

研究テーマ：肝細胞癌に対する TACE 治療効果を予測する血清バイオマーカー開発
神戸大学大学院医学研究科 内科系講座放射線医学分野 上嶋 英介

1 研究の背景と目的

従来、中期肝癌にはTACEのみが適応であったが、最新のBCLC分類では、腫瘍個数, 浸潤形態, 病変分布の3項目により塞栓術あるいは免疫チェックポイント阻害薬を含む化学療法に振り分けられる(Reig M. et al. 2022)。しかしながら、後2者の項目は相対的な評価基準であり、術者によって異なる解釈を起しうる。よって、各治療に対する反応性を予測しうる明確な客観的指標となるバイオマーカーが必須である。発癌の原因となる遺伝子をドライバー遺伝子と呼び、癌細胞はそのシグナルに依存状態となって増殖する。そのシグナルを阻害することで特異的かつ高い治療反応性を示すため、ドライバー遺伝子の同定やそれらをターゲットとした治療法開発が進み、バイオマーカーとして期待されている。肝癌に対する化学療法の治療反応性がドライバー遺伝子の発現異常により異なるという報告(Myojin Y. 2021)はあるが、TACEに関する治療反応性の報告はない。本研究では、ラット肝癌モデルを用いてドライバー遺伝子の発現異常による塞栓術の治療効果の違いを検討し、該当するドライバー遺伝子のバイオマーカーとなる血清タンパク質を同定することを目的とする。

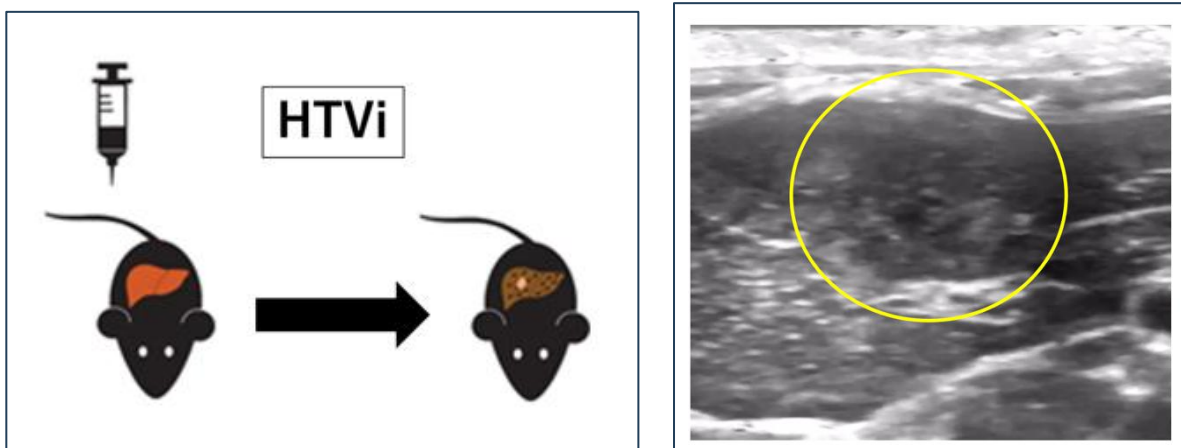
2 研究方法・研究内容

1. 肝癌発癌に関連するドライバー遺伝子のpooled cDNA libraryの作成

The Cancer Genome Atlasでコピー数が増幅している癌遺伝子(CTNNB1, NFE2L2, NRAS, CCND1, MCL1, MYC, AKT, YAP)を選択、また保有するMicroarrayデータよりFGF19, METを加えた癌遺伝子のcDNAバーコード配列をLuciferase cDNAとともにSleeping Beauty transposon vectorにクローニングした。これらのプラスミドを等量で混合し、pooled cDNA libraryを作製した。

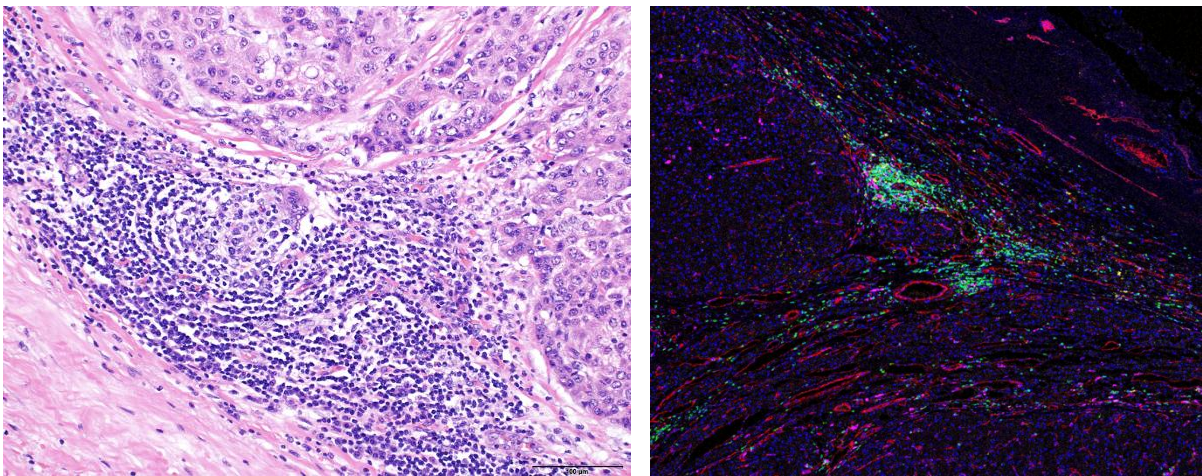
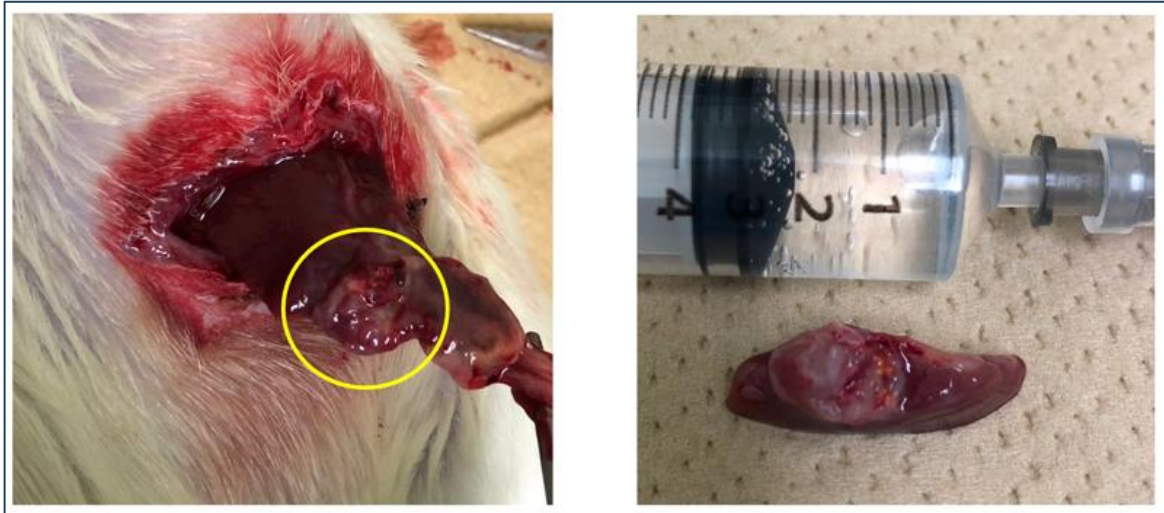
2. 流体力学的尾静脈注入法 (HTVi) を用いたcDNA肝細胞導入

計画A-1にて作成したpooled cDNA library 10mlをラット尾静脈より高速注入(5秒間)する(左下図)。同流体力学的尾静脈注入2週間後に腫瘍の生着を確認した(右下図)。



3. TACEの各ドライバー遺伝子への治療反応性の検出

ラット肝癌モデルに対するTACE処置を行い(申請者らLiver Cancer 2020, JVIR 2023)、処置1週間後にラットを屠殺、肝腫瘍を摘出した(次項上図)。腫瘍微小環境を把握するため、各種抗体を用いてH&E染色および多重免疫染色を行う(次頁下図)とともに、腫瘍内のgenome DNAのバーコード配列を次世代シーケンサーにて解析中である。



4. 耐性を示すドライバー遺伝子の確定

上記3の工程にて候補となったドライバー遺伝子をsiRNAを用いて選択的に抑制し、TACEと同様の低酸素/低栄養状態にて培養を行い、抗腫瘍効果を確認する予定である。

3 研究成果

流体力学的尾静脈注入法 (HTVi) を用いた cDNA 肝細胞導入によるラット肝細胞癌モデルを作成することができた。

4 生活や産業への貢献および波及効果

肝細胞癌のドライバー遺伝子変異解析には経皮的腫瘍生検が必要であるが、肝細胞癌は易出血性であるため、不要な組織診断は忌避すべきである。申請者が発案した本研究は、ドライバー遺伝子の発現異常を反映するバイオマーカーとなる血清中タンパク質の同定を目的としている。血液サンプルにより非侵襲的に治療反応性を予測するバイオマーカーを確立する独創的な試みであり、患者の身体的・経済的負担の軽減とともに、TACEの効果を最大限に得られる患者群を拾い上げることで、予後改善に大きく寄与する。