

よびS5のMCTを受け、31歳時に追加治療のため当院を紹介受診した。肝内に多数のviableな結節を認めたが、門脈や肝静脈への侵襲を認めず、また、FDG-PETを含む検索にて肝外再発を認めなかった。従来の治療法にては根治困難と考え、十分なインフォームド・コンセントを経たうえで、2002年1月15日に父親をドナーとした生体肝移植を施行した。摘出肝に結節性病変の多発を認めたが、viableなのは最大径1.7cmの3結節のみであり(図1)、組織学的に血管侵襲を認めなかった。2年後の現在、再発を認めず生存中である。なお、本例では移植の前治療としてTAEを3週間前に施行した。

肝細胞癌に対する移植の適応基準として、「肝外転移なく、肝内病巣については門脈腫瘍栓なし、5cm以下単発、または3cm以内・3結節以内」といういわゆるミラノ基準が知られている<sup>12)</sup>。しかしながら、移植の適応を検討する時点ですでに多種かつ多数の治療を受けている本邦の症例にこの基準をそのままあてはめることができるか不明である。たとえば、IVRによる治療を受け、一見壊死しているようにみえる病巣を数えるのか数えないのか。現在本邦の多くの移植施設は、結節の大きさ・数では制限せず、「肝外転移なし」、「門脈腫瘍栓なし」を条件として移植を行ってきたが(脳死移植は例外でミラノ基準が厳密に適用される)、ある程度症例数が蓄積した時点で、本邦の患者の背景に合致した基準の設定が必要である。なお、2004年1月より、ミラノ基準を満たす肝細胞癌に対する生体肝移植が保険適用となった。

## II. 肝外再発の治療

### 1. 切除療法

近年、肝外再発についても切除可能なものについては切除を積極的に行うことにより予後が改善するとの報告がある。さらに、香港のグループは肝外再発と肝内再発の両者を伴う症例に対するaggressiveな治療を行った経験を報告している。399例の肝切除例のうち63例に肝外再発と肝内再発の両者を認め、うち①肝外再発が単発で、②肝内再発が門脈侵襲を伴わず、かつ③perfor-

mance statusと肝予備能が良好な10例に対して、肝外再発の切除と肝内再発の治療を行うことにより、1年100%、3年70%、5年40%と良好な予後を報告している<sup>13)</sup>。なお、肝外再発と同時に肝内再発を切除したのはわずかに2例であり、肝内再発に対するおもな治療はTAEであった。肝外再発が単発、肝予備能良好など限られた症例が対象ではあるが、encouragingなデータである。臓器別では、副腎転移は積極的に切除して予後良好であることが示されている。

### 2. 非切除療法

本来、経静脈的な全身化学療法の適応と考えられるが、いまだ有効な薬剤がないのが現状である。前述した筆者らの施設のインターフェロン併用化学療法も肝外再発が弱点であるが、インターフェロンとUFTの併用療法により肝切除後の肝内再発と肝外再発(両肺多発転移および骨多発転移)がすべてCRとなった1例を経験した<sup>14)</sup>。最終的に出血性の脳転移により死亡したが、本患者は肝外転移出現後5年間医師としての勤めをフルに果たすことができ、延命とQOLの改善に本治療法が寄与しえたと考えている。

## おわりに

肝細胞癌切除後の肝内再発に対する再切除の適応が明らかとなりつつある。次の課題は、本邦の肝細胞癌治療体系の中における肝移植の適応の決定であろう。肝外再発に対しても外科的治療が積極的に試みられているが、適応は限られており、新たな武器が望まれる。

## ◆ ◆ ◆ 文献 ◆ ◆ ◆

- 1) Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y et al : Second hepatic resection for recurrent hepatocellular carcinoma. Br J Surg 73 : 434-438, 1986
- 2) Suenaga M, Sugiura H, Kokuba Y et al : Repeated hepatic resection for recurrent hepatocellular carcinoma in eighteen cases. Surgery 115 : 452-457, 1994
- 3) Minagawa M, Makuuchi M, Takayama T et al : Selection criteria for repeat hepatectomy

- in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 238 : 703-710, 2003
- 4) Shimada M, Takenaka K, Taguchi K et al : Prognostic factors after repeat hepatectomy for recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 227 : 80-85, 1998
  - 5) Sakon M, Umeshita K, Nagano H et al : Clinical significance of hepatic resection in hepatocellular carcinoma ; analysis by disease-free survival curves. *Arch Surg* 133 : 983-987, 1998
  - 6) Poon RTP, Fan ST, Lo CM et al : Intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma ; long-term results of treatment and prognostic factors. *Ann Surg* 229 : 216-222, 1999
  - 7) 打田日出夫, 田中健寛, 阪口 浩ほか : 再発癌に対するインターベンショナル・ラジオロジー. *日外会誌* 100 : 220-227, 1999
  - 8) Otsuka M, Ohara K, Takada Y et al : Radiation therapy for intrahepatic recurrence after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol* 8 : 151-155, 2003
  - 9) 田中正俊, 奥田康司, 佐田通夫 : 肝内転移・再発症例の治療. *臨消内科* 14 : 1029-1035, 1999
  - 10) Sakon M, Nagano H, Dono K et al : Combined intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94 : 435-442, 2002
  - 11) 日本肝移植研究会 : 肝移植症例登録報告. *移植* 38 : 401-408, 2003
  - 12) Mazzaferro V, Regalia E, Doci R et al : Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 334 : 693-699, 1996
  - 13) Poon RTP, Fan ST, O'Suilleabhain CB et al : Aggressive management of patients with extrahepatic and intrahepatic recurrences of hepatocellular carcinoma by combined resection and locoregional therapy. *J Am Coll Surg* 195 : 311-318, 2002
  - 14) Miyamoto A, Umeshita K, Sakon M et al : Advanced hepatocellular carcinoma with distant metastases, successfully treated by a combination therapy of alpha-interferon and oral tegafur/uracil. *J Gastroenterol Hepatol* 15 : 1447-1451, 2000

\*

\*

\*

進行肝細胞癌に対する化学療法の最前線

左近 賢人 永野 浩昭 門田 守人

要 旨

肝細胞癌に対する局所療法が目覚ましい進歩に比し、化学療法のそれは充分とは言えない。しかし、Stage IVのような進行肝細胞癌でも多剤併用の肝動注療法などにより高い奏効率が報告されるようになった。特にlow dose FP (5-fluorouracil, cisplatin) や経皮的肝灌流、あるいは高度門脈浸潤例 (Vp3 以上) に対するインターフェロン $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) 併用肝動注化学療法などが試みられ、長期生存例も見られている。IFN $\alpha$ 併用動注化学療法では約 5 割の症例に奏効例が見られ、手術成績をも凌駕している。しかし、いずれもパイロット的な検討が多く、エビデンスに基づいた標準的治療とは言いがたい。さらに肝細胞癌に対する肝移植も可能となり、肝外転移巣に対する有効な化学療法の開発がより一層重要となっている。

〔日内会誌 93:1660~1665, 2004〕

**Key words** : 進行肝細胞癌, 門脈腫瘍栓, インターフェロン, 動注化学療法

はじめに

小型肝細胞癌に対する局所療法の進歩には目覚ましいものがある。一方、Stage IVAやIVBの様な高度進行肝細胞癌では化学療法が主体となるが、一般的に肝細胞癌は抗癌剤に対する感受性が低く、また、肝硬変・慢性肝炎などの肝障害も伴うため、副作用の点からも化学療法は重要視されてこなかった。事実、肝細胞癌に保険適応のある薬剤は意外に少ない(表1)。種々の局所療法が進歩し、肝移植も肝癌治療として認知された現在、肝細胞癌のさらなる予後向上には全身化学療法の進歩が最も重要と言える。

肝細胞癌の薬物療法は基本的に患者因子(肝機能と腫瘍の進展度)と治療因子(薬剤効果と副作用)を総合的に考慮して決定される。また、抗癌剤は単剤だけではなく、他の抗癌剤やbiologi-

cal response modifier (BRM) などとも併用され、実に多くのプロトコールが存在する。このことは逆に肝細胞癌には有効な標準的化学療法が存在しないことを意味している。

第15回肝癌研究会報告<sup>1)</sup>によると化学療法では約20%に奏効例が認められている。しかし、対象患者の腫瘍進展度、肝機能、薬剤の種類と投与量など、背景因子も実に多様であり、エビデンスとなりえるデータは得られていない。主にStage IVA, IVBの進行肝細胞癌に対する化学療法の現状を概説する。

1. 化学療法

1) 経口抗癌剤

経口フルオロウラシル (5-FU) 製剤の有効性については十分なエビデンスはないが、一般的には否定されている。その原因としてfirst pass effect, つまり肝に存在するDPD (dihydropyrimidine dehydrogenase) が5-FUを速やかに代謝することが考えられる。一方、5-FUのprodrug

さこん まさと\*, ながの ひろあき, もんでん もりと:

大阪大学大学院医学系研究科病態制御外科学

\*現 西宮市立中央病院外科

表 1. 肝細胞癌に適応のある抗癌剤 (本邦)

経口	経口/注射	注射
UFT (テガフル/ウラシル)	エンドキサン (シクロホスファミド) MMC (マイトマイシンC)	5-FU (フルオロウラシル) ニドラン (ニムスチン) アドリアシン (ドキソルビシン) ファルモルビシン (エビルピシン) *) ノバントロン (ミトキサントロン) スマンクス (ジノスタチンスチマラマー) *)

商品名 (一般名), \*) 経動脈投与.

であるテガフルとウラシルとの合剤であるUFTは、ウラシルによるDPDの活性阻害、つまり5-FUの異化抑制が期待される。事実、UFTによる肺転移病巣に対する抗腫瘍効果やstage IVA肝細胞癌における生存率延長効果が報告されている<sup>2)</sup>。肝細胞癌ではestrogen receptorが発現しており、欧米を中心にタモキシフェンの効果が検討されてきた。女性において生存率の向上が認められたとする報告もあるが、メタアナリシスではその有効性は確認されていない<sup>3)</sup>。

## 2) 静脈投与抗癌剤

経静脈的全身化学療法では単剤として5-FU, マイトマイシンC(MMC), ドキソルビシン, エビルピシン, シスプラチン(CDDP)などが使用されてきた。ドキソルビシンやCDDP, 5-FUに関する報告が多いが、現時点ではCDDPの肝細胞癌に対する保険適応がない(表1)。ドキソルビシン単剤での奏効率は約2割である<sup>4)</sup>。比較的新しい抗癌剤であるイリノテカン, トポテカン, パクリタキセルなどの第二相試験も行われたが有望な結果は出ていない。ソマトスタチンアナログやプラバスタチンの臨床効果も報告されたが、再確認されていない。この様な状況から、最近では多剤併用療法が選択される傾向にある。何れもパイロット的な検討が多く、奏効率も1~4割と報告により大きく異なるが、全体的に単剤のそれよりは高い傾向にある<sup>5)</sup>。一方、ゲムシタピンは当初、単剤で奏効率18%と良好な結果が報告されたが、その後再現性が認められず、ド

キソルビシンやオキサリプラチンとの併用が試みられている。特にオキサリプラチンとの併用ではprospectiveな検討で奏効率19%を認めている。

## 3) 肝動注化学療法

最近のinterventional radiology (IVR) の進歩と皮下埋め込み式リザーバーシステムの導入により肝動注化学療法が普及しつつある。しかし、生存率に関する無作為比較試験が少ない、つまりエビデンスが充分でない現状では肝切除やTAEなどが施行できないか、有効でない進行症例にその適応は限られる。薬剤の選択は経静脈的全身投与のそれと基本的に同じである。単剤での奏効率は14%~47%と、経静脈的全身投与よりも高い傾向にある(表2)。しかし、さらに高い奏効率を期待して多剤併用が行われる傾向にあり、5-FU, ドキソルビシン, CDDPがよく投与されている。全体的に単剤よりは奏効率は高く、40%以上の報告も散見される。所謂、low dose FP治療<sup>6)</sup>はCDDP(10mg/1時間)及び5-FU(250mg/5時間)を5日間連続投与後に2日間休薬し、これを4週間施行し1クールとするものである。その奏効率は48%と報告されている。これにロイコボリン(12mg/10分)を追加したlow dose FP+ロイコボリン治療との比較では症例数9例と少ないものの、low dose FP治療の20%に比べさらに良好な奏効率(56%)であったと報告されている<sup>7)</sup>。

本邦で開発されたジノスタチンスチマラマー

表2. 肝細胞癌に対する動注化学療法の効果(文献18を改変)

薬剤	症例数	奏効率 (%)
A) 単剤		
CDDP	80	47
5-FU	83	18
ADM	50	44
EPI	70	14
MIT	31	26
MMC	35	20
B) 多剤併用		
5-FU/CDDP	119	46
5-FU/EPI	10	20
5-FU/EPI/MMC	52	17
5-FU/ADM/MMC	53	8
ADM/MMC	44	34
ADM/MMC/CDDP	76	51
ETP/CDDP/ADM	15	53
ETP/CDDP/5-FU	13	46
EPI/CDDP/ETP	30	43

ADM: ドキソルビシン, EPI: エピルビシン, MIT: ミトキサントロン, MMC: マイトマイシンC, CDDP: シスプラチン, ETP: エトポシド

(zinostatin stimalamer) は油性造影剤lipiodolに可溶性であり, 長期に肝癌組織に停滞することが特長である. 特にTAE抵抗性や門脈腫瘍栓を有する症例に有効とされる. しかし, 血管合併症や肝萎縮などの副作用が指摘されている.

#### 4) 肝動脈塞栓療法 (TAE)

肝動脈にカテーテルを挿入し, ゼラチンスポンジ単独, あるいはドキソルビシン, エピルビシン, MMCなどの抗癌剤と併用して腫瘍を栄養する肝動脈分枝を塞栓させるものである. 非癌部肝組織にも抗癌剤が流入し, 阻血となるために, 肝機能を考慮しながら塞栓領域を決定する必要がある. 従来からTAEは生命予後については有効でないという報告も多くみられたが, 最近では有効とする報告も多い<sup>3)</sup>. メタアナリシスでその有効性が確認されているが, それは薬剤併用の塞栓 (chemoembolisation) であり, 塞栓 (embolisation) 単独では確認されていない. 一方, 術前術後のTAEが生存率向上に寄与する

かどうかについても議論されてきた. 最近のメタアナリシスによると術前TAEには有効性が認められないが, 術後TAEについては認められたと報告されている.

#### 5) 経皮的肝灌流による化学療法

具らは1989年から, 肝機能良好な進行肝細胞癌に対して経皮的肝灌流 (percutaneous isolated hepatic perfusion, PIHP) による化学療法を施行している<sup>8)</sup>. 奏効率は65%と良好である. しかし, 肝葉を占める大型肝細胞癌や高度門脈腫瘍栓合併例では本療法のみではコントロールすることが難しいことが明らかになってきた. この様な背景から, PIHPに減量肝切除を先行させた2段階治療が行われている. 現在まで6例の門脈腫瘍栓を含むstage IV症例31例に施行し, 5年生存率37%という成績である.

## 2. インターフェロン $\alpha$ (IFN $\alpha$ ) 併用化学療法

### 1) 全身化学療法との併用

Laiら<sup>9)</sup>はIFN- $\alpha$ 単剤の全身投与により31%(11/35例)の症例に奏効例が認められたと報告しているが, 以後の検討ではそのような高い有効性は認められていない. 一方, IFN $\alpha$ とドキソルビシン併用療法の奏効率は3~14%である. IFN $\alpha$ と5-FUの併用では14~21%とやや奏効率が高い傾向にある. 最近の傾向はIFN $\alpha$ , 5-FU, ドキソルビシン等の多剤併用療法が行われる傾向にあり, 10%前後の奏効率が報告されている<sup>9)</sup>. 特にLeungらはIFN $\alpha$  (500万単位/m<sup>2</sup>, 週4回) にドキソルビシン (40mg/m<sup>2</sup>, 週1回), 5-FU (400mg/m<sup>2</sup>, 週4日間), CDDP (20mg/m<sup>2</sup>, 同) を併用し, 17%の奏効率を認めている<sup>10)</sup>. また, Komorizonoらも門脈本幹に腫瘍栓を認める6症例にIFN $\alpha$ とlow dose FPの併用を行い, 2例(33%)に奏効例を認め, 副作用も許容出来るものであったと報告している<sup>11)</sup>.

表3. 門脈腫瘍栓 (Vp 3 以上) 合併肝細胞癌に対する IFN  $\alpha$ /5-FU 併用動注療法

報告者	症例数	奏効率 (%)	CR 率 (%)		生存率 (%)		生存期間 (中央値, 月)
					1 年	2 年	
Kaneko <sup>29)</sup> (2002)	29	13/29 (45)	3/29 (10)	有効例	51	33	11
				無効例	14	7	3.5
小尾 <sup>31)</sup> (2003)	51	27/51 (53)	10/51 (20)	全症例	32		
				対象例	0		
当科 (2003)	40	19/40 (47)	7/23 (30)	全症例	50	22	12
				有効例	93	42	18
				無効例	10		5.5

## 2) 肝動注化学療法との併用

門脈主要分枝に腫瘍栓を認める症例 (Vp3 以上) では有効的な治療法がなく, その予後と QOL は極めて不良であり, 予後もおおよそ 3 カ月である。この様な高度門脈腫瘍栓合併例に対して IFN $\alpha$  (全身投与) と肝動注化学療法の併用療法が試みられ, 良好な成績が報告されている (表 3)。Kaneko ら<sup>12)</sup> は 5-FU, CDDP, メトトレキサート, ロイコボリンの 5 剤を併用し, 45% の奏効率を報告している。我々は 5 剤併用療法では骨髄抑制などの副作用が強く, 長期にわたる投与は困難と考え, 5-FU 単剤による動注療法との 2 剤併用療法を施行したところ, ほぼ同等の効果 (奏効率 5/8 例, 63%) を認めた<sup>13)</sup>。一方, Chung ら<sup>14)</sup> は IFN $\alpha$  (全身投与) に CDDP (2mg/kg) の肝動注を併用しているが, 奏効率は 33% (6/19) となっている。最近の小尾<sup>15)</sup> や永野<sup>16)</sup> らの IFN $\alpha$  と 5-FU の 2 剤併用療法に関する報告もほぼ同様の成績である。本邦全体では 100 例を超えているがその奏効率は約 5 割と変わらない。長期の成績は得られていないが, 奏効例 (CR/PR) の 1 年生存率は 51~93% で, 非奏効例 (NC/PD) のそれは 10~14% である。われわれの施設における奏効例の 50% 生存期間は 18 カ月であり, 非奏効例及び肝切除例よりそれぞれ 12 カ月及び 6 カ月間長くなっている。これらの結果は本療法により肝切除術以上の成績が期待できることを示唆している。また, 高度な門脈腫瘍栓合併例では肝切除だけでは長期予後を期待することは

難しく, 化学療法が奏功することが不可欠であることも意味している。

## (1) 副作用と適応条件

IFN $\alpha$  を含む 5 剤併用化学療法では骨髄抑制, 腎障害などの副作用が強く, 治療の継続性に問題があった<sup>12)</sup>。一方, IFN $\alpha$  と 5-FU の 2 剤併用では副作用も少なく, 奏効率も変わらない<sup>13)</sup>。その後の計 48 例においても軽度の鬱病をのぞき, 大きな副作用を認めていない。小尾らも 23 例に施行し, 大きな副作用を認めなかったとしている<sup>15)</sup>。しかし, 治療の完遂が効果発現には不可欠である。そこで, 適応条件として ①年齢 70 歳未満, ② GOT, GPT (100U/l 未満), ③ 黄疸無く (閉塞性黄疸はこの限りではない), ④血小板数 8 万/ $\mu$ l 以上, ⑤血清クレアチニン 1.5mg/dl 以下, ⑥ PS (0, 1) を全てみだすことを適応条件としている。

(2) IFN $\alpha$  と 5-FU の相互作用とその機序

基礎的検討から 5-FU の代謝, 細胞周期関連蛋白, アポトーシスの増強, 血管新生の抑制, T リンパ球を介した抗腫瘍免疫機能の増強など, 多くの相乗・相加作用が示唆されている (図)。幾つかの細胞傷害機序は正常肝細胞でも起こりえるが, 臨床的には GOT, GPT 等の肝細胞逸脱酵素の上昇を認めない。一方, IFN $\beta$  は IFN $\alpha$  と共通の type 1 レセプターを介して作用するが, 培養肝細胞を用いた基礎実験では IFN $\alpha$  とは異なる抗癌剤に対する増強効果を呈する<sup>17)</sup>。

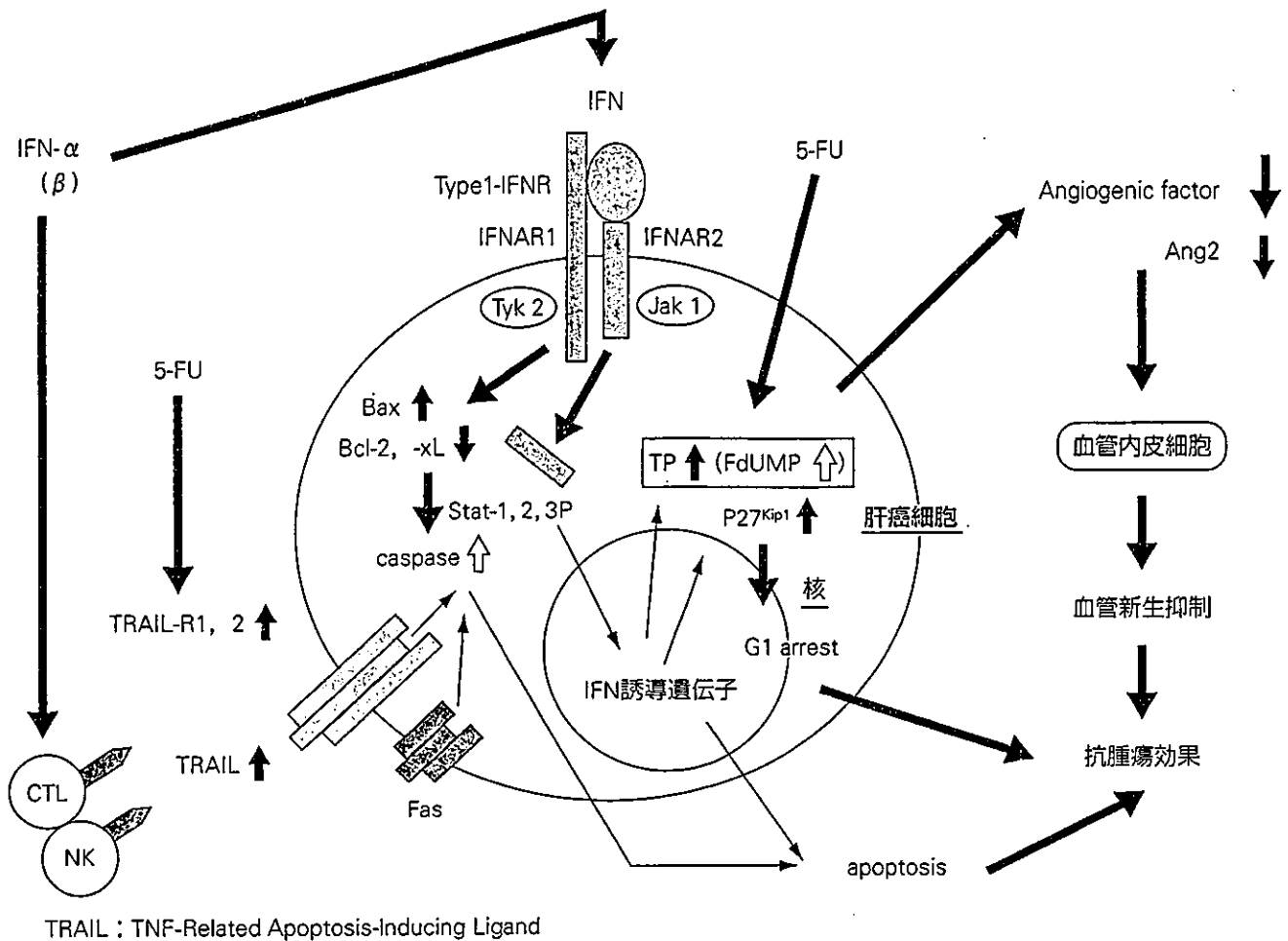


図. インターフェロンαと5-FUの併用効果(仮説)  
 基礎的な検討から、IFNαと5-FUの相乗・相加的な抗腫瘍効果は5-FUの代謝、細胞周期関連蛋白、アポトーシス、血管新生、Tリンパ球による抗腫瘍免疫機能などを介することが考えられている。

### 3. 減量肝切除と化学療法の併用

1) 減量肝切除と術後IFNα併用肝動注化学療法  
 高度門脈腫瘍栓合併症例では門脈閉塞に起因する腹水や食欲不振などの臨床症状や食道静脈瘤破裂の可能性が常に存在する。また、カテーテルトラブルや、大型腫瘍のために動注療法の効果が期待できない場合も多い。そこで耐術可能であれば補助化学療法の効果を期待し、門脈腫瘍栓摘出を伴う減量肝切除を行うことも選択肢の一つと考えられる。当施設ではまず減量肝切除を行い、その後補助療法としてIFNα併用肝動注化学療法を施行している。現在までの1年

生存率は約60%と切除可能症例の全国成績(49%)より良好である。画像上、遺残病巣のない症例ではさらに良好な生存率(1年:100%, 3年:80%)となっている。

おわりに

肝細胞癌は他の癌腫とは異なり、慢性肝炎・肝硬変等の肝障害を伴うために、化学療法に対する取り組みが十分にされてこなかった。しかし、肝動注療法や多剤併用療法などの治療法の工夫により、かなりの奏効率が認められている。特に高度門脈腫瘍栓合併例のような、極めて予後不良な症例でも長期生存例が見られるように

なった。このような進行肝癌では現実的に無作為比較試験を施行することが困難で、エビデンスとなり得るデータを集積することは難しい。また、肝細胞癌に対する肝移植が施行される現在、全身化学療法が今後の中心課題になると考えられ、そのためには化学療法を中心とする多方面からのアプローチが不可欠である。

#### 文 献

- 1) 日本肝癌研究会：第15回全国原発性肝癌追跡調査報告2002。進興印刷出版，京都。
- 2) Ishikawa T, et al: Improved survival with oral administration of enteric-coated tegafur/uracil for advanced Stage IV-A hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 16: 452-459, 2001.
- 3) Llovet JM, et al: Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 362: 1907-1917, 2003.
- 4) 左近賢人, 他: 化学療法と手術(臓器別)肝細胞癌: 生存率向上のために何が必要で, 何処まで可能か? *外科* 62: 160-164, 2000.
- 5) 左近賢人, 他: インターフェロン+5-FUによる治療. *肝臓* 44: 273-278, 2003.
- 6) Ando E, et al: Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis. Analysis of 48 cases. *Cancer* 95: 588-595, 2002.
- 7) Yamasaki T, et al: Novel arterial infusion chemotherapy using cisplatin, 5-fluorouracil, and leucovorin for patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 23: 7-17, 2002.
- 8) 具 英成, 他: 進行多発肝細胞癌に対する減量切除と経皮的肝灌流(PIHP)の合併療法による新治療体系の確立. *消化器科* 37: 419-426, 2003.
- 9) Lai CL, et al: Recombinant interferon-alpha in inoperable hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Hepatology* 17: 389-394, 1993.
- 10) Leung TW, et al: Factors predicting response and survival in 149 patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated by combination cisplatin, interferon-alpha, doxorubicin and 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer* 94: 421-427, 2002.
- 11) Komorizono Y, et al: Systemic combined chemotherapy with low dose of 5-fluorouracil, cisplatin, and interferon-alpha for advanced hepatocellular carcinoma: a pilot study. *Dig Dis Sci* 48: 877-881, 2003.
- 12) Kaneko S, et al: Combination chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma complicated by major portal vein thrombosis. *Oncology* 62 Suppl 1: 69-73, 2002.
- 13) Sakon M, et al: Combined intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94: 435-442, 2002.
- 14) Chung YH, et al: Combined therapy consisting of intraarterial cisplatin infusion and systemic interferon-alpha for hepatocellular carcinoma patients with major portal vein thrombosis or distant metastasis. *Cancer* 88: 1986-1991, 2000.
- 15) 小尾俊太郎, 他: 進行肝細胞癌(VP3, 4)に対するIFN+5FU併用化学療法の有用性, 第38回日本肝癌研究会抄録集. 2002, 205.
- 16) 永野浩昭, 他: 肝細胞癌(Hepatocellular Carcinoma)の集学的治療. *癌の臨床* 47: 1115-1120, 2001.
- 17) Damdinsuren B, et al: Interferon-beta is more potent than interferon-alpha in inhibition of human hepatocellular carcinoma cell growth when used alone and in combination with anticancer drugs. *Ann Surg Oncol* 10: 1184-1190, 2003.
- 18) 市田隆文: 進行肝細胞癌に対する内科的治療の進歩. *日消病会誌* 100: 403-413, 2003.



## 特集/肝炎から肝がんまで

## 肝がんの治療

## 進 行 肝 癌

近藤 礎	永野 浩昭	左近 賢人
宮本 敦史	丸橋 繁	山本 為義
太田 英夫	中村 将人	和田 浩志
堂野 恵三	梅下 浩司	中森 正二
	門田 守人	

## はじめに

近年、早期肝細胞癌の局所療法として、動脈塞栓術(transcatheter arterial embolization: TAE)、経皮経肝的エタノール注入術(percutaneous transhepatic ethanol injection therapy: PEI)、マイクロ波凝固術(microwave coagulation therapy: MCT)、ラジオ波焼灼術(radiofrequency ablation: RFA)の有効性が報告されている<sup>1)~4)</sup>。しかし、肝細胞癌の終末期像である肉眼的門脈内腫瘍栓、肝内多発転移、遠隔転移を認める症例では、前述の局所療法は殆ど効果を示さず、肝切除術などの外科治療を含めた集学的治療が必要となる場合も少なからず存在する。本稿では、腫瘍径5 cm以上の肝細胞癌、多発肝細胞癌、肉眼的門脈内腫瘍栓、肉眼的肝静脈内腫瘍栓、リンパ節転移、遠隔転移を認める肝細胞癌を進行肝細胞癌とし、これら症例に対する、肝切除術、肝移植、IFN併用化学療法などを含めた治療成績について概説する<sup>5)6)</sup>。

## I. 5 cm以上の肝細胞癌におけるTAEの意義

肝細胞癌に対する肝切除術後の2年以内の残肝再発危険因子を解析したところ、腫瘍径5 cm以上は独立した危険因子であった<sup>5)6)</sup>。このことより、腫瘍径が5 cm以上の肝細胞癌では、残肝再発を念頭に置く必要がある。我々は、このような症例の術後再発予防に、術前TAEが有効ではないかと考えている。その理由としては、5 cm以上の肝細

胞癌の肝切除術症例で、術前TAE施行例(n=57)と非施行例(n=25)の無再発生存率を比較したところ、施行例の方が予後良好だったことがあげられる<sup>5)6)</sup>。その機序として、術前TAEが、手術操作による癌細胞の血中散布を制御しているからではないかと考えている。また、その間接的な根拠としては、術前TAE施行例と非施行例で、realtime RT-PCR法を用いて血中の肝細胞癌細胞を検出したところ<sup>7)</sup>、術前TAE非施行例で、より多くの肝細胞癌細胞が検出されたことにある<sup>8)</sup>。以上の結果より、5 cm以上の肝細胞癌においては、術前TAEが切除後再発予防に有用ではないかと考えている。

## II. 多発肝細胞癌

Poonらによると、多発肝細胞癌に対する外科治療成績は、平均生存期間が25.7ヵ月であり、さらにIM2-3:31例とIM0-1:23例に分けると、術後平均生存期間はそれぞれ30ヵ月、48ヵ月と有意にIM2-3群の成績が不良であったと報告している<sup>8)</sup>。当科における成績もほぼ同様で、術後平均生存期間は33ヵ月であった<sup>9)</sup>。これらのことから、両葉多発肝細胞癌の治療成績を向上させるためには、肝切除術後の治療、つまりは再発予防と再発後の確実な治療が重要と言える。また、多発肝細胞癌は、一般的にTAEがその初回治療選択肢であり、TAEの有効性を増強するための治療として、以下のような外科的補助療法もある。

腫瘍径の小さな多発病変については、TAEにより比較的治療効果がえられる。しかし、10cmを超えるような巨大肝細胞癌で多発病変を有する症

例では、もはやTAE, MCT, RFAなどの内科的治療効果はほとんどない。したがって多発肝細胞癌症例の中で、TAEが有効でないような巨大進行肝細胞癌に対する肝切除術は、それだけでも十分に意義があると考えられる<sup>5)</sup>。ただし、この場合の外科治療は、あくまでもTAEを機軸とした集学的治療の一環である。このような外科的補助療法が適応となりえる症例は、前述の巨大肝細胞癌で多発病変を有する症例に対する減量肝切除術以外にも、多中心性結節や反復TAE後の無効結節に対する減量肝切除術<sup>10)</sup>、TAE無効病巣に対する側副血行路遮断術がある<sup>11)</sup>。

### III. 肝静脈侵襲をともなう肝細胞癌

肝静脈侵襲 (Vv2-3) をともなう肝細胞癌の術後成績は、門脈侵襲の肝細胞癌より不良である<sup>5)</sup>。手術手技も門脈侵襲の場合とはことなり、下大静脈から右心房内へ腫瘍栓が発育している場合には、体外循環を使用する必要がある。当科で経験した肝細胞癌532症例中、Vv2の肝細胞癌は6症例(1.1%)、Vv3の肝細胞癌は6症例(1.1%)であった<sup>5)</sup>。このうち、10/12症例(83%)は門脈侵襲をともなっていた。また、これら症例の術後平均生存期間は10ヵ月であった。再発部位は肺が最も多く5症例(42%)で、脳、骨と続く<sup>5)</sup>。以上の結果より、Vv2-3進行肝細胞癌の外科治療においては、肝外再発予防が今後の課題と考えられる。

### IV. リンパ節転移をともなう肝細胞癌

現在までに、当科で経験したN1肝細胞癌は7症例であった。これら症例の原発性肝癌取り扱い規約にもとづく腫瘍進展度は、T1:1症例、T3:2症例、T4:4症例で、組織分類はEdmondson 2型:1症例、Edmondson 3型:4症例、Edmondson 4型:2症例と分化度が低い傾向にあった。転移陽性リンパ節数は1個:4症例、2個:2症例、6個:1症例で、多発リンパ節転移(6個)をともなう症例は、術後3ヵ月目に残肝再発と大動脈周囲リンパ節再発をきたし原病死した。残り6症例の中で、残肝再発を2症例にきたしたが、リンパ節再発はなかった<sup>5)</sup>。以上より、リンパ節転移をともなう肝細胞癌では、多発リンパ節転移症例をのぞけば、腫大した転移リンパ節の摘出術を施行することにより予後の改善がえられると考えている。

### V. 遠隔転移をともなう肝細胞癌

現時点では、遠隔転移をともなう肝細胞癌に対する有効な治療方法はない。術前の微小な転移を確定診断しえず肝切除術を行い、術後に転移が明らかになる場合も少なくない。しかしながら、予後を決定する肝不全を防ぐための肝切除術、肺転移巣の切除術、骨転移巣への放射線治療などの姑息的治療によるQOL向上の可能性も検討していく必要がある。Sasakiら<sup>12)</sup>は、肝切除術、肺転移巣切除術、副腎摘出術により長期生存した症例を報告しており、遠隔転移があっても外科治療の適応となる症例も存在する。しかしながらほとんどの症例が癌細胞の全身散布をきたしていると考えられ、何よりも化学療法を含めた有効な全身治療の確立が必要である<sup>5)</sup>。最近我々は、肺転移、骨転移をともなう全肝多発の肝細胞癌をIFN $\alpha$ 、UFT、放射線療法で治療し、CRをえた症例を報告している<sup>13)</sup>。

### VI. 生体部分肝移植

脳死肝移植については、摘出臓器の公平な使用と言う観点から、ミラノ基準<sup>14)</sup>が採用されているが、肝細胞癌に対する生体部分肝移植の適応に関する統一した基準は存在しない。ミラノ基準を逸脱する進行肝細胞癌であっても、肝機能が低下した症例や既存の治療による効果が期待できない症例では、肝移植が治療成績の向上に寄与する可能性は充分にあると考えている。また、手術合併症、再発率、再発予防対策などを含めた、充分なインフォームド・コンセントが必要となることは言うまでもない。このような観点より当科においては、肺転移、骨転移、リンパ節転移などの肝外病変がない症例で、①肝予備能力が低く、肝移植以外に有効な治療方法がないと判断する症例、②肝移植以外の方法では、癌進展が制御不可能と判断する症例を対象とし、肝細胞癌の治療としての生体部分肝移植を施行してきた。現在までに、13症例に対して肝移植を施行し、うち10症例がミラノ基準を逸脱する進行肝細胞癌であった。観察期間(4~31ヵ月)は短いものの、全例生存中である<sup>5)</sup>。

### VII. 高度進行肝細胞癌に対するIFN併用化学療法

IFNと化学療法との併用効果については、大腸癌、肝細胞癌などで報告されていた<sup>15)-17)</sup>。こ

これらの知見をふまえ、1997年より高度進行肝細胞癌症例に対してIFN $\alpha$ と5-FUを併用した治療方法をおこない、極めて良好な成績を報告してきた<sup>5)5)18)</sup>。当科における治療対象は、門脈一次分枝や門脈本幹内腫瘍栓(Vp3以上)をとまなう高度進行肝細胞癌症例と、肝内多発転移症例である。これら症例のうち、肝内多発転移症例や肝切除術が不可能と判断される症例では、セルディング法にて肝動注用のカテーテルを留置する。肝切除術が可能な症例では、術中にカテーテルを留置する。治療は、5-FU(500mg/日)の2週間投与・2週間休薬を1クールとして持続動注する。同時にIFN $\alpha$ ( $5 \times 10^6$ 単位/回)を3回/週、4週間を1クールとして皮下投与する。治療適応としては、副作用や抗癌剤動注による肝障害を考慮し、70歳未満、T.Bil値が正常、GOT、GPT値がともに100未満としている。

現在までの治療成績を以下に記載する。治療対象は、大きく3群に分けられる。1群：門脈内腫瘍栓に肝内多発転移をとまなう症例、2群：門脈内腫瘍栓に片葉の主腫瘍をとまなう症例、3群：門脈内腫瘍栓に片葉の主腫瘍と肝内多発転移をとまなう症例、である。1群についてはIFN併用化学療法を40症例に施行し48%の奏功率をえた。2群については、肝切除術と術後補助療法としてのIFN併用化学療法を3クール、11症例に対して施行した。これら症例の1年生存率は100%であった。3群においては、減量肝切除術と術後のIFN併用化学療法を16症例に施行した。観察期間は短いものの、25%(4症例)に残存肝病巣のCRをえている<sup>5)</sup>。

肝細胞癌における、IFN $\alpha$ と5-FUの抗腫瘍効果のメカニズムを検討した報告は少ない<sup>19)~21)</sup>。我々は、①IFN $\alpha$ が、5-FUのbiochemical modulatorとして相乗的に作用する場合、②IFN $\alpha$ と5-FUが相加的に作用する場合、③IFN $\alpha$ 、5-FUが個々の薬剤のみで作用する場合があります、これらの抗腫瘍効果が複雑に絡み合い、肝細胞癌の増殖進展を抑制していると考えている。以下に、現在までの研究結果の概略について述べる。また、これらの実験で使用している5-FUの濃度は、臨床で投薬される血中濃度とほぼ同等である。

### 1. 増殖抑制効果

肝細胞癌細胞株(PLC/PRF/5)をIFN $\alpha$ と5-FUで処理すると、相乗的に細胞増殖が抑制される。そのメカニズムは、細胞周期関連蛋白である

p27<sup>KIP1</sup>の蓄積によるcell cycle arrestであった<sup>19)</sup>。また、肝細胞癌細胞株(HuH7)をIFN $\alpha$ と5-FUで処理すると、相加的に細胞増殖が抑制される。両細胞の抗腫瘍効果の違いは、IFNレセプター(受容体)の発現レベルの差と相関していた<sup>19)</sup>。最近の我々の研究では、肝細胞癌細胞株のHLE、HLFでも、相乗的に細胞増殖が抑制された。以上の結果は、IFN $\alpha$ と5-FUが効果を相殺することなく、肝細胞癌の増殖を抑制することを裏付けている。

### 2. 血管新生抑制効果

肝細胞癌細胞株(PLC/PRF/5)をIFN $\alpha$ と5-FUで処理すると、培養液中の血管新生因子(VEGF)の発現量が減弱することを確認した。また、ヌードマウスを用いたvivoの系において、IFN $\alpha$ と5-FUが幾つかの血管新生因子を抑制することもわかってきている。

### 3. apoptosisの誘導

肝細胞癌細胞株(PLC/PRF/5, HuH7, HLE, HLF)をIFN $\alpha$ と5-FUで処理すると、様々な頻度でapoptosisが誘導される。この頻度は、10日間の細胞培養でも10%以下と決して多いものではなかった。しかし、apoptosisの頻度は経時的に増加しており、抗腫瘍効果の一つのメカニズムと考えられた。また、apoptosisの誘導には、IFNレセプターのシグナルとBcl-2関連蛋白が関与していると考えられた。この実験系でも、細胞増殖実験と同様に、相乗的、あるいは相加的にapoptosisが誘導されており、IFN $\alpha$ と5-FUが効果を相殺することはなかった。

### 4. 免疫賦活作用

現在、Tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand (TRAIL)を介した免疫賦活作用が、抗腫瘍効果の一つのメカニズムではないかと考えている。IFN併用化学療法を施行した進行肝細胞癌症例の治療前後の末梢血単核球中のTRAIL mRNAを検討したところ、治療が有効であった症例ではTRAILの発現量が増加しており、治療が無効であった症例では変化を認めなかった。

## お わ り に

進行肝細胞癌の治療成績の向上には、集学的治療が必要である。その中で外科治療は、集学的治療の一機軸として重要な役割を演ずるものと考えられる。その一方で、肝切除術後、肝移植後の再発対策としての有効な治療方法の開発が重要とな

る。その一つの可能性として、当科で施行しているIFN併用化学療法がある。現在までの臨床結果、研究結果を見ると、進行肝細胞癌に対するIFN併用化学療法の有効性は疑いがない。今後の課題の一つは、その適応と限界を明らかにすることであり、これにより100%の奏功率が期待される。

文 献

- 1) Matsui, O., Kadoya, M., Yoshikawa, J. et al.: Subsegmental transcatheter arterial embolization for small hepatocellular carcinomas: local therapeutic effect and 5-year survival rate. *Cancer Chemother Pharmacol*, 33: S84-88, 1994.
- 2) Livraghi, T., Vettori, C.: Percutaneous ethanol injection therapy of hepatoma. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 13: 146-152, 1990.
- 3) Shibata, T., Murakami, T., Ogata, N.: Percutaneous microwave coagulation therapy for patients with primary and metastatic hepatic tumors during interruption of hepatic blood flow. *Cancer*, 88: 302-311, 2001.
- 4) Buscarini, L., Buscarini, E., Di, Stasi, M.: Percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: long-term results. *Eur Radiol*, 11(6): 914-921, 2001.
- 5) 永野浩昭, 丸橋繁, 左近賢人ほか: 進行肝細胞癌に対する外科治療の選択. *消化器科*, 37: 412-418, 2003.
- 6) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人ほか: 多様化する肝癌治療②外科手術の展開. *Frontiers in Gastroenterology*, 8: 125-132, 2003.
- 7) Miyamoto, A., Nagano, H., Sakon, M. et al.: Clinical application of quantitative analysis for detection of hematogenous spread of hepatocellular carcinoma by real-time PCR. *Int J Oncol*, 18: 527-532, 2001.
- 8) Poon, R. T., Fan, S. T., Ng, I. O. et al.: Prognosis after hepatic resection for Stage IVa hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*, 237: 376-383, 2003.
- 9) 丸橋繁, 左近賢人, 宮本敦史ほか: StageIV肝癌に対する治療. 特集-肝細胞癌の外科. *外科治療*, 89: 176-180, 2003.
- 10) 山中潤一, 山中若樹, 田中恒雄ほか: 肝細胞癌に対する減量肝切除術の適応と意義. *日本外科学会雑誌*, 101: 383, 2000.
- 11) Sasaki, Y., Imaoka, S., Shibata, T. et al.: Decolateralization with silicone rubber sheeting for advanced hepatocellular carcinoma; a primary report. *Surgery*, 108: 840-846, 1990.
- 12) Sasaki, Y., Imaoka, S., Shibata, T. et al.: Successful surgical management of pulmonary and adrenal metastasis from hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol*, 17: 84-90, 1991.
- 13) Miyamoto, A., Umeshita, K., Sakon, M. et al.: Advanced hepatocellular carcinoma with distant metastases, successfully treated by a combination therapy of alpha-interferon and oral tegafur/uracil. *J Gastroenterol Hepatol*, 15: 1447-1451, 2000.
- 14) Mazzaferro, V., Regalia, E., Doci, R. et al.: Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*, 334: 693-699, 1996.
- 15) Wadler, S., Schwartz, E. L., Goldman, M. et al.: Fluorouracil and recombinant alfa-2a-interferon: an active regimen against advanced colorectal carcinoma. *J Clin Oncol*, 7: 1769-1775, 1989.
- 16) Patt, Y. Z., Yoffe, B., Charnsangavej, C. et al.: Low serum alpha-fetoprotein level in patients with hepatocellular carcinoma as a predictor of response to 5-FU and interferon-alpha-2b. *Cancer*, 72: 2574-2582, 1993.
- 17) Urabe, T., Kaneko, S., Matsushita, E. et al.: Clinical pilot study of intrahepatic arterial chemotherapy with methotrexate, 5-fluorouracil, cisplatin and subcutaneous interferon-alpha-2b for patients with locally advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology*, 55: 39-47, 1998.
- 18) Sakon, M., Nagano, H., Dono, K. et al.: Combined Intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous Interferon-a therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer*, 94: 435-442, 2002.
- 19) Eguchi, H., Nagano, H., Yamamoto, H. et al.: Augmentation of antitumor activity of 5-fluorouracil by interferon alpha is associated with up-regulation of p27 Kip 1 in human hepatocellular carcinoma cells. *Clin Cancer Res*, 6: 2881-2890, 2000.
- 20) Damdinsuren, B., Nagano, H., Sakon, M. et al.: Interferon-beta Is More Potent Than Interferon-alpha in Inhibition of Human Hepatocellular Carcinoma Cell Growth When Used Alone and in Combination With Anticancer Drugs. *Ann Surg Oncol*, 10: 1184-1190, 2003.
- 21) Kaneko, S., Urabe, T., Kobayashi, K.: Combination chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma complicated by major portal vein thrombosis. *Oncology*, 62: 69-73, 2002.

進行した肝癌の治療

# 化学療法

## (5-FU+IFNを含めて)

### KEY WORDS

●肝細胞癌

●門脈内腫瘍栓

●5-FU

●インターフェロン

併用化学療法

大阪大学大学院医学系研究科病態制御外科学講座

中村 将人, 永野 浩昭, 左近 賢人  
門田 守人

### はじめに

肝細胞癌は世界的に予後の悪い癌である。特に腫瘍が門脈一次分枝や門脈本幹内に進展し腫瘍栓を形成する(Vp3,4)と、非常に予後不良であり、その多くは数ヶ月で死に至る。肝細胞癌に対する治療として、根治的な治療は切除であるが、癌の進展や肝機能により切除不能である症例に対しては動脈塞栓術(TAE), ラジオ波焼灼術(RFA), 経皮的エタノール注入療法(PEIT)などが適応となる。しかし前述したVp3,4症例に対してはこれら局所治療は適応外である。肝細胞癌の予後改善のためには、これらVp3,4症例に対する有効なmodalityが不可欠である。現在までにわれわれは、これら予後不良なVp3,4症例に対して、イン

ターフェロン- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ )の皮下投与と5-フルオロウラシル(5-FU)の肝動脈内投与を併用することにより、良好な治療成績を得たことを報告してきた<sup>1)</sup>。本稿では、このIFN/5-FU併用動注化学療法を中心として述べたい。

### I. 肝細胞癌に対する化学療法の歴史

一般に、固形癌に対する化学療法は血液の癌などと比較しその効果は低い。特に肝細胞癌に対する化学療法についてみると、5-FUによる治療は、スケジュールや投与量を調節しても、奏効率は10%内外、生存期間中央値は3~5ヶ月であり、有効といえるものではない<sup>2)</sup>。その他にドキソルピシン、シスプラチン(CDDP), エトポシドな

Combined chemotherapy of  
intraarterial fluorouracil  
and subcutaneous interferon-  
alpha for advanced hepatocellular  
carcinoma.

Masato Nakamura

Hiroaki Nagano

Masato Sakon(助教授)

Morito Monden(教授)

どが報告されているが、それらも無治療より予後を延長するという結果でしかなかった。また、複数の抗癌剤を組み合わせる併用療法についても、単剤の結果を超えるものではなかった<sup>3)</sup>。他方、肝細胞癌に対するIFNによる治療は奏効率0~7%と全く効果を認めなかった。その後Urabeらが、IFNとCDDP、メトトレキサート(MTX)、5-FUの肝動注の併用療法にて46.7%の奏効率と有効例での予後延長効果という画期的な結果を報告したが、残念ながら、この治療法はgrade 3以上の有害事象を60%以上の症例に認めた<sup>4)</sup>。そこでわれわれは、5-FU単剤の持続動注とIFNの全身皮下投与を施行した。その結果、奏効率は63%と遜色なく、有害事象はgrade 3以上のleucopeniaを13%に認めたのみであった<sup>1)</sup>。

## II. IFN併用動注化学療法の対象と方法

当科においては、既存の治療法が無効な門脈一次分枝または門脈本幹に肉眼的腫瘍栓(Vp3以上)を伴う高度進行肝細胞癌症例を対象としている。適応基準としては70歳未満、T-bilが正常、GOT、GPTがともに100未満、血小板80,000以上、血清Cr 1.5未満、PS 0,1としている。

実際の方法であるが、動注チューブを、非手術症例においてはSeldinger法にて、肝切除施行例では術中に留置する。5-FUは300mg/m<sup>2</sup>/日にて2週間投薬、2週間休薬の4週間を1クールとし、カテーテルより持続投与する。同時にIFN-αを5×10<sup>6</sup>単位/回、3回/週、4週間を通じて皮下投与する(図1)。

## III. IFN併用動注化学療法の治療成績

治療成績について以下に述べる。現在までに、門脈内腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌82例に対してIFN併用動注化学

療法を施行してきた。これらIFN併用動注化学療法の施行例を、病変の局在により、門脈内腫瘍栓に全肝多発病変を伴う症例(1型)、門脈内腫瘍栓に片葉の主腫瘍を伴う症例(2型)、門脈内腫瘍栓に片葉の主腫瘍と対側葉の多発

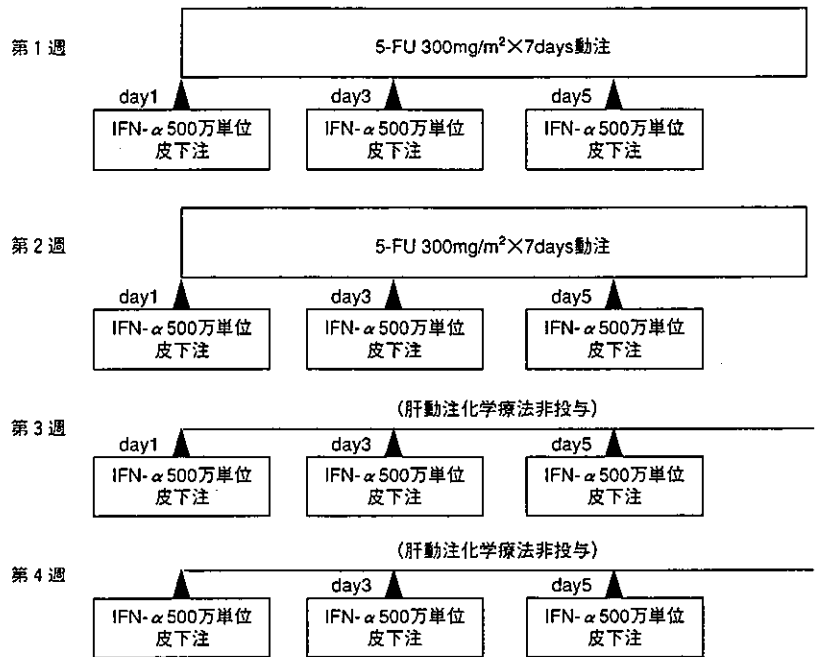


図1. IFN併用動注化学療法治療プロトコル  
治療は4週間を1クールとして行う。5-FUは300mg/m<sup>2</sup>/日を2週間、連日持続動注し、2週間休薬する。IFNは500万単位/日を4週間隔日投与する。

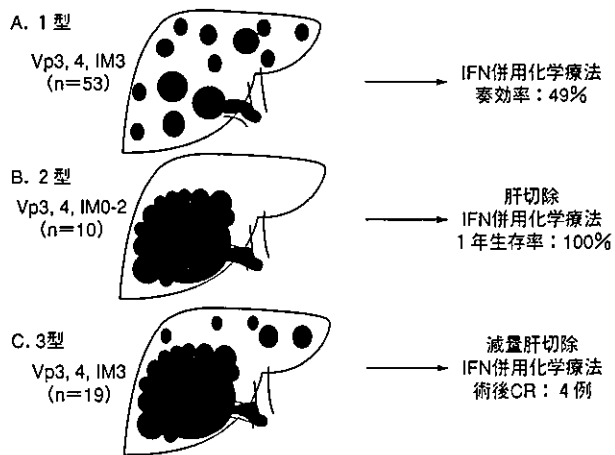


図2. IFN/5-FU併用化学療法の治療成績

病変を伴う症例(3型)の3型に分類した。1型についてはIFN併用動注化学療法を53例に施行し、49%の奏効率をえた(図2A)。2型については肉眼的な根治肝切除術(旧取り扱い規約:根治度B)と術後補助療法としてのIFN併用動注化学療法を3クール、10例に対して施行した。これらの症例の1年生存率、3年生存率はそれぞれ100%、74%であった(図2B)。これに対して、同一ステージで同様の肝切除術を施行し術後にIFN併用動注化学療法を施行しなかった15例の成績は、それぞれ41%、22%であった。3群においては、減量肝切除(主腫瘍の切除と門脈内腫瘍栓の摘出)と術後に対側葉の残存肝病変に対するIFN併用動注化学療法を19例に施行した。現在観察期間は短いものの、4例において残存肝病巣のCR(完全効果)を得た。今後の治療成績が期待される。

#### IV. IFN併用動注化学療法的作用機序

5-FUは、1957年にHeidelbergerらによって発見されてから、50年が経過しようとしている。この間、5-FUは消化器癌をはじめとする各種固形癌の治療に用いる基本薬剤として、広く臨床に使用されており、現在、なお固形癌に対する抗腫瘍薬の主流をなすといっても過言ではない。他方、IFNは1954年に長野らによりウイルス抑制因子として発見され、1957年にIssacsらによりウイルス増殖に干渉(Interference)する因子として命名された。その後、マウス白血病の自然発症を抑制することを契機として、多種類の癌に直接、あるいは免疫系を介して働きかけ、癌

の増殖を抑制することが明らかとなった<sup>5)</sup>。IFNの抗腫瘍効果の機序としては、直接効果として、腫瘍細胞の増殖抑制、分化誘導、apoptosisの増加、間接効果として細胞障害性T細胞、NK細胞などの免疫系の活性化、血管系への影響、間質細胞と腫瘍細胞の細胞相互作用への影響などが報告されている<sup>6)</sup>。以上をふまえてIFN併用動注化学療法的作用機序につき、われわれは以下のように仮説をたて、検証を進めている。

##### 1. IFNによる直接的な抗腫瘍効果

IFNが腫瘍細胞の増殖に影響を与える機序として細胞周期遅延作用が報告されているが、われわれの肝癌細胞株を用いた検討でも両薬剤の併用による増殖抑制効果の増強、細胞周期遅延作用および細胞周期関連蛋白の発現変化を確認した。さらにこの効果は、肝癌細胞株のIFN受容体の発現の強弱が関与していることが明らかとなっている<sup>7)</sup>。

##### 2. biochemical modulatorとしてのIFNによる5-FUの効果増強作用

IFNが5-FUの抗腫瘍効果を増強させ、その代謝への影響として、DPD(dihydropyrimidine dehydrogenase)、TS(thymidylate synthase)の阻害、TP(thymidine phosphorylase)の増加などが報告されている。

##### 3. IFN/5-FUによる血管新生抑制作用

肝細胞癌は豊富な血管を必要とする腫瘍であり、腫瘍内のmicro vessel density(MVD)が腫瘍の進展、予後に影響を与えるといわれている。われわれはIFNと5-FUの併用により、VEGF

(Vascular Endothelial Growth Factor: 血管内皮増殖因子)の発現量がIFN単剤と比較し、低下していることを確認した。現在、ヌードマウスを用いた動物実験の系でIFN/5-FU併用療法の抗腫瘍効果と血管新生因子の関係につき検討を進めている。

#### 4. IFN/5-FUによる腫瘍免疫賦活作用

IFNは細胞障害性T細胞、NK細胞などを介して、強力な免疫賦活作用を有することが知られている<sup>8)</sup>。われわれの検討でもIFN、5-FUにより、Tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand (TRAIL)を介した腫瘍免疫作用が増強されることを報告してきた。現在われわれは、さらに別の腫瘍免疫を担当するFas/Fas ligandの系についても検討を進め、IFNと5-FUの併用により、それぞれ単剤で使用したときと比較しFas/Fas ligand systemを介した細胞死が増えることを確認している。

#### おわりに

以上、述べたようにIFN/5-FU併用動注化学療法は、これまで有効な治療法がなかった門脈腫瘍塞栓を伴う高度進行肝細胞癌に対して、CRを含む約50%の奏効率と、有効症例における予後の延長という画期的な臨床効果を示した。さらに本治療は外来での投与を基本としているため、予後が限られると予想される高度進行肝細胞癌症例においても、患者のQOLを大きく損なわない可能性がある。今後、プロトコルのmodifyや、手術、肝臓移植との併用、対象症例の臨床病理学的因子あるいは遺伝子的背景を考慮にいた

order made治療への展開など、さらなる効果と発展を期待できるとわれわれは考えている。

## 文 献

- 1) Sakon M, Nagano H, Dono K, et al : Combined intraarterial fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94 : 435-442, 2002
- 2) Lin DY, Lin SM, Liaw YF : Non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 12 : S319-S328, 1997
- 3) Simonetti RG, Liberati A, Angiolini C, et al : Treatment of hepatocellular carcinoma : a systemic review of randomized controlled trials. *Ann Oncol* 8 : 117-136, 1997
- 4) Urabe T, Kaneko S, Matsushita E, et al : Clinical pilot study of intrahepatic arterial chemotherapy with methotrexate, 5-fluorouracil, cisplatin and subcutaneous interferon-alpha-2b for patients with locally advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 55 : 39-47, 1998
- 5) Brassard DL, Grace MJ, Bordens RW : Interferon- $\alpha$  as an immunotherapeutic protein. *J Leukoc Biol* 71 : 565-581, 2002
- 6) 今西二郎 編 : インターフェロン. その研究の歩みと臨床応用への可能性. 東京, ライフ・サイエンス, 132-139, 1998
- 7) Eguchi H, Nagano H, Yamamoto H, et al : Augmentation of antitumor activity of 5-fluorouracil by interferon  $\alpha$  is associated with up-regulation of p27Kip1 in human hepatocellular carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 6 : 2881-2890, 2000
- 8) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人 : 肝細胞癌に対する新治療法の開発研究-インターフェロンとフルオロウラシルの併用を中心に-. *日本臨床* 60 : 2237-2244, 2002
- 9) Liang S, Wei H, Sun R, et al : IFN- $\alpha$  regulates NK cell cytotoxicity through STAT1 pathway. *Cytokine* 23 : 190-199, 2003



● 原 著 ●

5-FU+Interferon- $\alpha$  併用療法における 5-FU 代謝関連酵素活性の検討

—ヌードマウス可移植性ヒト肝細胞癌株における検討—

金 昌徳 山本 為義 中村 将人 新井 勲 盧 震輝  
 徐 迅適 永野 浩昭 堂野 恵三 梅下 浩司 中森 正二  
 左近 賢人 門田 守人\*

〔*Jpn J Cancer Chemother* 31(10):1511-1515, October, 2004〕

Influence on 5-Fluorouracil Metabolism by Combination of Interferon- $\alpha$  and 5-Fluorouracil against Human Hepatocellular Carcinoma Xenografts: Chang De Jin, Tameyoshi Yamamoto, Masato Nakamura, Isao Arai, Rho Kishin, Xu Xing, Hiroaki Nagano, Keizo Dono, Koji Umeshita, Shoji Nakamori, Masato Sakon and Morito Monden (Dept. of Surgery and Clinical Oncology, Graduate School of Medicine, Osaka University)

## Summary

To investigate the effect of biochemical modulation on antitumor activity shown by the combination of 5-Fluorouracil (5-FU) and interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), experimental therapy was performed on human hepatocellular carcinoma cell (HuH7, PLC/PLF/5) xenografts inoculated into nude mice, using 5-FU and IFN- $\alpha$ , either alone or in combination. These agents showed antitumor activity in different degrees. Although IFN- $\alpha$ , given as 100,000 units/mouse/3 times/week subcutaneously  $\times 6$ , and 5-FU, given as 0.5 mg/mouse/3 times/week intraperitoneally, showed additive antitumor effect against HuH7 and PLC/PLF/5, the activities of thymidylate synthase (TS), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), thymidine phosphorylase (TP), orotate phosphoribosyltransferase (OPRT), uridine phosphorylase (UP) and uridine kinase (UK) were not significantly influenced in the tumors treated with the 5-FU/IFN- $\alpha$  combination, compared with those treated with 5-FU or IFN- $\alpha$  alone. This suggested that antitumor activity of 5-FU and IFN- $\alpha$  in combination was not significantly involved in 5-FU metabolism in two human hepatocellular carcinoma cell lines examined. Key words: Interferon, 5-FU, Biochemical modulation (Received Mar. 5, 2004/Accepted Apr. 14, 2004)

要旨 肝細胞癌治療における 5-FU と interferon (IFN)- $\alpha$  併用による抗腫瘍効果のメカニズムを 5-FU の biochemical modulation の立場からヒト肝細胞癌細胞を用いた *in vivo* モデルで検討した。ヒト肝癌細胞株 HuH 7 および PLC/PLF/5 を皮下に移植したヌードマウスを用いて、無処置群、5-FU 単独群、IFN- $\alpha$  単独群、5-FU および IFN- $\alpha$  併用群における抗腫瘍効果および 5-FU 代謝関連酵素活性を検討した。薬剤投与は、5-FU 0.5 mg/匹の腹腔内投与および IFN- $\alpha$  10 万 IU/匹皮下注射を 3 回/週のスケジュールで 6 週間行った。いずれの処置群でも抗腫瘍効果は認められ、併用群での効果が最も大きかった。抗腫瘍効果実験と同様の投与スケジュールで 1 週間投与した時点での各腫瘍における 6 種類の 5-FU 代謝関連酵素活性の測定を行った。HuH 7 および PLC/PLF/5 細胞間で各代謝関連酵素活性に違いが認められたが、5-FU 単独、IFN- $\alpha$  単独および両者の併用による 5-FU 代謝関連酵素への有意な影響は認められなかった。肝細胞癌に対する 5-FU+IFN- $\alpha$  併用療法における IFN- $\alpha$  の 5-FU 代謝酵素に及ぼす biochemical modulation 効果の影響は、今回用いた肝細胞癌株においては低いものと考えられた。

## はじめに

これまで有効な治療法の存在しなかった門脈腫瘍栓や遠隔転移を有する高度進行肝臓癌に対する新たな治療法として、われわれは interferon (IFN)- $\alpha$  を併用した 5-FU を基本とする治療法を積極的に施行し、良好な治療

成績やその作用機序を報告してきた<sup>1-3)</sup>。しかし、いまだその抗腫瘍効果のメカニズムに関しては明らかでない点が多い。一方、IFN が 5-FU の生体内代謝に影響し、その作用により 5-FU の抗腫瘍効果が増強することが様々な癌細胞において報告<sup>4-8)</sup>されているが、ヒト肝細胞癌における IFN 併用時の 5-FU 代謝酵素の動態は明らかで

ない。そこで、本研究ではヌードマウス可移植性ヒト肝癌細胞株を用いて IFN- $\alpha$  の 5-FU 代謝関連酵素に及ぼす影響を検討した。

## I. 材料および方法

### 1. 動物と細胞株

4 週齢の BALB/c nu/nu 雌マウス (日本チャールス・リバー (株)) を 1 週間予備飼育した後、実験に用いた。ヒト肝癌細胞株 HuH 7 および PLC/PLF/5 (PLC) (American Tissue Culture Collection) は、37°C、5% CO<sub>2</sub> 存在下にて、10% FBS 含有 MEM 培地にて培養維持継代し用いた。

### 2. 抗腫瘍実験

ヌードマウス背部皮下に HuH 7 および PLC 細胞を  $1 \times 10^7$  個移植して腫瘍を作製し、腫瘍径が約 10 mm になった時点で、腫瘍より 3 mm<sup>2</sup> 大の腫瘍フラグメントを作製し、準備したヌードマウス背部皮下に移植した。移植後、腫瘍が直径約 5 mm になった時点から実験を行った。腫瘍径は週 1 回計測し、推定腫瘍重量を  $W = a \times b^2 / 2$  ( $W$ : 推定腫瘍重量 (mg),  $a$ : 長径 (mm),  $b$ : 短径 (mm)) の式より求めた。実験群は、無処置群、5-FU 単独投与群、IFN- $\alpha$  単独投与群、5-FU + IFN- $\alpha$  併用群の 4 群を作製した。5-FU (協和発酵工業 (株) より供与) は 0.5 mg/匹腹腔内投与、IFN- $\alpha$  (大塚製薬 (株) より供与) は 10 万 IU/匹皮下注射にて投与し、3 回/週のスケジュールで連続 6 週間続けた。

### 3. 5-FU 代謝関連酵素活性の測定

5-FU の代謝に関連するピリミジン代謝酵素として、thymidylate synthase (TS), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), thymidine phosphorylase (TP), orotate phosphoribosyl transferase (OPRT), uridine phosphorylase (UP), uridine kinase (UK) 活性を測定した。

抗腫瘍実験と同じスケジュールで各群 3 匹のヌードマウスを用いて薬剤の投与を行い、投与開始 1 週目にてヌードマウスより腫瘍を摘出、その腫瘍を緩衝液 (50 mM Tris-HCl pH 7.6, 10 mM 2-Mercaptoethanol, 25 mM KCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaF) を用いてホモジネートを作製した。それを腫瘍粗酵素液として各酵素活性を測定した。

#### 1) Thymidylate synthase (TS) 活性

Spears らの方法<sup>9)</sup>に準じて、粗酵素液および [5-<sup>3</sup>H] dUMP (ICN biomedical Inc.) を反応液 (0.3 mM tetrahydrofolate, 1.75 mM HCHO, 1.25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 6.25 mM 2-Mercaptoethanol, 1.25 mg/ml ウシ血清アルブミン, 12.5 mM NaF, 50 mM リン酸バッファー pH

7.5) 中で反応させた後、20% 活性炭懸濁液を加え遠心分離し、上清の放射活性を測定した。

#### 2) Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 活性

Ikenaka らの方法<sup>10)</sup>に準じて、粗酵素液および [6-<sup>3</sup>H] 5-FU (MORAVEK BIOCHEMICALS INC.) を反応液 (1 mM  $\beta$ -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, 5 mM ATP, 50 mM Nicotinamide, 25 mM NaF, 50 mM リン酸バッファー pH 7.5) 中で反応させ、反応液の一部と 5-FU, F- $\beta$ -alanine をシリカゲル薄層クロマトプレートにスポットし、プレート上にて展開、紫外線ランプ下で 5-FU と原点 (分解物) の分画を掻き取り、掻き取った各分画の放射活性を測定した。

#### 3) Thymidine phosphorylase (TP) 活性

糠塚らの方法<sup>11)</sup>に準じて、粗酵素液および [6-<sup>3</sup>H] 5-FU (MORAVEK BIOCHEMICALS INC.) を反応液 (4 mM deoxyribose-1-phosphate, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaF, 100 mM Tris-HCl pH 8.0) 中で反応させ、反応液の一部と 5-FU, FdUrd をシリカゲル薄層クロマトプレートにスポットし、プレート上にて展開、紫外線ランプ下で 5-FU と FdUrdR の分画を掻き取り、掻き取った各分画の放射活性を測定した。

#### 4) Orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) 活性

Shirasaka らの方法<sup>12)</sup>に準じて、粗酵素液および [6-<sup>3</sup>H] 5-FU (MORAVEK BIOCHEMICALS INC.) を反応液 (4 mM phosphoribosyl pyrophosphate, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaF, 50 mM Tris-HCl pH 8.0) 中で反応させ、反応液の一部と 5-FU, FUMP をシリカゲル薄層クロマトプレートにスポットし、プレート上にて展開、紫外線ランプ下で 5-FU と FUMP の分画を掻き取り、掻き取った各分画の放射活性を測定した。

#### 5) Uridine phosphorylase (UP) 活性

糠塚らの方法<sup>11)</sup>に準じて、粗酵素液および [6-<sup>3</sup>H] FUrd (MORAVEK BIOCHEMICALS INC.) を反応液 (25 mM KPB pH 7.5) 中で反応させ、反応液の一部と 5-FU, FUrd をシリカゲル薄層クロマトプレートにスポットし、プレート上にて展開、紫外線ランプ下で 5-FU と FUrd の分画を掻き取り、掻き取った各分画の放射活性を測定した。

#### 6) Uridine kinase (UK) 活性

粗酵素液および [6-<sup>3</sup>H] FUR (MORAVEK BIOCHEMICALS INC.) を反応液 (10 mM ATP, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaF, 100 mM Tris-HCl pH 8.0) 中で反応させ、反応液の一部を 5-FU, FUrd をスポットし乾燥させたシリカゲル薄層クロマトプレートにスポットし、プレート上にて展開、紫外線ランプ下で FUrd と

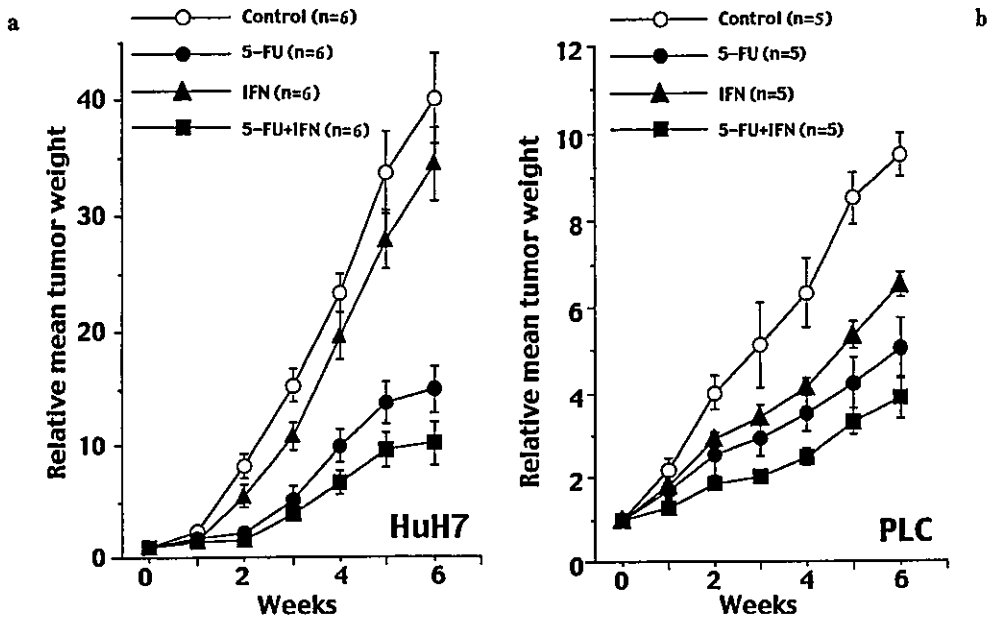


図1 ヒト肝癌細胞ヌードマウス移植腫瘍に対する抗腫瘍活性  
 a: HuH7細胞における抗腫瘍活性。b: PLC/PLE/5 (PLC)細胞における抗腫瘍活性。治療開始時の腫瘍重量に対する各時点における各腫瘍の重量を相対的腫瘍重量 (relative tumor weight) として、各時点で平均 (relative mean tumor weight) し、腫瘍増殖曲線を作成した。

FUMPの分画を掻き取り、掻き取った各分画の放射活性を測定した。

4. 統計学的解析

腫瘍重量の比較および5-FU代謝関連酵素に関する比較は student の t 検定にて行い、 $p < 0.05$ である場合に有意差があると判定した。

II. 結果

図1に各実験群の腫瘍増殖曲線を治療開始時の推定腫瘍重量に対する各測定時点における相対的推定腫瘍重量の平均 (relative mean tumor weight) の推移として示した。細胞株の違いにより、腫瘍増殖速度および薬剤による抗腫瘍効果は異なっていた。5-FU単独の抗腫瘍効果は、HuH7細胞、PLC細胞ともに認められ、対照群と比較して有意な増殖抑制効果が認められた ( $p < 0.05$ )。一方、IFN- $\alpha$ 単独での抗腫瘍効果は、HuH7細胞においては対照群との有意な違いは認められなかったが、PLC細胞では5-FUほどではないものの対照群に比べ有意な増殖抑制効果が認められた ( $p < 0.05$ )。5-FUおよびIFN- $\alpha$ 併用による抗腫瘍効果は、HuH7細胞およびPLC細胞ともに対照群および各薬剤単独群に比べ有意な抑制効果が認められた ( $p < 0.05$ )のもの、併用による効果は相加的なものであった。

各群における腫瘍の5-FU代謝に関する各酵素活性を図2に示した。各酵素の活性を無処置の対照群間で比較すると細胞間に大きな違いが認められ、TS、DPD、OPRT活性はHuH7細胞で高かった。特にDPD活性

はHuH7細胞で有意にPLC細胞より高かった ( $p < 0.001$ )。一方、PLC細胞ではTP、UP、UK活性がHuH7細胞より高く、TP、UP活性は統計学的にも有意であった ( $p < 0.05$ )。これら酵素活性に対する5-FUおよびIFN- $\alpha$ 投与の及ぼす影響は、HuH7細胞においては対照群と比べ有意に変化するものはなかったが、PLC細胞においてはTP活性が薬剤単独では有意な違いは認められないものの、5-FU+IFN- $\alpha$ 併用投与により対照群に比べ有意に上昇した ( $p < 0.05$ )。さらに、UK活性はIFN- $\alpha$ 投与によりPLC細胞で低下する傾向にあったが、対照群、5-FU投与群と比較して有意なものではなかった。

III. 考察

IFNは5-FUのbiochemical modulatorとして、あるいはそれ自体に抗腫瘍作用をもつこと<sup>13)</sup>から、様々な癌種において5-FUと併用して臨床応用されている。この併用療法の作用機序は、いまだ明らかでない点が多い。作用機序の検討の多くは5-FUのbiochemical modulationを検討したものであり、5-FUの代謝に関与する酵素へのIFNの影響を調べている。実際、5-FUの生体内での活性化や代謝にかかわる酵素として、TPやUPの活性増強<sup>4,5)</sup>、TS活性の増強<sup>6)</sup>やDPD活性の阻害<sup>7)</sup>などが大腸癌細胞を主として用いた *in vitro* および *in vivo* の研究で報告されており、これらの影響によって5-FU治療におけるIFN併用化学療法の抗腫瘍効果が増強されている可能性は高い。肝細胞癌においても、IFNと5-

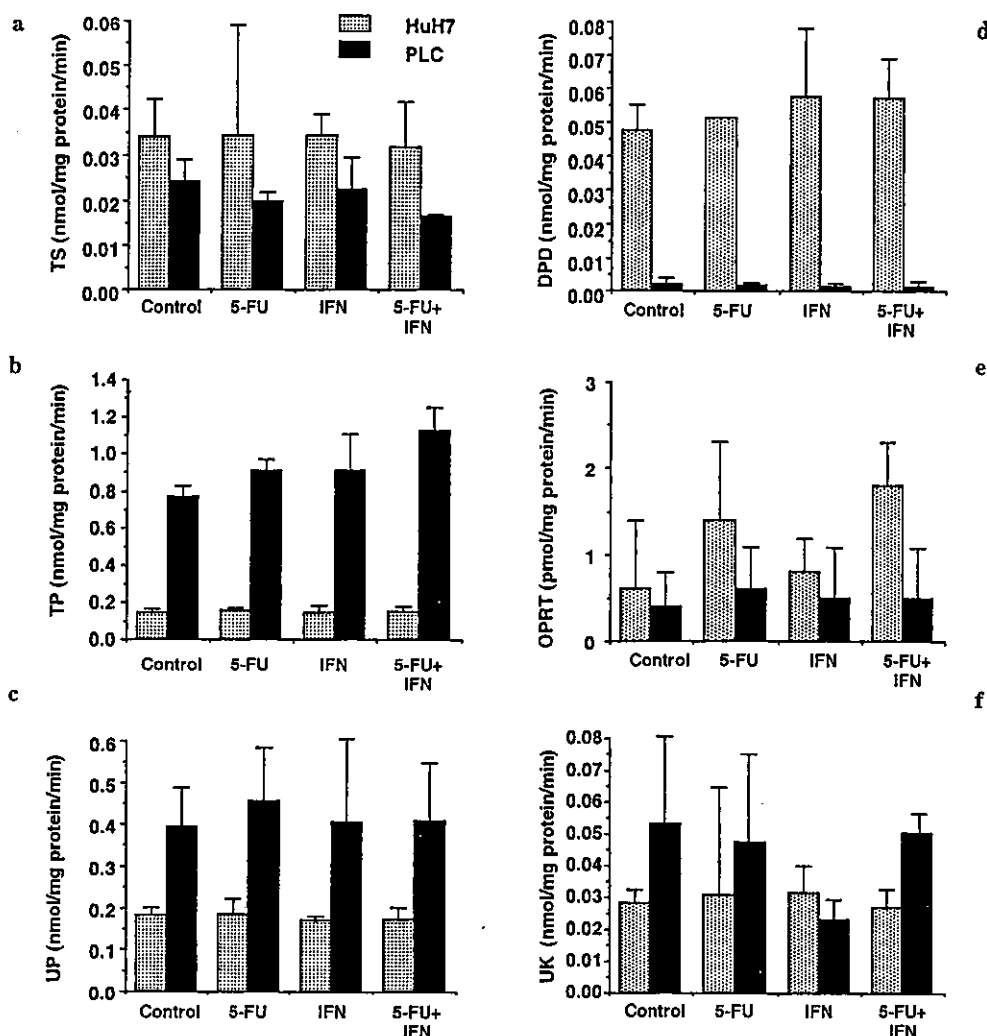


図2 ヌードマウス移植腫瘍における5-FU代謝関連酵素活性  
 a: thymidylate synthase (TS), b: dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), c: thymidine phosphorylase (TP), d: orotate phosphoribosyl transferase (OPRT), e: uridine phosphorylase (UP), f: uridine kinase (UK)。

FU併用療法の臨床効果は、われわれをはじめいくつかの報告<sup>1,2,14-16</sup>が認められるが、その作用機序の検討はこれまでほとんどなく<sup>3</sup>、特にIFNの5-FU代謝関連酵素のbiochemical modulationの面からの検討は行われていない。そこで本研究では、ヒト肝細胞を癌移植した*in vivo*のモデルを用いて、5-FU代謝関連酵素への影響を検討した。

本研究において、これまでにヒト肝細胞癌を用いた*in vitro*モデルで報告された5-FU+IFN- $\alpha$ の併用による抗腫瘍効果<sup>3</sup>を*in vivo*モデルでも明らかにした。しかし、*in vitro*モデルで認められたPLC細胞での5-FUとIFN- $\alpha$ の抗腫瘍活性にかかわる相乗効果は認められず、HuH7細胞とともに相加的な効果としか判断できないものであった。この違いは、実験系の違いによる薬剤到達度や組織内濃度の違いによる可能性があり、本研究では*in vitro*の結果に基づき5-FUやIFN- $\alpha$ の投与量や

投与スケジュールを固定した検討であったためとも考えられる。また、過去の*in vitro*の研究<sup>3</sup>においては、癌細胞のみを対象としたために薬剤が直接的に細胞に作用し、相互効果が反映されやすく抗腫瘍効果が相乗効果として認められた可能性が高いが、今回の*in vivo*の検討では、同一肝癌細胞株を用いてはいるが宿主の様々な因子が影響し、単なる相加効果としてしか認められなかった可能性がある。いずれにしても、今後のさらなる*in vivo*の研究が必要と考えられる。ただし、*in vitro*モデルでの検討でも明らかにされた肝癌細胞株のIFN受容体の発現レベルとIFN直接の抗腫瘍効果<sup>3</sup>に関しては、IFN受容体の発現性が高いPLC細胞でのIFN- $\alpha$ 単剤による抗腫瘍効果は、IFN受容体発現のほとんどみられないHUH7細胞に比べて高かったことから、今回の*in vivo*モデルの実験系の示す結果はIFN受容体発現量を反映したものである可能性は高い。