

【要約】

***OLFM4* enhances STAT3 activation and promotes
tumor progression by inhibiting *GRIM-19* expression
in human hepatocellular carcinoma**

(肝細胞癌において、*OLFM4* は *GRIM-19* 抑制を介して STAT-3 活性を増強することにより腫瘍増殖を促進する)

千葉大学大学院医学薬学府
先端医学薬学 専攻

(主任：大塚 将之 教授)

芦澤 陽介

【背景】

進行肝細胞癌（Hepatocellular carcinoma 以下 HCC）は集学的治療が進歩した今日においても未だ予後不良であり、その予後改善のためには新たな治療標的因子の開発が必要である。Signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3)は HCC を含めた様々な癌腫において悪性度を高める機序が報告され、STAT3 を制御することは有効な治療となる可能性が長年にわたり報告されてきた。しかしながら STAT3 は正常組織の生存に必須と考えられており STAT3 を直接抑制することは副作用の面から未だ臨床応用されていない。

そこで今回我々は STAT3 の上流の因子に着目し、STAT3 を制御する可能性のある遺伝子として Olfactomedin4 (OLFM4) 及び Gene associated with retinoid-interferon-induced mortality-19 (GRIM-19) という 2 つの遺伝子に着目した。

OLFM4 (olfactomedin4) は近年、癌との関連が着目されている遺伝子で一部の癌腫において STAT3 を介した癌の増殖促進が報告されている。GRIM-19 は強力なアポトーシス効果を持つ遺伝子として知られ、その機序として STAT3 を抑制することが知られている。また、OLFM4 は GRIM-19 に直接結合することで抗アポトーシスを起こすことが報告されている。以上の過去の報告から、OLFM4 と GRIM-19 は直接作用することで STAT3 活性を調節し癌の悪性度を高めている可能性が示唆される。しかし肝細胞癌においては OLFM4 発現の意義に関しての報告はなく、GRIM-19 との相関やその機序に関しての報告もない。

【目的】

OLFM4/GRIM-19/STAT3 発現と予後との関連や臨床病理学的因子との関連を検討することで HCC の治療標的因子としての可能性を追求することを本研究の目的とした。

【方法】

初回肝切除 HCC の臨床検体と肝細胞癌細胞株を用いて OLFM4/GRIM-19/STAT3 関連因子発現を免疫組織染色・western blot・EMSA などで評価し、臨床病理学的因子や予後との関連を検討した。また、OLFM4 を調節する因子として WNT シグナルとの関連も検討した。

【結果・考察】

免疫染色において HCC における OLFM4 高発現は腫瘍径増大、Ki-67 高値、門脈浸潤陽性と相関し、全生存率・無再発生存率ともに有意に不良であり、一方 GRIM-19 高発現は腫瘍径増大、Ki-67 高値、門脈浸潤陽性と逆相関し、全生存率・無再発生存率ともに有意に良好であった。OLFM4 発現と GRIM-19 発現は逆相関し、OLFM4 高発現は HCC 術後の独立した予後不良因子として抽出された。HCC における STAT3 活性は OLFM4 発現と正相関、GRIM-19 発現と逆相関を示した。また、HCC 細胞株を用いた研究において OLFM4 を Knockdown すると GRIM-19 発現は有意に上昇し STAT3 発現は有意に低下した。しかし GRIM-19 を Knockdown しても OLFM4 発現に差は認めなかった。OLFM4/GRIM-19 を共に Knockdown した細胞モデルを作成し OLFM4 Knockdown 細胞と比較すると、Double Knockdown 細胞では STAT3 発現は有意に再上昇した。さらには OLFM4 Knockdown は腫瘍増殖能抑制、Apoptosis 抑制、Anoikis 抵抗性の低下を示した。以上の結果から、OLFM4 は

cascade のより上流に位置し GRIM-19 を抑制し STAT3 発現を増強させることで HCC の悪性度を高めている可能性が示された。よって OLFM4/GRIM-19 は HCC の有効な治療標的となる可能性が示唆されたが、現在のところ OLFM4 を阻害する薬剤は無く、OLFIM4 のさらに上流の因子として WNT シグナルに着目した。WNT シグナルはほとんどの癌腫において関連が示されており、特に Cancer stemness の獲得に必須とされている。まず同様の臨床検体を用いて、WNT シグナルのレセプターとして知られる LGR5 の免疫染色を行い OLFM4 発現との関連を評価すると、OLFIM4 と LGR5 発現は正相関を示した。また Stemness の指標として CD133 の免疫染色を行い比較すると、OLFIM4 発現と CD133 は正の相関を示した。肝細胞癌細胞株を用いた実験においては LGR5 Knockdown 及び WNT 阻害剤投与にて OLFIM4 発現と CD133 の発現は有意に低下した。

【結論】

OLFIM4 は WNT シグナルにより調節され GRIM-19 発現を抑制することにより STAT3 活性亢進を介して HCC の腫瘍悪性度を高めており、OLFIM4/GRIM19 シグナルをターゲットとした STAT3 活性調節は HCC に対する有用な新規治療となる可能性が示された。