大学・医学部附属病院・講師）

4. 交付決定額

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度：	2,200	0	2,200
平成 16 年度：	1,300	0	1,300
計	3,500	0	3,500

5. 研究発表

I. 学会誌等

1. Matsuda M, Nakamoto Y, Suzuki S, Kurata T, and Kaneko S: interferon- γ -mediated hepatocarcinogenesis in mice treated with diethylnitrosamine. *Laboratory Investigation* (in press) 2005
2. Fujii C, Nakamoto Y, Lu P, Tsuneyama K, Popivanova BK, Kaneko S and Mukaida N: Aberrant expression of serine/threonine kinase Pim-3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines. *International Journal of Cancer* 114: 209-218, 2005
3. Nakamoto Y, Suda T, Momoi T, Kaneko S: Different procarcinogenic potentials of lymphocyte subsets in a transgenic mouse model of chronic hepatitis B. *Cancer Research* 64: 3326-3333, 2004
4. Nakamoto Y, Kaneko S: Mechanisms of viral hepatitis induced liver injury. *Current Molecular Medicine* 3: 537-544, 2003
5. Lu P, Nakamoto Y, Nemoto-Sasaki Y, Fujii C, Wang H, Hashii M, Ohmoto Y, Kaneko S, Kobayashi K and Mukaida N: Potential interaction between CCR1 and its ligand, CCL3, induced by endogenously produced interleukin-1, in human hepatomas. *American Journal of Pathology* 162: 1249-1258, 2003
6. Nakamoto Y, Kaneko S, Takizawa H, Kikumoto Y, Takano M, Himeda Y and Kobayashi K: Analysis of the CD8-positive T cell response in Japanese patients with chronic hepatitis C using HLA-A*2402 peptide tetramers. *Journal of Medical Virology* 70: 51-61, 2003
7. Tsuchiyama T, Kaneko S, Nakamoto Y, Sakai Y, Honda M, Mukaida N and Kobayashi K: Enhanced anti-tumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Therapy* 10: 260-269, 2003
8. Matsuda M, Nakamoto Y, Kaneko S and Kobayashi K: Reduced chemical hepatocarcinogenesis in interferon- γ receptor knockout mice. *Frontiers in Hepatology: HCV / Oxidative stress and liver disease* 58-66, 2003

I I. 口頭発表

1. 中本安成、金子周一；O-107；慢性肝炎モデルにおける Fas リガンドの制御と発癌抑制効果の遺伝子発現プロファイル；第40回日本肝臓学会総会；一般；平成16年6月3日
2. Yasunari Nakamoto, Takashi Suda and Shuichi Kaneko: #50; Differential procarcinogenic potential of lymphocyte subsets in immune pathogenesis of hepatocellular carcinoma; The 54th American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) Annual Meeting (Boston, Massachusetts): Hepatology 38 (4, pt.1) 179A; Oct. 26, 2003
3. 中本安成、金子周一、小林健一；W4-01；慢性肝炎モデルにおける Fas リガンドの役割と肝発癌；第89回日本消化器病学会総会；ワークショップ；平成15年4月24日
4. 中本安成、金子周一；O-206；慢性肝炎モデルにおける Fas リガンドの肝発癌制御メカニズム；第39回日本肝臓学会総会；一般；平成15年5月23日
5. 中本安成、金子周一；肝S3-7；肝発癌予防をめざしたアポトーシス制御ストラテジー；DDW-Japan 2004 第7回日本肝臓学会大会；シンポジウム；平成15年10月15日
6. 中本安成、金子周一、須田貴司；3311OP；慢性肝炎モデルにおける Fas リガンド抗体の肝発癌抑制機序；第62回日本癌学会総会；一般；平成15年9月27日
7. 中本安成、金子周一；肝-34；慢性肝炎モデルにおける Fas リガンドの制御と肝発癌；第14回日本消化器癌発生学会総会；一般；平成15年9月11日

はしがき

研究代表者 中本安成
(金沢大学・医学部附属病院・講師)

肝細胞がん（肝がん）は、B型、C型慢性ウイルス肝炎を素地に発症することが知られている。しかし、肝炎ウイルス自体は明らかな発がん遺伝子を保有しておらず、肝がんの発生機序、分子機構は不明のままである。このため病態に基づいた予防的治療法の開発は極めて困難な状況にある。この原因の一つとして、慢性肝炎から肝発がんに至る病態の解析に有用な動物モデルが存在しなかったことがあげられる。

これまで我々はB型肝炎ウイルス表面抗原のトランスジェニックマウスに、細胞免疫学的手法を用いて慢性肝炎を誘導することに成功し、組織学的に観察することによって、慢性肝炎→前がん状態→肝がんと進展することが明らかになった (J. Exp. Med. 188: 341, 1998)。最近この疾患モデルの分子病態について遺伝子発現パターンをディファレンシャルディスプレイ (DD) 法を用いて検討したところ、前がん状態において発現が増加した遺伝子が 38 種類、低下したものが 56 種類検出された (Int. J. Cancer 114: 209, 2005)。また、液性および細胞性免疫反応に関する解析から、この病態の進展にはウイルス抗原特異的 CD8 陽性 T リンパ球が重要な役割を果たすことが示唆された。さらに、同様な肝細胞障害モデルにおいて、CD8 陽性 T リンパ球はエフェクター（細胞障害）分子である Fas リガンド (FasL) を介して、肝細胞死（アポトーシス）、肝炎を誘導することを報告してきた (J. Immunol. 158: 5692, 1997)。そこで、上述のトランスジェニックマウス肝発がんモデルにおいて、FasL を介する径路を中和抗体を用いて抑制したところ、肝炎が軽快し肝発がんが減少するという結果を得ている (J. Exp. Med. 196:1105, 2002)。

本研究では、慢性肝炎から肝がんへ進展する B型肝炎ウイルス表面抗原のトランスジェニックマウスモデルを用いて、肝発がんの病態機序を解析するとともに、発がんを制御する分子のスクリーニングを進めた。検討結果は、以下のごとくである。

- a) 肝発がんの病態の検討として、肝炎の誘導の際に行う各種の細胞免疫学的操作によって、前がん状態の異形性が変化し発がん率に違いが生ずることが分かった。異なるリンパ球分画によって誘導した慢性肝炎を観察したところ、CD8+ T リンパ球、CD4+ T リンパ球、B (CD19+) リンパ球の順に肝組織の異

形性の程度、発がん率（それぞれ、86%、24%、0%）に寄与していることが明らかになった（Cancer Res. 64: 3326, 2004）。

- b) これまで肝細胞障害に重要な Fas リガンド (FasL) を介する経路を抑制すると、肝炎が軽快し発がんが著明に減少するという結果を得ているので (J. Exp. Med. 196: 1105, 2002)、FasL 抗体の投与による影響を約 2 万個の遺伝子解析が可能である DNA チップを用いて検討した。抗体の投与によって 352 遺伝子 (1.7%) の発現が有意に変動していた ($P < 0.05$)。このうち機能が予測される遺伝子が 190 個認められた。なかでも、細胞死・増殖因子に関する遺伝子群の変動が 4.7% と最も高率であった。
- c) 発がんに関連する候補遺伝子の 1 例として、セリン・スレオニンキナーゼ pim-3 の解析を行うことによって、細胞増殖を促進しアポトーシス (細胞死) を抑制して肝がんの進展に関与していることが示唆された (Int. J. Cancer 114: 209, 2005)。

これらの結果から、発がん病態の分子免疫学的特徴が示唆された。今後さらに発がん過程に関与する遺伝子のスクリーニングを継続するとともに、各分子の発癌過程における機能解析を進めることによって、標的分子を絞り込んでいけるものと期待される。

モデル動物を用いた研究においては実験系の特殊性を考慮する必要があると考えられるため、発がん病態の普遍性を検討する目的で他の肝発がんモデルに見られる遺伝子発現の変化を解析し比較検討する計画も進行中である。現在、化学発がんモデルの経時的な肝組織の作成が完了したばかりであり (Lab. Invest.: *in press*)、同様に分子病態に関して DNA チップを用いた発現遺伝子プロファイルの解析を予定している。得られる結果を本研究の情報と統合することで新たな標的分子の候補が明らかになっていくものと期待される。