

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07912

研究課題名(和文) DNA修復異常を有する肝細胞癌の発生機序と免疫チェックポイント阻害治療反応性

研究課題名(英文) Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma with DNA Repair Abnormalities and Response to Immune Checkpoint Inhibition Therapy

研究代表者

恵荘 裕嗣 (Eso, Yuji)

京都大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：60760585

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：DNAミスマッチ修復機能が欠損(dMMR)した腫瘍は治療への反応性など通常の癌とは異なることが知られている。以前我々は、炎症刺激により肝細胞でミスマッチ修復遺伝子MSH2の発現が低下し、発癌に寄与する可能性を報告した。本研究は、MSH2を欠損した遺伝子改変マウスに慢性肝炎刺激を加えた動物モデルを作成し、炎症性肝発癌過程におけるMSH2の役割を解明することを目的とした。その結果、MSH2の欠失により肝発癌が促進され、生じた腫瘍はdMMRの特徴を有することが明らかとなった。またMSH2はDNA修復のみならず、細胞増殖の制御にも関わることで、発癌抑制に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MSH2遺伝子が欠失にすることにより、肝発癌が促進され、生じた腫瘍はdMMRの特徴を有することが明らかとなった。またMSH2はDNAミスマッチ修復のみならず、DNA damage sensorとして細胞増殖の制御にも関わることにより、発癌抑制に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tumors defective in DNA mismatch repair (dMMR) are known to differ from normal cancers in terms of response to therapy. We previously reported that inflammatory stimuli downregulate the expression of the mismatch repair gene MSH2 in hepatocytes, which may contribute to carcinogenesis. In this study, we aimed to elucidate the role of MSH2 in the inflammatory hepatocarcinogenesis process by creating an animal model in which genetically engineered mice lacking MSH2 were subjected to chronic hepatitis stimulation. The results showed that deletion of MSH2 promotes hepatocarcinogenesis and that the resulting tumors have characteristics of dMMR. The results also suggest that MSH2 may contribute to carcinogenesis inhibition not only by DNA repair but also by regulating cell proliferation.

研究分野：肝細胞癌

キーワード：肝細胞癌 ミスマッチ修復

1. 研究開始当初の背景

DNA ミスマッチ修復遺伝子に異常があり、その働きが欠損した状態(mismatch repair deficiency: dMMR)の癌細胞は、DNA 修復のエラーを反映してマイクロサテライト不安定性(microsatellite instability: MSI)を示すことが知られている。

これまで我々は、消化器系臓器における慢性炎症からの発癌機構についての研究を継続してきており、慢性肝炎からの肝発癌過程において主要な DNA ミスマッチ修復機構の一つである MSH2 遺伝子の発現異常が寄与していることを細胞レベルおよびマウスモデルにより明らかにしてきた(Eso Y et al. Cancer Research 2016)。近年、大腸癌など多くの固形癌で、MSI を高頻度に認める MSI-high 腫瘍では免疫チェックポイント阻害薬が奏効することが報告されており、本邦においても抗 PD-1 抗体である pembrolizumab が MSI-high を呈する固形癌に対して臓器横断的に保険承認された。肝細胞癌における MSI-high 腫瘍の頻度は 1~3%と非常に少ないが(Eso Y et al. J Gastroenterol 2020)、MSI を低頻度に認める MSI-low 腫瘍は 30%程度と報告されている(Gouvard C et al. Cancer Genomics Proteomics 2017)。一方、これまでに報告されている肝細胞癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の臨床試験では単剤投与で 20%程度の奏効率と報告されているが、その奏効を予測しうる質の高いバイオマーカーは現時点で特定されていない(Nakano S, Eso Y, et al. Cancers 2020)。

肝細胞癌では、その進行とともに dMMR に特徴的な mutation signature の割合が上昇することが、全ゲノム解析の結果より判明している。一方、TCGA-LIHC コホートのデータでは、MMR 遺伝子の中でも MSH2 の発現が癌部で有意に上昇している。しかし慢性肝炎から肝細胞癌へと至る過程において、MSH2 の発現異常が寄与する具体的なメカニズムについての解明は未だ不十分であった。

2. 研究の目的

本研究では、dMMRを呈する肝細胞癌の性質をヒト臨床検体およびin vivoモデルによって明らかにし、その分子生物学的・病理学的特徴やゲノム・トランスクリプトーム異常、免疫チェックポイント阻害薬に対する反応性を明らかにすることを目的とし、MSH2を欠損した遺伝子改変マウスに慢性肝炎刺激を加えた動物モデルを作成することで、炎症性肝発癌過程におけるMSH2の役割の解明を行った。

3 . 研究の方法

- 1) 肝細胞特異的に MSH2 を欠損した遺伝子改変マウス(AlbCre/MSH2f1/f1)に、0.02%チオアセトアミド(TAA)による肝炎刺激を 30 週間加え、表現型を解析する。
- 2) 腫瘍組織の全エクソン解析を行い、変異プロファイルを検討する。
- 3) 背景肝組織の RNA シーケンスを行い、網羅的な遺伝子発現プロファイル解析を行う。また、MSH2 をノックダウンした肝癌細胞株の遺伝子発現データと照合し、トランスクリプトーム解析により、共通して発現変動する遺伝子群の同定を試みる。

4 . 研究成果

- 1)
AlbCre/MSH2f1/f1 + TAA 群では 60%の個体に高分化 ~ 中分化型肝細胞癌を認め、野生型マウス(WT) + TAA 群の 24%と比較し有意に高頻度であった。
- 2)
全エクソン解析では、AlbCre/MSH2f1/f1 + TAA 群の腫瘍で平均 20.7 個/結節と変異数が多く(WT + TAA 群 : 平均 8.3 個/結節)、COSMIC 変異 signature 解析では、dMMR に関連する signature の寄与度が高かった。一方、AlbCre/MSH2f1/f1 群の肝癌で共通するドライバー遺伝子変異は同定できなかった。
- 3)
AlbCre/MSH2f1/f1 + TAA 群の背景肝では、Kras 関連遺伝子群などの発癌関連分子の発現変動が enrich されていた。
また、肝細胞株のトランスクリプトーム解析では、MSH2 をノックダウンすることにより 223 個の遺伝子の発現変動が認められ、統合解析により、細胞増殖制御に関わる転写因子 E2F2 など、複数の遺伝子で共通した発現変動が同定された。

そこで次に、MSH2 をノックダウンすることによる細胞周期への影響についての検討を行った。その結果、MSH2 のノックダウンにより S 期の細胞数の割合が増加していた。また Msh2KO マウスの肝細胞では H2AX の発現が増加しており、DNA 二重鎖切断が増加しているものと

考えられた。

以上の結果から、MSH2 の欠失により肝発癌が促進され、生じた腫瘍は dMMR の特徴を有することが明らかとなった。

また MSH2 は DNA ミスマッチ修復のみならず、DNA damage sensor として細胞増殖の制御にも関わることで、発癌抑制に寄与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Eso Y, Taura K, Seno H.	4. 巻 52
2. 論文標題 Does immune checkpoint inhibitor exhibit limited efficacy against non-viral hepatocellular carcinoma?: A review of clinical trials	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 67-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13712	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 Eso Y, Takeda H, Taura K, Takai A, Takahashi K, Seno H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Pretreatment Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as a Predictive Marker of Response to Atezolizumab Plus Bevacizumab for Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Oncology	6. 最初と最後の頁 4157-4166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/curroncol28050352.	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 Eso Y, Seno H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Optimization of immunotherapy for patients with hepatobiliary cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hepatobiliary Surgery and Nutrition	6. 最初と最後の頁 717-719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/hbsn-21-207.	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Shigehaaru Nakano
2. 発表標題 Msh2 Suppresses HCC Progression Via Regulating the Cell Cycle in Response to DNA Damage
3. 学会等名 APASL 2024 Kyoto（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 中野重治
2. 発表標題 ミスマッチ修復遺伝子MSH2の欠損は炎症性肝発癌を促進する
3. 学会等名 Liver Scientific Frontier 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shigeharu Nakano
2. 発表標題 Deficiency of the mismatch repair gene MSH2 promotes hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis.
3. 学会等名 APASL Oncology 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、三嶋真紗子、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 巨大肝嚢胞に対するポリドカノールを用いたfoam sclerotherapyの長期成績
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、三嶋真紗子、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 肝予備能評価およびLenvatinib治療経過予測におけるM2BPGIの有用性
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、三嶋真紗子、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 ポリドカノールフォームを用いた超音波ガイド下肝嚢胞硬化療法の長期成績
3. 学会等名 日本超音波医学会第94回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 Lenvatinib治療経過バイオマーカーとしてのMac-2 binding glycosylation isomer
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 肝硬変に伴う皮膚掻痒症に対するナローバンドUVB療法の初期経験
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、中野重治、井口恵里子、竹田治彦、高井淳、高橋健、妹尾浩
2. 発表標題 有症状肝嚢胞に対するポリドカノールを用いた穿刺吸引硬化療法の長期成績
3. 学会等名 第57回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、高井淳、妹尾浩
2. 発表標題 Atezolizumab+Bevacizumab併用療法の治療成績と既存治療とのCombination
3. 学会等名 JDDW2021(第25回日本肝臓学会大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、高井淳、妹尾浩
2. 発表標題 肝硬変に伴う難治性皮膚掻痒症に対するナローバンドUVB療法
3. 学会等名 JDDW2021(第25回日本肝臓学会大会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、高井淳、妹尾浩
2. 発表標題 肝硬変に伴う治療抵抗性皮膚掻痒症に対するナローバンドUVB療法
3. 学会等名 第44回日本肝臓学会西部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 恵荘裕嗣、高井淳、妹尾浩
2. 発表標題 分子標的治療既往およびEtiologyに着目したAtezolizumab+Bevacizumab療法の治療成績
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
---------	---------