

令和 6 年 4 月 22 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07990

研究課題名(和文) マウス肝癌移植モデルを利用した肝炎沈静化後ヒト肝癌再発メカニズムの解明

研究課題名(英文) Analysis of liver cancer recurrence in patients after improvement of liver inflammation using mice model

研究代表者

田守 昭博 (Tamori, Akihiro)

大阪公立大学・大学院医学研究科・特任教授

研究者番号：30291595

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)：本研究では肝細胞癌根治後の再発について臨床データと動物モデルを相互に活用することにより新たな知見獲得を目指した。まず臨床データよりHCV陽性肝癌例を含む1180例の予後因子を解析しHCV RNA陰性化例において3年以内に50%以上患者に肝癌再発を認めた。基礎研究では、Luciferase陽性Hepa1-6細胞(1x10⁶)をマウスへ投与し肝臓内に腫瘍を形成させるモデルを作成した。Hepa1-6細胞を投与後に脾摘した群としない群において肝臓内の腫瘍生着率に有意差があった(脾臓摘出なし：<30%、脾臓摘出あり：>95%)。脾臓が肝癌生着に関与してい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

肝細胞癌の要因である肝炎ウイルスを完全に排除しても一度発癌した患者では肝癌が発生するリスクが高い事が再検証された。また培養肝癌細胞をマウスへ投与する研究から癌細胞が肝臓に生着する病態に脾臓が関与している事が推測された。今後、肝癌の転移や再発を制御する脾臓由来因子を同定できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to acquire new insights into the recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) after curative treatment by mutually utilizing clinical data and animal models. First, we analyzed prognostic factors of 1180 cases, including HCV-positive HCC cases, from clinical data, and found that more than 50% of patients experienced HCC recurrence within 3 years after achieving HCV RNA negativity.

In the basic research, we created a model by administering Luciferase-positive Hepa1-6 cells (1x10⁶) to mice to induce tumor formation in the liver. There was a significant difference in tumor engraftment rates in the liver between groups that underwent splenectomy after Hepa1-6 cell administration and those that did not (no splenectomy: <30%, splenectomy: >95%). This suggests the potential involvement of the spleen in HCC engraftment in the liver.

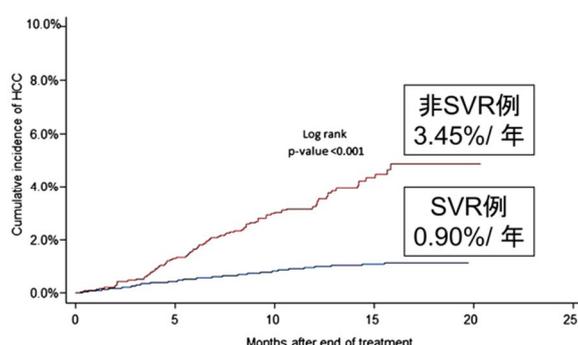
研究分野：消化器内科学

キーワード：肝細胞癌 再発 転移 動物モデル 脾臓 臨床マーカー HCV HBV

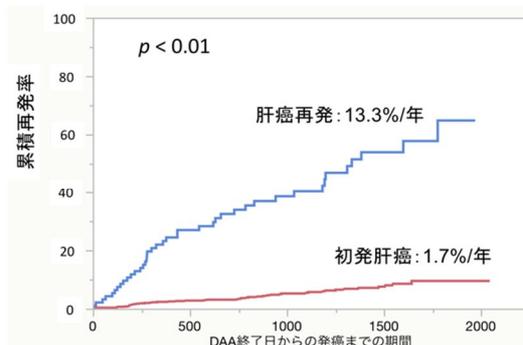
様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は悪性腫瘍による死因の第5位であり癌診療連携拠点病院癌登録患者の成績(2010-2011年)では5年生存率は40%である。一方TNM分類III期以上に進行した患者では20%未満であり未だに予後不良である。その要因の一つは根治後も残肝に再発を繰り返す病態にあると考えられる。近年、肝癌のリスク因子であった肝炎ウイルスは優れた抗ウイルス剤の開発により制御可能となった。C型慢性肝炎患者ではウイルス排除(SVR)されると肝炎は鎮静化し壊死・再生が亢進した病態は終息する。その結果、肝線維化の改善と肝癌発症率の低下が報告されている(下図左)。しかし一度発癌した患者では肝炎ウイルスを制御しても高率に再発する(下図右)。非ウイルス性(代謝性)肝癌患者においても禁酒や生活習慣の改善では十分な再発予防に結びつかない。『肝炎が鎮静化した後も肝細胞癌が高率に再発する要因は何か』という問いは肝癌診療上克服すべき大きな課題である。



Kanwal F. et al., *Gastroenterology* 153: 996-1005, 2017.



申請者の施設: 930例の成績

2. 研究の目的

肝癌根治例から経時的に採取した臨床サンプルを用いて肝炎を鎮静化させた後にも再発する肝癌の要因を特定することである。

3. 研究の方法

2010年以降にデータベースに登録された肝癌根治術後の550例から抗ウイルス治療著効例(HBV及びHCV感染例)および禁酒継続例を抽出しさらに癌根治術後のALTが基準値以内を維持したことを条件に対象例を絞込む。対象例の肝癌再発様式・再発時期を検討し**肝炎鎮静化例の累積肝癌再発率を算出する**。再発に寄与する臨床的要因を解析する。併せて解析対象例にリンクした保存サンプル(血液・肝臓)をリストアップし新規再発因子の探索に用いる。

ヒト肝癌再発の肝内転移の擬似モデルとしてマウスC57BL6JへThioacetamideを腹腔内投与後にHepa1-6(同系マウス由来肝細胞癌株:HCC)を脾内投与し肝内へのHCCの生着有無を観察する。生着したHCC・その担癌肝組織・投与した培養HCCにおいて発現している遺伝子配列をマイクロアレイにて網羅的に解析する。発現に差異があった遺伝子配列から機能しているタンパク質を同定する。動物モデルから同定されたタンパクをヒトサンプルについて検証し新たな肝癌再発因子を明らかにする。

4. 研究成果

臨床研究としてHCV陽性肝癌例を含む1180例の予後因子を解析した。抗ウイルス治療によるHCV RNA持続陰性化例に注目して生命予後を調査した結果、腎機能低下例(eGFR 68)、AFP高値(AFP 0.76)、肝予備能であるALBI grade 2以上において予後不良であった。HCV RNA持続陰性

化例であっても観察期間3年以内に50%以上の肝癌再発が発生しており、再発に対する対策が必要であることを再確認した。次に全身化学療法後の肝細胞癌の再発と生命予後に及ぼす抗ウイルス効果を報告した。対象はレンパチニブ投与79例とアテゾリズマブ+ベバシズマブ併用30例である。観察期間が短期でありアテゾリズマブ+ベバシズマブ併用治療の予後に抗ウイルス効果の関与は認めなかった。またレンパチニブ投与群においても抗ウイルス治療による再発抑止効果は認めていない。一方、治療開始前後の血液サンプルの解析から可溶性免疫チェックポイント分子を網羅的に解析し、治療効果に相関する分子を同定した。

基礎研究では、マウス（C57BL6J）を用いてLuciferase陽性Hepa1-6細胞(1×10^6)を脾臓内へ注射し肝臓内に腫瘍を形成させるモデルを確立した。脾臓内へHepa1-6細胞を注入後に脾摘した群としない群において肝臓内の腫瘍生着率が大きく異なる事を見出した（脾臓摘出なし：<30%、脾臓摘出あり：>95%）。そこで脾臓から腫瘍の生着を制御する因子が産生されていると推測し、脾摘群と脾摘なし群の血液サンプルと肝組織サンプルからRNAを採取し遺伝子配列を網羅的に解析した。幾つかの候補配列（タンパク質をコード）を抽出したが研究期間内にタンパク同定までは達成できなかった。動物モデルの結果を検証するために臨床データベースから脾摘した肝癌患者を抽出し予後を追跡中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Uchida-Kobayashi S, Kageyama K, Takemura S, Matsumoto K, Odagiri N, Jogo A, Kotani K, Kozuka R, Motoyama H, Kawamura E, Hagihara A, Yamamoto A, Fujii H, Tanaka S, Enomoto M, Tamori A, Miki Y, Kubo S, Kawada N.	4. 巻 11
2. 論文標題 3.Efficacy of rechallenge transcatheter arterial chemoembolization after lenvatinib treatment for advanced hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JGH Open	6. 最初と最後の頁 754-762
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jgh3.12819	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 Huu Hoang T, Sato-Matsubara M, Yuasa H, Matsubara T, Thuy LTT, Ikenaga H, Phuong DM, Hanh NV, Hieu VN, Hoang DV, Hai H, Okina Y, Enomoto M, Tamori A, Daikoku A, Urushima H, Ikeda K, Dat NQ, Yasui Y, Shinkawa H, Kubo S, Yamagishi R, Ohtani N, Yoshizato K, Gracia-Sancho J, Kawada N.	4. 巻 39
2. 論文標題 4.Cancer cells produce liver metastasis via gap formation in sinusoidal endothelial cells through proinflammatory paracrine mechanisms.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Adv.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abo5525	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 Dong MP, Thanh Thuy LT, Hoang DV, Hai H, Hoang TH, Sato-Matsubara M, Hieu VN, Daikoku A, Hanh NV, Urushima H, Dat NQ, Uchida-Kobayashi S, Enomoto M, Ohtani N, Tamori A, Kawada N.	4. 巻 192
2. 論文標題 6.Soluble Immune Checkpoint Protein CD27 Is a Novel Prognostic Biomarker of Hepatocellular Carcinoma Development in Hepatitis C Virus-Sustained Virological Response Patients.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Pathol.	6. 最初と最後の頁 1379-1396
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajpath.2022.07.003.	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 Kozuka R, Enomoto M, Dong MP, Hai H, Thuy LTT, Odagiri N, Yoshida K, Kotani K, Motoyama H, Kawamura E, Hagihara A, Fujii H, Uchida-Kobayashi S, Tamori A, Kawada N.	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Soluble programmed cell death-1 predicts hepatocellular carcinoma development during nucleoside analogue treatment.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-03706-w	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 Ikenaga H, Uchida-Kobayashi S, Tamori A, Odagiri N, Yoshida K, Kotani K, Motoyama H, Kozuka R, Kawamura E, Hagihara A, Fujii H, Enomoto M, Kawada N.	4. 巻 29(1)
2. 論文標題 Direct-acting antivirals reduce the risk of tumour progression of hepatocellular carcinoma after curative treatment.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Viral Hepat	6. 最初と最後の頁 52-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jvh.13627	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 Matsui T, Hamada-Tsutsumi S, Naito Y, Nojima M, Iio E, Tamori A, Kubo S, Ide T, Kondo Y, Eguchi Y, Komori A, Morine Y, Shimada M, Utsunomiya T, Shirabe K, Kimura K, Hiasa Y, Chuaypen N, Tangkijvanich P, Naiki-Ito A, Takahashi S, Ochiya T, Tanaka Y.	4. 巻 25(1)
2. 論文標題 Identification of microRNA-96-5p as a postoperative, prognostic microRNA predictor in non-viral hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hepatol Res	6. 最初と最後の頁 93-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13674	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 Tanaka S, Shinkawa H, Tamori A, Takemura S, Uchida-Kobayashi S, Amano R, Kimura K, Ohira G, Nishio K, Tauchi J, Kinoshita M, Kawada N, Kubo S.	4. 巻 51(11)
2. 論文標題 4.Postoperative direct-acting antiviral treatment after liver resection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hepatol Res	6. 最初と最後の頁 1102-1114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13709	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5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小塚立蔵、田守昭博、河田則文
2. 発表標題 実臨床でのDAA治療によるHCV制御下の生命予後に寄与する因子の検討
3. 学会等名 日本肝臓学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 打田佐和子、小田桐直志、武藤芳美、小谷晃平、小塚立蔵、元山宏行、川村悦史、萩原淳司、藤井英樹、榎本大、田守昭博、河田則文
2. 発表標題 全身治療導入SVR肝癌の予後についての検討
3. 学会等名 日本肝癌研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 打田佐和子、田守昭博、武藤芳美、小田桐直志、小谷晃平、小塚立蔵、元山宏行、川村悦史、萩原淳司、藤井英樹、榎本大、河田則文
2. 発表標題 レンパチニブ導入SVR肝癌の予後についての検討
3. 学会等名 日本消化器病学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 打田佐和子、小田桐直志、萩原淳司、武藤芳美、小谷晃平、小塚立蔵、元山宏行、川村悦史、藤井英樹、榎本大、田守昭博、河田則文
2. 発表標題 全身治療導入肝細胞癌における背景肝と治療効果
3. 学会等名 日本肝臓学会西部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田守昭博、打田佐和子、小塚立蔵、元山宏行、小谷晃平、小田桐直志、川村悦史、藤井英樹、萩原淳司、榎本大、河田則文
2. 発表標題 抗HCV治療例の臨床経過から見た成果と課題
3. 学会等名 日本肝臓学会総会
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
研究分担者	松原 三佐子(佐藤三佐子) (Sato-Matsubara Misako) (00635120)	大阪公立大学・大学院獣医学研究科・准教授 (24405)	
研究分担者	田中 肖吾 (Shogo Tanaka) (50382114)	大阪公立大学・大学院医学研究科・客員研究員 (24405)	

	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
研究協力者	小塚 立蔵 (Kozuka Ritsuzo)		
研究協力者	打田 佐和子 (Uchida-Kobayashi Sawako)		
研究協力者	榎本 大 (Enomoto Masaru)		
研究協力者	レイチイタン トウイ (Le Thi Thanh Thuy)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	河田 則文 (Kawada Norifumi)		

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