

## 肝細胞がんの超早期診断法の開発

研究代表者 中面 哲也 国立がんセンター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

### 研究要旨

本研究は、肝がんの治療成績向上のために、肝がんの超早期診断マーカーの開発を目指したものである。一部の慢性肝炎・肝硬変患者の末梢血中に Glypican-3 (GPC3) ペプチド特異的に IFN- $\gamma$  を産生するキラーT細胞 (CTL) の存在や、GPC3 蛋白、抗 GPC3-IgG 抗体、さらには  $\beta$ 2 ミクログロブリンの検出を認めており、実際の患者の採血と経過観察による大規模な検証を要するフェーズに入ったと認識し、H21年度からは多くの肝硬変患者を抱えている5施設を新たにに加え、超早期診断法の有効性を検証する大規模な臨床疫学研究を計画している。

### A. 研究目的

肝細胞がんでは AFP および PIVKA-II が腫瘍マーカーとして臨床的に用いられており、診断に寄与しているが、現在のところ、がんの診断のゴールドスタンダードは CT などの画像診断である。つまりは画像上描出可能な 1cm 以上の大きさのがんがないと肝細胞がんの発症を確定できない。本研究では、肝細胞がんの超早期診断法の開発を目指す。

### B. 研究方法

- 1) 血清・血漿中 GPC3 および抗 GPC3 抗体、 $\beta$ 2 ミクログロブリンを測定。ELISA 法等を用いて GPC3 および抗 GPC3 抗体の定量的検出と  $\beta$ 2 ミクログロブリンの検出を行う。
- 2) 免疫学的解析  
以下の解析により、末梢血中の GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の頻度を調べる。  
① IFN- $\gamma$  ELISPOT 解析  
② HLA-GPC3 ペプチド複合体ペンタマーによるフローサイトメトリー (FACS) 解析
- 3) プロテオーム解析  
血清及び血漿に対して、プロテインチップ解析を行う。

### [倫理面への配慮]

臨床検体を用いた本研究の実施においては、国立がんセンター倫理審査委員会および、一部は東京労災病院の倫理委員会に申請し承認を得た後に実施した。研究担当者はヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護に最大の努力を払っている。

### C. 研究結果

- 1) HLA-A24 あるいは A2 陽性の慢性肝炎・肝硬変患者 47 症例中 10 症例 (21%) の末梢血中に GPC3 ペプチド特異的に IFN- $\gamma$  を産生する CTL の存在が認められた。
- 2) その GPC3 ペプチド特異的 CTL 陽性患者血漿中に、SELDI/TOF-MS を用いたプロテオーム解析により、CTL 陰性の患者血漿では低く、肝細胞がん患者血漿での発現レベルに近いピークを見つけた。この蛋白は  $\beta$ 2 ミクログロブリンと考えられ、現在検証を進めている。
- 3) 我々はこれまでに血清中の GPC3 が肝細胞がんの腫瘍マーカーになることを報告してきたが、その感度は 40-50% である。現在作成中の GPC3 に対する新規抗体を用いて血清 GPC3 の高感度検出法を確立し、既存の腫瘍マーカー、AFP・PIVKA-II と比較する。
- 4) 血清中の GPC3 に対する IgG 抗体価の測定も肝細胞がんの診断に有用であることを見出しつつある。

### D. 考察

これまでの研究成果により、肝細胞がんの超早期診断につながる可能性のあるいくつかの方法を得た。今後は、慢性肝炎・肝硬変の患者の多い東京慈恵会医科大学附属柏病院、東京労災病院、国立国際医療センター国府台病院、大垣市民病院、NTT 西日本九州病院との共同研究により、慢性肝炎・肝硬変の経過観察中に肝細胞がんを発症した症例 15 例を目指して症例を集積し、肝細胞がん症例が 5 例集積するごとに解析を行う。

## E. 結論

一部の慢性肝炎・肝硬変患者の末梢血中に GPC3 ペプチド特異的に IFN- $\gamma$  を産生する CTL の存在や、GPC3 蛋白、抗 GPC3-IgG 抗体、さらには  $\beta 2$  ミクログロブリンの検出を認めており、今後はこれらが超早期診断に有用であるかを多施設による多検体の臨床研究で検討していく。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for component of Hepatocellular Carcinoma in Human Liver Cancer. *Int. J. Oncol.* 2009; 34:649-656.
- 2) Motomura Y, Ikuta Y, Kuronuma T, Komori H, Ito M, Tsuchihara M, Tsunoda Y, Shirakawa H, Baba H, Nishimura Y, Kinoshita T, Nakatsura T. HLA-A2 and -A24- restricted Glypican-3-derived peptide vaccine induce Specific CTLs: Preclinical study using mice. *Int. J. Oncol.* 2008; 32:985-990.

### 2. 学会発表

- 1) 肝細胞がん治療により誘導される Glypican-3 特異的免疫応答の解析 本村裕、林恵美子、白川博文、吉川聡明、黒沼俊光、伊藤雅昭、馬場秀夫、古瀬純司、木下平、中面哲也 第12回基盤的癌免疫研究会総会（大宮）、2008年7月2、3日
- 2) 慢性肝炎/肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性T細胞の出現頻度の検討 林恵美子、本村裕、白川博文、吉川聡明、大場信之、西中川秀太、水口泰宏、児島辰也、野村和弘、中面哲也 第36回日本臨床免疫学会（東京）、2008年10月17日
- 3) 肝細胞癌マーカー、グリピカン3（GPC3）の高感度検出法に関する研究 土原昌巳、山形佑里、林恵美子、中面哲也 第28回日本分子腫瘍マーカー研究会（名古屋）、2008年10月27日
- 4) 慢性肝炎・肝硬変患者における Glypican-3 ペプチド特異的 CTL 陽性群と陰性群の血漿中網羅的タンパク質解析 齋藤由美、林恵美子、大場信之、西中川秀太、水口泰宏、児島辰也、野村和弘、中面哲也 第28回日本分子腫瘍マーカー研究会（名古屋）、2008年10月27日
- 5) Consideration to Establish More Sensitive Glypican-3(GPC3)-ELISA（高感度グリピカン3検出系（ELISA）構築のための検討）土原昌巳、

山形佑里、中面哲也 第67回日本癌学会（名古屋）、2008年10月28-30日

- 6) Identification of plasma marker for early diagnosis of HCC in the chronic hepatitis/liver cirrhosis（慢性肝炎・肝硬変患者における癌特異的 CTL 陽性群と陰性群のプロテインチップ解析による肝細胞癌の超早期診断血漿マーカーの同定）齋藤由美、林恵美子、大場信之、西中川秀太、水口泰宏、児島辰也、野村和弘、中面哲也 第67回日本癌学会（名古屋）、2008年10月28～30日
- 7) 慢性肝炎/肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性T細胞の出現頻度の検討（Detection of Glypican-3-specific CTLs in Chronic Hepatitis/Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma Patients）Hayashi E, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Oba N, Nishinakagawa S, Mizuguchi Y, Kojima T, Nomura K, Nakatsura T. 第38回日本免疫学会（京都）、2008年12月1～3日

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## ES 細胞由来の樹状細胞を用いた細胞ワクチンの開発に関する研究

研究分担者 千住 覚 熊本大学大学院医学薬学研究部 免疫識別学分野

### 研究要旨

本研究は、ES 細胞由来の樹状細胞に関する研究の成果を実際の肝がんの治療に生かすために必要な技術の開発を行うものである。今年度の研究では、ES 細胞を用いた医療技術の実用化において障壁となる組織適合性の問題を解決すべく、遺伝子改変によりマウスの ES 細胞由来の樹状細胞上の MHC を任意の MIC と置換して発現させる技術、およびマウス iPS 細胞から樹状細胞およびマクロファージを作製する研究を行った。さらに、マウス iPS 細胞由来の樹状細胞 (iPS-DC) を用いた細胞ワクチン技術の有用性の検討を行った。

### A. 研究目的

樹状細胞は、強力な T 細胞活性化能力を有する抗原提示細胞であり、樹状細胞を利用した様々な抗腫瘍免疫療法の試みが行なわれている。我々は、樹状細胞を生体外で産生するための材料として胚性幹細胞 (ES 細胞) を用いる方法について研究を行っており、マウスおよびヒトの ES 細胞から樹状細胞 (ES-DC) を作製する技術を世界に先駆けて開発している。さらに、未分化な ES 細胞段階において電気穿孔法による遺伝子改変を行い、これを樹状細胞へ分化誘導することにより遺伝子改変樹状細胞を作製する方法を確立している。そして、マウスを用いた研究により、遺伝的改変を行った樹状細胞をマウス個体に投与することにより、免疫応答を制御し抗腫瘍免疫を誘導できること等を明らかにしている。

本年度の研究は、これまでの研究の成果を、実際の肝がんの治療に生かすべく橋渡しをするものである。具体的には、ES 細胞を用いた医療技術の実用化において障壁となる組織適合性の問題を解決すべく、レシピエントの免疫系からアロとして認識される内因性の MHC クラス I 分子を発現せず、レシピエントと共有した MHC クラス I 分子のみを発現する ES-DC を作製する研究を行った。本年度は、MHC クラス I 分子の細胞表面への発現に必須の働きをする TAP (transporter associated with antigen presentation) 1 および  $\beta 2$  ミクログロブリン ( $\beta 2$ -microglobulin) の遺伝子を標的破壊するという方法をマウス ES-DC を用いて検討した。さらに、マウス iPS 細胞から樹状細胞およびマクロファージへの分化誘導に関する研究も行った。

### B. 研究方法

#### 1) TAP1 遺伝子欠損 ES 細胞の作製

TAP は、細胞質内でプロテアソームによる分解により産生されたペプチドを MHC クラス I 分子へ負荷

させるべく小胞体内へ輸送するペプチドトランスポーターである。TAP 遺伝子を標的破壊した細胞では、抗原ペプチドの供給が断たれるため、細胞表面への MHC クラス I 分子の発現が消失する。このような細胞に細胞外からクラス I 分子と結合親和性を有する合成ペプチドを加えることにより、加えたペプチドと当該クラス I 分子のみを発現する細胞を作成することができると考えられる。

群馬大学の根岸泉博士より、TAP1 遺伝子の標的破壊ベクターの供与を受け、E14ES 細胞 (H-2b アリル) において TAP1 遺伝子の標的破壊を行った。さらに、TAP1 欠損 ES 細胞に H-2d ハプロタイプの MHC クラス I 分子 (H-2Kd) の遺伝子を導入した。この ES 細胞に由来する ES-DC による、BALB/c マウス (H-2d ハプロタイプ) 体内における抗原特異的 T 細胞活性化および抗腫瘍免疫誘導効果を検討した。

#### 2) $\beta 2$ -ミクログロブリン ( $\beta 2m$ ) 遺伝子欠損 ES 細胞の作製

$\beta 2m$  は、クラス I 分子重鎖と会合する分子であり、この遺伝子を破壊すると全ての MHC クラス I の細胞表面への発現が消失する。米国ハーバード大学の R. Jaenisch 博士より、 $\beta 2m$  遺伝子が標的破壊されたマウス ES 細胞 (H-2b アリル) の供与を受けた。この細胞から、高濃度 G418 選択法によりホモ接合のノックアウト ( $\beta 2m^{-/-}$ ) ES 細胞を作製した。さらに、この細胞に、 $\beta 2m$  を共有結合させた H-2d ハプロタイプの MHC クラス I 分子 (H-2Kd) の遺伝子を導入した。そして、TAP1 欠損 ES-DC の場合と同様に、BALB/c マウス体内における抗原特異的 T 細胞活性化および抗腫瘍免疫誘導効果を検討した。

#### 3) マウス iPS 細胞からの樹状細胞の作製

京都大学の山中教授よりマウス iPS 細胞の供与を受け、我々がこれまでにマウス ES 細胞を用いて確立してきた分化誘導培養法により、マウス iPS 細胞からの樹状細胞の作製を試みた。

#### [倫理面への配慮]

本年度の研究は、マウス由来の細胞およびマウス個体を用いるものであった。マウス個体を用いる研究に関しては熊本大学の動物実験委員会により承認された実験計画に基づいて実施した。

#### C. 研究結果

$\beta 2$ -ミクログロブリン ( $\beta 2m$ ) 遺伝子あるいは TAP1 遺伝子を欠損 ES 細胞から作製した ES-DC は、MHC クラス I 分子の発現を完全に欠損していた。このような ES-DC は、H-2b ハプロタイプを認識するアロ反応性細胞傷害性 T 細胞から認識されなくなった。

$\beta 2m$  を欠損させ、さらに  $\beta 2m$ -Kd を導入した ES-DC では、H-2Kd のみが発現していた。また、TAP を欠損させ、さらに、Kd を導入した ES-DC に、上述の RSV 由来のペプチドを負荷することにより、Kd のみを細胞表面へ発現させることができた。これらの遺伝子改変 ES-DC に Kd に結合性を有する Respiratoir Syncytial Virus (RSV) 由来のペプチドを負荷し、BALB/c マウスに投与することにより、H-2Kd で RSV 特異的な細胞傷害性 T 細胞を誘導することができた。さらに、抗腫瘍免疫応答の誘導も可能であった。

マウス iPS 細胞 (Nanog-selected iPS cells) から、機能的な樹状細胞 (iPS-DC) を作製することができた。iPS 細胞へモデル抗原 (OVA) 遺伝子を導入し、これより OVA 発現 iPS-DC を作製した。OVA 発現 iPS-DC をマウス個体へ投与し、OVA 特異的な免疫応答および腫瘍拒絶効果を誘導することができた。

#### D. 考察

遺伝的改変により樹状細胞上に発現する MHC クラス I 分子を置換することにより、レシピエントに適合する樹状細胞ワクチンとして使用し、腫瘍拒絶を誘導できることが判明した。また、マウス iPS 細胞から樹状細胞を作製することも可能であり、ES 細胞を用いて開発してきた技術は、iPS 細胞へも応用可能と予想される。以上の成果は、ES 細胞あるいは iPS 細胞から作製した人工樹状細胞による抗腫瘍ワクチン技術の実用化への有意義な技術的進歩であると考えられる。

#### E. 結論

$\beta 2$  ミクログロブリンあるいは TAP1 の遺伝子改変を行ったマウス ES 細胞を用いることにより、任意の MHC ハプロタイプのレシピエントに対して細胞ワクチンとして使用可能な樹状細胞を作製できることを明らかにした。さらに、マウスの iPS 細胞から機能的な樹状細胞とマクロファージを作製で

きることを確認した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Senju S, Haruta M, Matsunaga Y, Fukushima S, Ikeda T, Takahashi K, Okita K, Yamanaka S, Nishimura Y. Characterization of dendritic cells and macrophages generated by directed differentiation from mouse induced pluripotent stem cells. *Stem Cells*. in press.
- 2) Fukushima S, Hirata S, Motomura Y, Fukuma D, Matsunaga Y, Ikuta Y, Ikeda T, Kageshita T, Ihn H, Nishimura Y, Senju S. Multiple antigen-targeted immunotherapy with  $\alpha$ -galactosylceramide-loaded and genetically engineered dendritic cells derived from embryonic stem cells. *J. Immunotherapy*. in press.
- 3) Imai K, Hirata S, Irie A, Senju S, Ikuta Y, Yokomine K, Harao M, Inoue M, Tsunoda T, Nakatsuru S, Nakagawa H, Nakamura Y, Baba H, Nishimura Y. Identification of a novel tumor-associated antigen, Cadherin 3/P-cadherin, as a possible target for immunotherapy of pancreatic, gastric and colorectal cancers. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14:6487-6495.
- 4) Matsunaga Y, Fukuma D, Hirata H, Fukushima S, Haruta M, Ikeda T, Negishi I, Nishimura Y, Senju S. Activation of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes by  $\beta 2$ -microglobulin or TAP1 gene disruption and the introduction of recipient-matched MHC class I gene in allogeneic ES cell-derived dendritic cells. *J. Immunol.* 2008; 181:6635-6643.
- 5) Harao M, Hirata S, Irie A, Senju S, Nakatsura T, Komori H, Ikuta Y, Yokomine K, Imai K, Inoue M, Harada K, Mori T, Tsunoda T, Nakatsuru S, Daigo Y, Nomori H, Nakamura Y, Baba H, Nishimura Y. HLA-A2-restricted CTL epitopes of a novel lung cancer-associated cancer testis antigen, cell division cycle associated 1, can induce tumor-reactive CTL. *Int. J. Cancer.* 2008; 123:2616-2625.
- 6) Ikuta Y, Hayashida Y, Hirata S, Irie A, Senju S, Kubo T, Nakatsura T, Monji M, Sasaki Y, Baba H, Nishimura Y. Identification of the H2-Kd-restricted CTL epitopes of a tumor-associated antigen, SPARC, which can stimulate antitumor immunity without causing autoimmune disease in mice. *Cancer Science.* 2008; 100:132-137.
- 7) Tsukamoto H, Irie A, Senju S, Hatzopoulos A.K, Wojnowski L, Nishimura Y. B-Raf-mediated signaling pathway regulates T cell development. *Eur.*

## 2. 学会発表

- 1) Effective immunotherapy with  $\alpha$ -GalCer-loaded embryonic stem cell-derived dendritic cells expressing multiple antigens against B16 melanoma. Senju S., International Investigative Dermatology (Kyoto), 2008, May 14-17.
- 2) Immunotherapy with multiple antigen-targeted and  $\alpha$ -galactosylceramide-loaded dendritic cells derived from embryonic stem cells. Senju S. 第10回国際樹状細胞シンポジウム (神戸)、2008, October 1-5.
- 3) Genetic modifications of ES cell-derived DC to modify cell surface MHC class. Senju S. 第10回国際樹状細胞シンポジウム (神戸)、2008, October 1-5.
- 4) ES細胞およびiPS細胞由来の免疫細胞を用いた医療技術の開発 千住覚 第32回阿蘇シンポジウム (熊本)、2008年8月1日、2日
- 5) 免疫細胞療法への応用を目指したマウスiPS細胞からの樹状細胞の作製技術の確立 千住覚 第17回日本組織適合性学会大会 (大阪)、2008年9月19日～21日
- 6) 免疫細胞療法への応用を目指したマウスiPS細胞からの樹状細胞の分化誘導 千住覚 人類遺伝学会第53回大会 (横浜)、2008年9月27日～30日
- 7) 進行性幹細胞がん患者に対するGlypican-3ペプチドワクチンの臨床第1相試験での安全性と有効性 千住覚 第67回日本癌学会学術総会 (名古屋)、2008年10月28日～30日
- 8) 肺癌に高発現する新規癌精巢抗原CDCA1を標的とした癌免疫療法の開発 千住覚 第67回日本癌学会学術総会 (名古屋)、2008年10月28日～30日
- 9) 膵癌の免疫療法に有用な新規癌関連抗原CDH3の同定 千住覚 第67回日本癌学会学術総会 (名古屋)、2008年10月28日～30日
- 10) 疫抑制性分子を遺伝子導入したマウスES細胞由来の樹状細胞の同種異系 (アロ) 移植への応用 千住覚 第36回日本臨床免疫学会 (東京)、2008年10月17日～18日
- 11) 複数抗原を標的とし、 $\alpha$ GalCerを負荷した遺伝子導入ES細胞由来樹状細胞を用いた癌免疫療法 千住覚 第36回日本臨床免疫学会 (東京)、2008年10月17日～18日
- 12) 複数抗原を標的とした $\alpha$ -GalCer負荷ES細胞由

来樹状細胞による癌免疫療法 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日

- 13) Activation of antigen-specific CTL by  $\beta$ 2-microglobulin or TAP1 gene-disrupted and recipient-matched MHC class I gene-introduced allogeneic ES cell-derived dendritic cells. 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日
- 14) TRAILを発現するアロES-DCの投与によるアロ腫瘍に対する拒絶反応の抑制 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日
- 15) マウスiPS細胞からの樹状細胞の作製 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日
- 16) Establishment of hu-SCID mouse system to analyze priming in vivo of antigen-specific human CTLs by DC. 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日
- 17) SARS-Cov spike protein-derived HLA-A2-restricted CTL epitope identified by using HLA-A2/Db-transgenic mice. 千住覚 第38回日本免疫学会総会・学術集会 (京都)、2008年12月1日～3日

## G. 知的財産権の出願・登録状況

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

#### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
古瀬純司	Sorafenibの分子作用機構と肝臓治療	牛島俊和、後藤典子、西尾和人編	癌の基礎から臨床へ ベンチからベッドサイドへ	篠原出版新社	東京	2008	111-117
古瀬純司	肝細胞癌/胆道癌/膵癌 肝・胆道・膵癌化学療法の最近の動向	有吉寛監修	エビデンスに基づいた癌化学療法ハンドブック2009	メディカルレビュー社	大阪市	2008	239-247
古瀬純司	肝がん治療の方向性～今後の治療法～分子標的治療(ソラフェニブ)	沖田極、幕内雅俊編	インフォームドコンセントのための図説シリーズ 肝がん	医薬ジャーナル社	大阪市	2008	72-75

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
中面哲也、木下 平、西村泰治					
Motomura Y, Ikuta Y, Kuronuma T, Komori H, Ito M, Tsuchihara M, Tsunoda Y, Shirakawa H, Baba H, <u>Nishimura Y</u> , <u>Kinoshita T</u> , <u>Nakatsura T</u>	HLA-A2 and -A24- restricted Glypican-3-derived peptide vaccine induce Specific CTLs: Preclinical study using mice.	Int. J. Oncol.	32	985-990	2008
中面哲也、千住 寛、西村泰治					
Harao M, Hirata S, Irie A, <u>Senju S</u> , <u>Nakatsura T</u> , Komori H, Ikuta Y, Yokomine K, Imai K, Inoue M, Harada K, Mori T, Tsunoda T, Nakatsuru S, Daigo Y, Nomori H, Nakamura Y, Baba H, <u>Nishimura Y</u> .	HLA-A2-restricted CTL epitopes of a novel lung cancer-associated cancer testis antigen, cell division cycle associated 1, can induce tumor-reactive CTL.	Int. J. Cancer.	123(11)	2616-2625	2008
Ikuta Y*, Hayashida Y*, Hirata S, Irie A, <u>Senju S</u> , Kubo T, <u>Nakatsura T</u> , Monji M, Sasaki Y, Baba H, <u>Nishimura Y</u> . (*These two authors contributed equally.)	Identification of the H2-K <sup>d</sup> -restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes of a tumor-associated antigen, SPARC, which can stimulate antitumor immunity without causing autoimmune disease in mice.	Cancer Sci.	100(1)	132-137	2009
<u>西村泰治</u> , <u>中面哲也</u> , <u>千住 寛</u>	新規癌胎児性抗原Glypican-3の肝細胞癌の診断と免疫療法への応用	Jpn. J. Clin. Immunol.	31(5)	383-391	2008

中面哲也、木下 平					
Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, <u>Kinoshita T</u> , <u>Nakatsura T</u> .	Glypican-3 is a useful diagnostic marker for component of Hepatocellular Carcinoma in Human Liver Cancer.	Int. J. Oncol.	34	649-656	2009
中面哲也、西村泰治					
Muchemwa F.C, <u>Nakatsura T</u> , Fukushima S, <u>Nishimura Y</u> , Kageshita T, Ihn H.	Differential Expression of Heat Shock Protein 105 in melanoma and melanocytic naevi.	Melanoma Res.	18(3)	166-171	2008
中面哲也					
<u>中面哲也</u>	肝細胞癌に対する Glypican-3(GPC3)ペプチドワクチンの臨床第I相試験	リンパ学	31(2)	66-70	2008
木下 平					
Nakagohri T, <u>Kinoshita T</u> , Konishi M, Takahashi S, Gotohda N.	Surgical outcome of solid pseudopapillary tumor of the pancreas.	J Hepatobiliary Pancreat Surg.	(15) 3	318-321	2008
中郡聡夫、 <u>木下平</u> 、小西大、高橋進一郎、後藤田直人、盛川浩志、河合隆史	【最新の肝胆膵の3Dイメージ】肝門部胆管癌および肝内胆管癌のインタラクティブな胆管・門脈・肝動脈3DCG画像	胆と膵	29	1207-1212	2008
高橋遍、 <u>木下平</u> 、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人	【再発癌への挑戦 肺・肝転移、手術でどこまで制御できるか】胃癌肝転移再発に対する外科的切除の検討	癌の臨床	54(10)	847-851	2008
高橋遍、後藤田直人、 <u>木下平</u> 、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎	化学療法が奏効し切除可能となった大腸癌肝転移の1例	Liver Cancer	14(2)	237-243	2008
木下 平、古瀬純司					
Ishii H, <u>Furuse J</u> , <u>Kinoshita T</u> , Konishi M, Nakagohri T, Takahashi S, Gotohda N, Nakachi K, Suzuki E, Yoshino M.	Hepatectomy for Hepatocellular Carcinoma Patients Who Meet the Milan Criteria.	Hepato-Gastroenterology	55(82-83)	621-626	2008
古瀬純司、池田公史					
Kim SR, Saito Y, Maekawa K, Sugiyama E, Kaniwa N, Ueno H, Okusaka T, <u>Ikeda M</u> , Morizane C, Yamamoto N, Yoshida T, Kamatani N, <u>Furuse J</u> , Ishii H, Saijo N, <u>Ozawa S</u> , Sawada J.	Twenty novel genetic variations and haplotype structures of the DCK gene encoding human deoxycytidine kinase (dCK).	Drug Metab Pharmacokinet	23(5)	379-384	2008



古瀬純司					
<u>Furuse J, Ishii H, Nakachi K, Suzuki E, Shimizu S, Nakajima K.</u>	Phase I study of sorafenib in Japanese patients with hepatocellular carcinoma.	Cancer Sci.	99(1)	159-165	2008
Thomas MB, O'Beirne JP, <u>Furuse J</u> , Chan AT, Abou-Alfa G, Johnson P.	Systemic Therapy for Hepatocellular Carcinoma: Cytotoxic Chemotherapy, Targeted Therapy and Immunotherapy.	Ann Surg Oncol.	15(4)	1008-1014	2008
<u>Furuse J</u>	Growth factors as therapeutic targets in HCC.	Crit Rev Oncol Hematol	67(1)	8-15	2008
古瀬純司、仲地耕平、鈴木英一郎、清水怜、光永修一	特集 肝細胞癌の治療戦略 トピックス 分子標的治療	消化器外科	31(6)	1017-1023	2008
<u>古瀬純司</u>	特集 肝内胆管癌-2008, up-to-date-化学療法による治療成績	肝胆膵	57(1)	135-142	2008
<u>古瀬純司</u>	特集 国際共同臨床試験 国際共同臨床試験の現状と課題 肝・胆道・膵がん	腫瘍内科	2(3)	197-204	2008
<u>古瀬純司</u>	がん薬物療法学 - 基礎・臨床研究のアップデート- IV. 作用機序からみた抗悪性腫瘍薬の分類 殺細胞性抗悪性腫瘍薬 代謝拮抗薬(フッ化ピリミジン・非フッ化ピリミジン)	日本臨床	67(suppl1)	224-230	2009
池田公史					
<u>Ikeda M, Okusaka T, Ueno H, Morizane C, Kojima Y, Iwasa S, Hagihara A.</u>	Predictive Factors of Outcome and Tumor Response to Systemic Chemotherapy in Patients with Metastatic Hepatocellular Carcinoma.	Jpn J Clin Oncol	38(10)	675-682	2008
千住 覚、西村泰治					
<u>Imai K, Hirata S, Irie A, Senju S, Ikuta Y, Yokomine K, Harao M, Inoue M, Tsunoda T, Nakatsuru S, Nakagawa H, Nakamura Y, Baba H, Nishimura Y.</u>	Identification of a novel tumor-associated antigen, Cadherin 3/P-cadherin, as a possible target for immunotherapy of pancreatic, gastric and colorectal cancers.	Clin. Cancer Res.	14(20)	6487-6495	2008
<u>Matsunaga Y, Fukuma D, Hirata H, Fukushima S, Haruta M, Ikeda T, Negishi I, Nishimura Y, Senju S.</u>	Activation of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes by $\beta$ 2-microglobulin or TAP1 gene disruption and the introduction of recipient-matched MHC class I gene in allogeneic ES cell-derived dendritic cells.	J. Immunol.	181	6635-6643	2008

Tsukamoto H, Irie A, <u>Senju S</u> , Hatzopoulos A.K, Wojnowski L, <u>Nishimura Y</u> .	B-Raf-mediated signaling pathway regulates T cell development.	Eur. J. Immunol.	38	518-527	2008
<u>千住 覚</u> 、 <u>西村泰治</u>	HLA 分子による癌特異抗原の提示を利用した癌免疫療法の開発	日本組織適合性学会誌	15(1)	51-60	2008
<u>千住 覚</u> 、 <u>西村泰治</u>	ES 細胞由来の樹状細胞による抗腫瘍免疫応答の誘導	腫瘍内科	2(2)	164-170	2008
<u>千住 覚</u>					
<u>千住 覚</u>	iPS 細胞由来の樹状細胞とマクロファージを用いた医療技術の開発	再生医療	7(3)	43-45	2008
<u>千住 覚</u>	ES 細胞および iPS 細胞を用いた免疫療法	医学のあゆみ	227(5)	413-418	2008
<u>千住 覚</u>	免疫療法への応用を目指した ES 細胞からの樹状細胞の作製	実験医学	26(20)	212-217	2008

V. 研究成果の刊行物・別刷

# Sorafenibの分子作用機構と肝癌治療

杏林大学医学部内科学腫瘍内科  
古瀬純司

## はじめに

癌の進展、増殖に関わる様々な分子生物学的特徴が明らかになり、それらをターゲットとした分子標的薬の開発が急速に進歩した。SorafenibはEGFRの下流であるRAFキナーゼとvascular endothelial growth factor receptor(VEGFR)-1,3, platelet-derived growth factor receptor(PDGFR)- $\beta$ などを標的とするマルチキナーゼ阻害薬であり、主に腎細胞癌や肝細胞癌などで開発が進められてきた。特に肝細胞癌ではこれまで従来の抗癌剤による治療が行われてきたが、有効な治療法は確立しておらず、新しい分子標的薬に期待が集まっていた。

肝細胞癌の治療は一般に癌進行度と肝障害度に応じて治療選択が行われ、肝切除などの局所療法から化学療法までその治療法は多岐にわたる。しかし日本の肝癌診療ガイドラインによる肝細胞癌治療アルゴリズムでは全身化学療法について現在までその適応は推奨されていない<sup>1)</sup>。またヨーロッパを中心に用いられている肝細胞癌のStaging system, Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging classification<sup>2)</sup>でも局所治療の適応とならないstageでは緩和治療か新規薬剤のtrialを選択することが推奨されている。つまり肝切除やラジオ波焼灼療法(RFA)などの局所壊死療法、肝移植、肝動脈化学塞栓化学療法(TACE)は適切な症例選択の下に標準治療として確立しているが、化学療法では生存期間の延長が確認された標準治療もその位置付けも確立していなかった。

そのような状況下で2007年ASCOにてsorafenibによるplacebo control無作為化比較試験の結果が報告され<sup>3)</sup>、sorafenib群で生存期間の延

長が確認された。本稿ではsorafenibの分子作用機構と肝細胞癌における治療成績について述べる。

## 1 Sorafenibの分子作用機構

多くの細胞内シグナル伝達経路が明らかになってきたが、その中でMAPK (mitogen-activated protein kinase) すなわちras/raf, MEK (mitogen extracellular kinase), ERK (extracellular signal-related kinase) シグナル伝達経路は腫瘍細胞の増殖、進行に重要な役割を果たしている<sup>4,5)</sup>。RafはRasの下流にあり、A-Raf, B-Raf, Raf1 (C-raf)の3つからなる。RafはMAPK cascadeの最初のkinaseであり、細胞の増殖と生存の基本的なregulatorである。これらのRaf kinaseシグナル伝達の異常はヒトの癌の30%程度に見つかっており、b-raf V600E変異型やRad1 wild-typeの高発現などの異常が様々な固形癌で認められている<sup>4)</sup>。中でもRaf1は肝細胞癌の組織標本30例中全例で高活性を認めたと報告されている<sup>6)</sup>。

SorafenibはRaf/MEK/ERK pathwayを標的とした薬剤のスクリーニングを基に開発されてきた<sup>4)</sup>。主なターゲットであるRaf1 kinaseの*in vitro*による阻害効果は、スクリーニングで最初に同定されたRaf1 inhibitorであるheterocyclic urea (3-thienyl urea)ではRaf-1 IC<sub>50</sub>が17 $\mu$ Mに対し、sorafenibはIC<sub>50</sub> 6nMと非常に強力である(図1, 表1)<sup>4)</sup>。さらにwild-type B-Raf, b-rafV600E変異型も阻害し、VEGFR-1, 2, 3, PDGFR- $\beta$ , fibroblast growth factor receptor(FGFR)-1, Flt-3, c-Kitなど腫瘍増殖および血管内皮増殖に関する多数の受容体に対する阻害活性を示している(表1)<sup>4)</sup>。一方、MEK1, ERK1, protein kinase B, protein kinase

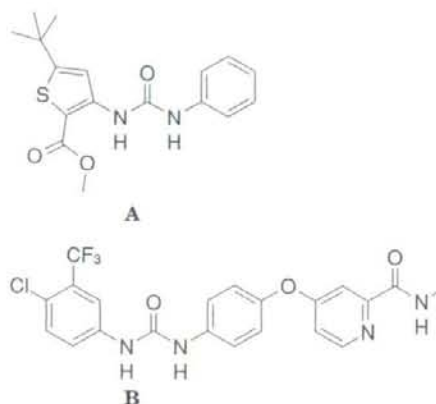


図1 Raf-1 阻害化合物と sorafenib の構造式<sup>4)</sup>  
 A : Raf-1 阻害剤として初めて同定された化合物であり, Raf-1 IC<sub>50</sub> は 17 $\mu$ M.  
 B : Sorafenib の構造式.

表1 *In vitro* における sorafenib の inhibitory profile (文献4より引用)

Kinase target	IC50 value (nM)
Raf-1	6
BRAF wild-type	25
Oncogenic b-raf V600E	38
VEGFR-1	26
VEGFR-2	90
Murine VEGFR-3	20
Murine PDGFR	57
Flt-3	33
p38	38
c-Kit	68
FGFR-1	580
ERK-1, MEK-1, EGFR, HER-2/neu, IGFR-1, c-met, PKA, PKB, CDK1/cyclin B, pim-1, PKC $\alpha$ , PKC $\gamma$	> 10,000

A, EGFR, HER2/neu, IGFR1 の阻害活性は認めない。肝細胞癌で実施された sorafenib の第 II 相試験において, 33 例で腫瘍組織の pERK staining の程度と sorafenib の効果の関連が検討され, pERK staining の高い群で無増悪期間 (TTP) が延長したと報告されている (図2)<sup>7)</sup>。

PLC/PRF/5 と HepG2 の肝細胞癌 cell line を用い, *in vitro* と *in vivo* で sorafenib の抗腫瘍効果の作用機序が検討されている。それによると, sorafenib は両 cell line とともに MEK および ERK のリン酸化の阻害を示し, RAF/MEK/ERK pathway と phos-

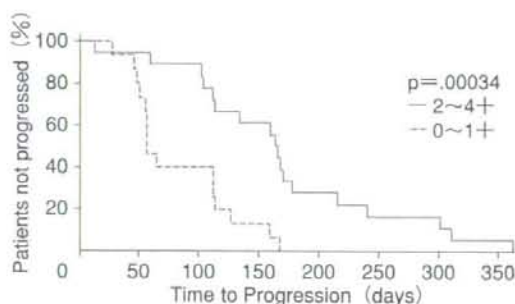


図2 肝細胞癌に対する sorafenib の第 II 相試験で行われた腫瘍組織の phosphorylated extracellular signal regulated kinase (pERK) の staining intensity と time to progression (TTP) との関係  
 pERK の staining で higher intensity (2~4, n = 18) と lower intensity (0~1, n = 15) との間で TTP に有意差を認めている (文献8より引用)。

phatidylinositol 3-kinase pathway により活性化される cyclin D1 level を阻害している。また肝細胞癌細胞のアポトーシス抵抗性に関係している eIF4E のリン酸化とその下流の Mcl-1 levels を阻害していた。これらの作用機序により, sorafenib は用量依存性に腫瘍細胞の増殖を抑え, アポトーシスを誘導していることが示されている<sup>8)</sup>。 *In vivo* においても, PLC/PRF/5 tumor xenograft にて RAF/MEK/ERK cascade を通じて microvessel area の減少, すなわち血管新生阻害が確認されている<sup>8)</sup>。 VEGF や PDGF- $\beta$  により血管内皮の増殖, 血管の壁細胞や平滑筋細胞の誘導などにより血管新生がもたらされる。 Sorafenib の血管新生阻害作用はこれら VEGF や PDGF- $\beta$  receptor の RAF/MEK/ERK cascade の阻害によるものとされる<sup>9)</sup>。

以上より sorafenib の作用機構をまとめると, Raf kinase をターゲットとした RAF/MEK/ERK pathway の阻害による腫瘍細胞の増殖抑制と VEGFR-1, 2, 3 および PDGFR- $\beta$  の RAF/MEK/ERK pathway の阻害による血管新生阻害と考えられる (図3)<sup>9)</sup>。

## 2 肝細胞癌に対する治療選択と化学療法

肝細胞癌に対する治療としては外科切除, 局所壊死療法, 経動脈治療など局所治療が主たる治療手段であり, それぞれの特徴に応じた治療選択が行われ

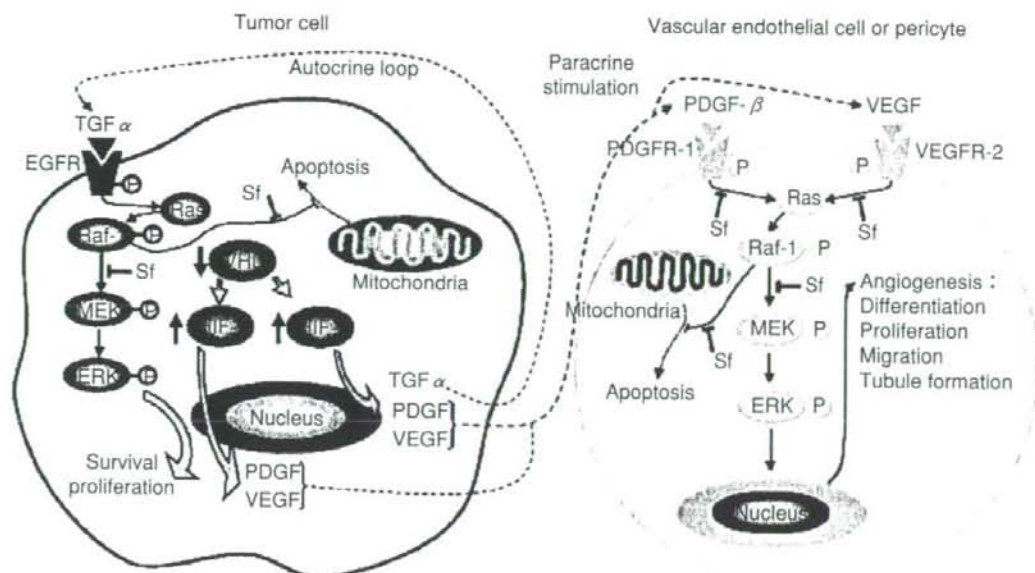


図3 Sorafenibの分子作用機構 (文献9より引用)

腫瘍細胞内のRaf kinaseと血管内皮細胞や血管周囲細胞内のVEGFR-2やPDGFR-βを阻害する。

る。肝癌診療ガイドラインによる肝細胞癌治療アルゴリズムが作成され、肝障害度と癌進行度に応じた治療選択が推奨されている<sup>1)</sup>。局所療法としては、肝切除、ラジオ波焼灼療法などの局所壊死療法および肝動脈化学塞栓療法 (TACE) が主に行われている。単発あるいは3個以内であれば、肝切除が優先され、径3cm以下の比較的小病変かつ3個以内であれば局所壊死療法が行われる。4カ所以上の多発病変ではTACEが適応となる。これらの局所療法が適応にならない病態、すなわち遠隔転移例や門脈など血管浸潤例では化学療法が適応される。また肝機能への影響を考慮し、化学療法は肝機能良好例に限られる。

肝細胞癌に対する化学療法は肝動脈から注入する経動脈性化学療法 (動注化学療法) と経静脈あるいは経口による全身化学療法に分けられ、わが国では動注化学療法が汎用されてきた。ガイドラインでも動注化学療法はTACEの適応が難しい高度進行癌に行うように位置づけられている。Cisplatin (アイエーコール<sup>®</sup>) 単独や5-FU + cisplatinあるいは5-FU + interferon (IFN) の併用療法が積極的に行われているが、いずれも前向きな無作為化比較試験による有効性の検証は行われていない。一方、全身化学療法は生存に関する効果が確認されたレジメン

はなく、推奨される治療法がないのが現状である。

これまで肝細胞癌における無作為化比較試験としてdoxorubicin (DXR), tamoxifen, IFNなどいくつか行われてきた<sup>10~14,17)</sup>。DXRを用いた比較試験では無治療群に比べ有意に生存期間の延長が得られたが、25%の症例で致命的な合併症が認められ、標準治療として普及していない<sup>10)</sup>。またtamoxifenやIFN-αでは明らかな生存期間の改善は得られていない<sup>11~14)</sup>。一方、これまで多くの多剤化学療法が試みられ、5-FU/mitoxantrone/cisplatin (FMP), cisplatin/doxorubicin/5-FU/IFN-α (PIAF)などで25%を超える高い奏効率で報告されてきた<sup>15,16)</sup>。これらの中でDXRをcontrol armとしたPIAF regimenの第Ⅲ相試験が行われたが、有意な生存期間の改善は示せなかった<sup>17)</sup>。

### 3 肝細胞癌に対する分子標的治療

肝細胞癌における分子標的薬の開発はこれまで、epidermal growth factor receptor (EGFR) 阻害剤、VEGFに対する抗体薬 bevacizumab および sorafenib などマルチキナーゼ阻害薬が主な薬剤として行われてきた。最近ではいくつかのVEGFR阻害剤やRaf/MEK/ERK以外のシグナル伝達経路の

一つであるmTOR阻害剤なども試みられている。EGFR阻害剤としてerlotinib (tyrosine kinase inhibitor) と cetuximab (monoclonal antibody) の第Ⅱ相試験が報告されているが、単独治療では奏効率0～9%、無増悪生存期間 (PFS) 中央値2～3カ月程度と有効性が期待できる結果は得られていない<sup>18-20)</sup>。一方、肝細胞癌は血管新生の豊富な腫瘍であり、VEGFとの関係が強いと考えられている。肝細胞癌患者と健常人の血清VEGF値の比較では肝細胞癌患者で有意に上昇し、また肝細胞癌のサイズ、Edmondson grade、血管浸潤の有無、微小サテライト病変の有無、TNM分類など進行度と血清VEGF値に有意な相関を認めたと報告されている<sup>21)</sup>。このように肝細胞癌ではVEGFの阻害による治療効果が期待され、VEGFに対する抗体薬 bevacizumab は単独あるいはerlotinibとの併用などで第Ⅱ相試験が行われた<sup>22-24)</sup>。特に bevacizumab と erlotinib 併用療法では奏効率21%、PFS中央値9.0か月、全生存期間 (OS) 中央値19.0か月と良好な成績が得られており<sup>24)</sup>、今後の開発が注目される。腫瘍増殖と血管新生を標的としたマルチキナーゼ阻害薬では、sorafenib はすでに第Ⅲ相試験が実施され、sunitinibでも第Ⅱ相試験が報告されている<sup>25,26)</sup>。米国とヨーロッパ中心にそれぞれ行われた二つのsunitinibの第Ⅱ相試験では、奏効率が3～4%、PFS中央値4.1～4.8か月、OS中央値10.4～11.6か月と sorafenib とほぼ同等の成績が報告されている<sup>25,26)</sup>。

#### 4 肝細胞癌における sorafenib の開発と治療成績

Sorafenib は癌細胞自体の腫瘍細胞増殖因子のシグナル伝達経路Raf/MEK/ERK signaling pathway と血管内皮増殖VEGFRを主な標的とするマルチキナーゼ阻害剤であり、第Ⅰ相試験が固形癌69例 (内9例が肝細胞癌) を対象に行われた<sup>27)</sup>。その結果、400mg bid が最大耐量 (MTD) および推奨用量と決定された。また治療関連の有害事象は下痢が最も多く認められ、用量規定毒性 (DLT) は下痢、疲労、皮膚毒性であった。抗腫瘍効果としては、対象69例中400 mg bid の治療を受けた肝細胞癌1例でPRが得られている。以上から、米国やヨーロ

パなどで進行肝細胞癌を対象に sorafenib 400mg bid の用量で第Ⅱ相試験が行われ<sup>27)</sup>、奏効率は2%と低かったものの、無増悪期間 (TTP) 中央値4.2か月、OS中央値9.2か月と有効性が期待される結果が得られた。わが国では肝細胞癌以外の固形癌の第Ⅰ相試験につづき<sup>28)</sup>、日本人肝細胞癌患者での薬物動態、安全性、推奨用量などを明らかにする目的で第Ⅰ相試験が行われた<sup>29)</sup>。その結果、日本人でも肝細胞癌を含め、米国・ヨーロッパとはほぼ同様の薬物動態および忍容性が確認され、推奨用量も400mg bid と決定された<sup>28,29)</sup>。また症例数は少ないものの肝細胞癌における治療成績は奏効率4%、TTP中央値4.9か月、OS中央値15.6か月と同等以上の結果であった<sup>29)</sup>。

これらの sorafenib の肝細胞癌に対する前臨床データおよび第Ⅰ、Ⅱ相試験の結果に基づき、placebo control による無作為化比較試験 SHARP (Sorafenib HCC Assessment Randomized Protocol) study が実施された<sup>3)</sup>。本試験の主要評価項目はOSであり、主な患者選択基準は、組織学的な肝細胞癌の確認、進行肝細胞癌、ECOG PS 0-2、Child-Pugh A Class、全身化学療法歴なし、などである<sup>29)</sup>。2005年3月から2006年4月までに sorafenib 群299例、placebo 群303例が登録され、sorafenib 400mg/回、1日2回内服、あるいは placebo 1日2回内服に割り振られた。両群の患者背景に有意な差は認めていない (表3)。主要評価項目であるOS中央値は sorafenib 群10.7か月、placebo 群7.9か月であり、ハザード比0.69 (95% CI: 0.55～0.87;  $p < 0.001$ ) と両者間に明らかな統計学的有意差を認めた (図4)。またTTP中央値も sorafenib 群5.5か月、placebo 群2.8か月であり、ハザード比0.58 (95% CI: 0.45～0.74;  $p < 0.001$ ) と両者間に有意差を認めた (図5)。Sorafenib 群で多くみられた有害事象は体重減少、脱毛、手足皮膚反応、食欲低下、下痢、声の変化、腹痛であった。特に下痢、手足皮膚反応では他の事象に比べ grade 3/4 の重篤な例を認めており、注意を要する。以上、sorafenib は進行肝細胞癌患者の生存期間を初めて延長した薬剤であり、2007年10月、11月とすでに欧米では肝細胞癌に適応が承認されている。

一方、SHARP study ではヨーロッパからの登録

表2 進行肝細胞癌患者における sorafenib と placebo の無作為化第III相試験 SHARP study および Asia-Pacific study の患者背景

	SHARP study <sup>30)</sup>		Asia-Pacific study <sup>31)</sup>	
	Sorafenib	Placebo	Sorafenib	Placebo
N	299	303	150	76
Median age	64.9	66.3	51	52
Male	87%	87%	85%	87%
Region: Europe and Australia	88%	87%	-	-
HCV/HBV/Alcohol	29/19/26%	27/18/26%	71/11/NA%	78/4/NA%
ECOG PS 0/1/2	54/38/8%	54/39/7%	25/69/5%	28/67/5%
BCLC stage B/C	18/82%	17/83%	4/96%	4/96%
Macroscopic vascular invasion	36%	41%	36%	34%
Extrahepatic spread	53%	50%	69%	68%
Lymph nodes	30%	21%	31%	34%
Lung	22%	19%	52%	45%
Child-Pugh A	95%	98%	97%	97%

BCLC stage: Barcelona Clinic Liver Cancer staging classification

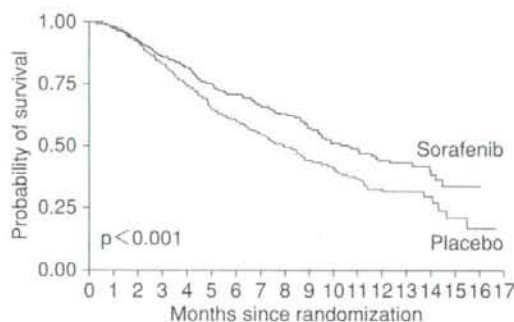


図4 SHARP trial における overall survival (OS)

Sorafenib 群の median OS 10.7 カ月に対し、Placebo 群の median OS 7.9 カ月と Sorafenib 群で有意な生存期間の延長が得られた (Hazard ratio 0.69; 95% CI, 0.55~0.87,  $p < 0.001$ )<sup>30)</sup>.

が 90% 近くと偏っていたことが問題点の一つとして挙げられていた。Sorafenib の有効性と安全性の地域差を検証する目的で Asia-Pacific 地域で第III相試験 (Asian-Pacific study) が行われ、2008 年 ASCO でその結果が報告された<sup>31)</sup>。Sorafenib の投与量は SHARP study と同量の 400mg bid が用いられ、2:1 で sorafenib 群と placebo 群に割り付けられた (sorafenib 群 150 例、placebo 群 76 例)。主要評価項目の OS 中央値は sorafenib 群 6.5 カ月、placebo 群 4.2 カ月であり、ハザード比 0.68,  $p = 0.014$  と sorafenib 群で有意に良好であった。また TTP 中央値も sorafenib 群 2.8 カ月、placebo 群 1.4

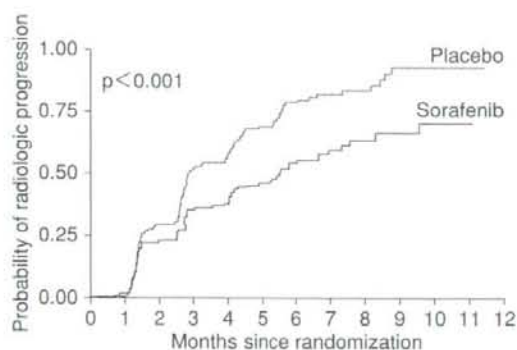


図5 SHARP trial における time to progression (TTP)

Sorafenib 群の median TTP 5.5 カ月に対し、Placebo 群の median TTP 2.8 カ月と Sorafenib 群で有意な延長を認めた (Hazard ratio 0.58; 95% CI, 0.45~0.74,  $p < 0.001$ )<sup>30)</sup>.

カ月と有意差を認めた (ハザード比 0.57,  $p < 0.001$ )。Placebo 群に対する sorafenib 群の TTP と OS のハザード比は SHARP study とほぼ同等であり、肝細胞癌の疫学や地域での違いを超えて sorafenib の有効性が実証されたことになる。わが国においても 400mg bid の投与が可能であり、TACE 後の第III相試験も行われている。肝細胞癌においても全身化学療法の必要な症例が少なくないことから、わが国でも速やかな保険適応の承認が待たれるところである。一方、Asia-Pacific study の TTP と OS 中央値自体は SHARP study に比べかな



り悪く、これはPS, stageなどより状態の悪い患者が対象となっている影響と考えられる(表2)。

SHARP study, Asia-Pacific studyとも、sorafenibの無作為化比較試験はいずれもChild-Pugh Aの肝機能良好例のみを対象に行われており、Child-Pugh B患者での安全性と有効性が議論となっていた。2008年ASCOにてsorafenibの第II相試験におけるChild-Pugh B患者38例のサブ解析が報告された。それによるとChild-Pugh B患者はChild-Pugh A患者98例に比べ、薬物動態と毒性の発現に大きな差は認めなかったものの、ビリルビン上昇、腹水、脳症など肝機能増悪に関する毒性の頻度が高く、治療期間やTTP, OSも短かったとされている<sup>32)</sup>。Sorafenibが進行肝細胞癌に対する標準治療として確立したとはいえ、より進行した患者や肝機能不良例では決して予後はよくないこと、得られるメリットに限界があることを理解しておく必要がある。

## おわりに

Sorafenibにより進行肝細胞癌における標準化学療法が確立した。今後、新しい分子標的薬やsorafenibを用いた併用治療の開発、さらに補助療法としての適応の拡大など肝細胞癌における治療戦略も大きく変わっていくものと考えられる。また一方、実地医療においてsorafenibの適切な適応と手足皮膚反応など特徴的な副作用に対する対策が必要である。

## 文献

- 1) 科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン作成に関する研究班: 科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン 2005年版, 金原出版, 東京, 2005
- 2) Bruix J, Llovet JM: Prognostic prediction and treatment strategy in Hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 35: 519-524, 2002
- 3) Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al: Randomized phase III trial of sorafenib versus placebo in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 25: 962s, # LBA 1, 2007
- 4) Wilhelm S, Carter C, Lynch M, et al: Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 5: 835-844, 2006
- 5) Ito Y, Sasaki Y, Horimoto M, et al: Activation of mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 27: 951-958, 1998
- 6) Hwang YH, Choi JY, Kim S, et al: Over-expression of c-raf-1 proto-oncogene in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 29: 113-121, 2004
- 7) Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, et al: Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 4293-4300, 2006
- 8) Liu L, Cao Y, Chen C, et al: Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5. *Cancer Res* 66: 11851-11858, 2006
- 9) Gollob JA, Wilhelm S, Carter C, et al: Role of Raf kinase in cancer: therapeutic potential of targeting the Raf/MEK/ERK signal transduction pathway. *Semin Oncol* 33: 392-406, 2006
- 10) Lai CL, Wu PC, Chan GC, et al: Doxorubicin versus no antitumor therapy in inoperable hepatocellular carcinoma. A prospective randomized trial. *Cancer* 62: 479-483, 1988
- 11) Chow PK, Tai BC, Tan CK, et al: High-dose tamoxifen in the treatment of inoperable hepatocellular carcinoma: a multicenter randomized controlled trial. *Hepatology* 36: 1221-1226, 2002
- 12) Barbare JC, Bouché O, Bonnetain F, et al: Randomized controlled trial of tamoxifen in advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 23: 4338-4346, 2005
- 13) Lai CL, Wu PC, Lok AS, et al: Recombinant alpha 2 interferon is superior to doxorubicin for inoperable hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial. *B Br J Cancer* 60: 928-933, 1989
- 14) Llovet JM, Sala M, Castells L, et al: Randomized controlled trial of interferon treatment for

- advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **31**: 54-58, 2000
- 15) Leung TW, Patt YZ, Lau WY, et al: Complete pathological remission is possible with systemic combination chemotherapy for inoperable hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* **5**: 1676-1681, 1999
  - 16) Ikeda M, Okusaka T, Ueno H, et al: A phase II trial of continuous infusion of 5-fluorouracil, mitoxantrone, and cisplatin for metastatic hepatocellular carcinoma. *Cancer* **103**: 756-762, 2005
  - 17) Yeo W, Mok TS, Zee B, et al: A randomized phase III study of doxorubicin versus cisplatin/interferon alpha-2b/doxorubicin/fluorouracil (PIAF) combination chemotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **97**: 1532-1538, 2005
  - 18) Philip PA, Mahoney MR, Allmer C, et al: Phase II study of Erlotinib (OSI-774) in patients with advanced hepatocellular cancer. *J Clin Oncol* **23**: 6657-6663, 2005
  - 19) Thomas MB, Chadha R, Glover K, et al: Phase 2 study of erlotinib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* **110**: 1059-1067, 2007
  - 20) Zhu AX, Stuart K, Blaszkowsky LS, et al: Phase 2 study of cetuximab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer* **110**: 581-589, 2007
  - 21) Poon RT, Ho JW, Tong CS, et al: Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* **91**: 1354-1360, 2004
  - 22) Siegel AB, Cohen EI, Ocean A, et al: Phase II trial evaluating the clinical and biologic effects of bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* **26**: 2992-2998, 2008
  - 23) Zhu AX, Blaszkowsky LS, Ryan DP, et al: Phase II study of gemcitabine and oxaliplatin in combination with bevacizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* **24**: 1898-1903, 2006
  - 24) Thomas MB, Chadha R, Iwasaki M, et al: The combination of bevacizumab (B) and erlotinib (E) shows significant biological activity in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* **25**: 214s, #4567, 2007
  - 25) Zhu AX, Sahani DV, di Tomaso E, et al: A phase II study of sunitinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* **25**: 231s, #4637, 2007
  - 26) Faivre SJ, Raymond E, Douillard J, et al: Assessment of safety and drug-induced tumor necrosis with sunitinib in patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (HCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* **25**: 149s, #3546, 2007
  - 27) Strumberg D, Richly H, Hilger RA, et al: Phase I clinical and pharmacokinetic study of the Novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors. *J Clin Oncol* **23**: 965-972, 2005
  - 28) Minami H, Kawada K, Ebi H, et al: Phase I and pharmacokinetic study of sorafenib, an oral multikinase inhibitor, in Japanese patients with advanced refractory solid tumors. *Cancer Sci* **99**: 1492-1498, 2008
  - 29) Furuse J, Ishii H, Nakachi K, et al: Phase I study of sorafenib in Japanese patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* **99**: 159-165, 2008
  - 30) Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al: Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* **359**: 378-390, 2008
  - 31) Cheng AL, Kang Y, Chen Z, et al: Randomized phase III trial of sorafenib versus placebo in Asian patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* **26**: 215s, #4509, 2008
  - 32) Abou-Alfa GK, Amadori D, Santoro A, et al: Is sorafenib (S) safe and effective in patients (pts) with hepatocellular carcinoma (HCC) and Child-Pugh B (CPB) cirrhosis? *Proc Am Soc Clin Oncol* **26**: 217s, #4518, 2008

## 肝・胆道・膵癌化学療法の最近の動向

杏林大学医学部内科学腫瘍科教授 古瀬 純司

### はじめに

2005年の人口動態調査によると、わが国における肝・胆道・膵癌による死亡数はそれぞれ34,268名、16,586名、22,927名であり、いずれも悪性腫瘍の上位を占める<sup>1)</sup>。これらは罹患数とほぼ同数であり、予後のきわめて不良な癌腫である。化学療法は切除不能の悪性腫瘍に対する治療法として重要な役割を果たしており、従来化学療法の効かない癌として位置づけられていた肝・胆道・膵癌でも近年着実な成果が得られてきている。

肝細胞癌では分子標的薬による臨床試験が進み、sorafenibがプラセボに比べ生存期間の延長を示すなどの成果が得られている。また胆道癌ではGEMやS-1が保険適応の承認が得られ、比較試験も行われている。膵癌の切除不能例ではGEM単独療法が標準治療として10年以上が経過し、現在、分子標的薬やS-1との併用など新しい治療法が確立しつつある。膵癌切除後補助療法においても最近大規模比較試験の結果が報告されてきている。

わが国ではレジメンも方法も施設ごとに異なっていた感も否めなかったが、わが国独自の臨床試験を含めたエビデンスの集積に基づき、診療ガイドラインも作成されている<sup>2)~4)</sup>。さらに最近では国際治験への参加も進んできており、多くの参加国のなかでわが国の果たす役割は大きくなってきている。本稿では、肝・胆道・膵癌に対する化学療法の最近の進歩と動向について概説する。

## 肝細胞癌

化学療法は、肝切除、ラジオ波など局所壊死療法、肝動脈化学塞栓療法 (TACE) などの局所治療が適応とならない進行例および遠隔転移例が適応となり、肝動脈から注入する経動脈性化学療法 (動注化学療法) と経静脈あるいは経口による全身化学療法に分けられる。肝細胞癌では肝硬変など慢性肝障害を背景にもつ例が多いことから、肝障害を助長するリスクも大きい。Child-Pugh C の肝機能不良例では化学療法は禁忌である。肝癌診療ガイドラインでは化学療法の適応について科学的根拠のある推奨はないとしている<sup>2)</sup>。

### 1. 肝動注化学療法

切除不能な巨大腫瘍や高度門脈腫瘍栓例および TACE 無効例が適応となる。動注化学療法剤として EPI, MMC, 5-FU に加えて、2004 年 7 月、CDDP (アイエーコール<sup>®</sup>) の保険適応が承認され、多く用いられている。最近では 5-FU + CDDP や 5-FU + interferon で高い奏効率が報告されているが、いずれもプロスペクティブな臨床試験による検証はない。動注化学療法による生存期間の延長に関するエビデンスは乏しく、肝癌診療ガイドラインにおいても全身化学療法に比較し動注化学療法が有効という科学的根拠はないと記載されている<sup>2)</sup>。

### 2. 全身化学療法

動注化学療法と同様、局所治療が適応とならない例、TACE 無効例および遠隔転移例に適応される。従来の殺細胞性抗癌剤を用いた化学療法では、20% 以上の奏効率が得られても肝機能への影響などから予後改善には反映されず<sup>5)</sup>、標準的化学療法は確立していなかった。肝癌診療ガイドラインでは、全身化学療法は performance status (PS) 2～3、腹水あり、腫瘍肝占拠率 50% 以上、門脈本幹腫瘍塞栓、血清ビリルビン値 2.0 mg/dL 異常の症例では奏効例がなく、高度進行例、高度肝機能低下例では推奨されていない<sup>2)</sup>。

最近、癌の進展、増殖に関わるさまざまな分子生物学的特徴が明らかにな