

状結腸切除術, D3 郭清を施行した。肉眼型は type 2, 腫瘍径は 30×30 mm であり, 病理組織学的には mod 2, ss, ly1, v2, n0 であった。2005 年 1 月 CEA が 11.1 ng/ml と上昇を認めたため, 腹部 CT 検査を施行した。下大静脈に広く接する肝転移病変であり, 切除不能の判断にて, 2005 年 3 月より 5-FU + leucovorin + irinotecan を用いた化学療法を開始した。2005 年 6 月効果判定の CT にて縮小効果を認め, 切除の検討を目的に当院紹介受診となった。

入院時現症: 特記事項なし。

入院時検査所見 (Table 1): 軽度の貧血を認める他, 特記すべき所見はなく CEA も正常化していた。

腹部超音波検査所見 (Fig. 1): S3/S4 に辺縁不整, 境界はやや不明瞭な low echoic lesion であり, 大腸癌肝転移として矛盾しない。右肝静脈および下大静脈に近接するものの, 明らかな浸潤は認めなかった。

腹部造影 CT: 下大静脈に広く接し, 肝静脈 3 枝へ浸潤する 120×75 mm 大の病変を認めた。内部はほぼ均一な低吸収域, 辺縁が不整な病変で大腸癌肝転移と診断した。腹水や肝外病変は認めなかった (Fig. 2)。化学療法 1 コール施行後, 90×60 mm 大に縮小効果を認めるものの, 依然として切除不能と判断し化学療法を継続した (Fig. 3)。化学療法 3 コール施行後, 腫瘍はさらに縮小し右肝静脈から離れ, 切除可能と判断された (Fig. 4)。

腹部 MRI (Fig. 5): 拡散強調画像でわずかに高信号, T1 強調画像で徐々に辺縁から造影される低信号病変として認識された。

Table 1 Laboratory data on admission

WBC	8,900×10 ³ /μl	AST	20 IU/l
Hb	10.6×10 ⁴ /μl	ALT	12 IU/l
Hct	30.8%	ALP	246 IU/l
Plt	23.6×10 ³ /μl	Ch-E	281 IU/l
PT	11.1 sec.	γ-GT	35 IU/l
PT%	82%	LDH	245 IU/l
PT-INR	1.13	Glu	113 mg/dl
APTT	25.5 sec.	CRP	0.84 mg/dl
TP	6.8 g/dl	ICG R ₁₅	5.6%
ALB	3.9 g/dl	CEA	1.5 ng/ml
T-Bil	0.7 g/dl	CA19-9	4.1 U/ml
D-Bil	0.1 g/dl		

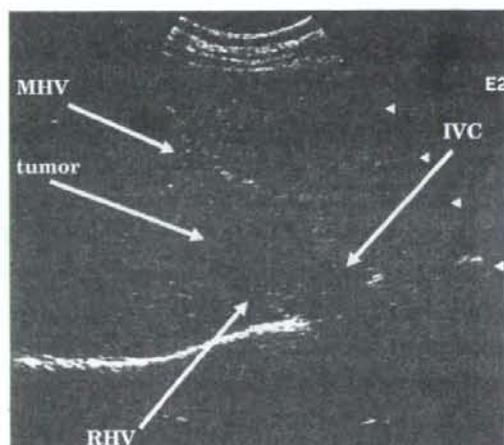


Fig. 1 Abdominal ultrasonogram shows hypoechoic tumor adjacent to inferior vena cava (IVC) (arrows).

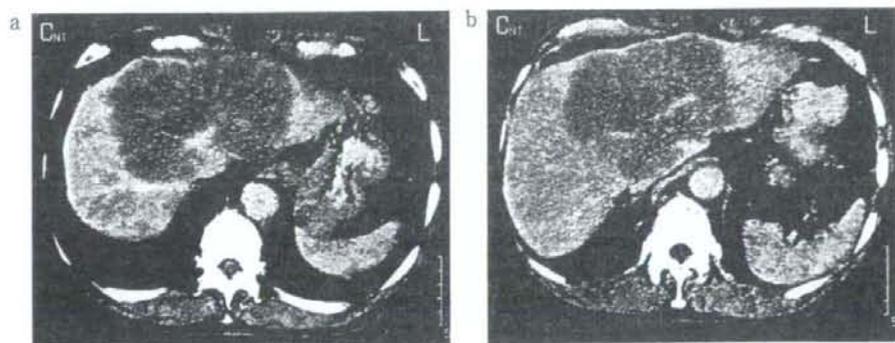


Fig. 2 Enhanced computed tomograms (CT) show huge lesion involving IVC (a, b).

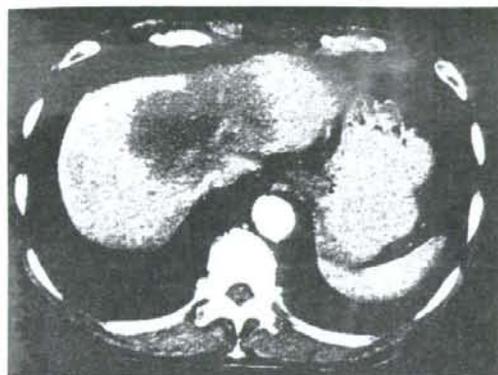


Fig. 3 Tumor size reduction following chemotherapy is observed after 1 course. But the tumor still involves all hepatic veins.

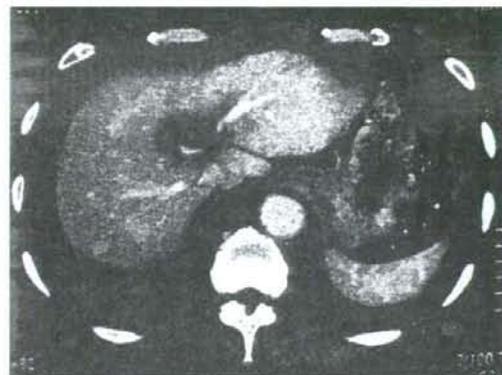


Fig. 4 After 3 courses of chemotherapy the tumor shrinks to 60×40 mm in size making secondary liver resection by extended left hepatectomy possible.

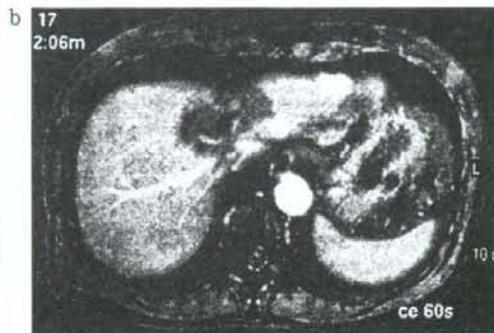
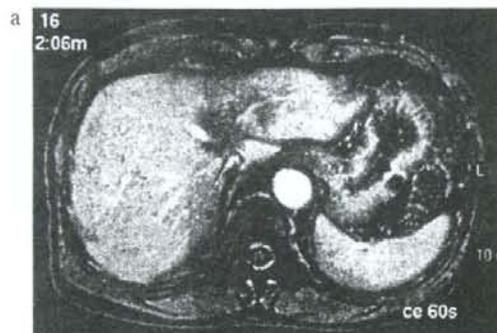


Fig. 5 Enhanced magnetic resonance imaging (MRI) show low intensity tumor in T1 weighted images (a, b).

手術：2005年7月肝拡大左葉切除、胆嚢摘出術を施行した。右肝静脈および下大静脈の前面は病変から剥離が可能であり、Spiegel葉を合併切除し、左および中肝静脈を処理した。手術時間は4時間56分、出血量2,507 mlであった。肝実質はやや柔らかく、術前化学療法による脂肪症を反映していると考えられた。

病理組織学的所見 (Fig. 6, 7)：肉眼所見としては、切除肝に60×40×35 mm大の境界明瞭で黄色調の結節性病変を認め、腫瘍は左および中肝静脈基部を囲むように存在した。

組織学的には腫瘍結節の大部分は線維化を受け、なかには凝固壊死に陥っている領域も散見され、炎症細胞や泡沫状マクロファージの浸潤が顕著で

あった。viableな腫瘍細胞は病変の辺縁部にわずかに残存するのみであった。viableな腫瘍成分は原発の大腸癌と同様な形態を示す中分化腺癌であり、一部では腫瘍細胞の変性を伴い、化学療法の治療効果を反映していると考えられた。左および中肝静脈基部の周囲まで腫瘍細胞を認めるが、浸潤は認めなかった。切離断端には腫瘍細胞の露出は認められず、背景肝は軽度の脂肪変性を伴っていた。

術後経過：経過良好にて第13病日退院となった。2005年9月から術後補助化学療法としてFOLFOX 6を開始した。重篤な副作用を合併せず、12クールを完遂した。現在、術後2年10か月を経過し無再発生存中である。

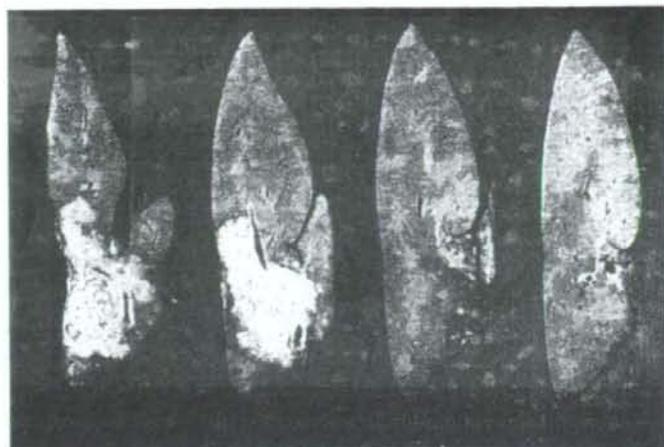


Fig. 6 The tumor is 60×40×35 mm in size and shows yellowish necrotic feature on cut surface of the resected liver specimen.

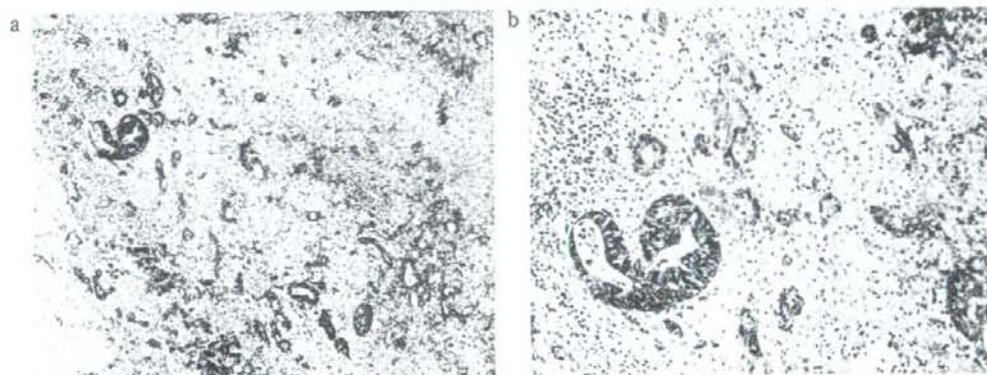


Fig. 7 Microscopic figures of the tumor reveal the effect of chemotherapy.
 a : Cancer glands are scattered in massive fibrosis.
 b : Cancer cells are viable and foamy macrophages infiltrate fibrous stroma.

II. 考 察

切除不能大腸癌肝転移に対する標準治療は全身化学療法である。新規抗癌剤の進歩により治療成績が向上しているものの、FOLFOXやFOLFIRIなどのレジメンを用いても生存平均期間(mean survival time: MST)は19.0～22.6か月である。また、根治切除が可能であった症例との予後に大きな開きがあり、長期生存を得られる唯一の手段は根治切除である^{3,5)}。近年、切除不能大腸癌肝転移に対し

て生存率の向上を目的に全身化学療法を行い、肝転移巣の縮小効果が得られた症例に対して肝切除を行った成績が報告され、切除不能肝転移症例に対する新たな治療戦略として認識されつつある。

Adamらは切除不能大腸癌肝転移701例に対しFOLFOXを施行、95例(13.5%)が切除可能となり、5年生存率は34%であったと報告している⁶⁾。また、Pozzoらは切除不能大腸癌肝転移40例に対して腫瘍縮小後の根治切除を目的とし、FOLFIRIを用いた全身化学療法を施行する prospective study

を行った。その結果、13例(32.5%)が切除可能となり、平均観察期間19か月における無再発生存期間中央値は14.3か月であったと報告している⁷⁾。また、oxaliplatinおよびirinotecanを併用するFOLFOXIRIをレジメンに用いた報告もされており、Masiらは奏効率72%、切除率26%、4年生存率37%を得たと報告している⁸⁾。

これらの良好な治療成績が報告される一方で、化学療法に関連した肝障害や周術期合併症に関する報告も散見される⁹⁻¹¹⁾。Rubbia-Brandtらは化学療法により、steatohepatitisを合併した症例(14.7%)では正常肝の症例(1.6%)に比べ、有意に高い手術死亡率であったと報告している⁹⁾。Karouiらはmajor hepatectomyを施行した67例を対象とした検討を行い、化学療法施行群45例と対照群22例を比較し、周術期合併症はそれぞれ37.8%、13.6%と前者で有意に高く、化学療法の施行コース数と合併症発生率にも有意に相関があったと報告している¹⁰⁾。

今後はさらに、bevacizumabを中心とした分子標的薬を併用するレジメンに関する報告が増加すると予想される。分子標的薬に特有な合併症が懸念される一方で、bevacizumabを併用した術前化学療法施行後の肝切除は安全に施行可能であったと報告されており¹²⁻¹⁴⁾、今後の動向に注意する必要がある。

本症例においては、全身化学療法の投与期間は合計4クールと比較的短期間であった。前述したように、全身化学療法に伴う肝障害は諸家によって報告されており⁹⁻¹¹⁾、正常肝の脂肪症もしくはsteatohepatitisやsinusoidal dilatationが惹起された結果、肝実質は脆弱で易出血性となり、周術期合併症へ影響を及ぼすと考えられている。特に長期の化学療法は、より重度の肝障害を引き起こすと考えられている。本症例において肝実質はやや脆弱で、化学療法による軽度の脂肪症によるものと考えられた。ただし、全身化学療法も比較的短期間であったため、肝障害も軽度であり、周術期合併症を引き起こすことなく経過した。長期予後の観点からみると、本症例は術前化学療法により根治切除が得られており、切除可能病変に対する肝切除と同等の予後が見込められると思われる。

近年では、切除可能肝転移に対する術前化学療法に関する議論も盛んに行われている。術前化学療法に関する唯一の無作為化臨床試験(randomized clinical trial: RCT)はNordlingerらによって2007年のASCOで報告されている。この研究は切除可能大腸癌肝転移364例を対象にデザインされ、FOLFOXを用いた術前および術後化学療法施行群が手術単独群に比して、3年無増悪生存期間の有意な延長を認めたと報告されている¹⁵⁾。ただし、このRCTは術前化学療法単独の有効性に関するevidenceではない点に注意する必要がある。切除可能肝転移に対する術前化学療法はmicro metastasisを根絶させ、根治切除率および切除成績の向上が主目的である。しかし、化学療法期間中の病変増悪による切除率および治療成績の低下¹⁶⁾や先述したように、化学療法による肝障害や周術期合併症に関する報告⁹⁻¹¹⁾も散見されるため、切除可能肝転移に対する術前化学療法のコンセンサスは未だ得られていない。こうした現状を踏まえ、長期生存の唯一の手段である根治切除を施行する最善のタイミングを検討することが重要であると思われる。

おわりに

下大静脈浸潤を伴う高度進行大腸癌肝転移に対し、化学療法が奏効し切除可能となった症例を経験した。化学療法の有効性を示した1例であり、文献的考察を加え報告した。

文 献

- 1) Adam R: Chemotherapy and surgery: new perspectives on the treatment of unresectable liver metastases. *Ann. Oncol.* **14** (Suppl. 2): ii13-ii16. 2003.
- 2) Bismuth H, Adam R, Lévi F, et al: Resection of nonresectable liver metastases from colorectal cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Ann. Surg.* **224**: 509-520. 1996.
- 3) Tournigand C, André T, Achille E, et al: FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. *J. Clin. Oncol.* **22**: 229-237. 2004.
- 4) Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, et al: Randomized controlled trial of reduced-dose bolus fluorouracil plus leucovorin and irinotecan or infused fluorouracil plus leucovorin and oxaliplatin in patients with previously untreated metastatic

- colorectal cancer: a North American Intergroup Trial. *J. Clin. Oncol.* **24**: 3347-3353, 2006.
- 5) Falcone A, Ricci S, Brunetti I, et al: Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J. Clin. Oncol.* **25**: 1670-1676, 2007.
 - 6) Adam R, Avisar E, Ariche A, et al: Five-year survival following hepatic resection after neoadjuvant therapy for nonresectable colorectal (liver) metastases. *Ann. Surg. Oncol.* **8**: 347-353, 2001.
 - 7) Pozzo C, Basso M, Cassano A, et al: Neoadjuvant treatment of unresectable liver disease with irinotecan and 5-fluorouracil plus folinic acid in colorectal cancer patients. *Ann. Oncol.* **15**: 933-939, 2004.
 - 8) Masi G, Cupini S, Marcucci L, et al: Treatment with 5-fluorouracil/folinic acid, oxaliplatin, and irinotecan enables surgical resection of metastases in patients with initially unresectable metastatic colorectal cancer. *Ann. Surg. Oncol.* **13**: 58-65, 2006.
 - 9) Rubbia-Brandt L, Audard V, Sartoretti P, et al: Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann. Oncol.* **15**: 460-466, 2004.
 - 10) Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M, et al: Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann. Surg.* **243**: 1-7, 2006.
 - 11) Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, et al: Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J. Clin. Oncol.* **24**: 2065-2072, 2006.
 - 12) Reddy SK, Morse MA, Hurwitz HI, et al: Addition of bevacizumab to irinotecan- and oxaliplatin-based preoperative chemotherapy regimens does not increase morbidity after resection of colorectal liver metastases. *J. Am. Coll. Surg.* **206**: 96-106, 2008.
 - 13) Gruenberger B, Tamandl D, Schueller J, et al: Bevacizumab, capecitabine, and oxaliplatin as neoadjuvant therapy for patients with potentially curable metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* **26**: 1830-1835, 2008.
 - 14) D'Angelica M, Kornprat P, Gonen M, et al: Lack of evidence for increased operative morbidity after hepatectomy with perioperative use of bevacizumab: a matched case-control study. *Ann. Surg. Oncol.* **14**: 759-765, 2006.
 - 15) Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B, et al: Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer (EORTC Intergroup trial 40983): a randomised controlled trial. *Lancet* **371**: 1007-1016, 2008.
 - 16) Adam R, Pascal G, Castaing D, et al: Tumor progression while on chemotherapy: a contraindication to liver resection for multiple colorectal metastases?. *Ann. Surg.* **240**: 1052-1061, 2004.

最新の肝胆脾の3Dイメージ

肝門板の画像解剖*

郡司 久¹⁾・趙 明浩¹⁾・山本 宏¹⁾・永田 松夫¹⁾
 滝口 伸浩¹⁾・島田 英昭¹⁾・貝沼 修¹⁾・早田 浩明¹⁾
 池田 篤¹⁾・宮崎 彰成¹⁾・松本 育子¹⁾・山下 未来²⁾

要約：肝門板は肝門を頭側から覆う厚い結合織 (plate system) の一部として存在し、その詳細は Couinaud によって検討され、肝門部脈管への到達、あるいは肝門部胆管癌根治切除の鍵となる。肝門の脈管は plate を貫き肝内に入るとグリソン鞘単位となるため変位が少ないが、plate 内では特に胆管の合流形態はバリエーションに富んでいるため、3D 画像が術前に合流形態、門脈との位置関係を把握するのに役立つ。また、血管造影 CT、屍体肝解剖による検討の結果左右肝動脈の交通 (Communicating Arcade) は肝門板内に存在し、側副血行としてだけでなく parabiliary plexus の一部として肝門部胆管血流にも重要であることがわかった。

Key words：肝門板, plate system, Communicating Arcade (CA)

はじめに

肝臓外科において肝門部脈管への到達は重要であり、Couinaud¹⁾の検討より肝門を頭側より覆う厚い結合織 (plate) は胆管とは強固に密着しているが、肝実質とは間に粗な部分があり、plate を介して肝門部脈管に到達できることがわかった。

これを基にした高崎ら²⁾のグリソン一括肝切除は肝切除の簡便化に大きく役立っている。また、肝門部胆管癌手術においては肝門部胆管から容易に浸潤を受けやすいこの肝門板ごと胆管を切除することが重要であるが、この場合は変位の多い plate 内で肝門部脈管に到達する必要があり、個々の症例で脈管の立体構造を把握する必要がある。

本稿では MDCT による 3D porto-cholangiography を用いた plate 内の脈管の立体的位置関係の具体例提示及び、肝門板、左右肝動脈交通枝 (Communicating Arcade)、肝門部胆管の関係について考察する。

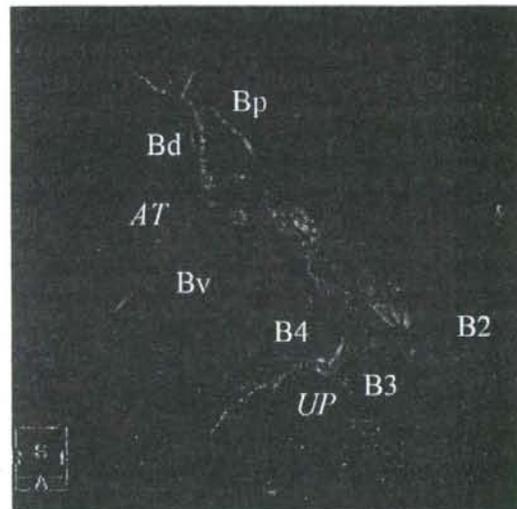


図 1 頭側からみた 3D porto-cholangiography
 B4、左右肝管、Bv が ventral arch の内側を走行し、
 Bp、Bd が AT を頭側で乗り越え、B2、B3 が UP を頭側
 で乗り越えている。

* Radiological Anatomy of the Hilar Plate

1) 千葉県がんセンター消化器外科 (〒260-8717 千葉市中央区仁戸名町 666-2)

2) 同 画像診断部

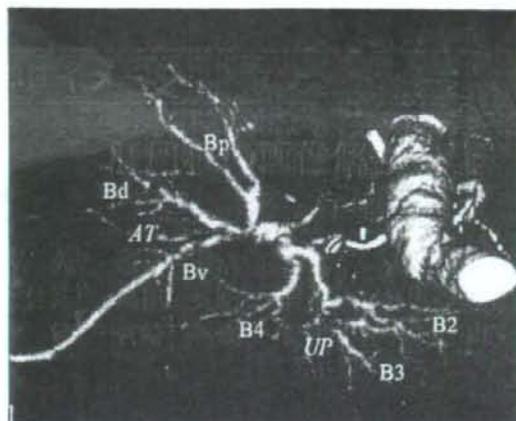


図2 頭背側からみた3D porto-cholangiography
Bp, Bd, B2, B3はそれぞれAT, UPの頭側を通る北回りであり、Bv, Bd, BpがATの左側で一緒に合流。B2, B3がUPで合流し外側区域枝を形成し、これにB4がUPの右側で合流するタイプである。

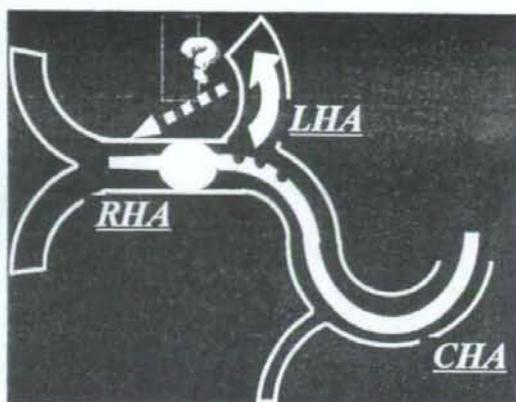


図3 右肝動脈バルーン塞栓による左肝動脈造影の方法
バルーン付き5.5Fr.カテーテルを右肝動脈内でinfrapatentし、近位側より1ml/秒で造影剤を10ml注入し左肝動脈造影を施行。

I. 3D Porto-cholangiography で見る肝門部脈管解剖

われわれが以前より報告してきた肝を左右対称としてみる考え方は門脈を2つの弓 (ventral arch と dorsal arch) に分けている³⁻⁵⁾。Ventral arch はUP～左右門脈本幹～前区域枝本幹 (anterior trunk: AT), Dorsal arch はP2～左右門脈本幹～後区域枝でそれぞれ構成されている。

3D Porto-cholangiography は任意の角度より見ることができ、このportal archを基準にして考える場合は頭尾方向からの観察が適している。

胆管は門脈の頭腹側に位置し、B4～左右肝管～腹側区域胆管枝 (Bv) がventral archの内側を走行しており、背側区域胆管枝 (Bd) と後区域胆管枝 (Bp) がATを頭側で乗り越え、B3, B2がUPを頭側で乗り越えるパターンが北回りと言われる通常タイプである (図1)。

胆管の合流、走行部位のバリエーション^{6,7)}は主にこのUP, ATをそれぞれ乗り越えるBd, Bp, B3, B2の組み合わせに生じ、胆管分離限界点を考える場合にはUP, ATの左右どちらで合流しているか、頭尾側どちらを走行しているか (北回りか南回りか) をポイントにみる必要がある (図2)。

II. 左右肝動脈交通枝 (Communicating Arcade: CA) と肝門板—血管造影・血管造影CTから—

肝門板は上述のような肝門部脈管との解剖学的関係として重要なだけでなく、左右肝の側副血行路としての役割が注目されている。

左右肝動脈の交通は肝胆道系手術や肝動注における血流改変術において経験的にその存在は知られていたが、その解剖学的な詳細についての報告は少なかった。また、近年Vellar⁸⁾やStapleton⁹⁾による屍体肝を用いた研究により左右肝動脈交通枝が肝門部胆管血流に関与していることが推測されている。

われわれはまず、バルーンカテーテルを用いた血管造影・血管造影CTにて左右肝動脈交通枝 (Communicating Arcade: CAと名づけた) の画像解剖を検討した¹⁰⁾。方法はバルーン付き5.5Fr.カテーテルを右肝動脈内でinfrapatentし、近位側より1ml/秒で造影剤を10ml注入し左肝動脈造影を施行 (図3)。引き続きMDCTを用いて肝門部を中心にcirculation studyを施行した。

結果、施行した13例全例にCAの存在を確認し、その走行部位は全て肝外の肝門板に相当する位置であった (図4)。

また、CAと尾状葉枝との交通も7例に認めた。

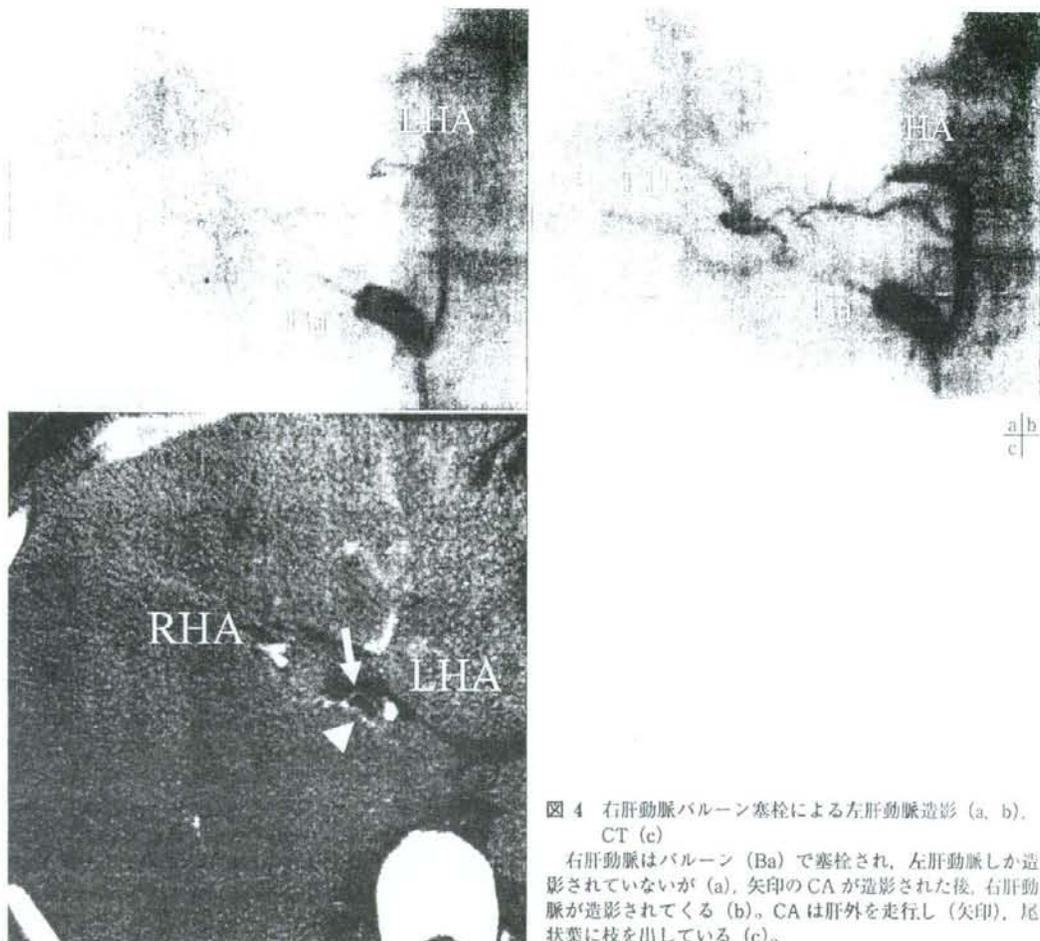


図4 右肝動脈バルーン塞栓による左肝動脈造影 (a, b), CT (c)

右肝動脈はバルーン (Ba) で塞栓され、左肝動脈しか造影されていないが (a)、矢印の CA が造影された後、右肝動脈が造影されてくる (b)。CA は肝外を走行し (矢印)、尾状葉に枝を出している (c)。

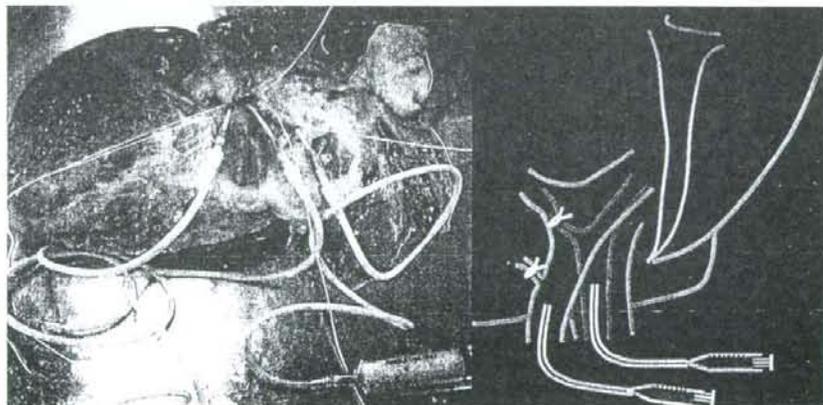


図5 凍結保存肝を用いた corrosion cast の作成法
右肝動脈結紮後、固有肝動脈より赤色樹脂、総胆管より緑色樹脂を注入。

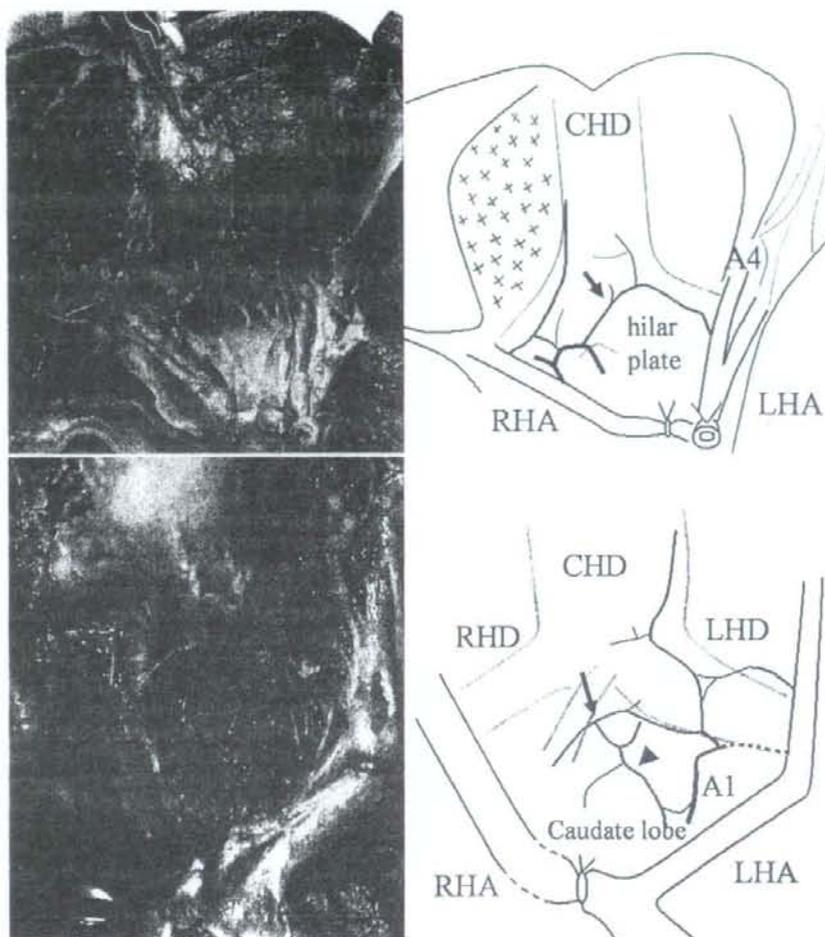


図6 corrosion castでみるCA、肝門板、肝門部胆管の關係

A4から分枝したCA(矢印)が肝門板と肝門部胆管の間を走行し、右肝動脈に流入する(a)。CA(矢印)は肝門部胆管に枝を出すとともに尾状葉にも細い分枝(矢頭)を出し、尾状葉動脈(A1)とも交通している(b)。

III. CA と肝門板、肝門部胆管—屍体肝解剖 (corrosion cast) から—

次にわれわれはCAの画像解剖を裏付けるべく屍体肝解剖にて検討した¹¹⁾。方法はホルマリン固定献体10例と凍結保存献体6例(右肝動脈結紮後、固有肝動脈より赤色樹脂、総胆管より緑色樹脂を注入)を用いてCAを剖出した(図5)。評価しうる献体11例すべてにCAを認め、肝門板に沿って走行し、肝門部胆管を栄養していた。肝門部胆管ではCAとmarginal arteries(3'0 clock, 9'0 clock)も交通していた。また、CAから尾状葉への分枝を認めるとともに尾状葉動脈(A1)との交通を認め、plexusを形成していた(図6)。

IV. 肝外側副動脈網とplate system

corrosion castを用いた検討でCAは左右肝の交通として存在したが、内側区域と外側区域の交通を臍静脈板に認め¹²⁾(図7)、さらに胆嚢板にも動脈叢を認めた(図8)。これらの交通動脈はplate systemに沿って存在し、すべて交通していた。

このことよりCAはplate systemに沿って存在する肝外側副動脈網の一部であり、umbilical plexus、cystic plexusと連続すると考えられる(図9)。

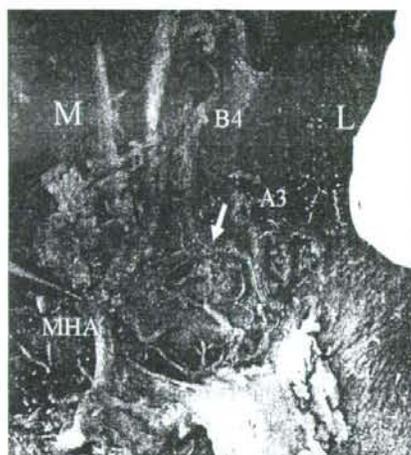


図 7 corrosion cast でみる臍静脈板と外側区域、内側区域間交通 (umbilical plexus)

臍静脈板と左胆管の間を走行する細い動脈枝 (矢印) が外側区域動脈と A4 を交通している。

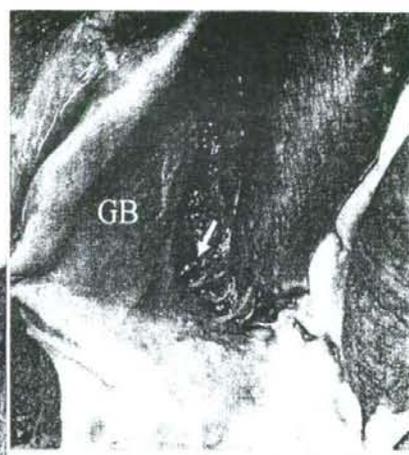


図 8 corrosion cast でみる cystic plexus 胆嚢板にも細い動脈枝が多致認められる。

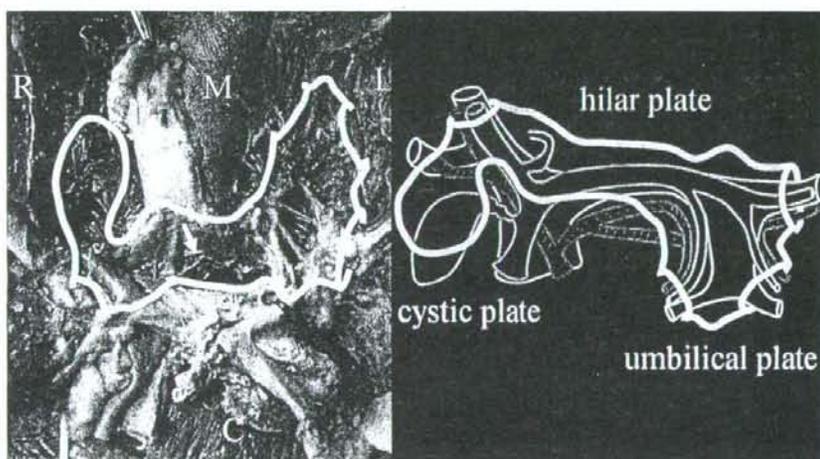


図 9 corrosion cast でみる plate system と交通動脈網
plate system (黄色太線) 部に沿って肝動脈の交通網が認められる。

ま と め

肝門板は肝門部脈管に到達するための結合織として重要であるだけでなく、肝外側副動脈網が走行する plate system の一部として左右肝動脈交通枝 (CA) の走行部位となっている。

参 考 文 献

- 1) Couinaud C : Surgical anatomy of the liver revisited. self publication, Paris, 1989.
- 2) 高崎 健, 小林誠一郎, 田中精一, ほか : グリソン精処理による新しい系統的肝切除術. 手術 40 : 7-14, 1986.
- 3) Cho A, Okazumi S, Takayama W, et al : Anatomy of the right anterosuperior area (segment 8) of the liver : evaluation with helical CT during arterial por-

- tophography. *Radiology* 214 : 491-495, 2000.
- 4) Cho A, Okazumi S, Makino H, et al. : Anterior fissure of the right liver—the third door of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 11 : 390-396, 2004.
 - 5) Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, et al. : Proporsal for a reclassification of liver based anatomy on portal ramifications. *Am J Surg* 189 : 195-199, 2005.
 - 6) Cho A, Okazaumi S, Yoshinaga Y, et al. : Relationship between left biliary duct system and left portal vein : evaluation with three-dimensional porto-cholangiography. *Radiology* 228 : 246-250, 2003.
 - 7) Cho A, Asano T, Yamamoto H, et al. : Relationship between right portal and biliary systems based on reclassification of the liver. *Am J Surg* 193 : 1-4, 2007.
 - 8) Vellar ID : The blood supply of the biliary ductal system and its relevance to vasculobiliary injuries following cholecystectomy. *Aust N Z J Surg* 69 : 816-820, 1999.
 - 9) Stapleton GN, Hickman R, Terblanche J : Blood supply of the right and left hepatic ducts. *Br J Surg* 85 : 202-207, 1998.
 - 10) Tohma T, Cho A, Okazumi S, et al. : Communicating arcade between the right and left hepatic arteries : evaluation with CT and angiography during temporary balloon occlusion of the right or left hepatic artery. *Radiology* 237 : 361-365, 2005.
 - 11) Gunji H, Cho A, Tohma T, et al. : The blood supply of the hilar bile duct and its relationship to the communicating arcade located between the right and left hepatic arteries. *Am J Surg* 192 : 276-280, 2006.
 - 12) Cho A, Gunji H, Koike N, et al. : Intersegmental arterial communication between the medial and left lateral segments of the liver. *Dig Surg* 24 : 328-330, 2007.

* * *

The Effect of Meloxicam, a Selective COX-2 Inhibitor, on the Microvasculature of Small Metastatic Liver Tumors in Rats

Naoko Iwase¹, Tetsuro Higuchi¹, Tsuyoshi Gonda², Hirotohi Kobayashi¹, Hiroyuki Uetake¹, Masayuki Enomoto¹ and Kenichi Sugihara¹

¹Department of Surgical Oncology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Bunkyo-ku, Tokyo and
²Department of Surgery, Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Kawagoe, Saitama, Japan

Received October 12, 2006; accepted April 23, 2007; published online August 27, 2007

Background: COX-2 is involved in tumor angiogenesis and modulation of the production of angiogenic factors by colorectal carcinoma cells. It has been shown that COX-2 inhibitors have inhibitory activities against various types of tumor, including colorectal carcinoma. In this study, we investigated the tumor vessels of small metastatic liver tumors in rats and the effect of meloxicam, a selective COX-2 inhibitor, on their growth and microvasculature.

Methods: The metastatic liver tumors were produced by intraportal inoculation of RCN-H4 cells in male F344/D:Crj rats ($n = 40$). The microvasculature was examined by scanning electron microscopy and stereomicroscopy. Microvascular casts were produced by perfusion via the abdominal aorta 14 days after tumor inoculation. Four groups (control, groups 1-3) of rats were treated with meloxicam 0, 0.6, 1.0 and 3.0 mg/kg/day, respectively, by oral gavage 5 days/week for two weeks from the day of inoculation of RCN-H4 cells.

Results: The mean number of tumors was significantly decreased in groups 1-3 (5.6 ± 0.8 standard deviation, SD; 3.6 ± 1.1 ; and 5.5 ± 1.1 , respectively) compared with control (11.2 ± 2.7 ; $P = 0.0002$, each). Meloxicam also significantly reduced the mean diameter of the tumor: 730 ± 254 , 685 ± 212 and 644 ± 139 in groups 1-3, respectively, in comparison with 870 ± 276 in control ($P = 0.0025$, 0.0011 and < 0.0001 , respectively).

Conclusions: Meloxicam's anti-angiogenic activity interferes with the growth of metastatic liver tumors. Meloxicam might have therapeutic potential for liver metastasis of colorectal carcinoma.

Key words: COX-2 - colorectal carcinoma - liver metastasis - microvasculature

INTRODUCTION

Colorectal carcinoma is widespread and frequently fatal in the West (1) and its incidence in Japan is also increasing (2). The liver is one of the major targets for colorectal carcinoma metastases and liver metastases indicate a poor prognosis. Therefore, effective therapeutic agents against liver metastasis would be of high clinical importance.

Epidemiological studies have suggested that non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) might reduce the risk of colorectal carcinoma (3-7) and decrease the number and size of polyps in patients with familial adenomatous polyposis (8-10). These studies imply that NSAIDs could modulate

carcinogenesis and the development of colorectal carcinoma. NSAIDs are known to inhibit cyclooxygenase (COX), the key enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. Two isoforms of COX, COX-1 and COX-2, are recognized (11). COX-1 is constitutively expressed in many normal tissues to regulate and maintain normal cellular functions. In contrast, COX-2 is induced by several inflammatory stimuli, such as cytokines, growth factors and tumor promoters (11), and expressed in colorectal carcinoma (12,13). COX-2 is thought to influence carcinogenesis and the development of colorectal carcinoma. Recent studies on clinical materials have shown that COX-2 levels are increased in approximately 85% of colorectal carcinoma (12,14-16), indicating that it might play an important role in colon carcinogenesis (17). Tsujii et al. reported that COX-2 is involved in tumor angiogenesis and modulates the production of angiogenic factors by colon carcinoma

For reprints and all correspondence: Naoko Iwase, Department of Surgical Oncology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan. E-mail: nao441122@jcom.home.ne.jp

cells (18). Several reports have suggested that COX-2 inhibitors attenuate the growth and metastatic potential of colorectal carcinoma (19,20).

The mechanism of liver metastasis of colorectal carcinoma consists of multiple steps (21). Angiogenesis is known to be essential for the growth of both primary and metastatic tumors: growth beyond 1–2 mm³ requires an adequate blood supply (22). Angiogenic activity is one of several requirements for metastasis; as neovascularization appears to be necessary for cells to escape from the primary tumor and may also be necessary for growth of a metastatic implant (23), angiogenesis is a crucial factor at the initial and final stages of the metastatic sequence (24–26).

Angiogenesis has been studied using various methods. The microvascularization of liver and lung metastatic tumors of colorectal carcinoma has been studied in rats by a resin corrosion technique and a stereomicroscope (27,28). This technique allows visualization of the three-dimensional microvasculature of metastatic liver tumors, which cannot be observed by cross-sectional techniques.

The aim of our study was to examine the effect of meloxicam, a selective COX-2 inhibitor, on the growth and microvascularization of liver metastatic tumors in rats, using scanning electron microscopy (SEM).

MATERIALS AND METHODS

COX-2 INHIBITOR

Meloxicam was suspended in 0.5% methyl cellulose. The dosing volume was kept constant (0.5 ml/rat), and the concentration was adjusted twice weekly based on body weight. Meloxicam has a COX-1 IC₅₀ of 3.27 μM and a COX-2 IC₅₀ of 0.25 μM; i.e. it is 13.1 times more inhibitory for COX-2 (29).

ANIMALS

A total of 40 male F344/DuCrj rats, 5 weeks old and weighing 100–120 g, were purchased from Japan SLC (Shizuoka, Japan). The rats were housed in polycarbonate cages on wood-chip bedding in an animal room under controlled conditions: a 12 h light/12 h dark cycle, 45 ± 5% humidity and 23 ± 1 °C room temperature, with free access to tap water and standard rodent chow (CE-2, Nihon Clea, Tokyo, Japan).

TUMOR CELLS

We used the highly metastatic rat colon carcinoma cell line RCN-H4 (30). RCN-H4 is a subclone established by Inoue (31) according to Fidler's method; it has a high potency for forming experimental liver metastatic tumors. The RIKEN Cell Bank kindly donated the RCN-H4 line, and the cells were stored at -80 °C. Frozen tumor cells were washed in phosphate-buffered saline (PBS) then seeded in 10 cm

culture dishes (Falcon, Lincoln Park, NJ, USA) and cultured in 10 ml RPMI 1640 medium (Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA) containing 10% fetal bovine serum (FBS; Sigma) and 0.05% penicillin-streptomycin solution (Sigma) at 37 °C, 0.5% CO₂, for 7 days until they became semi-confluent on the culture dish.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Rats at 6 weeks of age, after 1 week of acclimatization, were divided randomly into four groups of 10. The rats in groups 1–3 were treated with meloxicam by oral gavage at 0.6, 1.0 and 3.0 mg/kg/day, respectively, five times weekly from the day of inoculation of RCN-H4 cells to the end of the experiment for two weeks. The control group received the same volume of vehicle in the same manner. Body weight, water and food consumption were measured weekly during the experiment.

FORMATION OF METASTATIC LIVER TUMORS

Under ether anesthesia, rats underwent laparotomy through a midline abdominal incision and were inoculated intraperitoneally with a tumor suspension containing 5 × 10⁶ RCN-H4 cells in 0.5 ml PBS using a 30-gauge needle and a 1 ml syringe. A small fragment of gelatin sponge was applied to the site of inoculation to prevent bleeding and peritoneal dissemination.

PREPARATION OF VASCULAR CASTS

Microvascular casts were prepared according to the method of Murakami (32). All rats were sacrificed under ether anesthesia 2 weeks after the start of the experiment, and, for arterially perfused casts, the abdominal aorta was cannulated in a retrograde manner using an 18-gauge catheter; the tip of which was placed just rostral to the renal arteries. A mixture of resin, Mercox (Oken Shoji, Tokyo, Japan) and methyl methacrylate (20 ml) was injected through the catheter until the inferior vena cava was filled with injected resin. Immediately after resin injection, each liver was removed and placed in a water bath at room temperature, and then subjected to corrosion overnight in a 20% solution of KOH. The specimen was then washed in tap water and the number of tumors appearing on the surface of the liver of each rat counted and added up in each group.

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

The vascular samples were trimmed into suitable blocks with a hand saw and razor blades under a stereoscope, coated with a thin layer of gold by an evaporation method, and observed under a scanning electron microscope (SEM; S-4500; Hitachi, Tokyo, Japan). The accelerating voltage was 15 kV and the working distance was 15 mm. In addition to identifying each component of the intrahepatic microvasculature, the maximum diameters of tumors were

measured using a scale displayed in the monitor of the scanning electron microscope.

All the metastatic foci which were on the surface of liver were observed using a scanning electron microscope, and the image data of those SEM were input into the personal computer and analyzed. The analysis of the area was performed on a Macintosh computer using the public domain NIH Image program (developed at the US National Institutes of Health and available from the Internet by anonymous FTP from zippy.nimh.nih.gov or on floppy disk from the National Technical Information Service, Springfield, Virginia, part number PB95-500195GE1). The tumor vascular density (TVD) was defined as the ratio of tumor vessel area to whole tumor area.

SCANNING STEREO-MICROSCOPY

We used the stereomicroscopy (SZX-12; Olympus Optical, Tokyo, Japan) for a diagnosis of liver metastasis. We counted the number of all the metastatic tumors on the surface of the liver by stereomicroscope. We diagnosed a part with the formation of an irregular tumor vessel as metastasis in the part which the sinusoid structure came out of.

STATISTICAL ANALYSIS

All data are expressed as mean \pm standard deviation. The Kruskal-Wallis test analyzed the effect of COX-2 inhibitor on the diameter and TVD of metastatic tumors. The Mann-Whitney test was used to compare two groups. $P < 0.05$ was considered to be significant.

RESULTS

ARTERIALLY PERFUSED CASTS

In arterial perfusion casts from normal rats, not only the hepatic arteries and sinusoids but also the portal veins were filled with resin. The vascular beds were formed by the network of sinusoids, which were partitioned by the portal canals conducting the portal veins into individual lobules, where they converged to the central vein and, in turn, the hepatic vein (Fig. 1).

MICROVASCULATURE OF METASTATIC TUMORS (CONTROL)

Arterially perfused metastatic tumors appeared by SEM as a blank space surrounded by newly developed vessels (Fig. 2). The tumors were almost round and the lesions were surrounded by a normal sinusoidal pattern. The metastatic tumors appeared as a blank space with a network of newly developed vessels. The diameter of the vessels was larger than sinusoidal vessels, but irregular and with narrow parts.

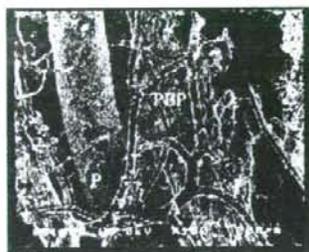


Figure 1. Microphotograph of the vascular cast from a normal rat. P, portal vein; A, hepatic artery; PBP, peribiliary plexus; S, hepatic sinusoid.

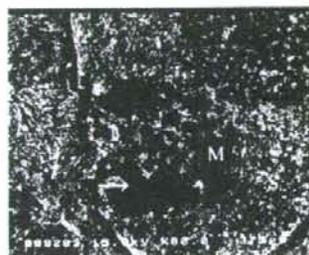


Figure 2. Scanning electron micrograph: a vascular cast of liver metastases in a rat inoculated with RCN-H4 (control). Metastatic tumors appeared as a blank space surrounded by newly developed vessels (white arrow). M, metastatic tumor; S, hepatic sinusoid.

INHIBITORY EFFECT OF MELOXICAM ON LIVER METASTASIS

Final body weights of rats were 148 ± 11.4 , 138 ± 20.8 , 135.2 ± 10.6 and 129.2 ± 13.3 g in the control group and groups 1-3, respectively. Slightly reduced final body weights were observed in the groups with Meloxicam but the decrease was not statistically significant ($P = 0.1634$).

The mean number of tumors in each rat was significantly decreased in groups 1-3 (5.6 ± 0.8 standard deviation, SD; 3.6 ± 1.1 , and 5.5 ± 1.1 , respectively) compared with control (11.2 ± 2.7 ; $P = 0.0002$, each). The mean diameter of liver metastatic tumors in the control group was 870 ± 276 (ranging from 360 to 1744) μm (Tables 1 and 2).

The number of metastatic tumors in group 1 was approximately half of that of the control group ($P = 0.0002$). The number of tumors was also significantly decreased in groups 2 and 3 compared with the control group. There were no significant differences in number of tumors between the three meloxicam-treated groups.

Meloxicam significantly reduced the diameter of metastatic tumors compared with the control ($P < 0.0001$, Fig. 3). The mean diameter of metastatic tumors in the meloxicam-treated groups was 688 ± 209 (ranging from 316 to 1640) μm . The mean tumor size was 734 ± 254 (ranging

Table 1. The effect of meloxicam on liver metastasis in rats

Group	Tumor diameter (μm)	P-value	Tumor vascular density (%)	P-value
Control	870 \pm 276		32.9 \pm 10.5	
Group 1 (0.6 mg/kg meloxicam)	734 \pm 254	0.0025	30.2 \pm 8.80	0.1107
Group 2 (1.0 mg/kg meloxicam)	685 \pm 212	0.0011	20.1 \pm 5.30	<0.0001
Group 3 (3.0 mg/kg meloxicam)	644 \pm 139	<0.0001	16.6 \pm 7.10	<0.0001

P-value was estimated between control and each group.

Table 2. The number of liver metastases in each rat

Group	Number of liver metastases	P-value
Control	11.2 \pm 2.7	
Group 1	5.6 \pm 0.8	0.0002
Group 2	3.6 \pm 1.1	0.0002
Group 3	5.5 \pm 1.1	0.0002

P-value was estimated between control and each group.

from 316 to 1640 μm in group 1, 685 \pm 212 (ranging from 328 to 1149) μm in group 2 and 644 \pm 139 (ranging from 422 to 934) μm in group 3. However, the differences in diameters between groups 1 and 2 ($P = 0.6686$) and groups 2 and 3 ($P = 0.2425$) were not significant.

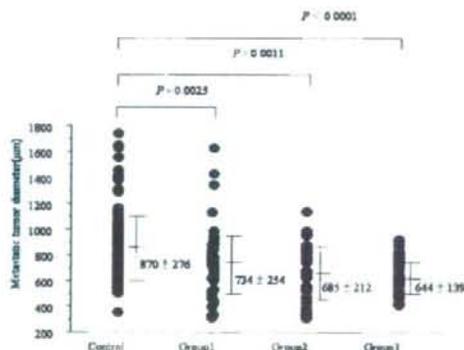


Figure 3. Metastatic tumor diameters. The size of the metastatic tumors decreased in meloxicam-treated groups.

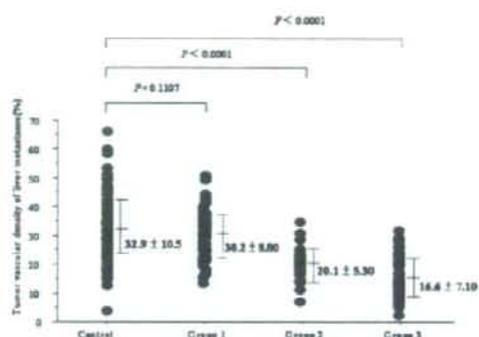


Figure 4. Metastatic tumor TVDs. There was difference in TVD between control group and group 2 or 3. However, there was no difference in TVD between control and group 1. TVD, tumor vascular density.



Figure 5. Vascular cast of liver metastases in a rat inoculated with RCN-H4 in group 3 (meloxicam-treated). M, metastatic tumor.

Meloxicam also reduced the TVD of metastatic tumors. The mean TVD of metastatic tumors in the control group was 32.9 \pm 10.5% (ranging from 3.9 to 66.3%). The mean TVD of metastatic tumors in groups 1–3 was 30.2 \pm 8.80, 20.1 \pm 5.30 and 16.6 \pm 7.10% (ranging from 12.7 to 51.1%, from 6.4 to 34.3% and from 1.7 to 31.4%, respectively). TVD was significantly decreased in groups 2 and 3 compared with the control ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$), while the difference between the control and group 1 ($P = 0.1107$) was not significant (Fig. 4).

The morphologic characteristics of each tumor and tumor vessel in the groups treated with meloxicam were similar (group 3 shown in Fig. 5). Tumor vessels in meloxicam-treated groups were sparse and did not fill the blank space.

DISCUSSION

We have shown that meloxicam inhibits the growth of metastatic liver tumors. The size of the metastatic tumors decreased in the meloxicam-treated groups, as shown by SEM with a resin corrosion technique and there was

difference in TVD between control group and group 2 or 3. The number of metastatic tumors was also smaller in the meloxicam-treated groups.

A great deal of evidence supports the view that COX-2 contributes to tumorigenesis and that its inhibition might be useful in the prevention of intestinal polyposis and colorectal carcinoma (10,33,34). Sheehan et al. detected no COX-2 staining in normal colons, weak staining in normal mucosa adjacent to COX-2 positive tumors and varying degrees of COX-2 staining in tumor cells (35). We have previously reported a positive relationship between COX-2 expression and tumor growth in colorectal adenoma and adenocarcinoma (15,36,37). Specific COX-2 inhibition, either by targeted knockout of the COX-2 gene or by pharmacological intervention, has been shown to effectively decrease the growth of murine intestinal adenomas (33,38,39).

The COX-2 inhibitor celecoxib reduces the incidence and multiplicity of colon tumors in rats by approximately 93 and 97%, respectively (40), while rofecoxib attenuates the growth and metastatic potential of colorectal carcinoma in mice (39,41). As with other COX-2 inhibitors, meloxicam has been shown to inhibit the growth of HCA-7 colorectal tumors in nude mice (42), and the growth of transplantable colon adenocarcinoma in a murine model (43).

Cancer metastasis consists of multiple interdependent processes. To metastasize, tumor cells must invade, embolize, survive in the circulation, settle in distant capillary beds, and extravasate into and multiply in the organ parenchyma (21). Ishida et al. have reported that tumor emboli were seen in the interlobular portal venules, inlet venules and sinusoids within 2 h of AH60C injection (44); we gave the rats meloxicam 4–6 h after the injection of cancer cells. Our results, namely the significantly decreased number of metastatic tumors in meloxicam-treated groups, demonstrate some influence of meloxicam to restrain the process after their entrapment in the capillary beds of metastatic site.

We have also shown that meloxicam decreased the diameter of metastatic tumors. Several previous studies have shown that COX-2 inhibitors interfere with the growth of metastatic tumors (28,45). The mechanisms of action of COX-2 inhibitors have been postulated to include their antiangiogenic effects (18), suppression of matrix metalloproteinase (MMP) production, induction of apoptosis (46,47), inhibition of cellular proliferation and adhesion, and others (19,48). In this study, there was difference in TVD between control group and group 2 or 3. This might indicate that meloxicam restricts the growth of tumors mainly by interfering with the growth of tumor vessels to reduce blood flow.

In order to investigate the angiogenesis of liver metastasis, many studies have used vascular endothelial growth factor, MMP and microvessel density (19,49–51). We previously reported that the neovasculature of metastatic liver and lung tumors in rats can be examined using a resin cast (27,28). Kobayashi et al. evaluated the effect of a COX-2 inhibitor on neovascularization of metastatic lung tumors by using resin casts to measure the diameter of tumor vessels and the

three-dimensional architecture of vascularization (28). They suggested that the COX-2 inhibitor reduced the growth rate of the tumors through poor tumor vessel formation. Here, we have introduced a new concept, TVD (the ratio of tumor vessel area to tumor area), which gives an objective evaluation of vascularity in tumors.

In conclusion, we have demonstrated that meloxicam decreases the number, size and TVD of metastatic liver tumors in rats. Its therapeutic potential for liver metastases of colorectal carcinoma should further be investigated.

Acknowledgments

Meloxicam was kindly provided by Daiichi Pharmaceutical Co. Ltd. We thank Yoko Takagi for her technical support.

Conflict of interest statement

None declared.

References

- Jemal A, Murray T, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, et al. Cancer Statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005;55:10–30.
- Muto T, Kotake K, Koyama Y. Colorectal cancer statistics in Japan: data from JSCCR registration, 1974–1993. *Int J Clin Oncol* 2001;6:171–6.
- Kune GA, Kune S, Watson LE. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne Colorectal Cancer Study. *Cancer Res* 1988;48:4399–404.
- Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *New Engl J Med* 1991;325:1593–6.
- Giovannucci E, Egan KM, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *New Engl J Med* 1995;333:609–14.
- Suh O, Mettlin C, Petrelli NJ. Aspirin use, cancer, and polyps of the large bowel. *Cancer* 1993;72:1171–7.
- Peleg H, Maibach HI, Brown SH, Wilcox CM. Aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of subsequent colorectal cancer. *Arch Intern Med* 1994;154:394–9.
- Waddell WR, Loughry RW. Sulindac for polyposis of the colon. *J Surg Oncol* 1983;24:83–7.
- Giardiello FM, Hamilton SR, Krush AJ, Piantadosi S, Hyland LM, Celano P, et al. Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *New Engl J Med* 1993;328:1313–6.
- Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *New Engl J Med* 2000;342:1946–52.
- Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *A Rev Biochem* 2000;69:145–82.
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, Dubois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183–8.
- Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, Hashiramoto A, Mukai S, Asai K, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55:3785–9.
- Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene* 1999;18:7908–16.
- Fujita T, Matsui M, Takaku K, Uetake H, Ichikawa W, Taketo MM, et al. Size- and invasion-dependent increase in cyclooxygenase 2 levels in human colorectal carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:4823–6.
- Kutcher W, Jones DA, Matsumami N, Groden J, McIntyre TM, Zimmerman GA, et al. Prostaglandin H synthase 2 vs

- expressed abnormally in human colon cancer: evidence for a transcriptional effect. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:4816-20.
17. Smalley WE, DuBois RN. Colorectal cancer and non steroidal anti-inflammatory drugs. *Adv Pharmacol* 1997;39:1-20.
 18. Tsuji M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93:705-16.
 19. Nogatsuka I, Yamada N, Shimizu S, Ohira M, Nishino H, Seki S, et al. Inhibitory effect of a selective COX-2 inhibitor on liver metastasis of colon cancer. *Int J Cancer* 1997;76:582-587.
 20. Matsunaga N, Yamada N, Ohira M, Tachimori A, Nishiguchi Y, Nishino H, et al. Combined treatment with selective cyclooxygenase-2 inhibitor and fluorinated pyrimidines for liver metastasis of colon cancer. *Oncol Rep* 2004;11:167-71.
 21. Cutman M, Fidler IJ. Biology of human colon cancer metastasis. *World J Surg* 1995;19:226-34.
 22. Ellis LM, Fidler IJ. Angiogenesis and metastasis. *Eur J Cancer* 1996;32A:2451-60.
 23. Folkman J. Endothelial cells and angiogenic growth factors in cancer growth and metastasis. Introduction. *Cancer Metastasis Rev* 1990;9:171-4.
 24. Liotta LA, Klemmman J, Staidel GM. Quantitative relationships of intravascular tumor cells, tumor vessels, and pulmonary metastases following tumor implantation. *Cancer Res* 1974;34:997-1004.
 25. Blood CH, Zetter BR. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta* 1990;1032:89-118.
 26. Nagy JA, Brown LF, Senger DR, Lanir N, Van de Water L, Dvorak AM, et al. Pathogenesis of tumor stroma generation: a critical role for leaky blood vessels and fibrin deposition. *Biochim Biophys Acta* 1989;948:305-26.
 27. Gonda T, Ishida H, Yoshinaga K, Sugihara K. Microvasculature of small liver metastases in rats. *J Surg Res* 2000;94:43-8.
 28. Kobayashi H, Gonda T, Uetake H, Higuchi T, Enomoto M, Sugihara K. JTE-522, a selective COX-2 inhibitor, interferes with the growth of lung metastases from colorectal cancer in rats due to inhibition of neovascularization: a vascular cast model study. *Int J Cancer* 2004;112:920-6.
 29. Pairet M, Van Ryn J, Schierok H, Mauz A, Trummelitz G, Engelhardt G. Differential inhibition of cyclooxygenases-1 and -2 by meloxicam and its 4'-isomer. *Inflamm Res* 1998;47:270-6.
 30. Okuno K, Hirai N, Lee YS, Kawai I, Shigeoka H, Yasutomi M. Involvement of liver-associated immunity in hepatic metastasis formation. *J Surg Res* 1998;75:148-52.
 31. Inoue Y, Kashima Y, Aizawa K, Hatakeyama K. A new rat colon cancer cell line metastasizes spontaneously: biologic characteristics and chemotherapeutic response. *Jpn J Cancer Res* 1991;82:90-7.
 32. Murakami T. Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of blood vessels. *Arch Histol Jpn* 1971;32:445-54.
 33. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Oshima H, Hancock B, Kwong E, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc delta 716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 1996;87:803-9.
 34. Taketo MM. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part 1). *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1529-36.
 35. Sheehan KM, Sheehan K, O'Donoghue DP, MacSweeney F, Conroy RM, Fitzgerald DJ, et al. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999;282:1254-7.
 36. Hasegawa K, Ichikawa W, Fujita T, Ohno R, Okusa T, Yoshinaga K, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA in human colorectal adenomas. *Eur J Cancer* 2001;37:1469-74.
 37. Sato T, Yoshinaga K, Okabe S, Okawa T, Enomoto M, Takizawa T, et al. Cyclooxygenase-2 expression in colorectal adenomas. *Dis Colon Rectum* 2003;46:786-92.
 38. Reddy BS, Rao C, Seibert K. Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1996;56:4566-9.
 39. Oshima M, Mura N, Kargman S, Arguello M, Luk P, Kwong E, et al. Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apcdelta716 mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res* 2001;61:1733-40.
 40. Kawamori T, Rao CV, Seibert K, Reddy BS. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1998;58:409-12.
 41. Yao M, Kargman S, Lam EC, Kelly CR, Zheng Y, Luk P, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 by rofecoxib attenuates the growth and metastatic potential of colorectal carcinoma in mice. *Cancer Res* 2003;63:586-92.
 42. Goldman AP, Williams CS, Sheng H, Lamps I, Williams VP, Pairet M, et al. Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells. *Carcinogenesis* 1998;19:2195-9.
 43. Hussey HJ, Tisdale MJ. Effect of polyunsaturated fatty acids on the growth of murine colon adenocarcinomas *in vitro* and *in vivo*. *Br J Cancer* 1994;70:6-10.
 44. Ishida H, Iwama T, Mishima Y. The significance of portal vein chemotherapy for liver micrometastases: an experimental study of a rat model. *Surg Today* 1994;24:900-5.
 45. Hussey HJ, Tisdale MJ. Effect of the specific cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam on tumour growth and cachexia in a murine model. *Int J Cancer* 2000;87:95-100.
 46. Sun Y, Tang XM, Half E, Kuo MT, Sinicropo FA. Cyclooxygenase-2 overexpression reduces apoptotic susceptibility by inhibiting the cytochrome c-dependent apoptotic pathway in human colon cancer cells. *Cancer Res* 2002;62:6323-8.
 47. Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998;58:362-6.
 48. Yamazaki R, Kusunoki N, Matsuzaki T, Hashimoto S, Kawai S. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors show a differential ability to inhibit proliferation and induce apoptosis of colon adenocarcinoma cells. *FEBS Lett* 2002;531:278-84.
 49. Cianchi F, Cortesini C, Bechi P, Fantappie O, Messerini L, Vannacci A, et al. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression correlates with tumor angiogenesis in human colorectal cancer. *Gastroenterology* 2001;121:1339-47.
 50. Yoshida S, Amano H, Hayashi I, Kitasato H, Kamata M, Inukai M, et al. COX-2/VEGF-dependent facilitation of tumor-associated angiogenesis and tumor growth *in vivo*. *Lab Invest* 2003;83:1385-94.
 51. Fenwick SW, Toogood GJ, Lodge JP, Hull MA. The effect of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib on human colorectal cancer liver metastases. *Gastroenterology* 2003;125:716-29.

2. 再発に対する 大腸癌術後サーベイランスの意義*

石黒めぐみ 小林宏寿 望月英隆 杉原健一**

【要旨】大腸癌治療切除後の5年生存率は約70%と比較的良好であるが、一方で約30%に再発をきたし、その約80%が術後3年以内に出現する。大腸癌の予後の改善においては、再発を切除可能な状態で発見することが重要であり、術後サーベイランスの目的はその点にある。再発巣の治療切除が可能であれば約40%の5年生存率が期待できる。術後サーベイランスは大腸癌術後の生存率の向上に寄与し、本邦の良好な治療成績の一端を担っている。

はじめに

近年、本邦における大腸癌罹患数は増加の一途であり、2005年の癌関連死亡のうち、大腸癌の死亡率は、男性では肺癌、胃癌、肝癌に次いで第4位、女性では第1位となっている。大腸癌は、治療切除後の5年生存率が約70%であり(大腸癌研究会・大腸癌全国登録1991～1994年度症例)¹⁾、食道癌、膵癌などの消化器領域の他癌に比べ、比較的予後良好な癌である。しかし一方で、治療切除が行われた場合でも、約30%の症例に再発が起こるといふ現実がある。

CPT-11(irinotecan)、oxaliplatinなどの新規抗

キーワード：大腸癌、サーベイランス、再発、ガイドライン

* Consequence of the surveillance after curative resection for colorectal cancers

** M. Ishiguro, H. Kobayashi: 東京医科歯科大学大学院腫瘍外科; H. Mochizuki(教授/院長): 防衛医科大学校外科; K. Sugihara(教授): 東京医科歯科大学大学院腫瘍外科。

癌薬や分子標的治療薬の登場と、それに伴う多剤併用レジメンの普及により、切除不能進行・再発大腸癌の生存期間中央値(MST)は20ヵ月を超える時代に突入しているが、いまだ根治にいたる症例は非常にまれである。

再発大腸癌を治療せしめるには、再発を切除可能な状態で発見することが重要であり、術後サーベイランスの目的は、まさにその点にある。本稿では、再発に対する大腸癌術後サーベイランスの意義について考えてみたい。

I. 再発巣の切除は予後の改善に寄与するか

そもそも、再発巣の切除は予後の改善に寄与するのであろうか?

大腸癌研究会では、2003年7月に「大腸癌術後再発に関するフォローアップに関する研究プロジェクト」(委員長:望月英隆)[以下、プロジェクト研究]を発足し(表1)、14施設から1991～1996年の大腸癌治療切除例5,317例を集積し、検討した²⁾。

再発は906例に認め、再発率は17.1%であった。そのうち、初回再発巣に対して治療手術を施行しえたのは379例。再発巣治療切除率は41.8%であった。再発巣治療切除例の初回再発後5年生存率は42.2%、生存期間中央値は1,293日であり、

表1. 大腸癌研究会「大腸癌術後再発に関するフォローアップに関する研究プロジェクト」参加施設

施設名	施設代表者
防衛医科大学校外科	望月英隆
弘前大学第二外科	森田隆幸
栃木県立がんセンター外科	固武健二郎
東京医科歯科大学腫瘍外科	杉原健一
東京女子医科大学第二外科	亀岡信悟
都立駒込病院外科	高橋慶一
東邦大学消化器外科	寺本龍生
癌研究会附属有明病院外科	大矢雅敏
自衛隊中央病院外科	長谷和生
国立国際医療センター大腸肛門外科	斉藤幸夫
愛知県がんセンター中央病院 消化器外科	平井 孝
藤田保健衛生大学外科	前田耕太郎
大阪府立成人病センター第一外科	亀山雅男
久留米大学外科	白水和雄

非治療切除例(手術非施行例を含む)の生存期間中央値381日に比し、有意に良好であった(図1)。

再発の診断時期別の予後の検討では、術後1年以内の再発例では再発巣治療切除率が低く、また初回再発後の予後は、術後1年以降に再発した症例に比し、有意に不良であった(図2)。しかし、再発巣が治療切除できた症例に限って検討すると、再発巣治療切除後の予後は、診断時期による差はなく、いずれも5年生存率が約40%と、比較的良好であった(図1)。

このことより、一般に予後不良とされている術後早期の再発であっても、再発巣に対し治療切除を行うことができれば、約40%の5年生存が期待できることが明らかになった。

II. 術後サーベイランスは予後の改善に寄与するか

では、術後サーベイランスは再発巣の治療切除率の向上に貢献し、予後を改善することができるのであろうか？

1990年代後半に、大腸癌術後のサーベイランスに関する代表的な6つのランダム化比較試験(RCT)が行われたが、再発の早期発見および有意な生存率の改善を示した研究は二つのみであっ

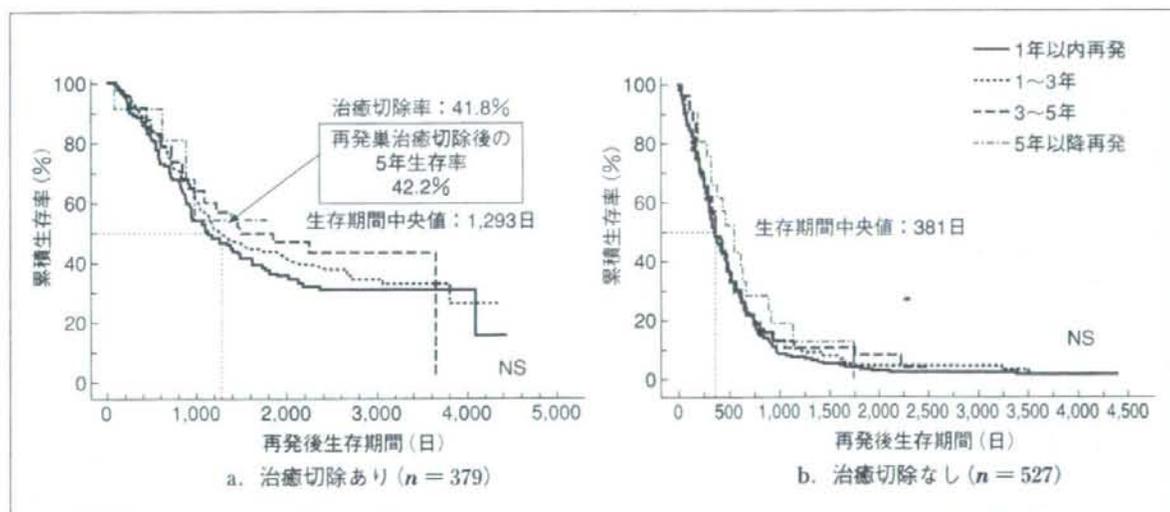


図1. 再発巣治療切除後の生存曲線(初回再発診断時期別)

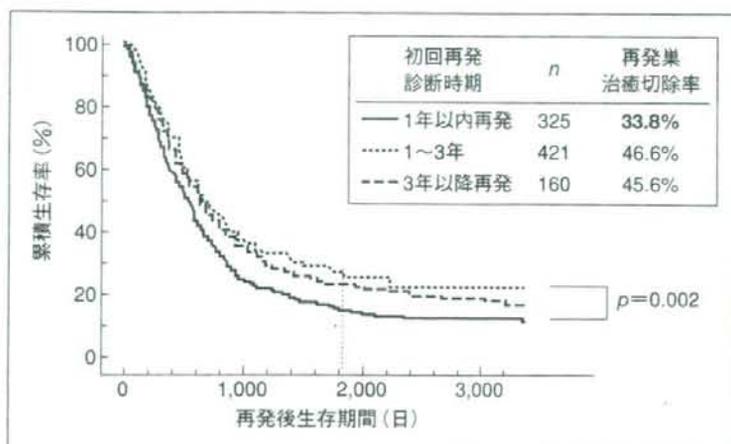


図2. 初回再発診断時期別の再発巣治癒切除率と再発後生存曲線

表2. 大腸癌術後サーベイランスに関するランダム化比較試験

報告者(年)	症例数*	再発率*	再発時期*	再発巣治癒切除率*	5年生存率*
Makela ら ³⁾ フィンランド(1995)	106(52:54)	42%:39% (NS)	10ヵ月:15ヵ月 ($p=0.002$)	22%:14% (NS)	59%:54% (NS)
Ohlsson ら ⁴⁾ スウェーデン(1995)	107(53:54)	32%:33% (NS)	20ヵ月:24ヵ月 (NS)	29%:17% (NS)	75%:67% (NS)
Kjeldsen ら ⁵⁾ デンマーク(1997)	597(290:307)	26%:26% (NS)	18ヵ月:27ヵ月 ($p<0.01$)	20%:7% ($p<0.01$)	70%:68% (NS)
Pietra ら ⁶⁾ イタリア(1998)	207(104:103)	局所再発 25%:19% (NS)	局所再発 10ヵ月:20ヵ月 ($p<0.0003$)	局所再発 65%:10% ($p<0.01$)	73%:58% ($p<0.02$)
Schoemaker ら ⁷⁾ オーストラリア(1998)	325(167:158)	34%:41% (NS)	—	—	76%:70% (NS)
Secco ら ⁸⁾ イタリア(2002)	337(192:145)	53%:57% (NS)	—	31%:16% ($p<0.05$)	63%:48% (NS) 再発高危険群 50%:32% ($p<0.05$) 再発低危険群 80%:60% ($p<0.01$)

*intensive群:対照群

た³⁻⁸⁾(表2)。しかし、これらのRCTをもとに2000年前後に発表された4つのメタアナリシスにおいては、定期的な血清CEA値測定や肝画像検査を含むintensiveなサーベイランスが、再発巣の治癒切除率を高め、生存率を有意に向上させるという結果が示され⁹⁻¹²⁾(表3)、intensiveなサー

ベイランスの有用性が認識されるようになった。

元来欧米では、大腸癌の術後サーベイランスとして、定期的な画像検査などは行われてこなかった^{13,14)}。しかし、これらのメタアナリシスの結果をふまえ、欧米のガイドラインは、定期的な腹部超音波検査やCTを含む、intensiveなサーベイラ