

抗腫瘍効果

矢野博久* 神代正道*

索引用語：肝細胞癌，インターフェロン，アポトーシス，細胞周期，サブタイプ

1 はじめに

インターフェロン- α は，抗ウイルス作用，細胞増殖抑制作用，免疫応答調節作用，MHC抗原発現調節作用など，多彩な生物活性を有するサイトカインである¹⁾。臨床的には，抗ウイルス剤としてC型慢性肝炎に，抗腫瘍剤として慢性骨髄性白血病を始めとする血液系疾患や腎細胞癌などの治療に使用されている²⁾。

C型慢性肝炎は，長期的経過で肝硬変・肝細胞癌へと進展する例が多く，肝病変の進展阻止は重要な問題である。C型慢性肝炎あるいは肝硬変に対してインターフェロン療法を行うと，ウイルスの完全排除の有無にかかわらず有意に肝発癌率が低下すると，複数の施設から報告されている^{3,4)}。さらに，最近では肝細胞癌の切除術後の再発防止にインターフェロン投与が有効であるという報告^{5,6)}や，インターフェロンと抗癌剤の併用療法が進行肝癌の治療に有用であるという報告もある^{7,8)}。肝癌発生予防や治療に対するインターフェロンの有用性が臨床的に明らかにさ

れつつあるが，その作用メカニズムはいまだ明らかにされていない。インターフェロン- α が腫瘍細胞に対する直接的な増殖抑制作用を有することから，肝癌細胞に対しても直接的に発癌抑制や抗癌作用を示している可能性も考えられる。

筆者らは，インターフェロン- α の肝癌細胞に対する作用を明らかにするために，インターフェロン- α のレセプターの発現，インターフェロン- α の増殖抑制作用やその機序解明などに関して，培養肝癌細胞を使用し検討を行っているが^{9,10)}，本稿では，そのデータの一部を以下に紹介する。

2 肝癌における1型インターフェロンレセプターの発現

インターフェロン- α の作用発現にはレセプターの発現が必須である。われわれは，当教室で独自に樹立・維持されている11種類の分化度の異なる肝細胞癌細胞株と2種類の混合型肝癌株の合計13株の肝癌の細胞株を使用して，まずレセプターの発現の検討を行った。インターフェロン- α のレセプター

Hirohisa YANO et al: Anti-tumor action of IFN

*久留米大学医学部病理学教室 [〒830-0011 久留米市旭町67]

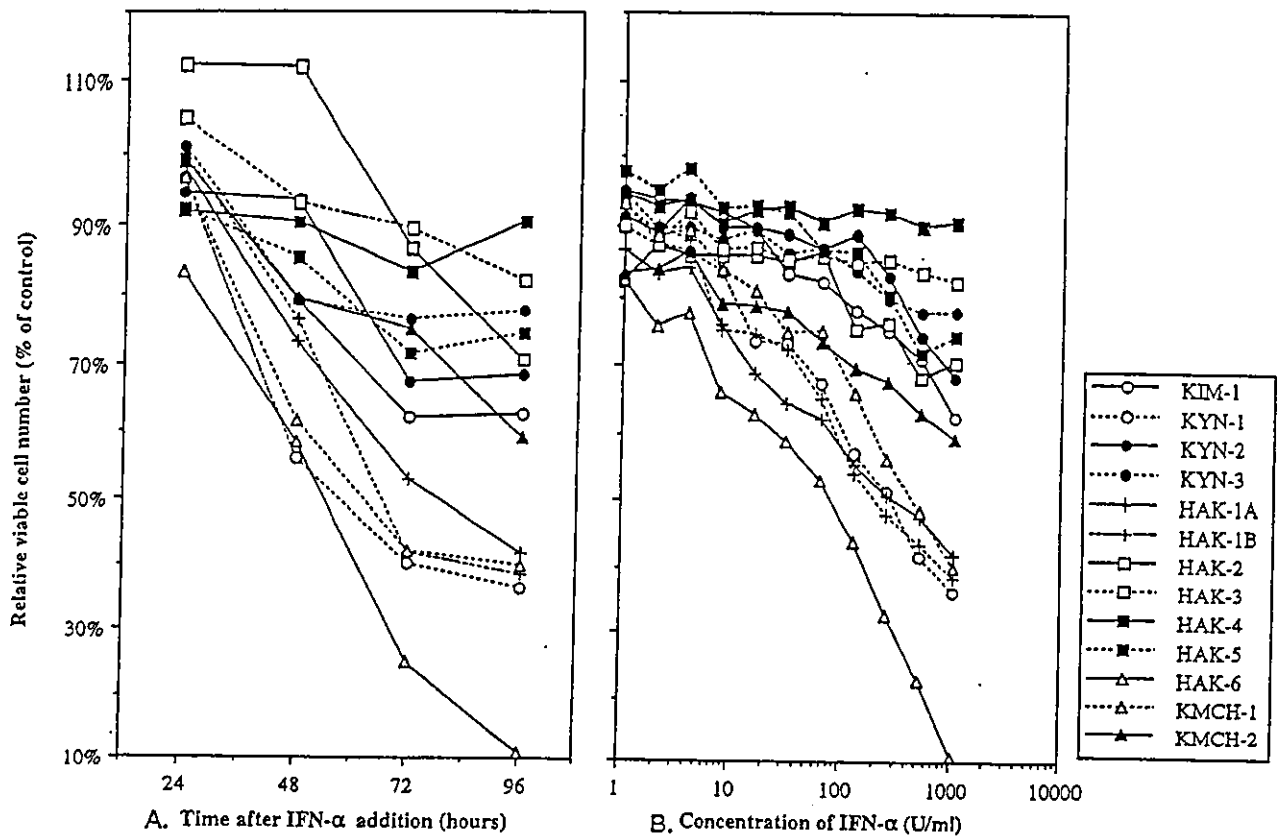


図1 インターフェロン- α 製剤 (OIF) の13種類の肝癌細胞株に対する増殖抑制作用を示す
 図1Aは、1,024 U/mlのインターフェロン- α 添加培養後24～96時間目のコントロールと比較した生細胞数を示す。図1Bは、1～1,024 U/mlのインターフェロン- α 接触後96時間目のコントロールと比較した生細胞数を示す。

の構造やその機能などに関する詳細は別項(八橋ら)を参照していただきたい。

レセプターの二つの鎖のうちAR-2鎖の蛋白レベルでの発現をflow cytometry法で検討を行った。その結果、13株中12株で検出可能であったが、全体的に低いレベルの発現で、陽性細胞率が10%を超えていたのは2株だけであった。次に、RT-PCR法を用いてmRNAレベルのAR-1鎖とAR-2鎖の発現を検討したところすべての細胞株で発現を確認した。3種類のAR-2鎖(AR-2a, -2b, -2c)のうち、インターフェロン- α の作用発現に重要なlong form(AR-2c)の発現が最も強く認められた。

手術切除肝癌およびその非癌部組織におけるAR-2鎖の発現に関しても免疫組織化学的に検討を加えた。癌部では69例中53例

(77%)で、非癌部では61例(88%)で陽性所見を認めた。また、非癌部では、門脈域の炎症細胞浸潤のより強い部分でより強い染色性を認めた。12例の正常肝組織も同様に染色を行ったがすべての症例で発現を確認できなかった。肝細胞癌の分化度・被膜侵襲・肝内転移などのを病理学的なパラメーターとAR-2鎖の発現との間に関連性は認めず、非癌部に関しても慢性肝炎と肝硬変で発現の差を認めなかった。

3 インターフェロン- α の肝癌細胞株に対する増殖抑制作用

ヒト天然型インターフェロン- α (1-1,024 U/ml, OIF, 大塚製薬)を13種類の肝癌細胞株の培地に添加し24～96時間培養すると、大部分の細胞株で時間依存性の細胞増殖抑制

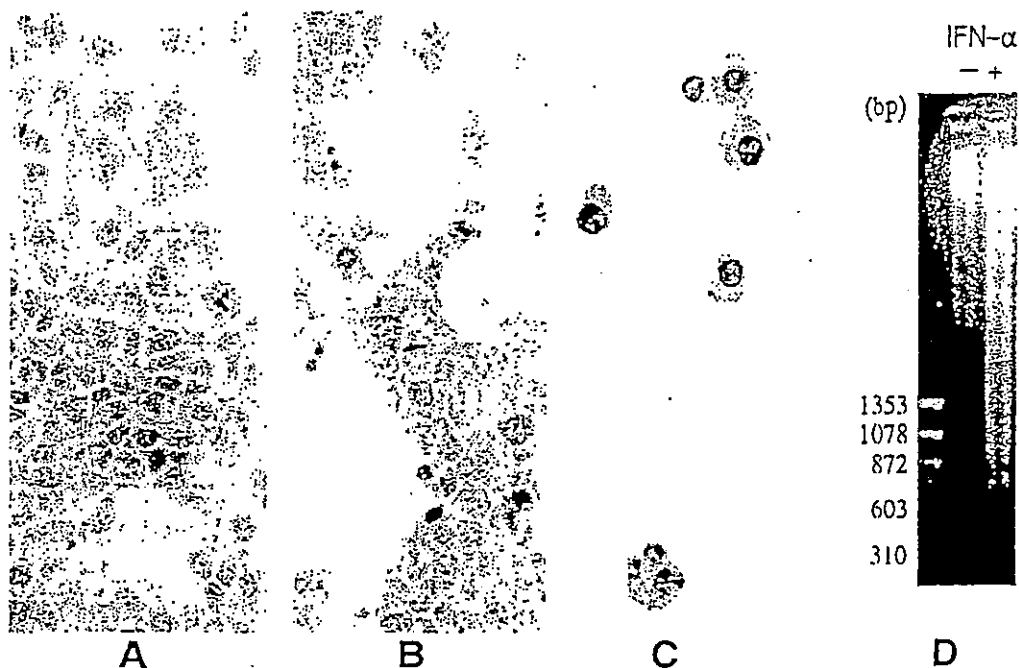


図2 インターフェロン- α の肝癌細胞株に対するアポトーシス誘導

A～C：インターフェロン- α 添加あるいは非添加培養時の肝細胞癌細胞株 KIM-1 株の細胞形態を示す (A：インターフェロン- α 非添加培養，200倍；B：インターフェロン- α [1,000 U/ml OIF] 添加培養，200倍；Bの強拡大，400倍，いずれもヘマトキシリン・エオジン染色)。

D：インターフェロン- α 添加によりアポトーシスの生化学的指標である DNA ラダーの出現を認める。

作用が認められた(図 1A)。また，インターフェロン- α 接触後 96 時間目では，すべての細胞株で種々の程度に濃度依存性に細胞増殖が抑制された。13 株中 5 株では，インターフェロン- α 接触後 96 時間目で非添加のコントロールと比べ生細胞数が 50 % 以下まで低下し，これらの細胞株の 50 % 増殖抑制濃度は，86.3 U/ml から 465.5 U/ml の範囲内であった(図 1B)。インターフェロン- α の増殖抑制作用に対する感受性と細胞株のオリジナル腫瘍の組織学的異型度との間に関連性は認めなかった。また，細胞表面の AR-2 鎖の発現は，インターフェロン- α による増殖抑制作用と必ずしも相関していなかった。

4 インターフェロン- α の増殖抑制のメカニズム

インターフェロン- α による細胞増殖抑制

のメカニズムを検討するために，インターフェロン- α を肝癌細胞の培地に添加し，48 から 72 時間培養し細胞形態を観察すると細胞質の縮小や核の濃縮・核の断片化など，アポトーシスに特徴的な細胞像の出現が認められた。またこのような細胞から DNA を採取しアガロースゲル内で電気泳動すると，アポトーシスの生化学的なマーカーである DNA ladder の形成が認められた(図 2)。このようなアポトーシスの誘導は細胞間で程度の差を認めるものの 13 株中 10 株で認められた。また，アポトーシス誘導が認められなかった 3 株でもインターフェロン- α により細胞数の低下を認め，アポトーシス誘導以外の増殖抑制の機序が存在することが示唆された。そこで次に，インターフェロン- α の細胞周期に及ぼす作用の検討を行った。その結果，すべての細胞株で細胞周期の進行停止誘導が認

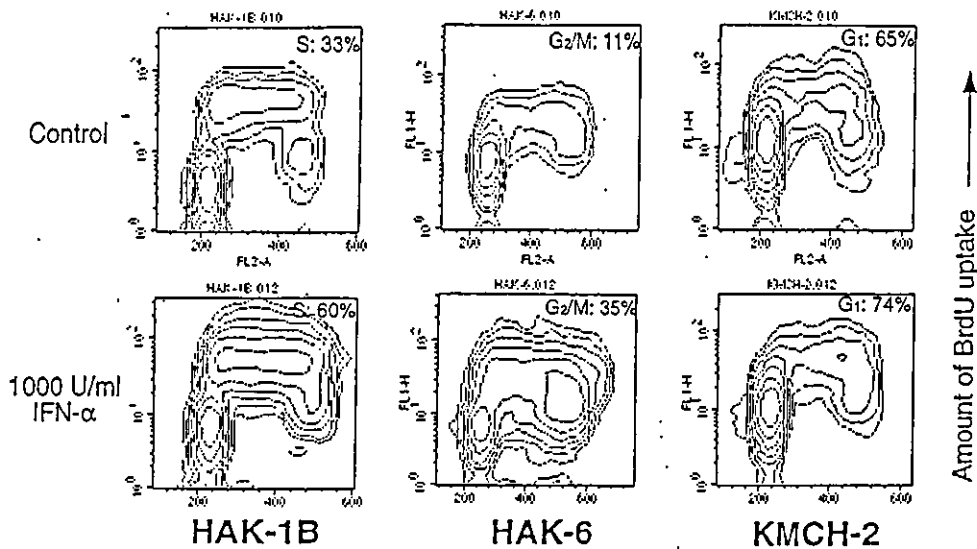


図3 インターフェロン- α の肝癌細胞周期への作用

HAK-1B株では、インターフェロン- α 添加培養後96時間目にS期の細胞集団の増加を認める。同様に、HAK-6では、G2/M期の、KMCH-2では、G1期の細胞集団の増加を認める。図内数値は、各周期の細胞集団の割合を示す。抗BrdU抗体と propidium iodide の2重染色。

められ、S期での停止誘導が11株、G2/M期での停止誘導が1株、G1期での停止誘導が1株で認められた。図3にそれぞれの代表的な結果を示す。このように、肝癌細胞では、S期での停止誘導が最も高頻度に認められたが；これは最近のMurphyら¹¹⁾の報告と一致しており肝癌細胞のインターフェロン- α に対する一つの特徴かもしれない。彼らは、インターフェロン- α により cyclin A の induction の抑制と、その結果生じる Cdk2 と Cdc2 kinase の活性の低下が生じることによりS期での停止が誘導されると述べている。表1に、13種類の肝癌細胞株のAR-2鎖の発現、インターフェロン α による増殖抑制作用、アポトーシス誘導作用、細胞周期への作用のまとめを示す。

5 インターフェロン- α のアポトーシス誘導のメカニズム

アポトーシスの誘導経路は一般的に、Fas (CD95)に代表されるデスリガンド-デスレセプターを介した経路と、Bcl-2 familyなどに

より制御を受けるミトコンドリアを介した経路の二つに大きく分けられる。インターフェロン- α が肝癌細胞に対してどちらの経路を介して、どのような分子を活性化してアポトーシスを誘導するのか検討を加えてみた。まず、デスレセプターの代表であるFasの関与については、細胞株のFasの発現あるいはFas誘導性アポトーシスへの感受性に関係なく¹²⁾、インターフェロン- α 誘導性アポトーシスが生じることからその関与は乏しいと思われる。次に、ミトコンドリアを介した経路について、p53, Bcl-2 family, cytochrome c などについて検討を加えた。p53の関与については、インターフェロン- α 誘導性アポトーシスがp53遺伝子にmutationあるいはdeletionがある細胞株¹³⁾でも見られることから、インターフェロン α 誘導性アポトーシスはp53に非依存性と考えられる。bcl-2 familyに関しては、アポトーシス抑制作用があるbcl-2とbcl-xLと、アポトーシス誘導作用があるbakとbaxの発現とインターフェロン- α 誘導性アポトーシスの関連性について7株を使用

表1 13種類の肝癌細胞株のI型インターフェロンのレセプターAR-2鎖の発現, およびインターフェロン- α の増殖抑制作用, アポトーシス誘導作用, 細胞周期に及ぼす作用のまとめ

細胞株	細胞表面のAR-2鎖の発現*	増殖抑制作用†	アポトーシス誘導作用‡	細胞周期への作用
KIM-1	+	+	++	S期進行停止誘導
KYN-1	+	++	+++	S期進行停止誘導
KYN-2	++	+	+	S期進行停止誘導
KYN-3	+	+	-	S期進行停止誘導
HAK-1A	++	++	++	S期進行停止誘導
HAK-1B	+++	+++	+++	S期進行停止誘導
HAK-2	+	+	+	S期進行停止誘導
HAK-3	+	±	++	S期進行停止誘導
HAK-4	±	±	-	S期進行停止誘導
HAK-5	++	+	+	S期進行停止誘導
HAK-6	+	+++	++	G ₂ /M期進行停止誘導
KMCH-1	+++	++	++++	S期進行停止誘導
KMCH-2	+	++	-	G ₁ 期進行停止誘導

*: 肝癌細胞株の細胞表面のAR-2鎖の発現をフローサイトメトリーで測定し, 発現レベルを陽性細胞率に従い以下のごとく分類した. ±: 1%以下, +: 1~5%, ++: 5~10%, +++: 10%以上

†: 1024 U/mlのインターフェロン- α を加え96時間培養した際のコントロール(無処置)に比較した生細胞数の減少の割合で増殖抑制効果を判定した. ±, 20%以下, +: 20~40%, ++: 40~60%, +++: 60%以上

‡: アポトーシス誘導作用およびそのレベルの判定は, インターフェロン- α を加え誘導されたDNAの断片化率とコントロール(無処置)のDNA断片化率の差を求め5つに分類した. -: 有意差なし, +: <5%, ++: 5~10%, +++: 10~20%, ++++: 20%以上

して検討した. インターフェロン- α により7株すべてにアポトーシスが種々の程度に誘導されたが, すべての細胞株に共通の変化は認められず, これらの bcl-2 family の分子のインターフェロン- α 誘導性アポトーシスへの関連性は明らかではなかった. 一方, cytochrome c に関しては, インターフェロン- α 誘導性アポトーシスで, ミトコンドリアから細胞質への放出が確認され, さらに, caspase-9 や caspase-3 の活性化も認められた. caspase の activation が確認された肝癌細胞株を pan-caspase inhibitor である Z-VAD-FMK (50 ~ 100 μ M) で前処置すると, インターフェロン- α 誘導性アポトーシスが抑制された. 以上から, インターフェロン- α 誘導性アポトーシスでは, ミトコンドリア系のアポトーシス誘導経路を介して caspase-9 や caspase-3 が活性化され, caspase 依存性にアポトーシスが誘導されることが推察される

(未発表データ).

6 インターフェロン- α サブタイプの肝癌細胞株に対する増殖抑制作用

インターフェロン- α には, 少なくとも13種類のサブタイプ遺伝子(α 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 16, 17, 21)があり, 28種類の分子種が確認されている¹⁴⁾. 各サブタイプ分子が構造的に極めて類似しており, 共通のレセプター分子を介して細胞内にシグナルを送るにもかかわらず, 抗ウイルス作用, 細胞増殖抑制作用などの生物学的作用や標的細胞特異性にはサブタイプ間で差があると言われている¹⁴⁾. リコンビナントのインターフェロン- α 1, 2, 5, 8, 10 を使用しサブタイプ間で肝癌細胞の増殖抑制作用に差があるか検討を行った. 1,000 U/ml の各サブタイプの増殖抑制効果を13株で検討した結果, α 5 が最も強力で, 次いで α 8, α 10, α 2, α 1 の順で

あった(未発表データ)。また、これら各サブタイプの増殖抑制機序について検討したが、いずれもヒト天然型インターフェロン- α (OIF) と同一機序であることが判明した(未発表データ)。

7 おわりに

今回の検討により、肝癌細胞がインターフェロン- α の作用発現に重要な I 型インターフェロンのレセプターの AR-2 鎖を発現していることや、インターフェロン- α が、肝癌細胞株に対しアポトーシスや細胞周期の進行停止などを誘導し直接的に増殖を抑制することが示された。前述したように、インターフェロン- α 投与による肝発癌抑制のメカニズムは、いまだ詳細には解明されていないが、今回のわれわれの検討結果は、インターフェロン投与が直接的に肝発癌を抑制している可能性を支持している。すなわち、インターフェロン投与は、前癌病変あるいは微小な早期肝癌に対し直接的増殖抑制作用を示し、臨床的な肝癌への進展を遅延あるいは阻止しているのかもしれない。

文 献

- 1) Pestka S, Langer JA, Zoon KC et al : Interferons and their actions. *Ann Rev Biochem* 56 : 727-777, 1987
- 2) Gutterman JU : Cytokine therapeutics: lessons from interferon). *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 1198-1205, 1994
- 3) Mazzella G, Accogli E, Sottili S et al : Alpha interferon treatment may prevent hepatocellular carcinoma in HCV-related liver cirrhosis. *J Hepatol* 24 : 141-147, 1996
- 4) Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S et al : Randomised trial of effects of interferon- α on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 346 : 1051-1055, 1995
- 5) Ikeda K, Arase Y, Saitoh S et al : Interferon beta prevents recurrence of hepatocellular carcinoma after complete resection or ablation of the primary tumor-A prospective randomized study of hepatitis C virus-related liver cancer. *Hepatology* 32 : 228-232, 2000
- 6) Kubo S, Nishiguchi S, Hirohashi K et al : Effects of long-term postoperative interferon-alpha therapy on intrahepatic recurrence after resection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 134 : 963-967, 2001
- 7) 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
- 8) 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
- 9) Takayama A, Yano H, Ogasawara S et al : Expression of Hu-IFN- α R2 chain of Type I interferon receptor in human hepatocellular carcinoma and non-cancerous tissues. *Int J Mol Med* 6 : 621-627, 2000
- 10) Yano H, Iemura A, Haramaki M et al : Interferon alfa receptor expression and growth inhibition by interferon alfa in human liver cancer cell lines. *Hepatology* 29 : 1708-1717, 1999
- 11) Murphy D, Detjen KM, Welzel M et al : Interferon- α delays S-phase progression in human hepatocellular carcinoma cells via inhibition of specific cyclin-dependent kinases. *Hepatology* 33 : 346-356, 2001
- 12) Yano H, Fukuda K, Haramaki M et al : Expression of Fas and anti-Fas-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell lines. *J Hepatol* 25 : 454-464, 1996
- 13) Yano H, Iemura A, Fukuda K et al : Establishment of two distinct human hepatocellular carcinoma cell lines from a single nodule showing clonal dedifferentiation of cancer cells. *Hepatology* 18 : 320-327, 1993
- 14) 大塚浩史, 山岡 隆 : IFN- α および β (ω を含む)。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—。総監修岸田綱太郎, 編集今西二郎, (株) ライフ・サイエンス, 東京都, 1998



テーマ◇これからの肝発癌研究をどう考えるか

■ セッションIII：制御「肝硬変へのIFN投与は肝発癌を抑制する」-③

インターフェロンは培養肝癌細胞増殖を抑制する

矢野 博久・神代 正道 久留米大学医学部病理学

Key words : インターフェロン, レセプター, 肝癌, アポトーシス, 細胞周期

はじめに

インターフェロン- α は、抗ウイルス作用、細胞増殖抑制作用、免疫応答調節作用、MHC 抗原発現調節作用など、多彩な生物活性を有するサイトカインである。インターフェロンの肝癌細胞に対する直接的な作用を理解するのは、肝発癌予防や肝癌治療の観点から重要である。筆者らは、インターフェロン- α のレセプターの発現、インターフェロン- α の細胞増殖抑制作用やその機序解明などに関して、培養肝癌細胞を使用し検討を行っているが¹⁾²⁾、本稿では、そのデータの一部を以下に紹介する。

I. 肝癌におけるI型インターフェロンレセプターの発現

インターフェロン- α の作用発現にはレセプターの発現が必須である。インターフェロン- α の作用は、細胞表面の特異的なレセプターであるI型インターフェロンレセプターを介して伝達される³⁾。I型インターフェロンのレセプターは、AR-1鎖とAR-2鎖の二つから構成されており、後者が、インターフェロンとの結合

ユニットであり、前者は、高親和性のレセプターを形成するために必要なユニットであるといわれている⁴⁾。AR-2鎖には、さらに、細胞膜表面に結合しているshort form (AR-2b) とlong form (AR-2c)、細胞外に分泌されるsoluble form (AR-2a) の3種類がある。これらは同一遺伝子のexon skipping, alternative splicing, 異なったpolyadenylation部位の使用により作られる。インターフェロンの作用発現にはAR-2cが最も重要であると報告⁴⁾⁵⁾されていることから肝癌細胞におけるAR-2鎖の発現を検討した。

使用した細胞株は、当教室で独自に樹立された11種類の分化度の異なる肝細胞癌細胞株と2種類の混合型肝癌株の合計13株の肝癌の細胞株である。まず、細胞表面のAR-2鎖の蛋白レベルでの発現をflow cytometry法で検討を行った。その結果、12株で検出可能であったが、全体的に低いレベルの発現であった。陽性細胞率が10%を超えていたのは、その内2株だけであった。次に、RT-PCR法を用いてmRNAレベルのAR-2のレセプターの発現を検討したところlong formとsoluble formはすべての

細胞株で発現を認め、short form は、1株を除きすべての株で発現を認めた。Long form (AR-2c) のバンドの発現が最も強く認められ、細胞表面には short form (AR-2b) よりも long form (AR-2c) がより強く発現していることが示唆された。AR-1鎖の発現も RT-PCR法を用いて検討したが、すべての細胞株で発現を確認した。

また、細胞株のみではなく肝癌組織における AR-2鎖の発現についても検討を加えた。69例の外科切除肝細胞癌組織およびその非癌部組織を用いて AR-2鎖の発現に関して免疫組織化学的に検討を行ったところ、癌部では53例(77%)で、非癌部では61例(88%)で陽性所見を認めた。癌部も非癌部も、どちらも膜表面に主に陽性像を認めたが、細胞質にも若干陽性像が認められた。また、非癌部において門脈域の炎症細胞浸潤のより強い部分でより強い染色性を認めた。12例の正常肝組織も同様に染色を行ったがすべての症例で発現を確認できなかった。肝細胞癌の分化度・被膜侵襲・肝内転移などのを病理学的なパラメーターと AR-2鎖の発現との間に関連性は認めず、非癌部についても慢性肝炎と肝硬変で発現の差を認めなかった。

II. インターフェロン- α の肝癌細胞株に対する増殖抑制作用

インターフェロン- α (1~1,024 U/ml, OIF, 大塚製薬) を13種類の肝癌細胞株に添加し96時間培養すると、大部分の細胞株で時間依存性の細胞増殖抑制作用が認められた(図1-A)。また、インターフェロン- α 接触後96時間目では、すべての細胞株で種々の程度に濃度依存性に細胞増殖が抑制された。13株中5株では、インターフェロン- α 接触後96時間目で非添加のコントロールと比べ生細胞数が50%以下まで低下し、これらの細胞株の50%増殖抑制濃度(IC50)は、86.3 U/ml から465.5 U/ml の範囲内であった(図1-B)。インターフェロン- α の増殖抑制作用に対する感受性と細胞株のオリジ

ナル腫瘍の組織学的異型度との間に関連性は認めなかった。また、細胞表面の AR-2鎖の発現は、インターフェロン- α による増殖抑制作用と必ずしも相関していなかった。

III. インターフェロン- α の増殖抑制のメカニズム

次に、インターフェロン- α による細胞増殖抑制のメカニズムに関して検討を加えた。インターフェロン- α を肝癌細胞の培地に添加し、48~72時間培養し細胞形態を観察すると細胞質の縮小や核の濃縮・核の断片化など、アポトーシスに特徴的な細胞像の出現が認められた。またこのような細胞から DNA を採取しアガロースゲル内で電気泳動すると、アポトーシスの生化学的マーカーである DNA ladder の形成が認められた(図2)。このようなアポトーシスの誘導は細胞間で程度の差を認めるものの13株中10株で認められた。アポトーシス誘導が認められなかった3株の増殖抑制の機序を解明するため、インターフェロン- α の細胞周期に及ぼす作用の検討を行った。図3に代表的な結果を示す。すべての細胞株で細胞周期の進行停止誘導が認められ、S期での停止誘導が11株、G₂/M期での停止誘導が1株、G₁期での停止誘導が1株で認められた。このように、肝癌細胞では、S期での停止誘導が最も高頻度に認められたが、これは最近の Murphy らの報告⁶⁾と一致しており、肝癌細胞のインターフェロン- α に対する一つの特徴かもしれない。表1に、13種類の肝癌細胞株の AR-2鎖の発現、インターフェロン- α による増殖抑制作用、アポトーシス誘導作用、細胞周期への作用のまとめを示す。

IV. インターフェロン- α のアポトーシス誘導のメカニズム

インターフェロン- α 誘導性アポトーシスとアポトーシス関連分子である p53, Fas (CD95), bcl-2 family, caspase 3 との関連性について検討を行った。p53 の関与については、インターフェロン- α 誘導性アポトーシス

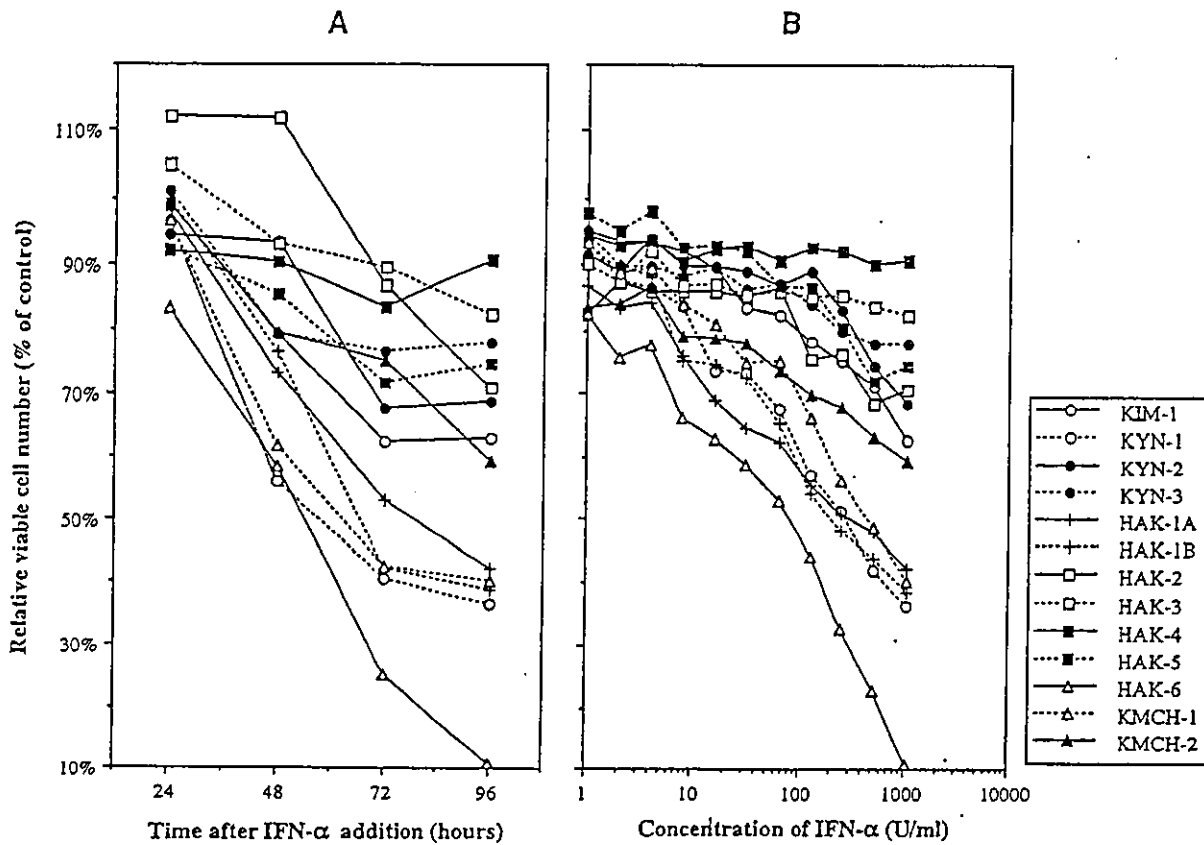


図1 インターフェロン- α 製剤 (OIF) の13種類の肝癌細胞株に対する増殖抑制作用を示す
 Aは、1,024 U/mlのインターフェロン- α 添加培養後24~96時間目のコントロールと比較した生細胞数を示す。
 Bは、1~1,024 U/mlのインターフェロン- α 接触後96時間目のコントロールと比較した生細胞数を示す。

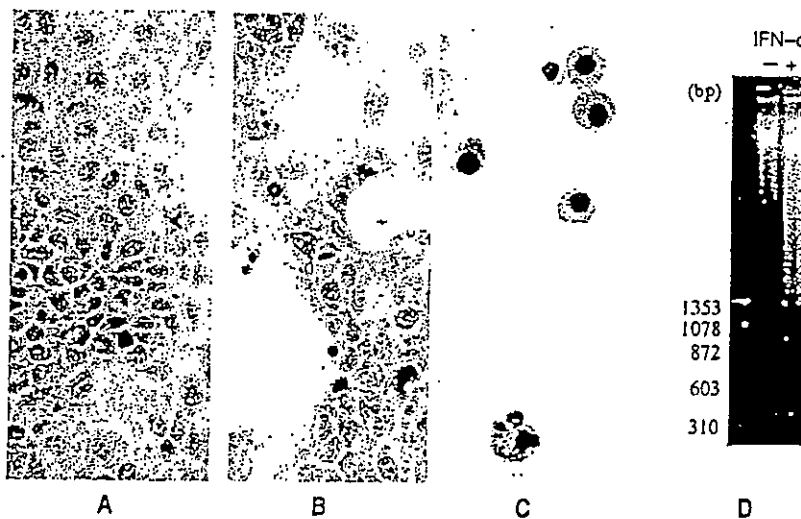


図2 インターフェロン- α の肝癌細胞株に対するアポトーシス誘導

A~C) インターフェロン- α 添加あるいは非添加培養時の肝細胞癌細胞株 KIM-1 株の細胞形態を示す (A: インターフェロン- α 非添加培養, 200倍; B: インターフェロン- α [1,000 U/ml OIF] 添加培養, 200倍; Bの強拡大, 400倍, いずれもヘマトキシリン・エオジン染色)。
 D) インターフェロン- α 添加によりアポトーシスの生化学的指標である DNA ラダーの出現を認める。

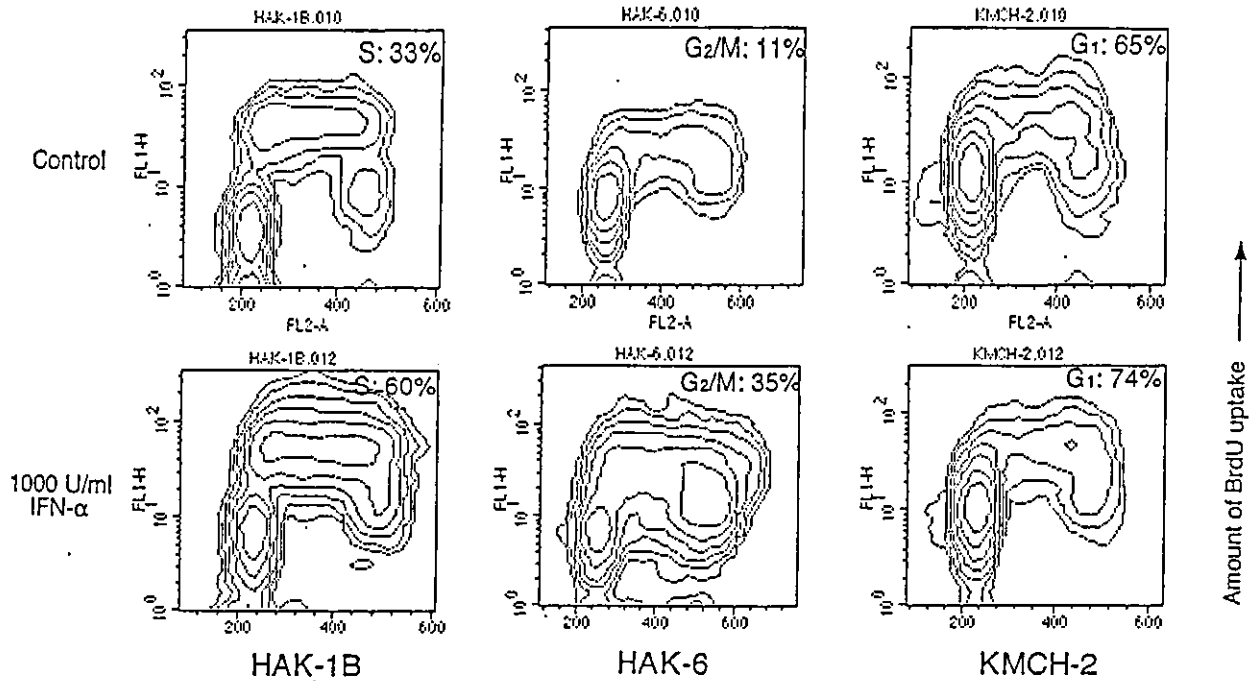


図3 インターフェロン- α の肝癌細胞周期への作用

HAK-1B株では、インターフェロン- α 添加培養後96時間目にS期の細胞集団の増加を認める。同様に、HAK-6では、G₂/M期の、KMCH-2では、G₁期の細胞集団の増加を認める。図内数値は、各周期の細胞集団の割合を示す。抗BrdU抗体とpropidium iodideの2重染色。

表1 13種類の肝癌細胞株のI型インターフェロンのレセプターAR-1鎖の発現、およびインターフェロン- α の増殖抑制作用、アポトーシス誘導作用、細胞周期に及ぼす作用のまとめ

細胞株	細胞表面のAR-1鎖の発現 ¹⁾	増殖抑制作用 ²⁾	アポトーシス誘導作用 ³⁾	細胞周期への作用
KIM-1	+	+	++	S期進行停止誘導
KYN-1	+	++	+++	S期進行停止誘導
KYN-2	++	+	+	S期進行停止誘導
KYN-3	+	+	-	S期進行停止誘導
HAK-1A	++	++	++	S期進行停止誘導
HAK-1B	+++	+++	+++	S期進行停止誘導
HAK-2	+	+	+	S期進行停止誘導
HAK-3	+	±	++	S期進行停止誘導
HAK-4	±	±	-	S期進行停止誘導
HAK-5	++	+	+	S期進行停止誘導
HAK-6	+	+++	++	G ₂ /M期進行停止誘導
KMCH-1	+++	++	++++	S期進行停止誘導
KMCH-2	+	++	-	G ₁ 期進行停止誘導

¹⁾ 肝癌細胞株の細胞表面のAR-1鎖の発現をフローサイトメトリーで測定し、発現レベルを陽性細胞率に従い以下のごとく分類した：±, 1%以下；+, 1~5%；++, 5~10%；+++, 10%以上。

²⁾ 1,024 U/mlのインターフェロン- α を加え96時間培養した際のコントロール(無処置)に比較した生細胞数の減少の割合で増殖抑制効果を判定した：±, 20%以下；+, 20~40%；++, 40~60%；+++, 60%以上。

³⁾ アポトーシスの誘導作用およびそのレベルの判定は、インターフェロン- α を加え誘導されたDNAの断片化率とコントロール(無処置)のDNA断片化率の差を求め五つに分類した：-, 有意差なし；+, <5%；++, 5~10%；+++, 10~20%；++++, 20%以上。

が p53 遺伝子に mutation あるいは deletion がある細胞株⁷⁾でもみられることから、インターフェロン- α 誘導性アポトーシスは p53 に非依存性と考えられる。Fas の関与については、細胞株の Fas の発現あるいは Fas 誘導性アポトーシスへの感受性に関係なく⁸⁾、インターフェロン- α 誘導性アポトーシスが生じることからその関与は乏しいと思われる。bcl-2 family に属しアポトーシス抑制作用がある bcl-2 と bcl-xL、およびアポトーシス誘導作用がある bak と bax の発現とインターフェロン- α 誘導性アポトーシスの関連性について検討したところすべての細胞株で共通の変化は認められず、これらの bcl-2 family の分子がインターフェロン- α 誘導性アポトーシスに関連している証拠は得られなかった。最後に、caspase-3 の activation の関与について、インターフェロン- α でアポトーシスが誘導される 8 株と誘導されない 2 株を使用して検討を行った。インターフェロン- α でアポトーシスが誘導されない 2 株では、やはり caspase-3 の activation は認めなかった。一方、インターフェロン- α でアポトーシスが誘導された 8 株中 6 株で caspase-3 の activation が確認可能であった。さらに、caspase-3 の activation が確認された 1 株で、pan-caspase inhibitor である Z-VAD-FMK (50 μ M) を培地に添加すると、インターフェロン- α 誘導性アポトーシスが抑制されることが確認され、少なくとも caspase 依存性に、おそらく最終的に caspase 3 の activation により DNA の断片化が生じ、アポトーシスが誘導される経路が存在することが示唆された (未発表データ)。

V. インターフェロン- α サブタイプの 肝癌細胞株に対する増殖抑制作用

インターフェロン- α には、少なくとも 13 種類のサブタイプ遺伝子 ($\alpha 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 16, 17, 21$) があり、28 種類の分子種が確認されている⁹⁾。各サブタイプ分子が構造的に極めて類似しており、共通のレセプ

ター分子を介して細胞内にシグナルを送るにもかかわらず、抗ウイルス作用、細胞増殖抑制作用などの生物学的作用や標的細胞特異性にはサブタイプ間で差があるといわれている⁹⁾。リコンビナントのインターフェロン- $\alpha 1, 2, 5, 8, 10$ を使用しサブタイプ間で肝癌細胞の増殖抑制作用に差があるか検討を行った。1,000 U/ml の各サブタイプの増殖抑制効果を 13 株で検討した結果、 $\alpha 5$ が最も強力で、次いで $\alpha 8, \alpha 10, \alpha 2, \alpha 1$ の順であった (未発表データ)。また、これら各サブタイプの増殖抑制機序について検討したが、いずれも OIF と同一機序であることが判明した (未発表データ)。

おわりに

今回の検討により、肝癌細胞がインターフェロン- α の作用発現に重要な I 型インターフェロンのレセプターの AR-2 鎖を発現していることや、インターフェロン- α が、肝癌細胞株に対しアポトーシスや細胞周期の進行停止などを誘導し直接的に増殖を抑制することが示された。近年、インターフェロン治療が C 型肝炎ウイルスの排除に有効でなくとも、C 型慢性肝炎患者の肝細胞癌発症を有意に抑制するという報告が複数の施設からなされ注目されている¹⁰⁾⁻¹²⁾。その肝発癌抑制のメカニズムは、いまだ詳細には解明されていないが、今回のわれわれの検討結果は、インターフェロン投与が直接的に肝発癌を抑制している可能性を支持している。すなわち、インターフェロン投与は、前癌病変あるいは微小な早期肝癌に対し直接的増殖抑制作用を示し、臨床的な肝癌への進展を遅延あるいは阻止しているのかもしれない。

文 献

- 1) Yano H, Iemura A, Haramaki M et al: Interferon alfa receptor expression and growth inhibition by interferon alfa in human liver cancer cell lines. *Hepatology* 29: 1708-1717, 1999.
- 2) Takayama A, Yano H, Ogasawara S et al:

- Expression of Hu-IFN- α R2 chain of Type I interferon receptor in human hepatocellular carcinoma and non-cancerous tissues. *Int J Mol Med* 6 : 621-627, 2000.
- 3) Pestka S : The interferon receptors. *Semin Oncol* 24(Suppl 9) : S 9-18-S 19-40, 1997.
 - 4) Domanski P, Witte M, Kellum M et al : Cloning and expression of a long form of the b subunit of the interferon $\alpha\beta$ receptor that is required for signaling. *J Biol Chem* 270 : 21606-21611, 1995.
 - 5) Lutfalla G, Holland SJ, Cinato E et al : Mutant U 5 A cells are complemented by an interferon $\alpha\beta$ receptor subunit generated by alternative processing of a new member of a cytokine receptor gene cluster. *EMBO J* 14 : 5100-5108, 1995.
 - 6) Murphy D, Detjen KM, Welzel M et al : Interferon- α delays S-phase progression in human hepatocellular carcinoma cells via inhibition of specific cyclin-dependent kinases. *Hepatology* 33 : 346-356, 2001.
 - 7) Yano H, Iemura A, Fukuda K et al : Establishment of two distinct human hepatocellular carcinoma cell lines from a single nodule showing clonal dedifferentiation of cancer cells. *Hepatology* 18 : 320-327, 1993.
 - 8) Yano H, Fukuda K, Haramaki M et al : Expression of Fas and anti-Fas-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell lines. *J Hepatol* 25 : 454-464, 1996.
 - 9) 大塚浩史, 山岡 隆 : IFN- α および β (ω を含む). 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—. 総監修 : 岸田綱太郎, 編集 : 今西二郎, ㈱ ライフ・サイエンス, 東京, 1998.
 - 10) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K et al : Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 27 : 1394-1402, 1998.
 - 11) Mazzella G, Accogli E, Sottilli S et al : Alpha interferon treatment may prevent hepatocellular carcinoma in HCV-related liver cirrhosis. *J Hepatol* 24 : 141-147, 1996.
 - 12) Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S et al : Randomised trial of effects of interferon- α on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 346 : 1051-1055, 1995.

* * *



進行肝癌に対する IFN併用5FU動注化学療法*

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*** 鷺沼直雄**
寺谷卓馬*** 椎名秀一朗***
小俣政男***

Key Words: HCC (hepatocellular carcinoma), PVI (portal vein invasion), chemotherapy

はじめに

肝細胞癌の治療は、切除¹⁾や局所療法²⁾および肝動脈塞栓術³⁾などの各種治療法の進歩によって、安全かつ効果的なものとなった。しかしながら、門脈腫瘍塞栓とくにVP3以上となると、標準的な治療法がなく、その予後は著しく不良⁴⁾である。

門脈腫瘍塞栓(VP3, 4)は、肝硬変を伴っている症例がほとんどであること、また肝臓内に多発病変を合併することより、外科切除¹⁾、局所療法²⁾、肝動脈塞栓術³⁾や放射線治療⁵⁾が適応とならず、唯一化学療法のみが適応^{6,7)}となる症例が多い。

従来、肝細胞癌は化学療法が奏功しにくいと考えられ、また慢性肝炎や肝硬変を母地として発生することから、化学療法は積極的に行われてこなかった。しかし、最近の知見で奏功する症例が少なからずあることが判明⁸⁾⁻¹⁰⁾し、この領域にBreak Throughが起こったといえる。本稿ではVP3, 4を伴う進行肝細胞癌116例に対するIFN併用5FU動注化学療法の結果と解析を述べる。

IFN併用5FU動注化学療法の経緯

1988年Wadlerら⁹⁾がcolon cancerではじめて報告して以来、肝細胞癌では1993年にPattら¹⁰⁾が初めて報告し、1998年Urabeら¹¹⁾IFN+5FU+CDDP+MTX+Leucovorinで、2001年Sakonら¹²⁾がIFN+5FU+CDDP+LeucovorinとIFN+5FUにてその有効性を報告した。

対 象

1. 腫瘍因子

ほかに有効な標準的な治療法のない進行肝細胞癌を対象とした。すなわち一次分枝もしくは本幹に門脈腫瘍浸潤(VP3 or 4)があり、かつ肝内二区域以上に腫瘍が多発した状態の患者群を対象とした。当初遠隔転移のある症例にも行っていたが、肝動脈から投与(肝動注)では肝内の腫瘍に効果があっても、肝外の腫瘍には効果を認めなかった。このため本研究の途中から遠隔転移のある症例は動注の適応外としている。

2. 肝機能因子

コントロール不可能な腹水・浮腫のある症例は除外した。Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)¹³⁾によるPerformance Status 0-1総ビリル

* FAIT (FU arterial infusion and interferon therapy) for advanced HCC.

** Shuntaro OBI, M.D., Risa TOUNE, M.D. & Tadao UNUMA, M.D.: 杏雲堂病院肝臓科 (〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台1-8); Department of Hepatology, Kyoundo Hospital, Tokyo 101-0062, JAPAN

*** Miho KANDA, M.D., Shinpei SATO, M.D., Tomonori FUJISHIMA, M.D., Noriyo YAMASHIKI, M.D., Yuji KONDO, M.D., Hirosumi TANIGUCHI, M.D., Jun IMAMURA, M.D., Katsuyoshi TAMAKI, M.D., Ryota MASUZAKI, M.D., Takuma TERATANI, M.D., Shuichiro SHIINA, M.D. & Masao OMATA, M.D.: 東京大学医学部消化器内科

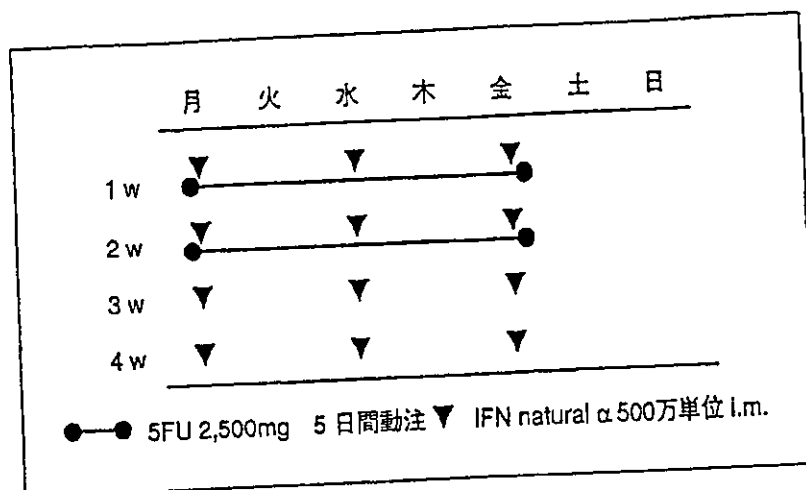


図1 プロトコール

ピン4以下, クレアチニン1.5以下, 白血球数3,000以上, 血小板数4万以上, さらに適切な動注カテーテル留置ができた症例を対象とした。

動注カテーテルの植え込み

動注化学療法成功を左右する一つの条件は、カテーテルの留置である。肝全体に薬液が分布するように留置しないと、当然効果が期待できないばかりではなく、消化管潰瘍など副作用もひき起こす危険がある。また経過中カテーテルの逸脱も考えられるため、各クール開始前には造影にて、薬液分布状態を確認している。

当初投げ込み法を用いていたが、カテーテルの逸脱や位置のずれ、胆管への穿孔迷入があったため、現在ではGDAコイル法¹²⁾を用いて留置している。この際、右胃動脈、胃十二指腸動脈はコイル塞栓している。また、肝動脈の破格がある場合には肝動脈の一本化を行っている。留置経路は、頸動脈をカテーテルが横切るルートをとると脳梗塞の危険があるため、大腿動脈からアプローチしている。またできるだけ侵襲を少なくするため開創の不要な直接穿刺法を選択している。ポートの植え込み後の閉創は、マットレス縫合にして縫合不全や創感染の予防をしている。

プロトコール

Informed consentを得た後、治療を開始した。左近ら⁷⁾の提唱したプロトコールに準じて、4週間(28日)を1クールとした。前半の2週間と後半の2週間に分けた。前半の2週間は5FU(協和

発酵, 東京)の持続投与とインターフェロン(IFN)の併用、後半の2週間はIFN単独とした。5FUは携帯型持続注入ポンプ(シュアフェューザー(ニプロ, 東京))を用いて、500mg/dayで5日間かけて持続動注した(つまり5投2休)。IFNは、天然型のIFN-α(OIF[®](大塚製薬, 東京))500万単位を週3回筋肉注射した(図1)。

効果判定

治療開始前に、ECOG performance status¹³⁾を含めて全身状態を評価した。治療開始前1週間以内の血液検査と治療開始前1か月以内のDynamic CTによって、治療前の評価を行った。各クール前に全身状態、および血液検査を行い、その都度適応について評価した。また各クール終了時にDynamic CTもしくは血管造影検査を行い治療の効果判定をその都度行った。治療効果判定はECOGクライテリア¹³⁾に基づいて行った。原則としてPDとなった段階で治療は打ち切った。PD以外は治療を繰り返し、3クール行ったところで、最終効果判定を行った。

副作用がECOG classification¹³⁾のレベル3以上になった場合治療を中止した。ただし慢性肝炎・肝硬変を併発しているため血小板、白血球、総ビリルビン、トランスアミナーゼはこの基準から除外した。また発熱はIFN注射によるものと判断しこの基準から除外した。

統計解析

Primary objectは生存とした。生存率はKaplan-

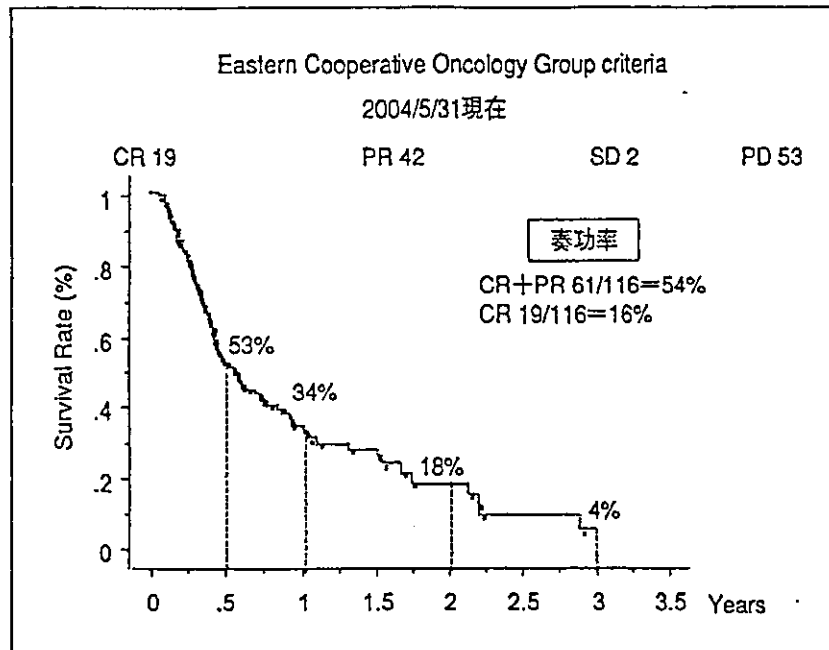


図2 治療効果(n=116)

Meier法で算出し、Log-rankテストによって統計解析を行った。病期進行度、肝機能をマッチさせたHistorical control群を対象として生存率の比較検討を行った。また生存に寄与する因子をCox比例ハザードモデルにて解析した。

Second objectは奏功とした。奏功に寄与する因子をlogistic回帰モデルにて解析を行った。

結 果

1. 患者背景

IFN+5FUを施行した症例は116例(男性95例：女性21例)であった。平均年齢は64歳(39~79歳)、背景肝のウイルスはB型慢性肝炎20%(23/116例)、C型慢性肝炎77%(77/116例)、B、C型慢性肝炎1%(1/116例)、非B非C型慢性肝炎13%(15/116例)であった。

動注化学療法施行前の臨床像を以下に示す[中央値(レンジ)]。血小板数 $11.8(3.9-49.1) \times 10^4/\mu\text{l}$ 、総ビリルビン $1.0(0.2-7.6)\text{mg/dl}$ 、アルブミン $3.3(2.1-4.5)\text{mg/dl}$ 、GOT $55(21-407)\text{IU/l}$ 、GPT $51(12-816)\text{IU/l}$ 、プロトロンビン $81(51-125)\%$ 、AFP $970(2-619768)\text{ng/ml}$ 、AFP-L3 $41(0.5-87.8)\%$ 、DCP $1,585(10-414,500)\text{mAU/ml}$ 、腫瘍径 $8(2-15)\text{cm}$ 、Massive/Nodular $61/55$ 、VP3/4 $88/28$ であった。

2. 生存率

n=116例全体の生存率を図2に示した。6か月生存率は53%、1年生存率は34%、2年生存率は18%であった。病期をマッチさせたHistorical control群(IFN+5FU導入前の患者群より抽出)42例の生存率は6か月40%、1年15%、2年5%であった。IFN+5FU群は、Historical control群と比較して有意に($p < 0.01$)予後を改善した。

3. 生存予測因子

生存に対する多変量解析では腹水の有無と総ビリルビン >2.0 が有意因子となった。腹水があった症例は全体の12%(14/116例)、総ビリルビン >2.0 であった症例は全体の10%(12/116例)であった。これらの症例は6か月生存率がわずかに22%、1年生存率は6%であった。つまり、これらの症例にIFN+5FUを行っても予後の改善は期待できない(図3)。

4. 副作用

約90%の患者に発熱を認めた。これは初回IFN投与後に発現して、多くは自然消退した。その後のIFN後はほとんど認めなかった。またGOTの上昇、白血球減少、血小板数減少を60~80%の患者に認めたが臨床上問題となる症例は認めなかった。G-CSF製剤は一例も使用していない。肝硬変による汎血球減少があり、クライテリア上

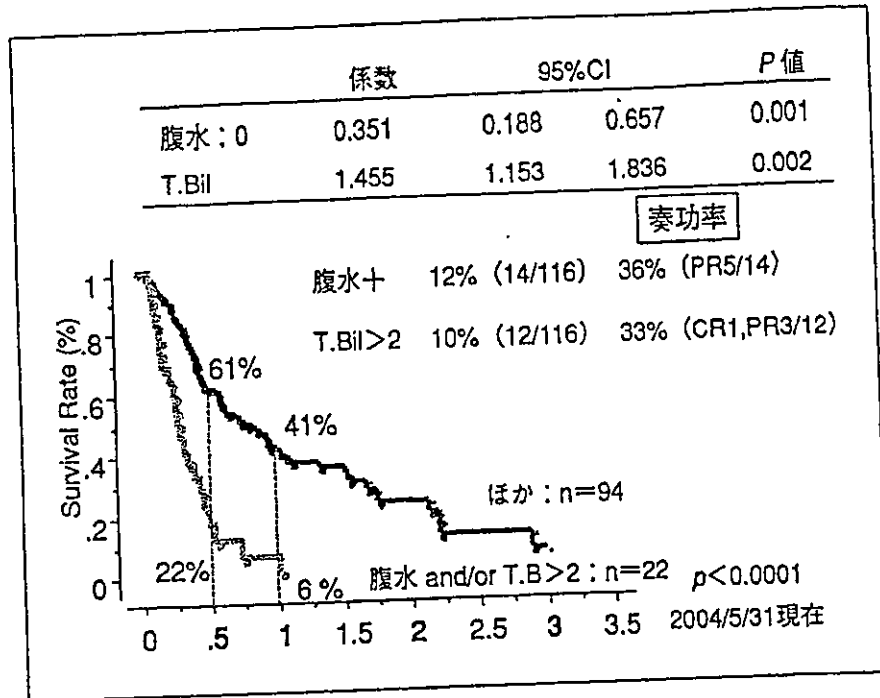


図3 生存に対する多変量解析

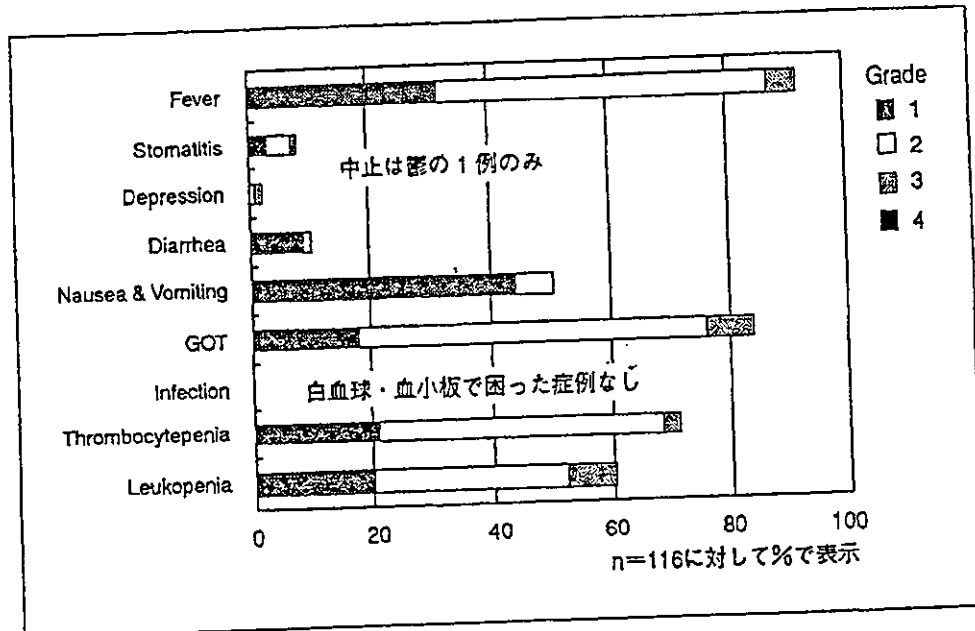


図4 副作用

の問題であることが大多数であった。嘔気・嘔吐を約50%の患者に認めたが、その大部分はグレード1であった。頻度は10%以下と少ないが、口内炎はグレード3が1名、鬱はグレード3が1名あり鬱の1例は治療を中止した(図4)。

5. 効果

116例全体の最終治療効果判定はCR19例, PR42例, SD 2例, PD 53例であった。CR+PRを奏功

とすると奏功率は54% (61/116例), CR率は16% (19/116例)であった(図2)。

6. 効果予測因子

効果予測因子に対しての多変量解析では血小板数<14万が有意因子となって残った。血小板14万以下は全体の62% (72/116例)であったが、これらの奏功率は、65%, CR率は21%に対して血小板数>14万は全体の38% (44/116例)である

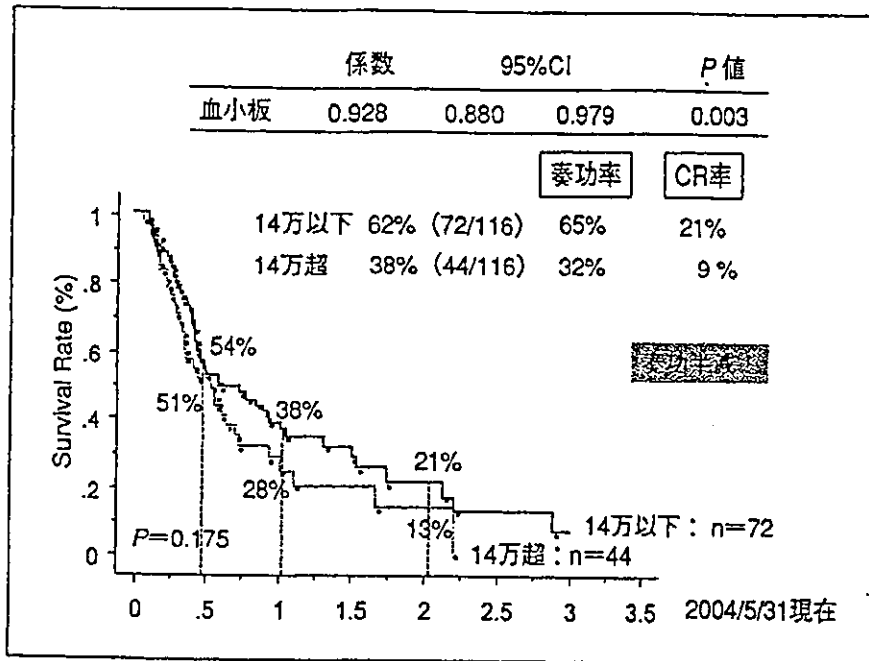


図5 奏功に対する多変量解析

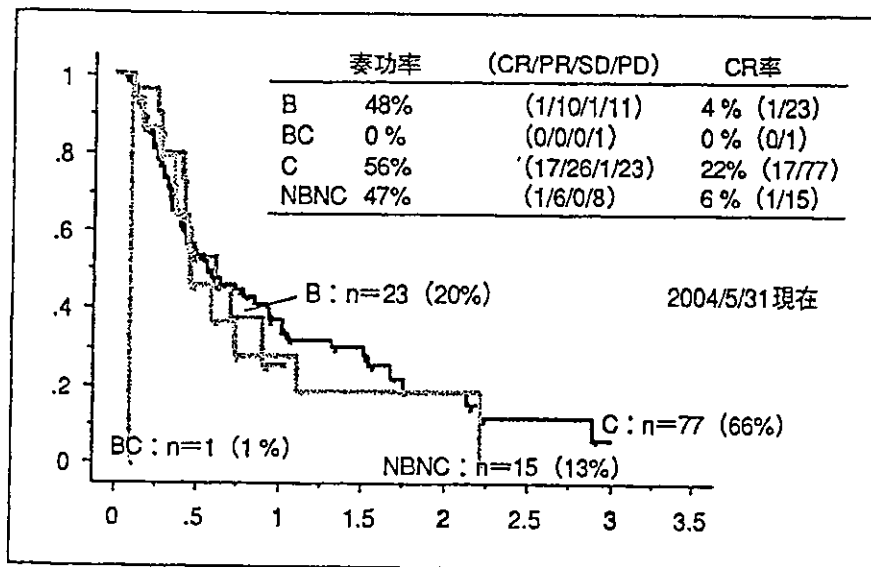


図6 ウイルス別奏効率・生存率

がその奏効率は32%、CR率は9%であり血小板数<14万以下の半数以下の奏効率となった(図5)。

またウイルス別の検討では、生存率に差は認めないものの奏効率ではC型56%に対してB型NBNC型では47%、CR率にいたっては、C型22%に対してB型、NBNC型では5%前後であった(図6)。

7. 早期効果予測

腫瘍マーカーの推移は治療効果を鋭敏に示す

ことができる。治療開始前と治療開始後2週間目の腫瘍マーカーを比較したところ、AFP, DCPともに感度90%、特異度80%で予測が可能であった(図7)。つまり治療開始後わずか2週間にて治療効果予測が安全・簡便・安価にある程度正確に予測可能である。

考 察

116例のphase II studyでは奏効率54%、6か月

AFP > 20 n=97/116 (陽性率84%)				DCP > 40 n=91/116 (陽性率78%)			
奏功	+	-		奏功	+	-	
AFP ↓	45	10	55	DCP ↓	42	10	52
AFP ↑	7	35	42	DCP ↑	6	33	39
	52	45	97		48	43	91
	感度 87%		特異度 78%		感度 88%		特異度 77%

図7 Early(治療後14日)Biochemical Response
治療前後の腫瘍マーカー(陽性率約8割)の推移で、感度90%、特異度80%で効果予測可能。

生存率53%、1年生存率34%であった。予後がきわめて不良な門脈浸潤を伴う肝細胞癌の予後を飛躍的に改善させた。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¹³⁾や癌抗原の発現上昇¹⁴⁾また間接作用として、NK細胞の活性化¹⁵⁾やマクロファージの活性化¹⁶⁾T細胞の活性化¹⁷⁾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¹⁸⁾やFdUMP細胞濃度の上昇¹⁹⁾やTS阻害率の上昇²⁰⁾などが報告されている。しかし、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。予後予測の点で、臨床体験上、IFN+5FU療法開始前後の腫瘍マーカーの推移で少なくともPDとなる症例は開始後2週間で振り分けることができる。

まとめ

IFN+5FU動注化学療法は、門脈浸潤(VP3, 4)を伴う進行肝細胞癌の予後を著明に改善させた。とくに治療前後(14日間)の腫瘍マーカーを比較することによって予後の予測がある程度可能であった。しかし治療前に腹水のある症例や総ビリルビン値>2.0の症例では、予後の改善は期待できない。また血小板数<14万以下の症例で奏功率が高く、ウイルス別ではC型の症例で奏功率が高い傾向があった。今後さらなる解析を進

め、効率よく安全に治療できるように改善し、一人でも多くの患者を助けたいと考えている。

文 献

- 1) Makuuchi M, Hasegawa H, Yamazaki S. Ultrasonically guided subsegmentectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 161: 346-50.
- 2) Shiina S, Tagawa K, Niwa Y, et al. Percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma; result in 146 patients. *Am J Roentgenol* 1993; 160: 1023-8.
- 3) Takayasu K, Shima Y, Muramatsu Y, et al. Angiography of small hepatocellular carcinomas: analysis of 105 resected tumors. *Am J Roentgenol* 1986; 147: 525-9.
- 4) Koike Y, Shiratori Y, Sato Shinpei, et al. Des-γ-carboxy prothrombin as a useful predisposing factor for the development of portal venous invasion in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 561-9.
- 5) Chen SC, Lian SL, Chang WY. The effect of external radiotherapy in treatment of portal vein invasion in hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; 33 Suppl: 124-7.
- 6) Ando E, Tanaka M, Yamashita F, et al. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis. Analysis of 48 cases. *Cancer* 2002; 95: 588-95.

- 7) Sakon M, Nagano H, Dono K, et al. Combined intraarterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon- α therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 2002 ; 94 : 435-42.
- 8) 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* 1998 ; 55 : 39-47.
- 9) Wadler S, Schwartz EL, Goldman M, et al. Fluorouracil and recombinant alpha-2a-interferon : An active regimen against advanced colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 1989 ; 7 : 1769-75.
- 10) Patt YZ, 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* 1993 ; 72 : 2574-82.
- 11) Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982 ; 5 : 649-55.
- 12) Irie T. Intraarterial chemotherapy of liver metastasis : implantation of microcatheter-port system with use of modified fixed catheter tip technique. *J Vasc Interv Radiol* 2001 ; 12 : 1215-8.
- 13) Kimchi A. Cytokine triggered molecular pathways that control cell cycle arrest. *J Cell Biochem* 1992 ; 50 : 1-9.
- 14) Guadagni F, Schlom J, Johnston WW, et al. Selective interferon-induced enhancement of tumor-associated antigens on a spectrum of freshly isolated human adenocarcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1989 ; 81 : 502-12.
- 15) Ortaldo JR, Mantovani A, Hobbs D, et al. Effects of several species of human leukocyte interferon on cytotoxic activity of NK cells and monocytes. *Int J Cancer* 1983 ; 31 : 285-9.
- 16) Uno K, Shimizu S, Ido M, et al. Direct and indirect effects of interferon on *in vivo* murine tumor cell growth. *Cancer Res* 1985 ; 45 : 1320-7.
- 17) Brinkmann V, Geiger T, Alkan S, et al. Interferon alpha increases the frequency of interferon gamma-producing human CD4⁺ T cells. *J Exp Med* 1993 ; 178 : 1655-63.
- 18) Schwartz EL, Hoffman M, O'Connor CJ, et al. Stimulation of 5-fluorouracil metabolic activation by interferon-alpha in human colon carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992 ; 182 : 1232-9.
- 19) Horowitz RW, Heerdt BG, Hu X, et al. Combination therapy with 5-fluorouracil and IFN-alpha2a induces a nonrandom increase in DNA fragments of less than 3 megabases in HT29 clon carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1997 ; 3 : 1317-22.
- 20) Wadler S, Schwartz EL. Antineoplastic activity of the combination of interferon and cytotoxic agents against experimental and human malignancies : a review. *Cancer Res* 1990 ; 50 : 3473-86.

* * *

0-31 ラジオ波治療による肝機能悪化の予想—
CT volumetry を用いた Prospective Study—

小池 幸宏¹、国又 肇²、近藤 祐嗣³、外川 修³、瀬戸 元子³、井野辺 恵¹、杉本 貴文¹、阿江 太佳子¹、椎名 秀一郎³、小俣 政男³、川瀬 建夫¹

関東中央病院消化器内科¹、関東中央病院²、東京大学³

【目的】ラジオ波焼灼療法(RFA)の普及により、より大きな肝癌(HCC)に対する焼灼が可能となってきたが、局所治療の本来の利点である肝機能温存という視点がややもすると見失われがちである。当院ではHCCに対するRFAの非癌部焼灼容量及び治療前後の残肝容量と、肝機能推移に関するprospective studyが進行中であり、その中間報告を行いたい。

【方法】02年1月から03年8月までに関東中央病院でHCCに対してRFAが施行された164症例中、重複症例74例、姑息的治療が行われた14例、術前にTAEが施行された8例、術後のCT未施行の3症例を除く65症例を対象にした。これらの症例をChild Pugh(CP)scoreにてCP A 50症例と、CP B/C 15症例に層別化し、RFA前後の非癌部肝容量、非癌部焼灼率をCT volumetryにより求めた。また、RFA前、後3ヶ月のCP scoreを計算した。術後3ヶ月以内の死亡、CP stageの悪化、CP score 2点以上の上昇を肝機能悪化と定義し、肝容量及び焼灼率と肝機能悪化の関連をChi-square testにて評価した。

【成績】術前肝容量及び焼灼率はCP A群、CP B/C群でそれぞれ1076±256ml vs 897±194ml、1.7±1.6% vs 2.3±1.4%であった。術後3ヶ月目までにCP A群で6例、CP B群では4例に肝機能の悪化が起こった。CP A群では術前肝容量1000ml未満の症例で肝機能低下が起こりやすい傾向(P=0.09)があったが、焼灼率では差は認められなかった。CP B/C群では術前低肝容量(900ml未満、P=0.12)及び焼灼率が2%を超える(P=0.21)症例で肝機能悪化が起こる傾向が見られた。

【結論】術前の非癌部肝容量が小さい症例では術後肝機能悪化の危険性が高く、特にCP B/C症例では焼灼率の増加により肝機能悪化が起こる傾向が認められた。B/C症例の肝容量を900mlと仮定すると、3cmを超える病変に対して0.5cmのsafety marginにて焼灼を行うことで焼灼率が2%を超えるため、肝機能低下の危険性が大きくなる。B/C症例における大型肝癌のRFAに際しては肝機能低下に対するよりいっそうの注意が必要である。

0-32 門脈浸潤(VP3、VP4)を伴う進行肝細胞癌に対するIFN併用5FU動注化学療法の有用性101例の経験

小尾 俊太郎¹、椎名 秀一郎²、小俣 政男²

杏雲堂病院肝臓科¹、東京大学医学部消化器内科²

【背景】門脈浸潤を伴う肝細胞癌の予後は極めて不良である。当科における検討ではVP4で対症療法の場合、50%生存は6ヶ月、1年生存率は0%であった(小池ら肝臓39巻1998)。IFN併用5FU療法は、Wadlerら(Clin Res 1988; 36)によってColon cancer cell lineで有効性が報告されて以来、Pattら(Cancer 1993; 72)によって肝細胞癌での有効性が初めて報告され、左近ら(Cancer 2001; 94)によって8例のpilot studyが報告された。

【目的】門脈浸潤(VP3、VP4)を伴う進行肝細胞癌症例に対するIFN併用5FU動注化学療法の成績を、100例を越す症例で検討することを目的とした。また進行度をmatchさせた、42例のhistorical control群と予後を比較した。

【方法】門脈浸潤を伴う進行肝細胞癌101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以外は繰り返し治療した。治療効果判定はEastern Cooperative Oncology Group Criteria(Am J Clin Oncol 1982; 5)に従った。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にて積極的に治療した。またPDとなった症例でも肝機能が許す限りRegimenを変更し積極的に治療した。これらの症例と、進行度をmatchさせた42例のcontrol群を比較した。

【成績】平均1.5(1-6)クール施行した。CR 15/101例(15%)。奏功率はCR+PR/全例とすると48/101例48%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った。重篤な副作用は認めなかった。CR15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。またCR後の経過観察中7/15例で再発した。3/7例はRFA、2/7例はTAEを施行、2/7例は遠隔転移で死亡した。IFN+5FUを施行した全体101例の生存率をControl群と比較すると、6ヶ月生存率は52% vs 33%、1年生存率は37% vs 19%であり飛躍的に改善した(p=0.001)。

【結論】IFN併用動注化学療法と追加治療によって、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。