

## 2022 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>女性ホルモンが肝臓における 抗腫瘍免疫に与える影響の解析</b>
キーワード	① 肝臓癌、② 抗腫瘍免疫、③ MICA

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	オトヤマ ユミ 音山 裕美
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	昭和大学医学部内科学講座消化器内科学部門、助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	昭和大学医学部内科学講座消化器内科学部門、助教
プロフィール	2018年昭和大学初期研修を終了後、昭和大学医学部内科学講座消化器内科学部門に入局。肝臓班に所属し肝細胞癌と抗腫瘍免疫について研究を行い、2021年には JSH International Liver Conference で賞を受賞。その後も肝臓学会などで研究成果について報告を行っている。

### 1. 研究の概要

Natural killer 細胞 (NK 細胞) は腫瘍免疫の中心を担い、肝臓組織の約 18% を占める。そのため正常な肝臓では癌細胞が発生しても、NK 細胞により癌細胞が除去されやすい環境にある。申請者の共同研究者らはゲノムワイド関連解析により C 型肝炎の肝発癌に寄与する感受性遺伝子として MHC class I polypeptide-related sequence A (MICA) を同定した (*Nat Genet* 2011)。MICA は NK 細胞の認識する NK グループ 2D リガンドの一つで、ウイルス感染や癌化等の **ストレスにより転写発現が誘導され細胞膜上に発現 (膜型 MICA) する**。NK 細胞が膜型 MICA を認識することで癌細胞の選択的排除が行われる。切り離された膜型 MICA は **可溶性 MICA と呼ばれ NK 細胞を攪乱しその癌細胞への認識機構を阻害することが知られている**。肝発癌には **膜型 MICA と可溶性 MICA のバランスが関係し、その制御が NK 細胞による抗腫瘍作用を向上させ肝発癌抑止に繋がる**と考えた。

膜型 MICA の切断を抑止し **高発現させた MICA を細胞膜上に留め置かせる手法も**、肝発癌制御機構の制御にとって重要である。申請者らは膜型 MICA の切断機構に着目し、ヒト肝癌細胞株において ADAM ファミリーと呼ばれる蛋白分解酵素群のうち **ADAM9、ADAM10、ADAM17 が膜型 MICA 切断に強く関与していることを示した** (*Int J Cancer* 2018)。特に ADAM9 は膜型 MICA と可溶性 MICA の発現と相関を示し、ADAM9 を siRNA で発現を抑制することで膜型 MICA が増加し可溶性 MICA が減少することが肝癌培養細胞で示された (*JGH* 2018)。一方 ADAM9 酵素活性阻害により MICA 切断抑止効果を得ることも可能と考え ADAM9 酵素活性阻害薬 ilmostat を用いたところ膜型 MICA の切断抑止効果を示した。そこで ADAM9 酵素活性阻害薬探索を FDA 承認薬ライブラリで行ったところ興味深いことに女性ホルモンであるエストロゲンが有意に ADAM9 酵素活性阻害効果を有することが明らかになった。

## 2. 研究の動機、目的

次世代シーケンサーを用いたゲノムワイド解析により肝癌感受性遺伝子として同定された抗腫瘍免疫リガンドである(MICA)の腫瘍細胞膜上の増加が、NK細胞による細胞傷害活性の増強に寄与する癌免疫療法として期待できる。ADAM9は膜型MICA切断に関与するため、ADAM9酵素活性阻害剤による肝発癌抑止法の開発を目指す。そのためにすでにスクリーニングで見出されたエストロゲンに注目し、下記の通り多数のエストロゲン類縁体のADAM9酵素活性阻害効果およびMICA切断抑止効果をヒト肝癌細胞株で検証する。本研究において、エストロゲンおよびその類縁体がMICA切断抑止効果を介してNK細胞による抗腫瘍効果を有するのかについて*in vitro*と*in vivo*の実験を用いて明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の結果

複数のエストロゲン類縁体からADAM9の酵素活性を強く抑制するエストロゲン類縁体の抽出を実施し、rhADAM9、基質、各種エストロゲン類縁体を混合し37°C環境下で反応させ、ADAM9酵素活性を基質の切断効果として吸光度で測定した。Positive controlとしてADAM9酵素活性阻害薬のilmostatを用いた。さらに候補薬が濃度依存的にADAM9酵素活性を阻害するかの検証も行った。抽出されたエストロゲン類縁体がヒト肝癌細胞株(HepG2、PLC/PRF/5等)を使用して、実際に肝癌細胞株におけるMICAの切断阻害に関与するかを検討するため、可溶性MICAをELISAで評価した。さらに同時にsiRNAでADAM9のノックダウン処理をした上で同様の評価を行い、MICAに及ぼされる効果が解消されるかを確認した。

## 4. 研究者としてのこれからの展望

肝癌は、主に肝臓の慢性炎症の果てである肝硬変から発生し日本の癌死亡数の第5位であり、年間3万人もが命を落としています。肝炎ウイルス除去後においても肝発癌を認める症例も多く、肝癌に対する治療法の向上は引き続き重要な課題と考えます。現在、残念ながら肝発癌そのものを抑止する方法はなく、今後の肝臓病治療の目標として肝癌ハイリスク患者や肝癌局所治療後の患者に対しての発癌抑止法を検討すべきであり、MICAとNK細胞による抗腫瘍作用を向上させることで肝発癌抑止に繋がるため、いつか臨床応用ができるように研究を続けていきたいと考えます。

## 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は女性ホルモンが肝癌における抗腫瘍免疫に与える影響の解析の研究に対してご支援いただき誠にありがとうございました。今後も肝臓癌と抗腫瘍免疫の研究を続け、臨床応用に繋がるように頑張りたいと思います。