

令和 2 年 6 月 27 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16316

研究課題名(和文)術前腫瘍量因子と血清メチル化遺伝子による肝癌予後予測システムの構築

研究課題名(英文)Development of a novel predictive system using tumor burden and serum methylation signature for Hepatocellular carcinoma

研究代表者

徳光 幸生 (TOKUMITSU, Yukio)

山口大学・医学部・助教(寄附講座等)

研究者番号：40593299

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文): 私たちは以前に肝切除を行った肝細胞癌の予後予測に腫瘍個数×腫瘍サイズ(N×S因子)と血清メチル化遺伝子がそれぞれ有用であることを報告した。本研究の目的は両者を統合した新しい予後予測システムを作成することにあった。当初の目的は達成できなかったが、N×S因子と肝機能を統合するスコア式(MITSスコア)の有用性を実証することができた。すなわちMITSスコアとして、N×S因子と肝障害度のコンビネーション、またN×S因子とALBIスコアのコンビネーションが無再発生存曲線、全生存曲線で全てのスコア間で有意差が認められた。MITSスコアは肝細胞癌予後予測に有用である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MITSスコアの最大の特徴は、術前画像と術前血液サンプルのみで予後予測が可能となる点である。肝細胞癌は肝切除、経皮的焼灼術、経動脈的治療など複数の治療選択肢を有しているため、治療前に得られる情報のみでスコアリングできることは、治療法選択の一助になり得る。またAlbumin-Bilirubin grade (ALBI grade)とNxS因子を統合したMITS-ALBI scoreが構築されたことで、「腫瘍径」「腫瘍個数」「血清Albumin値」「血清Bilirubin値」のわずか4項目で、肝癌予後予測をシンプルに行い得る予測システムを構築でき、どの施設、国でもスコアリング可能である。

研究成果の概要(英文): Our previous study reported the effectiveness of the product of tumor number and size (NxS factor) and serum methylation signature as predictors of the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) following hepatectomy. The aim of the present study was to develop a novel predictive score which combined NxS factor and serum methylation signature for HCC. Although we could not accomplish the original purpose, however, we demonstrated the prognostic value of scoring systems based on the NxS factor and liver function for HCC. The discriminatory abilities of the mathematical integrated model for tumor staging (MITS) score, which combines the NxS factor with liver function, and known prognostic systems were compared. DFS and OS curves revealed significant differences among all NxS factor and liver damage combinations and all NxS factor and albumin-bilirubin (ALBI) score combinations. MITS scores could be improved scoring systems for predicting the prognosis of HCC patients.

研究分野: 肝癌

キーワード: 肝癌 予後予測 スコアリングシステム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝切除術は肝細胞癌に対する最も根治度の高い治療法ではあるが、術後再発率は依然として高く、その予後予測は治療戦略を立てる上で非常に重要である。日常診療においては、肝細胞癌のステージングとして TNM 分類が広く用いられており、手術症例において最も重要な T 因子は腫瘍径、腫瘍個数、脈管侵襲で構成されている。また、肝細胞癌の予後には背景の肝障害も影響するため、腫瘍因子と肝機能因子を統合した統合ステージングも広く用いられている。一方で、このような Conventional な臨床病理学的因子のみでは正確な予後予測が困難と考えられ、種々の分子生物学的手法を用いたバイオマーカーの探索が行われている。

よって、肝細胞癌における高精度な予後予測システムの構築には、臨床病理学的因子と新規分子生物学的バイオマーカーの combination を用いる必要があると考えた。

2. 研究の目的

教室では、臨床因子として「腫瘍個数×最大腫瘍径」が良い予後の指標となること¹⁻³⁾ 分子生物学的マーカーとして、血清メチル化遺伝子が予後因子となること⁴⁾、を報告しているが、この両者を組み合わせた新たな治療前予後予測システムの構築を目的とした。本システムの最大の特徴は、術前画像と術前血液サンプルのみで予後予測が可能となる点であり、複数の治療選択肢を有する肝細胞癌において治療法選択の一助になり得ると考えていた。

3. 研究の方法

教室では 2009 年までに肝癌根治手術を施行した症例のうち 125 例において、臨床病理学的データに加え血清中の 6 遺伝子のメチル化発現のデータを有していた。この 125 例を Training sample として、臨床データとメチル化遺伝子の両者の情報を用いて新たなスコア式を構築した。さらに、2010 年～2015 年までに当科で肝細胞癌根治手術を施行した 229 症例の臨床データと血清はすでに得られていたため、血清メチル化遺伝子の定量解析を行い、これらを Validation sample として 2 年以内の早期再発の有無を評価しスコア式の妥当性を検証した。

4. 研究成果

(1) 臨床データと血清中の 6 遺伝子のメチル化発現のデータが得られている肝細胞癌根治術後 125 例において、過去の研究結果より予後に関連する臨床病理学的因子 6 つ (NxS 因子、組織学的脈管侵襲、分化度、血清アルブミン値、血小板数、ICG15 分値) と血清中の 6 候補遺伝子 (CCND2, RASSF1A, SPINT2, CFTR, BASP1, SRD5A2) のメチル化発現と根治切除後 HCC の予後との関連を解析し training sample としてシステム構築を図ったが、統合スコアにおいて以前の結果⁴⁾ (6 遺伝子中、過半数以上のメチル化陽性症例を serum methylation signature (SMS) 陽性群と定義して、SMS 陽性群では肝内早期再発が多く (P=0.008), DFS と OS が短く (P<0.001, P<0.001)、多変量解析では SMS 陽性は DFS と OS の独立した予後因子 (hazard ratio (HR), 2.182; P<0.001, HR, 4.198; P<0.001) を上回るパフォーマンスを得ることは出来なかった。よって、2010 年～2015 年までに当科で肝細胞癌根治手術を施行した 229 症例の臨床データ収集と血清メチル化遺伝子の定量解析を行い、こちらを training sample としてシステム構築も試みたが、これも高精度なシステム構築には至らなかった。原因としては、血清中の 6 候補遺伝子 (CCND2, RASSF1A, SPINT2, CFTR, BASP1, SRD5A2) のメチル化発現が HCV 関連 HCC より得られた結果であり、近年増加しつつある non BC HCC に対応できていなかった可能性が挙げられる。

(2) 一方で臨床病理学的因子に限定すると、「腫瘍個数×最大腫瘍径」である Number x Size 因子 (NxS 因子) と肝機能因子として肝癌取扱い規約の肝障害度 (Liver damage: LD) を統合した Mathematical Integrated model for Tumor Staging score (MITS score) を構築しすでにその有用性を発表しているが、これに加え新たに新規肝機能因子として注目を集めている Albumin-Bilirubin grade (ALBI grade) と NxS 因子を統合した MITS-ALBI score を構築して、大阪大学と大阪国際がんセンターの 940 症例にて validation を行ったところ、

		Score		
		0	1	2
MITS-CP score	The NxS factor	<4	4-9	>9
	Child-Pugh classification	A	B	C
MITS-LD score	The NxS factor	<4	4-9	>9
	Liver damage classification	A	B	C
MITS-ALBI score	The NxS factor	<4	4-9	>9
	ALBI grade	1	2	3

MITS-CP, the mathematical integrated model for tumor staging with the Child-Pugh classification; MITS-LD, the mathematical integrated model for tumor staging with the degree of liver damage classification; MITS-ALBI, the mathematical integrated model for tumor staging with Albumin-Bilirubin grade; N x S, the product of tumor number and size

図 1 MITS score

、無再発生存期間、全生存期間ともに予後の層別化に有用であることが示された。この内容が 2019 年度に Oncology letters 誌に掲載された。本来の目的である臨床病理学的因子と新規分子

生物学的バイオマーカーの combination を用いた高精度な予後予測システムの構築には至っていないが、解析の経過で Albumin-Bilirubin grade (ALBI grade) と NxS 因子を統合した MITS-ALBI score が構築されたことは臨床的意義が大きいと考えている。すなわち、「腫瘍径」「腫瘍個数」「血清 Albumin 値」「血清 Bilirubin 値」のわずか 4 項目で、肝癌予後予測をシンプルに行い得る予測システムを構築できた。これにより、従来の MITS score の構成要素であった「ICGR15 分値」が不要となり、よりシンプルなスコア式を構築することが可能となり、論文化するに至った⁵⁾。

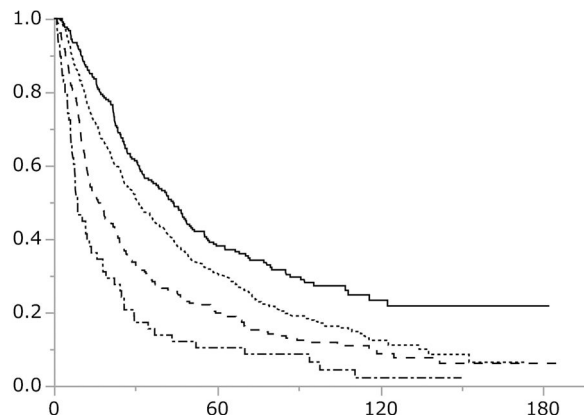


図 2 MITS-ALBI score の無再発生存曲線

(3) 今回、我々の本来の目的である臨床病理学的因子と新規分子生物学的バイオマーカーの combination を用いた高精度な予後予測システムの構築には至らなかったが、当院肝臓内科より新たな研究結果として、高感度メチル化解析法を用いた血清 SEPT9 メチル化測定によって、肝癌では、健常者および慢性肝疾患（肝癌なし）よりも有意に増加し、Cut-off ≥ 4.6 copies 設定で検査感度 63.2%、特異度 90.0%、BCLC stage 0 42%、A 58%、B 61%、C76%と stage 進展で増加しているという結果が得られている。肝細胞癌における外科切除症例の血清 SEPT9 メチル化測定を現在進めており、新たなスコアリングシステム構築に向けて準備を進めている。

<引用文献>

1. Tokumitsu Y, Sakamoto K, Tokuhisa Y, Matsui H, Matsukuma S, Maeda Y, Sakata K, Wada H, Eguchi H, Ogihara H, Fujita Y, Hamamoto Y, Iizuka N, Ueno T, Nagano H. A New Prognostic Model for Hepatocellular Carcinoma Recurrence After Curative Hepatectomy *Oncol Lett.* 2018 Apr;15(4):4411-4422. 査読有
2. Tokumitsu Y, Nagano H. Current HCC Staging Systems: Their Uses and Limitations. *Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis and Treatment 3rd edition* 2016 Aug : 425-442. 査読無
3. Tokumitsu Y, Tamesa T, Matsukuma S, Hashimoto N, Maeda Y, Tokuhisa Y, Sakamoto K, Ueno T, Hazama S, Ogihara H, Fujita Y, Hamamoto Y, Oka M, Iizuka N. An accurate prognostic staging system for hepatocellular carcinoma patients after curative hepatectomy. *Int J Oncol.* 2015 Mar;46(3):944-52. doi: 10.3892/ijo.2014.2798. 査読有
4. Kanekiyo S, Iizuka N, Tsunedomi R, Tokumitsu Y, Hashimoto N, Tokuhisa Y, Maeda Y, Iida M, Sakamoto K, Tamesa T, Fujita Y, Yoshino S, Hazama S, Hamamoto Y, Oka M. Preoperative serum methylation signature as prognostic tool after curative hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res.* 2015 Feb;35(2):997-1007. 査読有
5. Tokumitsu Y, Shindo Y, Matsui H, Matsukuma S, Nakajima M, Suzuki N, Takeda S, Wada H, Kobayashi S, Eguchi H, Ueno T, Nagano H. Utility of Scoring Systems Combining the Product of Tumor Number and Size With Liver Function for Predicting the Prognosis of Patients With Hepatocellular Carcinoma After Hepatectomy *Oncol Lett.* 2019 Oct;18(4):3903-3913.
6. Kotoh Y, Suehiro Y, Saeki I, Hoshida T, Maeda M, Iwamoto T, Matsumoto T, Hidaka I, Ishikawa T, Takami T, Higaki S, Fujii I, Suzuki C, Shindo Y, Tokumitsu Y, Nagano H, Sakaida I, Yamasaki T. Novel Liquid Biopsy Test Based on a Sensitive Methylated SEPT9 Assay for Diagnosing Hepatocellular Carcinoma 2020 Jan 2;4(3):461-470

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yukio Tokumitsu, Kazuhiko Sakamoto, Yoshihiro Tokuhisa, Hiroto Matsui, Satoshi Matsukuma, Yoshinari Maeda, Koichiro Sakata, Hiroshi Wada, Hidetoshi Eguchi, Hiroyuki Ogihara, Yusuke Fujita, Yoshihiko Hamamoto, Norio Iizuka, Tomio Ueno, Hiroaki Nagano	4. 巻 15(4)
2. 論文標題 A new prognostic model for hepatocellular carcinoma recurrence after curative hepatectomy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Lett. 2018	6. 最初と最後の頁 4411-4422.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2018.7821	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 該当する

1. 著者名 徳光 幸生, 松隈 聡, 坂本 和彦, 徳久 善弘, 松井 洋人, 兼清 信介, 友近 忍, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭	4. 巻 38巻4号
2. 論文標題 敗血症性ショックに対するPMX-DHPの有用性	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本腹部救急医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 643-648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Tokumitsu Yukio, Shindo Yoshitaro, Matsui Hiroto, Matsukuma Satoshi, Nakajima Masao, Suzuki Nobuaki, Takeda Shigeru, Wada Hiroshi, Kobayashi Shogo, Eguchi Hidetoshi, Ueno Tomio, Nagano Hiroaki	4. 巻 Oct;18(4)
2. 論文標題 Utility of scoring systems combining the product of tumor number and size with liver function for predicting the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 3903-3913
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2019.10688	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 該当する

1. 著者名 徳光 幸生, 新藤 芳太郎, 松隈 聡, 松井 洋人, 中島 正夫, 鈴木 伸明, 武田 茂, 上野 富雄, 永野 浩昭	4. 巻 第42巻第6号
2. 論文標題 肝癌手術	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 消化器外科	6. 最初と最後の頁 959-967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徳光 幸生, 坂本 和彦, 徳久 善弘, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題 腹腔鏡下葉切除を安全・確実にを行うための術野展開の工夫
3. 学会等名 日本消化器外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳光 幸生, 新藤 芳太郎, 松井 洋人, 松隈 聡, 中島 正夫, 兼清 信介, 友近 忍, 吉田 晋, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題 腹腔鏡下系統的肝切除を定型化するための術野展開の工夫
3. 学会等名 日本臨床外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳光 幸生, 新藤 芳太郎, 松井 洋人, 松隈 聡, 中島 正夫, 兼清 信介, 友近 忍, 吉田 晋, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題 鏡視下肝切除における胆嚢板牽引法を用いた右葉系グリソン確保
3. 学会等名 日本内視鏡外科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 徳光 幸生, 新藤 芳太郎, 松井 洋人, 松隈 聡, 中島 正夫, 兼清 信介, 友近 忍, 吉田 晋, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題 十二指腸狭窄を伴う膵癌に対する腹腔鏡下胃空腸バイパス術
3. 学会等名 日本腹部救急医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Yukio Tokumitsu, Shoichi Hazama, Shun Doi, Koji Tamada, Keiko Udaka, Shiro Akinaga, Yasunari Koki, Toshinari Uematsu, Yuki Nakagami, Hiroto Matsui, Yoshitaro Shindo, Shinsuke Kanekiyo, Shinobu Tomochika, Michihisa Iida, Shin Yoshida, Nobuaki Suzuki, Shigeru Takeda, Shigefumi Yoshino, Tomio Ueno, Hiroaki Nagano
2. 発表標題	Induction of antigen specific CD8+ T cell infiltration by a novel neoadjuvant vaccine containing HSP70 and GPC3 peptides plus soluble LAG-3 and Poly-IC:LC: Interim results of a Phase I study
3. 学会等名	ASCO 2019
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	徳光 幸生, 坂本 和彦, 徳久 善弘, 松隈 聡, 松井 洋人, 兼清 信介, 友近 忍, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 後藤 邦仁, 小林 省吾, 江口 英利, 友國 晃, 和田 浩志, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題	肝細胞癌術後患者におけるMITS scoreの予後予測能の検証
3. 学会等名	第54回 日本肝臓学会総会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	徳光 幸生, 江口 英利, 永野 浩昭
2. 発表標題	肝細胞癌の外科的治療成績におけるC型肝炎ウイルス排除の意義
3. 学会等名	第43回 日本肝臓学会西部会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	徳光 幸生, 新藤 芳太郎, 吉田 晋, 飯田 通久, 鈴木 伸明, 武田 茂, 吉野 茂文, 碓 彰一, 上野 富雄, 永野 浩昭
2. 発表標題	腹腔鏡肝切除における肝実質切離法の変遷と進歩
3. 学会等名	第74回 日本消化器外科学会総会
4. 発表年	2019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
--	---------------------------	-----------------------	----