

論 文 内 容 要 旨

題目 **The *BAFF/NFκB* axis is crucial to interactions between sorafenib-resistant HCC cells and cancer-associated fibroblasts**

(*BAFF/NFκB*経路はソラフェニブ耐性肝癌と癌関連線維芽細胞の相互作用に重要である)

著者 Gao Luping, Morine Yuji, Yamada Shinichiro, Saito Yu, Ikemoto Tetsuya, Tokuda Kazunori, Miyazaki Katsuki, Okikawa Shohei, Takasu Chie, Shimada Mitsuo.

令和3年6月22日発行 Cancer Science

doi: 10.1111/cas.15041. にオンライン発表済

内容要旨

進行肝細胞癌に対する薬物治療は、経口マルチキナーゼ阻害薬である分子標的薬ソラフェニブの登場により大きく変化したが、治療成績の向上のためには薬剤耐性獲得機序の解明・克服が課題となる。我々は、ソラフェニブ耐性肝細胞癌株を樹立し、薬剤耐性獲得機序に細胞保護作用を有する転写因子 Nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2) を介した癌幹細胞の誘導や薬剤排泄を制御する ABC トランスポーターの発現増強が関与することを報告している。一方、癌細胞の悪性度増強には cancer associated fibroblast (CAF) をはじめとする腫瘍微小環境が重要で、我々は肝癌細胞株と CAF の相互作用が肝癌細胞の悪性度増強を誘導することを報告している。しかし、ソラフェニブ耐性肝細胞が CAF を中心とした腫瘍微小環境に与える影響については不明である。可溶性サイトカイン B cell activating factor (BAFF) は TNF ファミリーに属し、通常 BAFF/BAFF-R (BAFF receptor) 経路は、Nrf2 を介した治療抵抗性を誘導することが報告されている。

そこで、ソラフェニブ耐性肝細胞が CAF に与える影響を解明する目的で、BAFF/BAFF-R/NF-κB 経路に着目して研究を行った。肝癌細胞株 Huh7 を用いてソラフェニブ耐性肝細胞株を樹立し、耐性株と通常株により誘導した2種類の CAF の特性とともに、それぞれの CAF の培養液で通常肝癌細胞株 Huh7 を培養することにより、悪性度や薬剤耐性能に対する影響について比較評価した。得られた結果は以下の通りである。

様式(8)

- 1) 耐性株は通常株と比較して、BAFF 分泌能が有意に亢進し、*BAFF* mRNA 発現も有意に増強していた。また、臨床検体の免疫組織学的染色において、ソラフェニブ不応例では、癌細胞における BAFF 発現が増強していた。
- 2) 耐性株で作成した CAF は、CAF マーカー (α *SMA/FAP* mRNA) 発現が増強し、その CAF により得られた培養液で通常株 Huh7 を培養することで、浸潤・転移能亢進とともにソラフェニブ耐性能が増強した。
- 3) 耐性株で作成した CAF は、*BAFF/BAFF-R* mRNA 発現とともに、*IL-6/IL-8* mRNA 発現も亢進しており、核内 NF-kBp65 発現 (蛍光免疫染色) も増強していた。さらに *Nrf2* 関連遺伝子 (*Nrf2/HO-1/NQO1* mRNA) 発現も亢進していた。また臨床検体の免疫組織学的染色において、不応例では、CAF と思われる紡錘形細胞に BAFF-R と NF-kBp65 の発現を認めた。
- 4) *BAFF* siRNA を用いて耐性株の BAFF 発現を阻害することにより作成した CAF の *BAFF/BAFF-R* mRNA 発現は減弱し、核内 NF-kBp65 発現 (蛍光免疫染色) も減弱した。またその CAF は、*Nrf2* 関連遺伝子とともに *IL-6/IL-8* mRNA 発現も増強しておらず、Huh7 の薬剤耐性能とともに浸潤・転移能も増強しなかった。

これらの結果より、ソラフェニブ耐性肝癌細胞株は BAFF/NF-kB シグナルを介して CAF 活性化を誘導し、さらにこの CAF が癌細胞の悪性度増強や薬剤耐性能を促進すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1511 号	氏名	高 露萍
審査委員	主査 滝沢 宏光 副査 高山 哲治 副査 常山 幸一		

題目 The *BAFF/NFκB* axis is crucial to interactions between sorafenib-resistant HCC cells and cancer-associated fibroblasts
 (*BAFF/NFκB* 経路はソラフェニブ耐性肝癌と癌関連線維芽細胞の相互作用に重要である)

著者 Gao L, Morine Y, Yamada S, Saito Y, Ikemoto T, Tokuda K, Miyazaki K, Okikawa S, Takasu C, Shimada M.
 令和3年6月22日 *Cancer Science* にオンライン発表済
 (doi: 10.1111/cas.15041.)
 (主任教授 島田 光生)

要旨 進行肝細胞癌に対する薬物療法の治療成績向上のためには薬剤耐性獲得機序の解明・克服が課題となる。我々は肝癌細胞株と癌関連線維芽細胞の相互作用が肝癌細胞の悪性度増強を誘導することを報告している。しかし、薬剤耐性肝癌細胞が癌関連線維芽細胞に与える影響については不明である。可溶性サイトカイン B cell activating factor (*BAFF*)は TNF ファミリーに属し、*BAFF/BAFF-receptor (R)*経路は、nuclear factor erythroid 2-related factor (*NRF2*)を介した治療抵抗性を誘導することが報告されている。

申請者らは、ソラフェニブ耐性肝癌細胞が癌関連線維芽細胞に与える影響を解明する目的で、肝癌細胞株 Huh7 を用いてソラフェニブ耐性細胞株を樹立し、耐性株と通常株により誘導した2種類の癌関連線維芽細胞の特性を比較検討した。

得られた結果は以下の通りである。

- 1) 耐性株は親株と比較して、BAFF 分泌能が亢進し、*BAFF* mRNA 発現も増強していた。また、臨床検体の免疫組織染色において、ソラフェニブ不応症例では、癌細胞における BAFF 発現が増強していた。
- 2) 耐性株と共培養して得られた癌関連線維芽細胞は、癌関連線維芽細胞マーカー発現が増強し、その癌関連線維芽細胞により得られた培養液で親株 Huh7 を培養することで、浸潤・遊走能の亢進とともに、ソラフェニブ耐性能が増強した。
- 3) 耐性株と共培養して得られた癌関連線維芽細胞は、*BAFF-R* と *BAFF* mRNA 発現とともに、*IL6* と *IL8* mRNA 発現も亢進しており、核内 NFκB p65 発現も増強していた。さらに Nrf2 関連遺伝子 (*NRF2*, *HO-1*, *NQO1* mRNA) 発現も亢進していた。臨床検体の免疫組織染色において、ソラフェニブ不応症例では、癌関連線維芽細胞と思われる紡錘形細胞に *BAFF-R* と NF-κB p65 の発現を認めた。
- 4) *BAFF* siRNA で BAFF 発現を阻害した耐性株と共培養して得られた癌関連線維芽細胞では、*BAFF-R* と *BAFF* mRNA 発現は減弱し、核内 NFκB p65 発現も減弱した。また、Nrf2 関連遺伝子および *IL6*、*IL8* mRNA 発現の増強は認められず、Huh7 の薬剤耐性能ならびに浸潤・遊走能の増強も認められなかった。

以上より、ソラフェニブ耐性肝癌細胞株は *BAFF/NFκB* シグナルを介して癌関連線維芽細胞活性化を誘導し、さらにこの癌関連線維芽細胞が癌細胞の悪性度増強や薬剤耐性能を促進すると考えられた。

本研究は肝癌の薬剤耐性機序解明に重要な知見を与えており、その科学的・臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。