

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	清野 智
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 829 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Clinical outcome of hepatocellular carcinoma can be predicted by the expression of hepatic progenitor cell markers and serum tumour markers (肝前駆細胞マーカーの発現と血清腫瘍マーカーにより肝細胞癌の臨床的悪性度が推測できる)
論文審査委員	主査 教授 青山 英史 副査 教授 寺井 崇二 副査 准教授 横山 純二

博士論文の要旨

【背景】肝癌は、癌による死亡者数では世界で 2 番目に多い癌種であり、その 90%は原発性の肝細胞癌から構成される。肝細胞癌は、C 型肝炎ウイルスや B 型肝炎ウイルスの感染、アルコールの過剰摂取、非アルコール性脂肪性肝炎など、様々な背景によって多段階に癌の発生と進行が進む難治性の癌であり、組織学的に非常に不均一な癌細胞集団から構成されている。このことが肝細胞癌の治療における患者の層別化を困難なものとしており、腫瘍細胞の挙動や予後因子など包括的な肝細胞癌のバイオマーカーの確立が必要とされている。近年、肝細胞癌の患者の層別化の手法として、従来の血清腫瘍マーカーに加えて、遺伝子プロファイリングやそれと関連して肝幹/前駆細胞マーカーが注目されている。【目的】肝前駆細胞マーカーの発現及び血清腫瘍マーカーと、肝細胞癌の臨床的悪性度の関係を明らかにする。

【方法】2008 年から 2014 年の間に新潟大学医歯学総合病院(160 症例)と新潟県立中央病院(91 症例)において、肝細胞癌の患者から手術によって摘出された肝細胞癌病理検体 251 症例について、発現すると臨床予後不良になると考えられている 4 種類の肝幹・前駆細胞マーカー (EpCAM, NCAM, DLK-1, CK19) の発現プロファイルを免疫組織染色により解析し、患者の臨床病理学的な特徴、癌悪性度、および血清腫瘍マーカー (AFP: α -fetoprotein, AFP-L3: lectin-reactive α -fetoprotein, DCP: des- γ -carboxy prothrombin)、および手術後の患者予後との相関についてレトロスペクティブに解析した。また、血清腫瘍マーカーを用いた肝前駆細胞マーカー発現の予測能について ROC 解析を用いて解析した。【結果】各肝前駆細胞マーカーの発現割合は、DLK-1: 18.3%, NCAM: 7.1%, EpCAM: 14.3%, CK19: 8.0%であった。肝前駆細胞マーカーの発現頻度は血清腫瘍マーカーである AFP, AFP-L3 のレベル、腫瘍血管の浸潤の頻度、癌細胞の分化度から判断される腫瘍の悪性度との相関が認められた。各肝前駆細胞マーカーの発現について予後解析を行ったところ、単変量解析では有意な早期再発因子として DLK-1 ($p=0.037$, HR= 1.522)及び EpCAM ($p=0.031$, HR= 1.651)が示され、有意な術後予後不良因子として EpCAM ($p=0.001$, HR= 2.446)及び CK19 ($p=0.017$, HR= 2.442)が示された。多変量解析では EpCAM の発現の他、DCP>300 mAU/ml, 年齢 > 60, 肝機能を表す指標である Child-Pugh スコアのグレード B または C が、肝細胞癌患者の独立した術後予後予測因子となりうる事が示され、これら 4 つの因子を用いたスコアリングシステムが患者の予後予測に有用であることが示された。また、2 種類以上の肝前駆細胞マーカーを同時に発現している肝細胞癌患者では、

単一マーカーのみ発現している肝細胞患者に比べて AFP, AFP-L3 のレベルがより高値を示しやすく、病理学的分化度もより未分化な傾向を認め、腫瘍の悪性度とのより強い相関が示された。予後解析でも、2種類以上の肝前駆細胞マーカーを同時に発現している肝細胞癌患者では、単一マーカーのみ発現している肝細胞患者に比べてより早期での術後再発をきたし(p= 0.032)、術後予後も不良であることが示された(p= 0.004)。また、血清腫瘍マーカーと肝前駆細胞マーカー発現の ROC 解析では、AFP 及び AFP-L3 レベルから肝前駆細胞マーカーの発現を予測できる可能性が示された。特に、非発現例の除外診断への有用性が示され、AFP 及び AFP-L3 を用いて肝前駆細胞マーカー発現例、特に2種類以上のマーカー発現例を高率に絞り込める可能性が示された。【考察】肝細胞癌の臨床的悪性度を予測する上で、肝前駆細胞マーカー発現確認の有用性と血清腫瘍マーカーとの相関性が示された。将来期待される肝癌患者の個別治療に向けた層別化への一助となることが期待される。

審査結果の要旨

本研究は肝前駆細胞マーカー (HPC) の発現及び血清腫瘍マーカーと肝細胞癌の臨床的悪性度の関係を明らかにすることを目的として計画され、251 症例について、4種類の HPC (EpCAM, NCAM, DLK-1, CK19) の発現を、患者の臨床病理学的な特徴、癌悪性度、および血清腫瘍マーカー (AFP, AFP-L3, DCP)、および手術後の患者予後との相関について検討した。

HPC の発現頻度は AFP, AFP-L3、病理学的悪性度と相関があること、予後との関連においては単変量解析で EpCAM, CK19 の発現、多変量解析で EpCAM の発現、DCP, 年齢, Child-Pugh スコアが有意な予後因子であることを明らかとし、その結果に基づいた予後予測スコアリングシステムを考案した。

また、2種類以上の HPC 重複発現が、AFP, AFP-L3 値、病理学的悪性度と相関し、予後解析でも2種類以上の HPC 重複発現が、予後と関連していることを明らかにした。更に ROC 解析から、AFP, AFP-L3 レベルから HPC の発現を予測できる可能性が示された。

本研究は肝前駆細胞マーカー発現の予後に及ぼす影響を明らかにし、独自のスコアリングシステムを考案するなど独創性に富み、また将来的な発展も期待できる。これらの点を総合的に評価し、学位論文としての価値を認める。