

論文内容要旨

Clinical significance of glypican-3-positive circulating tumor cells of hepatocellular carcinoma patients: A prospective study

(肝細胞癌患者における Glypican-3 陽性循環腫瘍細胞の臨床的意義)

PLoS One, 29;14(5):e0217586, 2019.

主指導教員：大段 秀樹教授
(医系科学研究科 消化器・移植外学)

副指導教員：安達 伸生教授
(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：田邊 和照教授
(医系科学研究科 成人健康学)

濱岡 道則

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

<背景>

肝細胞癌の治療として肝切除は根治が望める治療法であるが、肝切除後も残肝内に高率に再発する。さらにこれらの再発のうち約 3 割は術後 1 年以内に再発するとされ、術後早期の再発は予後不良因子でもある。門脈侵襲を伴う肝細胞癌は、たとえそれが顕微鏡的門脈侵襲 (microscopic portal vein invasion; mPVI) であっても術後早期再発のリスクとされている。このような門脈侵襲を伴う肝細胞癌の肝切除は系統的な肝切除が望ましいとされるが、mPVI の術前診断は困難であり、これを予測する新たなバイオマーカーが求められる。

血中循環腫瘍細胞(Circulating Tumor Cell; CTC)は原発腫瘍あるいは転移腫瘍から血中へ播種した癌細胞であり、多くの癌腫で予後因子、治療標的因子などのバイオマーカーとして有用性が期待されている。現在、一般的に使用される CTC の検出方法は、上皮細胞接着分子 (Epithelial cell adhesion molecule : EpCAM) を標的にした検出方法である。肝細胞癌も上皮性の癌であるが EpCAM の発現率は 35%程度と報告されており、その CTC 検出率は 20~40%程度である。その他さまざまな検出方法が報告されているものの、肝細胞癌患者における CTC の臨床的意義は明らかでない。

そこで我々は Glypican-3 (GPC3)に着目した。GPC3 は GPI アンカーを介して細胞膜に結合しているヘパラン硫酸プロテオグリカンファミリーの 1 つで、増殖に関与していると考えられている。GPC3 は肝細胞癌において 70~90%に高発現する一方で、肝良性腫瘍や肝硬変では発現は認められない。また、肝細胞癌の分化度が低下しても GPC3 は発現し、さらに GPC3 の発現は予後不良であるとされる。これらのことより GPC3 は肝細胞癌の診断や予後因子に有用であるとされているが、GPC3 を標的とした CTC の検出およびその有用性の報告はない。そこで本研究は GPC3 を標的とした肝細胞癌の CTC を検出し、その有用性および mPVI の予測因子となるかどうかを明らかにすることを目的とした。

<対象と方法>

2015 年 4 月から 2016 年 10 月までに、肝細胞癌に対して過去に治療歴がなく、遠隔転移や肉眼的門脈侵襲のない患者のうち、広島大学病院消化器外科で肝切除を行った 85 症例を前向きに登録し検討を行った。手術直前にこれらの患者の末梢血 8ml を採取し、密度勾配遠心沈殿法後に抗 GPC3 モノクローナル抗体および磁気ビーズを用いて positive selection により GPC3 陽性細胞を回収した。その後フローサイトメトリーで解析を行い、白血球マーカーである CD45 が陰性、赤血球マーカーである CD235a が陰性かつ GPC3 陽性の生細胞を CTC と見做した。検出された CTC 数と臨床病理学的因子について検討を行った。

<結果>

肝細胞癌患者 85 例のうち、検出された CTC 数の中央値は 3 個(0 - 27)であった。85 例の肝細胞癌患者において、ROC 曲線を用いて解析したところ、mPVI 検出のための CTC のカットオフ値は 5 個であった。よって肝細胞癌患者の 85 例を CTC5 個以上の群(n=33)と CTC5 個未満の群(n=52)の 2 群に分けて比較検討を行ったところ、CTC5 個以上の群は有意に腫瘍径が大きく(p=0.012)、腫瘍数が多く(p=0.026)、腫瘍被膜を有する症例(p=0.004)、mPVI を有する症例

($p < 0.001$)、肝静脈侵襲を有する症例($p = 0.020$)、低分化肝細胞癌症例($p = 0.013$)が有意に多かった。多変量解析を用いて mPVI の予測因子の解析を行ったところ、CTC 5 個以上(オッズ比: 14.60; 95% CI: 3.27–106.14; $p < 0.001$)と AFP 60 ng/mL 以上(オッズ比: 9.35; 95% CI: 1.68–76.88; $p = 0.010$)が独立した予測因子であった。CTC5 個以上の症例は CTC5 個未満の症例に比べ有意に無再発生存期間($p = 0.015$)、全生存期間($p = 0.047$)は不良であった。

<考察>

本研究による CTC 検出方法は、現在肝細胞癌の診断でひろく使用される GPC3 を標的とした新規の方法である。肝細胞癌患者における GPC3 陽性 CTC は mPVI 予測因子であること、術後予後不良因子であることが示された。

本研究では CTC5 個以上が検出された患者の肝細胞癌は mPVI を伴う症例、低分化癌症例、腫瘍被膜形成を伴う症例が多かった。GPC3 陽性の肝細胞癌は門脈侵襲を伴う症例が多いことや低分化癌が多いとされており、本研究においても同様の症例で GPC3 陽性 CTC が多く検出されたものと思われる。また、肝細胞癌内の血液は被膜内血管から門脈へ排出されることより、腫瘍被膜形成症例ではより血中に癌細胞が播種しやすく、その結果 CTC がより多く検出されたという可能性がある。mPVI は術前診断が困難であるが、GPC3 陽性 CTC によって高い感度と特異度で予測可能であることを明らかにした。今後 CTC が治療方法の選択に有用であるかどうかさらなる検討が必要である。

<結語>

GPC3 陽性 CTC は mPVI の予測因子であること、また、予後不良因子であることが明らかとなった。よって GPC3 陽性 CTC は肝細胞癌患者において有用なバイオマーカーとなりうる。