

厚生労働科学研究費補助金

がん臨床研究事業

大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

(H19-がん臨床-一般-024)

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 加藤 知行

平成21(2009)年3月

目 次

I. 総括研究報告

大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

研究代表者 加藤 知行 …… 1

II. 分担研究報告

1. 大腸癌肺転移切除例の予後予測ノモグラムの外的妥当性

愛知県がんセンター中央病院 加藤 知行 …… 7

2. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

愛知県がんセンター中央病院 加藤 知行 …… 9

3. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

国立がんセンター中央病院 濱口 哲弥 …… 12

4. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

JCOG0603試験不適格症例の検討

国立がんセンター中央病院 森谷 亘皓 …… 14

5. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

山形県立中央病院 佐藤 敏彦 …… 17

6. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究

群馬県立がんセンター 澤田 俊夫 …… 19

7. フルオロウラシル/1-ロイコポリンとオキサリプラチン併用

補助化学療法に伴う肝障害に関する研究

国立がんセンター東病院 高橋進一郎 …… 21

8. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

千葉県がんセンター 滝口 伸浩 …… 25

9. 直腸癌を発症した頸髄損傷患者に対する腹腔鏡補助下
Hartmann手術の検討
千葉県がんセンター 滝口 伸浩 …… 27
10. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
東京医科歯科大学大学院 杉原 健一 …… 29
11. 大腸癌肝転移切除後患者を対象としたフルオロウラシル/1ロイ
コボリンとオキサリプラチン併用補助化学療法 (mFOLFOX6)
vs.手術単独によるランダム化Ⅱ/Ⅲ相試験
神奈川県立がんセンター 赤池 信 …… 30
12. 大腸癌肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
横浜市立大学附属市民総合医療センター消化器病センター
藤井 正一 …… 33
13. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
新潟県立がんセンター新潟病院 瀧井 康公 …… 39
14. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
石川県立中央病院 山田 哲司 …… 42
15. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
静岡県立静岡がんセンター 齊藤 修治 …… 43
16. 大腸癌肝転移切除後患者を対象としたフルオロウラシル/1-ロイ
コボリンとオキサリプラチン併用補助化学療法(mFOLFOX6)vs.
手術単独によるランダム化Ⅱ/Ⅲ相試験
京都医療センター 山口 高史 …… 46
17. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
大阪府立成人病センター 大植 雅之 …… 48

18. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
 国立病院機構大阪医療センター 三嶋 秀行 …… 50
19. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
 箕面市立病院胃腸センター 加藤 健志 …… 51
20. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
 関西労災病院 岡村 修 …… 52
21. 大腸がん肝転移切除後補助療法に関する研究
 国立病院機構四国がんセンター 棚田 稔 …… 53
22. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
 久留米大学医学部 白水 和雄 …… 54
23. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
 北里大学東病院 佐藤 武郎 …… 57
24. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
 札幌厚生病院 近藤 征文 …… 59
25. 再発高危険群の大腸がんに対する術後補助化学療法に関する研究
 昭和大学横浜市北部病院 工藤 進英 …… 60
26. 大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
 岡山済生会総合病院 木村 秀幸 …… 63

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別冊

V. 大腸癌肝転移切除後患者を対象としたフルオロウラシル/1-ロイコポリン
 とオキサリプラチン併用補助化学療法 (mFOLFOX6) vs.手術単独による
 ランダム化Ⅱ/Ⅲ相試験実施計画書ver1.2

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

総括研究報告書

大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

研究代表者 加藤 知行 愛知県がんセンター中央病院 名誉病院長

研究要旨 大腸がん肝転移切除例に対する有効な補助療法は未だ確立していない。本研究は平成 16～18 年度の厚生労働科学研究費補助金；がん臨床研究事業（H16-がん臨床一般 032）の研究成果に基づき、肝転移治療切除+mFOLFOX6 療法（B 群）の有用性を肝切除単独（A 群）を対照群としたランダム化比較試験を行って検証するものである。

研究計画は、肝転移切除+mFOLFOX6 療法の肝機能に対する有害事象を知るために第Ⅱ相試験を行い、引き続いて第Ⅲ相試験に入る第Ⅱ-Ⅲ相試験を実施する。第Ⅱ相試験の主評価項目は治療完遂割合、第Ⅲ相試験の評価項目は主評価項目：無再発生存期間、副評価項目：全生存期間、有害事象、再発形式である。予定登録症例数はⅡ相試験部分：1 群 39 例、計 78 例、Ⅲ相試験部分はⅡ相試験部分も合わせて 1 群 150 例、計 300 例である。

平成 19 年 3 月から登録を開始しており、平成 20 年 12 月 31 日現在の登録数は 78 例である。

平成 20 年 4 月 30 日までに報告された有害事象は、B 群の 7 例中 grade3-4 の好中球減少が 5 例（内 1 例は grade4）、非血液毒性として grade3 のアレルギー反応、食欲不振、悪心が 1 例ずつ現れた。術後の晩期合併症は、B 群で grade3 の下痢が 1 例みられた。

平成 20 年 4 月 30 日までの登録例 39 例の 1 年無病生存割合は 74.6%、再発 4 例、死亡 0 である。

今年度の結果から、肝切除後の mFOLFOX6 療法に重篤な有害事象の出現はなく、無病生存割合は良好なので、本研究を推進する意義は大きいと考えられる。

分担研究者氏名・所属機関及び所属機関における職名

濱口哲弥・国立がんセンター中央病院 17B 病棟医長
森谷亘皓・国立がんセンター中央病院特殊病棟部長

佐藤敏彦・山形県立中央病院手術部副部長

澤田俊夫・群馬県立がんセンター院長

高橋進一郎・国立がんセンター東病院集中治療室医長

滝口伸浩・千葉県がんセンター臨床検査部長

杉原健一・東京医科歯科大学大学院教授

赤池 信・神奈川県立がんセンター消化器外科部長
藤井正一・横浜市立大学附属市民総合医療センター消化器病センター准教授

瀧井康公・新潟県立がんセンター新潟病院外科部長

山田哲司・石川県立中央病院院長

齊藤修治・静岡県立静岡がんセンター大腸外科副医長

山口高史・京都医療センター外科

大植雅之・大阪府立成人病センター消化器外科副部長

三嶋秀幸・独立行政法人国立病院機構大阪医療センター外科医長

加藤健志・箕面市立病院胃腸センター外科部長

岡村 修・関西労災病院外科副部長

棚田 稔・独立行政法人国立病院機構四国がんセンター医長

白水和雄・久留米大学病院消化器外科教授

佐藤武郎・北里大学東病院消化器外科助教

近藤征文・札幌厚生病院副院長

工藤進英・昭和大学横浜市北部病院教授

木村秀幸・岡山済生会総合病院副院長

A. 研究目的

大腸癌肝転移切除例に対する有効な補助療法は未だ確立していない。本研究は大腸がん肝転移切除例の術後再発抑制を目的とし、肝転移治療切除後の補助療法として、現在本邦で進行大腸癌に対する最強の化学療法である 5FU+L-ロイコポリン+オキサリプラチン（B 群：mFOLFOX6 療法）の有用性を肝転移切除単独群（A 群）を対照群としたランダム化比較試験を行って検証する。

B. 研究方法

今まで肝切除後に FOLFOX 療法を行った第Ⅱ相試験はないので、肝転移切除後に mFOLFOX6 療法

を行うことにより惹起される肝機能に対する有害事象を知るために第Ⅱ相試験を行い、引き続き第Ⅲ相試験に入る第Ⅱ-Ⅲ相試験を実施する。

[mFOLFOX6療法]

オキサリプラチン 85mg/m², 2時間で点滴静注(第1日目)

L型ロイコポリン 200mg/m², 2時間で点滴静注(第1日目)

5FU400mg/m²を急速静注(2時間後), その後5FU2400mg/m²を46時間で静注以上を2週毎に繰り返す。

[第Ⅲ相試験のデザイン]

肝切除単独群(A群)と肝切除+術後mFOLFOX6群(B群)のいずれかに無作為割付を行う。B群はmFOLFOX6を12コース行う。

[第Ⅱ相試験の評価項目] 主評価項目: 治療完遂割合。

[第Ⅲ相試験の評価項目] 主評価項目: 無再発生存期間, 副評価項目: 全生存期間, 有害事象, 再発形式。

[予定登録症例数]

Ⅱ相試験部分: 1群39例, 計78例

Ⅲ相試験部分: Ⅱ相試験部分も合わせて1群150例, 計300例

[症例集積期間] 登録開始後3年間

[年次計画] 平成19年2月に日本臨床腫瘍研究グループ(JCOG)の倫理審査委員会で研究計画が承認された。

年次計画では、平成19年度は肝転移完全切除例についてmFOLFOX6の第Ⅱ相試験部分の78例を早期に集積して安全性を検証し、引き続き第Ⅲ相試験の症例登録を行う。

平成20年度、21年度は第Ⅲ相試験の症例集積に努める。登録終了後5年間経過観察する。

(倫理面への配慮)

本臨床試験計画は、今までにH16-がん臨床一般032の研究班内で十分な検討を行い、さらにJCOGプロトコル審査委員会のアドバイスをを受けて完成させた。その後各施設での倫理審査委員会において審査を受け、承認されたことを確認してから症例登録を開始する。試験実施にあたっては被験者の人権に配慮し、文書を用い適切な説明を被験者に対して行った上で同意を得る。また、重篤な有害事象など重要な情報については適宜被験者に伝えると共に、必要であれば試験計画の改訂を行い、倫理審査委員会

の承認を受け、また被験者の再同意を得る。これら倫理的試験を実施するためにJCOGの効果・安全性評価委員会、監査委員会に依頼して適切な試験、運営が行われるように管理する。

C. 研究結果

A) 登録状況

平成20年12月31日現在の登録数は78例である。2008年度の前期JCOGモニタリングによる7月31日までの登録58例は肝切除単独群(A群)と肝切除+mFOLFOX6療法群(B群)との間で割付調整因子である肝転移時期(同時性/異時性)、肝転移個数、肝転移最大径、原発巣リンパ節転移および年齢、性別、PSなどの背景因子に差はなく均等に割り付けられている。

B群29例では再発、好中球減少、腫瘍マーカー上昇による患者拒否の3例が中止になっている。

B) 治療経過

平成20年4月30日までに報告された有害事象は、B群の7例中grade3-4の好中球減少が5例(内grade4は1例)、非血液毒性として、grade3のアレルギ一反応、食欲不振、悪心が1例ずつ見られた。

術後の晩期合併症は、B群でgrade3の下痢が1例みられた。

C) 予後

2008年4月30日までの登録例39例の1年無病生存割合は74.6%、再発4例、死亡0である。

D. 考察

大腸がん肝転移に対する肝切除の補助療法について最新の報告であるEORTC40983(肝切除前後のFOLFOX4)の1年無病生存割合は、登録例55.8%、適格例57.9%、切除例67%であり、本試験の観察期間は短い、その1年無病生存割合74.6%は優れている。

平成20年12月までの登録数は78例だった。計画では2010年3月までに300例の症例集積を予定しているが、現在のペースでいくと集積完了は2011年12月となり、1年9ヶ月の遅れになる。今後の症例集積見込みについて平成20年9月に参加施設に行ったアンケート結果から、年間適格症例数は全肝切除例の30%で193例、これは試験デザイン作成時の調査368例の52%に過ぎず、そのため登録実績は見込みの63%に終わっている。予想よりも不適格例が多い理由を同じアンケート調査からみると、7割は他臓器転移、再肝切除、高齢、重複・多発がん

どの理由でやむを得ないものだったが、前治療ありが30%を占め、その内肝切除前にFOLFOXを行っていたために不適格となったものが3/4あった。他施設でFOLFOXを行った後に班員施設へ送られてきた症例も少なくないが、一般病院では肝転移に遭遇すると、その有効性を判断することなく先ずFOLFOXを行い、その後次に次の治療法を考えると傾向があると推測される。EORTCの報告をみても、neo-adjuvant FOLFOX療法が肝切除率を高めるわけではないので、当研究班では切除可能例に対しては転移サイズや個数に囚われることなく肝切除を行って症例集積に務めることを確認している。

E. 結論

今年度の結果から、肝切除後のmFOLFOX6療法に重篤な副作用はなく、無病生存割合も良好なので、本研究を推進する意義は十分にあると考えられる。可及的に早く症例集積を完了しなくてはならない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 金光幸秀、平井孝、小森康司、加藤知行：大腸癌局所再発に対する治療「直腸癌」、武藤徹一郎 監修、大腸疾患NOW2009、日本メディカルセンター、東京、2009

2) 加藤知行：肛門管癌、上西紀夫、中尾昭公編、消化器癌の外科治療、213-217、中外医学社、東京、2008

3) 平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行：大腸癌の遠隔および再発リンパ節転移の治療方針、大腸癌 Frontier 1: 53-57、2008

4) T Yamaguchi, T Mori, K Takeuchi, H Matsumoto, H Miyamoto, T Kato: A new classification system for liver metastases from colorectal cancer in Japanese multicenter analysis. Hepato-Gastroenterology 55:173-178, 2008

5) M Hara, Y Kanemitsu, T Hirai, K Komori, T Kato: Negative serum carcino-embryonic antigen has insufficient accuracy for excluding recurrence from patients with Dukes C colorectal cancer: Analysis with likelihood ratio and probability in a follow-up study. Dis Colon Rectum 51: 1675-1680,

2008

6) 平井孝、加藤知行：骨盤内手術：出血防止の工夫と出血時の対応、日外会誌 109: 232-236、2008

7) 平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行：直腸癌のD2、D3郭清の要点、コンセンサス癌治療 7: 72-75、2008

2. 学会発表

1) 平井孝、金光幸秀、小森康司、清水泰博、佐野力、千田嘉毅、伊藤誠二、三澤一成、山村義孝、加藤知行：Original no touch isolationに基づく開腹D3結腸右半切除術の成績、第70回日本臨床外科学会総会、2008年11月、東京

2) 金光幸秀、平井孝、小森康司、加藤知行：大腸癌肺転移切除例の予後予測ノモグラムの外的妥当性、第63回日本大腸肛門病学会学術集会、2008年10月、東京

3) 小森康司、平井孝、金光幸秀、加藤知行：直腸低分化癌亜分類別にみた肛門側壁内進展の意義、第63回日本大腸肛門病学会学術集会、2008年10月、東京

4) 平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行：進行直腸癌に対する集学的治療法の検討：術後照射の効果、第63回日本大腸肛門病学会学術集会、2008年10月、東京

八幡和憲、平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行：大腸癌における術中洗浄細胞診の検討、第63回日本消化器外科学会総会、2008年7月、札幌

5) 小森康司、平井孝、金光幸秀、加藤知行、清水泰博、佐野力、伊藤誠二、望月能成、千田嘉毅、山村義孝：大腸癌低分化腺癌で術前生検の病理診断を亜分類することはリンパ節転移予後に寄与できるか？第63回日本消化器外科学会総会、2008年7月、札幌

6) 平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行、清水泰博、佐野力、伊藤誠二、望月能成、千田嘉毅、山村義孝：結腸癌外科治療における遠隔治療成績の向上：リンパ節郭清の効果、第63回日本消化器外科

学会総会、2008年7月、札幌

7) 清水泰博、佐野力、千田嘉毅、安藤公隆、山村義孝、平井孝、金光幸秀、小森康司、加藤知行、二村雄次：大腸癌同時性肝転移に対する治療戦略：待機による肝切除成績と今後の展望。第63回日本消化器外科学会総会、2008年7月、札幌

8) 小森康司、平井孝、金光幸秀、加藤知行：大腸pMP癌の原発巣腫瘍浸潤様式による亜分類の意義。第69回大腸癌研究会、2008年7月、横浜

9) 金光幸秀、中西速夫、平井孝、小森康司、望月能成、伊藤誠二、佐野力、清水泰博、山村義孝、加藤知行：大腸癌ultra stagingにおけるセンチネルリンパ節マッピングの問題点。第108回日本外科学会定期学術集会、2008年5月、長崎

10) 小森康司、平井孝、金光幸秀、加藤知行、山村義孝、清水泰博、佐野力、伊藤誠二、望月能成：大腸低分化腺癌の亜分類（充実型、非充実型）の検討。第108回日本外科学会定期学術集会、2008年5月、長崎

11) 平井孝、金光幸秀、小森康司、清水泰博、佐野力、伊藤誠二、望月能成、山村義孝、加藤知行：進行下部直腸癌に対する手術と放射線治療の位置づけ：術後照射の意義。第108回日本外科学会定期学術集会、2008年5月、長崎

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

II. 分担研究報告

大腸癌肺転移切除例の予後予測ノモグラムの外的妥当性

研究代表者 加藤知行 愛知県がんセンター中央病院 名誉病院長

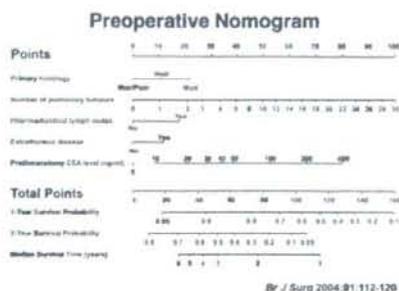
厚生労働省がん研究助成金 10-11 加藤班（平成 10 年～14 年）では、18 施設から集積した 313 例（1990～1998 年、5 年生存率 38.3%）をもとに、肺切除後 1 および 3 年生存を術前に予測する多変量 Cox モデルとその計算図表（ノモグラム）が構築された。採用された予後因子は(1)原発巣組織型、(2)肺転移個数、(3)肺門あるいは縦隔リンパ節転移の有無、(4)肺外病変の有無、(5)肺切除前 CEA 値の 5 つであった。このベースライン予後モデルの外的妥当性を検証する目的で、1999～2005 年までの間に当院で経験した大腸癌肺転移切除 58 例を対象として、肺切除後の生存率に対するノモグラムの予後予測能を評価した。ノモグラムによる予測と実際の生存が一致している確率は 0.83 と非常に良好で、時代や施設が異なっても大腸癌肺転移切除後の生存率予測に有用であつ

A. 研究目的

大腸がん肺転移治療切除例の 5 年生存率は 30～40%期待できることが知られているが、高い精度で個別に肝切除後の予後が予測できるモデルはまだ存在していない。高い精度と汎用性を備えた、予後予測モデルの構築を試みた。

B. 研究方法

厚生労働省がん研究助成金 10-11 加藤班（平成 10 年～14 年）では、18 施設から集積した 313 例（1990～1998 年、5 年生存率 38.3%）をもとに、肺切除後 1 および 3 年生存を術前に予測する多変量 Cox モデルとその計算図表（ノモグラム）が構築された。

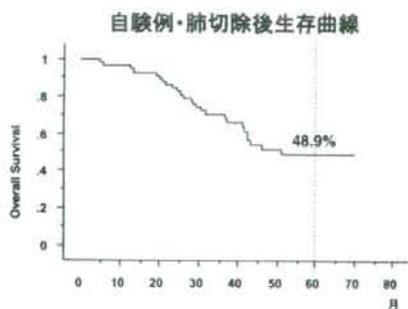


採用された予後因子は(1)原発巣組織型、(2)肺転移個数、(3)肺門あるいは縦隔リンパ節転移

の有無、(4)肺外病変の有無、(5)肺切除前 CEA 値の 5 つであり、これらの因子に基づいて作成されたノモグラムはブツストラップ法によりその妥当性を内部的ならびに外部的（第 55 回大腸癌研究会参加 72 施設から集積した 1990～2000 年の肺切除 357 例、5 年生存率 39.9%）に検証され、一致指数(c-index)はそれぞれ 0.72、0.66 と良好であった (Br J Surg 2004;91:112-120)。このベースライン予後モデルが広く応用されるためには更なる外的妥当性の検証が必要である。そこで、1999～2005 年までの間に当院で経験した大腸癌肺転移切除 58 例を対象とし、肺切除後の生存率に対するノモグラムの予後予測能を評価した。C-index はリスクスコア値の小さい、あるいは大きい症例の方が生存は長いということが、実際の症例でどれくらいの確率で正しいかを示す値である。

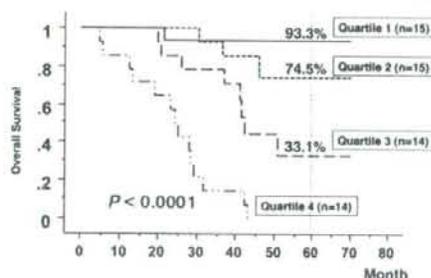
C. 研究結果

全 58 例の肺切除後 5 年生存率（5 生率）は 48.9%であった。



この集団に対するノモグラムによる予測と実際の生存が一致している確率は 0.83 と非常に良好であった。ノモグラムから予測された生存率を高い順に並べて、全集団を 4 分位点で均等に分けると (Quartile 1~4)、4 グループの実際の生存曲線 (Quartile 1;n=15:5 生率 93.3%、Quartile 2;n=15:5 生率 74.5%、Quartile 3;n=14:5 生率 33.1%、Quartile 4;n=14:5 生率 0.0%) は十分に開き ($p < 0.0001$)、ノモグラムによる肺切除後予後の層別化が可能であった。

四分位生存曲線によるValidation Study



D. 考察

今回の Cox 回帰モデルを用いた多変量解析により大腸がん肺転移症例におけるいくつかの独立した予後因子を利用して、臨床的に応用可能なノモグラムを構築することが出来た。臨床医は肺転移患者を目の前にした時に、術前ノモグラムを用いれば、肺切除を行った場合の生存確率をある程度の精度で予測することが可能であり、その予測値から肺切除を勧めるか否かの判断基準に用いることでインフォーム

ド・コンセントに役立てられる可能性がある。また、異なる集団においても肺切除後の再発リスクを層別化できるため、経過観察のスケジュールや補助療法の実施などに利用することが可能である。

E. 結論

汎用性の高い因子を用いた簡便な予後予測モデルをつくり、その外部的妥当性を確認することができた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Hara M, Kanemitsu Y, Hirai T, Komori K, Kato T. Negative serum carcinoembryonic antigen has insufficient accuracy for excluding recurrence from patients with Dukes C colorectal cancer: analysis with likelihood ratio and posttest probability in a follow-up study. Dis Colon Rectum.

2008;51(11):1675-80.

2. 学会発表

第 63 回日本大腸肛門病学会.平成 20 年 10 月.東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究

研究代表者 加藤知行 愛知県がんセンター中央病院 名誉病院長

研究要旨 大腸がん肝転移切除症例の術後再発形式としては断端再発、残肝再発、肺転移、リンパ節および腹膜再発などがある。本研究班の目的はこれら術後の転移再発を予防するための補助化学療法としてオキサリプラチンを含めた 5-FU+ロイコボリン (LV) の臨床的有用性を検証する事である。一方、近年提唱されている“がん幹細胞”仮説によれば分化した大多数のがん細胞は化学療法により死滅しても、これら抗がん剤に対する排泄能が高く、薬剤抵抗性のあるごく少数のがん幹細胞が生き残り再発を来す可能性が高いものと考えられる。我々はこれまでにリンパ節、腹膜、肺に転移し、肝臓にも一定頻度で転移する多臓器転移性で、悪性度の高い低分化型大腸癌細胞株 (COLM-5) を樹立している。本年度は、本細胞株から大腸がんのがん幹細胞マーカーである CD133 陽性細胞、陰性細胞を FACS で分離し、NOD/SCID マウスにわずか 1000 個の細胞を移植したところ、CD133 陽性細胞は陰性細胞に比べて明らかに高い造腫瘍性を有することを見出した。また陰性細胞は陽性細胞に比べて一部ではあるが MUC2 などの分化形質を発現することから、CD133 陽性 COLM-5 細胞は自己複製能のみならず、一定の分化能を有するなどがん幹細胞としての性質を有している可能性が示唆された。本モデルは、大腸がんの術後補助化学療法との併用療法として将来重要になってくる可能性がある“がん幹細胞”を標的とする新しい治療法の開発に極めて有用なモデルと考えられる。

A. 研究目的

大腸がん肝転移切除症例の術後補助化学療法を個別化するためには再発のハイリスク群の選別の為の高感度な診断法の開発と再発の原因となる微小転移に対する新しい効果的な治療法の開発の両者が重要である。1 昨年度は術中診断が可能な高感度迅速遺伝子診断法 (TRC 法等) についてその有用性を検討し、報告した [1, 2]。昨年度は再発の原因となる微小転移に対する効果的な治療法開発にとって重要な前臨床モデルの確立とこれを用いた薬効評価に関するパイロット研究を行った [3]。今年度は微小残存病変に対する全く新しい治療法を開発するため、上記、前臨床モデルをもちいて、大腸がんのがん幹細胞モデルを新たに作製した。

この培養ヒトがん幹細胞と各種免疫不全マウスを組み合わせた前臨床試験は“がん幹細胞”に対する化学療法や分子標的治療の抗腫瘍効果の評価や作用機序等の解明に必須である。しかし大腸がんの“がん幹細胞”に対する補助化学療法等の抑制効果に関する検討はこれまで殆ど行われていない。本年度はその前段階である大腸がんの“がん幹細胞”を分離し、その基礎的性質について検討した。

B. 研究方法

大腸がん肝転移切除症例の肝転移巣から樹立した細胞株 (COLM-5) は FACS 解析では CD133 の弱い発現をみとめた。これから免疫磁気ビーズ法により CD133(+) と CD133(-) 細胞を分離した (図 1)。それら細

胞の *in vitro* における増殖能、コロニー形成能、また *in vivo* における造腫瘍性、分化形質発現などを FACS、Western blot、免疫染色等により検討した。

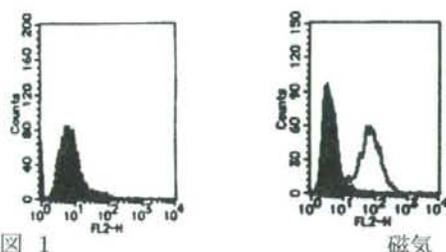


図 1 免疫磁気ビーズ法により分離した CD133 陽性 (右)、CD133 陰性 (左) COLM-5 細胞のフローサイトメトリー

C. 研究結果

COLM-5 細胞は無血清培地中ではいずれも spheroid 様の細胞集塊を形成し増殖した (図 2)。In vitro における増殖能、コロニー形成能を比較したところ、CD133(+) が CD133(-) 細胞に比べ有意に高く、また NOD/SCID マウスにおける腫瘍形成率も CD133(+) が CD133(-) 細胞に比べ有意に高く、わずか 1×10^3 個の細胞でも皮下に腫瘍を形成した (図 3)。CD133 発現は不安定で時間とともに発現は低下し、それに伴い一部だけが分化形質の発現が認められた。



図 2 CD133 陽性 COLM-5 細胞の Spheroid 形成。幹細胞用無血清培地では浮遊性に増殖し、細胞集塊を形成する。

(倫理面への配慮)

本研究において、細胞株樹立については、愛知県がんセンター倫理審査委員会の承認を得ており、患者の同意書もとられている。

D. 考察

がん組織を構成しているがん細胞はすべてが、造腫瘍能があるわけではなく、実際には階層性があり、自己複製能と多分化能を併せ持つ全体のごく一部の細胞 (がん幹細胞) とこれらから分化した造腫瘍能の低い多数のがん細胞からなるとする「がん幹細胞仮説」が提唱され、それを支持する知見が集積しつつある。

CD133 は造血幹細胞、前駆細胞のマーカーであると同時に、近年、大腸がんのがん幹細胞マーカーの一つであることが報告され注目されているが、これまでの報告は Wnt シグナル経路の活性化を伴う Adenoma → Carcinoma sequence 由来の分化型大腸がんに関するものに限られる。大腸がんには Wnt シグナル経路の活性化を伴わないがんが 10-20% 存在し、このサブタイプの癌幹細胞については報告がない。今回、我々は独自に樹立した APC 遺伝子変異が無く、 β catenin の核内蓄積を伴わない高転移性低分化型大腸癌細胞株 (COLM-5) を用いて、CD133 の発現の検討と機能解析を行った。その結果、CD133(+) が CD133(-) 細胞に比べ *in vitro*, *in vivo* のいずれにおいてもコロニー形成能、造腫瘍性が高く、Wnt シグナル経路の活性化を伴わない低分化型腺癌においても CD133 陽性の大腸がんの少なくとも一部はがん幹細胞様形質を発現することが明らかとなった。

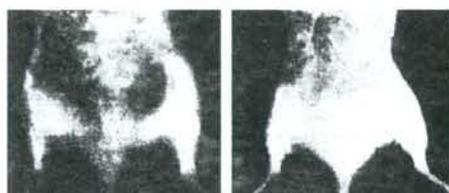


図 3 COLM-5 CD133 陽性細胞 (左) と CD133 陰性細胞 (右) の NOD/SCID マウスにおける造腫瘍性の比較。CD133 陽性細胞のみに腫瘍形成が見られる。

CD133(+)と CD133(-)COLM-5 細胞でオキザリプラチンや 5-FU+ロイコボリンなどの抗がん剤に対する感受性に差異があるか否かは今後の検討課題であるが、興味あることに EGFR に対するキナーゼ阻害薬である Gefitinib に対する感受性には両者で差異があり、当初の予想に反して CD133 陽性細胞の方が Gefitinib 感受性が高かった。このことから、がん幹細胞は従来の抗がん剤に対しては一般に抵抗性を示すものと考えられるが、がん幹細胞の増殖に必須な増殖シグナルを標的にした分子標的薬に対しては感受性を示すことから、従来の化学療法との併用によりがん組織中の全てのがん細胞を標的化できる可能性が示唆された。

E. 結論

大腸がん肝転移巣から樹立した多臓器転移性低分化型大腸癌細胞株 (COLM-5) から CD133 陽性、陰性細胞を分離することにより抗がん剤や分子標的薬の抗腫瘍効果を *in vitro*, *in vivo* で評価しうる大腸がん“がん幹細胞”モデルを構築した。本モデルを用いて Gefitinib 感受性を *in vitro* で検討し、CD133 陽性がん細胞が EGFR キナーゼ阻害剤に高い感受性を示すことを明らかにした。本モデルはオキザリプラチンや 5-FU+LV 等の化学療法と“がん幹細胞”の増殖シグナルを標的とする分子標的治療法との併用療法など大腸がん肝転移に対する新しい治療法の研究に極めて有用と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ohashi, N, Nakanishi, H, Kodera, Y, Mochizuki, Y, Ito, S, Koike, M, Fujiwara, M, Yamamura, Y, Tatematsu, M, Nakao,

A, Kato, T. Intraoperative quantitative detection of CEA mRNA in the peritoneal lavage of gastric cancer patients with transcription reverse-transcription concerted (TRC) method. A comparative study with real-time quantitative RT-PCR. *AntiCancer Res.* 27(4c); 2769-77, 2007

2. Hara M, Nakanishi H, Jun Q, Hirai T, Kanemitsu K, Ito S, Mochizuki Y, Kodera Y, Tatematsu M, Yamamura Y and Kato T. Comparative analysis of intraperitoneal minimal free cancer cells between colorectal and gastric cancer patients using quantitative RT-PCR. Possible reason for rare peritoneal recurrence in colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis.* 24(3); 179-189, 2007
3. Nakanishi H, Matsui M, Ikehara, Y, Hara M, Ito Y, Kodera Y, Nishida K,¹ Kanemitsu Y, Hirai T, Kato T, and Tatematsu M. HER3 deficiency-mediated high gefitinib sensitivity of EGFR and HER2 expressing, metastatic human colonic cancer cell line Implication for EGFR targeting therapy for poorly-differentiated colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* Submitted. 2009

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書
大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
JCOG0603 試験未完遂例の検討

研究分担者 濱口哲弥 国立がんセンター中央病院 総合病棟部 17B 病棟医長

研究要旨 大腸癌肝転移に対する術後補助療法 RCT JCOG0603 試験が進行中である。当センターでは 13 例の症例登録を実施した。mFOLFOX 群の 5 例では、通常の再発進行例に比べて未完遂例が多く経験された。

A. 研究目的

大腸癌の肝転移は、その頻度が高く、予後規定因子となる。切除可能肝転移に対しては外科的切除が第一選択である。しかしながら、術後再発予防としての抗がん剤治療の意義については明らかでなく、Stage IV 症例における再発抑制が確認されたレジメンの報告はない。今回、Stage IV 肝転移治療切除例を対象とした mFOLFOX6 術後補助療法の RCT 試験を計画し、その再発抑制効果を確認する。

B. 研究方法

JCOG0603「大腸癌肝転移切除後患者を対象としたフルオロウラシル/1-ロイコポリンとオキサリプラチン併用補助化学療法（mFOLFOX6）vs、手術単独によるランダム化 II/III 相試験」実施計画書を遵守し、肝転移切除後症例を肝転移切除単独群と mFOLFOX6 治療群に割り付け、無再発生存期間を評価項目として比較検討をしている。今回、肝転移切除術を実施された症例において本試験の適格性を検討し、不適格理由を考察した。（倫理面への配慮）

プロトコルについて、研究代表者所属施設である愛知県がんセンター中央病院 IRB 審査の後、各参加施設 IRB において審査承認された後に、症例登録を実施した。被験者には説明同意文書を用い、試験の必要性、期待される有効性と安全性について説明し、文書にて同意を得た。安全性情報については適宜研究事務局に報告し、治療との関連性に関して検討を行い結果について参加施設に周知して共有をした。

C. 研究結果

当センターにおける mFOLFOX6 群の feasibility に関する検討：JCOG0603 試験は、初回肝転移完全切除、抗癌剤治療初回例などを条件とする RCT である。本試験の登録開始となった 07 年 4 月から現在までに登録された 13 例のうち、mFOLFOX6 群の 6 例のうち当院で治療を行った 5 例につき検討した。背景は、男/女=4/1、年齢中央値 55 歳（52-70 歳）、肝切除範囲(Hr)；0/s/1/2=3/1/1/0 である。09 年 1 月 31 日時点で、試験治療終了 5 例である。治療終了理由は、完了/有害事象による中止/有害事象以外の患者理由による中止/その他（経済的理由など）=1/4/0/0 であった。mFOLFOX6 は計 37 コース投与され、投与コース中間値 7 コース(5-12)、減量は oxaliplatin/5-FU 急速静注/5-FU 持続静注=5/5/5 と全例で減量が必要であった。有害事象による中止理由の詳細は、好中球数/静脈血栓症/有害事象による患者拒否（再開規準は満たしているものの好中球減少による投与延期が相次ぎ患者が拒否した）=1/1/2 であった。

D. 考察

大腸癌肝転移切除後に使用する術後補助療法として、肝転移切除単独と補助療法としての mFOLFOX6 を比較検討する RCT JCOG0603 を開始した。mFOLFOX の未完遂例が目立つため、その中止理由につき検討したところ、好中球減少に関連した中止が多かった。他施設も同様の傾向があれば 5-FU 急速静注を省くなど忍容性を改善するための改訂が必要であるかもしれない。

当面は安全性に留意し、治療を継続することが重要である。

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

E. 結論

JCOG0603試験のmFOLFOX6の未完遂例に関して検討したところ、好中球減少に関連した治療中止を多くみとめた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sai K, Saito Y, Fukushima-Uesaka H, Kurose K, Kaniwa N, Kamatani N, Shirao K, Yamamoto N, Hamaguchi T, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Yamada Y, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Sawada J. Impact of CYP3A4 haplotypes on irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 62: 529-537, 2008

2) Saito Y, Sai K, Maekawa K, Kaniwa N, Shirao K, Hamaguchi T, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Yamada Y, Tamura T, Yoshida T, Minami H, Ohtsu A, Matsumura Y, Saijo N, Sawada J. Close association of UGT1A9 IVS1+399C>T with UGT1A1*28, *6 or *60 haplotype and its apparent influence on SN-38 glucuronidation in Japanese. *Drug Metab Dispos* 37: 272-276, 2009

3) Takahari D, Yamada Y, Okita N.T, Honda T, Hirashima Y, Matsubara J, Takashima A, Kato K, Hamaguchi T, Shirao K, Shimada Y, Shimoda T. Relationships of insulin-like growth factor-1 receptor and epidermal growth factor receptor expression to clinical outcomes in patients with colorectal cancer. *Oncology* 76: 42-48, 2009

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書
大腸がん肝転移症例の術後補助化学療法に関する研究
JCOG0603 試験不適格症例の検討

研究分担者 森谷宜皓 国立がんセンター中央病院 特殊病棟部部长

研究要旨 大腸癌肝転移に対する術後補助療法 RCT JCOG0603 試験の登録が進行中であり、当センターでは13例の症例登録を実施した。しかしながら適格症例が少なく、当センターでの肝転移切除の現状を再検討した。

A. 研究目的

大腸癌の肝転移は、その頻度が高く、予後規定因子となる。切除可能肝転移に対しては外科的切除が第一選択である。しかしながら、術後再発予防としての抗がん剤治療の意義については明らかでなく、Stage IV 症例における再発抑制が確認されたレジメンの報告はない。今回、Stage IV 肝転移治療切除例を対象としたmFOLFOX6 術後補助療法の RCT 試験を計画し、その再発抑制効果を確認する。

B. 研究方法

JCOG0603「大腸癌肝転移切除後患者を対象としたフルオロウラシル/I-ロイコボリンとオキサリプラチン併用補助化学療法（mFOLFOX6）vs、手術単独によるランダム化II/III相試験」実施計画書を遵守し、肝転移切除後症例を肝転移切除単独群とmFOLFOX6 治療群に割り付け、無再発生存期間を評価項目として比較検討をしている。今回、肝転移切除術を実施された症例において本試験の適格性を検討し、不適格理由を考察した。（倫理面への配慮）

プロトコールについて、研究代表者所属施設である愛知県がんセンター中央病院 IRB 審査の後、各参加施設 IRB において審査承認された後に、症例登録を実施した。被験者には説明同意文書を用い、試験の必要性、期待される有効性と安全性について説明し、文書にて同意を得た。安全性情報については適宜研究事務局に報告し、治療との関連性に関して検討を行い結果について参加施設に周知して共有をした。

C. 研究結果

1) 当センターにおける肝転移切除例の検討：JCOG0603 試験は、初回肝転移完全切除、抗癌剤治療初回例などを条件とする RCT である。2008 年4月から9月末までの対象症例について検討した。肝切除例は6ヶ月間で15例であった。この間のJCOG0603 試験登録例数は6例と、昨年同時期の2名を大きく上回るペースである。0603 適格条件を満たす症例は8例。不適格7例の理由は、肝転移以外の他臓器転移があった症例が4例、高齢者が2名、肝転移再々発1例であった。肝転移以外の他臓器転移があった症例はいずれも肺転移があり、全身化学療法により肺転移が消失し残存した肝転移巣を切除したものである。IC 実施された8例中6例は同意取得し症例登録を実施できており、本試験における同意率は通常の RCT と比較してもむしろ高いといえる。

継続して不適格症例の理由を検討するとともに、引き続き適格症例を確実に症例登録する努力を行う予定である。

D. 考察

大腸癌肝転移切除後に使用する術後補助療法として、肝転移切除単独と補助療法としての mFOLFOX6 を比較検討する RCT JCOG0603 が継続中である。症例登録が少ないため、その不適格症例の理由を検討したが、特徴的なものは認められなかった。引き続き適格症例を正確に把握し、適切な IC により症例登録を促進することが重要である。

E. 結論

JCOG0603試験の不適合理由に関して検討したが、特に問題点を指摘することはできず、むしろ高率にICを取得している現状が確認できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kusters M, C.J.H. van de Velde, R.G.H.Beet-Tan, Akasu T, Fujita S, Yamamoto S, Moriya Y.: Patterns of local recurrence in rectal cancer: A single-center experience. *Ann Surg Oncol* 16:289-296, 2009
- 2) Ishiguro S, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Kusters M, Moriya Y.: Pelvic exenteration for clinical T4 rectal cancer: oncologic outcome in 93 patients at a single institution over a 30-year period. *Surgery* 145(2): 189-195, 2009
- 3) Miranda Kusters, Geerard L.Beets, Cornelis J.H. van de Velde, Regina G.H.Beets-Tan, Corrie A.M.Marijnen, Harm J.T.Rutten, Hein Putter, Moriya Y.: A comparison between the treatment of low rectal cancer in Japan and the Netherlands, with focus on the patterns of local recurrence. *Annals of Surgery* 249: 229-235, 2009
- 4) Onouchi S, Matsushita H, Moriya Y., Akasu T, Fujita S, Yamamoto S, Hasegawa H, Kitagawa Y, Matsumura Y.: New method colorectal cancer diagnosis based on SSCP analysis of DNA from exfoliated colonocytes in naturally evacuated feces. 28: 145-150, *Anticancer Res* 2008
- 5) Hara J, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Moriya Y.: A case of lateral pelvic lymph node recurrence after TME for submucosal rectal carcinoma successfully treated by lymph node dissection with en bloc resection of the internal iliac vessels. -Case Report- 38(4): 305-307, *Jpn J Clin Oncol* 2008
- 6) Yamamoto S, Fujita S, Ishiguro S, Akasu T, Moriya Y.: Wound infection after a laparoscopic resection for colorectal cancer. 38: 618-622, *Surgery Today* 2008
- 7) Fujita S, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y.: Outcome of patients with clinical stage II or III rectal cancer treated without adjuvant radiotherapy. *Int J Colorectal Dis* 23:1073-1079, 2008
- 8) Tsukamoto S, Fujita S, Yamaguchi T, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y., Taniguchi H, Shimoda T.: Clinicopathological characteristics and prognosis of rectal well-differentiated neuroendocrine tumors. *Int J Colorectal Dis* 23(11): 1109-1113, 2008
- 9) Ochiai H, Nakanishi Y, Fukasawa Y, Sato Y, Yoshimura K, Moriya Y., Kanai Y, Watanabe M, Hasegawa H, Kitagawa Y, Kitajima M, Hirohashi S.: A new formula for predicting liver metastasis in patients with colorectal cancer: Immunohistochemical analysis of a large series of 439 surgically resected cases. *Oncology* 75:32-41, 2008
- 10) Ban D, Yamamoto S, Kuno H, Fujimoto H, Fujita S, Akasu T, Moriya Y.: A case of huge colon carcinoma and right renal angiomyolipoma accompanied by proximal deep venous thrombosis, pulmonary embolism and tumor thrombus in the renal vein. *Jpn J Clin Oncol*, 38:710-714, 2008
- 11) Ishiguro S, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Kobayashi Y, Moriya Y.: Effect of a clinical pathway after laparoscopic surgery for colorectal cancer. *Hepatogastroenterology*. 55:1315-1319, 2008
- 12) Akasu T, Takawa M, Yamamoto S, Ishiguro S, Yamaguchi T, Fujita S, Moriya Y., Nakanishi Y.: Intersphincteric resection for very low rectal adenocarcinoma: univariate and multivariate analyses of risk factors for recurrence. *Ann Surg Oncol* 15:2668-2676, 2008
- 13) Akagi T, Yamamoto S, Kobayashi Y, Fujita S, Akasu T, Moriya Y., Kato T.: A case of endometriosis of the appendix with adhesion to right ovarian cyst presenting as intussusception of a mucocoe of the appendix. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 18(6):622-625, 2008

14) 山本聖一郎, 藤田 伸, 赤須孝之, 小林 豊, 山口智弘, 森谷亘皓. 右側結腸進行癌に対する腹腔鏡下右半結腸切除術の手法のポイント-特集: 進行大腸癌に対する腹腔鏡下-新たなる展開, 日鏡外会誌 13(1): 67-73, 2008

15) 上原圭介, 石黒成治, 榑野正人, 森谷亘皓. 局所進行直腸癌に対する外科治療-自律神経部分温存術-, 外科治療 9, 99(3): 305-310, 2008

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし