

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16185

研究課題名(和文) 早期肝細胞癌におけるCPD発現の検討

研究課題名(英文) Study of carboxypeptidase D expression in the early hepatocellular carcinoma

研究代表者

三原 勇太郎 (Mihara, Yutaro)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20869086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 800,000円

研究成果の概要(和文)：早期肝細胞癌(early hepatocellular carcinoma: eHCC)とその前駆病変である dysplastic nodule (DN)の鑑別は難しく、eHCCの診断マーカーを見出すことを目的とした。carboxypeptidase D (CPD)およびmalic enzyme 1 (ME1)の免疫染色を行った結果、CPD陽性かつME1欠失の組み合わせでは、感度50%、特異度100%でeHCCを診断可能で、DNとの鑑別に有用であった。また、これらの免疫染色はeHCCの病変範囲の同定にも有用であった。研究成果は第44回日本肝臓学会西部会で報告し、現在論文作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界的に、肝癌は癌関連死の原因の第6位を占め、その90%が肝細胞癌である。近年の診断・治療技術の進歩により、肝細胞癌の40～50%程度は根治的治療が望めるようになったが、以前として多くの症例が進行期で発見され、それらの予後は不良である。肝細胞癌のさらなる予後改善のためには早期の段階で確実な診断をすることが望まれる。今回の検討で、早期肝細胞癌の有用な診断マーカーを見出し、肝細胞癌の早期診断・早期治療に結び付けることが期待される。また、DNを介した肝細胞癌の発癌経路の解明の一助ともなり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Histological diagnosis of early hepatocellular carcinoma (eHCC) is often difficult due to similarity to its precursor lesion, dysplastic nodule (DN), and there is a lack of excellent diagnostic markers. The aim of this study was to identify diagnostic markers to differentiate eHCC from DN. We performed immunohistochemistry of carboxypeptidase D (CPD) and malic enzyme 1 (ME1) for 18 cases of eHCC and 18 cases of DN. As a result, the combination of "CPD positive" and "ME1 loss" had a sensitivity of 50% and specificity of 100% for the diagnosis of eHCC. In addition, these immunohistochemistry were useful in identifying the boundaries of eHCC. The research results were reported at the 44th meeting of western branch of Japan Society of Hepatology, and we are currently working on a paper.

研究分野：病理学

キーワード：肝細胞癌 早期肝細胞癌 early HCC dysplastic nodule carboxypeptidase D malic enzyme 1

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

久留米大学医学部病理学講座では、以前から肝細胞癌の形態・分子病理の研究を行っている。特に、早期肝細胞癌(early hepatocellular carcinoma: eHCC)の疾患概念の確立に寄与し、異型結節(dysplastic nodule: DN)を母地として早期肝細胞癌が発生し、脱分化を生じて通常型の肝細胞癌として進展していくことが明らかとなった(Nakashima O, et al. Hepatology 1995., International Consensus Group for Hepatocellular carcinoma. Hepatology 2009.)。しかし、eHCC と DN は組織学的に類似しており、形態的な鑑別が困難なことも多い。DN と、悪性腫瘍である eHCC を鑑別することは肝細胞癌の早期診断・適切な治療による予後改善に寄与すると考えられる。

eHCC の診断マーカーとして、glypican 3 (GPC3)、heat shock protein 70 (HSP70)、glutamine synthetase (GS)の組み合わせが報告されているが、日常診療では必ずしも感度・特異度が高いとは言えず、さらなる適切な診断マーカーが望まれている。

当講座の過去の報告(Mihara Y, et al. Hepatol Res 2019.)をもとに、carboxypeptidase D (CPD) および malic enzyme 1 (ME1)の2つの分子に注目し、診断マーカーとして有用かどうか検討することとした。

### 2. 研究の目的

eHCC と、その前駆病変である DN の鑑別マーカーを同定する。

### 3. 研究の方法

2000年から2015年の間、久留米大学病院で原発性肝癌に対して外科的切除された eHCC 18例(18患者)、DN 18例(9患者)のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて免疫染色を行った。免疫染色には、抗 CPD 抗体、抗 ME1 抗体を用いた。また、eHCC に対しては抗 GPC3 抗体、抗 HSP70 抗体、抗 GS 抗体による免疫染色も追加した。

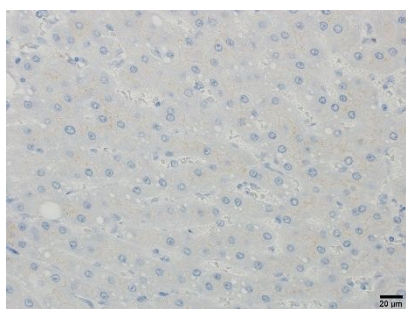
CPD の評価法は、細胞質に顆粒状に染色性を示すものを陽性とした。ME1 の評価法は細胞質に染色性を全く示さないものを「loss」と定義し、染色性を示すものを「intact」と定義した。

統計解析には JMP pro 15 を用いた。

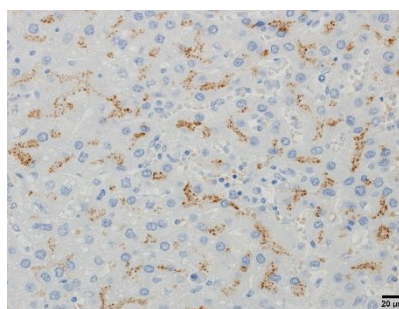
### 4. 研究成果

CPD は非病変部肝組織では門脈域や中心静脈周囲の肝細胞の細胞質や毛細胆管周囲に顆粒状の弱い局所的な発現を認めるのみであったが、eHCC の 94.4%で強発現(びまん性陽性 10例、局所陽性 7例、陰性 1例)を認めた。DN での陽性率は 50%(びまん性陽性 2例、局所陽性 7例、陰性 9例)であった。

【非病変部肝組織の CPD 発現】



【eHCC の CPD 発現】

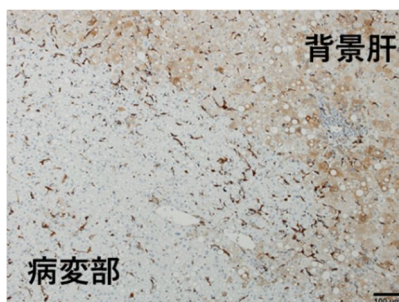


ME1 は、非病変部肝組織では肝細胞の細胞質に弱～中等度の発現が不均一に観察された。HCC では細胞質に染色性を全く示さない(loss)ものが 55.6%(10/18例)認められた。一方、DN ではほとんどが非病変部と同様の不均一な発現が観察され、loss は 5.6%(1/18例)のみであった。

【非病変部肝組織の ME1 発現】

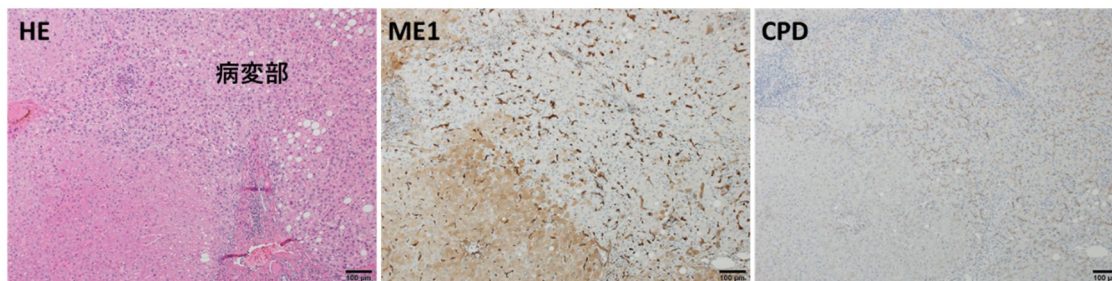


【eHCC の ME1 発現】



「CPD 陽性」かつ「ME1 loss」の組み合わせで、感度 50%、特異度 100%で eHCC を同定できた。また、通常、eHCC は周囲の非腫瘍部肝組織との境界が不明瞭であるが、これらのマーカーは eHCC の病変範囲を同定するのにも有用であった。

【ME1 および CPD による eHCC の病変範囲の同定】



従来 eHCC のマーカーとして報告されている GPC3、GS、HSP70 の免疫染色では、eHCC の陽性率はそれぞれ 22%、89%、17%であり、いずれも局所的な発現や弱い発現に留まるものが多く、3つのマーカーとも陽性を示すものは3例(16.7%)のみであった。以上から、CPDとME1の免疫染色は、eHCCとDNの鑑別に有用で、従来マーカーよりも日常診断に役立つと考えられる。

本研究の成果は、第44回日本肝臓学会西部会(2021年)で発表した。また、関連する研究成果に関して第57回日本肝臓学会総会(2021年)で発表した。現在、英語論文執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三原勇太郎、近藤礼一郎、草野弘宣、小笠原幸子、内藤嘉紀、秋葉純、矢野博久
2. 発表標題 Carboxypeptidase DおよびMalic enzyme 1の免疫組織化学は早期肝細胞癌とdysplastic noduleの鑑別診断に有用である
3. 学会等名 第44回 日本肝臓学会西部会
4. 発表年 2021年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------