

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15106

研究課題名(和文)混合型肝臓のエピジェネティクス

研究課題名(英文)Epigenetics of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：EZH2複合体によるヒストンH3(H3K27)のメチレーションおよびp16の遺伝子サイレンシングはがんの進展におけるエピジェネティック機構である。我々は肝内胆管癌および中間型肝臓を対象として、EZH2、H3K27me3、p16の発現を免疫組織学的に検討した。EZH2、H3K27me3、p16は、肝内胆管癌においてそれぞれ71%、73%、34%陽性、中間型肝臓においてそれぞれ63%、54%、24%陽性であった。いずれの癌腫においてもEZH2の発現とH3K27me3の発現に正の相関が認められた。EZH2、H3K27me3、p16の発現の有無と予後の関連は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの発生・増殖・進展においては遺伝子異常のみならず、エピジェネティックな異常が重要であることが知られている。本研究ではエピジェネティクスに関連したEZH2、H3K27me3、p16と呼ばれるタンパクの発現を難治性がんである肝臓において検討した。EZH2とH3K27me3の発現に関連が相関があることがわかった。この結果から肝臓においてもエピジェネティックな異常の関与が示唆された。一方これらのタンパクの発現と予後に直接の関連が無いこともわかった。

研究成果の概要(英文)：Methylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) and gene silencing of p16 by the EZH2 complex are an epigenetic mechanism in cancer progression. In this study we evaluated the immunohistochemical expression of EZH2, H3K27me3, and p16 in intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) and intermediate cell carcinoma of the liver (ICL). EZH2, H3K27me3, and p16 were expressed in 71%, 73%, and 34% of iCCA cases, and in 63%, 54%, and 24% of ICL cases respectively. EZH2 and H3K27me3 expressions were positively correlated in both iCCA and ICL cases. There was no correlation between prognosis and the expression status of EZH2, H3K27me3, or p16.

研究分野：病理学

キーワード：肝臓 エピジェネティクス EZH2 H3K27me3 p16

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん細胞は細胞内の遺伝子異常を背景として発生し、その増殖・進展においても様々な遺伝子の異常が重層的に関わっていることが知られている[1]。一部のがんでは driver mutation と呼ばれる腫瘍の発生・進展に直接関わっている遺伝子異常が同定されており、それらをターゲットとした治療も既に臨床応用されている。しかしながら多くの固形腫瘍は複雑な遺伝子異常を有しており、遺伝子異常特異的な治療方法というのは開発されていない。一方、がんの発生・増殖・進展においては、こういったジェネティックな異常のみならず、DNA メチル化やヒストン修飾といったエピジェネティックな遺伝子制御機構も重要な役割を担っていることもわかってきた[2]。

肝細胞癌や肝内胆管癌といった代表的な肝上皮性悪性腫瘍においても、次世代シーケンサーを用いた大規模な解析により、種々の遺伝子異常が同定されている[3, 4]。これらの中にはドライバー変異の候補と考えられるものも含まれているが、現時点で治療対象となっているものは無い。また肝上皮性悪性腫瘍のエピジェネティクスに関しては、未だ多くの点が不明である。

代表的なエピジェネティック機構であるヒストンメチル化に関連した酵素である EZH2 は、その阻害剤の臨床応用が他のがん腫では既に試みられている。難治性がんであり新規の治療法の開発が待たれる肝上皮性悪性腫瘍において、エピジェネティクス機構の解明は重要な課題である。

2. 研究の目的

混合型肝癌を含む肝上皮性悪性腫瘍におけるエピジェネティクス機構の解明のため、代表的なエピジェネティックマーカーの発現を免疫組織学的に検討する。

3. 研究の方法

2000 年～2017 年において当院で切除された末梢発生の腫瘍形成型肝内胆管癌（細胆管細胞癌を含む）、中間型肝癌を対象とする。EZH2, H3K27me3, p16 の免疫染色を行い、これらの発現と臨床病理学的因子との関連について検討する。

4. 研究成果

肝内胆管癌 41 例（細胆管細胞癌 21 例を含む）と中間型肝癌 41 例が対象となった。肝内胆管癌において EZH2 は 29 例（71%）において陽性、H3K27me3 は 30 例（73%）において陽性、p16 は 14 例（34%）において陽性であった。中間型肝癌において EZH2 は 26 例（63%）において陽性、H3K27me3 は 22 例（54%）において陽性、p16 は 10 例（24%）において陽性であった。肝内胆管癌および中間型肝癌いずれにおいても EZH2 の発現と H3K27me3 の発現に正の相関が認められた（Fisher の正確検定にてそれぞれ $P=0.0006$, $P=0.0115$ ）。肝内胆管癌および中間型肝癌いずれにおいても EZH2 の発現と p16 の発現に負の相関は認められなかった（Fisher の正確検定にてそれぞれ $P=0.165$, $P=0.2765$ ）。肝内胆管癌および中間型肝癌いずれにおいても、EZH2, H3K27me3, もしくは p16 の発現と予後に相関は認められなかった。

Table 1. 肝内胆管癌における EZH2 および H3K27me3 の発現の相関

	H3K27me3 +	H3K27me3 -	
EZH2 +	26	3	
EZH2 -	4	8	$P=0.0006$

Table 2. 中間型肝癌における EZH2 および H3K27me3 の発現の相関

	H3K27me3 +	H3K27me3 -	
EZH2 +	18	8	
EZH2 -	4	11	$P=0.0115$

Table 3. 肝内胆管癌における EZH2 および p16 の発現の相関

	p16 +	p16 -	
EZH2 +	12	17	
EZH2 -	2	10	P=0.165

Table 4. 中間型肝炎における EZH2 および p16 の発現の相関

	p16 +	p16 -	
EZH2 +	8	18	
EZH2 -	2	13	P=0.2765

[参考文献]

1. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Science. 2013;339:1546-58.
2. Dawson MA, Kouzarides T. Cell. 2012 ;150:12-27.
3. Guichard C, Amaddeo G, Imbeaud S, et al. Nat Genet. 2012 ;44:694-8.
4. Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, et al. Nat Genet. 2012 ;44:760-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mihara Y, Akiba J, Ogasawara S, Kondo R, Fukushima H, Itadani H, Obara H, Kakuma T, Kusano H, Naito Y, Okuda K, Nakashima O, Yano H.	4. 巻 49
2. 論文標題 Malic enzyme 1 is a potential marker of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma, subtypes with stem-cell features, intermediate-cell type.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 1066-1075
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1111/hepr.13365	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 Kusano H, Naito Y, Mihara Y, Kondo R, Ogasawara S, Akiba J, Nakashima O, Yano H	4. 巻 50
2. 論文標題 Distinctive Clinicopathological Features and KRAS and IDH1/2 Mutation Status of Cholangiolocellular Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 84-91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13428	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 三原勇太郎、秋葉 純、小笠原幸子、近藤礼一郎、福嶋 浩人、板谷 啓、草野 弘宣、内藤 嘉紀、中島 収、矢野 博久
2. 発表標題 Malic enzyme 1 (ME1) は混合型肝癌中間細胞垂型の診断マーカーとして有用である。
3. 学会等名 第108 回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kusano H, Okudaira M, Mihara Y, Shioga T, Mizuochi S, Kinjo Y, Akiba J, Nakashima O, Yano H
2. 発表標題 Clinicopathologic characteristics of scirrhous hepatocellular carcinomas with or without steatohepatic features
3. 学会等名 USCAP2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 草野 弘宣, 三原 勇太郎, 小笠原 幸子, 秋葉 純, 中島 収, 矢野 博久	4. 発行年 2020年
2. 出版社 アークメディア	5. 総ページ数 655-659
3. 書名 肝胆膵, 肝細胞性腫瘍の分類・亜分類の最前線, 中間型肝癌の捉え方	

〔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
研究協力者	矢野 博久 (Yano Hirohisa)	久留米大学・病理学講座・教授	
研究協力者	中島 収 (Nakashima Osamu)	久留米大学病院・臨床検査部・教授	
研究協力者	秋葉 純 (Akiba Jun)	久留米大学病院・病理部・病理診断科・教授	
研究協力者	内藤 嘉紀 (Naito Yoshiki)	久留米大学病院・病理部・病理診断科・講師	
研究協力者	小笠原 幸子 (Ogasawara Sachiko)	久留米大学・病理学講座・講師	

6. 研究組織(つづき)

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	近藤 礼一郎 (Kondo Reiichiro)	久留米大学・病理学講座・助教	
研究協力者	三原 勇太郎 (Mihara Yutaro)	久留米大学・病理学講座・助教	