

がん活性。第65回日本癌学会学術総会（横浜）

4. 吉田光二、松井祐樹、五十嵐美德、若杉尋。
PKCβIIを発現させたHLE細胞におけるグニディマクリンのp21発現誘導を介したCdc2の活性化と発現の抑制によるG2期停止。第65回日本癌学会学術総会（横浜）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

泌尿器科がんに関する新しい手術法の開発に関する研究

分担研究者 藤元博行 国立がんセンター中央病院泌尿器科医長

研究要旨

前立腺周囲を広汎に切除する広汎前立腺全摘を確立。術前内分泌療法などの補助療法を行わず、この手術を施行した症例に対して短期成績として切除断端の状況を確認したところ、精嚢浸潤、あるいはリンパ節転移を認めない症例では十分完全切除が可能と判明した。また前立腺尖部をさらに高いレベルでの処理を行えば、より良好な治療成績が期待できるとおもわれた。

A. 研究目的

これまで局所進行前立腺癌に対して術前内分泌療法を施行した後、前立腺周囲を広汎に切除する前立腺広汎全摘を確立し、安全性を確認するとともに、局所進行癌に対しても根治が期待できる可能性のある治療法であることを確認してきた。一方でこの手術の限界は精嚢浸潤とリンパ節転移にあることもこれまでの検討で明らかになった。本年度はさらに術前内分泌療法を施行せず、治療成績を検討した。

B. 研究方法

神経温存を望まない局所前立腺癌に対して広汎前立腺全摘を施行した。術中リンパ節転移が認められた場合にはこのような high risk 群では手術療法による根治は望めず、この段階で手術は中止とした。また症例は病理結果の如何に関わらず高感度 PSA による経過観察のみが施行された。短期成績として切除断端の状態を確認した。

（倫理面への配慮）

前立腺の局所治療として放射線治療が

あるが、この広汎全摘により仮に再発を来した場合でも放射線治療は可能である。逆に放射線治療のあとには手術療法は不可能である。前立腺全摘における術後副作用は近年では格段に改善しており、手術療法を先行されることによるデメリットは無視できる状況と考えられる。また術前内分泌療法による治療成績の向上は否定されている。症例に対してはすべてこのようなメリット・デメリットを informed され、同意の後に手術は施行された。

C. 研究結果

術前内分泌療法を中止し、広汎前立腺全摘単独成績を検討した。2006年1月から12月までの期間に57例に対して広汎前立腺全摘が単独治療として施行された。切除断端陽性は13例(22.8%)に認めた。断端陽性の部位は前立腺尖部が6例で約半数をしめた。他は精嚢あるいは膀胱頸部での断端陽性であった。前立腺尖部で陽性となった症例はpT2:2人であり、それ以外の断端陽性例は1人がpT3b、他はすべてpT4であった。逆にいえば前立腺尖部での断端陽性2

症例以外の pT2 あるいは pT3a 症例はすべて断端陰性で摘出されていることになる。一方、術前内分泌療法を施行されたのち、広汎前立腺全摘が施行された症例 349 例のうち、断端陽性は 27 例 (7.74%) であり、断端陽性率は内分泌療法を施行しなかった症例群が高くなった。

D. 考察

今回の検討で術前内分泌療法を施行しないことによって切除断端陽性率は上昇した。この事態を持って術前内分泌療法を施行した方がよいという結論にはならない。術前内分泌療法を施行され、摘出標本での良好な病理結果が必ずしも治療成績に結びつかず、その原因について解明が必要であった。今回の分析を通じて、前立腺尖部の処理をより確実に施行する必要がある。これまでの術前内分泌療法後の広汎前立腺全摘においては前立腺自体が縮小することもあり、逆説的に前立腺と尿道の移行部や腫瘍の存在部位が術中判定しにくいのではとの印象がある。尖部の処理をさらに確実にすることができれば治療成績はさらに向上することが期待できるのではと思われた。

E. 結論

局所前立腺癌に対する広汎前立腺全摘は精囊浸潤のない、あるいはリンパ節転移のない症例に対しては完治が期待できる治療法であり、前立腺尖部をさらに高いレベルでの処理を行えば、より良好な治療成績が期待できる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 藤元博行：非神経温存前立腺広汎切除術

における排尿機能. Urology View 5(2): 51-57, 2007.

2) 藤元博行：外科治療. 前立腺癌診療ガイドライン 2006 年版, 75-120, 金原出版, 東京, 2006.

3) 赤倉功一郎, 鈴木啓悦, 井坂茂夫, 秋元晋, 伊藤晴夫, 市川智彦, 齋巢賢一, 藤元博行, 古武敏彦, 前田修, 宇佐美道之, 岡田清巳, 平野大作, 蜂矢隆彦, 滝本至得, 吉田修, 賀本敏行, 荒井陽一, 小川修, 住吉義光, 大橋靖雄, 垣添忠生, 島崎淳: 局所進行前立腺癌に対する根治的前立腺摘除術+内分泌療法と放射線外部照射+内分泌療法とを比較する無作為化比較試験の長期成績. 泌尿器外科 19(8): 967-969, 2006.

4) 藤元博行: 7-泌尿器科手術と解剖骨盤内手術(前立腺全摘除術, 膀胱全摘除術) 膀胱全摘除術[女性]. 新泌尿器科手術のための解剖学, 156-163, メジカルビュー社, 東京, 2006.

2. 学会発表

1) 藤元博行: 広汎前立腺全摘. 第2回徳島前立腺癌フォーラム, 2006.

2) 藤元博行: 局所進行前立腺癌の治療(病期C前立腺癌の治療選択). (卒後・生涯教育プログラム). 第94回日本泌尿器科学会総会, 2006.

3) 藤元博行: 広汎前立腺全摘. 2006九州前立腺癌講演会, 2006.

4) 藤元博行: いわゆる high risk 群に対する広汎前立腺全摘除術の治療成績と再発危険群に対する術後補助療法の検討. 日本放射線腫瘍学会 小線源治療部会第8回研究会, 2006.

5) 藤元博行: 広汎前立腺全摘除術. 奈

良泌尿器科手術手技研究会，2006.

- 6) 藤元博行：前立腺全摘における確実な切除と吻合．第40回泌尿器科手術手技関東地区研究会，2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

胃がんの進行度に適した手術療法の開発

分担研究者 笹子 三津留

国立がんセンター中央病院副院長

研究要旨

胃の中央部に発生した早期胃がんに対する幽門保存胃切除の利点を胃体中部あるいは上部に生じる胃がんに対して応用し、分節胃切除として行うことの妥当性を検討した。2001年から2005年までに国立がんセンター中央病院で幽門保存胃切除を受けた467例を対象に、残存幽門長別（A：2.5cm以下、B：2.6cm以上5cm以下、C：5.1cm以上の3群）に、臨床的腫瘍の特性、アンケート調査の結果などを比較検討した。術後在院日数では残存胃長2.5cm以下で最も長かった。術後短期での胃内容排出遅延を示す症例の頻度は残存幽門洞長が長くなるに従い増加したが有意ではなかった。長期的な症状発現には有意差はなかったが、体重減少は近位残胃が小さく、残存幽門長が長いC群で有意に大きかった。この体重減少の原因が残存幽門長が長いことにあるのか、近位の残胃が小さく胃体部から分泌されるグレリン量（食欲増進機能を持つホルモン）が大きく減少することによるのか、など今後検討していく必要がある。

A. 研究目的

胃の中央部に発生した早期胃がんに対する幽門保存胃切除の利点は、ダンピング症状と体重減少の軽減と考えられる。胃体中部上方に生じた胃がん治療においては、幽門保存胃切除として幽門前庭部を3-4cmしか残さない場合には、残胃容積過小のため摂食に大きな問題を生じることが知られている。このような病変に対して、幽門前庭部を長く残して分節胃切除として行うことの妥当性を検討することが本研究の目的である。

B. 研究方法

2001年から2005年までに国立がんセンター中央病院胃外科グループにて手術を受けた患者のうち、幽門保存胃切除術を受け、アンケートに回答した患者467例を対象とする。幽門残存長（cuff-length：CL（cm））によりA群：CL≤2.5、B群：2.5<CL≤5.0、C群：CL>5.0の3群に大別し、短期機能評価については手術時患者情報、手術所見、術後合併症、在院日数、胃管留置期間、経口摂取開始日、病理所見等を評価し、長期機能評価については対象に対するアンケート調査により行った（回収率90.8%）。（本研究に用いたアンケートの妥当性については日本消化器外科学会の術後ダンピング症状に関するアンケートとして提唱。）回答用紙は患者に郵送し、各症状につき発生頻度を目安に回答いただいた。質問項目は1.早期ダンピング（18項目）、2.後期ダンピング（5項目）、3.胃内容排出

（9項目）の計32項目、およびその他の項目として手術に対する満足度、食事量、便秘、異常放屁に関する質問5項目とした。回答選択枝は（0）ほとんどない：時々より頻度が少ないかない、（1）時々ある：2ヶ月に1回以上、週2回より少ない、（2）しばしばある：2-3日に1回以上、の3つ選択枝より選択し、3群間の比較は「しばしばある」の頻度を計算した。統計学的手法としてone-factor ANOVA、Kruskal-Wallis test、 χ^2 二乗検定を用いて解析を行った。

（倫理面への配慮）

本アンケート調査については、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得て実施した。無記名回答で、回答の自由が説明され、回答者すなわち研究への同意者という説明で実施されたものである。

C. 研究結果

患者背景：A群、B群で男女比はほぼ2：1であったのに対して、C群では性差が少ない傾向にあったが、統計学的有意差はなかった。占拠部位は、M領域の腫瘍が約9割と多数を占め、U領域を主とする胃上部の腫瘍切除例は8例あり全体の1.7%であった。B群では1.3%（4/318）に対してC群では7.8%（4/51）を占めた（Table 1）。その他、年齢、BMI、癌数、肉眼型、術前深達度・リンパ節診断の分布に差はなかった。

臨床病理学的特徴：深達度別にみると、全症例の6.7%（31/467）がmp以深であり、A群；4.1%（4/98）、B群；6.9%（22/318）、C群；9.8%（5/51）と幽門前庭部の距離に比例して割合が高くなる傾向があっ

た。またリンパ節別にみると、全症例の9.0% (42/467) が転移陽性であり、A群; n1-5.1%, n2-2.0%、B群; n1-9.6%, n2-1.3%、C群; n1-3.9%, n2-2.0%であった。病期別にみると、PPGが施行されたcT1N0の467例中、397例がfStageIAであり、ステージ正診率は85.0%と良好であった。3群でそれぞれ、fStageIbがA群; 9.2%、B群; 15.4%、C群; 7.8%、fStageII以上がA群; 2.0%、B群; 2.4%、C群; 5.9%であった (Table 2)。

短期成績: 手術時間は残存幽門長が長くなるに従って、延長する傾向があり統計学的にも有意であった。在院日数はA群で有意に長かった。その他、出血量、胃管抜去日、経口摂取開始日に差は無かった。術後合併症の頻度は低く、手術関連死亡はなかった。また、幽門保存胃切除において最大の愁訴となる鬱滞症状はA群; 3.1%、B群; 5.7%、C群; 7.8%と残存幽門長が長くなるにつれて、割合が高くなる傾向があったが、統計学的有意差は認めなかった (Table 3)。

長期成績: 質問32項目中早期ダンピングの腹部症状である”腹部不快感”の1項目で有意差を認め、A群で少なかった (1.2%)。術前体重と比較した現在の体重との比較についてはC群で有意に低かった (88.4 kg ± 7.7)。その他、眠気、腹鳴、腹部膨満感、食事摂取量で偏りがあったが有意差は無かった (Table 4)。

D. 考察

PPGは胃癌ガイドラインが推奨するところのcT1N0症例に限定した治療として施行されており、1995年より当院で施行されたPPG600余例は、推奨範囲内において根治性が保たれている事を第2回班会議において報告した。幽門上リンパ節 (No5) は、神経温存と血流の問題で郭清しないが、当院ではD2-No5のリンパ節郭清を行うことで、現在までのところ、諸家の報告する早期癌の予後とほぼ同様の結果を得ている。今後の問題点は、胃体上中部に発症した高位の早期胃癌に対する適応拡大が可能か否かがあげられる。対象症例の短期機能評価では、3群間に手術時間を除いては有意な差はなく、PPG最大の愁訴といわれる術後早期に発症する鬱滞症状は、CLの距離に比例して若干割合が増加する傾向があったが有意差はなかった。その他の合併症は全て低率であり、死亡率は0%であった。(A群において在院日数が有意に延長しているのは、手術時期が2001年から2003年に集中しており、同時期のクリニカルパスが現在と異なっているためと考える。また、C群で後出血が2例あるがいずれも超音波凝固切開装置の不具合によるもので、手術手技や術式そのものとの関連は無いと推察する。) 幽門前庭領域の血流を保全するために、幽門下動静脈は原則的に温存するが、精確かつ微細な手術操作が必要であり、残存幽門部が長ければ手術時間をさらに要することになるため、幽門領域を支配する血管の解剖学的位置関係を十分に理解し、手術手技を研鑽していくことは今

後も継続して必要である。

また長期機能評価としてのアンケートによる症状評価で生じた差は、年度別の手術件数が偏っていることに一因があると考えられる。1995年のPPG導入当初に施行した症例には合併症が多く発生し、オリジナルの1.5cmで切除した場合には術後内視鏡観察では残存幽門の領域が極めて狭く吻合線と幽門輪が近接している。本来、胃の排出機能を保つためにはある程度の容量をもって幽門部が収縮することが必要であるために幽門輪からの距離を最低2.5cm確保するようにした経過がある。A群で施行された手術のほとんどは2003年までの症例であり2004年以降は僅かに2例のみであった。一方、B・C群の半数が2004年以降の手術であり (Table 5)、術後1ないし2年でのアンケート回答となったため、症状が固定化するまでのfollow up期間が短かった事が差となって現れたと考えられる。解析期間を2003年までの症例に限定すると、前述した項目に関しては体重変化を除いては、3群間に有意差は認められなかった。

最後に、正確な消化管の運動評価には、術後に限定して一方向性に評価するだけでなく、術前のアンケート回答あるいは造影・ラジオアイソトープなどを使用した検査^{6,7)}を用いて比較検討していくことも今後必要と思われる。また、体重に関しては、術後残胃から分泌されるグレリンのレベルに影響を受けている可能性もあり、同ホルモンの測定や近位の残胃が同じ程度の幽門側胃切除症例との比較検討を行う必要がある。

E. 結論

胃体部の早期胃癌に対する幽門を温存する術式は、症例は選択すれば良好な結果を得られると思われるが、病変の位置で規定される残胃の大きさや術前グレリン分泌能など、術前に得られる情報から症例を選択する基準を作成していく必要があると思われる。また、胃体部の高い位置にある病変に関する治療選択を前向きに比較する研究等も必要と思われる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Etoh, T, Sasako, M, Ishikawa, K, Katai, H, Sano, T, Shimoda, T: Extranodal metastasis is an indicator of poor prognosis in patients with gastric carcinoma. British Journal of Surgery, 93: 369-373, 2006.
- 2) Yoshikawa, T, Sasako, M, Sano, T, Nishimoto, A, Kurita, A, Tsujinaka, T, Tanigawa, N, Yamamoto, S, for the Gastric Cancer Surgical Study Group of the Japan Clinical Oncology Group: Stage migration caused by D2 dissection with para-aortic lymphadenectomy for gastric cancer from the results of a prospective randomized controlled trial. British Journal of Surgery, 93: 15

26-1529, 2006.

- 3) Sakamoto, Y, Sano, T, Shimada, K, Esaki, M, Saka, M, Fukagawa, T, Katai, H, Kosuge, T, Sasako, M: Favorable indications for hepatectomy in patients with liver metastasis from gastric cancer. Journal of Surgical Oncology, 2007.

2. 学会発表

- 1) Sasako, M: Extent of Lymphadenectomy in Gastric Cancer: Have we Finally Come to a Consensus? 2007 Gastrointestinal Cancers Symposium (ASCO-GI) / Multidisciplinary Approaches to the Prevention, Diagnosis, and Therapy of GI Cancers, Orlando, U.S.A., 2007. 1.
- 2) Yoshikawa, T, Sasako, M, Sano, T, Yoshimura, K, Fujiya, T, Fukushima, N, Tanaka, Y, Yamamura, Y, Tanemura, H, Furukawa H; The Gastric Cancer Surgical Study Group of JCOG, Tokyo, Japan: A phase II study of preoperative chemotherapy with irinotecan and cisplatin followed by gastrectomy with D3 dissection for gastric cancer with extensive lymph node metastasis: Final results of JCOG0001. 2007 Gastrointestinal Cancers Symposium (ASCO-GI) / Multidisciplinary Approaches to the Prevention, Diagnosis, and Therapy of GI Cancers, Orlando, U.S.A, 2007. 1.

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告書

分担研究課題：進行大腸がんの治癒率改善を目指した外科治療の研究

分担研究者：国立がんセンター中央病院 特殊病棟部長 森谷 宜皓

研究要旨

長期生存が期待できる唯一の治療法は再発巣の完全切除である。骨盤壁固定型（fixed recurrent tumor: FRT）の再発に対し仙骨合併骨盤内臓全摘術（total pelvic exenteration with distal sacrectomy: TPES）を積極的に採用した。48例を対象として、再発腫瘍を取り囲む線維化の程度を3群に分類し（f分類）、脈管侵襲などの病理学的因子、術前CEA値、仙骨切断レベルとの遠隔成績に及ぼす関係を検討した。f0、f1、f2の症例はそれぞれ10例（21%）、17例（35%）、21例（44%）であった。5年生存率はf0:0%、f1:52%、f2:74%であった。f0群の遠隔成績はf2群と比較すると有意に不良であった（ $p=0.003$ ）。F分類をf0+f1群とf2群に2分すると単変量解析では、仙骨切断レベル（ $p=0.036$ ）とリンパ管侵襲（ $p=0.031$ ）、およびf分類が有意な予後因子であった。多変量解析では術前CEA値（ $p=0.044$ ）およびf分類（ $p=0.031$ ）が独立した予後規定因子であった。再発腫瘍を完全に取り囲む線維化を認めるf2症例では、R0手術により良好な予後が期待できる。

A. 研究目的

直腸癌局所再発は難治がんの一つで、長期生存が期待できる唯一の治療法は再発巣の完全切除である。局所再発には吻合部断端再発や単発骨盤内リンパ節再発などの骨盤壁非浸潤性再発から仙骨など骨盤壁や前方隣接臓器に浸潤を来たした骨盤壁固定型（fixed recurrent tumor: FRT）の再発まで骨盤内における広がりには著しい幅がある。同時にこれらの局所進展状況に遠隔転移の有無が加わり、手術適応そのものを複雑にする。手術適応があれば再発巣の発育進展様式に見合った術式が採用されなければならない。これらのうちFRTに対し当該骨盤壁を積極的に合併切除する仙骨合併骨盤内臓全摘術（total pelvic exenteration

with distal sacrectomy: TPES）を積極的に採用してきた。本術式は過大な手術侵襲に加え、人工肛門、人工膀胱造設を伴うためダブルストーマでの生活を余儀なくされるなどの理由により評価は必ずしも確立していない。そこで手術侵襲度、合併症率、遠隔成績、摘除材料の病理組織学的検討、術後補助療法の開発を行い、FRTに対するTPESの意義を確立することを目的とする。

B 研究方法

1992年から2005年に局所再発直腸癌に対してR0切除が行われた仙骨合併骨盤内臓全摘術（TPES）を行った48例を対象として、再発腫瘍を取り囲む線維化の程度を病理学的に次の3群に分類し（f分類）、脈

管侵襲などの病理学的因子、術前 CEA 値、仙骨切断レベルとの遠隔成績に及ぼす関係を検討した。:線維化を認めないもの (f0), 部分的に線維化を認めるもの (f1), 線維化が腫瘍を完全に取り囲むもの (f2)。

術中出血量の減少と骨盤死腔炎などの合併症減少を目的として、TPES を行った一例一例を手術手順の面から検討し、骨盤内静脈系の鬱血を回避する手術手順を検討した。

倫理面への配慮

TPESは超拡大手術の範疇に入る。また術後はダブルストーマを持ち生活することになる。したがってインフォームドコンセントには多くの時間を割当、かつ分かり易い言葉で、家族の同席のもとに手術や合併症の内容とその対応策、遠隔成績を説明した。自己決定権が行使できる環境を患者および家族に提供するため、拡大手術以外の、例えば放射線化学療法や集学的治療法などについても、知りうる限りの情報を与えるように努めた。そして、最近ではこの術式に対して患者の強い希望がある症例のみを手術適応としている。

C. 研究結果

f0、f1、f2の症例はそれぞれ10例(21%)、17例(35%)、21例(44%)であった。5年生存率はf0:0%、f1:52%、f2:74%であった。f0群の遠隔成績はf2群と比較すると有意に不良であった($p=0.003$)。F分類をf0+f1群とf2群に2分すると単変量解析では、仙骨切断レベル($p=0.036$)とリンパ管侵襲($p=0.031$)、

およびf分類が有意な予後因子であった。多変量解析では術前CEA値($p=0.044$)およびf分類($p=0.031$)が独立した予後規定因子であった。再発腫瘍を完全に取り囲む線維化を認めるf2症例では、R0手術により良好な予後が期待できる。

骨盤内静脈系鬱血を回避する手術手順は内腸骨動脈本幹の結紮処理を先行し、ついでSantorini静脈叢のbunching techniqueを用いた処理、上下殿動静脈など骨盤壁貫通枝の処理、そして最後に内腸骨静脈本幹の結紮切離を行う手順を確立した。血管合併切除によりlateral clearanceの程度向上も得られる。1992年までの前期(N=18)と後期(1993年から2006年)までの症例で比較すると術中出血量は4229mlから1900mlと有意な減少が得られた。1,000ml以下で手術可能であった症例も数例経験された。

本術式ではdouble stomasでの生活となりQOLの低下が危惧される。しかし、原発巣手術後再発宣告やTPESなどの拡大手術を経験したこのpopulationでは必ずしも、double stomasはQOLの低下に結びつかず、長期生存例の多くは職場復帰し、生活は満足と答えている。

D 考察

2015年には大腸癌は発生頻度で第一、死亡率で第二位になると予想されている。うち難治がんとみなされている骨盤内局所再発癌は年間1万人余りがわが国において罹患すると予測される。局所再発癌の中でも遠隔転移がなく骨盤壁に浸潤する局所再発癌(fixed recurrent tumor、FRT)の治療が最も難しく、治療法は確立していない。

FRT は疼痛を伴い患者を長期にわたり QOL 不良の状態に置く。拡大手術としての TPES の独創的な点は骨盤壁浸潤癌に対する手術適応と安全で合理的な手術法の開発を行うことである。根治性の高い合理的な治療法が確立されればその意義は極めて大きく局所再発直腸癌治療成績の向上が期待できる。

放射線治療や化学療法の単独治療では QOL や生存率の向上の報告はこれまでない。欧米からは術前化学放射線治療を行い、次に切除+開創照射 [IORT]、その後更に化学療法や放射線を行う集学的治療に関するもの報告が多い。この戦略の底流には化学放射線治療のみでは十分な抗腫瘍効果は期待できないが IORT を併用することにより最大線量が照射でき、再発巣のみの限定した切除で、骨盤壁の合併切除を伴う拡大手術に見合った治療効果を期待しようとする考え方がある。IORT の利点は、分割外照射 2-3 倍に匹敵する抗腫瘍効果が得られ、かつ周囲正常組織への放射線障害を極力避け、再発巣のみに正確に最大線量を照射できることである。つまり外照射の dose limitation を IORT でカバーし局所制御に必要な 60-70 Gy の照射が可能である。Mayo Clinic から 123 例の局所再発癌患者を IORT と手術で治療し、3 年生存率 39%、5 年生存率 20%であったと報告されているが、化学放射線治療集学的治療を用いた欧米の報告はこのように決して良好なものとは言えず、生存率を有意に改善するような有効性の高い切除以外の治療法は未だ確立していない。集学的治療を行うに当たっても key word は病巣の完全切除である。

TPES などの局所再発癌に対する拡大手術

に果敢にチャレンジした外科医は Wanebo で、1999 年に 53 例を報告したが、手術死亡率は 8%、出血中央値は 8000ml 以上で、手術時間の中央値も 20 時間前後で、手術侵襲と遠隔成績から見て許容できる術式とは言いがたい。成績不良の理由は S1, S2 などの高位仙骨切断が 60% を占めるなど適応の拡大にある。一般に骨盤内再発癌に対する切除は初回手術に比較し難度の高い内容となるが、その原因は骨盤内の癒痕形成である。欧米のシリーズでは全例術前放射線治療が行われ、照射を原因とした繊維化が起り、これが手術侵襲の増加になる。しかし、米国の手術事情から判断すると初回手術は total mesorectal excision (TME) かそれ以下の縮小手術が行われているため照射による繊維化はあるものの手術による癒痕はなく手術野は処女地である。一方、我々のシリーズでは、初回手術として TME 以上の拡大手術が行なわれており、骨盤内は術後癒痕組織に覆われ、解剖学的指標の認識において、経験的には照射による繊維化以上の困難さがある。加えて、約半数において術前照射も行われており、こうした照射+郭清例においては厚い癒痕組織のため手術の遂行は極めて困難になる。従って、Wanebo 報告と我々の手術侵襲の差の原因は手術適応に求めることができる。我々は高位再発癌を手術適応から除外している。TPES における仙骨切断レベルの上限を S2 下縁までとし、両側の第 2 仙骨神経は温存している。その結果 TPES 術後の QOL は Double stomas での生活と仙骨神経切除に伴う一時的疼痛以外は極めて良好で、元の職場への復帰が可能であった。再々発様式をみると肺転移が多いことが特徴である。

この肺再発防止策が TPES 成績向上にとって重要となる。5-FU が唯一の効果的な抗がん剤であった 20 年前と比較すると今日、多く有効な抗がん剤 (CPT-11, Capecitabine, Oxaliplatin) が開発された。したがって、局所制御率向上のためには骨盤壁の合併切除と IORT の併用の工夫が、肺転移再発抑制のためには強力な再発癌術後補助療法の開発が不可欠である。

surgeon-related factors が再発癌の外科治療には原発癌以上に重みを持つと考えられている。従って、TPES は “experienced complex-treatment team” の構成が可能なセンター病院で行うべき手術である。切除標本の肉眼形態は予後を良く反映していることが判明した。肉眼形態と術前 MRI 画像所見が相関すれば術前 staging の一助となると考えられた。予後を反映した術前 staging が確立すれば治療法の選択特に手術適応に関する基盤となる。

局所再発癌に対する TPES は経験と技術が必要なため普及はしていない。これまで、“FRT に対する TPES の有効性” に関する講演依頼はイタリア、韓国、マレーシア、フィリピンなどからあった。手術侵襲、遠隔成績のみでなく映像で手術法の詳細を提示するなかで、根治を得るための合理的術式であることが理解されつつあると考える。

E. 結論

現時点で局所再発に対し根治が期待できる治療法は再発巣の完全切除である。仙骨合併骨盤内臓全摘術は症例の経験と共に出血量の減少など good learning curve を得ることが出来、かつ再発巣の R0 率は 85% と高率で安全性の高い術式となった。再発腫

瘍を取り囲む繊維かの多寡と遠隔成績は相関した。更なる成績向上のために術後肺転移に対する化学療法の開発と術前 staging 法の確立が不可欠である。

G. 研究発表

1. Moriya Y. Treatment Strategy for Locally Recurrent Rectal Cancer. Jpn J Clin Oncol 36(3): 127-131, 2006
2. Akasu T, Moriya Y., Ohashi Y, Yoshida S, Shirao K, Kodaira S. Adjuvant chemotherapy with Uracil-Tegafur for pathological Stage III rectal cancer after mesorectal excision with selective lateral pelvic lymphadenectomy: a multicenter randomized controlled trial. Jpn J Clin Oncol 36:237-244, 2006
3. Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Uehara K, Moriya Y. Reduction of prolonged postoperative hospital stay after laparoscopic surgery for colorectal carcinoma. Surg Endosc 20:1467-1472, 2006
4. Fujita S, Baba H, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y., Sugno K. Allelic status of chromosomes 17, 18q, 22p, 3p and their clinical usefulness in colorectal cancer. Anticancer Research 26: 2833-2840, 2006
5. Uehara K, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Moriya Y. Surgical outcomes of laparoscopic vs. Open surgery for rectal carcinoma- A matched case-control study. Hepato-Gastroenterology 53:531-535, 2006

6. Saito N, Moriya Y, Shirouzu K, Maeda K, Mochizuki H, Koda K, Hirai T, Sugito M, Ito M, Kobayashi A. Intersphincteric Resection in Patients with Very Low Rectal Cancer. - A Review of the Japanese Experience - , Dis Colon Rectum 49 Suppl 1:S13-22, 2006
7. Moriya Y. Function-preserving surgery for rectal cancer. Int J Clin Oncol 11: 339-343, 2006
8. Yamamoto S, Yoshimura K, Ri S, Fujita S, Akasu T, Moriya Y. The risk of multiple primary malignancies with colorectal carcinoma. Dis Colon Rectum 49 Suppl 1:S30-6, 2006
9. Ishiguro S, Yamamoto S, Chuman H, Moriya Y. A Case of resected huge ileocolonic mesenteric liposarcoma which responded to pre-operative chemotherapy using doxorubicin, cisplatin and ifosfamide. Jpn J Clin Oncol 36(11)735-738, 2006
10. Ishiguro S, Akasu T, Fujimoto Y, Yamamoto J, Sakamoto Y, Sano T, Shimada K, Kosuge T, Yamamoto S, Fujita S, Moriya Y. Second Hepatectomy for Recurrent Colorectal Liver Metastasis: Analysis of Preoperative Prognostic Factors. Ann Surg Oncol 13:1579-1587, 2006
11. 上原圭介, 山本聖一郎, 藤田 伸, 赤須孝之, 森谷亘皓. 仙骨合併骨盤内臓全摘術 -直腸癌局所再発に対する拡大手術-, 消化器外科 29: 69-76, 2006
12. 上原圭介, 山本聖一郎, 森谷亘皓. インフォームドコンセントのための図説シリーズ (改訂版) - 大腸がん術後のフォローアップの方法 - 医薬ジャーナル社, p.90-92, 2006
13. 上原圭介, 山本聖一郎, 藤田伸, 赤須孝之, 森谷亘皓. 直腸癌 神経部分温存術, 外科 68(1) : 63-67 2006
14. 上原圭介, 山本聖一郎, 藤田伸, 赤須孝之, 石黒成治, 森谷亘皓. 腹会陰式直腸切断術, 手術, 60(6) : 839-844, 2006
15. 太田裕之, 赤須孝之, 込山元清*, 山本聖一郎, 藤田伸, 森谷亘皓. 潰瘍性大腸炎および同時性直腸癌・前立腺癌に対し一期的に根治切除術を施行した1例, 手術 60(7) : 1105-1107, 2006
16. 盛口佳宏, 上原圭介, 藤田伸, 山本聖一郎, 赤須孝之, 森谷亘皓. Linear staplerによるfunctional end-to-end anastomosis後に吻合部再発をきたした結腸癌の2例, 臨床外科 61(9) : 1283-1286, 2006
17. 山口高史, 森谷亘皓, 赤須孝之, 藤田伸, 山本聖一郎. 結腸・直腸の手術 左半結腸切除術, 臨床外科 61 (11) : 155-162, 2006

学会発表

1. 森谷亘皓, 《講演》-きってなおす大腸がん治療-「大腸がんになったらどうする!」, おおいた市民公開講座, 大分 10.6, 2006.
2. Moriya Y. Surgical treatment of hereditary familiar syndromes, Congress SICO. Italy(Turin) 11.17, 2006.

3. Moriya Y. Surgical approach to locally advanced and recurrent rectal cancer. International symposium on Sphincter Surgery for Rectal Cancer. Italy(Milano) 11.18-21, 2006.
4. Moriya Y. Lateral node dissection and autonomic nerve preservation. Plenary Session: Neo-adjuvant chemo-radiotherapy versus radical surgery alone for rectal cancer. Video session: Lateral pelvic lymph node dissection. Video session: Total pelvic exenteration with sacrectomy (TPES). The Asean Society of Colorectal Surgeons(ASCS), Philippine(Manira) 12.3-6, 2006.
5. 森谷亘皓, 《講演》がん治療における外科の役割, 第21がんについて市民公開講演会, 東京 12. 9, 2006.
6. 森谷亘皓, 《講演》 手術療法 (含む疫学), 「医学・医療の今 -がんに挑む- 大腸がん」, 第3回日本医学会公開フォーラム, 東京 12.16, 2006.

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

進行難治がんに関する閉鎖循環を用いた治療法の開発

分担研究者 村田 智 日本医科大学放射線医学

研究要旨

骨盤内悪性腫瘍に対する閉鎖循環下抗がん剤灌流療法（NIPP）の基礎研究および臨床試験を行った。また、肝がんおよび膵がんに対する低侵襲的抗がん剤灌流療法開発の基礎研究を行い、いずれも革新的な治療法の開発に成功した。

A. 研究目的

現在行われている化学療法のdrug delivery system (DDS)は、動脈内投与療法や持続動脈内投与療法等工夫がなされてはいるが何れも薬剤流入路である動脈から抗がん剤を注入し、薬剤流出路は静脈である点は全身化学療法の延長であり投与可能な抗がん剤量はおのずと制限され、有害事象の発現の消失には至っていない。薬剤流入路である動脈と、薬剤流出路である静脈を制御することで標的領域を閉鎖循環下に管理できる新しいDDSは標的領域の高濃度の抗がん剤濃度の実現と抗がん剤の全身漏出の阻止を可能とする。本研究は難治性がんに対し、低侵襲で効率的な治療法が可能となるがん治療のための新技術の開発を目的とする。具体的にはI. 閉鎖循環下骨盤内灌流療法（NIPP）の基礎研究と臨床試験。II. 肝腫瘍に対する閉鎖循環下抗がん剤灌流療法の研究・開発。III. 膵がんに対する閉鎖循環下抗がん剤灌流療法の研究・開発である。

B. 研究方法

1) 動物実験：

I. 骨盤内悪性腫瘍に対するNIPPでは、骨盤内注入速度と吸引速度および投与回数における骨盤内抗がん剤濃度と骨盤外抗がん剤漏出量との関係を統計学的に評価した。
II. 肝悪性腫瘍に対する閉鎖循環下抗がん剤灌流療法では医療器材の新規開発を行い、肝動脈・門脈・下大静脈を特殊バルーンカテーテルにて閉塞して作成する肝の閉鎖循環システムの研究・開発を行った。
III. 膵悪性腫瘍に対する閉鎖循環下抗がん剤灌流療法でも医療器材の新規開発を行い膵の閉鎖循環システムの研究・開発を行った。

2) 臨床試験：

腺がん治療目標である300 mg/m²を達成するため難治性骨盤内悪性腫瘍症例に対しNIPPのPhase 1 studyを施行した。CDDPの投与量を

150mg/m²から3例毎に10 mg/m²を増加していくstepwise fashion法を用いてNIPP治療の最大投与量を求めた。

（倫理面への配慮）

動物実験および臨床試験は大学倫理委員会の承認を取得済み。

C. 研究結果

1) 動物実験：

I. NIPPは骨盤内吸引速度を注入速度より速くすることで全身系への抗がん剤漏出量は減少（ $p < 0.01$ ）した。抗がん剤投与方法は投与回数が少ないほど骨盤内抗がん剤濃度は優位に高いが骨盤外への抗がん剤漏出量も多くなることが判明した。

II. 数十頭におよぶブタ動物実験の結果、門脈内2ルート法肝灌流療法システムを開発した。当療法では循環動態は安定し、また肝・腎・消化管の障害の有無を病理学的に評価した結果、有意な障害は見られなかった。

III. 膵を栄養する動脈の一本化に成功し、膵抗がん剤灌流療法システムをブタで施行した。膵灌流療法システムは十分に機能し循環動態も安定していた。また、膵および肝の障害の有無を病理学的に評価した結果、有意な障害は認めなかった。

2) 臨床試験：

NIPPをCDDP150mg/m²より開始し現在240mg/m²に達しているが腎機能障害、聴器障害はGrade Iの毒性も認めなかったが、240 mg/m²投与でGrade IIの坐骨神経障害が3例続いた。

D. 考察

I. 我々の開発したNIPP療法は高濃度の抗がん剤を局所に曝露させ、全身系への抗がん剤漏出を抑える非常に優れた抗がん剤投与方法であると推測された。臨床試験でも大量の抗がん剤を用いているにもかかわらず副作用の軽減を実現させている。

II. 外科的開腹術を用いた肝灌流療法は世界中で注目を浴びているが、全身状態の良好な患者にのみ許される一度きりの治療法である。我々の開発した肝灌流療法は低侵襲的で理論上複数回施行可能である。さらに安全性を

追及し臨床応用に向けた研究を進めていくが臨床試験が行われ安全性が確認出来れば日本発の世界に向けた低侵襲的肝灌流療法となると考えられる。

III. 脾は多数の栄養動脈を有するが選流静脈は下大静脈ではなく門脈に流入するため循環動態の安定を維持して脾灌流療法が実現可能であることを実証した。研究結果から脾灌流療法は脾がんに対する有力な治療法と成り得ると考えられた。

E. 結論

I. NIPPの抗がん剤最大投与量は現在CDDP 240 mg/m²である。今後は腺がん治癒目標である300 mg/m²を達成するため坐骨神経障害軽減のため2通りの方法を用いて臨床試験を続けていくと同時に無作為比較試験を進めるために準備を行う。

II. 肝腫瘍に対する門脈内2ルート法による抗がん剤灌流療法は循環動態の安定化において非常に優れた方法である。この研究により肝灌流療法は実現可能であると考えられ、今後は当治療法を行うにあたり適応肝腫瘍を決定し臨床試験に向けて倫理委員会の承認を得る。

III. ブタ動物実験の結果から脾灌流療法は臨床応用可能であり、脾がんに対する革新的で有力な治療法と成り得ると考えられた。当治療法は世界初の脾灌流療法であり、成功すれば世界に与えるインパクトは非常に大きなものとなる。今後は臨床試験に向けて倫理委員会の承認を得るために実験データをまとめ、必要に応じて追加実験を行う。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Komada H, Murata S, Tajima H, Kumita S, Kanazawa H, Tajiri T. Hemodynamic Changes in the Liver under Balloon Occlusion of a Portal Vein Branch: Evaluation with single level dynamic computed tomography during hepatic Arteriography. *Clinical Radiology* 2007 (in press).

2) Murata S, Tajima H, Abe Y, Watari J, Uchiyama F, Kumazaki T. Successful embolization of the left gastric artery aneurysm obtained in preoperative diagnosis. *Hepatogastroenterology*. 2007 (in press).

3) Murata S, Tajima H, Abe Y, Onozawa S, Uchiyama F, Hayashi H, Kimata R, Nomura K. Changes in Pelvic and Systemic Platinum Concentrations during Negative-Balance Isolated Pelvic Perfusion: Correlation between platinum concentration and method of administration in a pig model. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007 Jan 24; [Epub ahead of print].

4) Murata S, Tajima H, Fukunaga T, Abe Y, Niggemann P, Onozawa S, Kumazaki T, Kuramochi M, Kuramoto K. Management of the pancreaticoduodenal artery aneurysms: Results of superselective transcatheter embolization. *AJR Am J Roentgenol*. Sep; 187(3): 290-298, 2006.

5) Wang J, Murata S, Kumazaki T. Liver microcirculation after hepatic artery embolization with degradable starch microspheres: in vivo. *World J Gastroenterol*. Jul 14; 12(26): 4214-4218, 2006.

6) Murata S, Tajima H, Abe Y, Onozawa S, Uchiyama F, Kumazaki T, Nomura K. Innovative therapeutic development of isolated liver perfusion: Applicability to the treatment of hepatic malignancy. *J Nippon Med Sch*. Feb;73 (1):48-50, 2006.

7) Tajima H, Murata S, Kumazaki T, Abe Y, Takano T. Pulmonary artery perforation repair during thrombectomy using micro coil embolization. *Cardiovasc Intervent Radiol*. Jan-Feb;29(1):155-6, 2006.

8) Satake M, Tateishi U, Kobayashi T, Murata S, Kumazaki T. Percutaneous transhepatic portal vein embolization: effectiveness of absolute ethanol infusion with balloon catheter in a pig model. *Acta Radiol*. 2005 Jul; 46(4):344-52.

8) Murata S, Tajima H, Abe Y, Komada Y, Fukunaga T, Nakazawa K, Kumazaki T. Transcatheter management for multiple liver tumors after hepatic artery obstruction following reservoir placement.

Hepatogastroenterology. 2005 May-Jun;52(63):852-6.

9) Murata S, Tajima H, Kusakai G, Kumazaki T, Abe Y, Onozawa S, Komada Y, Kondo Y, Kimata R, Himeno S, Satake M. Reduction of drug leakage by negative-balance isolated pelvic perfusion: correlation between leakage and in-out flow rate in a pig model. J Cancer Res Clin Oncol. 2005 Sep;131(9):575-80.

10) Mohamad RA, Murata S, Kumazaki T. Assessment of the regularity of hepatic arterio-portal anastomosis exploiting in vivo microscopy. Radiat Med. 2005 Mar;23(2):85-8.

11) Murata S, Tajima H, Abe Y, Fukunaga T, Nakazawa K, Mohamad RA, Kumazaki T. Temporary occlusion of two hepatic veins for chemoembolization of hepatocellular carcinoma with arteriohepatic vein shunts. AJR Am J Roentgenol. 2005 Feb;184(2):415-7.

12) Tajima H, Murata S, Kumazaki T, Nakazawa K, Abe Y, Komada Y, Niggemann P, Takayama M, Tanaka K, Takano T. Hybrid treatment of acute massive pulmonary thromboembolism: mechanical fragmentation with a modified rotating pigtail catheter, local fibrinolytic therapy, and clot aspiration followed by systemic fibrinolytic therapy. AJR Am J Roentgenol. 2004 Sep;183(3):589-95.

13) Tajima H, Murata S, Kumazaki T, Nakazawa K, Kawamata H, Fukunaga T, Yamamoto T, Tanaka K, Takano T. Manual aspiration thrombectomy with a standard PTCA guiding catheter for treatment of acute massive pulmonary thromboembolism. Radiat Med. 2004 May-Jun;22(3):168-72.

14) Tajima H, Murata S, Kumazaki T, Ichikawa K, Tajiri T, Yamamoto Y. Successful interventional treatment of acute internal jugular vein thrombosis. AJR Am J Roentgenol. 2004 Feb;182(2):467-9.

15) Niggemann P, Murata S, Naito Z, Kumazaki T. A comparative study of the microcirculatory changes in the developing liver cirrhosis between the central and peripheral parts of the main lobe in mice. Hepatol Res. 2004 Jan;28(1):41-48.

2. 学会発表 (国内学会)

1) 村田 智：難治性がんに対するIVR、灌流療法の概念とその応用（ランチョンセミナー

）：第42回日本医学放射線学会秋季臨床大会。2006.10（福岡）

2) 村田 智：難治性がんに対するIVR：灌流療法を中心に（招待講演）：第15回郡山IVR研究会。2006.10（福島）

3) 村田 智：難治性がんに対するIVR（招待講演）：第14回鹿児島IVR研究会。2006.7（鹿児島）

4) 村田 智：著明なhepatic arterio-portal shuntsを有する手術不能な肝細胞がんに対する治療法：第64回日本医学放射線学会総会。2005.4（横浜）

5) 村田 智：骨盤内進行がんはどこまで治せるか。（IVRライブ）第63回日本医学放射線学会総会2004.4（横浜）
(国際学会)

1) Murata S: Management of unresectable hepatocellular carcinoma with marked arterio-portal shunts. Effectiveness of transcatheter arterial chemoembolization under balloon occlusion of the corresponding Portal vein: European Congress of Radiology. 2007.3(Vienna, Austria)

2) Murata S: The Negative-balanced Isolated Pelvic Perfusion for Advanced Pelvic Malignancies; A pilot study. 5th Symposium of Scandinavia Japan Radiological Society. 2004.9 Yamagata.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

(外国特許出願)

1) Method of Drug Perfusion System in Pelvic Tumors (米国特許出願: 10/106790)

2) Method of Drug Perfusion in Paraaortic Lymph Node Tumors, Sheath for Inserting Catheter, and Oxygenated Blood Perfusion Apparatus (米国特許出願: 11/065138)

3) Vascular Occlusion Catheter --- Murata Advanced Catheter (米国特許出願)

(日本国特許出願)

1) 「抗癌剤灌流療法および抗癌剤灌流装置」最終審査中。

2) 「傍大動脈リンパ節主要への薬剤灌流方法、カテーテル挿入用シース及び酸素化血液灌流装置」特願2004-208970

3) 「医療用ガイドワイヤ」特願2004-194727

4) 「血液かん流回路」特願2004-237787

5) 「血管閉塞器具」特願2005-233726

6) 「バルーンカテーテル」特願2006-357556
(特許出願予定)

1) 臍の抗がん剤灌流療法システム

2) 肝の門脈内2ルート法による抗がん剤灌流療法システム

2. 実用新案登録

3. その他

研究要旨

新規の癌抑制遺伝子である REIC/Dkk-3 を治療遺伝子として前立腺癌を標的とする遺伝子治療の応用開発基礎研究を実施し、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の臨床用可能性を明らかにするとともにその効果発現の分子生物学的メカニズムを明らかにした。

A. 研究目的

岡山大学において単離・同定された癌関連遺伝子で、発癌において抑制的に機能する REIC/Dkk-3 を治療遺伝子として、前立腺癌を標的とする遺伝子治療の開発研究を実施した。主目的は臨床研究導入までの基礎的研究を遂行することである。また、REIC/Dkk-3 の機能解析を通じ関連する新たな治療標的を探索することを副次的目標とした。

B. 研究方法

- 1) 前立腺癌における発現解析
- 2) 遺伝子導入による治療効果発現に関する研究 (*in vitro*, *in vivo*)
- 3) 選択的アポトーシス誘導作用の機序解明
- 4) アポトーシス誘導における機能ドメイン同定
- 5) REIC/Dkk-3 ノックアウトマウスの作成 (倫理面の配慮 1-2 行) 該当せず

C. 研究結果

- 1) 前立腺癌における発現解析
細胞株臨床検体における発現低下・消失を確認。
- 2) 治療効果発現に関する研究
 - a) ヒト前立腺癌細胞におけるアポトーシス誘導およびその腫瘍選択性を確認した。
 - b) ノドマウス皮下腫瘍モデルにてアポトーシス誘導による抗腫瘍効果を確認した。
 - c) マウス前立腺同所移植モデルを用いた pre-clinical study

岡山大学で開発した orthotopic mouse model による前立腺癌遺伝子治療評価システムを用いて実施した。局所におけるアポトー

シス誘導に基づく増殖抑制効果、浸潤能抑制に基づくリンパ節転移抑制効果ならびに予後延長効果を確認した。

3) 腫瘍選択的アポトーシス誘導作用の機序解明

腫瘍選択的アポトーシス誘導機構として、c-jun N 末端 Kinase (JNK) の活性化に起因する Bax のミトコンドリア移行と Bcl-2 のダウンレギュレーションが直接的に関与することを実証した。

また JNK を中心とする一連のストレス応答分子との関連性についても明らかにした。

4) アポトーシス誘導における機能ドメイン同定

1-39 のアミノ酸部分において有意なアポトーシス誘導作用が存在することを突き止めた。

D. 考察

1) 新規遺伝子治療臨床研究の導入

3 年間の研究期間において臨床研究導入までの基礎的研究を遂行するという主目的はほぼ達成されたと考える。

2) 他の癌腫への適応

前立腺癌以外の癌種である悪性中皮腫、乳癌、肝細胞癌、精巣腫瘍、腎細胞癌などの難治性固形癌に対する効果も確認されつつあり、今回実施した研究手法を発展的に応用しその臨床応用可能性をさらに検証する。

3) REIC/Dkk 3 の機能解析

効果発現の科学的根拠としての機能解析についても種々の分子の関与が明らかになった。

E. 結論

3年間の研究期間において臨床研究導入までの基礎的研究を遂行するという主目的はほぼ達成されたと考える。今後は安全性にかかわる試験、GMP gradeのベクター作製のためのステップを経て臨床研究の実施申請を行う予定である。

F.健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) F. Abarzua, H. Kumon et al: Adenovirus-mediated overexpression of REIC/Dkk-3 selectively induces apoptosis in human prostate cancer cells through activation of c-Jun-NH2-kinase. *Cancer Res*, 65: 9617-9622, 2005.
- 2) R. Tanimoto, H. Kumon et al: REIC/Dkk-3 as a potential gene therapeutic agent against human testicular cancer. *Int J Mol Med*. 19(3):363-8, 2007.
- 3) F. Abarzua, H. Kumon et al: Heat shock proteins play a crucial role in tumor-specific apoptosis by REIC/Dkk-3. *Int J Mol Med* in press
- 4) K. Edamura, H. Kumon et al: Adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene transfer inhibits tumor growth and metastasis in an orthotopic prostate cancer model. *Cancer Gene Therapy* in submission.

2. 学会発表

- 1) Abarzua F., Sakaguchi M., Nasu Y., Kumon H., Nam-Ho H. Reduced expression of REIC/DKK-3 gene in prostate cancer cell lines. 20th EAU Congress. 2005.
- 2) Edamura K. Adenoviral vector-mediated REIC/Dkk-3 gene transfer inhibits tumor growth, invasion and metastasis in a orthotopic prostate cancer model. 第58回日本泌尿器科学会西日本総会、2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

2006年6月国内特許登録:

「細胞増殖抑制タンパク質、ポリヌクレオチドおよび該ポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチド、並びにそれらを用いる細胞増殖抑制剤、癌診断薬、癌治療剤、および遺伝子治療用組成物」

・発明者 難波正義、辻俊也 出願人 公文

裕巳

・日本国特許 3813872

同、米国特許出願11/434,813

2006年1月PCT出願「前立腺癌細胞のアポトーシス誘発剤」

・発明者:公文裕巳、許南浩、阪口政清、那須保友

・出願人:公文裕巳、許南浩、阪口政清、那須保友

・PCT/J P 2006/300411

2006年10月国内出願「REIC/Dkk-3遺伝子の部分断片及び該断片を含むがん治療薬」

・発明者:公文裕巳、許南浩、阪口政清、那須保友

・出願人:国立大学法人岡山大学

特願 2006-2890403.

科学的根拠に基づくがんの免疫療法の開発

分担研究者 中面 哲也 国立がんセンター東病院 臨床開発センター
がん治療開発部 機能再生室長

研究要旨

我々が同定した GPC3 と HSP105 はがん特異的抗原で、GPC3 や HSP105 を標的とする免疫療法を開発すれば、有害事象のないがんの予防・治療が可能になってくる。本年度中に GPC3 のペプチドワクチンの臨床試験をスタートすることを第一目標にした。第三者機関に依頼した GPC3 ペプチドのマウスを用いた単回皮下投与毒性試験によりペプチドの安全性を証明し、マウスを使った前臨床試験により、至適アジュバントと投与量、投与回数の検討を行ってプロトコルを作成した。進行肝細胞がん患者を対象とする第 I 相試験を計画し、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得て、平成 19 年 2 月から臨床試験を開始した。現在、投与量 0.3 mg の 6 例の登録が終了し、安全に試験が遂行されている。

A. 研究目的

我々が同定した GPC3 と HSP105 はがん特異的抗原で、GPC3 は肝細胞がん、メラノーマと胎生期の肝臓、胎盤に高発現し、HSP105 は大腸・膵・食道・乳がんなど多様ながんと精巣に高発現する。精巣や胎盤は免疫学的に攻撃されないように隔離された臓器であり、したがって、GPC3 や HSP105 を標的とする免疫療法を開発すれば、有害事象のないがんの予防・治療が可能になってくる。マウスモデルを用いて安全で有効ながんの予防・治療法を開発し、それを臨床試験で検証する。免疫療法はがんの予防法・治療法として有効であるのか、またどのような免疫療法が有効なのか、基礎と臨床を繰り返す事で科学的エビデンスを蓄積していく。本年度は特に GPC3 の研究に力を注ぐこととした。

B. 研究方法

1) ペプチドワクチンのプロトコルの検討

最善のプロトコル作成のため、マウスを用いて、臨床試験で用いる 2 種類の GPC3 ペプチドと混ぜる至適アジュバントの検討を行なった。また、ペプチドの投与量、投与回数についてマウスを用いて検討した。さらに、有効なペプチド特異的 CTL の検出法を検討した。

2) GPC3 ペプチドの第三者機関での毒性試験

GPC3 ペプチドのマウスを用いた単回皮下投与毒性試験を実施（日本生物科学センター岐阜研究所に依頼）して安全性を検証した。

倫理面への配慮

国立がんセンターでは、教育研究に関わる生命倫理ならびに安全管理に関する問題を審議して、これらが適切に遂行されるように、倫理審査委員会が設置され規則が整備されており、倫理面への配慮が十分になされる体制が整っている。本研究における臨床第 I 相試験は同委員会の承認を得て実施しているものである。また、動物実験に際しては、国立がんセンターの動物実験指針を遵守して動物愛護にも留意して行っている。

C. 研究結果

1. マウス動物実験でのエビデンスに基づいて臨床試験のプロトコルを作成した。

至適アジュバントの検討の結果、ペプチド単独では無効で、不完全フロイントアジュバント (IFA) と混合すると有効になる事を証明し、臨床試験ではペプチドと IFA の混合物を投与する事にした。ペプチドの投与量、投与回数については、CTL の誘導能がペプチド投与量に依存し、1 回の免疫では無効で 2-4 回の免疫が有効であることを示した。したがって第 I 相臨床試験では、投与回数を 3 回、投与量を 0.3, 1.0, 3.0 mg の 3 段

階にし、安全性を確認しながら容量を増やしていく設定とし、免疫学的モニタリングによって次相の至適投与量、投与回数を決める方針にした。

また、有効なペプチド特異的 CTL の検出法を検討し、ELISPOT、ペンタマー、顕微蛍光法による細胞傷害性試験の有用性を確認した。

2. 国立がんセンター倫理審査委員会の承認を受け、臨床第 I 相試験をスタートした。

日本生物科学センター岐阜研究所に依頼した GPC3 ペプチドのマウスを用いた単回皮下投与毒性試験により、ペプチドの安全性が証明された。上記のプロトコールに従って、進行がん患者を対象とする第 I 相試験を計画し、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。平成 19 年 2 月から臨床試験を開始し、現在、投与量 0.3 mg の 6 例の登録が終了し、安全に試験が遂行されている。

D. 考察

我々が同定した GPC3 と HSP105 はがん特異的抗原で、これらを標的とする免疫療法を開発すれば、有害事象のないがんの予防・治療法が可能になってくる。

GPC3 については、現在実施中である進行肝細胞がん患者を対象とした GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験により、安全性と免疫学的有効性を確認した後に、本臨床試験により決定した投与量で第 II 相臨床試験を行なう予定である。第 II 相では、再発率が高い肝細胞がんの根治的治療後の再発予防効果を評価する臨床試験と、肝炎・肝硬変患者の肝細胞がん発症予防効果をみる臨床試験を計画している。

また HSP105 については、大腸腫瘍の自然発生モデルである APC-Min⁺/−マウスを用いて、HSP105 を標的とした免疫療法による治療法の安全性と有効性を検証し、有効な予防・治療法を開発して臨床応用を目指す。

E. 結論

肝細胞がんの特異的に高発現する新規癌胎児性抗原である Glypican-3 (GPC3) を標的とするペプチドワクチンの臨床試験を実施するにあたって、第三者機関である日本生物科学センター岐阜研究所に依頼した GPC3 ペプチドのマウスを用いた単回皮下投与毒性試験によりペプチドの安全性を証明し、マウスを使った前臨床試験により、至適アジュバントと投与量、投与回数の検討を行

ってプロトコールを作成した。進行がん患者を対象とする第 I 相試験を計画し、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得て、平成 19 年 2 月から臨床試験を開始した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Muchemwa F.C., Nakatsura T, Ihn H, Kageshita T. Heat shock protein 105 is overexpressed in squamous cell carcinoma and extramammary Paget disease but not in basal cell carcinoma. Br. J. Dermatol. 155: 582-585, 2006.
- 2) Komori H, Nakatsura T, Senju S, Yoshitake Y, Motomura Y, Ikuta Y, Fukuma D, Yokomine K, Harao M, Beppu T, Matsui M, Torigoe T, Sato N, Baba H, Nishimura Y. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. Clin. Cancer Res. 12: 2689-2697, 2006.
- 3) Hosaka S, Nakatsura T, Tsukamoto H, Hatayama T, Baba H, Nishimura Y. Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces apoptosis of various cancer cells both *in vitro* and *in vivo*. Cancer Sci. 97: 623-632, 2006.
- 4) Yokomine K, Nakatsura T, Minohara M, Kira JI, Kubo T, Sasaki Y, Nishimura Y. Immunization with heat shock protein 105-pulsed dendritic cells leads to tumor rejection in mice. Biochem. Biophys. Res. Comm. 343: 269-278, 2006.
- 5) Motomura Y, Senju S, Nakatsura T, Matsuyoshi H, Hirata S, Monji M, Komori H, Fukuma D, Baba H, Nishimura Y. Embryonic stem cell-derived dendritic cells expressing Glypican-3, a recently identified oncofetal antigen, induce protective immunity against highly metastatic mouse melanoma, B16-F10. Cancer Res. 66: 2414-2422, 2006.
- 6) 小森宏之、中面哲也、本村 裕、別府 透、石河隆敏、馬場秀夫、西村泰治 新規がん胎児性抗原 Glypican-3 を標的とした肝細胞がんの免疫療法 分子細胞治療 先端医学社 6(2):57-61, 2007
- 7) 小森宏之、中面哲也、本村 裕、別府 透、