

進行肝細胞癌の免疫ゲノム学的全体像の解明と
実臨床への応用

慶應義塾大学

紅林 泰

1. 背景および目的

肝細胞癌を含む様々な癌腫における免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) とその併用療法の実臨床化に伴い、患者層別化を目的とした腫瘍免疫微小環境の網羅的解析が盛んに行われている。また、single cell RNAseq (scRNAseq) や全ゲノム・エクソーム解析により、腫瘍に浸潤する免疫細胞の詳細な形質や腫瘍の遺伝子変異の全体像が、主に臨床病期の低い切除可能な腫瘍において明らかにされている。こうした動向を踏まえて申請者らは、令和4年度のがん研究助成金 (A 課題) において、異なる形質を示す腫瘍浸潤 T 細胞が肝細胞癌の微小環境のどこに、どのように空間的に分布しているか詳細に解析した。その結果、naïve/stem-like T 細胞は未熟な T 細胞集簇巣や 3 次リンパ組織 (TLS) の T 細胞領域に集積する一方で peripheral helper T [Tph]-like 細胞はリンパ形質浸潤パターン内に多く認められること等が明らかになり、これらの特徴的なリンパ球浸潤パターンの存在が外科切除後あるいは複合免疫療法後の予後と有意に相関していることを示したが (Kurebayashi et al. Clinical Cancer Research 2024)、その分子生物学的な背景については未だ不明な点が多かった。本研究では、申請者らが多施設共同研究により収集した世界的にも有数の規模の進行期肝細胞癌の腫瘍生検検体コホートを用いて、進行期肝細胞癌における遺伝子変異と腫瘍微小環境の特徴との関係ならびにその臨床病理学的意義について明らかにし、進行期肝細胞癌における特徴的な微小環境形成における分子生物学的メカニズムを探ることを目的とした。

2. 方法および結果

(1) 進行肝細胞癌腫瘍生検検体の全エクソンシーケンス解析

本研究期間中に、新規に 14 例の進行肝細胞癌腫瘍生検検体の全エクソンシーケンス解析を行い、本研究開始前に施行した 8 例を加えた計 22 例で解析を行った。肝細胞癌で見られる代表的なドライバー遺伝子変異の出現頻度は下記の通りであった。CTNNB1 36.3% (8/22), TP53 31.8% (7/22), TSC1/2 27.2% (6/22), ARID1A 22.7% (5/22), ARID2 22.7% (5/22), AXIN1 18.1% (4/22), APC 18.1% (4/22), RB1 13.6% (3/22)。ARID1A 変異の 4/5 は frame-shift 変異であった。この結果から、CTNNB1/APC 変異型肝細胞癌は全体の 50% (11/22, 1 例は重複変異) を占め、進行肝細胞癌においても重要な集団であることがわかった。その他、進行肝細胞癌におけるドライバー変異の出現頻度は、切除可能肝細胞癌で報告されている頻度よりも全体的に高かった。引き続き、症例数を増やして解析を継続するとともに、シグナル経路ごとに関連する遺伝子変異頻度について詳細に検討を行っている。

(2) 進行肝細胞癌における免疫ゲノミクスの解析

リンパ形質細胞浸潤に特徴付けられる Immune-high subtype (T cell ≥ 500 cells/mm²かつ B/plasma cell ≥ 50 cells/mm²) を示す症例が 22 例中 5 例含まれており、Immune-high subtype を示す肝細胞癌では ARID1A 変異を有する割合が有意に高かった (60%, $p=0.0237$, χ^2 検定)。逆に ARID2 変異は Immune-high subtype には含まれず、全例が non-Immune-high 群に含まれていた。CTNNB1 変異型肝細胞癌は T 細胞浸潤数が少ない傾向を認め、TP53 変異を有する肝細胞癌は Treg/CD8 比が高い傾向を認めたが、いずれも統計学的に有意ではなかった。本項目についても、シグナル経路ごとの遺伝子変異との関係について詳細に検討を行う予定である。

(3) 骨髄球系細胞ならびに間葉系細胞の検討

腫瘍微小環境に含まれる骨髄球系細胞 (特にマクロファージ) ならびに線維芽細胞に関して、腫瘍生検検体での検討を行う前に、外科切除検体を用いての検討を新たに行った。公共データベース上の肝細胞癌の single cell RNAseq データを再解析して、マクロファージ系

ならびに線維芽細胞系の細胞の分類を行い、既報の通りマクロファージが TREM2 と FOLR2 の発現により 3 群に分かれ、線維芽細胞も特徴的なマーカーの発現を基に複数の集団に分けられることが確認された。これらのサブセットを免疫組織化学的に検討するために抗体の検討を行い、多重（蛍光）免疫染色で検討を行う染色条件を確立することができた。

3. 考察および展望

我々は以前、進行肝細胞癌の分子生物学的特性が、切除可能な病期の肝細胞癌のそれとは異なることを免疫組織化学的手法を用いて報告した (Kurebayashi et al. Clinical Cancer Research 2024; Kurebayashi et al. Hepatology Research 2023)。本研究ではそれに加えて、ドライバー遺伝子変異のレベルにおいても両群の間に明らかな差異が見られることがわかった。また、ARID1A, CTNNB1, TP53 をはじめとして、腫瘍微小環境の性質に関連する、または関連する傾向のあるドライバー遺伝子が認められた。進行肝細胞癌の生検検体は希少であり解析検体数にも限りがあるものの、引き続き解析を継続することで進行肝細胞癌における免疫ゲノミクスの全体像を明らかにしたい。

4. 本研究により得られた成果

<学会発表>

紅林 泰, 肝細胞癌腫瘍微小環境の病理学的解析: 複合免疫療法の治療効果予測と耐性機序の理解に向けて, 第 2 回臨床免疫病理学カンファレンス, 2026/2

紅林 泰, 腫瘍免疫微小環境の病理学的検討: 肝癌をモデルとして, 第 57 回日本臨床分子形態学会 総会・学術集会, 2025/12

紅林 泰, 肝細胞癌の腫瘍微小環境と複合免疫療法の治療効果との関係: 病理の立場から, 第 61 回日本肝癌研究会, 2025/7