

主論文の要旨

**Evaluation of MAGE-D4 Expression in
Hepatocellular Carcinoma in Japanese Patients**

〔 肝細胞癌における MAGE-D4 発現に関する検討 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 消化器外科学分野
(指導：小寺 泰弘 教授)

高見 秀樹

【背景】

肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma、以下 HCC) は、全世界において罹患数が 5 番目に多い癌であり、癌死患者数では第 3 位となっている。肝切除術やラジオ波焼灼術などの局所療法および肝動脈塞栓術の進歩、また分子標的治療薬の開発により、その予後は改善されつつあるが、いまだ十分とはいえない。そのため、新たな再発・進行のバイオマーカーおよび治療標的となりうる新規 HCC 関連遺伝子の同定が急務である。Melanoma-associated antigen (MAGE) 遺伝子は、悪性腫瘍への関連が注目されている約 60 種の遺伝子群である。1994 年に悪性黒色腫細胞株より腫瘍関連抗原の一つである MAGE-A1 が最初に同定され、悪性黒色腫や非小細胞肺癌に対する免疫療法の有望な標的として、臨床応用に向けた研究が進んでいる。MAGE family のひとつである MAGE-D4 は X 染色体短腕 11.22 に存在し、2001 年にはじめて Sasaki らにより報告された。脳および卵巣以外の正常組織ではほとんど発現していない一方、神経膠芽腫や肺癌、口腔癌、乳癌での異常高発現が報告されており、悪性腫瘍における役割が注目されている。現在までに、MAGE-D4 の HCC における発現解析の報告はない。

【方法】

9 種類の HCC 細胞株と、HCC 患者 94 例の肝切除標本から得られた癌部組織および非癌部組織における MAGE-D4 mRNA 発現を定量的 real time RT-PCR 法により測定し、MAGE-D4 mRNA 発現度と臨床病理学的因子との相関性について検討した。また、30 症例の切除組織切片を対象として、MAGE-D4 の優勢 isoform と報告されている MAGE-D4b 蛋白の発現分布を免疫組織化学染色法により調べ、同一症例での MAGE-D4 mRNA 発現度と比較検討した。

【結果】

9 種中 5 種の HCC 細胞株において、非癌部組織 (94 例の中央値) と比較して MAGE-D4 mRNA 発現が高値であった (Fig. 1A)。臨床検体での検討では、背景肝の状態による MAGE-D4 mRNA 発現量に有意な差を認めなかった (Fig. 1B)。癌部組織での MAGE-D4 mRNA 発現量が非癌部組織の 3 倍以上に発現増加しているものを MAGE-D4 高発現群とし、各種臨床病理学的因子との相関性を検討すると、低分化度 ($P = 0.003$)、脈管浸潤 ($P = 0.021$)、術前血清 AFP 高値 ($P < 0.001$) と有意な相関性を認めた (TABLE I)。全生存期間において、MAGE-D4 高発現群は有意に予後不良で (生存期間中央値 14.8 ヶ月対 118 ヶ月、 $P < 0.001$: Fig. 2A)、無再発生存期間も有意に短縮していた (生存期間中央値 2.7 ヶ月対 18.3 ヶ月、 $P = 0.001$: Fig. 2B)。全生存期間に対する単変量解析において、術前血清 AFP 高値、術前血清 PIVKII 高値、腫瘍径 3cm 以上、漿膜浸潤、脈管浸潤、切除断端陽性、MAGE-D4 高発現が有意な予後因子として検出され、これらの因子を対象とした多変量解析において、MAGE-D4 高発現が独立した予後不良因子として検出された (ハザード比 2.88、95%信頼区間 1.30 - 6.44、 $P = 0.009$: TABLE II)。MAGE-D4b の免疫組織化学染色法においては、MAGE-D4

mRNA 高発現症例の癌部組織でのみ、細胞質および細胞膜に MAGE-D4b 蛋白が強く発現していた (Fig. 3A)。一方で、MAGE-D4 mRNA 非高発現症例では、癌部・非癌部ともに MAGE-D4b 蛋白発現をほとんど認めず (Fig. 3B)、MAGE-D4b 蛋白と MAGE-D4 mRNA の発現度の相関性が示された。

【考察】

本研究では、HCC における MAGE-D4 の発現と、その臨床的意義について検討した。9 種中 5 種の HCC 細胞株で、非癌部組織よりも顕著な MAGE-D4 mRNA 発現レベルの増加を認めたことから、MAGE-D4 は HCC において癌遺伝子としての役割を有している可能性が示唆された。一方で、非癌部組織を用いた背景肝別の発現解析では、慢性肝炎や肝硬変の段階での MAGE-D4 mRNA 発現変化は明らかではなく、MAGE-D4 発現異常は HCC 発癌もしくはそれ以降の腫瘍進展に寄与しているものと考えられた。肝切除標本中の組織内 MAGE-D4 高発現は HCC の早期再発や全生存期間の短縮に強く相関しており、多変量解析においても独立した予後不良因子であった。MAGE-D4 の機能に関する過去の報告で、細胞分裂に関わる tubulin と細胞内分布が類似していることから、細胞分裂に重要な役割を持つ可能性が示唆されているが、本研究の結果では、MAGE-D4 高発現は脈管浸潤や低分化度、術前血清 AFP 高値といった HCC の悪性度を強く表す臨床病理学的因子と有意な相関が示されており、さらなる検討を重ねて、腫瘍細胞の増殖、転移、細胞分裂における MAGE-D4 の機能を明らかにしていくことが重要であると考えられた。MAGE-D4 には、MAGE-D4-a、b、c の 3 つの isoform があり、過去に乳癌と口腔癌において MAGE-D4b が優勢な isoform であることが報告されている。本研究の結果からも、免疫組織化学染色法による MAGE-D4b 蛋白発現強度と定量的 real time RT-PCR 法による MAGE-D4 mRNA 発現レベルは相関した関係を示しており、HCC においても MAGE-D4b が優勢 isoform であるものと考えられた。将来的には本研究を発展させ、患者血清中の MAGE-D4 発現度の検討や HCC 細胞における詳細な機能解析による MAGE-D4 の診断的・治療的有用性の検証が期待される。

【結語】

MAGE-D4 mRNA の発現は HCC の悪性度に関与しており、今後新たな予後予測マーカーや治療標的分子となりうることが示唆された。