

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15928

研究課題名（和文）肝細胞癌における分子標的治療の効果と薬剤耐性を早期予測するmicroRNAの同定

研究課題名（英文）MicroRNAs as early predictors of efficacy and drug resistance to molecularly targeted therapy in hepatocellular carcinoma

研究代表者

大浦 杏子（Oura, Kyoko）

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80834639

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：Atezo/Beva療法を行ったuHCC患者66名を対象とした。奏功群44名と非奏功群22名を比較すると、奏功群では治療開始前にmiR-485-3pは非奏功群より高値であり、翌日および3週後でさらに上昇した。治療開始前の血清VEGF値は有意差がなかったものの、翌日には両群ともに検出感度以下まで低下し、3週後/治療開始前比は奏功群が非奏功群より有意に低かった。In vitroでは、miR-485-3pのtransfectionによってHuH-7およびHUVEC細胞遊走能・増殖能が抑制され、PIAS3発現が増強、STAT3/VEGF発現が抑制された。共培養した細胞ではより顕著に変化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Atezo/Beva併用療法において、血清miR-485-3pはVEGFより鋭敏に変化するため、早期治療効果を予測するのに有用である。PIAS3/STAT3/VEGF signalが関連しており、今後バイオマーカーや創薬開発に臨床応用できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Sixty-six patients with uHCC treated with Atezo/Bev were included. Comparing 44 patients in the response group with 22 patients in the non-response group, 10 miRNAs were significantly elevated before treatment in the response group, especially miR-485-3p, which was higher than in the non-response group and further elevated on the next day and 3 weeks later. Serum VEGF levels before treatment were not significantly different, but both groups decreased to below detection sensitivity the next day, and the 3-week/pre-treatment ratio was significantly lower in the response group than in the non-response group. In vitro, miR-485-3p transfection suppressed migration and proliferation in HuH-7, enhanced PIAS3 expression, and suppressed STAT3/VEGF expression, which were more pronounced in cells co-cultured with HUVEC.

研究分野：肝臓病

キーワード：肝細胞癌 microRNA atezolizumab bevacizumab

#### 1. 研究開始当初の背景

肝炎ウイルスの新規感染者の減少および抗ウイルス療法の普及により、肝細胞癌(HCC)の成因別背景は急激に変化している。2004年~2018年の過去15年間に当科で診療したHCC患者807名を対象とした疫学研究においても、肝炎ウイルス性HCCが激減する一方で、非ウイルス性HCCが急増していることが示唆されている。非ウイルス性HCCは発癌までにスクリーニング検査が実施されておらず、診断時には既に脈管浸潤や遠隔転移を伴った進行癌に至っていることが多い。切除不能進行HCCに対する全身療法として、血管新生分子をターゲットとする分子標的治療を行う機会は今後ますます増加すると予測される。本邦では進行HCCに対する一次治療では sorafenib と lenvatinib、二次治療では regorafenib と ramucirumab が使用可能であり、2020年9月には atezolizumab および bevacizumab 併用療法が癌免疫療法として初めて薬事承認された。治療選択肢が増える一方で、その治療戦略では適切な薬剤を選択し、無効な場合には適切なタイミングで次治療に切り替えることが肝要であるが、治療の組み合わせに関するエビデンスは限られており、進行HCC患者の予後は依然不良である。分子標的治療薬の治療成績向上につながるバイオマーカーを検索できないかと、本研究の着想に至った。本研究の目的は、分子標的治療薬の制御機構、特に血管新生分子と miRNA との関連を解析することで、治療効果・薬剤耐性を早期予測するバイオマーカーを同定することである。

#### 2. 研究の目的

Atezolizumab/Bevacizumab(Atezo/Bev)併用療法は切除不能肝細胞癌(uHCC)に対して有効性が示された初めての癌免疫複合療法であり、血清血管内皮増殖因子(VEGF)を標的とする microRNA(miRNA)が治療効果に関連する。今回我々は鋭敏な早期治療予測マーカーとして miR-485-3p の有用性に着目し、PIAS3/STAT3/VEGF signal に関する制御機構を解析した。

#### 3. 研究の方法

2020年9月から2022年6月にAtezo/Beva療法を行ったuHCC患者66名を対象とし、6週後の造影CTをmodified RESISTで評価し、奏功群(CR+PR)と非奏功群(SD+PD)に分けて検討した。経過中の血清を用い、2555分子のmiRNAをmicroarrayおよびRT-PCRで測定し、VEGFはELISA法で定量した。In vitroでは、HCC株であるHuH-7と血管内皮細胞株であるHUVECを共培養した後、miR-485-3pをtransfectionし、scratch assayで細胞遊走能・増殖能を経時解析した。PIAS3/STAT3/VEGF signalの変化について、mRNA発現はRT-PCR、蛋白発現はWestern blotで解析した。

#### 4. 研究成果

背景は男性46名、女性20名、平均年齢 $75.5 \pm 9.5$ 歳、背景肝はHBV4名、HCV22名、NBNC40名、一次治療43名、二次治療20名、3次治療以降3名であった。Child-Pugh A/B=50/16名、臨床病期はcStage III/IVa/IVb=40/11/15名、Barcelona clinic liver cancer staging B/C=35/31名であった。奏功群44名と非奏功群22名を比較すると、奏功群では治療開始前に10分子のmiRNAが有意に上昇し、特にmiR-485-3pは非奏功群より高値であり、翌日および3週後でさらに上昇した。治療開始前の血清VEGF値は有意差がなかったものの、翌日には両群ともに検出感度以下まで低下し、3週後/治療開始前比は奏功群が非奏功群より有意に低かった。多変量解析では、6週後の治療効果に関連する因子は治療開始前の血清miR-485-3p高値、治療開始3週後のVEGF上昇が有意に抽出された( $p < 0.05$ )。In vitroでは、miR-485-3pのtransfectionによってHuH-7およびHUVEC細胞遊走能・増殖能が抑制され、PIAS3発現が増強、STAT3/VEGF発現が抑制された。共培養した細胞ではPIAS3/STAT3/VEGF signalがより顕著

に変化した。

Atezo/Beva 併用療法において、血清 miR-485-3p は VEGF より鋭敏に変化するため、早期治療効果を予測するのに有用である。PIAS3/STAT3/VEGF signal が関連しており、今後バイオマーカーや創薬開発に臨床応用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大浦杏子
2. 発表標題 進行肝細胞癌におけるAtezolizumab/Bevacizumab併用療法中の早期病勢進行 (PD) 予測因子としての末梢血管新生分子の解析
3. 学会等名 第58回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kyoko Oura
2. 発表標題 Usefulness of serum angiogenic molecules as predictive biomarkers of the early disease progression in atezolizumab plus bevacizumab combination therapy for hepatocellular carcinoma
3. 学会等名 The 31st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大浦杏子
2. 発表標題 肝細胞癌に対するAtezolizumab/Bevacizumab併用療法における早期病勢進行 (PD) の予測マーカーとしての血清血管新生分子測定の有用性
3. 学会等名 第58回日本肝臓学会
4. 発表年 2022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
---------	---------