

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15081

研究課題名（和文）肝様腺癌のエクソーム解析と病理診断の基盤構築

研究課題名（英文）Clinicopathological and molecular analysis of hepatoid carcinoma

研究代表者

藤倉 航平（Fujikura, Kohei）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：50773751

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肝様腺癌（hepatoid adenocarcinoma）は、形態的にも免疫染色学的にも肝細胞のよ
うな形質を示す腺癌の特殊亜型として知られており、通常型の胃低分化腺癌と比べて生物学的悪性度が高いこと
が特徴である。21症例を対象として、臨床病理学的特徴をまとめた上で、十分な組織が残っている肝様腺癌15症
例に関して、エクソーム解析及びRNA-sequencingを解析している。肝細胞癌及び通常型胃癌と比較解析すること
で、病理診断の基盤構築を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝様腺癌は胃をはじめとして様々な諸臓器で報告されており、臨床現場では生物学的な悪性度が高いことが想起
されている。臨床医の注目は高く、病理学的なデータを蓄積することは意義がある。また、欧米・アジアのい
ずれにおいても、肝様腺癌の症例報告は報告されているが、依然として腫瘍の発生経路や遺伝子変異に言及した報
告はほとんどない。本研究成果がさらに進展すれば、病理診断の基盤構築や肝細胞形質に立脚した治療法が確立
される可能性も考えられる。

研究成果の概要（英文）：Hepatoid adenocarcinoma (HAC) is a rare aggressive tumor with hepatocellular
differentiation. HAC often produces alpha fetoprotein (AFP) and metastasizes to the liver and lymph
nodes. However, few studies focus on the clinicopathologic and molecular features due to its
rarity. In the present study, we summarized the clinicopathologic features of a total of 21 HAC
cases. Then we tried to analyze molecular features of 15 HAC cases using whole-exome sequencing and
RNA sequencing analysis.

研究分野：人体病理学

キーワード：肝様腺癌

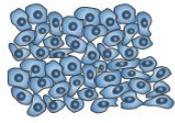
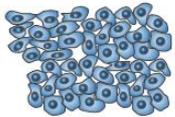
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝様腺癌 (hepatoid adenocarcinoma) は、Ishikura らによって提唱された腺癌の特殊型で、肝臓以外の組織に発生するが、形態的及び機能的には肝細胞癌と腺癌の特徴を併せ持つ比較的稀な悪性腫瘍である ()。胃、膵臓、肺、子宮など様々な諸臓器での発生が報告されているが、胃は肝様腺癌の最好発部位で、我が国では胃癌全体の約 2-5% の頻度で認められ、欧米諸国と比較して頻度が高い ()。α-fetoprotein(以下 AFP)の産生が高頻度で証明されることから、AFP 産生胃癌の代表的な組織型でもある。膵、肺、子宮発生は、さらに稀であるが、肝様腺癌として包括すると、病院内でカンサーボードに挙がり集学的治療の検討がなされる機会は少なくない。

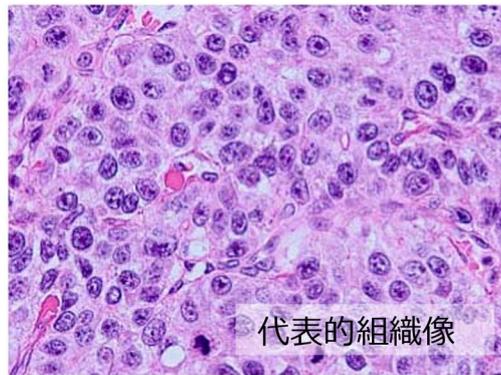
肝様腺癌の最大の特徴は、通常型の低分化腺癌と比して生物学的悪性度が高いことで、リンパ節転移 (80%以上) や肝転移 (30%前後) が高頻度で確認される ()。また肝転移巣においては、原発性肝細胞癌との鑑別が治療方針決定の鍵となるが、画像上も病理学的にも鑑別困難症例をしばしば経験する。近年、肝様腺癌では Glypican3, SALL4 などが種々の割合で陽性となると報告されていたが、これに加えて、研究代表者らが特異度の高い肝細胞癌側の診断マーカー BSEP と MDR3 を提唱したことで、より確実な病理診断が可能となった。

肝様腺癌の診断における最大の課題は、発癌や肝細胞様分化の根本原因である遺伝子変異、遺伝子発現異常の解析、および組織学的解析が依然として不十分で、病理診断の基盤が不明瞭な点にある。特に低分化症例や微小な生検検体では依然として鑑別が難しい。また、肝様形質をターゲットとした標準治療が存在せず、施設間で外科的切除以外のコンセンサスが得られていない。

	胃癌		肝細胞癌
	肝様腺癌	通常型低分化癌	
形態模式図			
発生頻度	2-5% in Japan	95%以上	
組織型	充実状	充実状～孤在性	充実状、偽腺腔状等
AFP	陽性	陰性	陽性
背景素因	不明	食生活、H. pylori等	HBV, HCV, アルコール等
遺伝子変異	未同定	TP53, CDH1, RHOA等	TERT, CTNNB1, TP53
5年生存率	<30%	>70%	<40%

2. 研究の目的

肝様腺癌の診断における問題点は、発癌や肝細胞様分化の根本原因である遺伝子異常が十分に解析されておらず、病理診断の基盤が依然として不明瞭な点にある。胃肝様腺癌の病理学的特徴を明らかにし、遺伝子変異を同定することを本研究課題の目的とした。将来的に、肝様腺癌の特徴を通常型低分化胃癌や肝細胞癌と比較解析することで病理診断の基盤構築につながるものと考えられる。



本研究の学術的意義は以下の3点を考える。

- 肝様腺癌の報告例は近年増加傾向にあるが、組織学的解析は依然として十分な解析が行われていない。通常型胃癌や肝細胞癌との共通点と相違点が明確になれば、臨床診断及び治療戦略にも新しいインパクトを与えられるものと思われる。
- 肝様腺癌の遺伝子解析は十分に行われておらず、初めての試みである。原発性肝細胞癌との共通点が見つかれば、腺癌の肝細胞分化に関わる鍵となる分子の同定につながり、肝癌の治療を肝様腺癌の治療への適応も視野に上がる可能性がある。
- 病理診断学の観点からは、肝様腺癌の組織診断が、形態にのみ基づいており、診断者間で基準が異なる点にある。肝様腺癌にユニークな変異が同定された場合は、当該分子に基づいた新たな病理診断マーカーの確立が可能となりうる。

3. 研究の方法

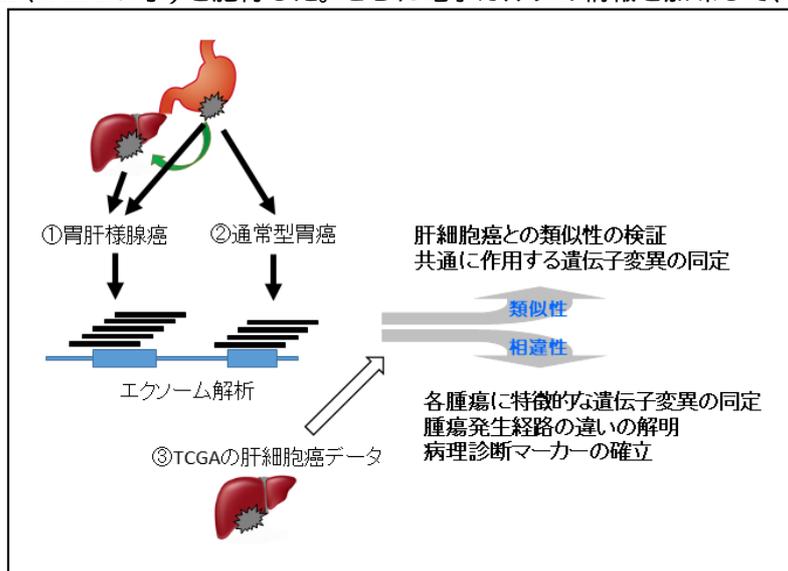
研究代表者は、以下の2つのサブテーマを設定し、肝様腺癌の病理学的解析及び遺伝子変異解析を目指した。

(1) 病理学的解析：

2001年から2014年までに外科的切除された、胃原発の肝様腺癌 21 症例（肝転移 2 症例を含む）を集め、これら全ての症例に関して、HE 染色と免疫染色（AFP、CK19、Arginase、HerPar-1、Glypican3、SALL4、BSEP、MDR3 等）を施行した。さらに電子カルテの情報を加味して、臨床病理学的特徴をまとめた。

(2) 遺伝学的解析：

十分に組織が残存している胃肝様腺癌 15 症例に関して、次世代シーケンサーによる遺伝子解析を行う。解析対象は、肝様腺癌部と正常組織で、通常型腺癌部が混在している症例ではこの領域も別に解析する。体細胞変異のみを同定するために、腫瘍の遺伝子変異から正常の遺伝子多型を引き算し、coverage に関して cutoff 値を設け、信頼度の高い変異のみを抽出する。



4. 研究成果

外科的切除された胃原発の肝様腺癌 21 症例（肝転移 2 症例を含む）を対象として実験を進めた。これら全ての症例に関して、HE 染色と免疫染色を施行して、レビューし、さらに電子カルテの情報と併せて、臨床病理学的特徴をまとめた。大部分の症例は低分化症例であり、AFP が一部の症例では陽性であり、肝細胞形質を反映しているものと考えられた。また新規の肝細胞癌マーカーである BSEP と MDR3 についても免疫染色を施行し、1 症例を除いて陰性であることを確認した。逆に比較対象として検討した肝細胞癌は 8 割以上の症例でこれらのマーカーのいずれかは陽性であった。

続いて、肝様腺癌 15 症例に関して十分な組織が残っていることを確認し、腫瘍部の分画抽出および DNA 抽出を試みた。胃癌の組織型の中でも、悪性度の高い肝様腺癌の研究は、非常に competitive であり、本研究の施行中に体細胞遺伝子変異を解明した論文が複数報告された（ ）。

しかしながらこれらの報告は腺癌で一般的な driver mutation の同定に留まっており、本研究課題の核心である『高悪性度につながる肝細胞様形質の獲得に必要な遺伝的素因は何か？』『肝様腺癌と肝細胞癌・通常型胃癌の違いは何か？』という 2 つの問いは依然として未解明である。通常のエクソーム解析で得られる Driver mutation の同定のみでは、これらの問いへの解決に至らない可能性が高い点を加味し、RNA-sequencing や clonal evolution を含めた実験系へ方針転換することとした。次世代シーケンスを用いた、遺伝子解析に関しては、まだ完遂していないため、研究を継続する必要がある。近年稀な上皮性腫瘍において、融合遺伝子の存在が確認されており（ ） 遺伝子発現解析とともに、RNA-sequencing を行う意義は大きいと考えられる。胃は肝様腺癌の最好発部位であり、本研究課題における対象臓器の主体であるが、他の諸臓器の肝様腺癌においても類似した発癌メカニズムが働いていることが確認できれば、横断的な疾患概念に結びつくと考えられる。

引用文献：

- Ishikura et al, Cancer, 1985
- Kono et al. Dig Surg, 2002
- Chang et al. Am J Gastroenterol, 1992
- Adachi et al, Oncology, 2003
- Fujikura et al. Am J Surg Pathol, 2016
- Akazawa et al. Hum Pathol, 2018
- Wang et al. Gastric Cancer, 2019
- Vyas et al. Mod Pathol, 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fujikura Kohei, Akita Masayuki, Ajiki Tetsuo, Fukumoto Takumi, Itoh Tomoo, Zen Yoh	4. 巻 42
2. 論文標題 Recurrent Mutations in APC and CTNNB1 and Activated Wnt/ -catenin Signaling in Intraductal Papillary Neoplasms of the Bile Duct	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1674 ~ 1685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akita Masayuki, Fujikura Kohei, Ajiki Tetsuo, Fukumoto Takumi, Otani Kyoko, Hirose Takanori, Tominaga Masahiro, Itoh Tomoo, Zen Yoh	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Intracholecystic Papillary Neoplasms are Distinct From Papillary Gallbladder Cancers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001237	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimomura Yoshimitsu, Sakai Shinsuke, Ueda Hiroyuki, Fujikura Kohei, Imai Yukihiro, Ishikawa Takayuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Encapsulating peritoneal sclerosis in a patient after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12876-019-0933-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Zhou Yitian, Fujikura Kohei, Mkrтчian Souren, Lauschke Volker M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Computational Methods for the Pharmacogenetic Interpretation of Next Generation Sequencing Data	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2018.01437	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----