

Table 2. Association between liver metastasis and clinicopathological factors in all samples

Characteristics	Liver metastasis		p value
	positive (n = 49)	negative (n = 390)	
Age			
<65 years	27	226	
≥65 years	22	164	0.759
Gender			
Female	18	154	
Male	31	236	0.758
Tumor location			
Colon	35	238	
Rectum	14	152	0.210
Maximum tumor diameter			
<4.5 cm	30	191	
≥4.5 cm	19	199	0.129
Pathological tumor status			
T ₂	1	31	
T ₃	46	345	
T ₄	2	14	0.351
Lymph node metastasis			
Absent	11	183	
Present	38	207	0.001
Histological grade			
G ₁	18	170	
G ₂	30	201	
G ₃	1	18	0.474
Lymphatic invasion			
Absent	8	93	
Present	41	297	0.282
Venous invasion			
Absent	11	149	
Present	38	241	0.039

T₂ = Tumor invades the muscularis propria; T₃ = tumor invades through the muscularis propria into the subserosa or peritoneal tissues; T₄ = tumor directly invades other organs or structures and/or perforates the visceral peritoneum; G₁ = well-differentiated adenocarcinoma; G₂ = moderately differentiated adenocarcinoma; G₃ = poorly differentiated adenocarcinoma including signet-ring cell adenocarcinoma and mucinous adenocarcinoma.

Table 3. Association between liver metastasis and immunohistochemical molecular markers

Characteristics	Liver metastasis		p value
	positive (n = 21)	negative (n = 129)	
β-Catenin: membranous			
<70%	3	21	
≥70%	18	108	1.000
β-Catenin: cytoplasmic			
<50%	9	54	
≥50%	12	75	1.000
β-Catenin: nuclear			
<50%	12	88	
≥50%	9	41	0.328
COX-2			
<10%	12	76	
≥10%	9	53	1.000
Dysadherin			
<50%	5	75	
≥50%	16	54	0.004
E-cadherin			
Reduced	4	77	
Preserved	17	52	0.0006
Ki-67			
<30%	11	55	
≥30%	10	74	0.480
Laminin5γ2			
<10%	2	40	
≥10% and <50%	12	67	
≥50%	7	22	0.005
Matrilysin			
<30%	5	69	
≥30%	16	60	0.017
MUC-1			
<10%	12	72	
≥10%	9	57	1.000
p53			
<10%	9	48	
≥10%	12	81	0.801

β-Catenin: membranous/cytoplasmic/nuclear = Membranous/cytoplasmic/nuclear staining of β-catenin.

gression model, three markers – dysadherin, E-cadherin and matrilysin – were selected as candidate markers to establish a formula using a stepwise selection procedure in the multivariate logistic regression model (table 4). This combination set of markers showed an AIC value of 104.9. The receiver-operating characteristic curve of this combination set in the 150 individuals of group I is shown in figure 2. The area under the curve value was 0.807.

We carried out a stepwise method using the minimum value of the AIC as the selecting criterion. In cases where the model included dysadherin and E-cadherin, the AIC was 106.9. On the other hand, when the model included dysadherin, E-cadherin and matrilysin, the AIC was 104.9. As a result, although matrilysin was not significant in the multivariate regression analysis, it was included in the formula. Additionally, we obtained the Hosmer-

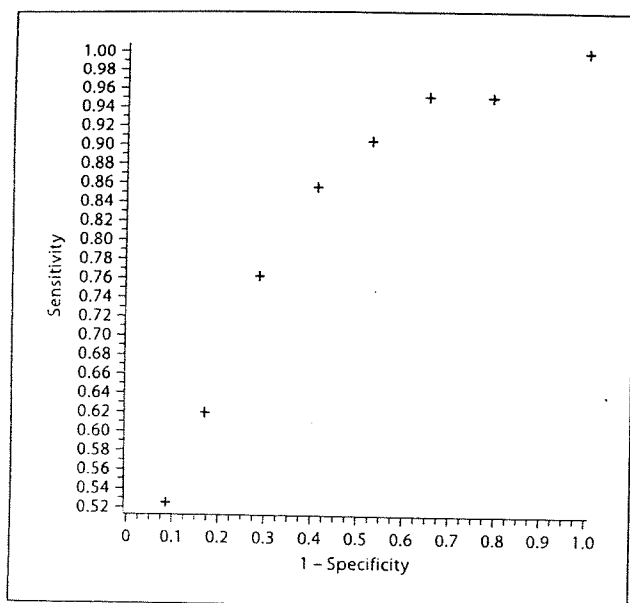


Fig. 2. Receiver-operating characteristic curve of the immunohistochemical metastatic scores for 150 independent patients (group I).

Table 4. Summary of the stepwise selection of the logistic regression model

Variable	Estimate	Standard error	Odds ratio (95% confidence interval)	P value
Intercept	-4.4458	0.787		<0.0001
Dysadherin	1.4216	0.569	4.144 (1.357, 12.66)	0.013
E-cadherin	1.7611	0.603	5.819 (1.782, 19.01)	0.004
Matrilysin	1.0931	0.573	2.984 (0.969, 9.186)	0.056

Table 5. Scoring formula for predicting liver metastasis in CRC patients: IMS

$$\text{IMS} = 3 \times \text{dysadherin score} + 4 \times \text{E-cadherin score} + 2 \times \text{matrilysin score}$$

Dysadherin score

- 0 for low expression ($\leq 50\%$ of tumor cells positive)
- 1 for high expression ($> 50\%$ of tumor cells positive)

E-cadherin score

- 0 for preserved ($> 80\%$ of tumor cells positive)
- 1 for reduced ($\leq 80\%$ of tumor cells positive)

Matrilysin score

- 0 for low expression ($\leq 30\%$ of tumor cells positive)
- 1 for high expression ($> 30\%$ of tumor cells positive)

IMS = Immunohistochemical metastatic score.

Formula for Predicting Liver Metastasis

Lemeshow χ^2 with 6 degrees of freedom equal to 2.647 and $p = 0.852$. It appeared, therefore, that our model fit was acceptable.

Predictive Formula for Liver Metastasis

A formula for predicting liver metastasis was established using the above three markers. The predictive formula: $3 \times$ dysadherin score [0 for low expression ($\leq 50\%$ of tumor cells positive) or 1 for high expression ($> 50\%$ of tumor cells positive)] + $4 \times$ E-cadherin score [0 for preserved ($> 80\%$ of tumor cells positive) or 1 for reduced ($\leq 80\%$ of tumor cells positive)] + $2 \times$ matrilysin score [0 for low expression ($\leq 30\%$ of tumor cells positive) or 1 for high expression ($> 30\%$ of tumor cells positive)] was established (table 5). Total scores calculated using this formula predicted liver metastasis with a sensitivity of 85.7% (18 of 21) and a specificity of 58.9% (76 of 129) in the training cohort (group I).

Confirmation of the Evaluation of Immunohistochemistry by the Third Independent Pathologist

Slides immunostained for dysadherin, E-cadherin and matrilysin were also evaluated by the third independent pathologist, and the expression of these markers was significantly correlated with liver metastasis in the training cohort (group I), confirming the evaluation done by the other two pathologists. Each concordance rate for the dysadherin, E-cadherin and matrilysin expression scores between a third pathologist and the other two pathologists was 72, 70 and 78%, respectively. The concordance rate for the risk of liver metastasis calculated by our new formula between a third pathologist and the other two pathologists was 69%.

Confirmation of the Prediction Formula in the Validation Cohort (Group II)

The discriminating performance of the prediction formula was validated in a blinded manner using an independent validation cohort (group II), consisting of 190 patients. The same calculation showed a predictive accuracy with a sensitivity of 87.0% (20 of 23) and a specificity of 66.5% (111 of 167).

Confirmation of the Prediction Formula in the Second Validation Cohort (Group III) from the Kitasato University

The discriminating performance of the prediction formula was validated in a blinded manner using the second independent validation cohort, group III, consisting

of 99 patients from the Kitasato University Hospital. The same calculation showed a predictive accuracy with a sensitivity of 80% (4 of 5) and a specificity of 60.0% (56 of 94).

Discussion

We used a supervised learning method which requires the use of a training data set of known markers to identify the best combination of immunohistochemical markers for predicting liver metastasis in patients with CRC after curative surgery, and dysadherin, E-cadherin and matrilysin expression was found to be the best combination for this purpose. Patients were divided into two categories – a high-risk group for liver metastasis and a low-risk group for liver metastasis – based on the scores obtained using the formula. The choice of a threshold should primarily depend on the purpose of the overall clinical scheme; some investigators may require a higher sensitivity for clinical applications while sacrificing specificity, whereas others may choose the opposite. In this study, we determined 5 as the threshold, for which the sensitivity was >80%, and can be regarded as sufficient for use as a screening test. Liver metastasis was predicted with an accuracy of 85.7% in terms of sensitivity and 58.9% in terms of specificity using our formula. Pathological risk factors for liver metastasis have been reported to be venous, lymphatic and serosal invasion, tumor dedifferentiation, lymph node metastasis and white streak sign, observed macroscopically at the invasive front of the cut surface of a tumor [1, 8–14]. We used stepwise multivariate analysis to look for the best combination set of markers for predicting liver metastasis, including conventional clinicopathological factors. However, no conventional clinicopathological factors were selected as candidate markers useful for constructing a predictive formula for liver metastasis, indicating that our formula is able to predict liver metastasis more precisely than conventional clinicopathological factors. Additionally, we applied survival analysis to liver metastasis event data. The results obtained were similar to those of logistic regression analysis, and the selected markers were the same as those selected by the Cox regression models (data not shown). We also performed multivariate analysis using the logistic regression model between liver metastasis and immunohistochemical molecular markers for patients with 219 colon cancers and patients with 140 rectal cancers separately. In both cancer groups, all three selected markers – dysadherin, E-cadherin and matrylsin – showed a

similar tendency in the stepwise logistic regression model (data not shown). Our formula was validated using independent sets of patients, including 190 from our institution and 99 from another institution. Furthermore, our new predictive formula was validated not only in cases from an outside hospital but also by a third independent pathologist who was instructed to evaluate immunostained slides without prior knowledge of the cases. This predictive formula might be helpful for selecting patients who should undergo adjuvant chemotherapy after curative surgery, or who require close follow-up to detect liver metastasis at a sufficiently early stage for curative resection, and ultimately for avoiding unnecessary adjuvant chemotherapy in patients who are unlikely to develop liver metastasis. In order for our formula to be applied for practical clinical care, however, it must be validated in a large-scale prospective clinical trial.

We examined the differences in immunohistochemical positivity for the three molecular markers between older samples (resected between 1995 and 1996) and relatively new samples (resected between 1997 and 2001) in order to evaluate the suitability of older samples for immunohistochemical study. There were no differences in immunohistochemical positivity for the three molecular markers between the two sample groups (data not shown). Therefore, we consider that even older samples, such as specimens resected over 10 years ago, are reliably applicable for immunohistochemical study for prediction of liver metastasis.

Our study showed that E-cadherin, dysadherin and matrilysin expression was significantly correlated with liver metastasis, confirming the results of previous studies [15, 18–38]. Although multivariate logistic analysis failed to reveal a significant association between laminin5 γ 2 expression and liver metastasis, the χ^2 test showed that laminin5 γ 2 was significantly associated with liver metastasis, confirming the results of previous studies [17, 39]. The expression of p53, Ki-67, COX-2, β -catenin or MUC-1 failed to demonstrate any significant association with liver metastasis, even though these markers were selected on the basis of the fact that their prognostic significance had been reported in several previous papers [3, 16, 19, 26, 28, 34]. These discrepancies could be explained on the basis of differences in treatment modalities, scoring system, sample size analyzed, tumor heterogeneity and interobserver variations in evaluating immunostained slides.

A number of previous studies have investigated the usefulness of combining several molecular markers for predicting liver metastasis in CRC patients [46–48]. Na-

gai et al. [11] analyzed 100 patients, comprising 48 with liver metastasis and 52 without evidence of liver metastasis, and established a predictive formula for liver metastasis using a combination of factors such as tumor location, host inflammatory cell reaction, p53 staining, and extent of tumor and venous invasion using multivariate analysis. The predictive value for liver metastasis was 81.3% in terms of sensitivity and 92.3% in terms of specificity [11]. Barozzi et al. [49] investigated five clinicopathological factors and seven molecular markers – TGF- α , IGF-II, MMP-2, VEGF, CD34, c-erb B2 and EGFR – in 101 patients, comprising 49 patients without evidence of metastasis, 27 with synchronous liver metastasis and 25 with metachronous liver metastasis. Using multivariate analysis, they found that TGF- α , IGF-II and MMP-2 were independent predictors of liver metastasis. They reported that if the expression levels of all three of these molecular markers were high, then the probability of liver metastasis was 99.5%, whereas if the expression levels of all three were low, then the probability of liver metastasis was only 0.3% [49]. Although the sensitivity and specificity in these previous reports were high, their sample sizes were rather small in comparison with our present study. Also, before drawing any conclusions about their usefulness, these previous reports need to be validated in patients from an outside hospital and by another independent pathologist to confirm the accuracy of the immunostaining evaluation.

Several recent studies have demonstrated the potential clinical utility of gene expression profiles, including the identification of prognostic subclasses. Eschrich et al. [50] reported that in 78 patients with Dukes B and C stage disease, a 43-gene signature was demonstrated to identify 3-year survival significantly better with a sensitivity of 73% and a specificity of 84%. Wang et al. [51]

identified a 23-gene signature that predicted prognosis in 74 patients with Dukes B stage disease with a sensitivity of 72% and a specificity of 83%. Bertucci et al. [52] found a 244-gene signature that separated 22 patients from among a group with all stages of CRC with a significant difference in 5-year survival of 100 vs. 30% ($p = 0.001$). These previous reports suggest that microarray gene expression profiling could be a valuable tool for highly accurate prognostication in CRC patients. At present, however, the cost of cDNA analysis, the complexity of the method and accuracy in the interpretation of DNA microarrays are problems that remain to be solved before this approach can be applied routinely in a standard clinical setting. On the other hand, immunohistochemistry is an already standardized method that can easily be performed in every laboratory. Although application of the specific scoring calculation is less feasible for timely routine diagnostics, our formula based on immunohistochemical results has the advantage of feasibility compared with methods using DNA extracted from tumor tissue.

In conclusion, we have established a formula for predicting liver metastasis in CRC patients and confirmed its high sensitivity potentially for clinical application.

Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. Y. Ino, Ms. A. Miura and Ms. F. Kaiya for their expert technical assistance.

This study was supported by a Grant-in-Aid for the 3rd-Term Comprehensive 10-Year Strategy for Cancer Control from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan. H. Ochiai is a recipient of a Research Resident Fellowship from the Foundation for Promotion of Cancer Research in Japan.

References

- 1 Weitz J, Koch M, Debus J, Hohler T, Galle PR, Buchler MW: Colorectal cancer. *Lancet* 2005;365:153–165.
- 2 Cascinu S, Georgoulas V, Kerr D, Maughan T, Labianca R, Ychou M: Colorectal cancer in the adjuvant setting: perspectives on treatment and the role of prognostic factors. *Ann Oncol* 2003;14(suppl 2):ii25–ii29.
- 3 Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, Benson AB 3rd, Hamilton SR: Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001;344:1196–1206.
- 4 O'Connell MJ, Laurie JA, Kahn M, Fitzgibbons RJ Jr, Erlichman C, Shepherd L, Moertel CG, Kocha WI, Pazdur R, Wieand HS, Rubin J, Vukov AM, Donohue JH, Krook JE, Figueredo A: Prospectively randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy in patients with high-risk colon cancer. *J Clin Oncol* 1998;16:295–300.
- 5 Doci R, Gennari L, Bignami P, Montalto F, Morabito A, Bozzetti F: One hundred patients with hepatic metastases from colorectal cancer treated by resection: analysis of prognostic determinants. *Br J Surg* 1991;78:797–801.

- 6 Fortner JG: Recurrence of colorectal cancer after hepatic resection. *Am J Surg* 1988;155:378-382.
- 7 Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA: Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:433-441.
- 8 Galandiuk S, Wieand HS, Moertel CG, Cha SS, Fitzgibbons RJ Jr, Pemberton JH, Wolff BG: Patterns of recurrence after curative resection of carcinoma of the colon and rectum. *Surg Gynecol Obstet* 1992;174:27-32.
- 9 Krasna MJ, Flancbaum L, Cody RP, Shneibaum S, Ben Ari G: Vascular and neural invasion in colorectal carcinoma. Incidence and prognostic significance. *Cancer* 1988;61:1018-1023.
- 10 Adachi Y, Inomata M, Kakisako K, Sato K, Shiraishi N, Kitano S: Histopathologic characteristics of colorectal cancer with liver metastasis. *Dis Colon Rectum* 1999;42:1053-1056.
- 11 Nagai E, Yao T, Sakamoto M, Akazawa K, Utsunomiya T, Tsuneyoshi M: Risk factors related to liver metastasis in colorectal carcinoma: a multivariate analysis of clinicopathologic and immunohistochemical variables. *Jpn J Cancer Res* 1994;85:1280-1287.
- 12 Ouchi K, Sugawara T, Ono H, Fujiya T, Kamiyama Y, Kakugawa Y, Mikuni J, Tateno H: Histologic features and clinical significance of venous invasion in colorectal carcinoma with hepatic metastasis. *Cancer* 1996;78:2313-2317.
- 13 Ono M, Sakamoto M, Ino Y, Moriya Y, Sugihara K, Muto T, Hirohashi S: Cancer cell morphology at the invasive front and expression of cell adhesion-related carbohydrate in the primary lesion of patients with colorectal carcinoma with liver metastasis. *Cancer* 1996;78:1179-1186.
- 14 Inomata M, Ochiai A, Sugihara K, Moriya Y, Yamaguchi N, Adachi Y, Kitano S, Hirohashi S: Macroscopic features at the deepest site of tumor penetration predicting liver metastases of colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1998;28:123-128.
- 15 Adachi Y, Yamamoto H, Itoh F, Arimura Y, Nishi M, Endo T, Imai K: Clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression at the invasive front in human colorectal cancers. *Int J Cancer* 2001;95:290-294.
- 16 Yamauchi T, Watanabe M, Kubota T, Hasegawa H, Ishii Y, Endo T, Kabeshima Y, Yorozuya K, Yamamoto K, Mukai M, Kitajima M: Cyclooxygenase-2 expression as a new marker for patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002;45:98-103.
- 17 Aoki S, Nakanishi Y, Akimoto S, Moriya Y, Yoshimura K, Kitajima M, Sakamoto M, Hirohashi S: Prognostic significance of laminin-5 gamma2 chain expression in colorectal carcinoma: immunohistochemical analysis of 103 cases. *Dis Colon Rectum* 2002;45:1520-1527.
- 18 Aoki S, Shimamura T, Shibata T, Nakanishi Y, Moriya Y, Sato Y, Kitajima M, Sakamoto M, Hirohashi S: Prognostic significance of dysadherin expression in advanced colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 2003;88:726-732.
- 19 Hiraga Y, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G, Shimamoto F, Kohno N: Immunoreactive MUC1 expression at the deepest invasive portion correlates with prognosis of colorectal cancer. *Oncology* 1998;55:307-319.
- 20 Sobin LH, Fleming ID: TNM Classification of Malignant Tumors, fifth edition (1997). Union Internationale Contre le Cancer and the American Joint Committee on Cancer. *Cancer* 1997;80:1803-1804.
- 21 World Health Organization: Classification of Tumors. IARC Press, Lyon, 2000.
- 22 Hugh TJ, Dillon SA, Taylor BA, Pignatelli M, Poston GJ, Kinsella AR: Cadherin-catenin expression in primary colorectal cancer: a survival analysis. *Br J Cancer* 1999;80:1046-1051.
- 23 Nakanishi Y, Ochiai A, Akimoto S, Kato H, Watanabe H, Tachimori Y, Yamamoto S, Hirohashi S: Expression of E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin and plakoglobin in esophageal carcinomas and its prognostic significance: immunohistochemical analysis of 96 lesions. *Oncology* 1997;54:158-165.
- 24 Gunther K, Brabletz T, Kraus C, Dworak O, Raymond MA, Jung A, Hohenberger W, Kirchner T, Kockerling F, Ballhausen WG: Predictive value of nuclear beta-catenin expression for the occurrence of distant metastases in rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1256-1261.
- 25 Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, Nakamura S, Baba S, Moriya Y, Hirohashi S: Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer. *Oncology* 2000;59:302-309.
- 26 Wong SC, Lo ES, Lee KC, Chan JK, Hsiao WL: Prognostic and diagnostic significance of beta-catenin nuclear immunostaining in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:1401-1408.
- 27 Fux R, Schwab M, Thon KP, Gleiter CH, Fritz P: Cyclooxygenase-2 expression in human colorectal cancer is unrelated to overall patient survival. *Clin Cancer Res* 2005;11:4754-4760.
- 28 Soumaoro LT, Uetake H, Higuchi T, Takagi Y, Enomoto M, Sugihara K: Cyclooxygenase-2 expression: a significant prognostic indicator for patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:8465-8471.
- 29 Ino Y, Gotoh M, Sakamoto M, Tsukagoshi K, Hirohashi S: Dysadherin, a cancer-associated cell membrane glycoprotein, down-regulates E-cadherin and promotes metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:365-370.
- 30 Nakanishi Y, Akimoto S, Sato Y, Kanai Y, Sakamoto M, Hirohashi S: Prognostic significance of dysadherin expression in tongue cancer: immunohistochemical analysis of 91 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004;12:323-328.
- 31 Shimamura T, Sakamoto M, Ino Y, Sato Y, Shimada K, Kosuge T, Sekihara H, Hirohashi S: Dysadherin overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma reflects tumor aggressiveness: relationship to E-cadherin expression. *J Clin Oncol* 2003;21:659-667.
- 32 Hirohashi S: Inactivation of the E-cadherin-mediated cell adhesion system in human cancers. *Am J Pathol* 1998;153:333-339.
- 33 Aoki R, Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G, Shimamoto F, Kohno N: MUC-1 expression as a predictor of the curative endoscopic treatment of submucosally invasive colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1262-1272.
- 34 Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, Parr AL, Kirsch I, Kim G, Klein P, Johnston PG, Wolmark N, Wieand HS: Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. *J Clin Oncol* 2003;21:241-250.
- 35 Crowe PJ, Yang JL, Berney CR, Erskine C, Ham JM, Fisher R, Russell PJ: Genetic markers of survival and liver recurrence after resection of liver metastases from colorectal cancer. *World J Surg* 2001;25:996-1001.
- 36 Soong R, Grieco F, Robbins P, Dix B, Chen D, Parsons R, House A, Iacopetta B: p53 alterations are associated with improved prognosis in distal colonic carcinomas. *Clin Cancer Res* 1997;3:1405-1411.
- 37 Adachi Y, Yamamoto H, Itoh F, Hinoda Y, Okada Y, Imai K: Contribution of matrilysin (MMP-7) to the metastatic pathway of human colorectal cancers. *Gut* 1999;45:252-258.
- 38 Masaki T, Matsuoka H, Sugiyama M, Abe N, Goto A, Sakamoto A, Atomi Y: Matrilysin (MMP-7) as a significant determinant of malignant potential of early invasive colorectal carcinomas. *Br J Cancer* 2001;84:1317-1321.
- 39 Lenander C, Habermann JK, Ost A, Nilsson B, Schimmelpenninck H, Tryggvason K, Auer G: Laminin-5 gamma 2 chain expression correlates with unfavorable prognosis in colon carcinomas. *Anal Cell Pathol* 2001;22:201-209.
- 40 Ono Y, Nakanishi Y, Ino Y, Niki T, Yamada T, Yoshimura K, Saikawa M, Nakajima T, Hirohashi S: Clinicopathologic significance of laminin-5 gamma2 chain expression in squamous cell carcinoma of the tongue: immunohistochemical analysis of 67 lesions. *Cancer* 1999;85:2315-2321.
- 41 Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum: General Rules for Clinical and Pathological Studies on Cancer of the Colon, Rectum and Anus, ed 7. Tokyo, Kanehara, 2006.

- 42 Nakanishi Y, Noguchi M, Matsuno Y, Saikawa M, Mukai K, Shimosato Y, Hirohashi S: p53 expression in multicentric squamous cell carcinoma and surrounding squamous epithelium of the upper aerodigestive tract. immunohistochemical analysis of 95 lesions. *Cancer* 1995;75:1657-1662.
- 43 Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, Noguchi M, Shimosato Y, Takeichi M, Abe O: Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res* 1989;49:2128-2133.
- 44 Hosmer DW, Hosmer T, Le Cessie S, Lemeshow S: A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model. *Stat Med* 1997;16:965-980.
- 45 Akaike H: A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Control* 1974;19:716-723.
- 46 Mitomi H, Mori A, Kanazawa H, Nishiyama Y, Ihara A, Otani Y, Sada M, Kobayashi K, Igarashi M: Venous invasion and down-regulation of p21(WAF1/CIP1) are associated with metastasis in colorectal carcinomas. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1421-1426.
- 47 Gunther K, Dworak O, Remke S, Pfluger R, Merkel S, Hohenberger W, Reymond MA: Prediction of distant metastases after curative surgery for rectal cancer. *J Surg Res* 2002;103:68-78.
- 48 Maeda K, Kang SM, Ogawa M, Onoda N, Sawada T, Nakata B, Kato Y, Chung YS, Sowa M: Combined analysis of vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor expression in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1997;74: 545-550.
- 49 Barozzi C, Ravaioli M, D'Errico A, Grazi GL, Poggioli G, Cavrini G, Mazziotti A, Grigioni WF: Relevance of biologic markers in colorectal carcinoma: a comparative study of a broad panel. *Cancer* 2002;94:647-657.
- 50 Eschrich S, Yang I, Bloom G, Kwong KY, Boulware D, Cantor A, Coppola D, Kruhofer M, Aaltonen L, Orntoft TF, Quackenbush J, Yeatman TJ: Molecular staging for survival prediction of colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2005;23:3526-3535.
- 51 Wang Y, Jatkoe T, Zhang Y, Mutch MG, Talantov D, Jiang J, McLeod HL, Atkins D: Gene expression profiles and molecular markers to predict recurrence of Dukes' B colon cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:1564-1571.
- 52 Bertucci F, Salas S, Eysteries S, Nasser V, Finetti P, Ginestier C, Charafe-Jauffret E, Loriod B, Bachelart L, Montfort J, Victorero G, Viret F, Ollendorff V, Fert V, Giovaninni M, Delpero JR, Nguyen C, Viens P, Monges G, Birnbaum D, Houlgatte R: Gene expression profiling of colon cancer by DNA microarrays and correlation with histoclinical parameters. *Oncogene* 2004;23:1377-1391.

高度な肝機能障害を伴い切除不能多発肝転移を有する 大腸癌症例に対する肝動注併用 FOLFOX 療法の検討

須藤 剛^{*1} 佐藤 敏彦^{*1} 盛 直生^{*1} 高野 成尚^{*1} 石山廣志朗^{*1}
櫻井 直樹^{*1} 斎藤 聖宏^{*2} 飯澤 肇^{*1} 池田 栄一^{*1}

[*Jpn J Cancer Chemother* 36(1):71-76, January, 2009]

Combination of Hepatic Arterial Infusion Therapy and FOLFOX for Colorectal Cancer with Multiple Unresectable Liver Metastases Causing Severe Liver Dysfunction: Takeshi Suto^{*1}, Toshihiko Sato^{*1}, Naoki Mori^{*1}, Naruhisa Takano^{*1}, Koshiro Ishiyama^{*1}, Naoki Sakurai^{*1}, Kiyohiro Saito^{*2}, Hajime Iizawa^{*1} and Eiichi Ikeda^{*1} (*Dept. of^{*1}Gastroenterological Surgery, ^{*2}Radiology, Yamagata Prefectural Central Hospital*)

Summary

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the efficacy of the combination of hepatic arterial infusion therapy and FOLFOX for colorectal cancer with multiple unresectable liver metastases causing severe liver dysfunction.

Subjects and Methods: The subjects were 13 colorectal cancer patients who had undergone resection of the primary tumor, and showed multiple, unresectable liver metastases and severe liver dysfunction. They consisted of 8 men and 5 women, with a median age of 63 (29-77) years. Of these patients, 7 and 6 had colon and rectum cancers, respectively. They had an average of 8 (3-22) liver metastases of 4.6 (1.5-14.5) cm in diameter. During surgery, extrahepatic lesions were found in 3 patients (P in 2, and CY in 1). The preoperative serum LDH and ALP levels were high, at 1,099 (322-1,418) and 1,011 (644-2,384), respectively. The follow-up period was approximately 500 (248-928) days. Only 5-FU in FOLFOX4 or 6m therapy was infused into the hepatic artery, and LV and L-OHP were injected into the central venous port about every two weeks. Response rates and adverse events were evaluated according to the RECIST criteria and CTCAE ver 3.0, respectively.

Results: The therapy was performed 14 (6-22) times, with a response rate of 84.6% for liver metastases, facilitating hepatectomy in 1 patient. The overall response rate was 61.5%, with 1 patient dying of the primary cancer on the 265th day. Grade 3 adverse events were neutropenia and anorexia in only 1 patient each, and no adverse events were specific to hepatic arterial infusion.

Conclusion: Since the follow-up period after this therapy was still short, only 13 patients have received the therapy. However, it appears that it can be performed relatively safely, and is effective for the control of extrahepatic lesions as well. Therefore, this therapy provides good control, and can be a treatment option. **Key words:** Colorectal cancer, Multiple liver metastases, Hepatic arterial infusion, FOLFOX (*Received Apr. 2, 2008/Accepted Jul. 3, 2008*)

要旨 目的: 高度な肝機能障害を伴う切除不能多発肝転移を有する大腸癌症例に対する肝動注併用 FOLFOX 療法の有効性について検討する。**対象と方法:** 高度な肝機能障害を伴う切除不能多発肝転移を有し、原発巣を切除した大腸癌症例 13 例を対象とした。男性 8 例、女性 5 例、年齢は中央値 63 (29~77) 歳であった。結腸 7 例、直腸 6 例、肝転移個数は 8 (3~22) 個、大きさ 4.6 (1.5~14.5) cm であり、術中肝外病変は 3 例 (P 2 例、CY 1 例) に認めた。術前血中 LDH 1,099 (322~1,418), ALP 1,011 (644~2,384) と高値であった。観察期間は約 500 (248~928) 日であった。FOLFOX4 または 6m 療法の 5-FU のみ肝動注より動注し、LV と L-OHP は中心静脈ポートより静注し、約 2 週間ごとに施行した。奏効率は RECIST に、有害事象は CTCAE ver 3.0 に従い評価した。**結果:** 施行回数は 14 (6~22) 回であった。肝に対する奏効率は 84.6% で、1 例に切除可能であった。全体では 61.5% の奏効率であり、死亡例は 1 例 (265 日目原癌死) であった。grade 3 の有害事象は neutropenia 1 例、anorexia 1 例のみで肝動注特有の有害事象は認めなかった。まとめ: 肝動注併用 FOLFOX 療法は観察期間がまだ短く、症例数が 13 例と少ないものの比較的 safely に施行でき、肝外病変のコントロールも含めて比較的有効と思われるため、局所制御の良好な肝動注療法を併用した FOLFOX 療法は治療法の選択肢になり得ると思われた。

^{*1} 山形県立中央病院・外科

^{*2} 同 放射線科

はじめに

大腸癌のうち肝転移は同時性に10%、異時性に15%と最も高頻度に認める転移形式である¹⁾。大腸癌の両葉多発肝転移例の予後は不良といわれ、無治療例の50%生存期間は4.5~12.5か月と報告されている²⁻⁶⁾。かつて本邦においてはAraiらにより5-fluorouracil (5-FU) 単剤による肝動注療法が施行され、良好な局所制御効果を認めていたが⁷⁾、欧米での全身化学療法とのランダム化比較試験においては生存期間延長効果を認めないと報告されていた⁸⁾。近年ではFOLFOXなどの奏効率の高い全身化学療法を施行し、down-staging後に肝切除を行い、生存率など良好な成績が報告されている⁹⁾。そのため今回われわれは、高度の肝機能障害を有する切除不能な大腸癌肝転移症例に対し、局所制御効果の高い5-FUの肝動注療法にlevofolinate calcium (LV) と oxaliplatin (L-OHP) の全身投与との併用療法を施行し、その有効性と安全性について検討した。化学療法の腫瘍縮小効果はRECIST (Response Evaluation in Solid Tumors) ガイドライン、有害事象はCTCAE ver. 3.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0) に従った。組織学的腫瘍効果判定基準は大腸癌取扱い規約第7版に従った。

I. 対象および方法

1. 対象

2005年6月~2007年8月までに切除不能肝転移を有する大腸癌症例に対し、当科にて原発巣切除後 first-line

Table 1 Subjects

Gender	
Male/female	8/5
Age	63 (29~77)
Performance status	
0/1/2/3/4	11/2/0/0
Tumor location	
Colon/rectum	7/6
Number of liver metastases	8 (3~22)
Diameter of liver metastases (cm)	4.6 (1.5~14.5)
Extra hepatic metastases	
yes/no	3/10
P/CY	2/1
GOT (IU/L)	104 (31~228)
GPT (IU/L)	110 (32~208)
γ-GTP (IU/L)	252 (85~631)
T-Bill (mg/mL)	0.8 (0.3~1.3)
LDH (IU/L)	1,099 (322~1,418)
ALP (IU/L)	1,011 (644~2,384)
CEA (ng/mL)	362.1 (65.6~3,832)
CA19-9 (U/mL)	451.3 (46.9~73,816)

にてFOLFOX療法を施行した進行大腸癌症例65例中、高度の肝機能障害を有する多発肝転移にて術後、全身状態の悪化が考えられた13例を対象とした。13例の臨床病理学的特徴をTable 1に示す。肝外病変を有する症例は3例(術中所見にて腹膜播種2例、肝門部リンパ節腫脹1例)に認めた。術前ALP値の中央値は1,011(644~2,384)と高値であった。

2. 方法

術前に放射線科医師によりIVRにて胃十二指腸動脈と右胃動脈の血流改変術を施行し、同時期に右大腿動脈から肝動脈内にカテーテルを留置し、ポートを皮下に埋め込んだ。術中に外科医師により鎖骨下静脈より中心静脈ポートの留置を施行した。投与方法はFOLFOX4または6mのレジメンと同様に施行したが、5-FUのみ肝動注ポートより注入し、LVとL-OHPを中心静脈ポートより注入した。約2週間ごとにPDまたは全身状態悪化、有害事象にて中止となるまで施行した。

II. 結果 (Table 2, 3)

1. 投与状況

肝動注併用FOLFOX療法の施行回数は中央値で14(6~22)回であった。4例が治療継続中であり、中止の理由は1例が肝臓切除により、3例がPDにより、1例が肝動脈閉塞により、4例が有害事象などであった。

Table 2 Response rate and prognosis

Response	Liver	Overall
Complete response, No	0	0
Partial responses, No	11	9
Stable disease, No	1	1
Progressive diseases, No	1	4
Response		
No.	11	8
%	84.6	61.5
Death		
No (days after chemotherapy)		1 (265 days)
Courses of chemotherapy		14 (6~22)

Table 3 Adverse events

Adverse events	grade			2~3 No. (%)
	1	2	3	
Neutropenia	1	1	1	2 (15.3)
Hb	1	0	0	0 (0)
Platelet	1	0	0	0 (0)
Anorexia	1	0	1	1 (7.7)
Nausea	1	1	0	1 (7.7)
Diarrhea	1	0	0	0 (0)
Paresthesias	7	2	0	2 (15.3)
Allergy	0	0	0	0 (0)

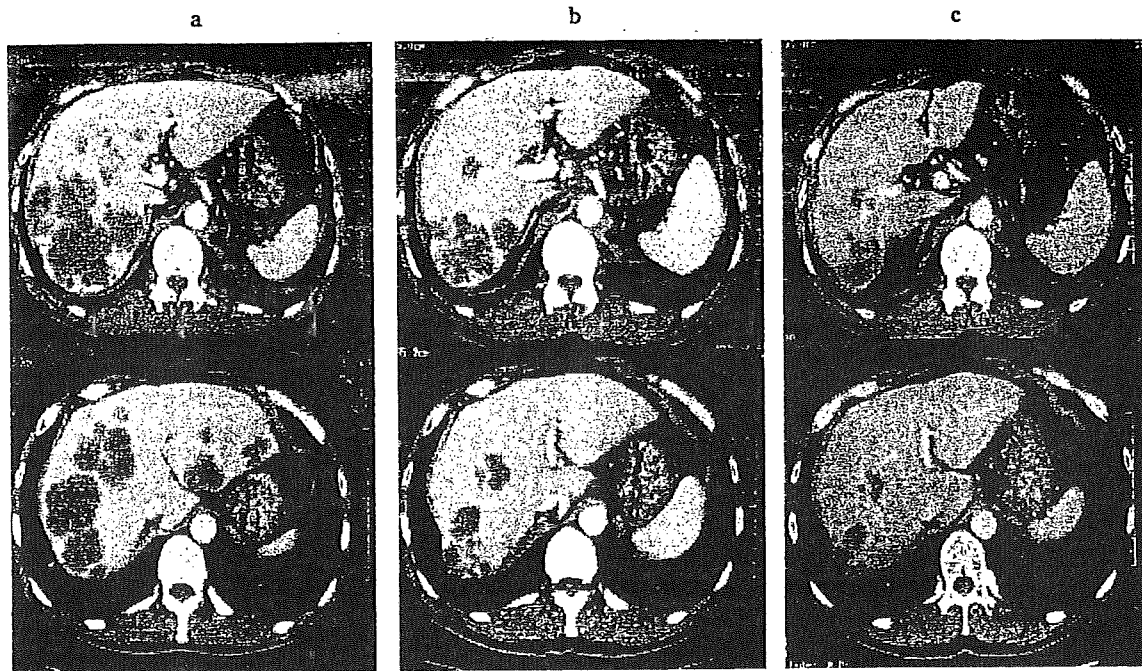


Fig.1 Case 1

a: Before surgery and chemotherapy.
 b: After 6 courses of combined hepatic arterial infusion therapy and FOLFOX6m.
 c: After 16 courses of therapy. Reduction rate: 61%.

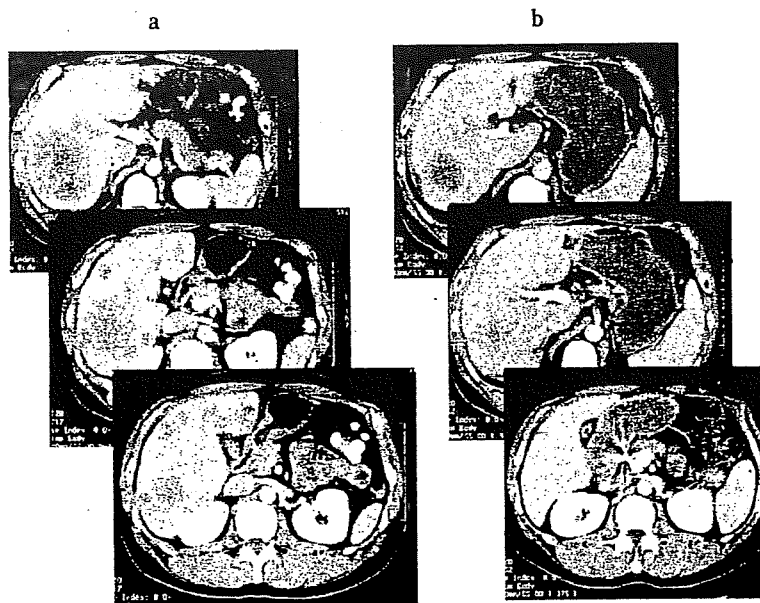


Fig.2 Case 2

a: Before surgery and chemotherapy.
 b: After 17 courses of combined hepatic arterial infusion therapy and FOLFOX6m. Reduction rate: 72%.

2. 抗腫瘍効果

肝臓病変における抗腫瘍効果はCRを認めないものの約85%と高率であり、Fig.1~4に著効例を示すが、Fig.4は著効後に切除可能例となり、Fig.2は今後切除予定である。臨床的奏効率は61.5%であり、肝病巣の悪化と他病巣の出現により4例にPDを認めたが比較的肝外病変のコントロールも良好であった。

3. 予後と後治療について

死亡例は1例のみで投与後265日であった。投与後観察期間が中央値で495(248~928)日と短いこともあるが、2年以上生存例は2例、1年以上生存例は5例と予後は比較的良好であった。2次治療として8例にFOLFIRI療法を、切除可能例は切除後S-1内服を施行している。

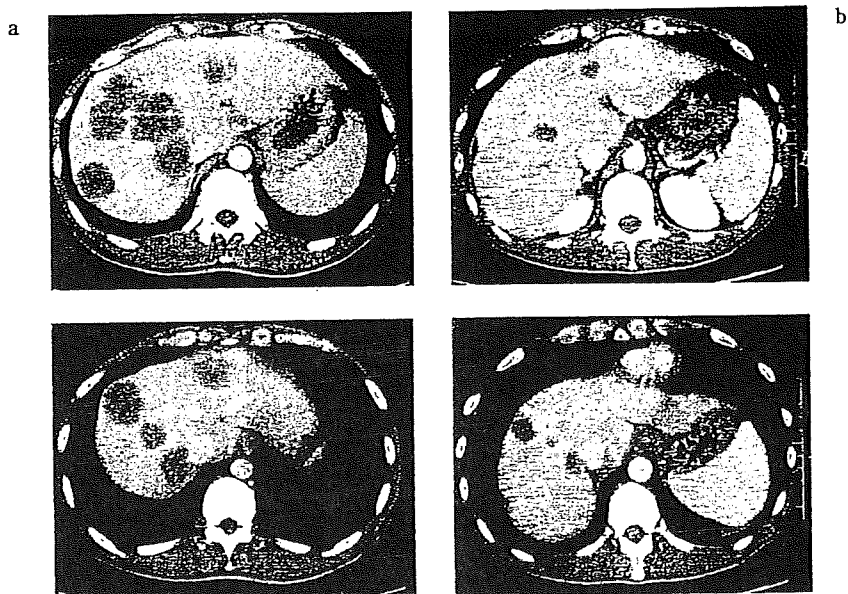


Fig. 3 Case 3

a: Before surgery and chemotherapy.
 b: After 9 courses of combined hepatic arterial infusion therapy and FOLFOX6m. Reduction rate: 68%.

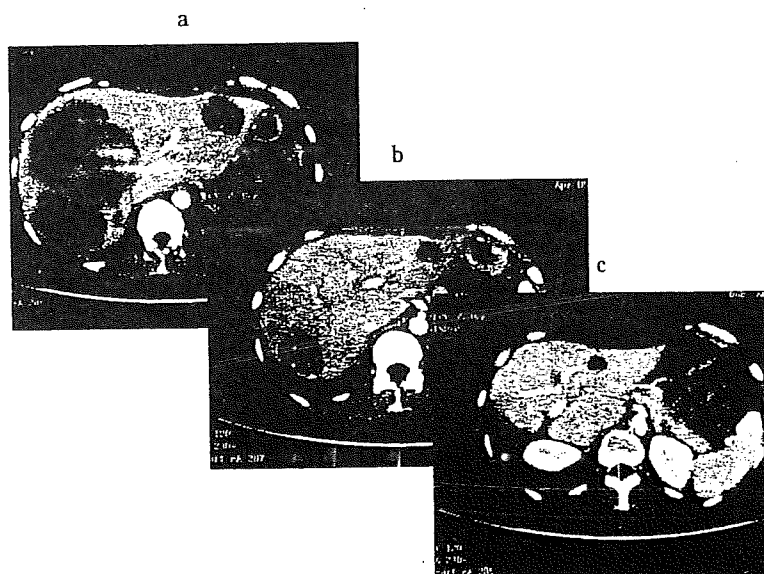


Fig. 4 Case 4

a: Before chemotherapy. Multiple metastatic lesions were observed in both liver lobes.
 b: After 9 courses of combined hepatic arterial infusion therapy and FOLFOX4. A marked tumor reduction (56%) was observed and tumor was resected.
 c: After 3 courses of FOLFIRI therapy. A 20% tumor reduction was noted and rest tumor was resected.

4. 有害事象

grade 3 以上の有害事象例は好中球減少例 1 例と anorexia 1 例であり, grade 2 は重複を含むものの nausea など 2 例と L-OHP に特有の末梢神経障害 2 例であった。重篤なアレルギーなどは認めなかった。

III. 考 察

肝転移例に対する治療法は切除療法が良好であると報告されているが¹⁰⁾, Ballantyne らは単発あるいは少数個 (3 個) 転移までが積極的切除の適応と述べている。これらの適応に含まれる症例は大腸癌全体の 5% であり, 肝切除による生存率の向上は 1~2% と述べられている¹¹⁾。

そのため、生存率を改善させるためには適応外の症例の生存率を改善することが全体の生存率を向上させると思われる。

海外では切除不能、あるいは肝外病変を伴う大腸癌遠隔転移例に対し、積極的に奏効率の高い FOLFOX を neoadjuvant chemotherapy として用い、切除率を向上させている^{9,12)}。大腸癌肝転移切除不能例に対する術前化学療法の意義は転移病巣の縮小により手術が可能になることであり、術前化学療法の奏効率と切除率は相関すると述べられている¹³⁾。また Adams らは、術前化学療法後に切除可能となった症例の5年生存率は、診断時に切除可能であった症例の切除成績と同等であると述べている¹⁴⁾。

本邦では1990年代前半には確立されていた肝動注療法は全身化学療法との比較試験において、腫瘍縮小効果において勝るものの生存期間の延長において優位性が示されず、肝外病変の増悪の抑制が弱く、カテーテル留置の手技的困難性より first-line として活用されなくなっていた。しかし、これらの検討では本邦において施行されていた肝動注療法と異なりカテーテル留置が開腹下で施行されており、肝動注群の37%で治療開始できず、治療開始例の29%でカテーテルトラブルにて治療継続不可能であり、最終的には6コース予定に対し、平均2コースの治療しか行われていなかった⁹⁾。

本邦においては5-FUを週1回5時間かけて注入する治療法で奏効率は約50~80%、生存期間中央値は18~26か月と良好な成績であった^{7,15,16)}。ランダム化比較試験は行われていないものの、近年の FOLFOX や FOLFIRI といった全身化学療法と差を認めていなかった。さらに最近の肝動注療法の報告では、山下らは weekly 5-FU+LV 肝動注療法は肝病変に対する奏効率は75%で生存期間中央値は22か月と報告し³⁾、Kemeny らは FUDR の肝動注療法と5-FU+LV 全身療法の比較試験において奏効率が47%と24%、生存期間中央値が24.4か月と20.0か月で有意に肝動注療法が勝っていると報告している¹⁷⁾。

これらより ALP の高値など高度な肝機能障害を伴う切除不能肝転移を有する大腸癌に対する化学療法として、本邦の放射線科医師による高い技術のもとカテーテル留置を施行し、肝転移に対する腫瘍縮小効果の高い肝動注療法と、肝外病変の制御のため全身療法を併用することで予後の改善が得られると考えられるため、今回われわれは切除不能な大腸癌高度肝転移症例に対し5-FUのみ肝動注ポートより注入し、LVとL-OHPを中心静脈ポートより注入する治療法を13例に施行した。L-OHPが本邦において承認されてから期間がまだ短いた

め、観察期間の中央値が約500日と短いものの、肝病変に対する奏効率は約85%と高率であり、1例に切除可能で、さらに1例に切除予定であった。肝外病変も含めても約62%の奏効率と良好であり、比較的肝外病変のコントロールもされていると考えられた。また、13例全例に留置可能で1例のみにカテーテル閉塞を認めたのみであった。肝動注併用 FOLFOX 療法の施行回数は中央値で14(6~22)回であったが、grade 3以上の有害事象は好中球減少症と anorexia の2例のみで、grade 2は重複を含むものの4例であり、肝動注療法に特異的な胆嚢炎や胃十二指腸潰瘍などは認めず、比較的安全に施行されていた。L-OHP に特異的な重度の末梢神経障害や、アレルギーも認めていなかった。予後においては、観察期間が短いものの後治療として FOLFIRI や S-1 の内服が施行されているが、死亡例は265日目の1例を認めたのみであった。

欧米において、Ducreux らは薬剤分布が適当であっても腹痛を引き起こしたものの、L-OHP を肝動注に用い、5-FU+LV を全身化学療法とし、奏効率64%、MST約27か月と報告し¹⁸⁾、Kemeny らは FUDR の肝動注と、irinotecan, L-OHP の全身療法により奏効率90%、MST約36か月と報告している¹⁹⁾。成績の向上は後治療の分子標的治療薬なども考慮しなければならないものの、肝動注化学療法と全身化学療法とを併用することで、現在最も施行されている標準的全身化学療法の FOLFOX, FOLFIRI 療法の MST 約20か月よりも優れた成績を示す可能性が考えられるため、今後はこれらを対照としたランダム化試験も必要と思われる。

今回われわれは、肝機能障害を有する切除不能多発肝転移症例に対し、肝転移に関する局所治療としての肝動注療法と、肝外病変のコントロールとして全身化学療法を併用とした FOLFOX 療法を13例に施行した。観察期間が短く今後の長期的観察が必要であるが、奏効率や肝外病変に対するコントロールは比較的良好であり、安全に施行されていた。以前までは切除不能肝転移症例に対し延命を目的とした化学療法が主であったが、最近ではわれわれが経験した症例のように高度な肝機能障害を有する症例に対しても奏効率の高い肝動注療法と全身化学療法を併用することで根治切除が可能となり、治療法の一つの選択肢となる可能性が示唆された。今後は肝切除し得た症例の術後の補助化学療法も含め、集学的治療を施行することで切除不能肝転移症例の生存率の向上を図ることが重要と思われる。

文 献

- 1) 安野正道, 杉原建一: 大腸癌肝転移の治療方針と成績. 消化器外科 29: 1149-1158, 2006.

- 2) Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Charnley RM, *et al*: Factors influencing the natural history of colorectal liver metastases. *Lancet* 343: 1405-1410, 1994.
- 3) Yamashita K, Urakami A, Kubota H, *et al*: Results of hepatic arterial infusion chemotherapy with 5-FU and leucovorin for unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Jpn J Cancer Chemother* 35(1): 71-76, 2008.
- 4) Wood CB, Gillis CR and Blumgart LH: A retrospective study of the natural history of patients with liver metastases from colorectal cancer. *Clin Oncol* 2: 285-288, 1976.
- 5) Registry of Hepatic Metastases: Resection of the liver for colorectal carcinoma metastases: a multiinstitutional study of indication for resection. *Surgery* 103: 278-288, 1988.
- 6) Scheele J, Stang R, Altendorf-Hofmann A, *et al*: Resection of colorectal liver metastases. *World J Surg* 19: 59-71, 1995.
- 7) Arai Y, Inaba Y, Takeuchi Y, *et al*: Intermittent hepatic arterial infusion of high-dose 5-FU on a weekly schedule for liver metastases from colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 40: 526-530, 1997.
- 8) Kerr DJ, McArdle CS, Ledermann J, *et al*: Intrahepatic arterial versus intravenous fluorouracil and folinic acid for colorectal cancer liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 26: 468-473, 2000.
- 9) Alberts SR, Horvath WL, Stenfeld WC, *et al*: Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin for patients with unresectable liver-only metastasis from colorectal cancer: a North Center Cancer Treatment Group Phase II study. *J Clin Oncol* 23(36): 9243-9249, 2005.
- 10) 渡辺伸治, 田中邦哉, 山口茂樹・他: 大腸癌肝転移の外科治療. *消化器外科* 24: 293-301, 2001.
- 11) Ballantyne GH and Quin J: Surgical treatment of liver metastases in patients with colorectal cancer. *Cancer* 71: 4252-4266, 1993.
- 12) Lehnert T, Knaebel HP, Duck M, *et al*: Sequential hepatic and pulmonary resection for metastatic colorectal cancer. *Br J Surg* 86: 241-243, 1999.
- 13) Folprecht G, Grothey A, Alberts S, *et al*: Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol* 16: 1311-1319, 2005.
- 14) Adam R, Lucidi V and Bismuth H, *et al*: Hepatic colorectal metastases: methods of improving resectability. *Surg Clin N Am* 84: 659-671, 2004.
- 15) Arai Y, Inaba Y, Matsuda K, *et al*: Weekly 5hour hepatic arterial infusion of high dose 5-FU for unresectable liver metastases from colorectal cancer in patients without extra-hepatic lesions. *Proc ASCO* 17: 285a, 1998.
- 16) 熊田 卓, 荒井保明, 伊藤和樹・他: 大腸癌肝転移に対する大量 5-FU 週 1 回 5 時間持続動注療法—多施設共同研究—. *日癌治療会誌* 28: 1449, 1993.
- 17) Kemeny N, Neidzweiecki D and Hollis DR: Hepatic arterial infusion versus systemic therapy for hepatic metastases from colorectal cancer: a randomized trial of efficacy, quality of life, and molecular markers (CALGB 9481). *J Clin Oncol* 24: 1395-1403, 2006.
- 18) Ducreux M, Ychou M, Laplanche A, *et al*: Hepatic arterial oxaliplatin infusion plus intravenous chemotherapy in colorectal cancer with inoperable hepatic metastases: a trial of the gastrointestinal group of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 23: 4883-4896, 2005.
- 19) Kemeny N, Jarnagin W, Paty P, *et al*: Phase I trial of systemic oxaliplatin combination chemotherapy with hepatic arterial infusion in patients with unresectable liver metastases from colorectal cancer. *J Clin Oncol* 23: 4888-4896, 2005.

特集

国外大規模臨床試験の意義と国内がん診療へのインパクト

切除可能大腸がん肝転移例に対する外科切除+周術期FOLFOX4療法 vs. 外科切除単独の第III相試験*

高橋進一郎**

Key Words : hepatic metastasis, liver metastasis, colorectal cancer, adjuvant chemotherapy, neoadjuvant chemotherapy

はじめに

大腸がん治療は化学療法の進歩により大きく変化し予後の改善も著しい。Stage III 症例は切除+術後補助化学療法が標準治療となり、stage IV 切除不能例の化学療法はオキサリプラチン、イリノテカン、分子標的薬の導入により予後が大幅に改善した。しかし、同じ大腸がんでありながら切除可能肝転移に対する治療は20年前から化学療法の隆盛をみる今日に至るまで切除単独を凌駕する新しい標準治療をみるに至っていない。

EORTC40983「切除可能大腸がん肝転移例に対する外科切除+周術期FOLFOX4療法 vs. 外科切除単独の第III相試験」は、切除可能肝転移補助療法で最初の全身化学療法 vs. 切除単独の大規模ランダム化比較試験(RCT)であり、stage II, III 大腸がんに対する補助療法で5FU/LVを上回る成績を示したFOLFOX4¹⁾を治療群で用いており、注目を集めた。結果は2007年ASCOの年次総会で発表された。ここではEORTC40983の結果、その位置づけ、および国内臨床試験への影響について述べる。

過去に行われたRCT(表1)

大腸がん肝転移に対する肝切除は5年生存率が30~60%に及び長期生存、根治が期待でき

表1 過去に行われた切除可能大腸がん肝転移に対するRCT

報告者	治療法	症例数	5年無再発生存率(%)	無再発生存期間中央値(月)	P value	5年生存率(%)	生存期間中央値(月)	P value
Lorenz, et al 1998	肝動注(5FU+FA)	108	—	14.2	ns	—	40.8	0.15
	切除単独	111	—	13.7		—	34.5	
Kemeny, et al 1999	肝動注(FUDR)+ Systemic 5FU/LV	74	40(5y-PFS)	37.4	0.06	61	72.2	0.21
	Systemic 5FU/LV	82	34(5y-PFS)	17.2		49	59.3	
Kemeny, et al 2002 ECOG study	肝動注(FUDR)+ Systemic 5FU	30	46(4y-DFS)	—	0.04	62(4y-OS)	63.7	0.6
	切除単独	45	25(4y-DFS)	—		53(4y-OS)	49.4	
Portier, et al 2006 FFCD ACHBTH AURC 9002 trial	Systemic 5FU/LV	86	34	24.4	0.03	51	62.1	0.13
	切除単独	85	27	17.6		41	46.4	

* Treatment for resectable hepatic metastasis from colorectal cancer ; before and after EORTC Intergroup trial 40983.

** Shinichiro TAKAHASHI, M.D., Ph.D.: 国立がんセンター東病院上腹部外科(☎277-8577 柏市柏の葉6-5-1) ; Surgery Division, National Cancer Center Hospital East, Kashiwa 277-8577, JAPAN

る²¹⁾。化学療法が進歩した現在にあっても肝切除を行わなかった場合根治を得る可能性はほとんどない。しかし、切除症例の約3/4に認められる術後再発は大きな問題であり再発減少を目指した補助療法の臨床試験が試みられてきた。

過去に行われた大腸がん肝転移補助療法のRCTを振り返り特徴的なことは、当初、肝動脈注入療法(肝動注, HAI)が中心となって研究が進められていたことである。血行性転移病変の術後に肝動注という局所療法を行う根拠は、大腸がん肝転移術後再発の50%以上が肝再発であるということ⁴⁵⁾、切除不能大腸がん肝転移における肝動脈注入療法の抗腫瘍効果が高く⁶⁾当時の標準的な全身化学療法(5FU/LV)と比較し予後も良好ではないかと期待されていたこと、⁷⁾があげられる。肝転移巣は動脈優位の血流支配を受けており⁷⁾、肝動脈からの投与により腫瘍内に高濃度の薬剤を送ることができる。

Lorenzらは6個以下の大腸がん肝転移切除症例において5FU肝動注術後補助療法と切除単独を比較するRCTを行った⁸⁾。肝動注は5FU 1,000mg/m²×5日間を4週ごとに6コース繰り返すレジメンであったが、肝動注に伴う毒性のため8例の治療関連死を認めたことから登録226例で試験中止となった。226例の解析では、切除単独群の生存期間中央値が補助療法群を上回っているnegative studyであった。

Kemeny MMらは画像上3個以下の大腸がん肝転移例に対しFUDR肝動注+5FU全身化学療法の術後補助療法と切除単独を比較するRCTを行った⁹⁾。症例登録が伸びず109例の予定登録症例数に達するまでに10年間を要している。4年無再発生存、肝無再発生存では術後補助療法群が有意に良好であったが、全生存率では有意な差は認められなかった。術後補助療法による再発減少の可能性は示したが、症例集積に10年間を要している、術前登録であったためランダム化後に3分の1の症例が不適格、intention-to-treat解析でない、feasibilityが低い(治療完遂率43%)等の理由から切除単独に代わる標準治療を証明するには至らなかった。

Kemeny Nらは、大腸肝転移肉眼的完全切除例に対し全身化学療法(5FU/LV) vs. FUDRによる

肝動注+全身化学療法(5FU/LV)のRCTを行った¹⁰⁾。当時stage IIIでは切除+術後5FU/LVが標準治療であり、切除単独群をおいた試験の症例集積が難しいことから、この試験では5FU/LVをcontrol armとしている。HAI+5FU/LV群で2年生存率、2年無増悪生存率が20%改善すると仮定し、156名を予定登録数としている。結果は、HAI+5FU/LV群で肝無増悪生存率が有意に向上したが、無増悪生存率(log-rank検定)、全生存でcontrol armと比較し有意な差を認めなかった。

肝動注を用いた試験で明らかになったことは、上述の肝毒性やカテーテルトラブルによりfeasibilityが低く、肝内再発抑制効果と比べ肝外再発抑制効果に乏しいことであった。

一方、全身化学療法を用いた大腸がん肝転移術後補助療法のRCTはEORTC40983以前にはあまり行われていない。Portierらが報告した切除単独 vs. 術後5FU/LV(5FU 400mg/m²/日×5日間, 28日毎投与, 6サイクル)の多施設によるRCT(FFCD ACHBTH AURC 9002)は登録数173例と比較的規模の大きい試験であった¹¹⁾。この試験では全生存では有意差を認めなかったが、プライマリーエンドポイントである無再発生存率が術後補助療法群で有意に良好であった。しかし、症例集積に1991年より10年間かかっているため、試験開始当時最良の治療法であった5FU/LVはその座を発表時(2006年)より遙か昔に明け渡していた。MOSAIC trialでFOLFOXがInfusional 5FU/LVに比べstage III大腸がんの再発リスクを23%減らし3年無再発生存率が有意に良好であったインパクトを考えると¹²⁾、術後5FU/LVを肝転移切除後の標準治療とすることは困難である。また、症例集積に要した10年間に診断手術を含めた医療環境の大きな変化があり、試験の結果にバイアスがかかった可能性も否定できない。FFCD ACHBTH AURC 9002は全身化学療法による大腸がん肝転移術後補助療法の可能性を示したといえるが、術後5FU/LVを標準治療と見なすことは難しい。

EORTC40983の特徴

肝動注を用いた補助療法の限界が明らかとなり、肝内だけでなく肝外再発に対する抑制効果

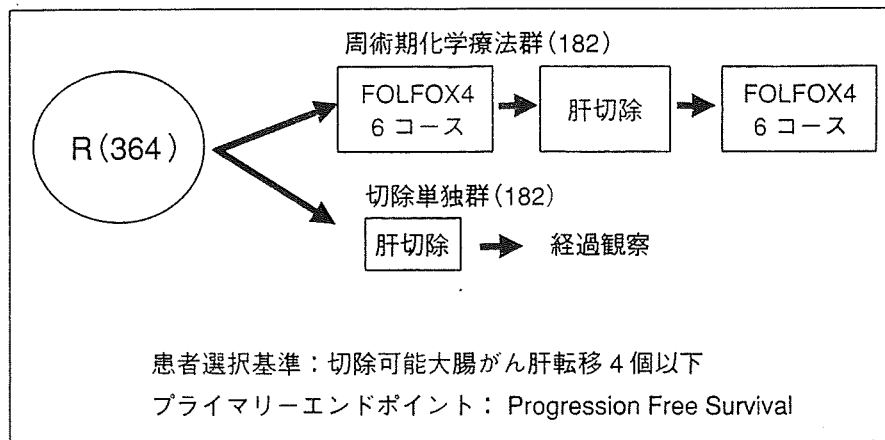


図 1 EORTC40983のシェーマ

も期待できる全身化学療法を用いた補助療法に研究開発の方向性が変わってきた。また、切除不能stage IV 大腸がんにおいてイリノテカン、オキサリプラチンを用いた全身化学療法の治療成績が従来の5FU/LVより良好であることが明らかとなった¹²⁾¹³⁾。

以上のような治療変遷の中、EORTC40983は、切除可能大腸がん肝転移例に対する外科切除＋周術期FOLFOX4療法 vs. 外科切除単独の第 III 相試験として計画された¹⁴⁾ (図 1)。

EORTC40983の特徴として、①treatment armが全身化学療法、②切除可能肝転移にオキサリプラチン併用化学療法をはじめて使用、③control armが切除単独、④術前＋術後化学療法、⑤術前登録・ランダム化、があげられる。

切除単独をcontrol armに置いた試験が軒並み症例集積に苦勞をしており、あえて切除単独を置く第 III 相試験を行わず有望な補助療法の第 II 相試験を行う傾向がみられた。そのような状況下、EORTC40983は節目的RCTとしてその後の研究計画に大きな影響を与える位置づけにあった。また、EORTC40983は術前＋術後補助療法をはじめて採用している。術前＋術後補助療法とした根拠は、切除不能大腸がん肝転移に対するオキサリプラチン併用化学療法奏効後切除の成績が良好で長期生存例が認められること、術前化学療法を行うことで完全切除率と予後の向上が期待できるためとしている。また、欧米では同時性肝転移の場合、原発巣と肝転移巣を同時に切除することは稀で、原発巣切除後インターバルにおいて肝切除を行うのが通例である。よって、

インターバルの間に術前化学療法を行う臨床側の要求があったと考えられ、術前＋術後補助療法は欧米の臨床に即している。治療群が術前＋術後補助療法であるため登録、割付は術前となる。腫瘍因子の適格性、つまり切除可能か否かは画像診断をベースとしている。

EORTC40983の概要は図 2 に呈示している。

EORTC40983の結果

注目されていたEORTC40983の結果は2007 ASCO年次総会の本会議で発表された¹⁵⁾¹⁶⁾。予定よりもイベント数が少なかったが、臨床サイドより早期公表の要望が強く中間解析を経て公表に至った。

本試験の結果を理解するにはtrial profileを十分理解する必要がある (図 3)。全体で364例が登録され化学療法群、切除単独群にそれぞれ182例が割り付けられた。登録時の基本特性は両群はほぼ均等である。

切除単独群182例のうち、手術施行170例、腫瘍切除例は152例であり手術がなされなかった、腫瘍切除できなかった原因のほとんどは進行した腫瘍状況にあった。

化学療法群182例では、11例(そのうち不適格例が7例)を除く171例に術前化学療法が施行された。約80%の症例で全6サイクルが行われ、オキサリプラチン、5FUともにdose intensityは90%とコンプライアンスは良好で、有害事象はgrade 3以上の下痢8%、嘔吐4%、発熱を伴う好中球減少2%、神経症状6%を認めたが中毒死を認めず術前FOLFOX4の耐性も良好であっ

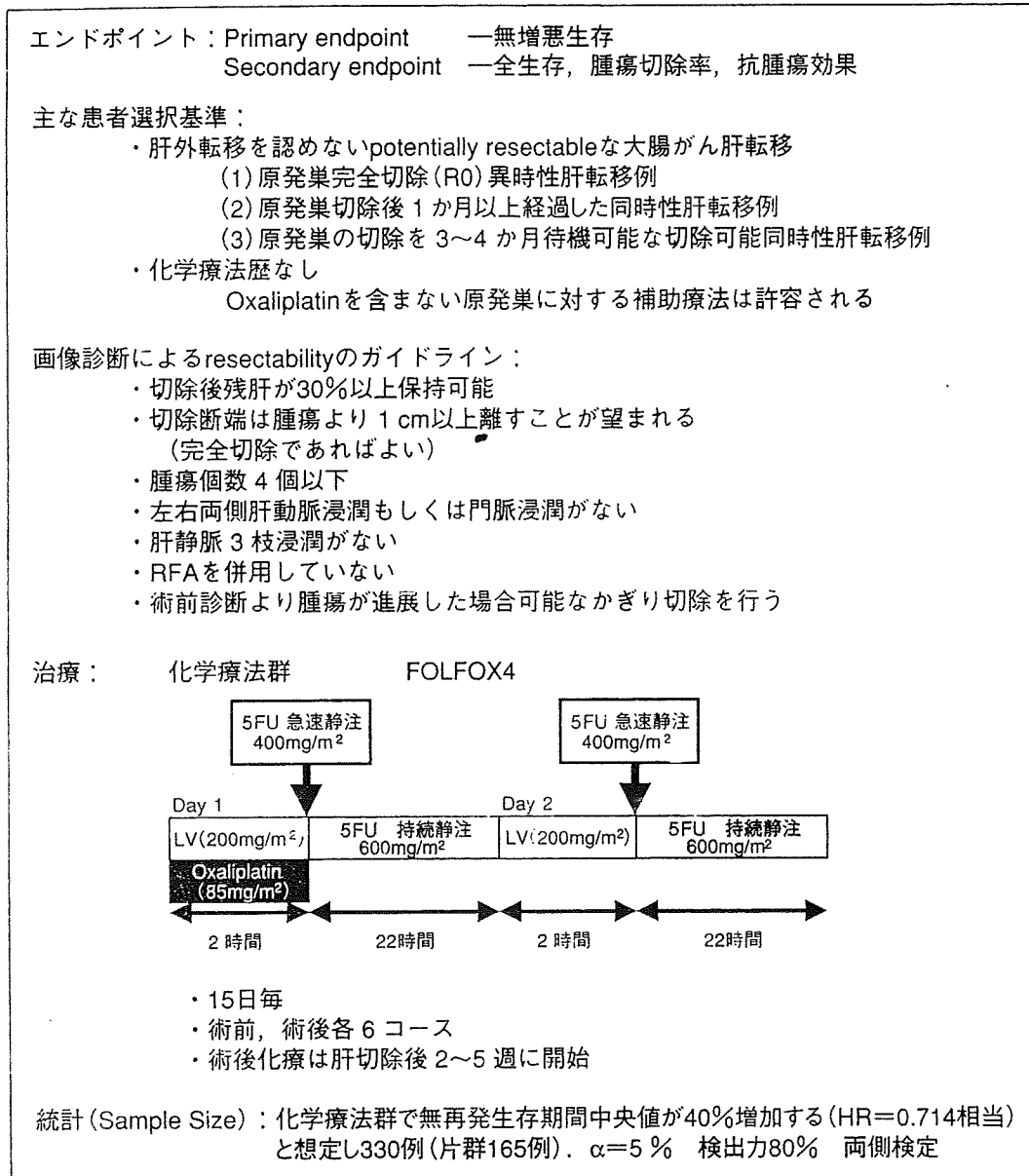


図 2 EORTC40983の概要

た。抗腫瘍効果はCR 4%，PR 40%，SD 38%，PD 7%とPR以上の症例を半数弱認め平均最大径は5 cmから3.3cmに縮小したが，PD 12例のうち8例は切除不能となっている。化学療法群の手術施行例は159例，腫瘍切除例は151例であり，手術がなされなかった，切除できなかった原因のほとんどは切除単独群と同じく進行した腫瘍状況であった。

肝切除の内訳は両群ともほぼ5割の症例で2区域切除以上の手術が，2割に複数切除が施行されており術式に有意差はない。術後合併症は表2に示すように化学療法群で有意に多く認められるが術死は切除単独群2例，化学療法群1例

とともに許容範囲内であった。

術後FOLFOX4施行例は115例 (化学療法群の63%)，6コース完遂例は80例 (43%)であった。治療拒否，術後合併症，術前の有害事象，腫瘍増悪等の理由により術後補助療法を開始できない症例が多く術後補助療法の施行率は低かった。

プライマリーエンドポイントである無増悪生存期間の解析は，第一義的であるintention-to-treatの解析 (182 vs. 182)，および，適格例 (171 vs. 171)，切除例 (152 vs. 151) の2つのサブセット解析が行われた。Intention-to-treatの解析では，化学療法群で良好な傾向がみられるがHR=0.79， $P=0.058$ と有意な差を認めなかった (図 4-A)。一

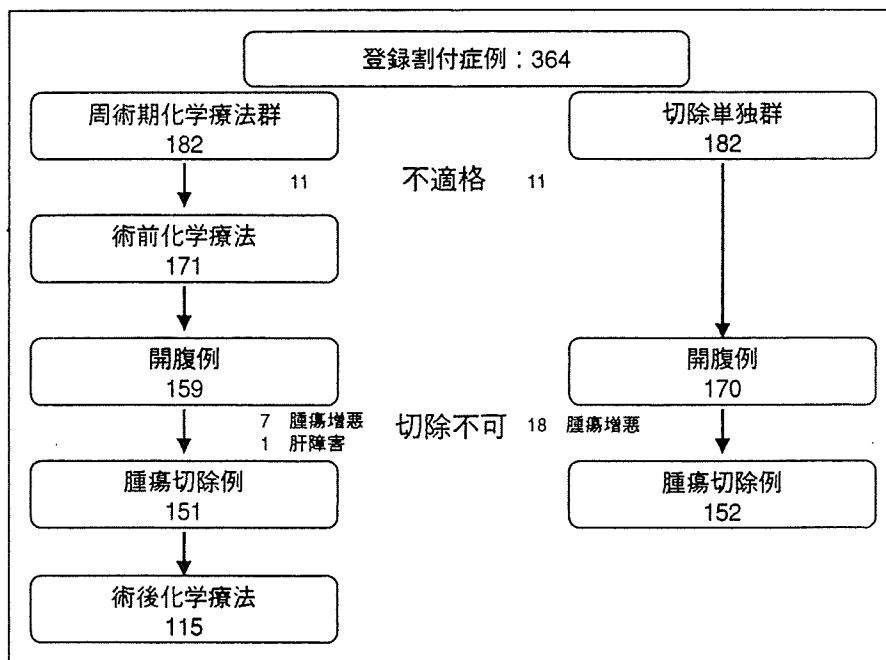


図 3 EORTC40983のtrial profile

表 2 EORTC40983 術後合併症

	周術期補助療法群	切除単独群
すべての術後合併症*	40/159(25.2%)	27/170(15.9%)
循環・呼吸器系合併症	3	2
術後出血	3	3
胆汁漏 (排出量 > 100ml/d, >10d)	12 (9)	5 (2)
肝不全 (血清bilirubin > 10mg/dl, >3d)	11 (10)	8 (5)
創感染	4	4
腹腔内出血	8	2
再手術例	5	3
その他	25	16
術後治療関連死	1	2

*P=0.04

方，適格例と切除症例の2つのサブセット解析では，それぞれ，HR=0.77, P=0.041(図4-B)とHR=0.73, P=0.025と切除単独群と比較し化学療法群で無増悪生存期間が有意に延長していた。

術前・術後FOLFOX4は新しい標準治療か？

研究者は，適格例と切除症例の2つのサブセット解析での結果を強調し，術前・術後FOLFOX4の有効性を主張する。Intention-to-treat解析で両群間に有意な差が認められなかった原因は不適格例，非切除例がイベントとして計算されたた

め，術前・術後FOLFOX4による無増悪生存期間延長が薄まってしまったとしている。

しかし，プロトコルは一次解析であるintention-to-treat解析を前提としてデザインされている。適格例と切除症例の2つのサブセット解析は参考に値するが，あくまでintention-to-treat解析を優先するべきであり，術前・術後FOLFOX4の有効性は明確ではなかったと言わざるを得ない。したがって，術前・術後FOLFOX4を切除可能大腸がん肝転移の新しい標準治療と見なすことは難しい。

術前・術後FOLFOX4の有効性が明確にならなかった原因はいくつか想定される。

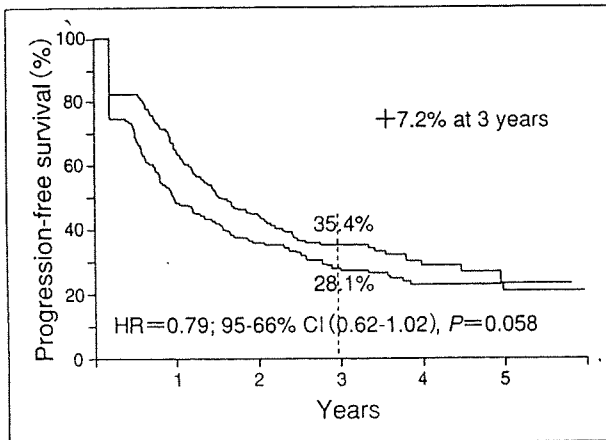


図 4-A 全登録例の無増悪生存期間(EORTC40983)
(文献¹⁶より引用改変)

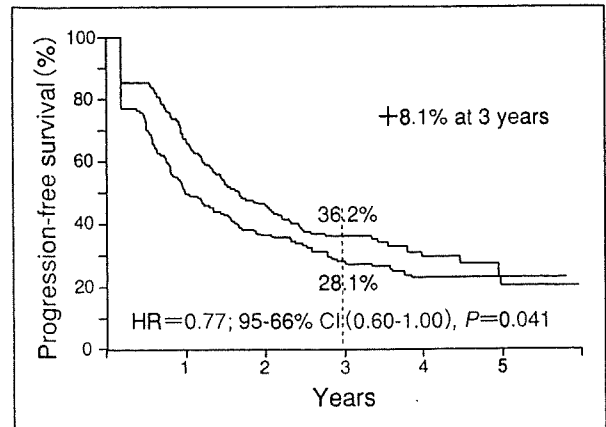


図 4-B 適格例の無増悪生存期間(EORTC40983)
(文献¹⁶より引用改変)

1. 不適格例の多さ

不適格例を22例(6%)に認めている。Stage II, III術後補助療法の研究であるMOSAIC試験では登録2,246例の大規模試験であったが不適格例はわずか44例(1.8%)であった¹¹⁾。EORTC40983は切除可能な同時性・異時性の肝転移を組み入れ基準としているが、切除可能か否かは詳細な「Resectabilityのガイドライン」を参照しなければならず、外科医でなければ判断のつきかねる部分も多い。不適格例が多くなることはいたしかたのない面もあるが6%の不適格例は比較的多いと言わざるを得ず、不適格例も解析の対象となるintention-to-treat解析にバイアスが加わった可能性がある。

2. 画像診断によるstage migration

EORTC40983は術前登録のため、腫瘍因子にかかわる適格性は画像診断の精度に左右される。切除単独群182例中腫瘍切除が可能であったのは152例であり非切除30例の切除不可能であった理由の多くは術前診断以上に進行した腫瘍状況であった。より進行した不適格の症例が画像診断精度の問題によるstage migrationのため適格例になっていたと考えられる。化学療法群も同程度の症例にstage migrationがあったと考えられ、これらの症例が切除頻度を押し下げ、想定された対象と実際の対象が異なることにより異なった結果が導き出された可能性がある。しかし、大腸がん肝転移手術予定患者の16%が非切除という頻度は決して多すぎることはない。術前登録の場合、画像診断によるstage migrationは避けが

たく、統計解析にバイアスを与える。

3. 肝切除のquality control

完全切除は、切除単独群の89%、化学療法群の96.5%で可能であったとされている。病理学的断端陰性がそれぞれどれくらいの症例で得られたかは定かではない。肝切除における根治性の評価が十分検討されたとはいえない。両群間における完全切除率の差は、化学療法群で腫瘍が縮小したため完全切除が得られやすかったとも理解できるが、切除単独群で肝切除の精度が低かった可能性も否定できない。無増悪生存期間は再発がイベントとなるため肝切除のquality controlが解析に影響を与えた可能性がある。

4. リードタイム・バイアスを考慮した統計解析

プロトコル上、化学療法群は切除単独群と比較し肝切除のタイミングが遅くなる。実際に切除単独群の肝切除日は登録後14日、化学療法群114日と両群間で100日の差があった。手術のタイミングが異なると、開腹時に非切除と判明しイベントとして認識される時期が両群間で異なり無増悪生存期間の解析にバイアスが生じる可能性がある。本試験では、開腹時に切除不可能と判明した症例、切除されたが登録後1~20週に再発が判明した症例、登録後1~20週に死亡した症例はすべて10週をイベント日とすることにより上記のリードタイム・バイアスを解消しようと努めている。しかし、化学療法群で開腹時切除不能であった症例が切除単独群と同様に当初から切除不能であったか否かは不明であり、

化学療法群と切除単独群の開腹時切除不能症例等のイベント日をそろえることがどれだけバイアスを解消しているのか不明である。詳細は統計学者の検討に譲る。

以上のような問題が統計解析に影響を与えた可能性があるため、術前・術後FOLFOX4が切除可能大腸がん肝転移の治療として不十分だと結論づけることも難しい。適格例の解析で有意差が出ているだけに、より精度の高いRCTを行えばintention-to-treat解析でも差が出たのではないかという可能性はある。

Intention-to-treat, 適格例, 切除例のKaplan-Meierはほぼ似たような曲線を描く。最初の10週目に生じた両群間の差が4年後まで続くがそこから減少して5年後には差がわずかになる。術後FOLFOXの有効性を示したMOSAIC試験では、FOLFOX群と5FU/LV群の無再発生存は2年間で明確な差が認められ、その差は5年後までほぼ同等であった。腫瘍切除が可能であった症例は化学療法群と切除単独群でほぼ同等であることからEORTC40983における最初の10週目の差は術前化学療法による切除後極早期の再発抑制を示しているのかもしれない。しかし、4年後から化学療法群での増悪例が多くなり、その結果5年DFSは両群でその差が小さい。MOSAIC試験ではFOLFOXによるstage II, IIIの再発抑制が治癒につながったが、EORTC40983ではFOLFOXによる肝転移術後の早期再発抑制が必ずしも治癒に結びついておらず再発時時期の遅延にとどまっている可能性がある。この結果をもってFOLFOXが力量不足であるとは決して言いきれないが、術後の再発率が非常に高く微小転移巢の量が多いと推定される切除可能肝転移例にはstage II, IIIにおける臨床試験の結果を外挿することは難しいのかもしれない。

本邦での臨床試験

本邦では切除単独と術後mFOLFOX6を比較する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/ト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」が進行中である(図5)。EORTC40983と同様に切除単独を

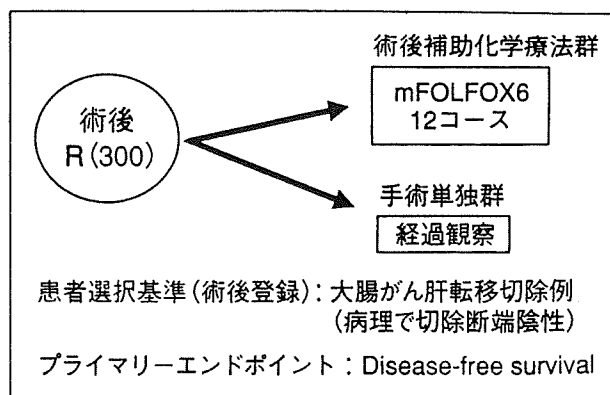


図5 JCOG0603のシエーマ

コントロールとしてFOLFOXの有効性を検証するRCTであるが、研究デザイン、適格基準が異なる。組織学的に完全切除された大腸がん肝転移を術後登録・割付し術後補助療法としてのmFOLFOX6の有効性をみるデザインになっている。したがって、EORTC40983の問題点であった、画像診断によるstage migration, 肝切除のquality control, リードタイム・バイアスの諸問題が生じない。切除可能大腸がん肝転移に対するFOLFOXの再発抑制効果をより高い精度で検証することが可能と思われる。

切除単独が標準治療であった時代と決別する節目として期待されていたEORTC40983であるが、新しい標準治療を確立するには至らなかったことからJCOG0603の重要性はより高まったと考えられる。今後、欧米で切除単独をコントロール群としておいた大規模RCTが改めて行われる可能性は少なく、JCOG0603は切除単独の時代を明確に終らせることが可能な貴重なRCTとして位置づけられる。今後の試験の結果に期待したい。

本邦での切除可能大腸がん肝転移治療への影響

EORTC40983では術前・術後FOLFOX4が有効か否か明瞭にならなかった。したがって、この結果によって切除可能大腸がん肝転移の治療が大きく変化することはない。一般病院で切除可能肝転移に対し肝切除前・後にルーチンでFOLFOXを使用することは控えるべきである。現時点では切除可能肝転移に対する補助療法はがん診療拠点病院にお

いて臨床試験に参加する形で行われるのが望ましい。

肝転移術後にstage II, III に準じた補助療法や経口抗がん剤を使用している例も多くみられるが、stage II, III の患者と肝転移の患者は腫瘍状況が異なり、stage II, III の臨床試験の結果を肝転移例に外挿する正当性を保証できないので、扱いやすいからといってこれらの薬剤を安易に使用することは慎むべきである。

大腸がん肝転移患者を対象としたRCTは海外でも症例集積に苦勞することが多く難しい臨床試験であるが、新しいエビデンスを生み出し現状を打破するため、迅速に推し進めなければならない。

今後の展望「術前・術後化学療法か術後補助療法か？」

現在進行している切除可能大腸がん肝転移のRCTは、英国で進行中のUSCTU-4351 (OxMdGまたはCAPOX vs. OxMdG+セツキシマブまたはCAPOX+セツキシマブ)のように術前・術後補助療法を行うRCTと前述のJCOG0603等の術後補助療法のみを行うRCTに分かれる。切除可能肝転移に対する治療戦略として、術前・術後化学療法と術後補助療法のどちらが良いのであろうか？

一般に、術前化学療法のメリットは、①早期に強度の高い治療が可能、②組織学的効果判定が可能、③高悪性度の症例を選別可能、といわれている。術前化学療法は、手術による合併症や臓器機能低下に治療開始時期を左右されないため強度の高い化学療法を行うことができる。また、術前化学療法後に腫瘍切除が行われた場合、化学療法に対する組織学的な効果判定が可能でありその後の治療方針を考慮する上で貴重な情報が得られる。化学療法に抵抗性で急激に進行する悪性度の高い腫瘍は切除不能となるため、切除例の予後は改善する。

一方、術前化学療法のデメリットは、①増悪例が切除不能となる可能性、②化学療法の影響による術中・術後合併症増加、が指摘される。①はメリットの裏返しではあるが、術前化学療法中もしくは後に増悪し切除不能となる症例は根治切除の可能性を逃しているのかもしれない。

術前化学療法増悪例はその後肝切除をした場合、切除後予後が不良であると報告されている¹⁷⁾。増悪し切除不能になった症例は、たとえ術前化学療法を行わずに切除を先行していても予後不良であったと推測し、術前化学療法は切除例の選別として有効であるとする向きもある。しかし、化学療法増悪症例には本当に切除適応はないのであろうか？ 現在、肝切除の安全性は高まっており、肝転移に対する外科治療法も再肝切除¹⁸⁾、2期的肝切除¹⁹⁾、術前門脈塞栓による拡大手術²⁰⁾等のさまざまな治療戦略をとることが可能である。化学療法抵抗性の症例でも切除先行で外科切除を積極的に行うことにより長期生存が期待できる症例もいるかもしれない。

②については化学療法後肝障害がとくに問題となる。オキサリプラチン、イリノテカン併用化学療法に肝障害が発生し術後合併症割合、術後死亡割合が上昇するという報告がある²¹⁾²²⁾。オキサリプラチン併用化学療法と肝類洞閉塞(hepatic sinusoidal obstruction)、イリノテカン併用療法と脂肪肝炎(steatohepatitis)の有意な相関を示す病理組織学的な検討があり²¹⁾、オキサリプラチン、イリノテカン併用化学療法を行う回数が多いほど、また肝切除が大規模であるほど術後の合併症が多くなるのではないかと考えられている²²⁾。実際、EORTC40983では死亡率こそ差はなかったが、化学療法群で、胆汁漏、肝不全、腹腔内感染症を中心に術後合併症が有意に多かった(表2)。現在、化学療法後肝障害の評価、術後死亡率、罹患率の予測、肝障害の術前評価に基づく治療体系等は確立しておらず喫緊の問題となっている。化学療法肝障害によるリスク(肝切除後死亡率、罹患率の上昇)の大きさ次第では術前・術後化学療法よりも術後化学療法の方が切除可能大腸がん肝転移例には適しているかもしれない。

現時点でどちらの治療戦略が良いのか明らかではない。再発抑制効果に加え、化学療法後肝障害のリスク評価が重要な鍵になると思われる。術前・術後化学療法か術後補助療法か？という命題に明確な解答を与えるには、術前・術後化学療法 vs. 術後補助療法のRCTが必要である。現在は、標準治療となる治療の開発、検証が優先されるべきであるが、将来検討が必要な時期が