

2. 大腸癌肝転移の腫瘍辺縁形態と予後*

安井 健三
平井 孝清水 泰博
金光 幸秀

加藤 知行**

〔要旨〕原発巣と同様に、大腸癌肝転移巣も個々に生物学的悪性度は異なる。その指標となる転移巣および周囲の臨床病理学的特徴として、2次的局所進展因子(門脈腫瘍塞栓、肝静脈内腫瘍塞栓、胆管内腫瘍進展、隣接臓器直接浸潤、神経周囲侵襲および肝所属リンパ節転移)があり、肝転移巣断面の肉眼型分類およびentrapped liver cell(ELC)という新しい概念がある。肝切除例の予後判定と術後補助化学療法必要性判定に考慮すべき所見の一つと考えられる。

はじめに

現在、大腸癌肝転移治療は適応があれば外科的切除がもっとも有効であり、第一選択となっている。もっとも、大腸癌肝転移症例全体からみれば一部が外科的治療の対象となっているにすぎず、血行性転移である肝転移は基本的には全身疾患である。しかし、局所療法である肝切除がときとして肝転移の完全治癒をもたらす^{1,2)}ことがあるのは、結果的に転移巣が肝局所のみ限定されて存在したためと考えられる。

大腸癌肝転移は、胃癌、肝胆膵癌など他の消化器癌の肝転移と比較すれば生物学的悪性度が低

く、進行が比較的穏やかで限局した症例が多いと考えられ、肝切除の対象となる症例が多く治療成績も良好である。また、肝転移増大のスピードや浸潤傾向が症例によって異なり、同じような肝転移に対して同じような肝切除を行っても予後が大きく異なる場合があることから、大腸癌肝転移のあいだでも個々に生物学的悪性度が異なることは明らかである。したがって、その生物学的悪性度の違いを示す指標を見出すことは肝転移外科治療を行ううえでたいへん重要なことである。

ここでは、肝切除例において治癒となりうる症例を予測し、あるいは肝切除後の経過観察や補助化学療法を実施する場合に必要な予後因子のうち、主として大腸癌肝転移の生物学的特性を示す臨床病理学的な所見である肝転移巣の肉眼型³⁾、entrapped liver cell(ELC)⁴⁾および局所進展因子^{5,6)}と予後について述べる。

I. 対象と方法

愛知県がんセンターにおいて1983年4月～

キーワード：大腸癌肝転移，肝切除，肝転移巣肉眼型分類，予後因子

* Morphologic expression of colorectal liver metastasis as a prognostic indicator

** K. Yasui(副部長), Y. Shimizu(医長), T. Hirai(副部長), Y. Kanemitsu(医長), T. Kato(院長): 愛知県がんセンター消化器外科(☎464-8681 名古屋市千種区鹿子殿1-1).

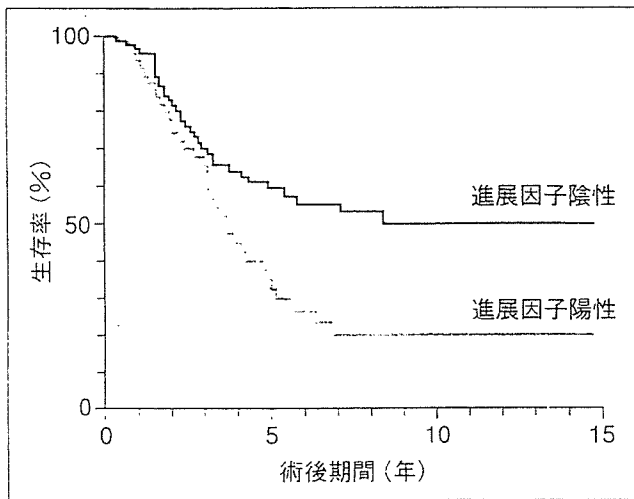


図1. 大腸癌肝転移根治切除例における進展因子有無による肝切除後累積生存率

進展因子陰性($n=87$): 5年生存率58.2%, 10年・15年生存率48.6%

進展因子陽性($n=56$): 5年生存率33.7%, 10年・15年生存率19.2%

両群間の有意差は $p=0.005$

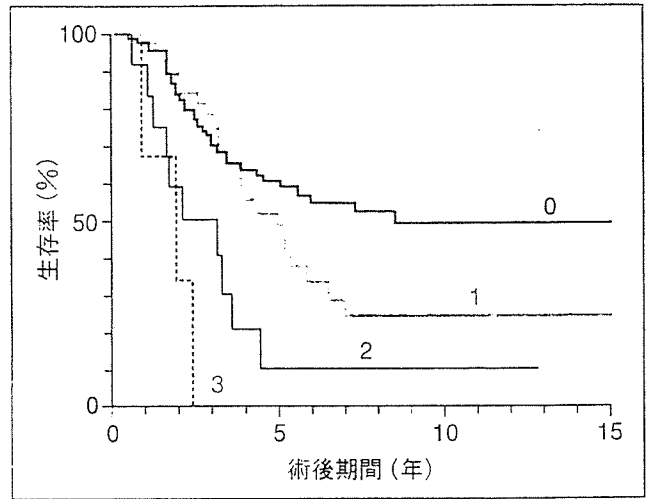


図2. 大腸癌肝転移根治切除例における進展因子数による肝切除後累積生存率

各群間に有意差あり($p<0.015$)

2003年7月に、大腸癌肝転移215例に肝切除を行った。215例中5例が手術・在院死亡した(mortality rate 2.3%)。非治癒因子のない根治的肝切除は156例に行われ、切除術式は系統的肝切除126例、部分肝切除31例であった。原則的に3 cm未満の肝転移例のみが部分切除の適応とした。

根治的肝切除を行った156例について切除術式、手術時期、転移巣最大径、転移数、肉眼的肝転移巣進展因子³⁾(門脈腫瘍栓、胆管内腫瘍進展、リンパ節転移、隣接臓器直接浸潤など)、肉眼型Yasui分類(Yasui's classification³⁾)、entrapped liver cell(ELC)⁴⁾および再発時期、再発部位、肝転移切除からの累積生存率(Kaplan-Meier法)について検討した。統計学的有意差検定はlog-rank検定を用いた。

II. 臨床病理学的所見からみた大腸癌肝転移の生物学的特性

1. 大腸癌肝転移の局所進展因子と予後

大腸癌肝転移の局所進展様式については以前から報告^{3,6)}しているが、肉眼的所見があり病理学

的にも確認された門脈腫瘍塞栓、肝静脈内腫瘍塞栓、胆管内腫瘍進展、隣接臓器直接浸潤、および肝所属リンパ節転移⁷⁾を転移巣局所進展因子としている。これらは原発巣からの転移ではなく、主として肝転移巣からの2次的局所進展様式であると考えられる³⁾。肝切除対象となる肝局所に限局していると予測される肝転移にとって、その有無と進展範囲が外科的治療上大きな問題となる。これらの進展因子の存在と範囲を予測して肝切除術式を決定することが必要であることは理論的にも妥当である。

当施設での根治切除143例中、局所進展因子陰性群87例の5年生存率は58.2%、10年生存率は48.6%と、進展因子陽性群56例の5年生存率33.7%、10年生存率19.2%に比べ有意に生存率が高かった(図1)。また、進展因子数による5年・10年生存率は、1個では44.3%、23.4%であり、2個ではともに10.0%であり、2個以上では5年生存率10%ときわめて低く、進展因子数が多いほど予後不良であった(図2) [$p<0.015$]。すなわち、局所進展因子存在の有無および因子数が大きく予後を左右することがわかる。

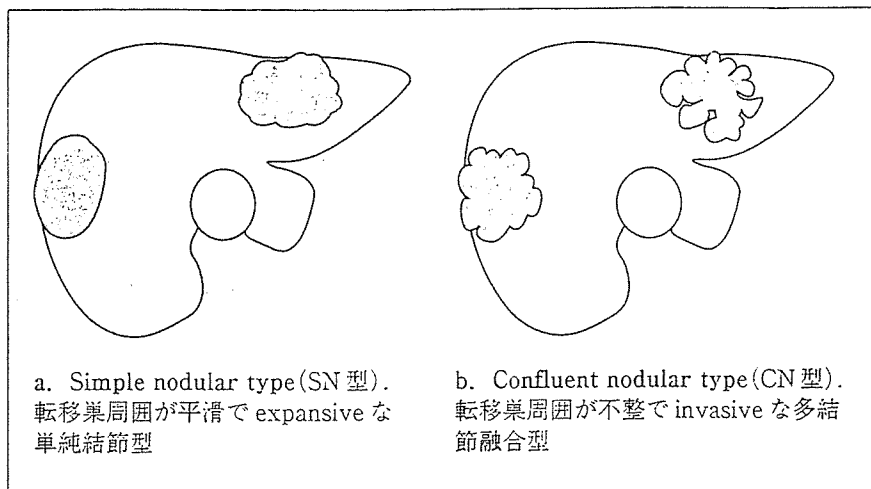


図3. 肝転移巣肉眼型分類模式図

Yamamotoら⁹⁾は肝転移切除症例について病理組織学的に検討し、門脈、肝静脈、胆管、そして神経への侵襲が55%に認められたと報告し、いずれも転移巣から離れた進展はなかったとしている。そのため、肝転移切除術式として系統的切除は不要で部分切除で十分であると結論している。しかし、切除肝標本をみて研究する限り、Yamamotoらが推奨する肝部分切除では切除範囲が狭く、切除範囲を越えて転移巣から離れた部位に存在した進展因子は決して確認できないという矛盾がある。竹並ら⁸⁾は病理学的門脈侵襲の頻度は81.6%とむしろ高い頻度を報告し、これらの所見を考えると肝転移は系統的肝切除が望ましいと結論している。

われわれはこのような進展因子を可及的に切除することで、再発(とくに残肝再発)を防止するため、1983年以後肝葉切除を行う系統的肝切除⁷⁾を原則として行い、同時に切除標本内の進展因子についても検討してきた。われわれの検討では顕微鏡的な脈管侵襲あるいは胆管侵襲所見は、とくに転移巣が大きくなればなるほど転移巣周囲で高頻度にあるため、その有無が肝転移個々の症例の予後因子としての指標にはなりにくい。しかし、報告^{5,6)}したように肉眼的局所進展因子は予後因子となり、今回の検討でも、肉眼的局所進展因子数が多く存在するほど肝切除後の生存率が低くなり、その因子数が3個の場合、3年以上生存する

患者はいなかった(図2)。

2. 大腸癌肝転移の肉眼型分類と生物学的悪性度

大腸癌肝転移の転移巣最大剖面における肉眼型Yasui分類³⁾(図3)は、筆者らが転移巣の形態によって大きく二つに分類定義したものである。一つは転移巣周囲が平滑で expansive な単純結節型 (simple nodular type : SN型)であり、他方は転移巣周囲が不整で invasive な多結節融合型 (confluent nodular type : CN型)である。

この分類に従うと、根治切除157例中、肉眼型分類SN型77例の5年生存率は61.3%、10年生存率は52.9%であるが、CN型80例の5年生存率は36.9%、10年生存率は21.5%と、統計学的にも有意差のある生存率であった(図4) [$p=0.0022$]。両者のこのような生存率の差は、先に述べた局所進展因子の発現頻度から説明することができる。すなわち、SN型では進展因子発現頻度は36%であるのに対し、CN型では52.5%と高く、この差が悪性度の差を示しているともいえる。このように両者は、転移巣の最大剖面の形態が異なり、肉眼的に悪性度が鑑別でき、SN型は生物学的悪性度が比較的lowく、CN型は悪性度が高いといえる。ただし、腫瘍径が小さい場合はその鑑別が困難な場合もある。これは腫瘍が小さいあいだは生物学的悪性度が形として明確に出現しない可能性がある。

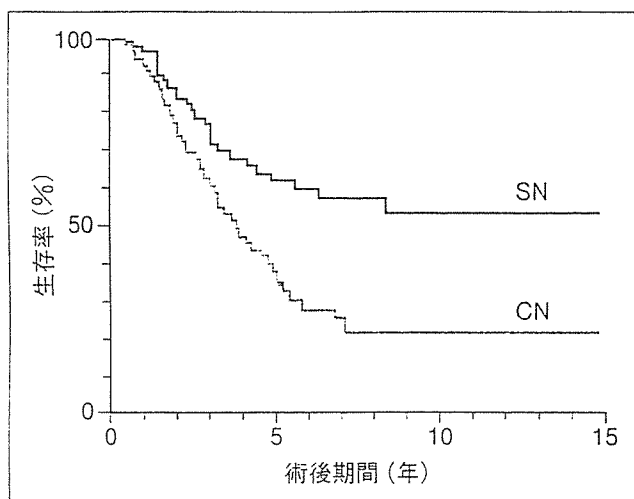


図4. 大腸癌肝転移根治切除例における肉眼型分類による肝切除後累積生存率

SN型($n=77$) [進展因子陽性率36.0%]: 5年生存率61.3%, 10年・15年生存率52.9%

CN型($n=80$) [進展因子陽性率52.5%]: 5年生存率36.9%, 10年・15年生存率21.5%

両群間の有意差は $p=0.0022$

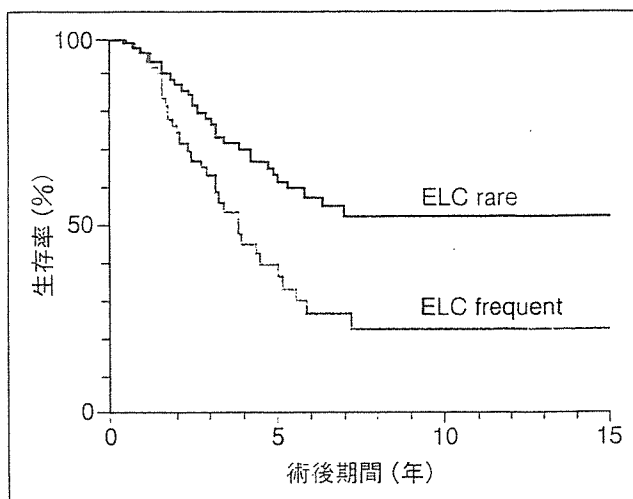


図5. 大腸癌肝転移根治切除例における entrapped liver cell(ELC)による累積生存率

ELC rare group($n=75$): 5年生存率61.3%, 10年・15年生存率52.3%

ELC frequent group($n=65$): 5年生存率35.9%, 10年・15年生存率21.8%

両群間の有意差は $p=0.0027$

Jaeckら¹⁰⁾も肝転移巣の辺縁についての所見を、その定義は不明であるが、infiltrativeとexpansiveとに分けて報告し、前者が予後不良の傾向にあるデータを示している。竹並ら⁹⁾も少数例ではあるが、肝実質境界部での発育様式として膨張性を71%、浸潤性発育を28%に認め、浸潤性発育を示す6例に門脈浸潤を認めたと報告している。

3. 大腸癌肝転移巣先端部の新しい病理学的概念と生物学的悪性度

肝転移を顕微鏡的に検索すると、門脈侵襲などの脈管侵襲や微小胆管内浸潤、あるいは神経周囲浸潤⁹⁾などが頻繁に見出されるが、これらはほとんどの肝転移巣に存在するため個別の予後判定には有用ではない。そこで筆者らは、肝転移巣の進展が激しい場合には正常肝細胞が脈管内に進展した癌細胞にとり囲まれる所見をELC⁹⁾とした。

転移巣最大断面におけるELCの数が0と1をrare groupとし、2および3以上をfrequent groupとした。根治切除例のうち未検査例と判定不能例を除いた140例において、5年・10年生存率はrare group 75例ではそれぞれ61.3%、52.3%であり、frequent group 65例ではそれぞ

れ35.9%、21.8%と有意な予後の差があった(図5) [$p=0.0027$]。また、進展因子発現率はrare groupにおいて30.7%であり、frequent groupのそれは44.6%と大きく異なったことから、両者の生物学的悪性度は明らかに異なることがわかる。

また、著者らは肝転移周囲の線維化所見が予後因子として有用と考えて検討した¹¹⁾。しっかりと線維化は症例の約20%に認められ、線維化のない症例に比べて線維化のある症例は予後良好であった。この転移巣周囲の線維化は、とくに残肝再発を低くする要因であると考えられた。この線維化所見のある肝転移はELC rare groupの一部を構成するものである。したがって、ELCは肝転移の辺縁部における浸潤傾向が強く、予後不良の症例ほど認められると考えられ、ELC所見は病理所見として総合的な生物学的悪性度判定に有用と考えられる。

おわりに

局所治療でしかない肝転移外科切除の絶対的適応は、肝に局限したと考えられる肝転移で、進展

因子を含めた転移巣すべてをとり残すことなく切除可能な症例である。肝切除によって治癒率を向上させるためには、肝転移の術前診断精度を高くして早期発見し、肝転移巣のみならずその局所進展様式を十分に理解し、もっとも適切な肝切除術式を選択するべきである。現時点ではそれを確実に術前診断することは困難ではあるが、肝転移の生物学的悪性度を表す肉眼型分類やELCによって、肝切除後になんらかの有効な補助化学療法を行う必要のある患者と不必要な患者を選別することは可能であり、患者個々に応じた予後改善へ通じるものである。

◆ ◆ ◆ 文 献 ◆ ◆ ◆

- 1) D'Angelica M, Brennan MF, Fortner JG et al : Ninety-six five-year survivors after liver resection for metastatic colorectal cancer. J Am Coll Surg 185 : 554-559, 1997
- 2) Fong Y, Fortner J, Sun RL et al : Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer. Ann Surg 230 : 309-321, 1999
- 3) Yasui K, Hirai T, Kato T et al : A new macroscopic classification predicts prognosis for patient with liver metastases from colorectal cancer. Ann Surg 226 : 582-586, 1997
- 4) Koike M, Yasui K, Torii A et al : Prognostic significance of entrapped liver cells within

hepatic metastases from colorectal cancer. Ann Surg 232 : 653-657, 2000

- 5) 安井健三, 鳥井彰人, 上坂克彦ほか : 転移性肝がんの危険因子と臨床病理. 消外 18 : 1637-1644, 1995
- 6) 安井健三, 加藤知行, 森本剛史ほか : 大腸癌肝転移の予後因子を考慮した肝切除. 消化器科 23 : 302-308, 1996
- 7) Yasui K, Hirai T, Kato T et al : Major anatomical hepatic resection with regional lymph node dissection for liver metastases from colorectal cancer. J Hepatobiliary Pancreat Surg 2 : 103-107, 1995
- 8) 竹並和之, 高崎 健, 山本雅一 : 大腸癌肝転移肝転移病巣の2次的肝内進展に関する研究. 日消外会誌 30 : 729-734, 1997
- 9) Yamamoto J, Sugihara K, Kosuge T et al : Pathological support for limited hepatectomy in the treatment of liver metastases from colorectal cancer. Ann Surg 221 : 74-78, 1995
- 10) Jaeck D, Nakano H, Bachellier P et al : Significance of hepatic pedicle lymph node involvement in patient with colorectal liver metastases ; a prospective study. Ann Surg Oncol 9 : 430-438, 2002
- 11) Lunevicius R, Nakanishi H, Ito S et al : Clinicopathological significance of fibrotic capsule formation around liver metastasis from colorectal cancer. J Cancer Res Clin Oncol 127 : 193-199, 2001

*

*

*



続 EBM実践ワークブック

— 今, できる限りの医療を —

●著 名郷直樹 横須賀市立うわまち病院 臨床研修センター長

「EBM実践ワークブック」の応用・実践編であり実例に基づいた解説。EBMを日々の診療で実践するとき実感すること、「勉強する時間がない」「目の前の患者にすぐに対応しなくてはならない」などに応える効率的な実践法を教示。日常診療とEBMをつなぐ最短の道を示し、根拠のある自信のつく診療を伝える。

■A5判・230頁 2002.5.
定価3,150円(本体3,000円+税5%)

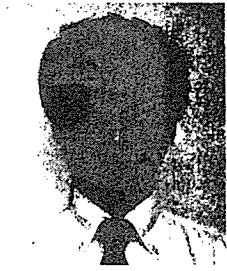
nkdo 南江堂

〒113-8410 東京都文京区本郷三丁目42-6
(営業) TEL 03-3811-7239 FAX 03-3811-7230
<<http://www.nankodo.co.jp>>

大腸がん化学療法

—あらたな標準治療体系

Chemotherapy for colorectal cancer



松原淳一(写真) 島田安博

Junichi MATSUBARA and Yasuhiro SHIMADA

国立がんセンター中央病院消化器内科

◎大腸がんの化学療法は、1990年代前半までの5-fluorouracil(5-FU)しかなかった時代からイリノテカン(irinotecan)、オキサリプラチン(oxaliplatin)、さらに分子標的治療薬としてcetuximab, bevacizumabという大腸がんに対し有効な薬剤がつぎつぎと開発され、大きく様変わりしてきた。これまですでに5-FU(+LV)、イリノテカン、オキサリプラチンの3剤を順次組み合わせて治療することが生存期間の延長に寄与するということが証明されている。それに分子標的治療薬も加わり、さらなる生存期間の延長が期待されるが、今後は患者ごとの腫瘍遺伝子解析の結果をもとに、もっとも効果のある組合せを最初を選択するテーラーメイド医療が望まれる時代になるであろう。



Key word : 大腸がん, 5-FU, イリノテカン, オキサリプラチン, 分子標的治療薬

厚生労働省の統計において平成15年(2003年)度に日本では年間約3.9万人が大腸がんで亡くなり、悪性新生物による死因のうち第3位(男性では第4位、女性では第1位)を占めている。また、日本において大腸がんはここ数年増加傾向にあるがんのひとつである。

大腸がんの化学療法は1990年代前半までの5-Fluorouracil(5-FU)しかなかった時代からイリノテカン、オキサリプラチン、cetuximab(C-225, Erbitux®), bevacizumab(Avastin®)と大腸がんに対し有効な薬剤がつぎつぎと開発され、大きく様変わりしてきた。すなわち、大腸がんに対し抗がん剤治療を行う意義を問う時代から、それらを有効に組み合わせて治療を行い、腫瘍縮小効果を高め、かつより効果を長く維持していかに生存期間を延ばしていくかが問われる時代になった。

本稿では欧米および日本における大腸がんの治療体系をマイルストーンとなったエビデンスに触れながら、進行・再発大腸がんの全身化学療法と術後補助化学療法に大別して述べていくこととする。

進行・再発大腸がんの化学療法

1. 細胞傷害性薬剤(cytotoxic agents)の進歩

5-FUは40年以上前に開発され、いまなお大腸がん化学療法の基本となる薬剤である。その開発以来、長期にわたりロイコボリン(LV)を併用した5-FU急速静注療法がアメリカでは標準治療とされてきた。日本においても急速静注療法のひとつであるRosewell-Park Memorial Institute regimen(RPMI regimen, 表1)がごく最近まで頻用されていた。ヨーロッパでは1997年にフランスのde Gramontら¹⁾が持続静注療法(表1)のほうが急速静注療法より効果も安全性も優れていると発表してからは、持続静注療法がより好まれてきた。

続いてイリノテカンが開発され、5-FUが無効となった大腸がん症例の二次治療として単剤での有効性が示された²⁾。その後、アメリカでは5-FU急速静注療法と組み合わせたレジメン(IFL, 表1)で、ヨーロッパでは5-FU持続静注療法と組み合わせたレジメン(FOLFIRI, 表1)で、いずれも5-FU+LV療法に比べ約2倍の奏効率(約40%)と2~3カ月の生存期間延長が得られるというエビ

表 1 代表的な大腸がん化学療法レジメン

<p>5-FU+LV療法</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rosewell-Park Memorial Institute (RPMI) regimen LV 500 mg/m² (l-LV 250 mg/m²) over 2 hrs, 5-FU (600 mg/m²) IV bolus 1 hr after start of LV, days 1, 8, 15, 22, 29, and 36. Repeat every 8 weeks. 2. de Gramont regimen l-LV 200 mg/m² over 2 hrs followed by 5-FU IV bolus 400 mg/m² plus 5-FU 600 mg/m² over 22 hrs, days 1 and 2. Repeat every 2 weeks. <p>5-FU+LV+CPT-11療法</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. IFL regimen CPT-11 100 mg/m² over 90 minutes, and 5-FU 500 mg/m² IV bolus, and l-LV 20 mg/m² IV bolus, days 1, 8, 15, 22. Repeat every 6 weeks. 2. FOLFIRI regimen <ul style="list-style-type: none"> • CPT-11 180 mg/m² over 2 hrs, day 1. l-LV 200 mg/m² over 2 hrs followed by 5-FU IV bolus 400 mg/m² plus 5-FU 600 mg/m² over 22 hrs, days 1 and 2. Repeat every 2 weeks (Douillard regimen). • CPT-11 180 mg/m² over 90 minutes, and l-LV 200 mg/m² over 2 hrs during CPT-11 infusion, day 1. Followed by 5-FU IV bolus 400 mg/m² plus 5-FU 2,400~3,000 mg/m² over 46 hrs. Repeat every 2 weeks. <p>5-FU+LV+oxaliplatin療法</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. FOLFOX4 regimen oxaliplatin 85 mg/m² over 2 hrs, day 1. l-LV 100 mg/m² over 2 hrs followed by 5-FU IV bolus 400 mg/m² plus 5-FU 600 mg/m² over 22 hrs, days 1 and 2. Repeat every 2 weeks. 2. FOLFOX6 regimen (mFOLFOX6 は oxaliplatin 85 mg/m²) oxaliplatin 100 mg/m² over 2 hrs, and l-LV 200 mg/m² over 2 hrs during oxaliplatin infusion, day 1. Followed by 5-FU IV bolus 400 mg/m² plus 5-FU 2,400~3,000 mg/m² over 46 hrs. Repeat every 2 weeks. 3. FOLFOX7 regimen oxaliplatin 130 mg/m² over 2 hrs, and l-LV 200 mg/m² over 2 hrs during oxaliplatin infusion, day 1. Followed by 5-FU 2,400 mg/m² over 46 hrs. Repeat every 2 weeks.
--

デンス^{3,4)}が示され、初回標準治療として広く受け入れられてきた。ただしその後の検討から、IFLはFOLFIRIなどの5-FU持続静注を用いるレジメンより骨髄抑制や下痢などの副作用が強く出やすく、注意深い経過観察と適切な減量やスケジュール調整が必要なやや毒性の強いレジメンであることが示唆された^{5,6)}。

イリノテカンと並んで重要な新規抗がん剤が、日本では2005年4月によりやく保険承認となったオキサリプラチンである。シスプラチン(cisplatin)やカルボプラチン(carboplatin)が大腸がんは無効なのに対し、高い効果が期待できる第三世代の白金系抗がん剤で、毒性についても末梢神経障害が特徴的で、腎障害、脱毛、内耳神経障害はまれである。オキサリプラチンは単剤で投与された場合の抗腫瘍活性はやや弱いだが、5-FU持続静

注療法と併用(FOLFOX、表1)することで高い相乗効果を有することが示された^{7,8)}。そこでヨーロッパでは初回治療例においてFOLFOX6(表1)とFOLFIRIのランダム化比較試験が行われたが⁹⁾、両群に生存期間の有意差はなかった。一方、アメリカでは初回治療例でIFL、FOLFOX4(表1)、CPT-11+オキサリプラチン(IROX)の3群ランダム化比較試験が行われ¹⁰⁾、無増悪生存期間、奏効率、生存期間の総合的観点からFOLFOX4が標準的な初回治療法になりうると結論された(ただし各群の二次治療法で大きな偏りがあり、その解釈には注意を要するという意見もある)。

その後欧米では初回治療としてFOLFOXを中心に治療法開発が進められているが、オキサリプラチンに特徴的な末梢神経障害によりFOLFOX治療を継続できない症例が問題となっている。

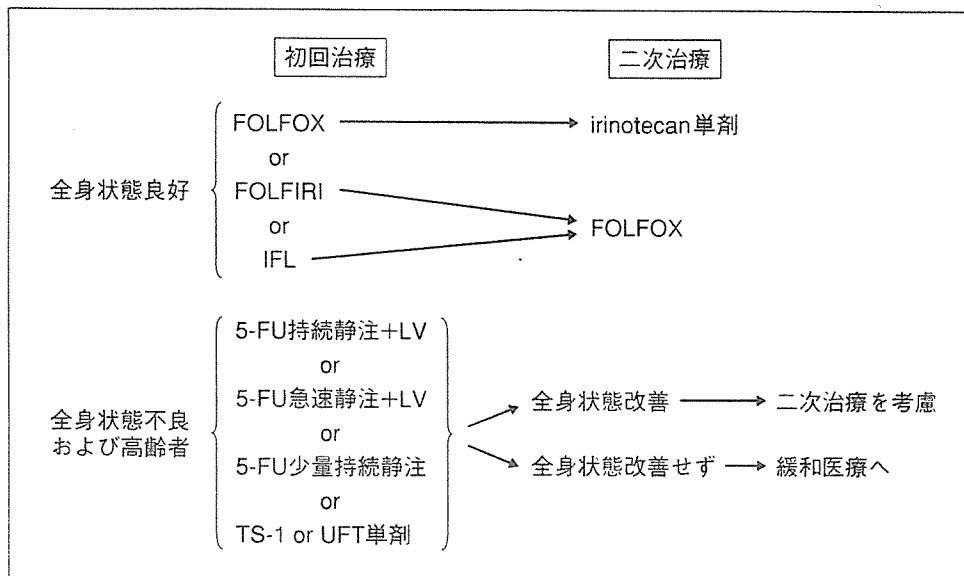


図 1 日本における進行・再発大腸がん標準治療体系

Grothey¹¹⁾は、オキサリプラチン総投与量が 800 mg/m²になると全症例の 15%で、1,200 mg/m²になると約 50%で機能障害をきたす末梢神経障害が発現すると報告した。そこで現在、欧米では FOLFOX7(表 1)を 6~8 サイクル行い、その後 8~12 サイクルはオキサリプラチンを休薬して 5-FU 持続静注+LV で行い、その後また FOLFOX7 を再開するという治療スケジュールがいくつかのランダム化比較試験(OPTIMOX Study in Europe, CON-cePT Study in USA)で検証されている途中である。末梢神経毒性は可逆性¹¹⁾であるため、この治療スケジュールはオキサリプラチン総投与量をより増やすことができると考えられ、今後分子標的薬剤と組み合わせていく世界的標準治療法になると期待されている。

以上より、現状では標準的な初回治療法は未確定であるが、次項で述べる分子標的治療薬がまだ承認されていない日本においては、FOLFOX4, mFOLFOX6, FOLFIRI, IFL のいずれかを患者の全身状態、担当医の経験および利便性などから選択していくべきである(図 1)。Grothey ら¹²⁾は、初回治療が何であれ、5-FU(+LV)、イリノテカン、オキサリプラチンの 3 剤を順次組み合わせて治療することが生存期間の延長に寄与することを示した。Tournigand ら⁹⁾の報告では生存期間中央値が約 20 カ月と selection bias があるにしても 1990 年代の約 2 倍にまで延長しており、大腸がん化学

療法の成績は飛躍的に進歩しているといえる。

一方、利便性という点で優れている経口フッ化ピリミジン系薬剤については UFT+LV 療法と capecitabine 単独療法(日本では未承認)が 5-FU+LV 静注療法と有効性が同等であるということが複数のランダム化比較試験¹³⁻¹⁶⁾において証明されている。現在では経口フッ化ピリミジン系薬剤はイリノテカンやオキサリプラチンなどとの併用療法での有効性が検討されているが、いまだ十分なエビデンスは得られていない。

また、前述のような積極的な治療レジメンに耐えられない高齢者や全身状態不良例では図 1 にあるように TS-1[®]または UFT 単剤療法や 5-FU 持続または急速静注+LV 療法、5-FU 少量持続静注療法(Lokich regimen: 5-FU 300 mg/m²/day, 連日 24 時間持続静注)により治療されるのが一般的である。

2. 分子標的治療薬(molecular targeted agents)の登場

現在、大腸がん領域において臨床応用されている分子標的治療薬は大きく 2 つの種類に分けられる。抗 EGFR 抗体(epidermal growth factor receptor monoclonal antibody)と抗 VEGF 抗体(vascular endothelial growth factor antibody)である。どちらの種類もすでにいくつかの薬剤が臨床応用されているが、アメリカですでに承認されているものは抗 EGFR 抗体では cetuximab(Erbitux[®], C-225)で

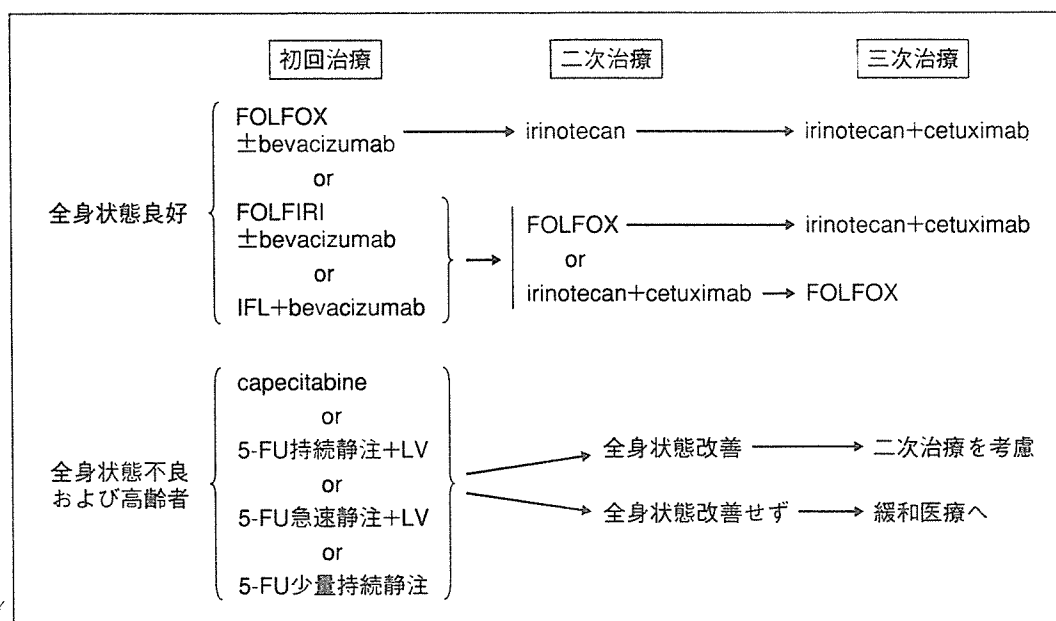


図2 アメリカにおける進行・再発大腸がん治療ガイドライン(NCCN Practice Guidelines 2005より改変)

つかのランダム化比較試験が欧米を中心に行われている(ただし日本においてはイリノテカンもオキサリプラチンも補助化学療法における保険承認はされていない)。

IFL療法はすでにその毒性と比較試験(CALGB C89803 Study)²²⁾の結果から補助療法としては行うべきでないとされた。FOLFIRI療法にしては2005年アメリカ臨床腫瘍学会総会で2つの試験結果(ACCORD-02 Study²³⁾, PETACC-3 Study²⁴⁾)が報告されたが、“有意差なし”と“T因子調整後に有意差あり”の結果であり、FOLFIRI有用性についての結論はまだ出ていない。

オキサリプラチンの補助療法における有用性については、2005年アメリカ臨床腫瘍学会総会でつぎの2つの試験結果が発表された。Stage II/III症例を対象としたNSABP C-07 Study²⁵⁾とMOSAIC Study²⁶⁾である。NSABP C-07 Studyは5-FU+LV weekly bolus regimenと、それに隔週でオキサリプラチン 85 mg/m²を加えたFLOX regimenの比較試験であり、6カ月間投与で3年無病生存率がFLOX群は76.5%と5-FU+LV bolus群より5%上まわり、有意によかったと報告された。MOSAIC Studyは、5-FU+LVのde Gramont regimenとFOLFOX4 regimenの比較試験であり、6カ月間投与で3年無病生存率がFOLFOX4群は78.2%と

5-FU+LV群より5%上まわり、有意に優れていた。すなわち、術後補助療法におけるオキサリプラチン投与の際の併用療法は5-FU+LVの急速静注でも持続静注でもどちらでも効果が期待できるということが示されたわけである。ただし生存期間についてはまだ経過観察期間中であり、本当にオキサリプラチンが補助化学療法に有用かどうかの最終結論は出ていない。また、オキサリプラチンによる末梢神経障害は補助化学療法においては大きな問題であり、今後投与スケジュールに工夫が必要になるであろう。

分子標的治療薬も、すでに欧米では補助化学療法の比較試験に組み込まれており、使用が検討されている。BevacizumabについてはNSABP C-08 (mFOLFOX6), MOSAIC-2(FOLFOX4 or capecitabine+オキサリプラチン(XELOX) or FOLFOX7 3カ月), AVANT(FOLFOX4 or XELOX)などのstudyで、CetuximabについてはINT-N0147 Study(mFOLFOX6 6カ月 or 3カ月)で、それぞれの治療法に分子標的治療薬がon/offされて比較試験が行われている。

補助化学療法の対象として、stage III症例については有用性が確立されている。しかし、stage II症例に関しては十分なエビデンスがなく、補助化学療法が必要かどうかのコンセンサスも得られておらず、今後の課題のひとつである。

直腸がんの補助化学療法については最初に述べたように欧米とは開発の方向性が異なり、データも参考にはできない。現時点で日本においてはUFTなどの経口フッ化ピリミジン系薬剤か5-FU+LV 静注療法が推奨される。

今後の課題

前述したように、大腸がんの化学療法においては5-FU(+LV)、イリノテカン、オキサリプラチンの3剤を順次組み合わせて治療することが生存期間の延長に寄与するということがすでに証明されている¹²⁾。今後は患者ごとに、もっとも効果のある組合せを最初に選択するテーラーメイド医療が望まれる。すでに thymidylate synthase(TS)や dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD)など5-FUの代謝酵素を測定し、効果予測をする試みがなされているが、いまだ結論は得られていない。これからも5-FUのみならずイリノテカンやオキサリプラチンの代謝経路にかかわる酵素の遺伝子多型や変異を研究し、また分子標的治療薬の標的分子の発現量や遺伝子多型と副作用や効果との関連をさらに研究していくことがテーラーメイド医療の実現には必要であろう。

文献

- 1) de Gramont, A. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **15** : 808-815, 1997.
- 2) Rougier, P. et al. : *Lancet*, **352** : 1407-1412, 1998.
- 3) Saltz, L. B. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **343** : 905-914, 2000.
- 4) Douillard, J. Y. et al. : *Lancet*, **355** : 1041-1047, 2000.

- 5) Rothenberg, M. L. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **19** : 3801-3807, 2001.
- 6) Sargent, D. J. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **345** : 144-146, 2001.
- 7) Rothenberg, M. L. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **21** : 2059-2069, 2003.
- 8) de Gramont, A. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **18** : 2938-2947, 2000.
- 9) Tournigand, C. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **22** : 229-237, 2004.
- 10) Goldberg, R. M. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **22** : 23-30, 2004.
- 11) Grothey, A. : *Semin. Oncol.*, **30**(Suppl. 15) : 5-13, 2003.
- 12) Grothey, A. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **22** : 1209-1214, 2004.
- 13) Douillard, J. Y. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **20** : 3605-3616, 2002.
- 14) Carmichael, J. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **20** : 3617-3627, 2002.
- 15) Hoff, P. M. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **19** : 2282-2292, 2001.
- 16) van Cutsem, E. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **19** : 4097-4106, 2001.
- 17) Cunningham, D. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **351** : 337-345, 2004.
- 18) Hurwitz, H. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **350** : 2335-2342, 2004.
- 19) Giantonio, B. J. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **23**(Suppl.) : 2, 2005.(abstract)
- 20) Wolmark, N. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **22**(Suppl.) : 3508, 2004.(abstract)
- 21) Twelves, C. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **352** : 2696-2704, 2005.
- 22) Saltz, L. B. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **22**(Suppl.) : 3500, 2004.(abstract)
- 23) Ychou, M. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **23**(Suppl.) : 3502, 2005.(abstract)
- 24) van Cutsem, E. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **23**(Suppl.) : LBA8, 2005.(abstract)
- 25) Wolmark, N. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **23**(Suppl.) : LBA3500, 2005.(abstract)
- 26) Andre, T. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **350** : 2342-2351, 2004.

* * *

外科治療

右半・横行結腸切除術

Right hemicolectomy, Transverse colectomy

鮫島 伸一 澤田 俊夫

Shinichi Sameshima and Toshio Sawada

■群馬県立がんセンター外科

key words : 上行結腸癌, 横行結腸癌, 右半結腸切除, 横行結腸切除, surgical trunk, functional end-to-end anastomosis

はじめに

右側大腸癌の増加とともに、右半結腸切除、横行結腸切除の症例数は増加している。横行結腸癌では肝彎曲部寄りの場合は右半結腸切除、脾彎曲部寄りの場合は左半結腸切除が行われ、純粹の横行結腸切除は少ない。右半結腸切除は腹腔鏡下で行われることが多くなってきた。腹腔鏡下手術も、剝離の方向などに若干の差はあるものの、開腹と同様の手技であり、開腹手術での解剖を十分に理解することが必要である。

右半結腸切除術

ここでは標準的なD₃郭清について述べる。郭清範囲は血管処理で決定される(図1)。病変が回盲部寄りの上行結腸の場合、回結腸動脈根部、右結腸動脈根部、中結腸動脈の右枝を切除する。病変が肝彎曲部寄りの上行結腸や横行結腸癌のD₃郭清では、中結腸動脈が主幹動脈となるので、中結腸動脈根部のリンパ節を郭清する。中結腸動脈を根部で切離した場合、拡大右半結腸切除術とよぶ。

1. 開腹

臍の右を回る正中切開で開腹する。腹膜播種、肝転移、腫瘍の腹壁浸潤、リンパ節転移を確認する。小腸をタオルなどで包み左側に圧排し、surgical trunkが視認できるように視野を確保する。

2. 回盲部の授動(図2)

回盲部の生理的癒着を剝離する。上行結腸右側の

fusion fasciaを上方向に向かって開く。回腸腸間膜漿膜を回盲部から口側に向かって十分に切離する。回盲部を左上方に牽引しながら授動する。高度進行癌で腹壁や後腹膜への浸潤が疑われる場合、大網処理、肝彎曲部授動を先行することが多い。十二指腸、腎前筋膜との間を剝離し、尿管を確認した上で、最後に腫瘍と腹膜や後腹膜の脂肪層を含めて授動すると安全である。

3. 肝彎曲部授動と大網の切離

fusion fasciaの切離を上方に続けて、肝結腸靭帯を切離する。肝結腸靭帯内は意外に小血管が豊富なので、止血をよく確認する。肝結腸靭帯に続いて、大網を横行結腸附着部で正中より左側まで十分に切離する。結腸を内下方に牽引しながら、十二指腸下行脚、水平脚との間の疎性組織を剝離する。十二指腸を損傷しないようにていねいに剝離する。通常出血はみない。下方へ剝離すると腎筋膜に覆われた右腎が確認される。内側への剝離が進むと脾が確認される。胃結腸静脈幹に流入する副右結腸静脈を確認し結腸切離する。結腸をあまり強く牽引すると、副右結腸静脈や上腸間膜静脈(SMV)の枝が裂ける。結腸の授動はsurgical trunkの背側まで十分に行う。尿管や精巣(卵巣)動静脈は自然に腎筋膜前葉の背側に落ちる。上行結腸と十二指腸は解剖学的にきわめて近い位置関係にある。上行結腸癌で十二指腸浸潤がみられる場合、十二指腸を合併切除する。

4. 血管処理と郭清

胃結腸静脈幹から回結腸静脈根部にかけてのSMVがいわゆるsurgical trunkで、surgical trunkの露出

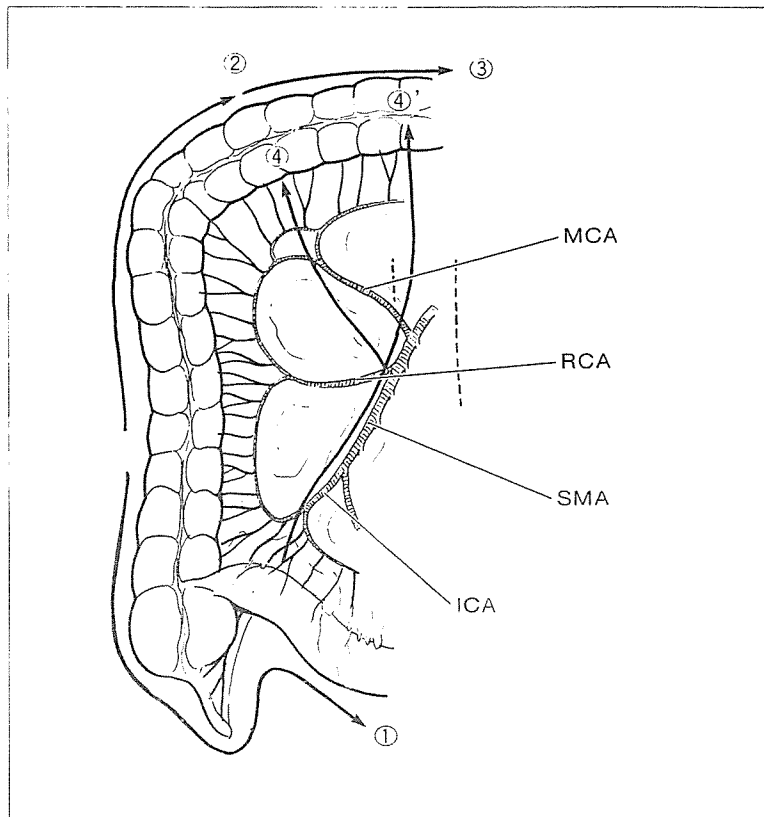


図1 右半結腸切除の手順と切除範囲

①回盲部の授動, ②肝彎曲部の授動, ③大網の切離, ④血管処理, ④' 血管処理 (拡大右半切除)

SMA: 上腸間膜動脈, MCA: 中結腸動脈, RCA: 右結腸動脈, ICA: 回結腸動脈

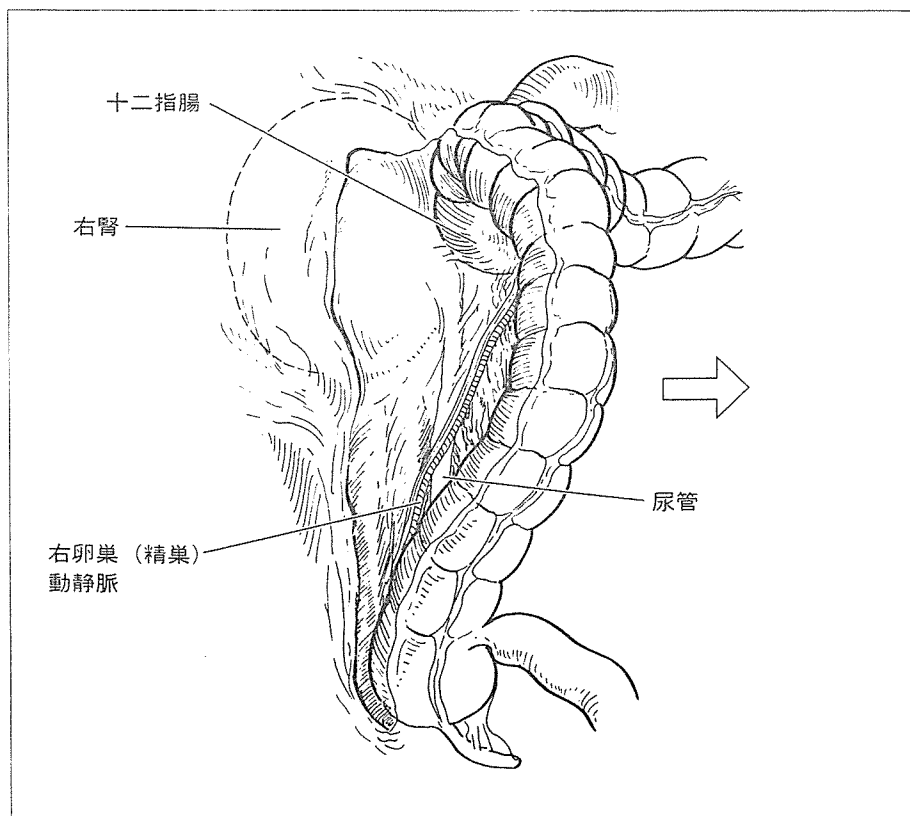


図2 右側結腸の授動

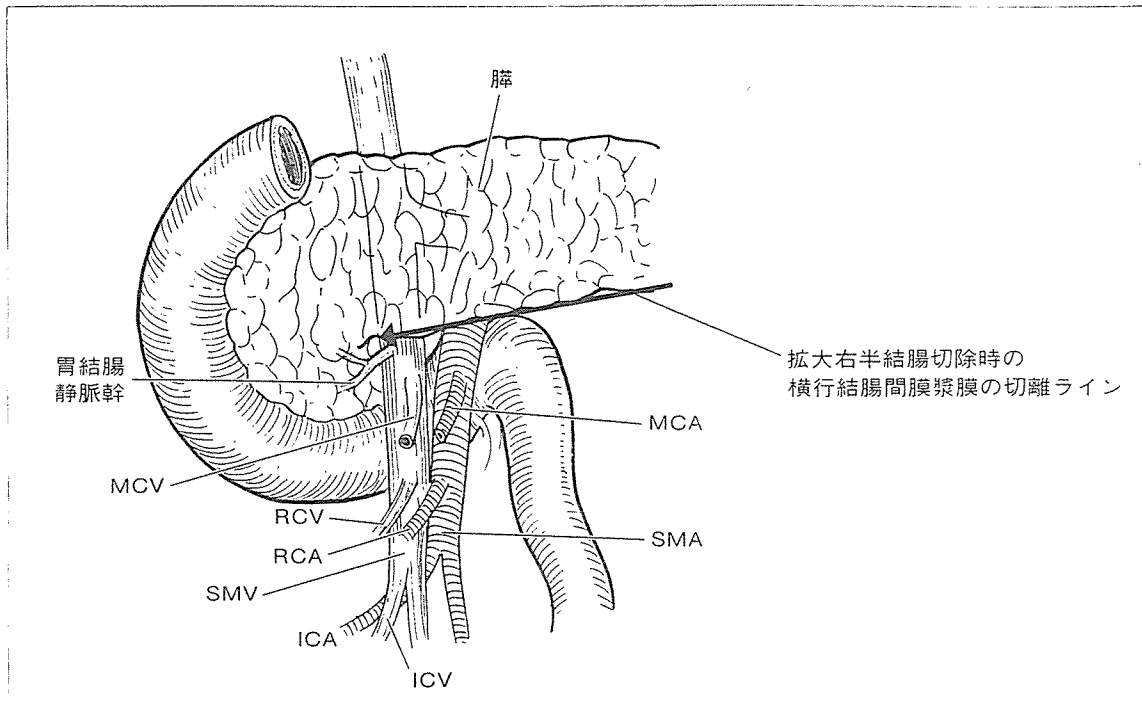


図3 surgical trunk (□箇所)

SMA：上腸間膜動脈，SMV：上腸間膜静脈，MCA：中結腸動脈，MCV：中結腸静脈，RCA：右結腸動脈，RCV：右結腸静脈，ICA：回結腸動脈，ICV：回結腸静脈

が右半結腸切除の血管処理，郭清の中心的手技である(図3)。surgical trunkの露出は，腸間膜の前面から血管処理する方法と，背面から行う方法があるが，ここでは前面からの処理法を記す。

助手に上行結腸を把持し外側に牽引してもらい，腸間膜に緊張を与える。回結腸動静脈の内側の腸間膜の無血管野から surgical trunk 前面の漿膜を上方に向かって開く。

回結腸動静脈を上腸間膜動脈(SMA)，SMV 流入部で結紮切離する。回結腸動脈が静脈の背側を走ることが多い。SMVの前面と右側を露出するように上方に剝離する。SMVの内側とSMAの前面は通常郭清しない。surgical trunkの前面を横切る右結腸動脈を結紮切離する。右結腸動脈は欠損することが多い。右結腸静脈を切離する。通常の右半結腸切除では，中結腸動脈右枝の分岐部方向へ漿膜を切開し，中結腸動脈右枝を結紮切離する。腫瘍の主幹動脈が中結腸動脈でD₂郭清をする場合，中結腸動脈を根部で処理する(拡大右半結腸切除術)。この場合，横行結腸間膜の上方からアプローチしたほうがわかりやすい。まず，臍下縁で横行結腸間膜の漿膜を開く。神経線維に覆われたSMAと中結腸動脈を確認する。さらに腹膜を右側に開くとSMVの前面が確認される。中結腸動脈を根部にて結紮切離する。SMA周囲の神経叢は通常郭清し

ない。中結腸静脈を処理し，SMVの右側面と前面を露出し下方へ向かって surgical trunk を露出しながら郭清を行う。

5. 腸間膜の処理と腸管の切離

右半結腸の動脈は anomaly が多いため，吻合部結腸の血流に注意する。横行結腸の切離ラインは腸管の色調に注意して決定する。腸管の色が悪い場合，思い切って大きく切離範囲を広げる。腸管切離ラインに向かって，小腸間膜，結腸間膜を処理し，辺縁動脈を結紮切離する。吻合法に従って腸管を切離する。

6. 吻合

吻合時，回腸と結腸との間の口径差をなくす工夫を要する。手縫いでは，端々吻合，端側吻合が行われる。腸管の縫合手技は，Albert-Lembert法，層々吻合法，Gambie法¹⁾などおのおの手慣れた方法で行う。器械吻合では，機能的端々吻合(functional end-to-end anastomosis)や端側吻合が行われる。手術時間の短縮，術野の汚染防止の点から器械吻合が行われることが多い。

1) 手縫いの端々吻合(図4)

回腸と結腸の口径差を小さくするために，回腸を切離する際，腸間膜対側が短くなるように斜めに切離するか，切り込みを入れる。吻合は4-0吸収糸で行う。

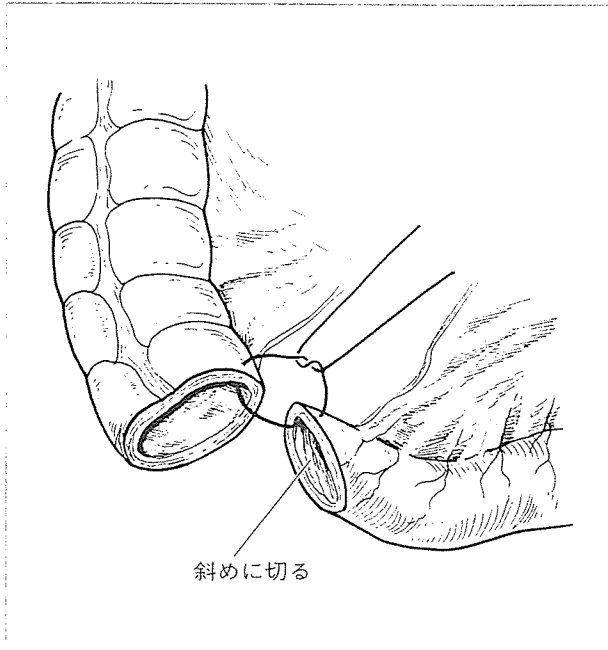


図4 回腸結腸端々吻合(手縫い)
回腸断端は腸間膜対側が短くなるように斜めに切離する

2) 手縫いの端側吻合

結腸は自動縫合器で切離する。結腸の腸間膜対側を回腸径と同じ長さに切開し、4-0吸収糸を用いて吻合する。吻合時の口径差がないのがメリットである。

3) 機能的端々吻合 (functional end-to-end anastomosis) (図5 a, b)

自動縫合器を用いて回腸と結腸を側々に吻合する方

法である²⁾。自動縫合器挿入口も自動縫合器にて切離する。TLC75 (Ethicon) などの長めの縫合器を使うと吻合口が大きくとれ、操作も楽である。手技については他の文献を参考にされたい³⁾。短時間で吻合でき⁴⁾、端々吻合に比べ吻合口が広くとれるメリットがあるため、最近よく行われる。

4) 器械吻合による端側吻合

結腸断端から自動吻合器 (CDH や PCEEA) を挿入し、回腸と端側吻合を行う。28mm 程度の口径の吻合器を用いる。結腸断端は自動縫合器で閉鎖する。

7. 閉腹

腸間膜を縫合閉鎖する。腹腔内を温生理食塩水で洗浄し、Morison 窩にドレーンを留置する。2層に閉腹する。

8. 合併症

縫合不全や吻合部狭窄の頻度はきわめて低い。まれに器械吻合の際に吻合部出血が起こるといわれている。術後、十二指腸の蠕動機能低下による通過障害が起こることがある。胃管を留置し保存的に治療する。

9. 手技のポイント

- (1) 回盲部授動の際、腎前筋膜前葉より層が深くなり、尿管の背側に入らないようにする。
- (2) 結腸間膜と十二指腸の剥離の際に、十二指腸を

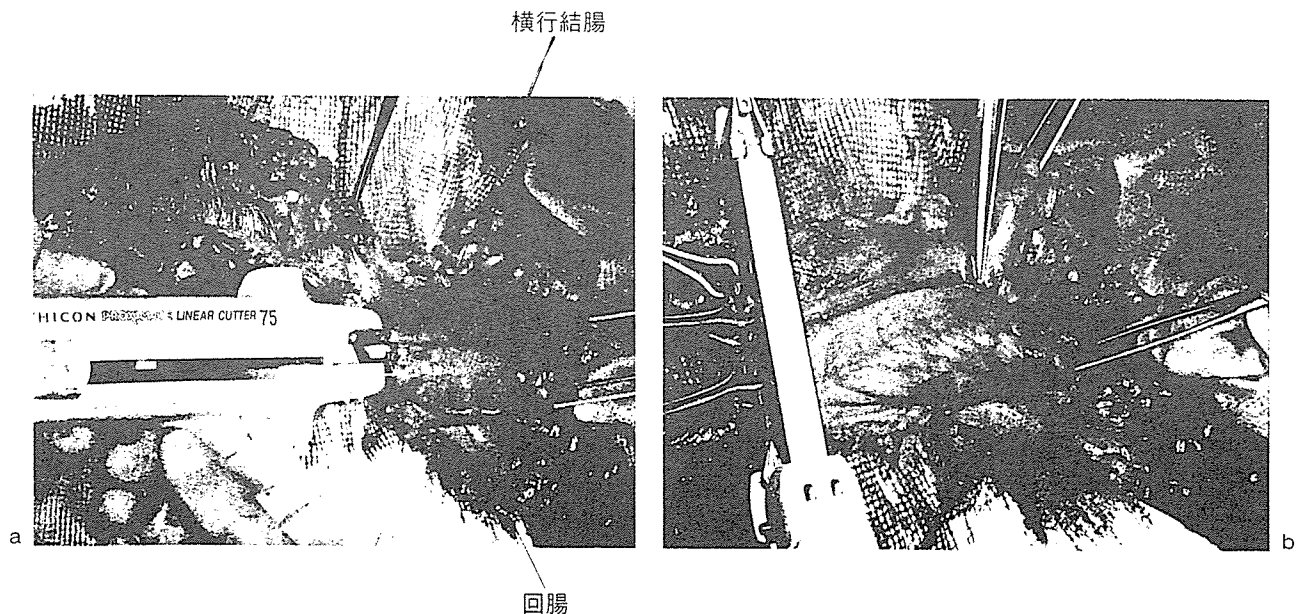


図5 機能的端々吻合 (functional end-to-end anastomosis)
a: 自動縫合器で側々吻合
b: 自動縫合器挿入口を含めて回腸から上行結腸を切離

愛護的に扱う。

- (3) 結腸の牽引による副結腸静脈や、SMVの枝の損傷に気をつける。

横行結腸切除

横行結腸癌は肝曲寄りだと右半結腸切除、脾曲寄りだと左半結腸切除が行われ、横行結腸切除術の頻度は少ない。またD₃郭清を行う場合、中結腸動脈を根部で処理することになる。右結腸動脈が欠損することも多く、上行結腸の血流が悪くなることがあるので、上行結腸を含めた拡大右半結腸切除を行うことが多い。解剖の理解については右半結腸切除と同様である。

1. 開腹

上腹部正中切開にて開腹する。

2. 肝彎曲部、脾彎曲部の授動

肝結腸靱帯、脾結腸靱帯を切離し、授動する。脾彎曲部の授動の際、結腸間膜を強く引っ張ると脾を損傷するので注意する。吻合に緊張がかからぬために十分な授動を行う。横行結腸が短い症例の場合、回盲部付近まで授動する。

3. 大網の切離

大網を結腸附着部で切離する。癌の漿膜浸潤がみられる場合は大網を大きく合併切除する。大網に大きく浸潤している場合、胃大網動脈を含めて切除する。

4. 血管処理と郭清

中結腸動脈を根部で切離するが、拡大右半結腸切除の項を参考にされたい。臍下縁で横行結腸間膜の漿膜を開き、神経線維に覆われたSMAと中結腸動脈の起始部を確認する。漿膜をさらに右側に開くとSMVの前面が確認される。SMVの枝は損傷しやすいので注意する。出血の際はむやみに結紮しようとせず、圧迫止血する。中結腸動脈を根部にて結紮切離する。中結腸動脈が右結腸動脈との共通間を形成する場合、中結

腸動脈分岐直下で切離する。より郭清を確実に行うには右結腸動脈も切離し、拡大右半切除にする。中結腸静脈を結紮切離する。SMA周囲の神経叢は通常郭清しない。

5. 吻合

手縫いの端々吻合か前述の器械によるfunctional end-to-end anastomosis)を行う。

6. 閉腹

腸間膜を縫合閉鎖する。腹腔内を温生理食塩水で洗浄し、吻合部付近にペンローズドレーンを留置する。2層に閉腹する。

7. 手技のポイント

- (1) 脾損傷に注意する。
- (2) SMVの枝からの出血に注意する。

おわりに

右半結腸切除や横行結腸切除は解剖を理解していれば、腹部手術のなかでは比較的易しい手術で、D₃郭清では術者間で大きな差は出ないと思われる。技量の差は中結腸動脈根部の郭清の違いであろう。手技に関して術者や施設に多くの違いがある。手術を安全かつ迅速に行えるように個々が一定の手技を確立すべきである。

【文献】

- 1) 小平進, 野沢慶次郎: 消化管吻合法のすべて; 手縫い吻合. 手術, 58: 335~341, 2004.
- 2) Steichen, F. M.: The use of staples in anatomical side-to-side and functional end-to-end enteroanastomosis. Surgery, 64: 948~953, 1968.
- 3) 鮫島伸一, 澤田俊夫: 器械吻合を用いた結腸癌手術. 手術, 57: 667~671, 2003.
- 4) 江本節, 吉川澄, 藤川正博, 他: 右側大腸癌に対する器械吻合(機能的端々吻合)の臨床的検討. 手術, 56: 811~814, 2002.

Thymidine phosphorylase expression and efficacy of adjuvant doxifluridine in advanced colorectal cancer patients

SHIRO HASEGAWA, KAZUHIRO SEIKE, KEIJI KODA, NOBUHIRO TAKIGUCHI,
KENJI ODA, RUMIKO HASEGAWA and MASARU MIYAZAKI

Department of General Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University,
1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba-shi, Chiba 260-8677, Japan

Received September 21, 2004; Accepted November 27, 2004

Abstract. To clarify the correlation between the expression level of thymidine phosphorylase (TP) and efficacy of doxifluridine (5'-DFUR) and 5-fluorouracil (5-FU), samples from 177 colorectal cancer patients who underwent curative resection were evaluated by immunohistochemical staining using a newly developed monoclonal antibody 1C6-203. Patients were randomly given either oral 5'-DFUR or 5-FU as postoperative adjuvant chemotherapy. In Dukes' C staged colon cancer patients treated with 5'-DFUR, better survival was observed in the high TP patients than the low TP patients ($P=0.025$ by the log-rank test). The observed 5-year survival rates were 91.2 and 74.8%, respectively. No correlation between TP expression and patient prognosis was detected in the 5-FU group. In Dukes' C staged colon patients with high TP expression, the 5'-DFUR group had slightly better survival than the 5-FU group. These findings suggest that TP may be a chemosensitive marker for 5'-DFUR as postoperative adjuvant chemotherapy for advanced colon cancer patients.

Introduction

Although intravenous administration of 5-fluorouracil (5-FU) + leucovorin (LV) was introduced worldwide in the mid-1990s as the standard postoperative adjuvant therapy for colorectal cancer (1), oral cancer drugs such as capecitabine have recently been re-evaluated due to a favorable benefit:risk ratio compared with 5-FU+LV (2,3), while in Japan, oral fluoropyrimidines have been widely used as postoperative adjuvant chemotherapy since the early 1990s, due to better compliance and minimal toxicity. However, a major retardation of cancer chemotherapy is the lack of predictive markers for responsiveness, and selecting effective chemotherapy might not only offer a

survival benefit but also avoid unnecessary adverse effects caused by unsuitable drugs.

Thymidine phosphorylase (TP), which is predominantly observed in tumor tissue (4-7), is a key enzyme in the metabolic activation of fluoropyrimidine by conversion of doxifluridine (5'-DFUR), which is an intermediate metabolite of capecitabine, to 5-FU (8). Thus, administration of 5'-DFUR against tumors with high TP expression is expected to yield high concentrations of 5-FU in tumor tissue, and thereby a good chemotherapeutic response. In fact, the clinical efficacy of 5'-DFUR has been demonstrated in colorectal cancer patients with high-TP-expression tumors compared to patients with low-TP tumors (9,10). However, the efficacy of 5'-DFUR has not previously been compared to that of other therapies.

Immunohistochemical staining of TP has been widely adopted to evaluate its relationships with clinicopathologic features and prognosis. However, these studies have produced conflicting results, and may not be definitive, as monoclonal antibody (MAb) 654-1, which stains stromal cells stronger than cancer cells, was used (11-14). A newly developed MAb, 1C6-203, is reportedly more sensitive to colorectal cancer cells than MAb 654-1 in 10% formalin-fixed specimens (15). Thus, MAb 1C6-203 appears to be more suitable than MAb 654-1 to assess TP expression.

We previously conducted a randomized controlled trial (RCT) to compare the usefulness of 5'-DFUR to oral 5-FU as postoperative adjuvant chemotherapy for 558 patients with colorectal cancer, and reported a survival benefit in 5'-DFUR therapy in Dukes' B or C staged patients, particularly in colon cancer patients (16). In the present study, we assessed colorectal cancer patients from the previous RCT who were strictly followed for more than 5 years, and examined the predictive value of TP expression for patients' prognoses by immunohistochemistry using the new sensitive antibody.

Materials and methods

Patients. A total of 177 colorectal cancer patients (103 men and 74 women, median age at surgery; 62.0 years (range; 42-78 years), who had enrolled in the previously mentioned RCT and whose paraffin-embedded specimens were available for immunohistochemical staining, were assessed. All patients were diagnosed as having TNM stage II or III primary colorectal cancer, and underwent curative resection at institutes

Correspondence to: Dr Kazuhiro Seike, Department of General Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba-shi, Chiba 260-8677, Japan
E-mail: kseike-cib@umin.ac.jp

Key words: colorectal cancer, thymidine phosphorylase, adjuvant chemotherapy, doxifluridine, 5-fluorouracil

affiliated with the Department of General Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Japan, from April 1993 to September 1996. No patient had any history of treatment for other colorectal cancers, other active cancers, or serious concurrent disease. Patients were randomly assigned to two groups; either the 5'-DFUR group (84 patients) or 5-FU group (93 patients) at each institute. No differences in patient characteristics were observed between the two groups (Table I). The present study was approved by the institutional review boards at participating centers. All patients provided fully informed consent.

Treatment schedule. Both groups were given 6.0 mg/m² of mitomycin C intravenously on the day of surgery and on the following day. Oral chemotherapy was started from 2 weeks after surgery; the 5'-DFUR group was given 460 mg/m²/day and the 5-FU group was given 115 mg/m²/day, daily for 1 year. Both groups were concomitantly given 3 g/day of polysaccharide kureha for 1 year. All patients were followed for more than 5 years after surgery, and the median follow-up period after surgery was 5.5 years. No patient had additional treatment unless the cancer recurred or another cancer developed.

Immunohistochemical staining. After reviewing hematoxylin-eosin-stained slides of surgical sections, we selected a paraffin block including the deepest invasion site. Immunohistochemical staining was performed using avidin-biotin-peroxidase complex (Peroxidase Vectastain ABC Kit[®], Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA). The sections were deparaffinized with xylene and rehydrated with ethanol. The specimens were washed with phosphate buffered saline (PBS) for 5 min, and endogenous peroxidase was then blocked by incubating the preparations with 0.3% hydrogen peroxide in methanol for 30 min. After washing the preparations 3 times with PBS for 5 min, they were incubated for 15 min with biotin blocking solution, rinsed again with PBS for 5 min, and re-incubated with PBS containing 3% skim milk for 30 min. These preparations were then incubated with anti-TP mouse antibody, IC6-203 (Nippon Roche Research Center, Kamakura, Japan), which were diluted 1:1000 with 0.5% normal horse serum/PBS at 4°C overnight in a moist chamber. The sections were then washed 3 times with PBS and incubated with peroxidase-labeled horse anti-mouse IgG monoclonal antibody for 30 min at room temperature. These were rinsed again and then incubated with avidin-biotin-peroxidase complex for 30 min at room temperature. After washing 3 more times, the preparations were incubated with diaminobenzidine substrate for 1-7 min. The specimens were rinsed again with distilled water, counterstained with Mayer's hematoxylin and mounted.

Evaluation of stained sections. TP expression was simultaneously evaluated on x100 and x50 fields using a two-headed light microscope by 2 investigators (Drs S. Hasegawa and N. Takiguchi) with no prior knowledge of the patients' clinico-pathologic characteristics and prognosis. Specimens with ≥5% cancer cells stained in the cytoplasm or nucleus were regarded as having high TP expression, while the rest were regarded as having low TP expression.

Table I. Patient characteristics.

	5'-DFUR (n=84)	5-FU (n=93)	P-value
Age (y)	61.2	62.7	0.252
Gender (M/F)	53/31	50/43	0.269
Location of tumor			
Colon	56	61	0.427
Rectum	28	32	
Histologic differentiation			
Well	47	50	0.727
Moderate	33	40	
Poor	3	3	
Mucinous	1	0	
Depth of tumor			
pT1	1	1	0.954
pT2	9	9	
pT3	47	56	
pT4	27	27	
Dukes' stage			
A	8	8	0.860
B	39	47	
C	37	38	

Statistical analysis. Statistically significant differences in continuous variables between groups were assessed by the t-test, and with categorical variables either by the χ^2 test or Mann-Whitney U-test. P-values <0.05 were considered significant. The survival curve was calculated by the Kaplan-Meier method, and differences between two groups were evaluated using the log-rank and Wilcoxon tests.

Results

Relationship between TP expression and clinicopathological characteristics. TP staining was observed in the nucleus and/or cytoplasm of cancer cells (Fig. 1). Most normal colorectal mucosal cells were not stained with anti-TP antibody. TP was highly expressed in 92 (52.0%) colorectal cancer patients.

Table II summarizes the relationships between TP expression and some clinicopathological characteristics. In the 5-FU group, patients with low TP had more advanced tumor depth than those with high TP, but no difference in Dukes' stage was observed between them. No other correlation between TP expression and clinicopathological characteristics was observed.

Correlation between TP expression and outcome of adjuvant chemotherapy. A comparison of overall survival time of the colorectal cancer patients and tumor TP expression revealed no correlation in either the 5'-DFUR or 5-FU group (Fig. 2).



Figure 1. Immunohistochemical staining with 1C6-203 for TP in colon cancer tissue. TP staining was seen in the cytoplasm and/or nucleus of cancer cells (original magnification x50).

Table II. Relationships between TP expression and clinico-pathologic features.

	High TP (n=92)		Low TP (n=85)	
	5'-DFUR (n=42)	5-FU (n=50)	5'-DFUR (n=42)	5-FU (n=43)
Age (y)	60.7	63.3	61.8	61.9
Gender (M/F)	25/17	22/28	28/14	28/15
Location of tumor				
Colon	26	34	30	27
Rectum	16	16	12	16
Histologic differentiation				
Well	20	27	27	23
Moderate	21	21	12	19
Poor	1	2	2	1
Mucinous	0	0	1	0
Depth of tumor				
pT1	0	1	1	0
pT2	6	6	3	3
pT3	25	36	22	20
pT4	11	7	16	20
Dukes' stage				
A	4	6	4	2
B	18	27	21	20
C	20	17	17	21

*P=0.0062.

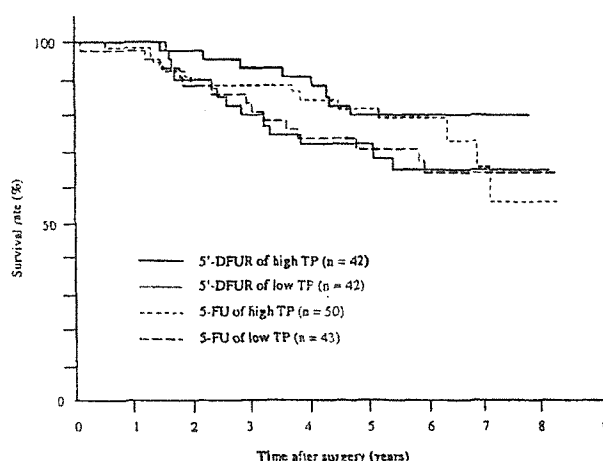


Figure 2. Overall survival curve between patients with high and low TP expression of the colorectal cancer patients in the two chemotherapy groups. Estimated overall 5-year survival rates in patients with high and low TP expression were 79.5 and 71.4% in the 5'-DFUR group, respectively, and 81.6 and 70.5% in the 5-FU group, respectively. No significant difference was detected among each group.

However, in the colorectal cancer patients with Dukes' C stage, slightly better survival was observed in the 5'-DFUR group with high TP expression than in the 5-FU group with low TP expression, while no significant difference was detected in the 5-FU group (Fig. 3). Evaluation of Dukes' C patients with only colon cancer revealed significantly better survival in the 5'-DFUR group with high TP expression than low TP expression. In addition, Dukes' C staged colon cancer patients with high TP expression had slightly better survival in the 5'-DFUR group than the 5-FU group, while in the low

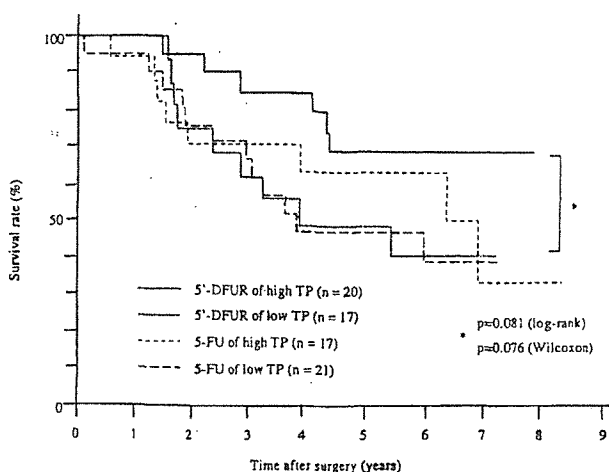


Figure 3. Overall survival curve between patients with high and low TP expression in Dukes' C staged colorectal cancer patients in the two chemotherapy groups. Estimated overall 5-year survival rates in patients with high and low TP expression were 69.1 and 49.2% in the 5'-DFUR group, respectively, and 63.5 and 47.6% in the 5-FU group, respectively. In the 5'-DFUR group, patients with high TP expression had slightly better survival than those with low TP expression.

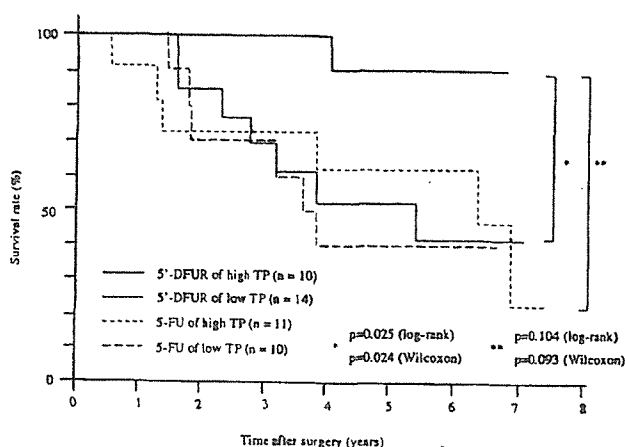


Figure 4. Overall survival curve between patients with high and low TP expression in Dukes' C staged colon cancer patients in the two chemotherapy groups. Estimated overall 5-year survival rates in patients with high and low TP expression were 91.2 and 74.8% in the 5'-DFUR group, respectively, and 82.2 and 71.1% in the 5-FU group, respectively. In the 5'-DFUR group, patients with high TP expression had significantly better survival than those with low TP expression. Of the patients with high TP expression, the 5'-DFUR group had slightly better survival than the 5-FU group.

TP patients, no difference in survival was observed between the 5'-DFUR and 5-FU groups (Fig. 4).

Discussion

TP activates 5'-DFUR to the active drug 5-FU by cleaving the 5-deoxyribose moiety, while by addition of 2-deoxyribose-1-phosphate TP can activate 5-FU to 5-fluoro-2'-deoxyuridine, a precursor of FdUMP, which inhibits thymidylate synthase, responsible for *de novo* thymidylate synthesis. Therefore, high

levels of TP overexpression affect 5-FU sensitivity. However, several reports have demonstrated that high TP expression correlates with low sensitivity to 5-FU (17,18). Similarly, the present study was unable to demonstrate 5-FU efficacy in patients with high TP expression. We previously demonstrated that TP expression has no significant relationship with prognosis in gastric cancer patients treated with 5-FU, but that 5'-DFUR treated staged III gastric cancer patients with high tumor TP expression receive a significant survival benefit (19,20). The present study produced similar results, in that administration of 5'-DFUR contributed a higher survival benefit in Dukes' C staged colorectal cancer patients with high TP expression than those with low TP expression. In addition, slightly better survival was observed in the 5'-DFUR treated Dukes' C colon cancer patients than the 5-FU treated ones.

In the present study, a newly developed MAb, 1C6-203, was used for immunohistochemical analysis. In previous studies, MAb 654-1, which stained stromal cells stronger than cancer cells, was used, and thus TP expression was often evaluated by staining of cancer stromal cells not cancer cells (11-14,21,22). MAb 1C6-203 was raised against recombinant human TP, while MAb 654-1 was directed against human TP refined from a human colon cancer HCT 116 xenograft. The sensitivity of the new developed MAb 1C6-203 to colorectal cancer cells is 60%, whereas that of MAb 654-1 is 20% in 10% formalin-fixed specimens. In addition, this new antibody produced a 67% expression rate in stromal immune cells, while MAb 654-1 had a lower frequency of 47% in 10% formalin-fixed specimens (15). We also assessed TP expression in stromal cells (data not shown), and found that the relationships between TP expression and patient survival were similar to the results in cancer cells. Thus, MAb 1C6-203 appears more suitable than MAb 654-1 to assess TP expression in cancer cells, and contributes to the reliability of the results of the present study.

Our study demonstrated the clinical efficacy of 5'-DFUR in Dukes' C staged patients with high TP expression, particularly in colon cancer. In contrast to colon cancer, rectal cancer reportedly has different behavior in relapse, such as intrapelvic recurrence associated with or without anastomosis, even with the same histology and staging (23,24), and thus the operative outcome might significantly influence patient prognosis even if a curative resection was macroscopically performed. Thus, interpreting the results of postoperative adjuvant chemotherapy in rectal cancer patients requires caution, and it might be preferable to analyze only colon cancer patients if the chemotherapeutic responses are being strictly evaluated.

In general, the benefit from adjuvant chemotherapy has been clearly established in Dukes' C staged colon cancer patients. Mamounas *et al.* (25) demonstrated the clinical efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes' B staged colon cancer, as lymph node micro-metastasis, present in more than half the patients with Dukes' B staged colon cancer, significantly correlated with patient prognosis. Our study showed no survival difference in patients with Dukes' B staged colon cancer, but indicated the efficacy of 5'-DFUR in Dukes' C staged colon cancer patients with high TP expression, which supports the chemotherapeutic potential of 5'-DFUR as postoperative adjuvant treatment for advanced colon cancer.

TP is also an enzyme known as platelet-derived endothelial cell growth factor (26) or tumor-associated angiogenic factor (27), and correlates with tumor growth and metastasis not only in colorectal cancer but also in stomach and ovarian cancer (5,6,28,29). However, the relationship between TP expression and tumor malignant potential remains controversial. Studies have shown that TP expression in liver metastasis is higher than in primary colorectal cancer (30,31) and high TP expression is a risk factor for hematogenous metastasis in patients with Astler Collier B1/B2 colorectal cancer (17). In contrast to these studies, better survival in patients with high TP expression has been demonstrated in several studies (11,21). In the present study, no correlation was detected between TP expression and clinicopathologic features. This discrepancy was probably due to the various chemotherapy regimens or different analysis methods.

Based on these findings, immunohistochemical evaluation of TP expression might help predict patient response to oral 5'-DFUR. There is an increasing need for defining new factors that might be used to predict prognosis in colorectal cancer and its response to therapy. Several enzymes, such as thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and orotate phosphoribosyl dehydrogenase, have been reported to be useful in predicting the sensitivity of colorectal cancer to 5-FU based chemotherapy (32,33). Hotta *et al* reported that TP level could be evaluated from preoperative endoscopic biopsy specimens (34). Establishing a predicting marker for chemo-sensitivity should contribute to effective neo-adjuvant chemotherapy in patients with high-risk of recurrence.

Acknowledgements

We greatly appreciate the cooperation of all investigators from the 7 affiliates of the Department of General Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Japan.

References

1. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) Investigators: Efficacy of adjuvant fluorouracil and folic acid in colon cancer. *Lancet* 345: 939-944, 1995.
2. Hoff PM, Ansari R, Batist G, Cox J, Kocha W, Kupermic M, Maroun J, Walde D, Weaver C, Harrison E, Burger HU, Osterwalder B, Perez-Manga G, Rosso R, Rougier P, Schmiegel WH, Seitz JF, Thompson P, Viteitez JM, Weitzel C and Harper P: Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. *J Clin Oncol* 19: 2282-2292, 2001.
3. Van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, Allman D, Bajetta E, Boyer M, Bugat R, Findlay M, Frings S, Jahn M, McKendrick J, Osterwalder B, Perez-Manga G, Rosso R, Rougier P, Schmiegel WH, Seitz JF, Thompson P, Viteitez JM, Weitzel C and Harper P: Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. *J Clin Oncol* 19: 4097-4106, 2001.
4. Takebayashi Y, Yamada K, Miyadera K, Sumizawa T, Furukawa T, Kinoshita F, Aoki D, Okumura Y, Yamada Y, Akiyama S and Aikou T: The activity and expression of thymidine phosphorylase in human solid tumors. *Eur J Cancer* 32A: 1227-1232, 1996.
5. Takebayashi Y, Akiyama S, Akiba S, Yamada Y, Murata F and Aikou T: Clinicopathologic and prognostic significance of an angiogenic factor, thymidine phosphorylase, in human colorectal carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 88: 1110-1117, 1996.
6. Takebayashi Y, Miyadera K, Akiyama S, Hokita S, Yamada K, Akiba S, Yamada Y, Sumizawa T and Aikou T: Expression of thymidine phosphorylase in human gastric carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 87: 288-295, 1996.
7. Toi M, Hoshina S and Taniguchi T: Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase in human breast cancer. *Int J Cancer* 64: 79-82, 1996.
8. Kono A, Hara Y, Sugata S, Karube Y, Matsushima Y and Ishitsuka H: Activation of 5'-deoxy-5-fluorouridine by thymidine phosphorylase in human tumors. *Chem Pharm Bull* 31: 175-178, 1983.
9. Yamaue H, Tanimura H, Kono N, Aoki Y, Tabuse K, Uchiyama K, Takifuji K, Iwahashi M and Tani M: Clinical efficacy of doxifluridine and correlation to *in vitro* sensitivity of anticancer drugs in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* 23: 2559-2564, 2003.
10. Nishimura G, Terada I, Kobayashi T, Ninomiya I, Kitagawa H, Fishida S, Fujimura T, Kayahara M, Shimizu K, Ohta T and Miwa K: Thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase levels in primary colorectal cancer show a relationship to clinical effects of 5'-deoxy-5-fluorouridine as adjuvant chemotherapy. *Oncol Rep* 9: 479-482, 2002.
11. Saito S, Tsuno N, Nagawa H, Sunami E, Zhengxi J, Osada T, Kitayama J, Shibata Y, Tsuruo T and Muto T: Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor correlates with good prognosis in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 88: 42-49, 2000.
12. Takahashi Y, Bucana CD, Liu W, Yoneda J, Kitadai Y, Cleary KR and Ellis LM: Platelet-derived endothelial growth factor in human colon cancer angiogenesis: role of infiltrating cells. *J Natl Cancer Inst* 88: 1146-1151, 1996.
13. Haba A, Monden T, Sekimoto M, Ikeda K, Izawa H, Kanou T, Anano M, Kanayama H and Monden M: PyNPase expression in human colon cancer. *Cancer Lett* 122: 85-92, 1998.
14. Shomori K, Sakatani T, Goto A, Matsuura T, Kiyonari T and Ito H: Thymidine phosphorylase expression in human colorectal mucosa, adenoma and carcinoma: role of p53 expression. *Pathol Int* 49: 491-499, 1999.
15. Kono T, Nishida M, Hino A, Inagaki N, Tanaka Y, Yoneda M and Kasai S: Development and characterization of IC6-203, a new monoclonal antibody specific to human thymidine. *J Histochem Cytochem* 49: 131-138, 2001.
16. Koda K, Miyazaki M, Sarashina H, Suwa T, Saito N, Suzuki M, Ogawa K, Watanabe S, Kodaira S and Nakazato H: A randomized controlled trial of postoperative adjuvant immunochemotherapy for colorectal cancer with oral medicines. *Int J Oncol* 23: 165-172, 2003.
17. Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, Metzger R, Groshen S, Tsaowei DD, Lenz HJ, Leichman CG, Leichman L, Diasio RB and Danenberg PV: Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res* 6: 1322-1327, 2000.
18. Yoshinara K, Kubota T, Watanabe M, Wada N, Nishibori H, Hasegawa H, Kitajima M, Takechi T and Fukushima M: Gene expression in colorectal cancer and *in vitro* chemosensitivity to 5-fluorouracil: a study of 88 surgical specimens. *Cancer Sci* 94: 633-638, 2003.
19. Ishii R, Takiguchi N, Oda K, Koda K and Miyazaki M: Thymidine phosphorylase expression is useful in selecting adjuvant chemotherapy for stage III gastric cancer. *Int J Oncol* 19: 717-722, 2001.
20. Takiguchi N, Ishii R, Koda K, Oda K and Miyazaki M: Thymidine phosphorylase expression correlate with malignant potential and anti-tumor effect of doxifluridine on gastric cancer: multivariate analysis for adjuvant chemotherapy doxifluridine vs. 5-fluorouracil. *Oncol Rep* 10: 1105-1111, 2003.
21. Tsuji T, Sawai T, Yamashita H, Takeshita H, Nakagoe T, Shindou H, Fukuoka H, Yoshinaga M, Hidaka S, Yasutake T, Nagayasu T and Tagawa Y: Platelet-derived endothelial cell growth factor expression is an independent prognostic factor in colorectal cancer patients after curative surgery. *Eur J Surg Oncol* 30: 296-302, 2004.
22. Matsumura M, Chiba Y, Lu C, Amaya H, Shimomatsuya T, Horiuchi T, Muraoka R and Tanigawa N: Platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase expression correlated with tumor angiogenesis and macrophage infiltration in colorectal cancer. *Cancer Lett* 128: 55-63, 1998.