

2003 0153

厚生労働科学研究研究費補助金  
がん克服研究事業

分子生物学、分子免疫学を駆使した  
微小残存、転移病変の評価ならびに  
適切な集学的治療と予後推測法の開発に  
関する研究

平成15年度 総括研究報告書

主任研究者 畠 清彦

平成16(2004)年3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

分子生物学、分子免疫学を駆使した微小残存、転移病変の評価ならびに  
適切な集学的治療と予後推測法の開発に関する研究

細胞周期関連分子、アポトーシス関連遺伝子の発現と種々のがん細胞の微小残存、  
微小転移との関連に関する研究 ----- 1

島 清彦

### II. 分担研究報告

1. サイトケラチンと p53-細胞周期関連遺伝子の発現による乳癌のリスク群の分類  
伊藤 良則 ----- 5

2. 転移性乳癌における骨髄破骨細胞の転移における役割：BMP発現について  
高橋 俊二 ----- 8

3. 分子免疫学を駆使した術前、術後における微小転移病変の評価  
國土 典宏 ----- 11

4. 大腸癌の免疫原性を利用した微小転移病変ならびにその治療に関する研究  
山口 俊晴 ----- 15

5. 微小転移病変における周辺の宿主細胞の応答機構  
中森 正二 ----- 17

6. 転移性大腸癌、胆のう癌細胞に対するモノクローマ抗体を用いた早期診断と  
免疫原性の研究  
石坂 幸人 ----- 21

7. 細胞周期のチェックポイントに関係するホメオボックス遺伝子の各転移性腫瘍  
における意義-SixとHAT (Histone Acetyl Transferase)  
川上 潔 ----- 23

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 26

IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学研究費補助金（がん克服研究事業）

総括研究報告書

分子生物学、分子免疫学を駆使した微小残存、転移病変の評価  
ならびに適切な集学的治療と予後推測法の開発

主任研究者 畠 清彦 財団法人癌研究会附属病院 部長

CD13 の発現している白血病である、急性前骨髄球性白血病では、アミノペプチダーゼ活性により、内皮細胞由来インターロイキン8が分解されてしまうために、このサイトカインによる細胞死誘導が耐性となっていることを見出した。また阻害剤の血管内皮細胞に対する効果を検討したところ、内皮細胞由来インターロイキン8の放出を刺激することがわかった。さらに VEGF 遺伝子の発現を抑制した。大腸癌でも CD13 の発現している細胞が認められた。抗体療法では CD55 という補体制御蛋白が耐性機構の重要なキーであることを示した。

伊藤 良則	財団法人癌研究会	副部長
高橋 俊二	財団法人癌研究会	医長
國土 典宏	東京大学医学部	助教授
山口 俊晴	財団法人癌研究会	部長
中森 正二	大阪大学医学部	講師
石坂 幸人	国立国際医療センター	部長
川上 潔	自治医科大学	教授

A. 研究目的

これまでに報告されていない分子標的と治療法の開発や応用についてさらに推進するために、CD13, RET 結合ペプチド、転写因子との結合蛋白、ならびに乳癌、大腸癌、胆嚢癌、肝臓がん、胃癌における手術や化学療法後の転移や予後に関する研究は今後も重要で、社会のニーズが強い。

B. 研究方法

白血病では細胞表面のアミノペプチダーゼ CD13、シグナル伝達に関係する蛋白や細胞死関連因子に注目して行う。悪性リンパ腫では抗体療法を中心とした治療に対する反応性および耐性の研究を行う。

大腸癌では薬剤耐性株細胞を用いて細胞死関連遺伝子の発現を検討する。特に CD13 は最近白血病だけでなく、大腸癌や肺癌でも発現が報告されており、株細胞における薬剤耐性株細胞の樹立、薬剤による細胞死誘導の系の確立、各種細胞表面酵素活性の測定、FACS による細胞表面抗原の解析、細胞質内シグナル伝達系、細胞死関連蛋白に中心をおいて研究する。

特に発現が特異的に高く見出されたものは、遺伝子導入株細胞または dominant negative clone の作成により細胞の特性を研究する。

#### C.研究結果

CD13 という抗原の発現では、急性前骨髄球性白血病での内皮細胞由来インターロイキン8による細胞死誘導に対して耐性となるが、アミノペプチダーゼという酵素の活性によるものと判明し、酵素阻害によって細胞死が誘導できることがわかった。

さらにこの現象は、肺癌、大腸癌でも発現していることによる予後不良因子の一つであることがわかった。化学療法剤に対する耐性にも影響していることがわかった。抗体療法に対する耐性では補体制御蛋白のひとつ CD55 が関係していること示した。

#### D.考察

CD13 だけでなく血管内皮細胞での発現やがん細胞に発現している転移や予後に関する因子についての研究が必要である。特にこの細胞死耐性に関与する CD13 は、肺癌、大腸癌でも発現しているものがあり、薬剤耐性や転移、予後推測に有用となる可能性が高く、臨床例での解析も必要である。臨床例での補体制御蛋白を検討中である。

#### E.結論

白血病における内皮細胞由来インターロイキン8による細胞死に対して耐性であるのは、CD13 というアミノペプチダーゼ活性の発現による。またこの機序は、肺癌、大腸癌の一部でも発現しており、化学療法との併用など今後の治療法の考慮に有用である。

#### F.健康危険情報

特にありません。

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

Sawaki M, Ito N, Hatake K. Paclitaxel administered weekly in patients with docetaxel-resistant metastatic breast cancer: A single-center study. Tumori, in press.

Sawaki M, Ito N, Hatake K. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in heavily pretreated patients with HER-2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. Tumori, in press. ○Takahashi S, Hakuta M, Aiba K, Ito Y, Horikoshi N, Miura M, Hatake K, Ogata E. Elevation of circulating plasma cytokines in cancer patients with high plasma parathyroid hormone-related protein levels. Endocr Relat Cancer. Sep;10(3):403-7. 2003

Shigeta K, Taniguchi N, Omoto K, Madoiwa S, Sakata Y, Mori M, Hatake K, Itoh K. In vitro platelet activation by an echo contrast agent. J Ultrasound Med. 22:365-73, 2003.

Nakane M, Takahashi S, Sekine I, Fukui I, Kage K, Ito Y, Aiba K, Horikoshi N, Hatake K, Ishikawa Y, Ogata E. Successful treatment of malignant pheochromocytoma with combination chemotherapy containing anthracyclines. *Ann Oncol.* 14:1449-51, 2003.

○Morii M, Uchida M, Watanabe T, Kirito K, Hatake K, Ozawa K, Komatsu N. Activation of extracellular signal-regulated kinases ERK1 and ERK2 induces Bcl-xL up-regulation via inhibition of caspase activities in erythropoietin signaling. *J Cell Physiol.* May;195(2):290-7. 2003

Tada K, Ito Y, Hatake K, et al. Severe infusion reaction induced by trastuzumab: a case report. *Breast cancer.* 10:167-9, 2003.

## 2. 学会発表

乳癌細胞における HER-2 の基礎 (プレジデンシャルシンポジウム) 島清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

CD13/Aminopeptidase N 発現と分子標的治療の可能性 島清彦 第 8 回 病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会 2003.11.10 名古屋

乳癌の中樞神経系転移 207 例の検討 堀越昇、伊藤良則、高橋俊二、水沼信之、永崎栄次郎、古川恵子、徳留なほみ、三嶋裕子、島清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

炎症性乳癌における予後因子の検討 澤木正孝、伊藤良則、秋山太、奥山直子、田中

久美子、堀文子、堀井理絵、井上尚子 高橋俊二、堀越昇、今井常夫、中尾昭公、島清彦、霞富士雄、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

Herceptin と paclitaxel の併用療法の有用性の検討 古川恵子、伊藤良則、徳留なほみ、堀越昇、水沼信之、高橋俊二、島清彦、霞富士雄、秋山太、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

パクリタキセルと塩酸エピルビシンの単独投与による術前化学療法の副作用の比較 神吉真紀子、蒔田益次朗、多田隆士、高橋かおる、多田敬一郎、西村誠一郎、九富五郎、田辺真彦、吉本賢隆、霞富士雄、徳留なほみ、高橋俊二、伊藤良則 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

外来乳癌薬物治療法に関するレジデント教育の実施 伊藤良則、高橋俊二、堀越昇、水沼信之、島清彦、霞富士雄、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

日本人に対するタモキシフェン 5 年投与の有用性について 多田敬一郎、吉本賢隆、関根靖子、佐藤亜希、田村美規、九富五郎、神吉真紀子、田辺真彦、小倉廣之、西村誠一郎、高橋かおる、蒔田益次郎、多田隆士、霞富士雄、高橋俊二、伊藤良則、島清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

乳癌鎖骨上リンパ節転移症例に対する集学的治療の検討 徳留なほみ、伊藤良則、古川恵子、入江哲也、水沼信之、高橋俊二、堀越昇、畠清彦、霞富士雄、秋山太、坂元吾偉 第11回 日本乳癌学会総会

2003/6/12-13 新潟

Bonadonna による Classical CMF に対する日本人の許容性についての検討 関根靖子、多田敬一郎、吉本賢隆、佐藤亜希、

田村美規、九富五郎、神吉真紀子、田辺真彦、小倉廣之、西村誠一郎、高橋かおる、蒔田益次郎、多田隆士、霞富士雄、高橋俊二、伊藤良則、畠清彦 第11回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

早期乳癌患者の術後経過観察における骨代謝マーカーの意義 高橋俊二、小泉満、伊藤良則、堀越昇、畠清彦、霞富士雄、尾形悦郎 第11回 日本乳癌学会総会

2003/6/12-13 新潟

長期生存症例に学ぶ乳癌脳転移の治療

斎藤光江、吉本賢隆、伊藤良則、山下孝、霞富士雄 第11回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

ありません

##### 2. 実用新案登録

ありません

##### 3. その他

ありません

分担研究報告書

サイトケラチンと p 53-細胞周期関連遺伝子の発現による乳癌の  
リスク群の分類

分担研究者 伊藤 良則 財団法人癌研究会附属病院 副部長

研究要旨 サイトケラチンでは差を認めず、Her-2 発現例では  
transuzumab とタキサン薬剤の併用の有効性がある。

A. 研究目的

各種臓器の原発とするがんに対して特異的なマーカーである抗原や遺伝子の発見は、多くの期待を持って今後の癌の臨床経過や予後を推測させ、早期に対処できるようになることが期待される。しかし現実にはまだ多くの症例での検討や基礎的意味付けの必要な部分が多く残っている。そこで社会のニーズに答えるような臨床的検討から、微小残存病変や微小転移病変の有無の評価やその結果を生かして予後を推測することに生かせれば患者さんへの恩恵や社会への貢献度が高いと考えられる。そのための基礎的および臨床的研究を行う。

B. 研究方法

乳癌組織における癌遺伝子やサイトケラチンの発現を、RT-PCR 法を用いて検討した。主として乳癌組織の一部から、mRNA を抽出し、それぞれの特異的オリゴヌクレオチドを用いて RT-PCR の系を作成して、検討した。Her-2 の発現している症例においては早くより transuzumab を用いた単剤またはタキサン系薬剤を併用した治療を行って報告した。

C. 研究結果

サイトケラチンの発現については十分に検討したが、癌組織において発現が検出されても、群間での差を認める所見は得られなかった。他の遺伝子についてはさらに検討が必要である。Her-2 の発現している症例では transuzumab との併用が有効であった。

#### D. 考察

現在も種々の遺伝子異常が乳癌において報告されてきている。まだどの遺伝子をもっとも予後推測や再発予測に最も有用であるかは今後の検討を要する。

transuzumab の無効例について検討を要する。

#### E. 結論

Her-2 の強発現している乳癌症例では、transuzumab と taxane との併用療法が有効であり、耐性例での遺伝子発現についてさらに検討が必要である。

#### F. 健康危険情報

特にありません。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

K. Tada, Y. Ito, K. Hatake, T. Okudaira, J. Watanabe, M. Arakawa, M. Miyazato, T. Irie, N. Mizunuma, S. Takahashi, K. Aiba, N. Horikoshi, F. Kasumi. Severe infusion reaction induced by trastuzumab. A case report. Breast Cancer 10:167-169, 2003

M. Nakane, S. Takahashi, I. Sekine, I. Fukui, M. Koizumi, K. Kage, Y. Ito, K. Aiba, N. Horikoshi, K. Hatake, Y. Ishikawa, E. Ogata. Successful treatment of malignant pheochromocytoma with combination chemotherapy containing anthracycline. Ann Oncol 14:1449-1451, 2003.

Takahashi S, Hakuta M, Aiba K, Ito Y, Horikoshi N, Miura M, Hatake K, Ogata E. Elevation of circulating plasma cytokines in cancer patients with high plasma parathyroid hormone-related protein levels. Endocr Relat Cancer. 10:403-7, 2003

伊藤良則 がん治療最前線 30-33 2004

##### 2. 学会発表

転移性乳癌に対する HERCEPTIN 投与により間質性肝炎を来した2例 伊藤良則 日本癌治療学会 2003/10/22-

##### 24 乳腺内分泌治療法

乳癌の中枢神経系転移 207 例の検討 堀越昇、伊藤良則、高橋俊二、水沼信之、永崎栄次郎、古川恵子、徳留なほみ、三嶋裕子、畠清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

炎症性乳癌における予後因子の検討 澤木正孝、伊藤良則、秋山太、奥山直子、田中久美子、堀文子、堀井理絵、井上尚子 高橋俊二、堀越昇、今井常夫、中尾昭公、畠清彦、霞富士雄、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

Herceptin と paclitaxel の併用療法の有用性の検討 古川恵子、伊藤良則、徳留なほみ、堀越昇、水沼信之、高橋俊二、畠清彦、霞富士雄、秋山太、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟



パクリタキセルと塩酸エピルビシンの単独投与による術前化学療法の副作用の比較

神吉真紀子、蒔田益次郎、多田隆士、高橋かおる、多田敬一郎、西村誠一郎、九富五郎、田辺真彦、吉本賢隆、霞富士雄、徳留なほみ、高橋俊二、伊藤良則 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

外来乳癌薬物治療法に関するレジデント教育の実施 伊藤良則、高橋俊二、堀越昇、水沼信之、島清彦、霞富士雄、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

日本人に対するタモキシフェン 5 年投与の有用性について 多田敬一郎、吉本賢隆、関根靖子、佐藤亜希、田村美規、九富五郎、神吉真紀子、田辺真彦、小倉廣之、西村誠一郎、高橋かおる、蒔田益次郎、多田隆士、霞富士雄、高橋俊二、伊藤良則、島清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

乳癌鎖骨上リンパ節転移症例に対する集学的治療の検討 徳留なほみ、伊藤良則、古川恵子、入江哲也、水沼信之、高橋俊二、堀越昇、島清彦、霞富士雄、秋山太、坂元吾偉 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

Bonadonna による Classical CMF に対する日本人の許容性についての検討 関根靖子、多田敬一郎、吉本賢隆、佐藤亜希、田村美規、九富五郎、神吉真紀子、田辺真彦、小倉廣之、西村誠一郎、高橋かおる、蒔田益次郎、多田隆士、霞富士雄、高橋俊二、伊藤良則、島清彦 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

早期乳癌患者の術後経過観察における骨代謝マーカーの意義 高橋俊二、小泉満、伊藤良則、堀越昇、島清彦、霞富士雄、尾形悦郎 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

長期生存症例に学ぶ乳癌脳転移の治療 斎藤光江、吉本賢隆、伊藤良則、山下孝、霞富士雄 第 11 回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
ありません
2. 実用新案登録  
ありません
3. その他  
ありません

分担研究報告書

転移性乳癌における骨髄破骨細胞の転移における役割：BMP 発現について

分担研究者 高橋 俊二 財団法人癌研究会附属病院 医長

研究要旨

前立腺癌、乳癌などにみとめられる造骨性転移の機序については未だ明らかになっていない。最近乳癌の造骨性転移のモデルが開発されつつあり、endothelin や PDGF-B などが原因物質として提唱されているが、実際の臨床での骨転移との関係は明かでない。初めて乳癌における BMP の発現と骨転移との相関を認めた。

A. 研究目的

最近乳癌の造骨性転移のモデルが開発されつつあり、本研究では乳癌の造骨性転移と最も強力な骨形成因子である TGF ファミリーのひとつ BMP との関連について検討し、乳癌細胞に対する BMP の効果を増殖、分化、形態、遺伝子発現レベルについて詳細に検討することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

- 1) 乳癌組織における BMPs 及び BMP-receptor mRNA の発現を RT-PCR を用いて多数例で検討し、臨床的な骨転移との相関を検討した。
- 2) 乳癌細胞株 6 株について、BMP による増殖制御の有無を TGF- $\beta$ 、Activin と比較して検討し、骨転移に影響を及ぼす遺伝子の発現レベルに対する検討を開始した。

C. 研究結果

1. ほぼ全ての乳癌組織において RT-PCR による検討で複数の BMPs の発現および BMP receptors の発現が認められた。臨床的な骨転移との相関の検討では、乳癌原発巣の BMP-6 発現と骨転移頻度との間

に正の相関が認められた。初めて乳癌における BMP の発現と骨転移との相関を認めた。

2. BMP-receptor は全ての乳癌細胞株に発現しているが、BMP-2・BMP-4 は estrogen receptor (ER) 陽性株においてのみ増殖抑制効果が認められ、TGF-beta, activin とは異なった。さらに同じ ER 陽性株でも MCF-7 では過剰 estradiol の追加により BMP による増殖抑制作用が完全に抑えられたが ZR-75-1 では estradiol の影響は全く認められず、増殖抑制が複数の機序を介している可能性が示唆された。

3. マウス左心室に乳癌細胞株を注入する、あるいはマウス乳房に乳癌細胞株を注入する骨転移モデルを確立し、BMP または BMP receptor 発現レベルの違いによる骨転移能の差、BMP 発現抑制による骨転移抑制の有無の検討を開始した。

#### D. 考察

BMP による増殖抑制は他の骨親和性の悪性疾患である前立腺癌、多発性骨髄腫細胞でも認められており、骨特異的な治療の一つとして BMP の直接投与、あるいは骨における BMP 産生を刺激する薬物による治療の開発が期待される。

#### E. 結論

初めて乳癌における BMP の発現と骨転移との相関を認めた。

BMP による増殖抑制は他の骨親和性の悪性疾患である前立腺癌、多発性骨髄腫細胞でも認められており、骨特異的な治療の一つとして BMP の直接投与、あるいは骨における BMP 産生を刺激する薬物による治療の開発が期待される。

#### F. 健康危険情報

特にありません

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Koizumu M, Takahashi S, Ogata E. Comparison of serum bone resorption markers in the diagnosis of skeletal metastasis. *Anticancer Res.* 23:4095-9, 2003.

Takahashi S, Hakuta M, Aiba K, Ito Y, Horikoshi N, Miura M, Hatake K, Ogata E. Elevation of circulating plasma cytokines in cancer patients with high plasma parathyroid hormone-related protein levels. *Endocr Relat Cancer.* 2003 Sep;10(3):403-7.

##### 2. 学会発表

早期乳癌患者の術後経過観察における骨代謝マーカーの意義 高橋俊二、小泉満、伊藤良則、堀越昇 晶清彦、霞富士雄、尾形悦郎 第11回 日本乳癌学会総会 2003/6/12-13 新潟

乳癌に対する MDR1 遺伝子治療の臨床研究 高橋俊二 第3回トランスレーショナルリサーチワークショップ 2003/9/1-2 淡路

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

ありません

2. 実用新案登録

ありません

3. その他

ありません

分担研究報告書

分子免疫学を駆使した術前、術後における微小転移病変の評価

分担研究者 國土 典宏 東京大学医学部 助教授

研究要旨 肝細胞癌における肝切除では切除そのもののリスクもあるが、系統的切除は有用であり、再発と予後の面から比較検討し有用性が示された。

A.研究目的

肝切除は肝細胞癌の最も根治的な治療法である。患者の80%以上が肝硬変や慢性の肝障害を合併しているため、かつては肝切除そのもののリスクが高かった。しかし、最近二十数年間の術式や周術期管理の進歩により手術の安全性は確立された感がある[1, 2]。日本肝癌研究会の全国追跡調査によると肝切除に伴う周術期死亡率は1970年代は20%を超えていたが、1980年代から1990年代前半にかけて急速に改善し、最新の調査では1%未満になった[3]。

肝細胞癌は経門脈的に進展し門脈侵襲や肝内転移を伴う傾向が強いため、担癌門脈領域を系統的に切除することが根治性の向上につながる。肝切除量を最小限にしながら根治性を高める工夫としてMakuuchiらにより術中超音波を駆硬変合併肝癌に対する標準術式となっている。

系統的亜区域切除後の長期予後については国立がんセンターと信州大学からの報告があり、いずれも前向きランダム化比較試験ではないが、系統的亜区域切除後の長期予後は非系統的な部分切除に比べて統計学的に有意に良好であったとされている[21, 22]。系統的区域切除の優位性については最近、欧米の施設からも報告がみられるようになった。本研究では我々が肝細胞癌の標準術式としている系統的切除の有用性について、術後の生命予後と再発の両面で比較検討することを目的とした。今回は特に系統的切除の効果が判定しやすいと考えられる単発症例のみを対象とし、Retrospectiveな検討を行った。

## B. 研究方法

1994年10月～2001年12月に東京大学肝胆膵外科において、初回治癒的切除を行った肝細胞癌症例は315例であった。このうち、多発症例85例、他癌合併例13例、破裂症例6例を除く単発肝細胞癌症例210例を今回の検討対象とした。210例のうち156例に系統的切除、54例に非系統的切除を施行し、両群の術後の生命予後と再発についてretrospectiveに解析した(スライド1)。多変量解析としては、術式の他に肝細胞癌治療後の予後に影響を与えると思われる12因子:年齢(65才以上・未満)、性別、ICG-15分値(20%以上・未満)、Child-Pugh分類(AまたはB)、背景肝(肝硬変・非硬変)、腫瘍径(3cm以上・未満)、分化度、脈管侵襲または肝内転移の有無、AFP値(100以上・未満)、PIVKA-II(陽性・陰性)、赤血球輸血の有無、切除断端距離(5mm以上・未満)を選択した。

Cox 比例ハザードモデルを用いて、それら12因子の影響を調整し、術式の違いの予後におけるハザード比を計算した(スライド2)。

## C. 研究結果

術後の在院死はなく、フォローアップ期間は中央値で3.3年(範囲:0.2～7.9年)であった。すべての症例に術後2ヶ月毎に超音波検査と腫瘍マーカー(AFP およびPIVKA-II)、4ヶ月毎にダイナミックCT検査を行い、再発のチェックを行った。

系統的小よび非系統的切除群の背景因子と肝機能を比較すると、ICG-15分値、総ビリルビン値の2因子は非系統的切除群で有意に良好であった。また、肝硬変を合併する割合も非系統的切除群が有意に高かった(スライド3)。

腫瘍因子として腫瘍径、脈管侵襲または肝内転移の有無、分化度、AFP値、PIVKA-IIを系統的小よび非系統的切除群で比較したが、いずれも有意差はなかった(スライド4)。

手術因子の比較では術中出血量や赤血球輸血の有無に差はなく、切除断端距離は有意に系統切除群が大きく確保されていた(スライド5)。

系統的切除群(156例)および非系統的切除群(54例)の1,3,5年生存率はそれぞれ95,84,67%、93,66,35%で、有意に系統的切除群が良好であった( $p=0.01$ , logrank)(スライド6)。また、系統的小よび非系統的切除群の1,3,5年無再発生存率はそれぞれ80,52,27%、69,20,16%で、これも系統的切除群が有意に良好であった( $p=0.006$ , logrank)(スライド7)。

【結論および考察】

今回の検討によって肝細胞癌の外科治療における系統的切除の優位性が、生存率と無再発生存の両面から、しかも単変量および多変量の二つでいずれも実証された。この4つの組み合わせすべてで系統的切除の優位性を示した報告は、現在までにない。このような術式に関わる研究について、エビデンスレベルの高いといわれるランダム化比較試験を実施することは倫理面からも技術面からも困難なことが多い。本研究は retrospective study ではあるが、この命題に関するランダム化比較試験にかわる重要なエビデンスを提供したと考える。

F.健康危険情報

ありません

G.研究発表

1. 論文発表

Norihiro Kokudo, Masatoshi Makuuchi Liver Tumors in Asia MALIGNANT LIVER TUMORS, Current and Emerging Therapies 2nd Edition (Chapter 33) , P-A Clavien Ed. pp..427-438, Jones & Bartlet, Sudbury, MA 2004

Norihiro Kokudo, Masatoshi Makuuchi, Takeshi Natori, Yoshihiro Sakamoto, Junji Yamamoto, Makoto Seki, Tamaki Noie, Yasuhiko Sugawara, Hiroshi Imamura, Shingo Asahara, Takaaki Ikari Strategies for Surgical Treatment of Gall Bladder Carcinoma Based only on Information Available before Resection Arch Surg 138:741-750 2003

Norihiro Kokudo, Masatoshi Makuuchi

Liver Tumors in Asia

MALIGNANT LIVER TUMORS, Current and Emerging Therapies 2nd Edition (Chapter 33) , P-A Clavien Ed. pp..427-438, Jones & Bartlet, Sudbury, MA 2004

Norihiro Kokudo, Masatoshi Makuuchi, Takeshi Natori, Yoshihiro Sakamoto, Junji Yamamoto, Makoto Seki, Tamaki Noie, Yasuhiko Sugawara, Hiroshi Imamura, Shingo Asahara, Takaaki Ikari Strategies for Surgical Treatment of Gall Bladder Carcinoma Based only on Information Available before Resection Arch Surg 138:741-750 2003

Norihiro Kokudo, David R Vera, Masatoshi Makuuchi Clinical Application of TcGSA Nuclear Medicine and Biology 30:8454-849 2003

Kokudo N. Sugawara Y. Imamura H. Sano K. Makuuchi M. Sling suspension of the liver in donor operation: a gradual tape-repositioning technique. Transplantation. 76(5):803-7 2003

Yoshihiro Sakamoto, Junji Yamamoto, Hidenori Takahashi, Norihiro Kokudo, Toshiharu Yamaguchi, Tetsuichiro Muto, Masatoshi Makuuchi Segmental resection of the third portion of the duodenum for a gastrointestinal stromal tumor: a case report. Jpn J Clin Oncol 33(7):364-366 2003

Sugawara Y, Makuuchi M, Imamura H, Kaneko J, Kokudo N Outflow reconstruction in extended right liver grafts from living donors. Liver Transplantation 9(3):306-309

Sakamoto Y, Ohyama S, Yamamoto J, Yamada K, Seki M, Ohta K, Kokudo N, Yamaguchi T, Muto T, Makuuchi M Surgical resection of liver metastases of gastric cancer: an analysis of a 17-year experience with 22 patients. *Surgery* 133 (5): 507-511 2003

Yasuhiko Sugawara, Masatoshi Makuuchi, Junichi Kaneko, Takao Ohkubo, Yuichi Matsui, Hiroshi Imamura, Norihiro Kokudo Living-donor liver transplantation in adults: Tokyo University experience. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 10:1-4 2003

Qian Guo, Wei Tang, Ken-ichi Mafune, Jinming Yu, Xianglu Liao, Min Li, Xingwu Wang, Yasuhiko Sugawara, Norihiro Kokudo, Masatoshi Makuuchi An in vitro evaluation of radiation effects of different fractionated regimens by absolute cell count beads. *Oncology Reports* 10: 1405-1410 2003

Akamatsu N, Sugawara Y, Kaneko J, Sano K, Imamura H, Kokudo N, Makuuchi M Effects of middle hepatic vein reconstruction on right liver graft regeneration. *Transplantation*. 76(5):832-7 2003

Yasuhiko Sugawara, Masatoshi Makuuchi, Junichi Kaneko, Nobuhisa Akamatsu, Hiroshi Imamura, Norihiro Kokudo Living donor liver transplantation for hepatitis B cirrhosis. *Liver Transpl* 9:1181-1184 2003

Masami Minagawa, Masatoshi Makuuchi, Tadatashi Takayama, Norihiro Kokudo Selection criteria for repeat hepatectomy in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 238:703-710 2003

Arita J. Sugawara Y. Hashimoto T. Kaneko J. Kokudo N. Makuuchi M. Maruo Y

Liver resection in patients with Gilbert's syndrome. *Surgery* 134(5):835-7 2003

Imamura H. Seyama Y. Kokudo N. Maema A. Sugawara Y. Sano K. Takayama T. Makuuchi M. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Archives of Surgery*. 138(11):1198-206 2003

Sugawara Y. Makuuchi M. Kaneko J. Saiura A. Imamura H. Kokudo N. Risk factors for acute rejection in living donor liver transplantation. *Clinical Transplantation*. 17(4):347-52 2003

Sugawara Y. Makuuchi M. Kaneko J. Saiura A. Imamura H. Kokudo N. Risk factors for acute rejection in living donor liver transplantation. *Clinical Transplantation*. 17(4):347-52 2003

## 2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
ありません
2. 実用新案登録  
ありません
3. その他  
ありません



分担研究報告書

大腸癌の免疫原性を利用した微小転移病変ならびにその治療に関する研究

分担研究者 山口 俊晴 財団法人癌研究会附属病院 部長

研究要旨 まず胃癌においては染色体 20q がある特異的な組織型と高頻度に認められた。大腸癌では肝転移後リンパ節への転移が重要な因子である。

A.研究目的

固形癌根治手術後の再発のほとんどは、手術時に切除範囲外や遠隔臓器に遺残した微小な転移巣や浸潤巣が原因であると考えられており、このような微小癌病巣の実態の把握は、新しい癌治療戦略を考える上で重要な意義を持つものと考えられる。

B.研究方法

大腸癌においては、予後決定因子のひとつとして、肝臓への転移、所属リンパ節への転移が重要な因子である。また転移後の予後を決定するのは、化学療法に感受性があるかどうかである。まずこれまでに comparative genomic hybridization を用いて、47 例の胃癌において染色体異常を検討した。またこれについては FISH 法による検討を行った。

C. 研究結果

胃癌においては染色体 20q が、ある特異的な組織型と特に高頻度に認められた。

D.考察

胃癌において染色体異常や遺伝子異常が特異的に認められることがわかったが、大腸癌やその他の癌においては検討を要する。

E.結論

胃癌での染色体異常では 20q がもっとも高頻度に生じており、ある特異的な組織型と相関が認められた。再発の頻度や転移などとの関係を検討する事が必要である

F.健康危険情報

とくにありません

G. 研究発表

1. 論文発表

陳劉松、太田恵一郎、保坂尚志、馬場哲、  
大山繁和、瀬戸泰之、山口俊晴、畠清彦

消化器の臨床 ヴァンメディ  
カル vol. 6 No. 3 305-310 2003

2. 学会発表

外科保険診療のあるべき姿 比企

能樹・山口俊晴・中村純次・土器屋卓志・

佐藤祐俊・松田晋也・本田宏・鈴木博昭・

高見博 第 28 回日本外科系連合会学術

集会 2004.6.20 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

ありません

2. 実用新案登録

ありません

3. その他

ありません

分担研究報告書

微小転移病変における周辺の宿主細胞の応答機構

分担研究者 中森 正二 大阪大学医学部・講師

研究要旨 肝臓癌によるリンパ節への転移、血中細胞検出を PCR（リアルタイム）を用いた定量化で系をつくり、有用であることを示した。

A.研究目的

癌進展度診断として最も重要なリンパ節転移診断および転移再発の指標となり得る流血中癌細胞検出の遺伝子診断において、キャピラリーPCR 増幅装置を利用し、診断の迅速化・簡易化をはかり、さらに定量性を導入、客観性のある臨床応用可能な遺伝子診断を行うことをめざした。

B.研究方法

1) 定量的リンパ節転移遺伝子診断

リンパ節転移の定量的遺伝子診断の検討材料として、大腸癌 7 症例から郭清したリンパ節 102 個を用いた。得られたリンパ節を半割し、一方を HE 染色による組織学的検査を行い、残りの半分のリンパ節より RNA を抽出し、CEA を遺伝子マーカーとして、LightCyclerTM（キャピラリーリアルタ

キャピラリーリアルタイム PCR 定量増幅装置；ロシュダイアグノスティック社）を用いて RT-PCR を行った。CEA 遺伝子発現量の定量は、CEA 発現が報告されているヒト胃癌細胞株 MKN45 より RNA を抽出し RT-PCR を行い、これを用いて CEA 発現の検量線を作成し、この検量線を用いて摘出リンパ節における相対的 CEA 発現量を求め定量化を行った。

2) 定量的流血中癌細胞遺伝子診断  
末梢血中に存在する癌細胞検出のための定量的遺伝子診断の検討材料として、肝臓癌切除 16 例（63 検体）および非癌健康常人 41 例から末梢血を採取した。肝臓癌切除例においては、切除前後の肝静脈血、門脈血も採取した。肝臓癌遺伝子マーカーとして、従来から利用されている AFP 遺伝子を用いた。肝細胞癌切除例 36 検体（末梢血 26、肝静脈血 7、門脈血 3）、非癌健康常人末梢血 41 検体については蛍光ハイブリダイゼーションプ

ハイブリダイゼーションプローブを AFP 増幅のための PCR プライマー間に設定し、AFP 特異的増幅を定量した。なお、リアルタイム PCR における AFP 定量のための検量線は、肝癌培養細胞 HuH7 を用いて作成した。

### C. 研究結果

肝臓癌検体では、より特異的に AFP 発現を検出すべく、蛍光ハイブリダイゼーションプローブを AFP 増幅のための PCR プライマー間に設定してリアルタイム PCR を行った結果、健常人 31 例の末梢血サンプルでは AFP の検出ができず、肝臓癌症例では、36 サンプル中 9 サンプルで AFP 発現量以上の発現を認めた。リアルタイム PCR を用いた定量的 PCR により、リンパ節中や血液中微量癌細胞の定量的検出の可能性が見いだせた。

### D. 考察

肝臓癌検体における AFP に対する PCR ではリアルタイム PCR が有用であり、これまでの方法に比較して定量的であり、微小な癌細胞の血液中などの検出が可能となった。

### E. 結論

これまでの形態学的検索に比較して AFP に関してリアルタイム PCR 法により微小な癌細胞の混入が検出可能であり、応用可能である。

### F. 健康危険情報

特にありません。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Maezaki N, Kojima N, Sakamoto A, Tominaga H, Iwata C, Tanaka T, Monden M, Damdinsuren B, Nakamori S.

Total Synthesis of the Antitumor Acetogenin Mosin B:

Desymmetrization Approach to the Stereodivergent

Synthesis of threo/trans/erythro-Type Acetogenins.

Chemistry 9(2):389-399, 2003.

Yamamoto S, Tomita Y, Nakamori S, Hoshida Y, Nagano

H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M, Aozasa

K. Elevated expression of valosin-containing protein

(p97) in hepatocellular carcinoma is correlated with

increased incidence of tumor recurrence. J Clin Oncol

21: 447-452, 2003.

Okami J, Nakamori S, Yamamoto H, Sakon M, Tsujie

M, Hayashi N, Nahano H, Dono K, Umeshita K,

Ishikawa O, Ohigashi H, Monden M. An

immunohistochemical study of Cyclooxygenase(COX)-2

expression in endocrine tumors of the pancreas. J Exp

Clin Cancer Res 21(4): 569-576, 2003.

Muro S, Takemasa I, Oba S, Matoba R, Ueno N,

Maruyama C, Yamashita R, Sekimoto M, Yamamoto H,

Nakamori S, Monden M, Ishii S, Kato K. Identification

of expressed genes linked to malignancy of human

colorectal carcinoma by parametric clustering of

quantitative expression data. Genome Biol;4 (3):R21,

2003.

Kobayashi S, Dono K, Tanaka T, Takahara S, Isaka Y,

Imai E, Nagano H, Kato T, Umeshita K, Nakamori S,

Sakon M, Monden M. Gene transfer into the liver by

plasmid injection into the portal vein combined with

electroporation. J Gene Med.5 (3): 201-208, 2003.