

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌に対する外科的治療戦略に関する研究

分担研究者 鷗原康行 京都大学大学院医学研究科 消化器外科学 助教授
(山岡義生 京都大学大学院医学研究科 消化器外科学 前教授)

【研究要旨】

近年の肝細胞癌に対する内科的治療の進歩により、外科的治療の役割は進行肝細胞癌にシフトしてきている。肝切除については、その安全性の確立と共に、その適応は拡大された。当科における過去 16 年の肝切除成績の検討においても、近年の肝細胞癌切除症例の成績は、飛躍的に改善した。しかしながらその一方で、Stage IV-A、腫瘍径 10cm 以上、血管侵襲あり、低分化型の症例の予後は依然として不良であり、肝細胞癌切除成績向上のためには、大型、低分化型、脈管侵襲を伴う肝細胞癌に対する対策が必要であることも判明した。

近年、この予後不良の病態であるの中の一つである高度脈管侵襲を伴う肝細胞癌に対して、肝切除術と肝動注による集学的治療の施行により、切除成績（1 年生存率 90.7%）は、過去の報告（1 年生存率 38%）に比べ少なからず向上し、これら集学的治療による治療成績の改善の可能性が期待される。

そこで本研究においては、門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌の治療戦略の確立のため surgery vs. surgery + 肝動注の第 III 相比較臨床試験を開始した。

現在、この臨床試験については進行中であり、今後の RCT の結果を待つ必要があるが、現在までの結果において、肉眼的治癒切除が可能であれば門脈腫瘍栓（Vp3 以上）を伴う肝細胞癌に対しても積極的に肝切除及び腫瘍栓摘出を行い、術後肝動注を行うことにより、術後の無再発生存期間延長の傾向を認めている。以上の結果より、肝切除及び肝動注の組み合わせによる集学的治療により高度門脈腫瘍栓症例であっても長期生存が期待できる可能性が示された。

<研究協力者>

波多野悦朗 京都大学消化器外科 助手

術後肝動注化学療法を含めた集学的治療の意義を検討することを目的として、第 III 相比較臨床試験を施行した。

A. 研究目的

近年、肝細胞癌の治療法としてラジオ波焼灼療法、肝移植が保険適応になり急速に適応が拡大されてきている。しかしながら、依然高度脈管侵襲を伴う進行肝細胞癌症例も多くみられ標準治療法の確立が期待される。我々は肉眼的治癒切除可能であれば、そのような症例であっても積極的に肝切除を行ってきた。そこで、進行肝がんの切除成績向上のための問題点を明らかにし、予後改善のための治療戦略を確立するために以下の検討を行った。さらには、進行肝細胞癌に対する肝切除と

B. 研究方法

<検討1>

1985 年から 2000 年における当科での肝細胞癌初回切除例のうち肝外転移例を除いた 796 例を対象に臨床病理学的因子について retrospective に検討した。さらに、肝細胞癌初回手術症例を 1985-1990 年の前期、1991-2000 年の後期に分け予後を比較検討した。

<検討2>

最近、一般化されつつある腹水、血清総ビリルビン

値、ICG15分値を用いた肝切除適応基準(幕内基準)は、肝切除の限界といえるかどうかを明らかにするために、我々の肝切除症例を幕内基準に当てはめて retrospective に検討した。

<検討3>

1. FDP-PETを用いた低分化型、早期再発術前予測

2003年5月から2004年8月までの術前にFDG-PETを施行した肝細胞癌切除症例30例における癌部、非癌部のSUV(Standardized Uptake Value)を測定し、組織型及び6ヶ月以内の再発の有無との関連性を検討した。

2. 末梢血 soluble FasLを用いた早期再発の術前予測

同時期34症例の術前、術後1Wの末梢血 sFasL および AFPmRNA を ELISA 法および RT-PCR にて測定し早期再発の有無との関連性を検討した。

3. 高度脈管侵襲を伴うHCCに対する肝動注を併用した集学的治療

2001-2004年肝切除262症例のうち高度脈管侵襲(Vp3-4, Vv2-3, B3-4)を伴う肝細胞癌症例(P0, N0, M0)44例および肝切除不能で初回治療が肝動注の13症例の予後を検討した。

尚、手術及び肝動注による合併症の可能性に関して十分説明し患者の同意を得た。

<検討4>

1998年1月より2003年10月まで京都大学消化器外科にて肝切除施行された肝細胞癌患者363例のうち門脈腫瘍栓(Vp3, Vp4)を伴う症例は38例である。遠隔転移を伴う5例を除いた33例を、切除後1ヶ月以内の治療により無治療群20例、TAE/TAI群2例、Epirubicinによる肝動注群(Epi群)6例、5FU+CDDPによる肝動注群(FP群)5例の4群に分け、第III相比較臨床試験を施行した。なお、手術及び肝動注による合併症の可能性に関して十分説明し患者の同意を得た。

C. 研究結果

<検討1>

Vp3, Vp4, Vv2, Vv3例は全部で100例(12.6%)。その高度脈管侵襲例での標準術式は2区域以上の肝切除プラス腫瘍栓摘出。Vp3, Vp4の3年生存率は18%と6%と、Vp1, Vp2の44%、39%と比べ予後不良。但しVp3, Vp4, Vv2, Vv3症例の全体

の1年生存率は38%で、同時期の非切除例(1年生存率4%)に比べ明らかに予後は良好。前期(1985-1990、n=212)、後期症例(1991-2000、n=398)の5年生存率は各々39.1%、58.0%で有意な予後の改善が認められた(p<0.0001)。Stage II、III、肝障害度A、腫瘍径10cm以内、血管侵襲なし、中分化型で生存率の向上が顕著である一方、Stage IV-A、腫瘍径10cm以上、血管侵襲あり、低分化型では有意な予後の改善が認められなかった。以上の結果をふまえ、さらなる予後改善のため、門脈腫瘍栓を伴う高度進行肝細胞癌に対する術後肝動注療法(低用量CDDP+5FU)の再発予防効果に関する第III相比較臨床試験を開始した(<検討4>)。

<検討2>

1999年2000年の肝細胞癌肝切除症例121例のうちstage IVB 4例を除いた117例を対象。幕内基準を満たす症例を適応群(64例)、適応基準を超えて肝切除を行った症例を適応外群(53例)に分け比較検討。適応外群は肝障害がやや高度(有意差なし)で切除量が多いにもかかわらず、術後合併症、手術死亡に差はなく、また高度進行肝癌症例が多いにもかかわらず短期生存率は同等。門脈腫瘍栓(Vp3, Vp4)症例18例のうち幕内基準で1例が適応外とされ、さらに幕内らの門脈腫瘍栓症例での切除基準で更に4例が適応外と判断される。適応基準を厳しく設定することにより切除例での生存率は向上するが、適応外と判断された場合の予後は著しく不良と考えられる。

<検討3>

1. 低分化型のSUV(9.63 ± 6.03, mean ± SD)は中分化型(5.10 ± 2.12)、高分化型(3.51 ± 1.69)に比べて有意に高値(p=0.017, p=0.029)であった。また再発症例のSUV(7.73 ± 4.71)は無再発症例(4.79 ± 2.96)に比べて有意に高値(p=0.049)であった。

2. 末梢血AFPmRNAの検出の有無と早期再発に関して有意な相関は認めなかったが、低sFasL群に比べ、高sFasL群に有意に早期再発を認めた(5.9% vs. 35.3%, p<0.05)。低sFasL群でdisease-free survival periodの延長を認めた(p=0.02)。

3. 44例の1、3年累積生存率は90.7%、56.5%と過去(1985-2000年)の成績(1年生存率38%)と比較し飛躍的に向上した。切除不能肝動注13症例

のうち5例が肝動注を中心とした集学的治療により肉眼的治癒切除が可能となり肝切除を施行した(術前肝動注群)。術前肝動注群は1年生存率100%、平均生存期間は678日で予後延長の傾向があった(vs. 非切除群 336日)。

<検討4>

大多数の症例で葉切除以上の拡大切除(31例)プラス門脈切開腫瘍栓摘出(28例)を施行。33例中21例が幕内基準を逸脱するも手術死亡を認めず。33例の1、3年累積生存率は72.4%、50.1%で生存期間中央値は1126日(95%CI; 734日-1517日)。1、3年無再発生存率は37.5%、20%で無再発期間中央値は127日(95%CI; 79日-175日)。各群の1年生存率は67.8%、100%、60%、100%で、生存期間、無再発生存期間において各群間で有意差を認めなかったが、FP群の平均観察期間449日で全例生存。無治療群に比べEpi群、FP群で無再発生存期間の延長の傾向($p=0.056$, $p=0.054$)があった。更に2例の高度門脈腫瘍栓(対側葉への腫瘍栓及び脾静脈合流部への腫瘍栓)症例にFPによる肝動注を施行。著明な腫瘍栓の縮小を認め肉眼的治癒切除が可能となりそれぞれ158日(無再発)、193日(再発あり)生存中である。

D. 考察

進行肝細胞癌に対して、あえて明確な肝切除の適応制限を設けず、可能な限り外科的切除を追及した上で、再発予防を行うことが患者の予後を改善する可能性がある。

そして、適応拡大とともに、肝細胞癌切除成績向上のためには、今後は再発対策についての治療戦略が重要となる。当科における過去16年間の肝切除成績のretrospectiveな検討より、大型、低分化型、脈管侵襲を伴う肝細胞癌は再発率が極めて高く、このような症例にこそ、肝切術後の再発対策が必要であることが判明した。一方、肝切除術と肝動注による集学的治療による高度脈管侵襲を伴う肝細胞癌に対する切除成績は、過去の報告(1年生存率38%)に比べ向上した。このことより、retrospectiveな解析よりえられた再発危険群症例の中で、まず、高度脈管侵襲を伴う肝細胞癌に対する、術後肝動注の再発予防効果に関して検証する必要があると考え、現在以下のRCTを施行中である。

1. 門脈腫瘍栓を伴う高度進行肝細胞癌に対する術後肝動注療法(低用量CDDP+5FU)再発予防効果に関する第III相比較臨床試験

2. 手術不能肝細胞癌患者に対する肝動注注入化学療法(低用量CDDP+5FU vs. IFN+5FU)に関する比較臨床試験

また、その他の検討結果より、FDG-PET およびsFasLの分子生物学的な検出により早期再発危険群、予後不良群の予測が可能となった。今後はこれらの結果をふまえ、FDG-PET 高度集積例、sFasL 陽性例に対しての、術後補助療法による予後改善についても考慮する必要性が示された。

E. 結論

肝細胞癌の根治的治療が肝切除と考えれば、肝切除量の適応基準を厳格にするよりむしろ進行肝細胞癌に対する肝切除の適応拡大を目指すことが重要である。特に、肝切除成績のさらなる改善には、大型、低分化型、脈管侵襲を伴う症例に対する対策が必要である。そのためには、肝切除術にくわえて肝動注をはじめとする集学的治療の確立が今後の重要課題である。

F. 健康危険情報

現在進行中である第III相比較臨床試験により肝動注による有害事象が明らかになる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Terajima H, et al. : Endoscopic Nasobiliary drainage for postoperative bile leakage after hepatic resection. World J Surg. 28,782-786, 2004
- 2) 猪飼伊和夫, その他:肝細胞癌に対する外科切除. 臨床外科,59(3),303-307,2004
- 3) 猪飼伊和夫, その他:肝癌—今、わかっていること、わかっていないこと、外科治療, カレントセラピー,22(5),75-78
- 4) 猪飼伊和夫, その他: III. 血管合併切除の長期予後と予後からみた手術適応 2. 肝静脈・下大静脈腫瘍栓合併肝細胞癌, 外科,66(6),671-674,2004
- 5) 玉置信行, その他: 肝静脈下大静脈浸潤, 肝・胆・膵,49(5),761-763,2004

- 6) 波多野悦朗, 山岡義生: 進行肝癌の外科的治療の進歩. 日本消化器病学会雑誌 100 (4):414-420, 2003
- 7) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫: 肝癌に対する肝動注などの化学療法レジメン. 臨床外科 58 (8):1065-1069, 2003
- 8) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫, 上杉毅彦, 藤井英明, 長谷川傑, 巖原康行: JIS Score と自験例の成績 切除. 肝・胆・膵 48(1):35-40, 2003
- 9) Yasuchika K, Hirose T, Fujii H, Oe S, Hasegawa K, Fujikawa T, Azuma H, Yamaoka Y.: Establishment of a highly efficient gene transfer system for mouse fetal hepatic progenitor cells. Hepatology Dec;36(6) 1488-97. 2002
- 10) Sugimoto S, Mitaka T, Ikeda S, Harada K, Ikai I, Yamaoka Y., Mochizuki Y.: Morphological changes induced by extracellular matrix are correlated with maturation of rat small hepatocytes. J Cell Biochem. 87(1) 16-28. 2002
- 11) Katsura N, Ikai I, Mitaka T, Shiotani T, Yamanokuchi S, Sugimoto S, Kanazawa A, Terajima H, Mochizuki Y, Yamaoka Y.: Long-term culture of primary human hepatocytes with preservation of proliferative capacity and differentiated functions. J Surg Res. Jul;106(1) 115-23. 2002
- 12) Yoshida M, Yamamoto N, Uehara T, Terao R, Nitta T, Harada N, Hatano E, Iimuro Y, Yamaoka Y.: Kupffer cell targeting by intraportal injection of the HVJ cationic liposome. Eur Surg Res. May-Jun;34(3): 251-9,2002
- 13) Uchinami H, Yamamoto Y, Kume M, Yonezawa K, Ishikawa Y, Taura K, Nakajima A, Hata K, Yamaoka Y.: Effect of heat shock preconditioning on NF-kappaB/I-kappaB pathway during I/R injury of the rat liver. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. Jun;282(6): G962-71,2002
- 14) Yamagami K, Yamamoto Y, Toyokuni S, Hata K, Yamaoka Y.: Heat shock preconditioning reduces the formation of 8-hydroxy- 2' -deoxyguanosine and 4-hydroxy- 2- nonenal modified proteins in ischemia-reperfused liver of rats. Free Radic Res. Feb;36(2): 169-76. 2002
- 15) Fujii H, Hirose T, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Fujikawa T, Nagao M, Yamaoka Y.: Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. J Hepatol. May;36(5): 653-9. 2002
- 16) Uyama N, Shimahara Y., Kawada N, Seki S, Okuyama H, Iimuro Y, Yamaoka Y.: Regulation of cultured rat hepatocyte proliferation by stellate cells. J Hepatol. May;36(5): 590-9. 2002
- 17) Tanaka A, Takeda R, Mukaihara S, Hayakawa K, Takasu K, Terajima H, Yamaoka Y., Chiba T.: Tumor thrombi in the portal vein system originating from gastrointestinal tract cancer. J Gastroenterol. 37(3): 220-8. 2002
- 18) Nishida N, Fukuda Y, Komeda T, Ito T, Nishimura T, Minata M, Kuno M, Katsuma H, Ikai I, Yamaoka Y., Nakao K.: Prognostic impact of multiple allelic losses on metastatic recurrence in hepatocellular carcinoma after curative resection. Oncology.; 62(2): 141-8,2002
- 19) Shimahara Y., Yamamoto N, Uyama N, Okuyama H, Momoi H, Kamikawa T, Terajima H, Iimuro Y, Yamamoto Y, Ikai I, Kushihata F, Kiyochi H, Kobayashi N, Yamaoka Y. : Significance of serum type IV collagen level of hepatectomized patients with chronic liver damage. World J Surg. Apr;26(4): 451-6. 2002
- 20) 宇山直樹, 河田則文, 奥山裕照, 巖原康行, 山岡義生: 星細胞による肝細胞増殖制御: 炎症・再生: 22 巻 5 号, 481-487, 2002
- 21) 藤井英明, 山岡義生, 廣瀬哲朗: What's New in SURGERY FRONTIER 新しい薬剤耐性因子 HIF: Surgery Frontier, 9 巻 2 号, 147-149, 2002.
- 22) 山本雄造, 猪飼伊和夫, 波多野悦朗, 寺嶋

宏明, 山本成尚, 葛原康行, 山岡義生: 【肝離断法を考える】 各種器械による肝離断 CUSA と水流滴下式パイポラによる肝離断: 外科, 64 巻 5 号 530-534, 2002

23) 山本雄造, 山岡義生: 【消化器外科専門医であるために必要な標準手術手技アトラス】 肝・胆・膵・脾の手術 肝右 3 区域切除術: 消化器外科, 25 巻 7 号, 1101-1109, 2002

24) 波多野悦朗, BradhamCynthia, 上原徹也, 吉田真規, 新田隆士, 原田信子, 小泉直樹, 山本成尚, BrennerDavid, 山岡義生: 肝臓外科における JNK 活性化抑制の意義: 肝臓, 43 巻 Suppl. 1, PageA68 (.05), 2002

2. 学会発表

- 1) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫, 東達也, 手良向聡, 鳥塚達郎, 佐賀恒夫, 上杉毅彦, 葛原康行: 肝細胞癌切除後予後予測における FDG-PET の意義. 第 104 回日本外科学会定期学術集会 2004.4.8
- 2) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫, 東達也, 手良向聡, 鳥塚達郎, 佐賀恒夫, 上杉毅彦, 葛原康行: 原発性肝癌における FDG-PET の有用性. 第 90 回日本消化器病学会総会 2004.4.22(仙台市)
- 3) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫, 葛原康行: NASH に伴う肝癌切除症例の検討. 第 8 回日本肝臓学会大会シンポジウム 2004.10.21(福岡市)
- 4) 波多野悦朗, 猪飼伊和夫, 田浦康二郎, 藤井英明, 葛原康行: 高度門脈腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌に対する集学的治療(肝切除プラス肝動注療法). 第 42 回日本癌治療学会シンポジウム 2004.10.27(京都市)
- 5) 波多野悦朗, 玉置信行, 田浦康二郎, 藤井英明, 猪飼伊和夫, 葛原康行: 巨大肝細胞癌に対する anterior approach の有用性. 第 42 回日本癌治療学会ビデオシンポジウム 2004.10.28(京都市)
- 6) 波多野悦朗, 寺嶋宏明, 山本成尚, 山本雄造, 猪飼伊和夫, 葛原康行, 山岡義生: 肝嚢胞性疾患 16 切除例の検討—腺癌 (10 例) と他疾患の鑑別. 第 89 回日本消化器病学会総会 2003. 4.26 (さいたま市)
- 7) 原田信子, 波多野悦朗, 小泉直樹, 新田隆士, 吉田真規, 山本成尚, 山岡義生: 肝虚血再灌流障害における活性化 Akt によるア

ポトーシス抑制効果. 第 39 回日本肝臓学会総会 2003. 5. 22 (福岡市)

8) 新田隆士, 波多野悦朗, 小泉直樹, 原田信子, 山本成尚, 山岡義生: 第 39 回日本肝臓学会総会. 胆管閉塞モデルによる胆汁鬱滞と Fas 及び TRAIL 経路の由来のアポトーシス機序の解明とその治療効果 2002. 5. 22 (福岡市)

9) 小泉直樹, 波多野悦朗, 原田信子, 新田隆士, 山本成尚, 山岡義生: 肝癌細胞株での抗癌剤 camptothecin への耐性における NF-kappaB の役割. 第 39 回日本肝臓学会総会 2003. 5. 22 (福岡市)

10) 波多野悦朗, 寺嶋宏明, 山本成尚, 山本雄造, 猪飼伊和夫, 葛原康行, 山岡義生: 肝切除後胆汁漏の検討. 第 103 回日本外科学会定期学術集会 2003. 6. 6 (札幌市)

11) 原田信子, 波多野悦朗, 田隆士, 小泉直樹, 山本成尚, 山岡義生: 肝虚血再灌流障害における活性化 Akt によるアポトーシス抑制効果. 第 103 回日本外科学会定期学術集会 2003. 6. 4 (札幌市)

12) 小泉直樹, 波多野悦朗, 原田信子, 新田隆士, 山本成尚, 山岡義生: 肝癌細胞株に対する抗癌剤耐性における NF-kappaB の役割. 第 103 回日本外科学会定期学術集会 2003. 6. 6 (札幌市)

13) 吉田真規, 山本成尚, 上原徹也, 寺尾隆太, 新田隆士, 原田信子, 波多野悦朗, 飯室勇二, 山岡義生: Kupffer 細胞特異的 in vivo 遺伝子導入法の開発. 第 7 回日本肝臓学会総会 2003. 10. 16 (大阪市)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

5-FU と IFN- α による肝癌細胞の増殖抑制作用に関する基礎的研究
—各種 IFN と 5-FU 併用による肝癌細胞増殖抑制機序について—

分担研究者 神代正道 久留米大学医学部病理学 教授

【研究要旨】

IFN- α 単独の *in vivo* における肝細胞癌細胞の増殖抑制効果について検討を加えた結果、IFN- α は、アポトーシスの誘導による直接的な作用と血管新生阻害などによる間接的な作用により肝癌の増殖を抑制することが明らかとなった。次に、I 型 IFN receptor の IFNAR-2 鎖の発現を免疫化学的に検討するための最適な染色方法の確立について検討した。検討の結果、パラフィン切片を前処理としてクエン酸 buffer に浸透し電子レンジ処理を 10 分間行なった後に、polyclonal anti-human IFN-AR2 抗体とニチレイの免疫染色キット (Histofine SAB-PO[R]) と最も良好な染色性が得られた。

次に、3 種類の IFN- α 製剤 (ヒト天然型 IFN- α [OIF®]、コンセンサス IFN- α [Advaferon®]、PEG-IFN α -2 [PEGIntron®]) と、1 種類の IFN- β 製剤 [FERON®] による 13 種類の肝癌細胞株の増殖抑制効果について *in vitro* で MTT assay 法を使用し検討を行った。4 種類の IFN- α / β 製剤すべてで、大部分の細胞株で時間および濃度依存性に増殖が抑制されたが、増殖抑制効果に関しては IFN の種類により違いが認められた。1024 IU/ml の濃度の IFN と 96 時間接触させた際に非接触群 (コントロール) と比較し細胞数が 50% 以下に低下した細胞株数は、OIF が 5 株、Advaferon が 7 株、PEGIntron が 2 株、FERON が 9 株であった。また、各種 IFN 毎にコントロールと比較した相対生細胞率 (%) の 13 株の平均を算出し、増殖抑制効果が強い順に並べると、FERON 39 \pm 8.3%, Advaferon 52.8 \pm 4.1%, OIF 58 \pm 6.3%, PEG-IFN α -2 71.9 \pm 5.7% (average \pm SE) の順に強い増殖抑制作用が見られた。また、増殖抑制の機序として、すべての IFN でアポトーシスの誘導が種々の程度に確認された。

IFN- α / β と 5-FU 併用投与は、HAK-1B 肝癌細胞株に対して *in vitro* では相乗的増殖抑制作用は示さなかったが、ヌードマウスを用いた *in vivo* の実験モデルでは、細胞周期進行停止誘導効果が増強され、相乗的増殖抑制効果が誘導された。相乗効果発現とアポトーシス誘導や血管新生阻害との関連性は明らかではなかった。また、I 型 IFN receptor の AR2 鎖の有意な発現低下を IFN- α / β と 5-FU 併用投与群で認め、相乗効果発現との関連性が推察された。また、肝癌細胞株 6 株の isobologram を使用した IFN- α と 5-FU 併用の *in vitro* における増殖抑制作用の検討を行い、相乗効果と相加効果が 3 株ずつに認められた。検討した 6 種類の 5-FU の代謝酵素や I 型 IFN receptor の AR1 鎖や AR2 鎖の発現は、細胞株間で異なっていたが、相加・相乗効果との関連性は明らかではなかった。

<研究協力者>

矢野博久 久留米大学医学部病理学 助教授

A. 研究目的

① 肝細胞癌に対する 5-FU と IFN- α の増殖抑制効果を検討する前に、まず IFN- α による *in vivo* で増殖抑制効果を肝細胞癌の細胞株とヌードマウス

を使用し検討した。

② IFN- α による肝細胞癌治療反応性の予測に、ヒト肝細胞癌組織における I 型 IFN receptor の IFNAR-2 鎖の発現検討が有用である可能性がある。今回、その発現をパラフィン切片で免疫組織化学的に検討する最も適切な染色法の確立を検討した。

③ 進行肝細胞癌に対する IFN- α と 5-FU を使用した集学的治療効果の検討のための基礎データとして各種 I 型 IFN の肝細胞癌に対する増殖抑制効果を理解しておくことは重要である。我々は、市販されている 3 種類の IFN- α と 1 種類の IFN- β の増殖抑制効果に関して 13 種類の細胞株を使用し比較検討した。

④ 進行肝細胞癌に対する IFN- α と 5-FU を使用した集学的治療法の有効性を証明するために肝細胞癌細胞株を使用し *in vitro* 及び *in vivo* で、相乗的増殖抑制効果の発現に関して検討を行った。

B. 研究方法

① ノードマウス皮下に肝細胞癌細胞株の HAK-1B を 1000 万個/site 接種し、腫瘍形成後に 14 日間連続で IFN- α Con1 (0.01, 0.1, 1 μ g/mouse/day) あるいは PBS を皮下に接種し、腫瘍の大きさをモニターした。

② polyclonal あるいは monoclonal anti-human IFN-AR2 抗体 (大塚製薬株式会社 x800)、Histofine SAB-PO[R] 免疫染色キット (ニチレイ) あるいは CSA 免疫染色 kit (DAKO) を用いてヒト肝細胞癌の生検組織における IFNAR-2 鎖の免疫染色を行った。また、トリプシン処理あるいは電子レンジ処理などを前処置として行った。

③ 我々の施設で独自に樹立した 13 種類のヒト肝癌細胞株 (11 種類の肝細胞癌細胞株と 2 種類の混合型肝癌細胞株) を使用した。3 種類の IFN- α 製剤 (ヒト天然型 IFN- α [OIF[®]]、コンセンサス IFN- α [Advaferon[®]]、PEG-IFN α -2 [PEGIntron[®]] と、1 種類の IFN- β 製剤 [FERON[®]] を 4~1024 IU/ml の濃度に調整し、24 時間から 96 時間癌細胞株と接触させ生細胞数を MTT assay 法を使用し測定した。また、細胞を Lab-Teck tissue culture chamber slide に接種し、種々の濃度の各種 IFN と 48 あるいは 72 時間接触させ、カルノア液で固定し HE 染色を施行後に癌細胞の形態的变化を観察した。

④-(I) ③ で使用した肝細胞癌細胞株の中で HAK-1B を使用した。In-vitro の系において、HAK-1B 細胞を IFN- α (0-100 IU/ml)、

5-FU (0-100 μ M) 単独または同時添加あるいは非添加で 96 時間培養し、MTT assay 法による生細胞数の測定を行った。次に、40 匹のヌードマウスの皮下に 1.0×10^7 個の HAK-1B を接種し、径が 5-10 mm の腫瘍が出現した時点で 4 群に分け (n=10)、IFN- α 単独、5-FU 単独、IFN- α +5-FU 併用、PBS 単独 (コントロール) の投与を行った。5-FU (7mg/mouse) は、14 日間連続で皮下に移植した持続注入ポンプ (alzet micro-osmotic pump model-1002, DURECT Corporation 供与) で持続投与し、IFN- α (5000IU/mouse) は 14 日間毎日皮下注射を行い、sacrifice まで腫瘍径の計測を行った。15 日目に sacrifice し得られた腫瘍の重量、組織内の apoptotic cell の数、BrdU 陽性細胞の数、核分裂像、腫瘍周囲近傍及び内の筋性血管の数 (MVD) を検討した。ELISA 法にてマウス腫瘍組織中の IFNAR-2 の定量を行った。

④-(II) ③ で使用した肝細胞癌細胞株の中で KIM-1, KYN-1, KYN-2, KYN-3, HAK-1A, HAK-1B を用いて、種々の濃度の IFN- α 単独、5-FU 単独あるいは併用投与し 120 時間後に WST-8 法により細胞数を測定した。50% 増殖抑制濃度 IC₅₀ を計算し、Isoborogram 的解析を行った。また、6 種類の細胞株における 6 種類の 5-FU の代謝酵素 (Thymidylate synthase (TS)、Orotate phosphoribosyl transferase (OPT)、Thymidine phosphorylase (TP)、Uridine phosphorylase (UP)、Thymidine kinase (TK)、Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)) や I 型 IFN receptor の AR1 鎖や AR2 鎖の発現に関して、Taqman probe を使用した Real time PCR (ABI 7300 Real time PCR system) を使用して測定を行った。

C. 研究結果

① IFN- α Con1 を皮下に注射すると PBS 注射時と比べ腫瘍体積が徐々に減少し、15 日目では 0.01 μ g/mouse で 60% 前後、0.1 μ g/mouse で 25% 前後の大きさまで縮小し、1 μ g/mouse では、腫瘍が消失した。IFN- α Con1 投与により濃度依存性に有意に

apoptotic cellが増加し、更に腫瘍内の血管数も低下する傾向を認めた。

② 前処理としては、標本をクエン酸bufferに浸透し電子レンジ処理を10分間行くと最も良好な染色性が得られた。また、polyclonal anti-human IFN-AR2 抗体と Histofine SAB-PO[R] 免疫染色キット(ニチレイ)の組み合わせが最適であった。

③ 4-1024 IU/mlの濃度で、24-96時間接触させた結果、4種類のIFN- α / β 製剤すべてで、大部分の細胞株で時間および濃度依存性に増殖が抑制されたが、増殖抑制効果に関してはIFNの種類により違いが認められた。1024 IU/mlの濃度のIFNと96時間接触させた際に非接触群(コントロール)と比較し細胞数が50%以下に低下した細胞株数は、OIFが5株、Advaferonが7株、PEGIntronが2株、FERONが9株であった。

1024 IU/mlの濃度のIFNと96時間接触させた際に、各種IFN毎にコントロールと比較した相対生細胞率(%)の13株の平均を算出し、増殖抑制効果が強い順に並べると、FERON 39 \pm 8.3%, Advaferon 52.8 \pm 4.1%, OIF 58 \pm 6.3%, PEG-IFN α -2b71.9 \pm 5.7% (average \pm SE)の順に強い増殖抑制作用が見られた。

増殖抑制の機序として、すべてのIFNでアポトーシスの誘導が種々の程度に確認された。

④-(I) *in vitro*でHAK-1Bは5-FUの濃度依存性に増殖抑制されたがIFN- α による相乗効果は見られなかった。ヌードマウスの腫瘍径及び重量において、最も腫瘍増殖抑制効果が得られたのはIFN- α と5-FUの併用群で sacrifice 時の計測で腫瘍体積はコントロール群の29.3%、重量は54.7%まで縮小していた。併用群ではapoptosis数、MVDはコントロール群やIFN- α 単独群に比べapoptosisは増加しMVDは低下していたが、5-FU単独群との間に差は見られなかった。BrdU陽性細胞数は、併用群と5-FU単独群で増加していたが、核分裂像は、併用群で有意に減少していた。また、IFNAR-2は他群

に比べ併用群で有意に減少していた($p < 0.01$)。

④-(II) Isoborogram 解析により、6株中3株で相乗的増殖抑制効果が見られ、3株で相加的増殖抑制効果が見られた。TS, OPT, TP, UP, TK, DPD など6種類の5-FUの代謝関連酵素の発現やI型IFN receptorのAR1とAR2 chainのmRNA levelの発現を、相乗効果が見られた3株と相加効果が見られた3株と比較したが一定の傾向は見られなかった。

D. 考察

① IFN- α 自体にも肝癌細胞の増殖抑制効果があることがヌードマウスをもちいた *in vivo*の実験で明らかとなった。その増殖抑制の機序としてはアポトーシスの誘導や血管新生の阻害の可能性が考えられた。

② パラフィン切片におけるIFNAR-2鎖の発現を検討する最適な方法が確認された。今後IFN- α と5-FUの治療前における肝細胞癌・癌部のIFNAR-2鎖の発現を検討することにより、治療成績などとの関連性の検討が可能となる。

③ IFN- α には13種類の遺伝子が知られておりfamilyを形成する。市販のIFN- α 製剤は、それぞれ含有するIFN- α のサブタイプがことなり、増殖抑制効果も異なることが示された。より強い増殖抑制効果を示す製剤の使用は、肝細胞癌の発症や再発の予防、治療に有効である可能性が示唆される。5-FUとの併用に関しては、実際に併用しその増殖抑制効果について実験的にあるいは臨床的に検討する必要があるが、IFNの種類により抗腫瘍作用が異なることから種々のIFNを併用した場合、その効果が異なってくる可能性も考えられる。今後、IFNと5-FUの併用による増殖抑制のメカニズム解明を含め、これらの点に関して検討していく予定である。

④ 肝癌細胞株HAK-1Bでは、*in vitro*では、相乗的増殖抑制効果は生じなかったが、ヌードマウスをもちいた *in vivo*の実験においては、IFN- α と5-FUの併用投与により相乗的増殖抑制効果が見られた。腫瘍の組織学

的検討により、BrdU 陽性の S 期細胞の増加と核分裂像の減少が見られ、併用により S 期細胞周期進行停止が増強され相乗的効果が発現したものと思われた。腫瘍の IFNAR-2 鎖量を定量すると併用群で他群に比べ有意に IFNAR-2 鎖量が減少しており、相乗効果発現機序との関連性が推察されたが、IFN- α が 5-FU の作用を増強しているのか、5-FU が、IFN- α の作用を増強しているのかという点までは解明に至らなかった。また、*in vitro*における Isoborogram 解析を用いた 6 株の肝癌細胞株の増殖抑制に関する実験では、3 株ずつで相加・相乗効果が見られた。これらの細胞株で、6 種類の 5-FU の代謝関連酵素の発現や I 型 IFN receptor の AR1 と AR2 chain の mRNA level の発現レベルと相加・相乗効果との関連性を検討したが、明らかな関連性は見られず、今後、IFN- α 刺激による 6 種類の 5-FU の代謝関連酵素の発現の変化や、5-FU 刺激による I 型 IFN receptor の AR1・AR2 chain、JAK1、Tyk2、STAT1、STAT2、p48 などの変化を検討する必要があると思われる。

E. 結論

- ① IFN- α は直接的あるいは間接的に肝癌の増殖を抑制する可能性が考えられた。今後は、5-FU との併用効果についても検討する価値がある。
- ② IFNAR-2 鎖の発現は、パラフィン切片で検討可能であり、その応用は治療の適応決定に応用可能であるかもしれない。
- ③ IFN の種類により *in vitro* において肝癌細胞株の増殖抑制作用に違いが認められ、IFN- β 、Advaferon、OIF、PEG-IFN α -2b の順に強い増殖抑制作用が見られた。また、すべての IFN でアポトーシスの誘導が確認された。
- ④ IFN- α と 5-FU の併用により *in vivo* 及び *in vitro* で相乗的増殖抑制作用の誘導が見られた。相乗的細胞増殖抑制が IFN- α による 5-FU の代謝酵素の modulation により生じているのか、あるいは、5-FU 処理による IFN の receptor やシグナル伝達因子の modulation により生じているのか関連性を今

後検討する必要がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hisaka T, Yano, H, Kojiro M et al: Interferon- α Con1 suppresses proliferation of liver cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*. Journal of Hepatology. 41:782-789, 2004.
- 2) 矢野博久: IFN の肝癌細胞に対する直接的な増殖抑制作用. Frontiers in Gastroenterology 9: 87-89, 2004
- 3) 矢野博久, 神代正道: IFN の代謝-抗腫瘍作用. 肝胆膵. 45: 1001-1006, 2002.
- 4) 矢野博久, 神代正道: インターフェロンは培養肝癌細胞増殖を抑制する. 医学と薬学. 47, supplement: 69-74, 2002.

2. 学会発表

- 1) Yano H., Ogasawara S, Takayama A, Momosaki S., Yamaguchi R., Akiba J., Nishida N., Kojiro S., Kojiro M.: Pegylated interferon- α -2b at the clinical dose inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth in nude mice. 55th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. (Boston, MA, USA) 2004.11.1
- 2) 神代咲子, 矢野博久, 桃崎征也, 小笠原幸子, 山口倫, 秋葉純, 神代正道: 5-FU と IFN- α (OIF) の併用による肝癌細胞株の増殖抑制効果の検討—*in vitro* 及び *in vivo* の検討—. 第40回日本肝臓学会総会 2004.6.3 (浦安市)
- 3) 矢野博久, 小笠原幸子, 高山朗子, 桃崎征也, 山口倫, 秋葉純, 西田直代, 竹本由美, 神代咲子, 神代正道. PEG-IFN- α -2b の *in vitro* 及び *in vivo* におけるヒト肝癌細胞の増殖抑制作用. 第 63 回日本癌学会総会 2004.9.30 (福岡市)
- 4) Hirohisa Yano, Toru Hisaka, Seiya

Momosaki, Sachiko Ogasawara, Naoyo Nishida, Yumi Takemoto, Sakiko Kojiro, Eriko Nitta, Masamichi Kojiro : Consensus interferon (interferonalphacon1) inhibits the growth of liver cancer cell lines in vitro and in vivo. 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2003.10.24-28(Boston, USA)

- 5) 久下 亨、矢野博久、桃崎征也、小笠原幸子、山口 倫、神代正道 : IFN- α Con1 の in vitro 及び in vivo における肝癌細胞の増殖抑制作用. 第39会肝臓学会総会
- 6) 桃崎征也、矢野博久、小笠原幸子、秋葉純、神代正道 : 肝細胞癌細胞株に対する Interferon- α subtype 別の増殖抑制効果と signal transducer の活性化について. 第39会肝臓学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）

進行肝がんに対する集学的治療に関する研究

分担研究報告書

門脈腫瘍塞栓を合併する進行肝がんに対する

IFN 併用 5FU 動注化学療法とシグナル伝達からみた作用機序に関する研究

分担研究者 小俣政男 東京大学大学院医学系研究科 消化器内科学 教授

【研究要旨】

【目的】門脈内腫瘍栓(VP3 以上)を伴う進行肝細胞癌症例に対する IFN 併用 5FU 動注化学療法の治療成績と進行度を match させた、40 例の historical control 群と予後を比較することによって、IFN 併用 5FU 動注化学療法の有用性を検証することを目的とした。

【方法】① 門脈内腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌 116 例を対象とした。プロトコールは4週間を1クールとして、IFN(natural alpha 5M)を週3回4週間筋注した。5FU(500mg/body)は、最初の2週間のみ5投2休でリザーバーより動注した。PD 以外は繰り返し化療した。治療効果判定は Eastern Cooperative Oncology Group Criteria (Am J Clin Oncol 1982;5)に従った。これらの症例と、進行度を match させた 40 例の control 群を比較した。② さらに基礎的検討として、肝癌細胞株 8 種を用い、3800 既知遺伝子を収載した cDNA マイクロアレイで遺伝子発現解析を行った。

【結果】① IFN 併用 5FU 動注化学療法を行った 116 例の生存率は、0.5 年 48%、1 年 28%、2 年 13%、3 年 3%に対して、control 群 40 例の生存率は、0.5 年 40%、1 年 15%、2 年 5%、3 年 0%であった。この結果、IFN 併用 5FU 動注化学療法を行った群で有意に($p = 0.027$)生存期間が延長した。また、IFN 併用 5FU 動注化学療法を行った 116 例中 CR 19 例、PR 42 例、奏効率 53%であった。② 5-FU 単独と比較して IFN α との併用で感受性が増強する細胞が 5 株認められた。感受性増強株と不変株で発現差のある遺伝子を抽出し、クラスター解析、主成分分析を行ったところ、感受性の分類が可能であり、特に無効例の識別能に優れていた。

【結論】IFN 併用動注化学療法によって、進行肝細胞癌の予後を飛躍的に改善させることができた。また、cDNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析により無効例を識別できる可能性が示された。

<研究協力者>

小尾俊太郎 杏雲堂病院 肝臓内科 部長

A. 研究目的

門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌の予後は極めて不良である。当科での過去症例における検討では、進行度 VP4 で対症療法のみを施行した場合、50% 生存は 3 ヶ月であった(小池ら肝臓 39 巻 1998)。さて、Wadlerら(Clin Res 1988;36)によって最初に報告された、IFN 併用 5FU 化学療法は、Patt ら(Cancer 1993;72)によって肝細胞癌での有効性が確認され、最近では左近ら(Cancer 2001;94)によって、高度進行肝細胞癌 8 例の pilot study における有用性が報告された。これらの報告により、IFN 併

用 5FU 化学療法は、既存の治療法が全く効を奏さない進行肝細胞癌に対する治療効果が期待しうる。

そこで本研究においては、臨床的検討として、門脈内腫瘍栓(VP3, VP4)を伴う進行肝細胞癌症例に対する集学的治療の一環として IFN 併用動注化学療法の有効性を明らかにすることを目的とした。さらに、基礎的な検討として、5-FU 肝動注と IFN α 皮下注の併用化学療法の奏効例の識別と、作用機序の解明を目的として、肝癌細胞株をモデルとして、遺伝子発現情報をもとに 5-FU、IFN α 併用療法の感受性の分類及び感受性関連遺伝子の抽出を行った。

B. 研究方法

<臨床的検討>

門脈内腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌(Vp3以上)116例を対象とした。プロトコールは4週間を1クールとして、IFN- α (5M)を週3回4週間皮下投与した。5FU(500mg/body)は、最初の2週間のみ5投2休でリザーバーより肝動注した。PD以外の症例については、治療は可能な限り継続し、反復投与した。治療効果判定は Eastern Cooperative Oncology Group Criteria (Am J Clin Oncol 1982;5)に従った。PRの残存病変やCR後の経過観察中に再発した病変には、RFAやTAEより積極的に追加治療を施行した。またPDとなった症例でも肝機能が許す限りRegimenを変更し他治療を施行した。以上の116症例と、進行度をmatchさせた40例をcontrol群として、比較検討した。

(倫理面への配慮)

院内の倫理委員会の承認を得て、Informed Consentの後、同意書を得た。

<基礎的検討>

肝癌細胞株8種を用い、3800既知遺伝子を収載したcDNAマイクロアレイで遺伝子発現解析を行った。5-FU単独、IFN α 単独、及び5-FU+IFN α の各組み合わせで細胞株に薬剤を添加し、MTTアッセイにて抗腫瘍効果を評価、比較した。また、Type1 IFNレセプターの発現をRT-PCRにて検討した。

C. 研究結果

<臨床的検討>

IFN併用5FU動注化学療法を行った116例中Complete Response(CR)19/116例、Partial Response(PR)42/116例。奏功率はCR+PR/全例とすると61/116例・53%であった。副作用は嘔気と食欲不振が最も多かったが、いずれもコントロール可能であり、重篤な副作用は認めなかった。CR19例のうち1例は1年間の経過観察で再発無く生体肝移植を行った。IFN併用5FU動注化学療法を行った116例の生存率は、0.5年48%、1年28%、2年13%、3年3%に対して、control群40例の生存率は、0.5年40%、1年15%、2年5%、3年0%であった。これらの治療効果に伴い、IFN併用5FU動注化学療法を行った群で、有意に($p = 0.027$)生存期間が延長した。

<基礎的検討>

IFN単独の投与では、20000U/mlまで増量しても明らかな抗腫瘍効果は認められなかった。5-FU単独と比較してIFN α との併用で感受性が増強する細胞が5株認められた。感受性増強株と不変株で発現差のある遺伝子を抽出し、クラスター解析、主成分分析を行ったところ、感受性の分類が可能であり、特に無効例の識別能に優れていた。IFNレセプターは8株にはほぼ同等の発現がみられ、感受性増強株と不変株で大きな差は認められなかった。

D. 考察

116例のphase II studyの結果は、奏功率53%、6ヶ月生存率48%、1年生存率28%であった。このことにより、予後が極めて不良な門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌の予後を飛躍的に改善させる可能性が示された。

さて、このIFNの抗腫瘍効果については、いくつかの報告がある。まず直接作用として、細胞障害(Kimchi A, et al. J Cell Biochem. 1992)や癌抗原の発現上昇(Guadagni F et al. J Natl Cancer Inst. 1989)、また間接作用として、NK細胞の活性化(Ortaldo JR et al. Int J Cancer. 1983)やマクロファージの活性化(Uno K et al. Cancer Res. 1985)T細胞の活性化(Brinkmann V et al. J Exp Med. 1993)が報告されている。さらにIFNと5FUの併用については、アポトーシスの増強作用(Schwartz EL et al. BBRC.1992)や、FdUMP細胞濃度の上昇(Horowitz RW et al. Clin Cancer Res. 1997)やTS阻害率の上昇(Wadler S et al. Cancer Res.1990)などが報告されている。その一方で、当科における116例のphase II studyでは奏功率53%であり、理論的な結果が得られない症例が約半数を占めるのが現状であり、さらなる解明が望まれる。その中で臨床体験上、予後予測の点において、IFN併用5FU化学療法開始前後の腫瘍マーカーの推移をもって、少なくともPDとなる症例は開始後2週間の時点で選別できる可能性がある。また、肝細胞癌細胞株を用いた基礎的検討では、約半数に5-FUとIFNの併用による相乗効果が観察された。IFN単独での抗腫瘍効果は、強くは認められなかったことから、IFNの添加は5-FUの作

用、感受性を改変している可能性が考えられた。IFN レセプターの発現はほぼ同等であったことから、併用による効果の増強は、レセプター下流のシグナル伝達系、あるいは IFN レセプターを介さない経路の存在の可能性も考えられた。

E. 結論

今回の臨床例での検討により、IFN 併用 5FU 動注化学療法によって、進行肝細胞癌の予後を飛躍的に改善させることができた。

また、抽出した遺伝子のみを発現プロファイルを用いたクラスター解析により感受性の分類が可能であり、有効例の識別や、無効な副作用の回避を実現できる可能性が考えられた。現在、遺伝子相関ネットワーク解析を行っており、これにて抽出された遺伝子群の情報を利用し、併用療法の作用機序の解析をすすめている。

F. 健康危険情報

副作用は嘔気と食欲不振が最も多かったが、いずれもコントロール可能であった。重篤な副作用は認めなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小尾俊太郎, 藤根里抄, 菅田美保, 佐藤新平, 藤島知則, 山敷宣代, 近藤祐嗣, 谷口博順, 今村潤, 玉木克佳, 増崎亮太, 鶴沼直雄, 寺谷卓馬, 椎名秀一朗, 小俣政男: 進行肝臓癌に対する IFN 併用 5FU 動注化学療法. 消化器科 39(2), 217-223, 2004.
- 2) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 小俣政男: 門脈浸潤(VP3,4)を伴う進行肝細胞癌に対する IFN+5FU 併用化学療法の有効性 101 例の経験. 肝臓 45 巻 Suppl.1 A61, 2004
- 3) Shuntaro Obi., Shuichiro Shiina., Takuma Teratani., Shinpei Sato., Yukihiko Koike., Masatoshi Akamatsu., Tomonori Fujisima., Ryouzuke Tateishi., Miho Kanda., Takashi Ishikawa., Haruhiko Yoshida., Takao Kawabe., Masao Omata : Combination therapy with IFN-alpha and 5-FU result in complete response in 14 cases out of 64 with advanced hepatocellular carcinoma and portal vein invasion. Hepatology 38 (4) : Suppl.1, 2003
- 4) Moriyama M, Hoshida Y, Otsuka M, Nishimura

S, Kato N, Goto T, Taniguchi H, Shiratori Y, Seki N, Omata M. Relevance Network Between Chemosensitivity and Transcriptome in Human Hepatoma Cells. Mol Cancer Ther 2003; Vol.2: 199-205.

- 5) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 寺谷卓馬, 佐藤新平, 小池幸宏, 赤松雅俊, 金原猛, 藤島知則, 建石良介, 菅田美保, 石川隆, 吉田晴彦, 川邊隆夫, 小俣政男: 門脈浸潤 (VP3, 4) を伴う進行肝細胞癌に対する IFN 併用 5FU 動注化学療法の有効性. 第 39 回日本肝臓学会抄録集 p115, 2003
- 6) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 寺谷卓馬, 佐藤新平, 建石良介, 菅田美保, 金原猛, 石川隆, 吉田晴彦, 川邊隆夫, 菅原寧彦, 幕内雅敏, 小俣政男: 症例 26. 第 39 回日本肝臓学会抄録集: 143, 2003
- 7) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 小俣政男: 門脈浸潤 (VP3, 4) を伴う進行肝細胞癌に対する IFN 併用 5FU 動注化学療法の有効性 51 例の経験. 肝臓 44 : Suppl.2 PA335. 2003
- 8) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 寺谷卓馬, 佐藤新平, 小池幸宏, 赤松雅俊, 藤島知則, 建石良介, 菅田美保, 金原猛, 石川隆, 吉田晴彦, 川邊隆夫, 小俣政男: 門脈浸潤 (VP3, 4) を伴う進行肝細胞癌に対する IFN 併用 5FU 動注化学療法の有効性. 肝臓 44 : Suppl 1 PA64, 2003
- 9) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 寺谷卓馬, 浜村啓介, 佐藤新平, 小池幸宏, 赤松雅俊, 藤島知則, 建石良介, 菅田美保, 石川隆, 吉田晴彦, 白鳥康史, 小俣政男: 進行肝細胞癌 (VP3, 4) に対する IFN+5FU 併用化学療法の有効性. 肝臓 43 : Suppl. 1 (253), 2002
- 10) 小尾俊太郎, 椎名秀一朗, 寺谷卓馬, 浜村啓介, 佐藤新平, 小池幸宏, 赤松雅俊, 藤島知則, 建石良介, 菅田美保, 石川隆, 吉田晴彦, 白鳥康史, 小俣政男: 進行肝細胞癌 (VP3, 4) に対する IFN+5FU 併用化学療法の有効性. 第 38 回日本肝臓学会抄録集 (205), 2002
- 11) 森山 優, 星田有人, 大塚基之, 加藤直也, 関直彦, 小俣政男: 肝臓細胞における抗癌剤感受性に関連する遺伝子の解析. ゲノム医学, Vol.2 No.3 2002, 71-77

2. 学会発表

- 1) 森山 優、星田有人、大塚基之、小尾俊太郎、加藤直也、小俣政男。肝癌に対する 5-FU、IFN α 併用のテーラーメイド化学療法に向けて。第 13 回日本消化器癌発生学会 (2002 年 9 月 大阪)
- 2) 森山 優、星田有人、大塚基之、小尾俊太郎、加藤直也、小俣政男。遺伝子発現プロファイルを利用した肝癌に対する 5-FU、IFN α 併用化学療法の感受性関連因子の検討。DDW-Japan 2002 (2002 年 10 月 横浜)
- 3) Hoshida Y, Moriyama M, Otsuka M, Kato N, Goto T, Taniguchi H, Shiratori Y, Seki N, Omata M. Genetic pharmacology of anticancer drugs by transcriptional profiling in human hepatoma cells. 53rd Annual Meeting of the AASLD (Boston, USA, 2002. 11)
- 4) Hoshida Y, Moriyama M, Otsuka M, Nishimura S, Kato N, Shiratori Y, Omata M. Relevance network between transcriptome and chemosensitivity in hepatoma cells. 6th annual meeting of Research for Computational Molecular Biology (Washington DC, USA, 2002)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

肝細胞癌の集学的治療における
肝動注療法における血流変更の意義と肝動脈塞栓療法への役割に関する研究

分担研究者 中村 仁信 大阪大学大学院医学系研究科 放射線医学 教授

【研究要旨】

肝動脈内に持続動注用カテーテルを留置する際には、胃十二指腸動脈などに薬剤が流入するのを防止するためにコイルによる血管塞栓術が予め施行される。留置するコイルの数は胃十二指腸動脈に対しては通常4-6個程度が必要で多額の費用を要する。本研究では塞栓能に優れた新しいコイル（マイクロネスターコイル）を用いて従来のコイルによる塞栓と比較し、使用するコイル数の減少を図れるか検討した。その結果、マイクロネスターコイルの有用性が示された。

また、切除不能肝細胞癌（以下HCC）に対する肝動脈塞栓療法（以下TAE）は高い抗腫瘍効果や予後延長に寄与することが示され広く行われるが、実際の適応や方法など施設間隔差があり、一定でない。最近では、経皮療法や動注療法など治療選択肢も増え、TAEの役割について再評価が問われている。本研究では、当院のTAEにおける適応・方法・成績など集計調査を行った。その結果、TAEは、切除不能例や再発HCCの主要な選択肢であり、内科・外科・放射線科など関連各科の連携と適切な症例選択により治療成績向上が期待される。

<研究協力者>

村上卓道 大阪大学放射線医学 助教授
友田 要 大阪大学放射線医学 助教授
大須賀慶吾 大阪大学放射線医学 助手

を集計した。また後方視的に TAE 施行例の生存率を求めた。

（倫理面への配慮）

集計結果公表に際し、患者プライバシーの保護を徹底した。

A. 研究目的

- ① 原発性及び転移性肝癌に対するリザーバー留置術において血管塞栓用マイクロネスターコイルの有用性を検討する。
- ② 当施設における肝細胞癌治療の集計を行い、肝細胞癌集学的治療における治療方針決定のあり方と、治療選択肢としてTAEの適応、方法、役割について検討する。

B. 研究方法

- ① 胃十二指腸動脈をコイル留置する目的血管とし、ガイドワイヤーによるプッシャー法または生理食塩水によるフラッシュ法を用いて留置。両者によるコイルの留置状態及び塞栓に必要なコイルの個数を従来の塞栓用コイルと比較する。
- ② 当施設の消化器内科・消化器外科・放射線科にアンケートを実施し、HCC治療数及び内訳を調査した。最近のTAEについて適応や方法の詳細

C. 研究結果

- ① 31血管（14例）に留置。全例で留置手技中にカテーテルの反跳やコイルの逸脱、迷入を認めなかった。使用したコイルの本数は1-4本で平均2.2本であった。
- ② 内科・外科・放射線科で定期的に合同検討を行い、症例毎に最適な治療選択を図った。TAEの原則的な適応は、①多血性②切除・経皮療法非適応③肝予備能温存④門脈高度浸潤なし、とした。結果、2001-2003年のHCC総治療数1269例中、TAEは43%で、手術10%、経皮治療34%と比べて最多を占めた。TAEの93%がリピオドール・抗癌剤懸濁液を用いた化学塞栓療法であった。2003年TAE施行204例の主な背景因子は、ChildA72%、再発例75%、T2+3 83%、Vp0 93%、IM3 37%、6個以上 35%、5cm以下 89%であった。選択性は、IVR-CTによる門脈・動脈造影CTを併用した亜区

域以下TAEが40%であった。平均薬剤量は、塩酸エピルビシン28.6mg、リピオドール3.54mlであった。大型・多発例では、過量薬剤を避け、分割TAEや塞栓物質単独によるTAEを行った。1994-2000年の5cm以下2個以下HCCに対するTAEの生存率は、1年100%、3年84%、5年58%であった。

D. 考察

① 31血管(14例)に留置。全例で留置手技中にカテーテルの反跳やコイルの逸脱、迷入を認めなかった。使用したコイルの本数は1-4本で平均2.2本であった。

② TAEは、肝予備能が保たれた中型以下・多発肝細胞癌における主要な治療選択であり、適量の抗癌剤・リピオドールを用いた選択的TAEが、抗腫瘍効果と肝障害回避のバランス上、有用と思われた。早期検出による高度進行状態への移行回避が重要で、関連各科合同検討に基づく適切な症例選択によりTAEの更なる予後延長が示唆された。

E. 結論

マイクロネスターコイルによる血管塞栓は従来のコイルに比し、使用本数を減少させることができる。また塞栓能力にも優れていた。

TAEは、切除不能あるいは再発肝細胞癌に対する有力な治療選択肢である。今後も、関連各科との連携強化によりTAEの治療成績の向上が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 村上卓道.: 局所療法-Radiological Intervention (肝動脈塞栓療法), コンセンサス2004 肝疾患治療, 各務伸一他編.アークメディア出版, 東京, 2004年, p182-192.
- 2) 大須賀慶悟, 村上卓道, 友田要, 金東石, 堀雅敏, 中田早紀, 三上恒治, 東原大樹, 桑原雅知, 大西裕満, 安部久志, AzzamKhankan, 中村仁信. 阪大病院におけるTAEの現況.IVR会誌20

巻10号52-53頁 2005年

- 3) 大須賀慶悟, 村上卓道, 中田早紀, 友田要, 永野浩昭, 門田守人, 中村仁信. 肝細胞癌の治療の進歩-動注. 癌と化学療法.31巻13号 2114-2117頁 2004年
 - 4) Osuga K.;Micronester:A New Pushable Fibered Microcoil for Embolotherapy,CVIR,26:554-556(2003)
- #### 2. 学会発表
- 1) Nakamura H, et al. Interventional management of hepatocellular carcinoma: Japanese experience. 6th Asia-Pacific Congress of Cardiovascular and Interventional Radiology, 2004, New Delhi.
 - 2) Osuga K. Bland embolization of liver cancer with microspheres. 6th Asia-Pacific Congress of Cardiovascular and Interventional Radiology, 2004, New Delhi.
 - 3) Osuga K, et al. Bland embolization of liver cancer with microspheres. The 12th international symposium of Yonsei Institute of Gastroenterology, 2004, Seoul.
 - 4) 大須賀慶悟 他.阪大病院におけるTAEの現状.第30回北摂肝癌研究会,2004年,大阪
 - 5) 大須賀慶悟 他. 阪大病院におけるTAEの現状.第9回肝動脈塞栓療法研究会,2004年(東京)
 - 6) 大須賀慶悟:リザーバー留置術の胃十二指腸動脈塞栓におけるマイクロネスター・コイルの使用経験.第26回リザーバー研究 2003. 12.5-6.(新潟市)
- #### H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

別紙4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
1) 村上卓道	局所療法-Radiological Intervention (肝動脈塞栓療法)	各務伸一	コンセンサス2004 肝疾患治療	アークメディア	東京	2004	182-192

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1) Bazarragchaa D, et al.,	Expression of Id proteins in human hepatocellular carcinoma: Relevance to tumor dedifferentiation	Int J Oncol	26	319-327	2005
2) Kondo M, et al.	Combination of interferon alpha and 5-fluorouracil induces apoptosis through interferon alpha/beta receptor in human hepatocellular carcinoma cells	Clinical Cancer Research	11	1277-1286	2005
3) Nagano H, et al.	Hepatic resection followed by IFN- α and 5-FU for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the major portal branch	Hepatogastroenterology		(in press)	2005
4) Xu Xundi, et al.	Akt2 expression correlates with prognosis of human hepatocellular carcinoma	Oncology Reports	11	25-32	2004
5) Aoki T, et al.	Clinical value of alterations in p73 gene, related to p53 at 1p36, in human hepatocellular carcinoma	International journal of oncology	24	441-446	2004
6) Kurokawa Y, et al.	Molresular Prediction of Response to 5-Fluorouracil and Interferon- γ Combination Chemotherapy on Advanced Hepatocellular Carcinoma	Clinical Cancer Research	10	6029-6038	2004
7) Kurokawa Y, et al.	Molecular-based prediction of early recurrence in hepatocellular carcinoma	Journal of Hepatology	41	284-291	2004
8) Kurokawa Y, et al.	PCR-array Gene Expression Profiling of Hepatocellular Carcinoma	J.Exp.Clin.Cancer Res	23(1)	135-141	2004
9) Yamamoto T, et al.	Partial Contribution of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand(TRAIL)/TRAIL Receptor Pathway to Antitumor Effects of Interferon- α /5-Fluorouracil against Hepatocellular Carcinoma	Clinical Cancer Res	10	7884-7895	2004

10) 永野浩昭, 他	インターフェロン併用動注化学療法	消化器病セミナー	97	109-118	2004
11) 左近賢人, 他	門脈腫瘍(Vp3)合併進行肝細胞癌に対するIFN併用肝動注化学療法	Frontiers in Gastroenterology	9(1)	90-92	2004
12) 黒川幸典, 他	PCRアレイを用いた肝細胞癌の網羅的遺伝子発現解析-新しいバイオマーカーの探索-	癌の臨床	50(1)	21-26	2004
13) 梅下浩司, 他	特集:最近の癌再発の診断法と治療法IV. 肝癌2. 治療	外科	66(3)	289-294	2004
14) 左近賢人, 他	進行肝細胞癌に対する化学療法の最前線	日本内科学会雑誌	93(8)	158-163	2004
15) 近藤礎, 他	進行肝癌	臨床と研究	81(8)	86-89	2004
16) 中村将人, 他	進行した肝癌の治療化学療法(5-FU+IFNを含めて)	Pharma Medica	22(7)	51-54	2004
17) 金昌徳, 他	5-FU+Interferon- α 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-	癌と化学療法	31(10)	1511-1515	2004
18) 和田浩志, 他	腫瘍血管新生と血管新生阻害薬	外科治療	91(5)	625-633	2004
19) 中村将人, 他	多発転移後長期生存を得た肝細胞癌の1例	癌と化学療法	31(11)	1939-1942	2004
20) 和田浩志, 他	5-FUAdriamycinCDDP(FAP)による3剤併用肝動注化学療法が奏効した局所進行胆管細胞癌の2例	癌と化学療法	31(11)	1711-1713	2004
21) 和田浩志, 他	特集 消化器癌治療のコンセンサス(Ⅱ);肝胆膵肝細胞癌(両葉多発)	消化器外科	27	1769-1776	2004
22) 中村将人, 他	肝細胞癌切除後両葉多発再発に対して1回のTAEにより長期無再発生存を得た1例	肝臓	45(6)	320-328	2004

23)	宮本敦史, 他	進行肝細胞癌の治療—予後の改善を考えて	医学と薬学	52(5)	777-782	2004
24)	永野浩昭, 他	新しい領域—進行肝細胞癌に対する治療—	アニムス	34	30-33	2004
25)	太田英夫, 他	高度進行肝細胞癌に対するIFN- α /5-FU併用動注化学療法	カレントセラピー	22(5)	53-58	2004
26)	大須賀慶悟, 他	動注	癌と化学療法	31(13)	2114-2117	2004
27)	Yamamoto S, et al.	Elevated expression of valosin-containing protein (p97) in hepatocellular carcinoma is correlated with increased incidence of tumor recurrence	J Clin Oncol	21(3)	447-452	2003
28)	Xu X, et al.	Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas	Clinical Cancer Research	9	1764-1772	2003
29)	Yamamoto H, et al.	JTE-522, a cyclooxygenase-2 inhibitor, is an effective chemopreventive agent against rat experimental liver fibrosis	Gastroenterology	125	556-571	2003
30)	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(10)	1184-1190	2003
31)	永野浩昭, 他	多様化する肝癌治療法. 2.外科手術の展開	Frontiers in Gastroenterology	8(2)	37-44	2003
32)	永野浩昭, 他	肝細胞癌の治療方針	コンセンサス癌治療	2(3)	140-143	2003
33)	永野浩昭, 他	肝癌の化学療法	日本消化器外科	26(9)	1361-1366	2003
34)	永野浩昭, 他	進行肝細胞癌に対する外科治療の選択	消化器科	37(4)	42	2003
35)	永野浩昭, 他	消化器癌に対する化学療法	癌と化学療法	30(12)	1895-1900	2003

36) 丸橋 繁, 他	Stage IV肝癌に対する治療	外科治療	89(2)	176-180	2003
37) 太田英夫, 他	肝癌に対するIFN α 併用5-FU動注化学療法.	Cancer Frontier 2003 (Vol.5)	5	99-104	2003
38) 左近賢人, 他	インターフェロン併用動注化学療法	肝胆膵	46(5)	583-589	2003
39) 左近賢人, 他	II. 腫瘍栓に対する治療. 2. 門脈腫瘍栓合併肝細胞癌に対する interferon α 併用動注化学療法	外科	65(8)	901-906	2003
40) 左近賢人, 他	インターフェロン+5-FUによる治療	肝臓	44(6)	273-278	2003
41) 中村将人, 他	TAE抵抗性の多発肝細胞癌に対して肝右葉切除術後長期予後を得た1例	癌と化学療法	30(11)	1717-1721	2003
42) Sakon M, et al.	Combined intraarterial 5-Fluorouracil and Subcutaneous interferon- α therapy advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches	Cancer	94(2)	435-442	2002
43) 山本為義, 他	門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌に対する動注化学療法	Practical Oncology	15(4)	15-17	2002
44) 山本為義, 他	特集/肝疾患におけるインターフェロン治療の新たな展開肝細胞癌 進行癌の治療(化学療法との併用)	肝胆膵	45(6)	1053-1061	2002
45) 山本為義, 他	経皮的マイクロターゼ凝固療法および5-FU, Adriamycin, Cisplatin 肝動注化学療法が奏効した胃癌術後肝転移の1例	癌と化学療法	29	2429-2432	2002
46) 竹政伊知朗, 他	DNAチップを用いた癌研究の現状と展望	Molecular Medicine(臨時増 刊号 癌ゲノム 学)	39	54-65	2002
47) 永野浩昭, 他	インターフェロン- α 併用動注化学療法による肝細胞癌の治療	医学と薬学	47	77-80	2002
48) 永野浩昭, 他	当科における肝細胞癌の診療方針	肝臓	43(11)	524-526	2002