

プレス通知資料（研究成果）

本件配布先：文部科学記者会、科学記者会、本町記者会

2023年10月10日

国立大学法人東京医科歯科大学

「NAFLD関連肝がんにおける脂肪毒性への耐性獲得機序の解明」 — 新規治療標的として有望なKDM6B-G0S2-ATGL経路の同定—

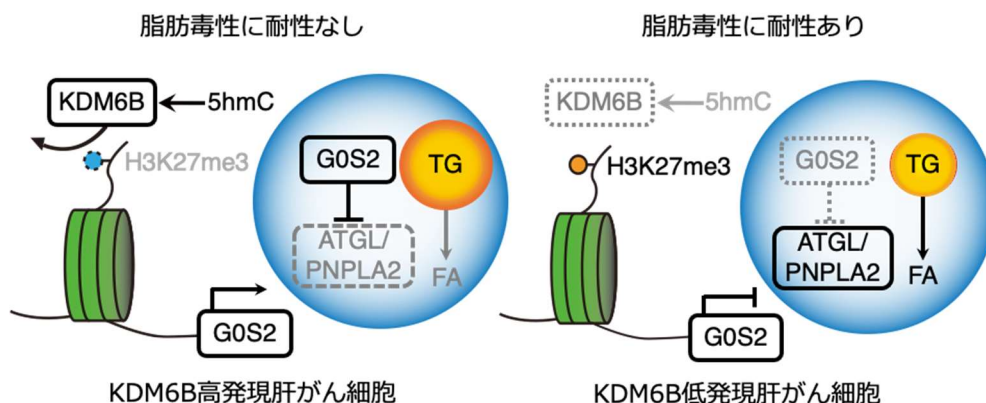


【ポイント】

- 近年増加している非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)関連肝がんにおいて、ヒストン脱メチル化酵素 KDM6B の発現が特異的に低下していることを突き止めました。
- KDM6B はエピジェネティック機構を介して脂質代謝システムをコントロールしており、がん細胞が脂肪毒性に対する耐性を獲得する新しい分子機序を解明しました。
- KDM6B 発現低下による脂肪毒性耐性機序の解明は、NAFLD 関連肝がんの病態解明と新規治療法開発への応用が期待できます。

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子腫瘍医学分野の田中真二教授、波多野恵助教、秋山好光講師、島田周助教の研究グループは、同肝胆膵外科学分野の田邊稔教授、九州大学大学院医学研究院病態制御内科学分野の小川佳宏教授などとの共同研究で、NAFLD 関連肝がんにおける脂肪毒性への耐性獲得の原因が、KDM6B 発現低下によることをつきとめました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)「肝炎等克服実用化研究事業」ならびに高松宮妃癌研究基金助成金などの支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、米国肝臓病学会誌 *Hepatology Communications* に、2023年10月2日発表されました。

図1. エピジェネティクス機構を介したKDM6B発現と脂肪毒性の関連

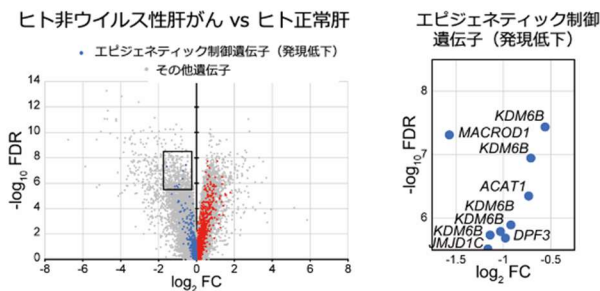


【研究の背景】

近年、肥満や糖尿病、脂質異常症、高血圧などのメタボリックシンドロームの増加に伴い、非アルコール性肝疾患(NAFLD)に関連した肝がん患者の増加が問題となっています。NAFLD は脂肪性肝炎(NASH)から肝硬変に進行し、肝がんを発症しますが、その詳細な分子機序は不明な点が多く、この発症機序の解明や新規治療法の開発が強く望まれています。

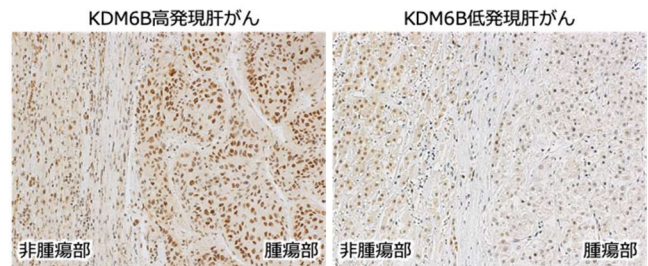
NAFLD 関連肝がんでは、ウイルス性肝がん 비해、ゲノム異常が少ないことが報告されています。また肝がんの発生にはエピゲノム^{*1} 異常が関わっていることが知られていますが、ヒストン修飾^{*2} などエピゲノム異常に基づく NAFLD 関連肝がんの分子機序は未だに不明です。本研究では、臨床ヒト肝がん検体及びマウス NASH 肝がんモデルを用いた遺伝子発現解析により、NAFLD 関連肝がんでは特異的にヒストン脱メチル化酵素 KDM6B の発現が低下していることを見出しました。KDM6B はヒストン H3K27 部位を脱メチル化することで、下流遺伝子の発現を亢進することが知られています。今回我々は NAFLD 関連肝がんにおける KDM6B の役割を調べ、NAFLD 関連肝がん治療の新しい治療標的を探索しました。

図2. ヒト非ウイルス性肝がんと正常肝における遺伝子発現解析



ヒト臨床肝がん検体を用いた遺伝子発現解析を行い、正常の肝臓と比較して有意に発現が低いエピジェネティック制御遺伝子としてKDM6Bを同定した。

図3. ヒト肝がん臨床検体を用いたKDM6B発現解析



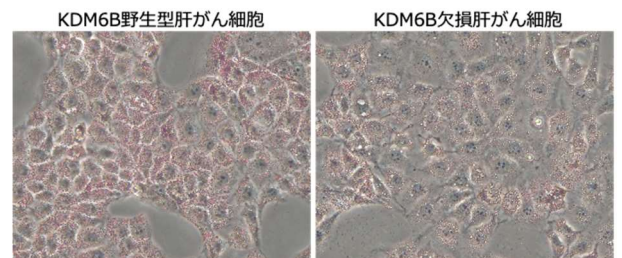
ヒト肝がん臨床検体を用いた免疫組織染色を行ったところ、28.7%の症例でKDM6Bの発現が低下していた。KDM6B低発現肝がんはNAFLD関連肝がんにて特徴的であることが判明した($P < 0.001$)。
濃茶：KDM6B陽性細胞

【研究成果の概要】

臨床肝がん検体及び NASH 肝がんモデルマウスを用いた遺伝子発現解析及び組織を用いたタンパク発現解析により、NAFLD 関連肝がんでは KDM6B 発現が低下していることを明らかにしました。KDM6B 遺伝子の発現は、その転写領域の 5hmC^{*3} レベルと正に相関していることを見出し、DNA のエピゲノム修飾により KDM6B 遺伝子発現が制御されていることが判りました。

KDM6B 発現低下がもたらす細胞機能の変化を解析するため、CRISPR-Cas9 system を用いた遺伝子改変により、KDM6B 欠損肝がん細胞を作成しました。KDM6B 野生型肝がん細胞は脂肪酸を過剰に負荷すると脂質が蓄積し生存できませんが、KDM6B 欠損肝がん細胞はその環境下でも生存可能であり、脂肪毒性に対する抵抗性を獲得していることが示されました。メタボローム解析の結果、KDM6B 欠損肝がん細胞ではトリグリセリド(中性脂肪)の代謝が大きく変化していることがわかりました。さらに、遺伝子発現解析の結果 KDM6B は脂質代謝を制御する遺伝子の発現を増加させることが明らかになりました。その一例として、脂質代

図4. ヒト肝がん細胞におけるKDM6Bの機能解析

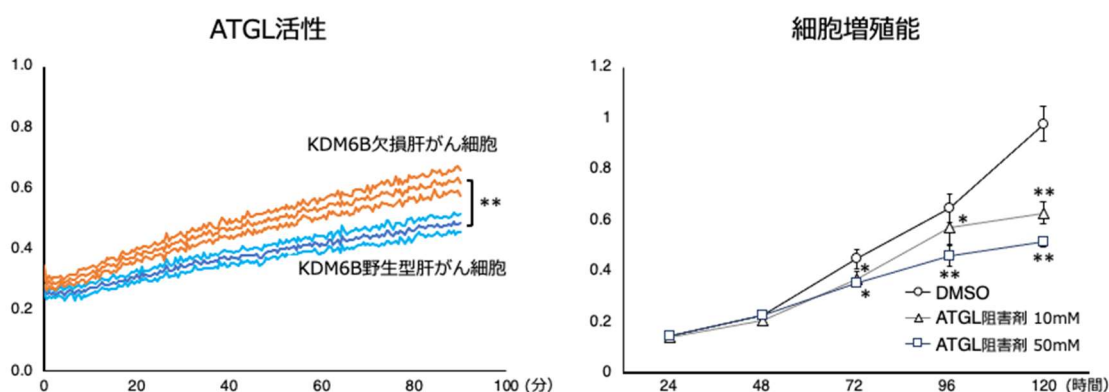


オイルレッドO染色により細胞内脂質(写真赤色部)の蓄積を評価した。高脂肪負荷によりKDM6B野生型肝がん細胞では細胞内に脂質が蓄積するが、KDM6B欠損肝がん細胞では脂質の蓄積が軽度であった。

謝関連遺伝子のひとつである G0S2 は、細胞内に蓄積した中性脂肪を分解する酵素 (ATGL/PNPLA2) の働きを阻害する役割を持つことが知られています。KDM6B 欠損肝がん細胞では、ヒストンの脱メチル化が起こらないことで G0S2 遺伝子の発現が低下し、ATGL/PNPLA2 の酵素活性が上昇する結果、細胞内トリグリセリドが分解されやすくなると考えられました。この結果から、KDM6B 遺伝子の発現が低下することによって肝がん細胞が高脂肪環境下でも生存可能となる脂肪毒性への耐性を獲得すると考えられました。さらに ATGL/PNPLA2 発現の抑制や酵素活性阻害薬の投与により、脂肪毒性への耐性が失われ、がん細胞の増殖が抑えられることがわかりました。

今回見出した結果がヒトの肝臓にもあてはまるかどうかを検証するため、同大学肝胆膵外科で手術を行った肝がんの臨床検体を用いて KDM6B と G0S2 の発現を解析しました。その結果、28.7%の症例に KDM6B 低発現を認め、KDM6B 低発現例のうち 80%が NAFLD 関連肝がんであることが判りました。G0S2 発現は 30.5%の症例で発現が低く、KDM6B と G0S2 の発現には正の相関を認めました ($P=0.036$)。これらの結果は、KDM6B-G0S2-ATGL/PNPLA2 経路が、NAFLD 肝がんにおける新規治療標的となる可能性を示しています。

図5. KDM6B欠損肝がん細胞における脂肪トリグリセリドリパーゼ (ATGL) の機能解析



KDM6B欠損肝がん細胞は野生型肝がん細胞に比べて高いATGL活性を有していた。KDM6B欠損肝がん細胞にATGL酵素活性阻害薬Atglistatin を投与すると細胞増殖が抑制された。

【研究成果の意義】

本研究では、KDM6B 発現が NAFLD 関連肝がん有意に低下していることを見出しました。KDM6B は DNA エピゲノム修飾により発現が制御されていること、ヒストン修飾変化によって脂質代謝を調節し、肝がん細胞の脂肪毒性への耐性獲得機序に寄与していることが明らかとなりました。本研究の成果により、KDM6B-G0S2-ATGL/PNPLA2 経路が NAFLD 関連肝がんに対する新規治療標的として有用である可能性が示されました。

【用語解説】

※1 エピゲノム機構

エピゲノム(エピジェネティクス)機構は DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御の仕組みであり、DNA メチル化、ヒストン修飾およびクロマチン再構築の3つが柱となっている。

※²ヒストン修飾

ヒストンはクロマチンの基本単位であるヌクレオソームを構成する塩基性タンパク質である。ヒストンの N 末端と C 末端側にはヒストンテールが存在し、その部分のリジン残基(K)にメチル化やアセチル化修飾が起こると遺伝子発現が活性化または不活性化する。H3K27(ヒストン H3 の 27 番目のリジン)に 3 個のメチル基がつくことを H3K27me3 と呼ぶ。KDM6B は脱メチル化酵素であり、メチル基を取り除く作用を持っている。この修飾は遺伝子発現活性化に働く。

※³5hmC

DNA エピゲノム修飾の一種。5-hydroxymethylcytosine (5-ヒドロキシメチルシトシン)はメチル化されたシトシンのメチル基が除去される過程で生成されるシトシン修飾体の1つであり、遺伝子発現の活性化に働く。5hmC は加齢、ストレス、代謝異常などの環境要因や多くのがんで変化が認められる代表的な DNA 脱メチル化の指標である。

【論文情報】

掲載誌: *Hepatology Communications*

論文タイトル: Loss of KDM6B epigenetically confers resistance to lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma

【研究者プロフィール】

田中 真二(タナカ シンジ) Tanaka Shinji

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 教授

・研究領域

分子腫瘍医学、消化器外科学

波多野 恵 (ハタノ メグミ) Hatano Megumi

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 助教

・研究領域

分子腫瘍医学、内分泌代謝学

秋山好光 (アキヤマ ヨシミツ) Akiyama Yoshimitsu

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 講師

・研究領域

分子腫瘍医学、癌エピジェネティクス

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
分子腫瘍医学分野

氏名 田中 真二(タナカ シンジ)

氏名 秋山 好光(アキヤマ ヨシミツ)

E-mail: tanaka.monc@tmd.ac.jp

yakiyama.monc@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp