

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10166

研究課題名(和文) 免疫関連遺伝子多型解析に基づいた肝細胞癌循環腫瘍細胞制御法の開発

研究課題名(英文) Development of control method for hepatocellular carcinoma circulating tumor cells based on immunity-related gene polymorphism analysis

研究代表者

小林 剛 (Kobayashi, Tsuyoshi)

広島大学・医歯薬保健学研究科(医)・特任講師

研究者番号：50528007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌に特異的な循環腫瘍細胞(CTC)の検出法を確立し、肝細胞癌の転移再発を正確に予見するシステムを構築すること、免疫系遺伝子多型解析に基づいて、循環腫瘍細胞の制御法を開発することを目的とした。

磁気細胞分離システムによりGlypican3(GPC3)陽性のCTC検出法を確立した。88例のHCC切除例のうち、53例(60.2%)がCTC陽性で、CTC陽性($p<0.001$)は独立した門脈侵襲危険因子であった。CTC陽性は無再発生存の独立した危険因子($p=0.029$)であった。GPC3-CTCは門脈侵襲および術後転移再発を反映し、術後補助療法の標的として合理的である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a detection method of circulating tumor cells (CTC) specific to hepatocellular carcinoma and construct a system to accurately predict metastasis of hepatocellular carcinoma, and to establish a control method of CTC based on immune-related gene polymorphism analysis.

We established Glypican-3 (GPC3) positive CTC detection method using the magnetic cell separation system. Among 88 HCC resected cases, 53 cases (60.2%) were CTC positive and CTC positive ($p<0.001$) was an independent risk factor for portal vein invasion. CTC positive was also an independent risk factor for relapse-free survival ($p=0.029$). GPC3-CTC reflects portal vein invasion and postoperative recurrence and is a reasonable candidate as a target for postoperative adjuvant therapy.

研究分野：肝胆膵外科学

キーワード：肝細胞癌 循環腫瘍細胞 門脈浸潤 転移

1. 研究開始当初の背景

肝細胞がん根治切除後の転移再発を予防する方法は未確立であり、転移再発の機序解明と、それに基づいた補助療法の開発が急務である。

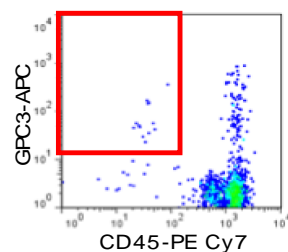
2. 研究の目的

肝細胞がん特異的な循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cell; CTC) の検出法を確立し、肝細胞がんの転移再発を正確に予見するシステムを構築すること、免疫系遺伝子多型解析に基づいて、循環腫瘍細胞の制御法を開発することが、本研究の目的である。

3. 研究の方法

肝細胞癌で特異的に高発現している Glypican3 (GPC3) に着目し、磁気細胞分離システムをもちいた CTC 検出法を構築した。全血から密度勾配遠心沈殿法後に抗 GPC3 モノクローナル抗体および磁気ビーズを用いて positive selection により GPC3 陽性細胞を回収し、フローサイトメトリーで検出した (図1)。2015年から2016年にHCCに対して初回肝切除を行った88例を対象として、末梢血CTCと臨床病理学的検討を行った。系統切除を行った62例では門脈、肝静脈からもCTC検出を試みた。

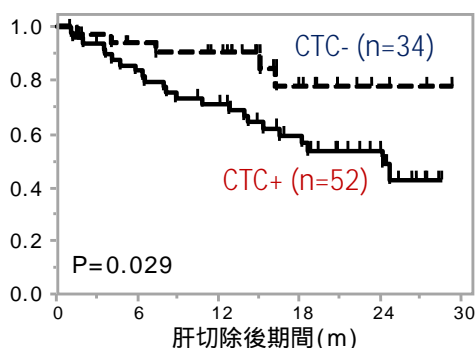
図1. GPC3陽性細胞の検出



4. 研究成果

HCC88例中53例(60.2%)でCTC陽性であり、陽性群(n=53)は陰性群(n=35)に比べ有意に腫瘍径が大きく(p=0.002)、被膜浸潤症例が多く(p<0.001)、門脈侵襲陽性例が多かった(p<0.001)。CTC陽性(p<0.001)、AFP60ng/ml以上(p=0.012)が独立した門脈侵襲予測因子であった。門脈血中には末梢血や肝静脈血に比べ有意に多くのCTCが検出された。CTC陽性例の術後再発は有意に高率で、CTC陽性は無再発生存の独立した危険因子であった(p=0.029, 図2)。これらの結果から、GPC3-CTCは門脈侵襲および術後転移再発を反映しており、術後補助療法の合理的な標的と考えられた。

図2. 肝切除後無再発生存曲線



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 26 件)

- (1) Okimoto S, Kobayashi T, Tashiro H et al. Significance of the Glasgow Prognostic Score for patients with colorectal liver metastasis. Int J Surg 2017; 42: 209-214. 査読有
- (2) Okimoto S, Kobayashi T, Kuroda S et al. Prediction of recurrence following hepatectomy in patients with hepatitis C virus infection-related hepatocellular carcinoma who achieved a sustained virological response. Hepatol Res 2017; 47: 1186-1195. 査読有
- (3) Kuroda S, Kobayashi T, Ohdan H. 3D printing model of the intrahepatic vessels for navigation during anatomical resection of hepatocellular carcinoma. Int J Surg Case Rep 2017; 41: 219-222. 査読有
- (4) Kobayashi T, Aikata H, Kobayashi T et al. Patients with early recurrence of hepatocellular carcinoma have poor prognosis. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2017; 16: 279-288. 査読有
- (5) Hashimoto M, Tashiro H, Kobayashi T et al. Clinical characteristics and prognosis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma: The impact of patient sex on disease-free survival - A retrospective cohort study. Int J Surg 2017; 39: 206-213. 査読有
- (6) Hashimoto M, Tashiro H, Kobayashi T et al. Influence of higher BMI for hepatitis B- and C-related hepatocellular carcinomas. Langenbecks Arch Surg 2017; 402: 745-755. 査読有
- (7) Hashimoto M, Kobayashi T, Tashiro H et al. Viability of Airborne Tumor Cells during Excision by Ultrasonic Device. Surg Res Pract 2017; 2017: 4907576. 査読有
- (8) Hashimoto M, Kobayashi T, Ishiyama K et al. Predictive Independent Factors for Extrahepatic Metastasis of Hepatocellular Carcinoma Following Curative Hepatectomy. Anticancer Res 2017; 37: 2625-2631. 査読有
- (9) Hamaoka M, Kobayashi T, Kuroda S et al. Hepatectomy after down-staging of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus using chemoradiotherapy: A retrospective

- cohort study. *Int J Surg* 2017; 44: 223-228. 査読有
- (10) Hamaoka M, Kobayashi T, Ishiyama K et al. Evaluation of the risk factors and prognostic factors of hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients aged 80 years or more. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2017; 24: 58-64. 査読有
- (11) Abe T, Tashiro H, Kobayashi T et al. Glasgow Prognostic Score and Prognosis After Hepatectomy for Hepatocellular Carcinoma. *World J Surg* 2017; 41: 1860-1870. 査読有
- (12) Abe T, Kobayashi T, Shimizu S et al. Application of endobronchial ultrasonography in laparoscopic liver segmentectomy in an animal model. *Asian J Endosc Surg* 2017; 10: 209-212. 査読有
- (13) 小林 剛, 大段 秀樹【肝移植手術に学ぶ】胆道再建 胆管胆管吻合, 手術 71 巻 10 号, 2017 1421-1428, 査読無
- (14) 小林 剛, 大段 秀樹【内科医が知っておくべき肝臓治療最前線】外科治療のタイミング 外科医の立場から, 消化器・肝臓内科 2 巻 1 号, 2017 104-112, 査読無
- (15) 小林 剛, 大段 秀樹【肝細胞癌治療の最前線】肝細胞癌の外科的治療, *Medical Science Digest* 43 巻 7 号, 2017 348-351, 査読無
- (16) Sada H, Ohira M, Kobayashi T et al. An Analysis of Surgical Treatment for the Spontaneous Rupture of Hepatocellular Carcinoma. *Dig Surg* 2016; 33: 43-50. 査読有
- (17) Nambu J, Kobayashi T, Hashimoto M et al. h-prune affects anaplastic thyroid cancer invasion and metastasis. *Oncol Rep* 2016; 35: 3445-3452. 査読有
- (18) Kuramitsu K, Fukumoto T, Kobayashi T et al. The Incidence of Posthepatectomy Liver Failure Defined by the International Study Group of Liver Surgery among Living Donors. *J Gastrointest Surg* 2016; 20: 757-764. 査読有
- (19) Imada S, Kobayashi T, Kitao A et al. Central bisectionectomy for hepatocellular carcinoma in a patient with indocyanine green excretory defect associated with reduced expression of the liver transporter. *Surg Case Rep* 2016; 2: 89. 査読有
- (20) Honmyo N, Kobayashi T, Tashiro H et al. Inflammatory pseudotumor of the liver occurring during the course of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma treatment: A case report. *Int J Surg Case Rep* 2016; 20: 96-100. 査読有
- (21) Hashimoto M, Kobayashi T, Tashiro H et al. h-Prune is associated with poor prognosis and epithelial-mesenchymal transition in patients with colorectal liver metastases. *Int J Cancer* 2016; 139: 812-823. 査読有
- (22) Hashimoto M, Kobayashi T, Ishiyama K et al. Efficacy of repeat hepatectomy for recurrence following curative hepatectomy for colorectal liver metastases: A Retrospective Cohort Study of 128 patients. *Int J Surg* 2016; 36: 96-103. 査読有
- (23) 小林 剛, 大段 秀樹【肝胆膵外科における脈管侵襲と血行再建】門脈腫瘍栓を伴う肝細胞癌に対する手術, 手術 70 巻 12 号, 2016 1521-1529, 査読無
- (24) Yano T, Kobayashi T, Kuroda S et al. Obstructive jaundice caused by a giant liver hemangioma with Kasabach-Merritt syndrome: a case report. *Surg Case Rep* 2015; 1: 93. 査読有
- (25) Mikuriya Y, Tashiro H, Kobayashi T et al. Clinicopathological features of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Langenbecks Arch Surg* 2015; 400: 471-476. 査読有
- (26) Kuroda S, Tashiro H, Kobayashi T et al. Administration of antithrombin III attenuates posthepatectomy liver failure in hepatocellular carcinoma. *Dig Surg* 2015; 32: 173-180. 査読有
- 〔学会発表〕(計 13 件)
- (1) 小林 剛, 門脈色素注入法による腹腔鏡下亜区域切除, 第 11 回肝臓内視鏡外科研究会, 京都, 2017 年 12 月 6 日
- (2) 小林 剛, 門脈腫瘍栓合併肝臓癌に対する肝動注化学放射線療法と conversion surgery, 第 79 回日本臨床外科学会総会, 東京, 2017 年 11 月 23-25 日
- (3) 小林 剛, 肝がん再発予防法の確立に向けた取り組み, 第 79 回日本臨床外科学会総会, 東京, 2017 年 11 月 23-25 日
- (4) 小林 剛, ロボット支援肝切除の初期経験, 第 22 回中国四国内視鏡外科研究会, 高知, 2017 年 9 月 9 日
- (5) 小林 剛, 原発性肝臓癌に対する肝切除アプローチ別の肝予備能評価, 第 72 回日本消化器外科学会総会, 金沢, 2017 年 7 月 20-22 日
- (6) 小林 剛, 肝機能からみた Intermediate stage 肝細胞癌に対する肝切除の適応, 第 53 回日本肝臓癌研究会, 東京, 2017 年 7 月 6-7 日
- (7) Kobayashi T, Anatomical hepatectomy

with the midline incision for right-sided liver tumors, 第6回アジア太平洋肝胆膵外科学会・第29回日本肝胆膵外科学会学術集会, 横浜, 2017年6月7-10日

- (8) 小林 剛, 生体肝移植成績にドナー因子が与える影響, 第35回日本肝移植研究会, 大阪, 2017年6月1-2日
- (9) 小林 剛, 肝細胞癌における循環腫瘍細胞の検出とNK細胞ライセンシング, 第117回日本外科学会定期学術集会, 横浜, 2017年4月27-29日
- (10) 小林 剛, 肝切離におけるWaterjetメスの導入, 第10回肝臓内視鏡外科研究会, 東京, 2016年11月23日
- (11) 小林 剛, 肝細胞癌の進行度に応じた肝切除の適応と限界, 第24回日本消化器関連学会週間, 神戸, 2016年11月3-6日
- (12) 小林 剛, 多発肝細胞癌に対する肝切除の意義, 第52回日本肝癌研究会, 東京, 2016年7月2日
- (13) 小林 剛, 門脈本幹腫瘍栓を伴う肝細胞癌に対する化学放射線療法後の肝中央二区域切除, 第27回日本肝胆膵外科学会・学術集会, 東京, 2015年6月11-13日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/home2ge/research/liver/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 剛 (KOBAYASHI TSUYOSHI)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究科・特任講師

研究者番号: 50528007

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()