

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15545

研究課題名(和文) MYCとPGC1 が制御する癌代謝と腫瘍免疫を標的とした新規肝細胞癌治療法の開発

研究課題名(英文) Development of Innovative Hepatocellular Carcinoma Therapies Targeting Cancer Metabolism and Tumor Immunity Regulated by MYC and PGC1a

研究代表者

北野 雄希 (Kitano, Yuki)

熊本大学・病院・特任助教

研究者番号：40814760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：TCGAデータベースによる解析にて、肝細胞癌においてMYC高発現群とPGC1 低発現群は予後不良だった。MYCとPGC1 を含んだがん代謝関連遺伝子の発現レベルを組み合わせたsignatureを作成したところ、低分化型肝細胞癌では解糖系有意な遺伝子発現となった。225例の肝細胞癌切除標本における免疫細胞の発現を確認したところ、腫瘍辺縁においてCD8+T細胞低発現群、腫瘍浸潤マクロファージと腫瘍浸潤好中球の高発現群は有意に予後不良だった。免疫細胞にて腫瘍辺縁の免疫環境(hot/cold tumor)を示すsignatureを作成したところ、cold tumorが有意に予後不良であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肝細胞癌においてMYC、PGC1 々に制御される“がん代謝”が“腫瘍免疫”に与える影響と、癌の進展に関するメカニズム解明を目的とした。がん代謝制御因子であるMYCとPGC1 の発現レベルが肝細胞癌患者の生命予後に関与し、さらに悪性度の高い低分化肝細胞癌でがん代謝が亢進していることが分かった。さらに肝細胞癌腫瘍周辺の腫瘍免疫環境(hot/cold tumor)も予後に関与することが分かった。これらの結果より、肝細胞癌においてがん代謝と腫瘍免疫は非常に重要な役割を果たしており、MYCとPGC1 は治療標的となり得ることを示した。

研究成果の概要(英文)：This study aims to elucidate the impact of "cancer metabolism" regulated by MYC and PGC1a on "tumor immunity" and mechanisms involved in cancer progression in hepatocellular carcinoma (HCC).

Analysis of TCGA datasets revealed that in HCC, the high expression of MYC (HR=1.75, P=0.008) and the low expression group of PGC1a (HR=2.33, P<0.0001) had a worse prognosis. A signature combining the expression levels of cancer metabolism-related genes including MYC and PGC1a revealed enhanced glycolysis in poorly differentiated HCC. In 225 resected specimens of HCC, the expression of immune cells was examined within the tumor and at its periphery. At the tumor periphery, the low expression of CD8+ T cells and the high expression of tumor-infiltrating neutrophils and macrophages were significantly associated with poorer prognosis. Assessment of the tumor immune environment using immune cells revealed that cold tumors were significantly associated with worse prognosis compared to hot tumors.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：肝細胞癌 がん代謝 腫瘍免疫

## 1. 研究開始当初の背景

1920 年代に Otto Warburg が、正常細胞はミトコンドリア内での酸化的リン酸化を使って生存に必要なエネルギーを産生しているのに対し、がん細胞は解糖系を駆使してエネルギー産生を行っていることを発表し、それががん代謝研究の起点となっている。21 世紀に入りがん細胞内では解糖系とそれ以外の代謝経路への代謝リプログラミングを介して、がんにも有利な環境を作り出していることが分かった。我々は、過去の報告とパブリックデータベースによる解析により、解糖系を制御する master regulator として MYC を、酸化的リン酸化の regulator として PGC1 $\alpha$  を同定した。MYC は転写調節因子として機能する oncogene として Burkitt リンパ腫で報告された。近年、発がんや癌の悪性化に関わるエネルギー代謝の変化として、MYC などの oncogene による代謝リプログラミングが起きていることが報告されている (Cell Metabolism, 2014)。PGC1 $\alpha$  はミトコンドリア生合成を促進する転写制御因子であり、がん代謝との関連が報告されている。Edward らは、腎細胞癌において PGC1 $\alpha$  を抑制することでミトコンドリア代謝が抑制され、癌の増殖・進展に関与することを報告した (Cell report, 2015)。肝細胞癌においては、HBV や HCV 感染、アルコールによる慢性炎症からの発がんが注目されてきたが、近年は非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の結果生じる肝細胞癌が増加傾向にある。NASH からの発がんのメカニズムは不明な点が多いが、メタボリック症候群が関与している可能性が高く、エネルギー代謝とがん代謝が関連している可能性も高いと考える。

## 2. 研究の目的

肝細胞癌に効果の期待できる抗癌剤・分子標的治療薬は非常に少なく、新たな薬剤の開発が喫緊の課題である。我々は、MYC と PGC1 $\alpha$  を、がん代謝の master regulator として同定し、これらの発現を制御することががん細胞のエネルギー代謝の制御に繋がると考える。特に予後不良とされる低分化型肝細胞癌は、糖の取り込み能が亢進していることが知られ、肝細胞癌においてがん代謝はがんの悪性度と関連し、治療標的となり得る可能性がある。さらに肝細胞癌では、HBV や HCV 感染、アルコールによる慢性炎症からの発がんが注目されてきたが、近年は非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の結果生じる肝細胞癌が増加傾向にある。NASH からの発がんのメカニズムは不明な点が多いが、メタボリック症候群が関与している可能性が高く、エネルギー代謝とがん代謝が関連している可能性も高いと考えられる。抗腫瘍免疫能を賦活化する治療 (抗 PD1 抗体, 抗 PD-L1 抗体) の有用性が肝細胞癌においても示され、腫瘍免疫に着目した治療に関わるバイオマーカー探索や、新たな治療標的探索の重要性は高まっており、これらの免疫回避機構に関わるメカニズム解明は極めて重要な注目度の高い研究課題である。本研究では、肝細胞癌において MYC と PGC1 $\alpha$  らに制御される“がん代謝”が“腫瘍免疫”に与える影響と、癌の進展に関与するメカニズム解明を目的とした。

## 3. 研究の方法

肝細胞癌における MYC と PGC1 $\alpha$ , 腫瘍免疫細胞の発現評価

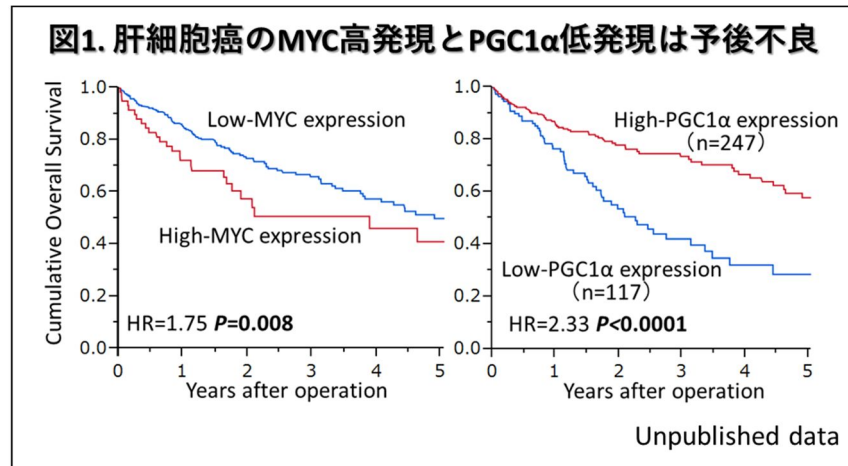
当科では肝細胞癌に対し、年間約 70 例の手術を行っており、これまでに 300 例以上の切除標本パラフィン包埋切片と、200 例以上の凍結標本が保管されている。MYC や PGC1 $\alpha$  の

発現レベルや、腫瘍浸潤リンパ球 (TILs) [CD3、CD4、CD8]や、制御性 T 細胞 (Treg) [FOXP3]、PD-L1、腫瘍関連好中球 (TAN) [CD66b]、腫瘍関連マクロファージ (TAM) [CD163、CD204]の発現量を免疫染色や qRT-PCR 法にて確認し、臨床病理学的特徴や予後と比較することで“がん代謝”や“腫瘍免疫”が肝細胞癌に与える影響を評価し、がん治療のバイオマーカーとなり得る母集団を同定する。また、public database を用いた in silico analysis により結果の validation を行う。

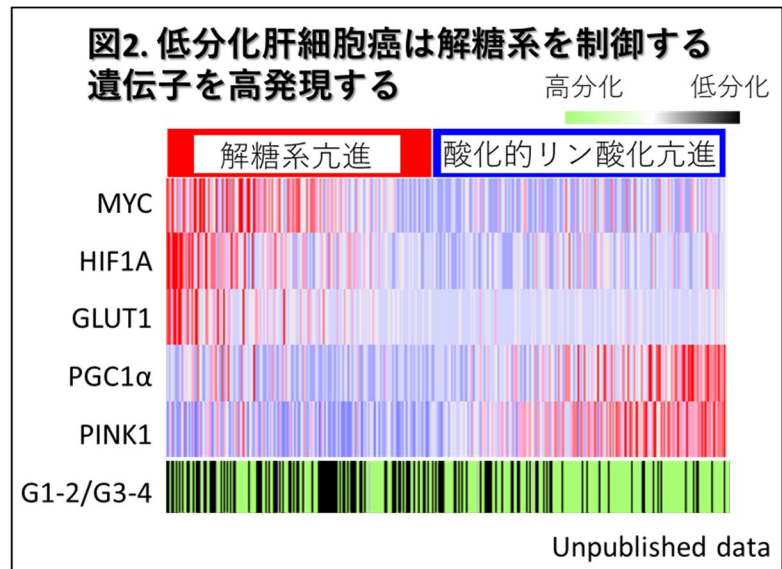
#### 4. 研究成果

##### 1, 肝細胞癌における MYC と PGC1α が予後に与える影響

TCGA のパブリックデータベースによる解析にて、肝細胞癌において MYC 高発現群は低発現群に比べて (HR=1.75, P=0.008) PGC1α 低発現群は高発現群に比べて



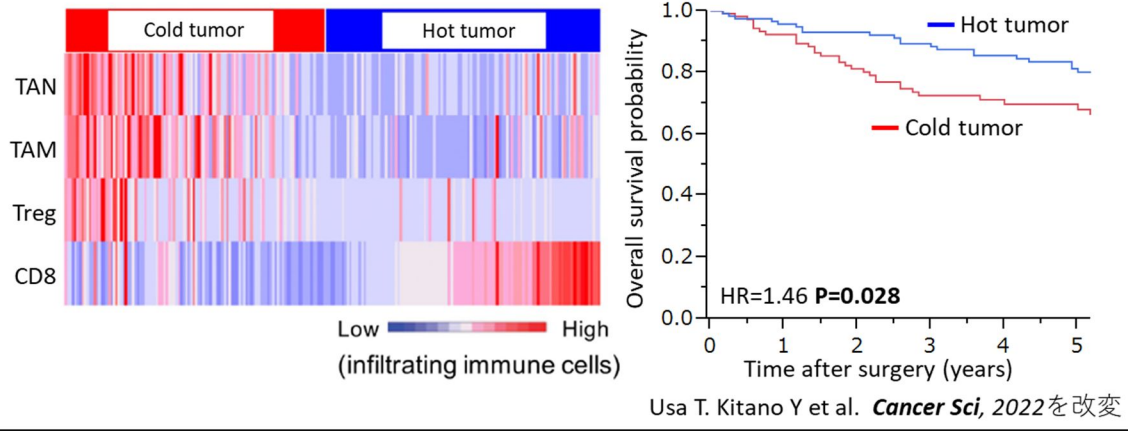
(HR=2.33, P<0.0001) 予後不良となる事を示した。さらに MYC と PGC1α をはじめとしたがん代謝関連遺伝子の発現レベルを組み合わせた signature を作成したところ、低分化型肝細胞癌では解糖系が亢進していることが分かった。



##### 2, 臨床サンプルを用いた腫瘍免疫細胞の発現評価と予後との検討

225 例の肝細胞癌初回肝切除症例の切除標本を用いて、腫瘍内と腫瘍辺縁における CD8+T 細胞、Treg、TAM、TAN の発現を免疫染色にて確認した。特に腫瘍辺縁において、CD8+T 細胞低発現群は高発現群に比べ、TAM 低発現群と TAN 低発現群はそれぞれ低発現群に比べて有意に予後不良であった。4 つの免疫細胞にて腫瘍内の免疫環境を示す risk signature を作成したところ、抗腫瘍免疫環境の悪い群 (cold tumor) は良い群 (hot tumor) に比べて有意に予後不良であることが分かった (P=0.027)。

図3. 肝細胞癌においてCold tumorは予後不良



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 1.Yusa T, Yamashita YI, Okabe H, Nakao Y, Itoyama R, Kitano Y, Kaida T, Miyata T, Mima K, Imai K, Hayashi H, Baba H	4. 巻 113
2. 論文標題 Survival impact of immune cells infiltrating peri-tumoral area of hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4048-4058
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15437	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 2.Lan C, Kitano Y, Yamashita YI, Yamao T, Kajiyama K, Yoshizumi T, Fukuzawa K, Sugimachi K, Ikeda Y, Takamori H, Miyanari N, Hirota M, Baba H	4. 巻 126
2. 論文標題 Cancer-associated fibroblast senescence and its relation with tumour-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expressions in intrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 219-227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41416-021-01569-6	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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------