

平成30年6月18日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19096

研究課題名(和文)混合型肝癌における遺伝子変異の検討

研究課題名(英文) Mutational status in combined hepatocellular-cholangiocarcinoma

研究代表者

草野 弘宣 (Kusano, Hironori)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：30569380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：現在のWHO分類にて混合型肝癌は、古典型と幹細胞亜型に大別され、後者はさらに典  
型型・中間型・細胆管細胞型(CHC-SC-CLC)に細分類される。今回行った我々の検討では、CHC-SC-CLCは他の混  
合型肝癌とくらべ、慢性ウイルス性肝炎の頻度が低く、血清AFP値・PIVKAII値が低く、IDH1/2変異が多く認めら  
れた。またCHC-SC-CLCは肝内胆管癌とくらべ、脈管侵襲やリンパ節転移の頻度が低く、血清CA19-9値が低く、免  
疫組織化学ではS100Pタンパクの陽性率が低かった。これらの結果からCHC-SC-CLCは原発性肝上皮性悪性腫瘍の  
中でも独立した疾患の可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Combined hepatocellular cholangiocarcinomas (CHCs) are divided into  
classical type (CHC-classical) and subtypes with stem-cell features. The latter is further  
classified into typical subtype (CHC-SC-typical), intermediate-cell subtype (CHC-SC-int), and  
cholangiolocellular subtype (CHC-SC-CLC) in the recent WHO classification. In this study, we  
analyzed a series of CHCs to clarify the clinicopathologic features and KRAS and IDH1/2 mutational  
status of each subtype. Compared with other CHCs, CHCs-SC-CLC were less frequently associated with  
chronic viral hepatitis, showed lower levels of serum AFP and DCP, and had higher frequency of  
IDH1/2 mutations. Compared with intrahepatic cholangiocarcinomas, CHCs-SC-CLC showed lower incidence  
of vascular invasion and nodal metastasis, lower level of serum CA19-9 and lower frequency of  
expression of S100P. Our results suggest that CHC-SC-CLC may be a distinct entity among primary  
liver carcinomas.

研究分野：人体病理学

キーワード：混合型肝癌 遺伝子異常

1. 研究開始当初の背景

混合型肝癌(CHC)は原発性肝腫瘍の1%未満とされる稀な悪性腫瘍である。2010年のWHO分類では混合型肝癌の亜分類が試みられ、肝細胞癌の成分と肝内胆管癌の成分がともに認められる classical type 以外にも subtypes with stem-cell features (SC)が定義された。原発性肝癌取り扱い規約第6版においては、混合型肝癌は単一腫瘍内に肝細胞癌と胆管癌の両方の成分が含まれるものとされており、WHO分類における classical type に相当するものである。一方、規約にて独立した疾患とされている細胆管細胞癌は、WHO分類では subtypes with stem-cell features の中の cholangiolocellular subtype(CLC) に相当するものである。WHO分類の subtypes with stem-cell features の中のその他の亜型である intermediate cell subtype (int)や typical subtype に相当するものは規約には存在しない。この新たなWHO分類は、正常肝における肝前駆細胞から胆管上皮や肝細胞への分化という知見を反映したものであるが、腫瘍の形態的多彩性ゆえに診断が困難であることが少なくない。

2. 研究の目的

本研究は組織学的に多彩な混合型肝癌における KRAS, IDH1/2 の遺伝子変異の検討を行うことで、通常肝細胞癌や肝内胆管癌との異同を明らかにし、現在における肝上皮性悪性腫瘍の分類の正当性の検証を行うとともに、適切な治療に不可欠である病理診断の精度向上を図っていくものである。

3. 研究の方法

当院で切除された混合型肝癌を対象とした。組織診断は現行のWHO分類に従って行った。診断のために作製されたパラフィン包埋ブロックからDNAを抽出し、KRAS, IDH1/2 変異の hot spot をターゲットとしたPCRを施行、PCR産物のダイレクトシーケンシングによって変異の有無の検索を行った。また背景となる慢性肝疾患の有無、腫瘍マーカーの値、腫瘍径などの各種病理学的因子も併せて検討した。また対照群として細胆管癌との異同が問題となる肝内胆管癌 (iCCA)を用いた。

4. 研究成果

混合型肝癌70例のうちCHC-SC-CLC(細胆管癌)が22例であった。混合型肝癌の中でも特に胆管癌との異同が問題となるこの群をその他の群(other CHCs)、およびiCCAと比較することとした。結果の概要を次の図(Table 1)に示す。

Table 1. CHC-SC-CLCs (細胆管細胞癌)、その他の混合型肝癌 (other CHCs)、および肝内胆管癌 (iCCA)の比較

	CHC-SC -CLCs (n=22)	other CHCs (n=48)	iCCA (n=20)
年齢 (median)	68	67	63
性別 (男 性/女性)	15/7	42/6	15/5
慢性ウイ ルス性肝 炎	23% (5/22)	67% (32/48)	45% (9/20)
腫瘍最大 径 (cm) (mean ± S.D.)	4.0 ± 2.0	4.2 ± 2.3	4.7 ± 1.4
脈管侵襲	50% (11/22)	58% (28/48)	85% (17/20)
肝内転移	18% (4/22)	29% (14/48)	20% (4/20)
リンパ節 転移	0% (0/22)	8% (4/48)	20% (5/20)
CEA (median) (ng/mL)	3.8 (ng/mL)	3.1 (ng/mL)	5.2 (ng/mL)
CA19-9 (median) (U/mL)	31.5 (U/mL)	35.4 (U/mL)	646.3 (U/mL)
AFP (median) (ng/mL)	3.7 (ng/mL)	15.8 (ng/mL)	3.9 (ng/mL)
PIVKA-II (median) (mAU/mL)	20 (mAU/mL)	32 (mAU/mL)	20 (mAU/mL)
S100P 発現 (+ / -)	5/17	7/41	15/5
KRAS 変異 (+ / -)	0/17	1/23	2/16
IDH1/2 変 異 (+ / -)	4/13	0/24	0/18

## 結果のまとめ

・CHC-SC-CLCs (細胆管細胞癌)は other CHCs (その他の混合型肝癌) (主としてCHC-SC-int (中間型肝癌))とくらべ、ウイルス性肝炎が背景にあることが少なく、AFP・PIVKA-II 値が低く、IDH1/2 変異が多い傾向があった。

・CHC-SC-CLCs (細胆管細胞癌)は iCCA (肝内胆管癌)とくらべ、脈管侵襲やリンパ節転移の頻度が低く、CA19-9 値が低く、免疫染色における S100P の発現率が低い傾向があった。また IDH1/2 変異が多い傾向があった。

以上の結果からは、細胆管細胞癌は、その他の混合型肝癌とも肝内胆管癌とも異なる特徴を有していることがわかった。細胆管細胞癌を肝上皮性悪性腫瘍の中でどのように分類すべきかは引き続き検討が必要である。

## 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 10 件)

Takao Togawa, Hironori Kusano (11 員数中 4 番目). Clinical, Pathologic, and Genetic Features of Neonatal Dubin-Johnson Syndrome: A Multicenter Study in Japan. *J Pediatr.* 2018;196:161-167. (査読有り)

doi: 10.1016/j.jpeds.2017.12.058

Masahiko Tanigawa, Hironori Kusano (21 員数中 7 番目). Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a useful marker for pancreatic neuroendocrine tumor. *Med Mol Morphol.* 2018;51:32-40. (査読有り)

doi: 10.1007/s00795-017-0167-6.

Yumi Umeno, Hironori Kusano (10 員数中 5 番目). Regulator of G-protein signaling 5 enhances portal vein invasion in hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett.* 2018;15:1763-1770. (査読有り)

doi: 10.3892/ol.2017.7474.

Sachiko Ogasawara, Hironori Kusano (5 員数中 4 番目). Effect of sorafenib on des- $\gamma$ -carboxyprothrombin secretion by a human hepatocellular carcinoma cell line. *Oncol Lett.* 2017;14:2170-2176. (査読有り)

doi: 10.3892/ol.2017.6451.

Hironori Kusano (4 員数中 1 番目). 小児の肝疾患の病理 成人へのトランジション . 病理と臨床. 2017;35:257-266. (査読無し)

Makiko Yasumoto, Hironori Kusano (17 員数中 7 番目). Muscle RAS oncogene homolog (MRAS) recurrent mutation in Borrmann type IV gastric cancer. *Cancer Med.* 2017;6:235-244. (査読有り)

doi: 10.1002/cam4.959.

Sachiko Ogasawara, Hironori Kusano (5

員数中 4 番目). Antiproliferative effect of ME3738, a derivative of soyasapogenol, on hepatocellular carcinoma cell lines in vitro and in vivo. *Biomed Rep.* 2016;5:731-736. (査読有り)

doi: 10.3892/br.2016.792.

Yoriko Nomura, Hironori Kusano (10 員数中 7 番目). Clinicopathological features of neoplasms with neuroendocrine differentiation occurring in the liver. *J Clin Pathol.* 2017;70:563-570. (査読有り)

doi: 10.1136/jclinpath-2016-203941.

Hironori Kusano (13 員数中 1 番目). Two cases of renal cell carcinoma harboring a novel STRN-ALK fusion gene. *Am J Surg Pathol.* 2016;40:761-9. (査読有り)

doi: 10.1097/PAS.0000000000000610.

Jun Akiba, Hironori Kusano (15 員数中 5 番目). The expression of arginase-1, keratin (K) 8 and K18 in combined hepatocellular -cholangiocarcinoma, subtypes with stem -cell features, intermediate-cell type. *J Clin Pathol.* 2016;69:846-51. (査読有り)

doi: 10.1136/jclinpath-2015-203491.

[学会発表](計 3 件)

草野 弘宣 (7 員数中 1 番目). 細胆管細胞癌と肝内胆管癌の臨床病理学的特徴の比較. 第 54 回日本肝癌研究会 2018/06/28-29 (久留米)

Hironori Kusano (8 員数中 1 番目). Comparison of clinicopathologic features and mutational status between each subtype of combined hepatocellular cholangiocarcinomas. United States and Canadian Academy of Pathology (USCAP) 107th Annual Meeting 2018/03/17-23 (Vancouver, Canada)

草野 弘宣 (7 員数中 1 番目). 細胆管細胞癌と混合型肝癌の臨床病理学的特徴の比較. 第 53 回日本肝癌研究会 2017/07/06-07 (東京)

[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〕  
ホームページ等  
無し

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

草野 弘宣 (KUSANO, Hironori)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：30569380

##### (2) 研究分担者

無し

##### (3) 連携研究者

無し

##### (4) 研究協力者

矢野 博久 (YANO, Hirohisa)  
久留米大学・医学部・教授

秋葉 純 (AKIBA, Jun)  
久留米大学病院・病院病理部・教授

小笠原 幸子 (OGASAWARA, Sachiko)  
久留米大学・医学部・講師

内藤 嘉紀 (NAITO, Yoshiki)  
久留米大学病院・病院病理部・講師

近藤 礼一郎 (KONDO, Reiichiro)  
久留米大学・医学部・助教

中島 収 (NAKASHIMA, Osamu)  
久留米大学病院・臨床検査部・教授

鹿毛政義 (KAGE, Masayoshi)  
久留米大学・医学部・客員教授