

平成30年 5月30日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19895

研究課題名(和文) ラジオ波焼灼療法後に局所再発をきたす肝細胞癌の悪性度獲得のメカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Mechanism of high malignant potential with recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation

研究代表者

山田 真一郎 (YAMADA, Shinichiro)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・徳島大学専門研究員

研究者番号：30579884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌に対し、経皮的ラジオ波凝固療法(RFA)後に局所再発した症例は予後不良となるため、臨床検体を用いて再発症例の悪性度獲得メカニズムについて解明することとした。局所再発後に肝切除を行った症例(RFA群：n=10)、初回肝切除症例(non-RFA群：n=78)について検討。RFA群において、HIF-1・EpCAM・EMTマーカー(TGF- β 、Twist、Snail-1、Vimentin) mRNA発現がnon-RFA群に比して高値であった。以上より、HIF-1発現を介する癌幹細胞・EMTマーカーの発現促進が、RFA後局所再発の悪性度獲得メカニズムの一つであると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Regarding radiofrequency ablation (RFA) for hepatocellular carcinoma (HCC), local recurrence is related to poor prognosis. With resected specimen, we aimed to elucidate the mechanism of high malignant potential with recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. Eighty-eight patients of HCC were divided into 2 groups; RFA group (n=10), hepatic resection was performed after local recurrence, and non-RFA group (n=78), hepatic resection was performed without prior RFA. In RFA group, mRNA of HIF-1, EpCAM, EMT marker (TGF- β , Twist, Snail-1, Vimentin), were high compared with non-RFA group. This study indicated that local recurrence after RFA accelerate HIF-1 expression, and malignant potential is enhanced through expressions of cancer stem cell and EMT markers.

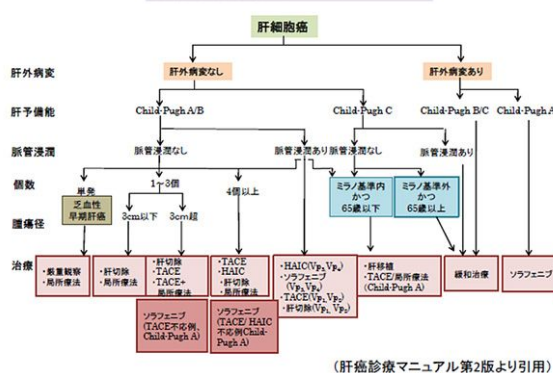
研究分野：医歯薬学

キーワード：肝細胞癌 ラジオ波焼灼療法(RFA) HIF-1 癌幹細胞 EMT

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌に対する治療には肝障害度や癌の大きさ、個数に応じて手術、局所療法、肝動脈塞栓、肝移植などがあるが(下図)、経皮的ラジオ波焼灼療法(radiofrequency ablation: RFA)は3cm以下かつ3個以下の症例が適応となる。RFAは低侵襲であり腫瘍制御能も高いことから標準的な治療として行われるようになり、適応拡大を試みる施設も増えているが、上記の適応を逸脱した症例は局所再発の危険性がある。近年RFA後に局所再発をきたした症例は急激な腫瘍増殖から予後不良となるという報告が散見されるようになった。我々もRFA局所再発に対して手術を行った症例は、手術のみの症例に比べ有意に肝外再発が多く予後不良であること、また局所再発部においてHIF-1とEpCAMが高発現であることを報告してきた。しかしながら、RFA後に局所再発をきたした肝癌細胞が悪性度を獲得する正確な機序は未だ不明である。

肝細胞癌治療のアルゴリズム2010



2. 研究の目的

臨床検体を用いて、RFA後の局所再発が悪性度を獲得する機序について解明する。

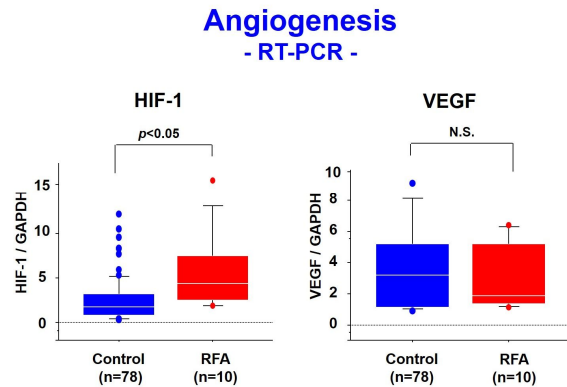
3. 研究の方法

当科において切除を行った肝細胞癌症例88例について、RFA後に局所再発をきたし切除を行った症例(RFA群 n=10)、RFAを施行せずに初回肝切除を行った症例(non-RFA群 n=78)に分類し検討を行う。RFA群に関しては、以前に他の内科的治療が施されていない症例を選択する。HIF-1下流に存在するVEGFやEpCAM以外の癌肝細胞マーカー、EMTマーカー、それらを制御するmiRNAの発現について、RT-PCRや免疫組織化学染色で確認す

る。

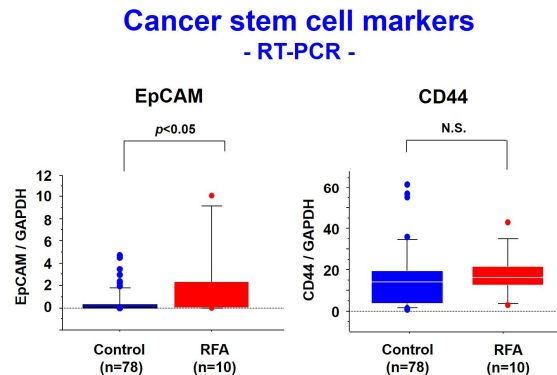
4. 研究成果

(1) HIF-1・VEGF mRNA 発現



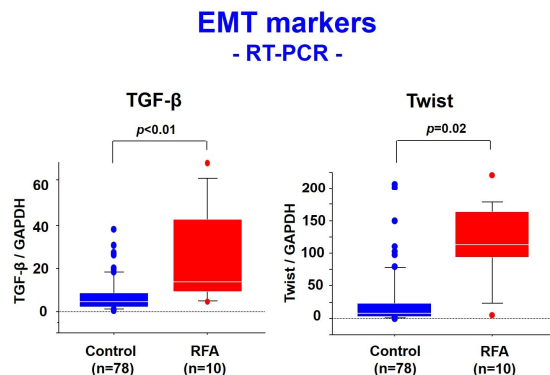
まず、低酸素状態で発現するHIF-1と、その下流に存在する血管新生因子VEGFの発現について検討した。HIF-1 mRNA発現はRFA群で有意に高値であったが、VEGF mRNAは両群間で有意差を認めなかった。

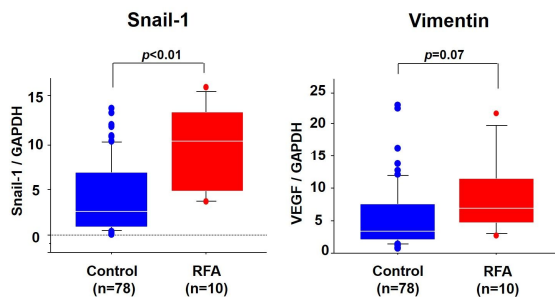
(2) 癌肝細胞マーカー mRNA 発現



続いて、肝癌における癌幹細胞マーカーであるEpCAM、CD44発現について検討した。EpCAM mRNAはRFA群で有意に高値であったが、CD44 mRNAに関しては、RFA群、control群で有意差を認めなかった。

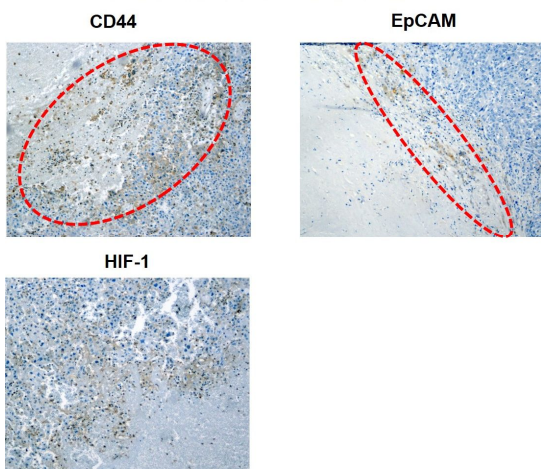
(3) EMT マーカー mRNA 発現





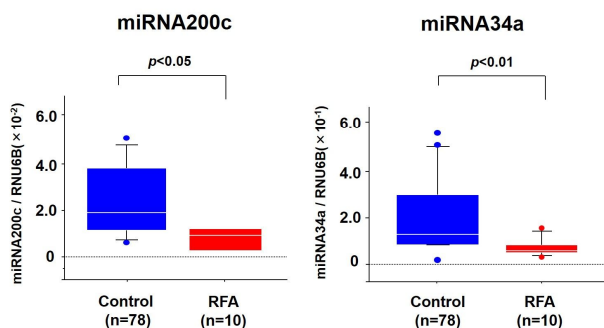
また、癌細胞の転移・浸潤に関わる EMT マーカーの発現について検討した。それぞれの mRNA 発現に関して、TGF- β 、Twist、Snail-1 の発現は、RFA 群で有意に高値であった。さらに、Vimentin の発現は、RFA 群で高い傾向を認めた。

(4) 免疫組織化学染色



CD44 mRNA 発現は両群間で差を認めなかったが、腫瘍部の免疫組織化学染色を施行したところ、壊死組織周囲に高発現していた。さらに EpCAM や HIF-1 についても同様の所見であった。

miRNA expression - RT-PCR -

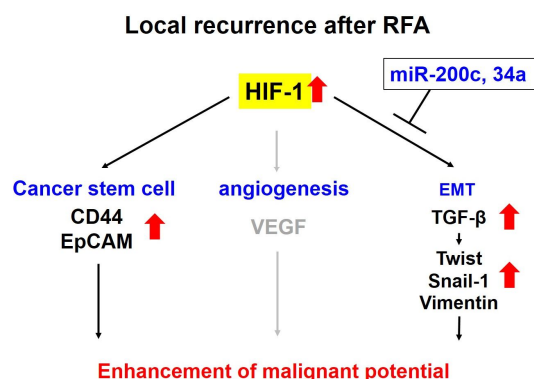


さらに、EMT を制御するとされる miRNA200c、

34a について mRNA 発現を比較検討した。いずれの miRNA も、RFA 群で有意に低下を認めた。

以上より、RFA 後の局所再発が悪性度を獲得する機序について、熱刺激により HIF-1 が高発現し、癌肝細胞マーカーや miR 制御下の EMT マーカーの高発現を促すことが考えられた。

Influence of RFA for HCC



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3件)

- Ikemoto T, Shimada M, Yamada S. Pathophysiology of recurrent hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. DOI:10.1111/hepr.12705 Hepatol Res. 2017 (1):23-30.(査読有)
- Yamada S, Shimada M, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Saito Y, Takasu C, Yoshikawa M, Teraoku H, Yoshimoto T, Takata A. Effective stepwise training and procedure standardization for young surgeons to perform laparoscopic left hepatectomy. DOI:10.1007/s00464-016-5273-3 Surg Endosc. 2017 31: 2623-2629(査読有)
- Iwahashi S, Shimada M, Utsunomiya T, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Takasu C, Saito Y, Yamada S. Epithelial-mesenchymal transition-related genes are linked to aggressive local recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. DOI:10.1016/j.canlet.2016.02.041

Cancer Lett. 2016;28;375(1):47-50. (査
読有)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山田 眞一郎 (YAMADA , Shinichiro)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・徳島
大学専門研究員
研究者番号 : 30579884