

主論文の要旨

**Aberrant expression of melanoma-associated
antigen-D2 serves as a prognostic indicator of
hepatocellular carcinoma outcome following
curative hepatectomy**

〔Melanoma-associated antigen-D2 遺伝子の肝細胞癌治癒切除後の
予後予測バイオマーカーとしての有用性の検討〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 消化器外科学分野

(指導：小寺 泰弘 教授)

橋本 良二

【緒言】

肝細胞癌は世界の癌患者数全体の第6位を占め、癌関連死因の第3位となっている。根治的肝切除術を施行した症例においても約70%の患者で術後5年以内の術後再発を認めており、制御困難な悪性腫瘍と認識されている。近年、分子標的治療薬を含めた全身治療、局所療法の進歩はあるものの依然として予後は不良であり、早期診断および治療に有用な新規標的分子の同定が望まれている。

1991年に悪性黒色腫細胞株より腫瘍関連抗原の1つである Melanoma-associated antigen (MAGE) -A が初めて同定された。MAGE-A は悪性黒色腫や肺小細胞癌に対する免疫療法の有望な標的分子として臨床応用に向けた研究が進んでいる。現在までに約60種類の遺伝子が MAGE family として報告されており、そのひとつに MAGE-D2 がある。MAGE-D2 は X 染色体 短腕 11.21 に存在し、全身諸臓器の正常組織中で普遍的に発現していると報告されているが、その生体内での機能については未だ不明である。

MAGE-D2 の悪性腫瘍における役割に関しては、MAGE-D2 の高発現が血管内皮細胞への癌細胞接着を促進するとの報告や、MAGE-D2 が高発現している悪性黒色腫細胞株は p53 および TRAIL-R2 を抑制しアポトーシスに抵抗するとの報告がある。また、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析において、肝転移を有する結腸癌で高発現している遺伝子の1つとして MAGE-D2 が同定されている。しかし、肝細胞癌における MAGE-D2 発現およびその臨床的意義についてはこれまで検討されていない。

【目的】

肝細胞癌における MAGE-D2 の発現を調べ、その臨床的意義について検討した。

【方法】

9種の肝細胞癌細胞株(Hep3B、HepG2、HLE、HLF、HuH1、HuH2、HuH7、PLC/PRF/5、SK-Hep1)を対象に、定量的 real time PCR 法により MAGE-D2 mRNA 発現量を調べた。1998年から2012年の間に、名古屋大学医学部附属病院消化器外科二において肝切除術を施行した肝細胞癌151例を対象として、癌部組織および非癌部組織における MAGE-D2 mRNA 発現量を定量的 real time PCR 法で調べた。切除組織切片を用いた免疫組織化学染色法により、MAGE-D2 蛋白の組織中発現度とその分布について評価した。MAGE-D2 mRNA 発現量と年齢、性別、背景肝状態、腫瘍因子、予後を含めた各種臨床病理学的因子との相関解析を行った。

【結果】

肝細胞癌細胞株では MAGE-D2 mRNA 発現量に多様性を認め、9種中4種(44%)で非癌部肝組織の発現量中央値と比較して MAGE-D2 mRNA の高発現がみられた(図1)。臨床検体では、151例中66例(44%)において癌部組織の MAGE-D2 mRNA 発現

量が非癌部組織に比べて高くなっていった。肝細胞癌の分化度による MAGE-D2 mRNA 発現量の差は認めなかった (図 2)。慢性肝炎は正常肝組織と比べると MAGE-D2 mRNA の発現量が高く、慢性肝炎と肝硬変との間に差はなかった。肝細胞癌と非癌組織とで MAGE-D2 mRNA の発現量を比べると、有意差は認めなかった (図 3)。保存状態の良好な薄切切片の得られた 30 例を対象に免疫組織化学染色法を行った結果、癌部で MAGE-D2 蛋白高発現を呈する症例において MAGE-D2 は細胞質と核に発現していることが示された (図 4)。

非癌部肝組織と比較して癌部組織中での MAGE-D2 mRNA 発現量が高い症例を、MAGE-D2 高発現症例と定義した。年齢、性別、背景肝、ウイルス感染、腫瘍状態、腫瘍マーカー、浸潤状況などの臨床病理学的因子と癌部組織中 MAGE-D2 発現量の間、統計学的に有意な相関性を認めなかった (表 1)。癌部組織中 MAGE-D2 mRNA 高発現群では、非高発現群と比較して有意に術後全生存期間が短縮していた (5 年生存率 58% vs 72%、 $P = 0.020$) (図 5)。術後全生存期間に対する単変量解析では高齢 (65 歳以上)、術前腫瘍マーカー (α -fetoprotein および PIVKA-II) 高値、多発腫瘍、腫瘍径 3cm 以上、漿膜浸潤陽性、血管浸潤陽性、切除断端陽性、癌部組織中 MAGE-D2 mRNA 高発現が有意な予後不良因子であった (表 2)。これら予後不良因子による多変量解析では、血管浸潤陽性、切除断端陽性ととも癌部組織中 MAGE-D2 mRNA 高発現は独立予後不良因子として検出された (ハザード比 2.65、95%信頼区間 1.43 - 4.98、 $P = 0.002$) (表 3)。

【考察】

遺伝子学的解析法の進歩により、肝細胞癌進展の背景にある分子生物学的機序についての情報が蓄積されてきた。本研究では、悪性腫瘍の進展への関与が注目されている MAGE family の比較的新しい member であり肝細胞癌における役割が不明である MAGE-D2 に着目し予後リスクの階層化を可能とするバイオマーカー探索という観点で肝細胞癌における MAGE-D2 の発現解析を行った。

今回の結果では、癌部組織中での MAGE-D2 高発現は根治的肝切除術後の独立予後不良因子として検出された。MAGE-D2 発現レベルは慢性肝炎の段階で増加し肝細胞癌とは有意な差を認めなかったことから、MAGE-D2 高発現は発癌段階で特に重要な変化ではないものと考えられた。一方で、肝細胞癌で MAGE-D2 発現が高くなっていった一部の症例群の治癒切除後予後が不良であったことから、MAGE-D2 は発癌よりむしろ以降の肝細胞癌進展において重要な役割を持つことが示唆された。

癌部組織中 MAGE-D2 mRNA 高発現は予後不良因子であるものの、腫瘍径、多発腫瘍、脈管浸潤、進行病期などの既知の主要予後不良因子との有意な相関性を認めなかった。このことから、MAGE-D2 は既存の予後不良因子から独立した新たな高リスク群選別バイオマーカーとしての有用性が期待できると思われた。手術摘出標本での MAGE-D2 発現度をもとにした術後高リスク症例の選別が可能になれば、より密な術後フォローアップによる再発早期発見、ひいては術後治療の成績向上に貢献しうるも

のと思われた。さらに肝生検検体からの MAGE-D2 発現評価を行うことで、治療法選択にもつながる可能性があると考えられた。

今後更なる発展のためには、より多くの検体での発現解析により MAGE-D2 発現の臨床的意義を検証するとともに、血液検体からの MAGE-D2 検出を行うことでバイオマーカーとしての有用性を試していく必要がある。また肝細胞癌における機能を明らかにするために、MAGE-D2 発現調節による機能解析を行うことが望まれる。

【結語】

MAGE-D2 mRNA 発現量は、肝細胞癌治癒切除術後の有望な予後予測バイオマーカーとなる可能性が示唆された。