

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15544

研究課題名（和文）肝細胞癌における転移の分子機構および腫瘍免疫回避機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanisms of metastasis and tumor immune evasion in hepatocellular carcinoma

研究代表者

富野 高広（TOMINO, Takahiro）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：10906340

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）：本研究では、肝細胞癌における転移の分子機構および腫瘍免疫回避機構を解明することを目的とした。当院で肝細胞癌に対して生体肝移植術を施行した症例でVETCやAng-2、mTORの発現を免疫染色にて評価した。VETC陽性患者はVETC陰性患者に比べ有意にmTOR陽性率が高く、Ang-2発現は、mTOR陰性群よりもmTOR陽性群で有意に高かった。生体肝移植後に肝細胞癌の再発を認めた症例のうちmTORの発現はVETC陰性の再発病変と比較して陽性の再発病変で有意に高かった。mTOR発現は、VETC陰性の原発巣および再発病変よりもVETC陽性の原発巣および再発病変で高いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により肝細胞癌に対して生体肝移植術を施行した患者においてmTOR発現は、VETC陰性の原発巣および再発病変よりもVETC陽性の原発巣および再発病変で高いことが明らかとなった。生体肝移植後のエベロリムスの使用がVETC陽性の肝細胞癌患者における腫瘍再発を予防または減少させる可能性があることが示唆され、生体肝移植術を施行した肝細胞癌患者の治療に重要な意味を持つ。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the molecular mechanisms of metastasis and tumor immune evasion in hepatocellular carcinoma (HCC). Cases of HCC patients who underwent hepatectomy or living donor liver transplantation at our institution were evaluated for the expression of VETC, Ang-2, and mTOR by immunohistochemical staining. Among the patients, those who were VETC-positive showed a significantly higher rate of mTOR positivity compared to VETC-negative patients, and the expression of Ang-2 was significantly higher in the mTOR-positive group than in the mTOR-negative group. Among cases of HCC recurrence after living donor liver transplantation, the expression of mTOR was significantly higher in recurrent lesions that were positive for VETC compared to those that were negative for VETC. Additionally, mTOR expression was found to be higher in primary and recurrent lesions that were VETC-positive compared to those that were VETC-negative.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：VETC mTOR Ang-2 肝細胞癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌の薬物療法として免疫チェックポイント阻害剤が近年保険適応となった。様々な解析により免疫チェックポイント阻害剤の不応因子が徐々に解明されつつあるが、未だ決定的な因子は同定されておらず、更なる知見の集積が必要である。近年、肝細胞癌において腫瘍が類洞様血管に取り囲まれて塊状となり、血管内に浸潤して転移するという新たな VETC 様転移が存在することが明らかとなった。VETC 様転移は、肝細胞癌の早期再発と相関し、VETC の形成には、Angiopoietin-2 (Ang2) が必須であることが報告されている。我々は、肝細胞癌切除症例において fluorine-18 fluorodeoxyglucose (18F-FDG) 高度集積かつ VETC 陽性かつ programmed cell death ligand-1 (PD-L1) 陽性症例は非常に予後不良であること、肝移植術を受けた肝細胞癌患者において VETC 陽性症例は予後不良で、Ang2 が高発現であり、さらに腫瘍内の T 細胞浸潤が抑制されることを以前報告し、VETC や Ang2 陽性は肝細胞癌における予後不良因子であることが示唆された。一方、免疫チェックポイント阻害剤の効果が限定的である原因として腫瘍内の血管形成異常が報告されており、その形成異常に vascular endothelial growth factor (VEGF) や Ang2 が関与していることが近年指摘されている。以上のことから肝細胞癌の転移や腫瘍免疫回避に Ang2 が関与する可能性はあるが、その詳細は未だ不明な部分が多い。

### 2. 研究の目的

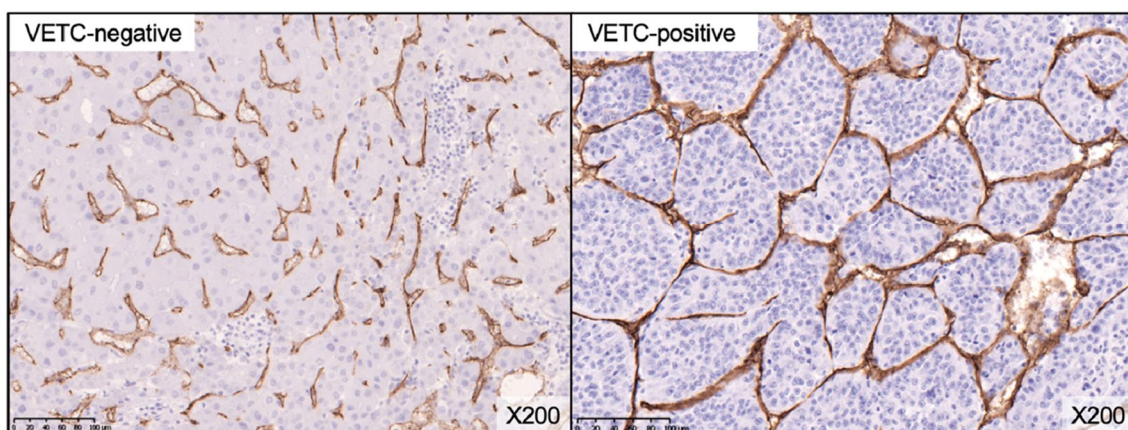
本研究では、肝細胞癌における転移の分子機構および腫瘍免疫回避機構を解明し、その中心的役割を担う遺伝子を制御する薬剤を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

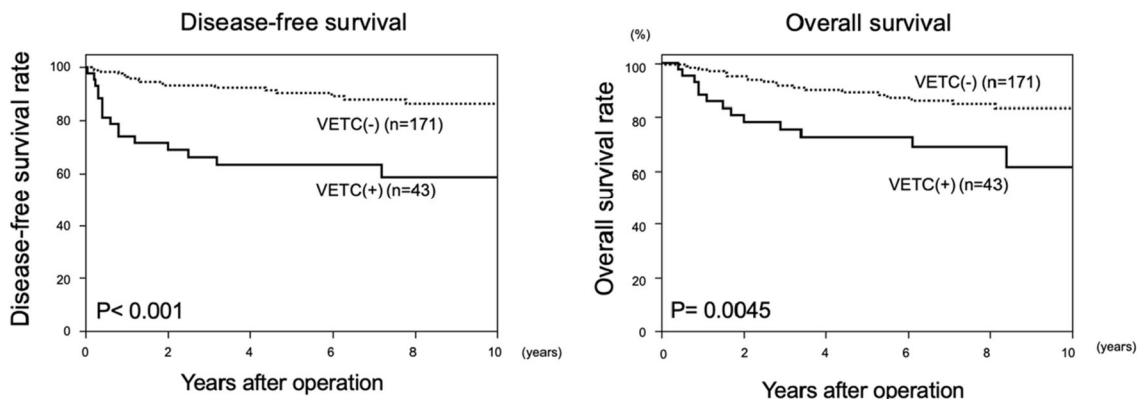
肝細胞癌で生体肝移植を受けた 214 人の患者のデータベースを用いて、VETC 陽性の症例で mTOR タンパク質と angiopoietin-2 (Ang-2) の発現を免疫組織化学染色で調べた。VETC および mTOR の発現を初発および再発病変の両方で評価した。

### 4. 研究成果

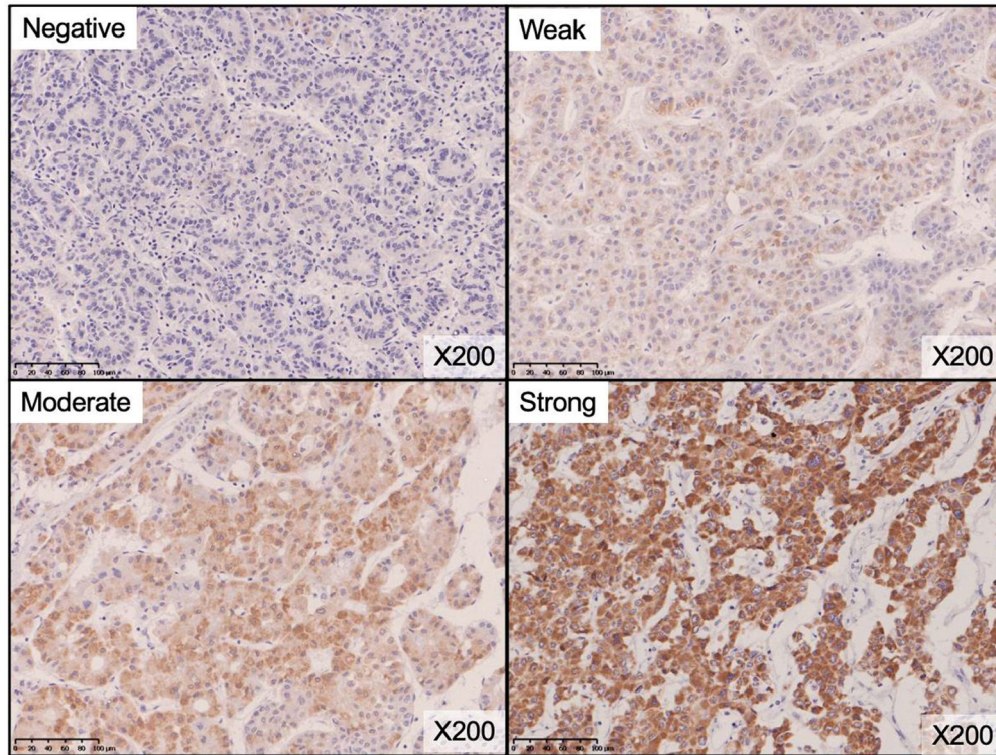
(1) 肝細胞癌に対する生体肝移植症例における VETC の免疫組織化学染色



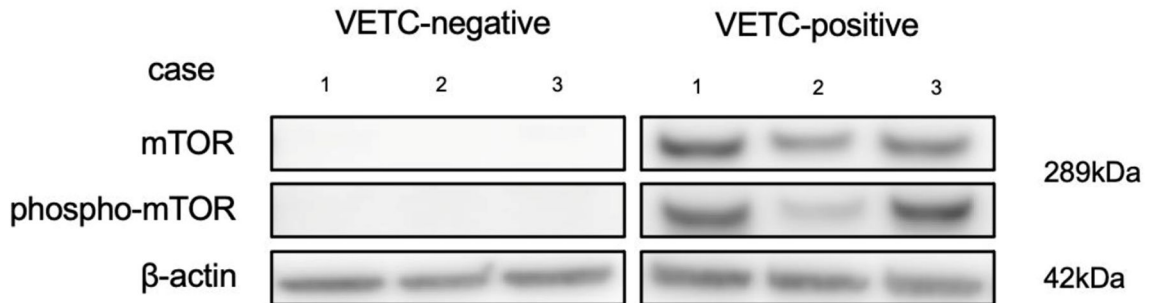
(2) 肝細胞癌に対する生体肝移植症例において VETC 陽性群は予後不良である



(3) 肝細胞癌に対する生体肝移植症例における mTOR の免疫組織化学染色



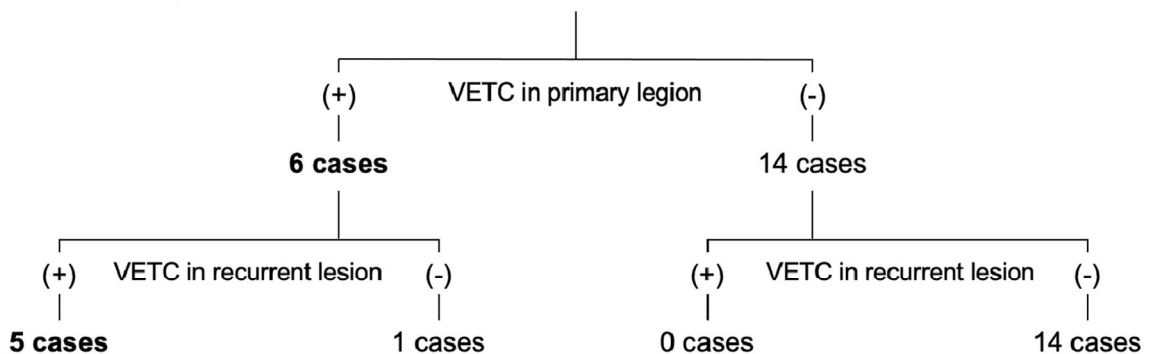
(4) 肝細胞癌に対する生体肝移植症例における mTOR のウエスタンブロット



(5) 再発巣が手術可能な症例での原発巣や再発巣における VETC 発現の解析

肝細胞癌で生体肝移植を受けた 214 人の患者のうち 34 例に再発を認め、20 例は手術可能であった。手術可能な 20 例のうち、6 例は原発巣が VETC 陽性であり、そのうち 5 例は再発巣も VETC 陽性であった。また、原発巣が VETC 陰性の症例は全例で再発巣も VETC 陰性であった ( $p < 0.001$ )。

**Operable cases for recurrent HCC after LDLT: 20 cases**



| VETC             |     | Primary lesion |     |
|------------------|-----|----------------|-----|
|                  |     | (-)            | (+) |
| Recurrent lesion | (-) | 14             | 1   |
|                  | (+) | 0              | 5   |

**P < 0.001**

(6)再発巣が手術可能な症例での原発巣や再発巣における mTOR 発現の解析  
 手術可能な 20 例のうち 6 例が原発巣の mTOR が陽性であり、そのうち 5 例が再発巣の VETC が陽性で 1 例が再発巣の VETC が陰性であった。原発巣の mTOR 陽性と再発巣の VETC 陽性は有意に相関していた ( $p=0.0018$ )。

TABLE Clinicopathological characteristics of patients who underwent operation for recurrent HCC after LDLT.

| Case | Age | Sex | Splenectomy (at LDLT) | Differentiation (primary) | Recurrent lesion   | Use of Everolimus | VETC (primary) | mTOR (primary) | VETC (recurrent) | mTOR (recurrent) |
|------|-----|-----|-----------------------|---------------------------|--------------------|-------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|
| 1    | 58  | F   | No                    | Moderate                  | Liver              | No                | -              | -              | -                | +                |
| 2    | 59  | F   | No                    | Moderate                  | Liver              | No                | -              | -              | -                | -                |
| 3    | 58  | F   | No                    | Well                      | Rectum, Lymph node | No                | -              | -              | -                | -                |
| 4    | 51  | M   | Yes                   | Poor                      | Lung               | No                | +              | +              | -                | -                |
| 5    | 65  | M   | Yes                   | Poor                      | Rectum             | No                | -              | -              | -                | -                |
| 6    | 47  | F   | Yes                   | Poor                      | Ileum              | No                | -              | -              | -                | -                |
| 7    | 59  | F   | No                    | Poor                      | Lung               | No                | -              | -              | -                | -                |
| 8    | 64  | F   | Yes                   | Poor                      | Lung               | No                | +              | +              | +                | +                |
| 9    | 47  | F   | Yes                   | Moderate                  | Liver              | No                | +              | -              | +                | +                |
| 10   | 48  | M   | Yes                   | Moderate                  | Lung               | Yes               | +              | +              | +                | +                |
| 11   | 64  | F   | Yes                   | Poor                      | Lung               | Yes               | -              | -              | -                | -                |
| 12   | 54  | M   | Yes                   | Poor                      | Liver              | No                | -              | -              | -                | -                |
| 13   | 63  | M   | Yes                   | Poor                      | Liver, Lymph node  | No                | -              | -              | -                | -                |
| 14   | 64  | M   | No                    | Moderate                  | Adrenal gland      | No                | -              | +              | -                | -                |
| 15   | 52  | F   | No                    | Moderate                  | Lung               | No                | -              | -              | -                | +                |
| 16   | 47  | M   | No                    | Moderate                  | Lung               | No                | -              | -              | -                | -                |
| 17   | 40  | M   | No                    | Poor                      | Adrenal gland      | No                | -              | -              | -                | -                |
| 18   | 55  | M   | No                    | Poor                      | Lymph node         | No                | +              | +              | +                | +                |
| 19   | 62  | M   | No                    | Poor                      | Lung               | No                | -              | -              | -                | -                |
| 20   | 62  | M   | Yes                   | Poor                      | Lung               | No                | +              | +              | +                | +                |

Abbreviations: HCC, hepatocellular carcinoma; LDLT, living donor liver transplantation; mTOR, mechanistic target of rapamycin; VETC, vessels that encapsulate tumor cluster; Primary, primary lesion, Recurrent, Recurrent lesion.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Katsuya Toshida, Shinji Itoh, Takeo Toshima, Shohei Yoshiya, Ryoichi Goto, Atsuyoshi Mita, Noboru Harada, Kenichi Kohashi, Yoshinao Oda, Tomoharu Yoshizumi  | 4. 巻<br>8             |
| 2. 論文標題<br>Clinical significance of mechanistic target of rapamycin expression in vessels that encapsulate tumor cluster-positive hepatocellular carcinoma patients who have undergone living donor liver transplantation. | 5. 発行年<br>2023年       |
| 3. 雑誌名<br>Ann Gastroenterol Surg   | 6. 最初と最後の頁<br>163-171 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1002/ags3.12735.   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

〔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<br>（ローマ字氏名）<br>（研究者番号） | 所属研究機関・部局・職<br>（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 |
|---------|---------|
|---------|---------|