

200933008A

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの
解明に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小俣 政男

平成22 (2010) 年3月

厚生労働科学研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの
解明に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小俣 政男

平成 22(2010)年 3 月

「ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究」にあたって

肝細胞癌による死亡者は現在、年間 34,000 人にのぼる。殊に新規発癌もさることながら、長期生存者の増加と共に再発の症例が著増している。肝細胞癌の原因はウイルス性、特にその 8 割が C 型肝炎ウイルスによる事例においては、既に多くの症例において発癌時に肝硬変の結節が存在し、その結節から新たな、且つとめどもない再発が起こってきている。この臨床的並びに分子病理学的研究、及びその対策は、直接的に肝癌患者さんの予後を改善しうる。

本研究班においては、この再発の基礎的及び臨床的特徴を明らかにし、再発抑制対策に取り組んでいる。その成果を、今後の医療の現場及び国民の健康福祉の増進に寄与する事ができればと考えている。

平成 22 年 3 月

肝炎等克服緊急対策研究事業

「ウイルス肝炎による肝がんの再発防止
メカニズムの解明に関する研究」

研究代表者 小俣政男

目 次

I. 総括研究報告	1
	研究代表者 小俣政男
II. 分担研究報告	
1.	3
	東京大学医学部附属病院 吉田晴彦、椎名秀一朗、建石良介、浅岡良成
2.	7
	国立病院機構長崎医療センター 石橋大海
3.	13
	国立国際医療センター戸山病院 正木尚彦
4.	17
	千葉大学医学部附属病院 金井文彦
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	20
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
総括研究報告書

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究

研究代表者 小俣政男 山梨県 特別顧問

研究要旨：平成 21 年度は C 型肝炎ウイルス(HCV)関連肝癌の発症に関連する遺伝的因子の探索を行った。我が国の HCV 関連肝癌は高齢者に多いが、頻度は低いながら、若年時に発症を認める症例がある。このような症例では、遺伝的要素の関与が示唆され、発症しやすい体質であるといえる。近年、大規模 SNP タイピングによる網羅的な検索により、疾患と関連する多型が数多く報告されている。今回、われわれもこの手法を用い、比較的若年時に発症した 49 症例について、90 万カ所の一塩基多型(SNP)を網羅的に解析、健常者コントロールと有意に異なった 12 カ所のうち、Taqman プロブが作成できた 7 カ所について、80 症例の検証コホートで確認した。その結果、2 カ所の SNP が若年肝発症と有意に関連することが示された。この多型は、肝癌の多中心性再発に影響を与える遺伝的要因であることも示唆され、臨床的にも再発リスクの評価に役立つことが期待される。

分担研究者：

石橋大海：国立病院機構長崎医療センター
臨床研究センター長
正木尚彦：国立国際医療センター戸山病院
第二消化器科医長
金井文彦：千葉大学医学部附属病院
消化器内科講師
吉田晴彦：東京大学医学部附属病院
消化器内科講師
椎名秀一朗：東京大学医学部附属病院
消化器内科講師
建石良介：東京大学医学部附属病院
消化器内科助教
浅岡良成：東京大学医学部附属病院
消化器内科助教

ータベースと連結して、肝癌再発機序の網羅的解明を目指す。これらの解析によって得られる情報は、個々の患者について再発防止措置を最適化したテーラーメイド医療の構築につながるものと考えられる。

B. 研究方法

本研究では、Genomic な一塩基多型が肝癌の再発を含めた予後に及ぼす影響について、90 万ヶ所の SNP 座を同時に解析できるマイクロアレイを用いて、網羅的な解析を行っている。平成 21 年度には、研究者らの施設で加療した C 型肝炎細胞癌症例の中で、男性かつ飲酒量 50g/日未満の条件を満たすものうち、肝癌発症年齢が若い順に 49 症例を解析対象とした。肝細胞癌発症年齢は、平均 60 歳(46-67 歳)であった。遺伝子解析への同意をえられた患者血液から抽出した白血球 DNA を Affymetrix SNP6.0 により解析し、共同研究先である東京大学ヒト SNP タイピングセンターにある健常者コントロール 184 例と比較した。このうち特に有意差を認めた 12 か所の SNP のなかで、Taqman プロブの利用可能な 7 か所に関して、validation を行った。

Validation に用いたコホートでは、研究者らの施設を 1990 年から 2002 年の間に受診した C 型肝炎細胞癌患者のうち遺伝子解析の

A. 研究目的

診断法・治療法の発達により肝癌の予後は 5 年生存率 40%前後にまで改善された。しかし、根治的治療後においてさえも年率 15~20%に及ぶ頻繁な再発が肝癌予後の更なる改善を阻んでいる。本研究では、肝癌再発のメカニズムを解明することにより肝癌の予後改善を目指している。具体的には、発達した分子生物学的手法を用いて、先天的遺伝素因および癌結節の後天的遺伝子異常を解析して、肝癌再発についての臨床デ

同意を得ることができた 80 症例を対象とした (男性 52 例、発癌年齢：平均 66 歳 (46-80 歳))。肝癌発生年齢を解析対象として、ログランク検定で有意差の検定を行った。

C. 研究結果

今回検証コホートにおいて検討した 7 か所の SNP サイトのなかでは、rs7084367 および rs2387658 の 2 か所において、各々 minor allele の homo の男性症例が、有意に若年で肝癌を発症していることがわかった。この SNP サイトはいずれも ADARB2 遺伝子近傍に位置していた。

なお、分担研究者の石橋らは治癒切除後の肝細胞癌症例について早期再発症例の解析を行い、脈管浸潤陽性、腫瘍径 50mm 以上、DCP500mAU/mL 以上、血小板数 10 万以下、プロトロンビン時間 85%未満を有意な危険因子とした。また、C 型肝炎ウイルス関連肝癌治療後のインターフェロン (IFN) 治療が肝癌再発に及ぼす影響を調査したが、IFN に対する反応による再発率の差は認められなかった。

分担研究者の正木は核酸アナログ製剤投与中の B 型慢性肝障害患者からの肝癌発生率を解析し、慢性肝炎からの年発癌率 1.8%、肝硬変からの年発癌率が 2.5%であることを示した。分担研究者の金井はソラフェニブを投与された進行肝癌患者 50 症例について解析し、副作用として手足皮膚反応は効率で出現するが減量・休薬により対処可能な症例が多いことを示した。一方、Grade 3 以上の肝障害を 9 例に認め、海外からの報告との差異が示唆された。

また、分担研究者の建石・吉田らは肝癌再発について、再発肝癌結節がそれ以前の CT で描出されているかどうかを検討し、72%の結節については肝癌としては非典型的な病変として存在していたことを示した。このような結節を肝癌として治療することが有益かどうか、今後検討されるべきであろう。

D. 考察

今回、ADARB2 という遺伝子近傍の SNP が男性 C 型肝細胞癌症例の若年発癌に関与することがわかった。この遺伝子は、細胞内の RNA 編集酵素をコードしている。同じファミリーに属する ADARB1 は、グルタミン酸受容体の mRNA を編集し、多様性を持たせるほか、hepatitis D virus の RNA に影響を与えることが報告されているが、ADARB2 遺伝子に関しては不明な点が多い。

推測としては、外来 RNA に対する自然免疫応

答として誘導された RNA 編集酵素が内因性の核酸に影響し、発癌に働く可能性が考えられ、今後の検討が待たれる。一方、臨床的には、この SNP が初発癌のみでなく、再発リスクの評価にも役立つかの検討が必要である。

E. 結論

男性 C 型肝細胞癌において若年発癌に関わる一塩基多型を見出した。

F. 健康危険情報

分担研究報告書参照

G. 研究発表

論文発表：巻末に掲載

学会発表：分担研究報告書参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：分担研究報告書参照

実用新案登録：分担研究報告書参照

その他：分担研究報告書参照

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究

肝細胞癌根治治療後の最適な経過観察の方法

研究分担者： 吉田晴彦 東京大学消化器内科 講師
椎名秀一朗 東京大学消化器内科 講師
建石良介 東京大学消化器内科 助教
浅岡良成 東京大学消化器内科 助教

研究要旨：本研究の目的は、肝癌根治治療後にダイナミック CT で経過観察をされていた患者を対象として、最終的に典型的肝細胞癌結節と診断された再発結節をレトロスペクティブに検討し、診断に至る一つ前のダイナミック CT で該当病変が検出可能であったかを検討することである。1999 年から 2004 年末までの間に東京大学消化器内科で肝細胞癌に対して、根治的ラジオ波焼灼療法を施行され、2005 年から 2006 年の 2 年間に初回の再発病変が指摘された患者を対象とした。113 例 177 結節の再発病変のうち、一つ前の CT でも結節が描出可能であったのは、128 結節(72%)であった。最も多かった画像パターンは、早期相 high density、後期相 isodensity (以下 H/I と記載)であり、72 結節(40.6%)であった。肝細胞癌根治治療後の経過観察に当たっては、ごく小さな非典型的画像所見にも注意を払う必要がある。

共同研究者：
三神信太郎 東京大学消化器内科

A. 研究目的

肝細胞癌は、切除あるいはアブレーションによって画像上根治的に治療がなされたと判定された場合でも、残肝再発率は、年率 20-30% にのぼる。長期生存のためには、初回治療を確実にを行うことと同様に、再発を早期に発見し、適切な再治療を行うことが重要である。現在、国内・国外のガイドラインでは、ダイナミック CT あるいはダイナミック MRI の早期相で腫瘍濃染をしめし、後期相で周囲肝実質と比較して低濃度に描出される結節を、治療を要する典型的な肝細胞癌としている。再発診断においても同様の基準が採用されているが、実際には典型的肝細胞癌と診断される前の段階で非典型的画像所見を示す結節が数多く存在することを経験する。

本研究の目的は、肝癌根治治療後にダイナミック CT で経過観察をされていた患者を対象として、最終的に典型的肝細胞癌結節と診断された再発結節をレトロスペクティブに検討し、診断に至る一つ前のダイナミック CT で該当病変が検出可能であったかを検討することである。

B. 研究方法

1999 年から 2004 年末までの間に東京大学消化器内科で肝細胞癌に対して、根治的ラジオ波焼灼療法を施行され、2005 年から 2006 年の 2 年間に初回の再発病変が指摘された患者を対象とした。患者の都合等で経過観察のためのダイナミック CT の撮像間隔が 6 ヶ月を超えた症例、再発診断がダイナミック MRI でなされた患者、ダイナミック CT のスライス幅が 2.5mm 間隔ではなく、5mm 間隔であった患者は除外した。

再発前 CT の早期相、後期相各々について、検出可能であった病変が high density, isodensity, low density のいずれかに描出されていたかを検討した。画像上の腫瘍径から腫

瘍の倍加時間を算出し、画像所見のパターンごとに倍加時間に差があるかを検討し、さらに予後との関係を Cox 比例ハザードモデルを用いて検討した。

C. 研究結果

基準を満たす対象症例は、113 例で年齢の中央値 69 歳、男性 72 人、女性 41 人であった。背景肝疾患は、B 型肝炎が 13 人、C 型肝炎が 90 人であった。再発診断時の肝機能は、Child A/B/C がそれぞれ 64 人、35 人、4 人であった。再発と診断された時の CT とその一つ前の CT の間隔は、中央値で 119 日であり、再発結節の長径は 1cm 以下が 32 人 (28%)、1.1-2.0cm が 76 人 (67%)、2.0cm 超が 15 人 (13%) であった。

113 人の患者に計 177 結節の再発病変が認められたが、そのうち一つ前の CT でも結節が描出可能であったのは、128 結節 (72%) であった。最も多かった画像パターンは、早期相 high density、後期相 isodensity (以下 H/I と記載) であり、72 結節 (40.6%) であった (表 1)。

表 1 再発前 CT の画像パターンと倍加時間

n (%)	前回 CT 上の長径 (cm)	再発診断時の長径 (cm)	腫瘍の倍加時間 (日)
H/H 2 (1.1)	0.7±0.1	1.1±0.3	57.9
H/I 72 (40.6)	0.7±0.4	1.0±0.4	83.2
H/L 31 (17.5)	1.1±0.6	1.3±0.7	110.0
I/I 49 (27.7)	-	1.0±0.6	83.6
I/L 11 (6.2)	0.7±0.8	1.3±0.7	72.7
L/I 2 (1.1)	0.8±0.1	1.2±0	51.4
L/L 10 (5.6)	1.1±0.5	1.7±0.6	90.9

H/H: 早期相、後期相ともに high density、H/L: 早期相 high density、後期相 low density など

画像パターン毎の腫瘍倍加時間に統計学的有意差を認めなかった。また、予後因子について検討したところ、画像パターン、倍加時間は有意な予後因子ではなかった。

D. 考察

発癌に至る前の B 型あるいは C 型肝炎の段階からダイナミック CT で経過観察されている例は例外的である一方、東大消化器内科では、800 人以上の肝癌患者が定期的なダイナミック CT 検査を受けており、肝に発生する結節の自然史を多数例で検討することが可能である。

レトロスペクティブに検討したところ、再発結節の約 70% がその約 4 ヶ月前の CT で検出可能であった。その中でも、早期相で濃染を示すが、後期相の washout を伴わない病変 (H/I) は、動脈-門脈シャント (AP シャント) と診断されることが多い。新出の H/I 病変は、検査間隔を短くするなど注意深く経過観察をする必要があると思われる。また、超音波検査で描出された場合は (AP シャントは超音波で描出されることはないため)、再発病変として早期治療に踏み切るのも是認されると思われる。

一方、早期濃染を伴わず、後期 washout のみを呈している病変は、以前より高分化肝癌ないし前癌病変であるとの報告が数多くなされてきた。これらは早期濃染を伴う典型的肝細胞癌よりも倍加時間が遅いとされてきたが、今回の検討ではその差は見いだせなかった。前段階で早期濃染を伴う病変も伴わない病変も、最終的には典型的肝細胞癌の画像所見を呈しており、倍加時間はその前段階の性質よりも最終的な形質を反映していたものと推察される。

本研究の開始に当たって、倍加時間がその後の予後を決定するという仮説を立てたが、証明されなかった。初回再発であり、予後不良が予測されるような急速な再発がほとんど含まれていないことなどがその理由としてあげられる。

現在のところ、根治的治療後の経過観察の方法やモダリティについて、国の内外のガイドラインでは、示されていない。東大消化器内科では、原則 4 ヶ月毎のダイナミック CT で計観察を行っているが、再発結節の 87% が 2cm 以下で診断されており、検査間隔はおおむね妥当であると思われる。

E. 結論

肝細胞癌根治治療後の経過観察に当たっては、ごく小さな非典型的画像所見にも注意を払う必要がある。また、4ヶ月間隔のダイナミックCTを用いたプロとコールは、再発病変を小さく検出する上では概ね妥当である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表：

1. Masuzaki R, Yamashiki N, Sugawara Y, Yoshida H, Tateishi R, Tamura S, Kaneko J, Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Omata M. Assessment of liver stiffness in patients after living donor liver transplantation by transient elastography. *Scand J Gastroenterol* 2009;44:1115-1120.
2. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, Imamura J, Goto T, Kanai F, Kato N, Ikeda H, Shiina S, Kawabe T, Omata M. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology* 2009;49:1954-1961.
3. Ohki T, Tateishi R, Shiina S, Goto E, Sato T, Nakagawa H, Masuzaki R, Goto T, Hamamura K, Kanai F, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Visceral fat accumulation is an independent risk factor for hepatocellular carcinoma recurrence after curative treatment in patients with suspected NASH. *Gut* 2009;58:839-844.
4. Ohki T, Tateishi R, Goto E, Sato T, Masuzaki R, Imamura J, Goto T, Kanai F, Kato N, Shiina S, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Influence of anti-HBc seropositivity on the risk of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients after adjusting for confounding factors. *J Viral Hepat* 2010 1;17:91-97.
5. Sato T, Tateishi R, Yoshida H, Ohki T, Masuzaki R, Imamura J, Goto T, Kanai F, Obi S, Kato N, Shiina S, Kawabe T, Omata M. Ultrasound surveillance for early detection of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Int* 2009;3:544-550.
6. Shiina S. Image-guided percutaneous ablation therapies for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2009;44:S122-S131.
7. Tateishi R, Shiina S, Ohki T, Sato T, Masuzaki R, Imamura J, Goto E, Goto T, Yoshida H, Obi S, Sato S, Kanai F, Yoshida H, Omata M. Treatment strategy for hepatocellular carcinoma: expanding the indications for radiofrequency ablation. *J Gastroenterol* 2009;44:S142-S146.
8. Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Matsui Y, Togashi J, Kokudo N, Omata M, Makuuchi M. Double-dose double-phase use of second generation hepatitis B virus vaccine in patients after living donor liver transplantation: Not an effective measure in transplant recipients. *Hepatol Res* 2009;39:7-13.
9. Asaoka Y, Kanai F, Ichimura T, Tateishi K, Tanaka Y, Ohta M, Seto M, Tada M, Ijichi H, Ikenoue T, Kawabe T, Isobe T, Yaffe MB, Omata M. Identification of a suppressive mechanism for Hedgehog signaling through a novel interaction of Gli with 14-3-3. *J Biol Chem* 2010;285:4185-4194.
10. Masuzaki R, Yoshida H, Tateishi R, Omata M. Staging systems: is there a surgical staging and a medical one? : Hepatologist's perspective. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2010;in press.

学会発表：

1. 建石良介、椎名秀一朗、小俣政男 肝細胞癌に対する経皮的局所療法への適応決定に ICG は必要か 第 95 回日本消化器病学会総会 平成 21 年 5 月 8 日 (札幌)
2. 新野徹、建石良介、椎名秀一朗、内野康志、榎奥健一郎、佐藤隆久、後藤絵理子、大木隆正、中川勇人、増崎亮太、近藤祐嗣、五藤忠、吉田晴彦、小俣政男 肝細胞癌 10 年生存例の検討 第 45 回日本肝癌研究会 平成 21 年 7 月 3 日 (福岡)
3. 内野康志、建石良介、椎名秀一朗、近藤祐嗣、新野徹、榎奥健一郎、後藤絵理子、大木隆正、増崎亮太、中川勇人、五藤忠、吉田晴彦、小俣政男 肝細胞癌の肝外転移後長期生存例の検討 第 45 回日本肝癌研究会 平成 21 年 7 月 4 日 (福岡)
4. 浅岡良成、田中康雄、中川勇人、増崎亮太、多田素久、建石良介、伊地知秀明、池上恒雄、前田慎、吉田晴彦、小俣政男 Taqman プローブを用いた LOH 解析による再発肝癌のクロナリティーに関する検討 第 17 回 日本消化器関連学会週間 平成 21 年 10 月 15 日 (京都)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特許取得：なし

実用新案登録：なし

その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究

肝細胞癌再発危険因子の検討

研究分担者：石橋大海 長崎医療センター 臨床研究センター長

研究要旨：肝細胞癌治癒切除術後 12 ヶ月未満再発の危険因子を検討した。対象とした症例は、治癒切除が施行された肝細胞癌症例のうち、術後 12 ヶ月以上経過観察した 105 例であり、術後 12 ヶ月未満再発群(A 群)と 12 ヶ月以上無再発群(B 群)の2群に分けて検討した。A 群の 4 年粗生存率は 42.9%と非常に低かったが、B 群では 91.9%であった。術後 12 ヶ月未満再発危険因子は、脈管浸潤陽性、最大腫瘍径 50mm 以上、DCP 500 mAU/ml 以上、血小板 10 万/ μ l 未満、PT 85%未満であった。これらの危険因子をそれぞれ1ポイントとして計算し、Score 0, 1, 2, および 3 以上の 4 群に分別したところ、Score 3 以上の症例が 12 ヶ月未満再発の高リスク群であった ($p < 0.001$)。4 年無再発生存率は、Score 0 63.9%、Score 1 57.3%、Score 2 31.8%、Score 3 以上 14%と層別化が可能であった。再発のメカニズムとして、残肝の肝障害および手術による免疫能低下の関与も想定された。

共同研究者

藤岡ひかる 長崎医療センター臨床研究センター
蒲原 行雄 長崎医療センター臨床研究センター
阿比留正剛 長崎医療センター臨床研究センター
八橋 弘 長崎医療センター臨床研究センター

A. 研究目的

肝細胞癌 (HCC) は、たとえ治癒切除であっても高率に再発する。なかでも術後 12 ヶ月未満に再発する症例 (超早期再発群)の予後は極めて悪い。これらの症例の臨床病理学的因子を検討することは、肝細胞癌治療成績向上に寄与するとともに、肝がんの再発防止メカニズムの解明に寄与するものである。

本研究の目的は、治癒切除後 12 ヶ月未満再発の危険因子を明らかにすることである。

B. 研究方法

2003 年 4 月～2008 年 7 月の間に長崎医療センターで肝切除が施行された治癒度 B 以上の HCC 症例で、術後 12 ヶ月以上経過観察した 105 例を対象とした。術後 12 ヶ月未満再発群 (A 群)と 12 ヶ月以上無再発群 (B 群)の2群に

分け、宿主、腫瘍、手術因子と再発との関連を検討した。

C. 研究結果

対象 105 例の 4 年粗生存率は 77.3%、4 年無再発生存率は 45.2%であった (図 1)。

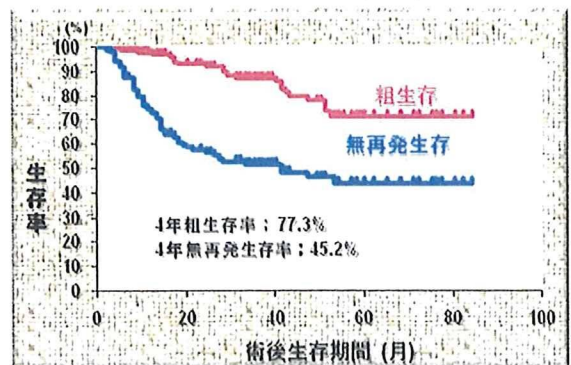


図 1. 術後粗生存率と無再発生存率 (n=105)

A、B 群別の検討では、A、B 群の内訳はそれぞれ 32 例、73 例であった。男性 68 例、女性 37 例、平均年齢 65 歳 (34-68 歳)。B 群の 4 年粗生存率は 91.9%であったが、A 群は 42.9% と有意に低かった (図 2)。

術後 12 ヶ月未満再発の危険因子は、単変量解

析で、脈管浸潤陽性、最大腫瘍径 50mm 以上、DCP 500 mAU/ml 以上、血小板 10 万/ μ l 未満、PT 85% 未満であった。手術因子には有

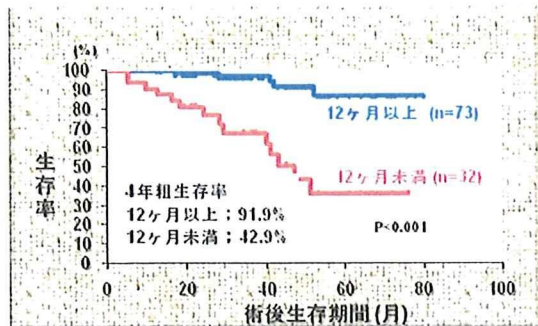


図2. 術後 12 ヶ月未満再発群(A 群)と 12 ヶ月以上無再発群(B 群)の2群別生存率

意な危険因子を認めなかった。危険因子をそれぞれ1ポイントとして計算し、Score0~Score3 以上の4群に分別し検討したところ、Score 3 以上の症例が、治癒切除後 12 ヶ月未満に再発する危険性が有意に高かった(p<0.001)。

Score 別生存率の検討では、4年無再発生存率で Score0 63.9%、Score1 57.3%、Score2 31.8%、Score3 以上 14%と、層別が可能であった(図3)。

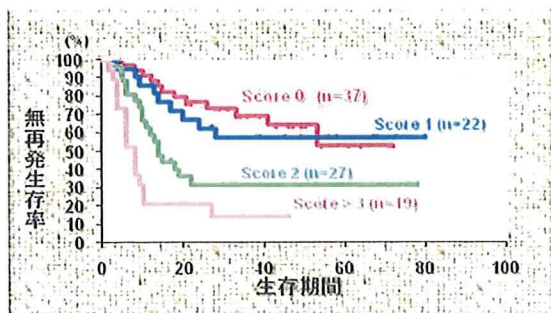


図3. 危険因子 Score 別無再発生存率

また、4年粗生存率では、Score0、Score1、Score2 はそれぞれ 91.4%、94.4%、77.0%であったのに対し、Score3 以上の症例の粗生存率は 37.7% と、他群に比し有意に不良であった(図4)。

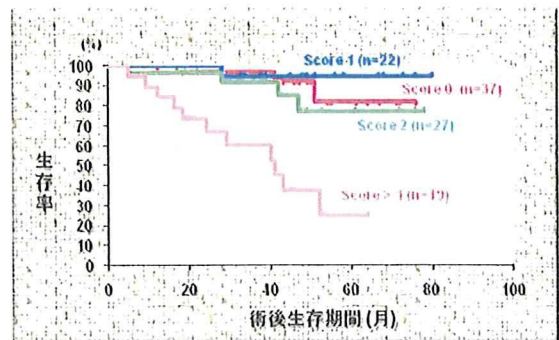


図4. 危険因子 Score 別粗生存率

D. 考察

HCC 治癒切除後 12 ヶ月未満再発危険因子は、脈管浸潤陽性、最大腫瘍径 50mm 以上、DCP 500mAU/ml 以上の腫瘍因子ばかりでなく、血小板 10 万/ μ l 未満、PT 85% 未満という生体側因子も重要な因子と考えられた。これらの因子を総合的に判断することで、超早期再発危険群の予知が可能であることが示唆された。

超早期再発の原因としては、①術中操作による癌細胞播種、②術前に既に存在する微小転移、③多中心性発癌などが考えられる。背景肝の障害度も重要な因子であることから、手術ストレスおよび肝障害がこれらを増幅する可能性も否定できない。すなわち、残肝の肝障害および手術による免疫能低下などにより術中散布された癌細胞が肝内に転移、増殖しやすくなる、あるいは微小転移巣が術後に増殖しやすくなる可能性が考えられる。さらには、手術により多中心性発癌のサイクルが早まったという可能性も否定できない。

再発防止に向けては、特に3因子以上の再発危険因子を持つ症例においては、術後可能な限り早期から抗癌剤療法および抗肝炎療法などを行うことが肝要である。また、既存の腫瘍マーカーや画像診断以外の微小癌巣の検索手段の開発が急務である。EOB-MRI はこれらの癌巣の発見、診断に役立つ可能性が期待される。

E. 結論

腫瘍因子のみならず背景肝の障害度も肝細胞癌治癒切除後 12 ヶ月未満再発の危険因子であり、

特に、脈管浸潤陽性、最大腫瘍径 50mm 以上、DCP 500 mAU/ml 以上、血小板 10 万/ μ l 未満、PT 85% 未満のうち3因子以上を持つ症例が有意な再発危険群である。再発のメカニズムとして、残肝の肝障害および手術による免疫能低下の関与も想定された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表：なし

学会発表：第 110 回日本外科学会総会
発表 (2009.4.4, 名古屋)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特許取得：なし

実用新案登録：なし

その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究

C型肝炎関連肝細胞癌治療後の再発防止としての抗ウイルス療法

研究分担者：石橋大海 長崎医療センター 臨床研究センター長

研究要旨： ウイルス肝炎における肝がんの再発防止対策として、肝炎ウイルスの駆除と肝炎の沈静化が考えられているが、インターフェロン（IFN）治療はC型肝炎ウイルスの駆除をもたらす、肝炎を沈静化する効果が確認されている。我々は、C型肝炎関連肝細胞癌治療後の再発防止におけるIFN治療の有効性を、九州大学病態修復内科学とその関連施設の多施設間共同研究として検討した。対象とした症例は80例、平均年齢65.2歳であった。PEG-IFN/RBV併用36例、IFN単独療法44例で、IFN治療のSVR率は、それぞれ27.3%と34.2%であった。また、1型・高ウイルス症例のSVR率はそれぞれ29.6%、6.3%であった。1型に対してとられた治療はPEG-IFN/RBV治療群、2型はIFN単独群が多かった。治療終了1年目、2年目、3年目の肝細胞癌再発率は、それぞれ18.8%、25.0%、25.0%と34.8%、34.8%、47.8%であった。1型・2型別、SVR・非SVR別の再発率の差はなかった。再発は治療終了1年後から2年後までは一時低下するが、3年目以降増加した。IFN治療により1年後から2年後までは再発は低下するが、今回の検討ではIFN治療のみによる再発抑制はできなかった。肝がんの再発防止にIFN治療の効果は大きいものと考えられるが、IFNによるものだけとは限らぬものがあることが示唆された。

共同研究者

野村秀幸 新小倉病院診療部長
下田慎治 九州大学病態修復内科学
福岡肝疾患治療研究会

共同研究として行い、ウイルス肝炎による肝がんの再発防止に検討を加えた。

B. 研究方法

1995年から2008年5月までに、九州大学病態修復内科学を中心とした関連病院が参加する福岡肝疾患治療研究会21施設による多施設共同研究として行った。研究会に登録されたC型肝炎関連肝細胞癌の治療後にインターフェロン（以下IFN）治療を導入した80例を対象として、肝癌再発の有無について検討した。登録条件は、年齢75歳以下で、肝切除術もしくはラジオ波焼灼術、経皮的エタノール注入療法、動脈塞栓術などにより肝癌治療を行い、CTおよびMRIにて完治が確認され、肝細胞癌治療後のIFN単独療法もしくは、ペグインターフェロン+リバビリン（PEG-IFN/RBV）併用療法を行った

A. 研究目的

C型肝炎関連肝細胞癌の診断と治療の進歩はめざましいものがあり、高頻度にみられる肝細胞癌に対し早期治療を行うことが可能となったが、治療後の高い再発率は依然として問題である。IFN療法による肝炎沈静化は肝癌根治後の再発予防に有用とされ、ペグ化製剤やリバビリン併用療法の導入でその意義は一層高まった可能性がある。我々は、肝細胞癌治療後の再発防止におけるインターフェロン（IFN）治療の有効性を、九州大学病態修復内科学とその関連施設の多施設間

症例とした。

C. 研究結果

登録症例 80 例中 60 例が男性であり、平均年齢は、65.2 歳であった。セロタイプ 1 型は 54 例、2 型は 21 例であり、5 例は不明であった。治療前の検査データ（平均値）は、ALT: 74.8 IU/L、Alb: 3.8 g/dL、Hb: 13.6 g/dL、血小板数: 11.8 万 / μ L、AFP: 29.9 ng/mL、PIVKA II: 19.2 mAU/mL であった。肝癌治療の方法（RFA/TAE/PEIT/手術/MCN）は、それぞれ（47/11/14/20/1）であった。肝癌治療回数（初回/複数回/不明）は、それぞれ（43/33/4）であった。腫瘍個数は単発 45、多発 35 であった。PEG-IFN/RBV 群は 1 型が多く（88.9%）、IFN 単独群は 2 型が多かった（45.9%）。IFN 治療効果別の再燃率、生存率は Kaplan-Meier 法（ログランク・テスト）を用いて解析した。

IFN 治療成績：Genotype 別に著効率（SVR）が判定できた 71 例の内、PEG-IFN/RBV 併用群は 33 例、IFN 単独群は 38 例であった。併用群全体の SVR 率は 27.3% であり、うち 1 型・高ウイルス症例の SVR 率は 29.6% であった。単独群全体の SVR 率は 34.2% であったが、1 型・高ウイルス症例の SVR 率は 6.3% と低かった。1 型・高ウイルス症例以外の SVR 率は 58.8% と高かった。

1 型・高ウイルス症例の経時的 HCV-RNA 陰性化率は、併用群では EVR 率は 38.5% であり、終了時には 51.9% で、SVR 率は 29.6% であった。単独群では終了時 13.3% で、SVR 率は 6.3% であった。1 型・高ウイルス症例以外では、RVR 率は併用群 50.0%、単独群 72.7% であり、EVR 率はそれぞれ 83.3% と 84.6% であった。終了時は 80.0% と 82.4% であった。

肝細胞癌初回再発率の推移：併用群および単独群の治療終了 1 年後、2 年後、3 年後の再発率はそれぞれ 18.0%、25.0%、25.0% と 34.8%、34.8%、47.8% であった。治療終了後 1 年後から 2 年後にかけて新しい再発はみられず、その後再発が増加した。Genotype 1 型、2 型別での再発率では差はみられなかった（ $p=0.698$ ）。SVR、

non-SVR 別での再発率でも差はみられなかった（ $p=0.301$ ）。

D. 考察

今回の検討では、1 型・高ウイルス症例に対しては PEG-IFN/RBV 治療が多く、その SVR 率は 29.6% であった。一方、IFN 単独療法では、SVR 率は 6.3% と低かった。その他の症例（1 型・高ウイルス症例以外）では、IFN 単独治療が多く、SVR 率は 58.8% であった。C 型慢性肝炎への IFN 療法に比べ SVR 率が低かったが、対象症例に肝硬変症例や肝障害の進展症例が多く含まれていること、平均年齢が 65.2 歳と高齢者が多かったことを考慮すると、治療成績は良好であると思われた。1 型・高ウイルス症例への PEG-IFN/RBV 併用群では、EVR は 38.5% で、終了時は 51.9% であった。約 20% の再燃がみられ、SVR 率は 29.6% であった。IFN 単独群では EVR はみられなかった。その他の症例では、EVR は PEG-IFN/RBV 併用群、IFN 単独群いずれの群でも、80% 以上であり良好であった。いずれにしても HCV-RNA の持続陰性化においては、肝癌治療後の IFN 治療は有意義な治療方法であった。Mazzaferro らの報告では、肝癌手術後に 1 年間の IFN α による治療を行うと、治療後 2 年後以降に IFN 非治療群に比べ有意に再発を抑制できたと述べている。

今回の我々の検討においても、治療終了 1 年後から 2 年後までは再発が減少し抑制された。SVR 症例と非 SVR 症例との間では、有意差はみられなかった。有意差がみられなかった理由としては、今回の検討では、多施設間の検討である、肝癌治療方法が RFA、TACE、手術など種々であった等によるのか、肝癌治療後 1 年以内の再発率が高いので、有意差がみられなかったのではと思われる。また、肝硬変患者へ IFN 単独長期治療を行うと肝癌の再発が抑制されるので、今後肝癌治療後の患者へも再発抑制のために IFN 長期治療が必要となってくるかも知れない。

E. 結論

今回の検討では、1型・高ウイルス症例へはPEG-IFN/RBV併用治療が多く、その治療効果もSVR率が約30%であった。1型・高ウイルス症例以外の症例へは、IFN単独治療が多く約60%のSVR率であった。SVR群の初回再発率の抑制効果はみられなかったが、治療終了1年後から2年後までは再発が減少し抑制された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Nomura H, Miyagi Y, Tanimoto H, Ishibashi H. Impact of early viral kinetics on pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin therapy in Japanese patients with genotype 2 chronic hepatitis C. *J Viral Hepatitis*. 16: 346-351, 2009.
- 2) Nomura H, Miyagi Y, Tanimoto H, Higashi M, Ishibashi H. Effective prediction of outcome of combination therapy with pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin in Japanese patients with genotype-1 chronic hepatitis C using early viral kinetics and new indices. *J Gastroenterol*. 44: 338-345, 2009.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特許取得： なし

実用新案登録： なし

その他： なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

ウイルス肝炎による肝がんの再発防止メカニズムの解明に関する研究
B型肝炎ウイルス関連肝発癌に対する経口抗ウイルス剤の効果に関する
臨床的検討

研究分担者：正木尚彦 国立国際医療センター戸山病院第二消化器科 医長

研究要旨：2001年3月以降、当科において核酸アナログ製剤による抗ウイルス療法を導入したB型肝炎ウイルス（HBV）関連慢性肝疾患患者63例を対象として、肝発癌予防の観点からみた臨床的検討を行なった。ラミブジン（LMV）を継続的に投与した30例（慢性肝炎23例、肝硬変7例）において、慢性肝炎では平均観察期間4.8年で2例（年発癌率：1.8%/年）、肝硬変では平均観察期間5.7年で1例（年発癌率：2.5%/年）に原発性肝癌（HCC）の発症を認めた。63例中4例でHBs抗原が陰性化し、うち3例ではHBs抗体陽転化を認めた（すべてLMV投与例）。しかし、うち1例（ゲノタイプH）では、HBsセロコンバージョン後にリンパ節転移を伴うHCCの出現を認め、手術材料を用いた検討から、癌部、非癌部組織中にゲノタイプHのHBV遺伝子の残存を確認しえた。一方、2006年10月以降エンテカビルを投与した30例（うち4例ではHCC根治後に投与開始）からは現時点ではHCCの新規発生を認めていない。今回の検討から、核酸アナログ製剤（LMV）の使用は文献的に報告されている慢性肝炎からの年間発癌率（2.5%/年）を若干低下させることが示唆されたが、HBsセロコンバージョンはHBVの完全な駆除を必ずしも意味しておらず、かつ、HCCのリスクを依然有していることが明らかとなった。

A. 研究目的

2000年以降、ラミブジン（LMV）、アデホビル（ADF）、エンテカビル（ETV）などの核酸アナログ製剤がB型慢性肝疾患に対して臨床応用され、肝機能改善作用、肝発癌一次予防作用などにおける有用性が報告されている。特に、肝発癌一次予防作用に関しては、2008年にSungらがメタアナリシスによる検討結果を報告し、LMVは肝発癌を抑制し（オッズ比0.25）、その効果は肝硬変、YMDD変異、HBe抗原などの有無にかかわらず一律に認められるとした。分担研究者の所属施設でも、LMVを継続的に使用している症例が現在30例（平均投与期間5年）存在することから、今回肝発癌予防の観点からみた臨床的検討を行なった。

B. 研究方法

2001年以降、当科において核酸アナログ製剤による抗ウイルス療法を導入した63症例のうち、LMV、ETVを継続的に投与した各30例を対象とし、HCC出現状況を中心に後ろ向き調査を行なった。後ろ向き調査に際しては、患者が特定されないように臨床情報を匿名化し、また、手術材料を用いてウイルス学的検討を行なった1例に関しては文書による同意取得を担当医が手術前に行なった。

C. 研究結果

1) LMV投与例：男性23例、女性7例；慢性肝炎23例（男性17例、女性6例；投与開始時年齢 56 ± 11 歳）、肝硬変7例（男性6例、女性1例；投与開始時年齢 52 ± 7 歳）であった。慢

性肝炎では平均観察期間 4.8 年で 2 例 (年発癌率: 1.8%/年)、肝硬変では平均観察期間 5.7 年で 1 例 (年発癌率: 2.5%/年) に原発性肝癌 (HCC) の発症を認めた (図 1)。1 例が開始 2 ヶ月目に間質性肺炎の増悪で他病死していた。2) ETV 投与例: 2006 年 10 月以降の ETV 投与例 30 例については、うち 4 例が HCC 根治後の開始例であったが、全症例において 2010 年 1 月では新規の HCC 発生を認めていない。尚、2 例が死亡していたが、1 例は開始 9 ヶ月目に脳出血で、もう 1 例は開始 8 ヶ月目に骨髄腫に併発した肺炎で死亡しており、いずれも他病死であった。

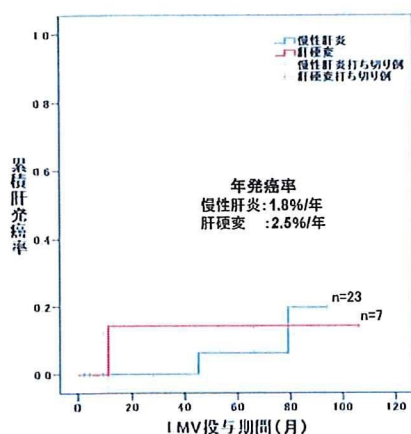


図 1 LMV 投与例における累積肝発癌

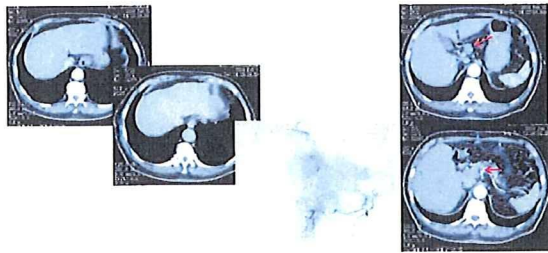
3) 核酸アナログ製剤による HBs 抗原消失:

63 例中 4 例で HBs 抗原が陰性化し、うち 3 例では HBs 抗体陽転化 (HBs セロコンバージョン) を認めた (すべて LMV 投与例)。

表 1 LMV投与後にHBs抗原が陰性化した4症例

Pt.	Age	Sex	診断	LMV開始時 eAg eAb/ HBV DNA	投与 期間 (月)	LMV終了時 sAg sAb	備考
1. Y.M.	69	M	CH	201.0/0.0/7.2 LGE	92	-/+ (893.8)	HCC出現
2. T.M.	59	M	CH ML	0.3/94.1/>7.6 logcopy	9	-/+ (184.9)	
3. K.N.	41	M	CH ML	0.3/92.6/5.9 logcopy	28	-/-	ETVへ 切り替え
4. Y.T.	57	M	CH MM	0.3/69.2/<2.6 logcopy	28	-/+ (5.8)	

表 1 に詳細を示したが、うち 3 例は血液疾患合併例で、化学療法の前から LMV を開始した症例である。これら 3 例は開始時すでに HBe セロコンバージョンしていた。残りの 1 例はゲノタイプ H として当科でフォローしていた男性患者で、69 歳時に ALT 値 1,000 IU/L 以上の急性増悪を認めたため、LMV 投与を開始。その 2 ヶ月後には HBe セロコンバージョンを認めた。開始 14 ヶ月目に休薬としたが、ウイルス量の上昇傾向を認めたため再開し、71 歳時からは隔日投与とした。一時 L180M 変異出現 (YMDD 野生株) により軽度の HBV DNA 上昇を認めたが、自然経過で陰性化し、開始 6 年 10 ヶ月目 (2008 年 4 月) には HBs 抗原 <0.05 IU/mL と陰性化し、さらに、その 4 ヶ月後には HBs 抗体 20.6 mIU/mL となり、HBs セロコンバージョンを獲得した。年 1 回は画像検査を施行していたが、2009 年 1 月腹部 US にて肝 S4 に低エコー SOL を認め、AFP、DCP は正常値であったが、造影 CT、MRI 所見から HCC と診断し、2009 年 2 月に肝左葉切除術を施行した (図 2)。手術所見では肝 S4 に 5.5×3.3×3.0cm 大の多結節癒合型、膨張性発育を示すが (図 3)、明らかな被膜形成・隔壁形成を有さない単発病変を認めた。組織学的には、核小体明瞭で核縁不整が目立つ水疱状核と比較的豊富な好酸性胞体を持つ癌細胞が増殖し、核の大小不同、多形性が目立つことから低分化型 HCC と診断した (図 4: eg>ig, fc-, sf-, trabecular- compact type, pleomorphic, s0, n1[3/7], vp0, vv0, va0, b0, p0, sm-[0.4cm], im-)。非癌部は CH (F2) であった。手術材料を用いた検討から、肝組織中に HBV DNA が残存し、分子系統樹解析 (S 領域) の結果ゲノタイプ H であることが確認された (図 5)。



2009/2/24 肝左葉切除術施行
 ・Poorly differentiated hepatocellular carcinoma
 (S4, 5.5x3.3x3.0cm)
 ・sg-, ig-, fc-, sf-, trabecular-compact type, pleomorphic,
 s0, n1 (3/7), vp0, vv0, va0, b0, sm-(0.4cm), im-, f2

図2 HBs セロコンバージョン後に肝発癌をきたした症例の画像検査所見



図3 切除肝の断面 (肉眼所見)

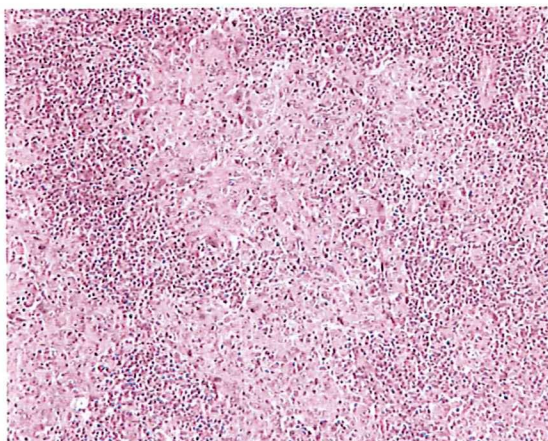
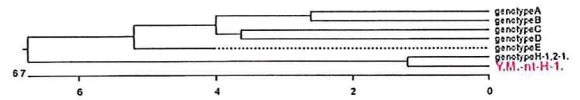


図4 癌部の光顕所見:炎症細胞浸潤が目立ち、核異型が強い低分化型肝細胞癌に合致。

S領域 tree



Tumorのシーケンスは波形の乱れがあった為Treeには加えていないが、genotype Hであり、読める範囲においては配列は同じであった

図5 非癌部組織中にゲノタイプHのHBV残存が確認された。

D. 考察

台湾で行なわれた REVEAL study により、HBV 関連慢性肝疾患の肝硬変、肝癌への進展はベースの血清中 HBV DNA 量に正比例していることが証明されたことから、核酸アナログ製剤による HBV DNA 量のコントロールは、特に肝発癌予防の観点からきわめて重要であると考えられている。当科における検討では、文献的に報告されている慢性肝炎からの年間発癌率 (2.5%/年) を若干低下させることが示唆されたが、HBs セロコンバージョンは HBV の完全な駆除を必ずしも意味しておらず、かつ、HCC のリスクを依然有していることも明らかとなった。尚、現時点で HBV 関連慢性肝疾患治療のファーストラインである ETV については、投与期間が最長でも 3 年程度であることから、今後の経過観察が必要であると考えている。

E. 結論

核酸アナログ製剤は HBV 関連慢性肝疾患からの肝発癌を抑制する可能性はあるものの、C 型慢性肝炎に対するインターフェロン治療とは異なり、仮に HBs セロコンバージョンまで獲得し得たとしても、完全な HBV ゲノムの駆除はきわめて困難と考えられる。従って、常に肝発癌のリスクを念頭においた長期間のフォローが重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表：正木尚彦、熊澤慶吾、枝元良広、柳瀬幹雄、今村雅俊、田中靖人. ラミブジン長期投与により HBs セロコンバージョンを獲得したにもかかわらず、肝細胞癌を発症した B 型慢性肝炎ゲノタイプ H の 1 例. 第 46 回日本肝臓学会総会（発表予定）、山形、5 月、2010 年.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- ・ 特許取得：なし
- ・ 実用新案登録：なし
- ・ その他：なし