

chronic hepatitis. Hepatology Research 39:
432-438, 2009.

- 4) Uemura A, Takehara T, Miyagi T, Suzuki T,
Tatsumi T, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu
N, Hayashi N. Natural Killer cell is a major
producer of interferon γ that is critical for the
IL-12-induced antitumor effect in mice
Cancer Immunology, Immunotherapy (in
press 2009).

F. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

肝機能の低下した進行肝細胞がん患者における全身化学療法の安全性と有効性に関する研究

古瀬 純司 杏林大学医学部内科学腫瘍内科 教授

研究要旨：進行肝細胞がんに対する全身化学療法として、マルチキナーゼ阻害剤ソラフェニブとプラセボによる第Ⅲ相試験が実施され、ソラフェニブ治療群で生存期間の改善が確認された。現在、ソラフェニブは進行肝細胞がんに対する標準治療薬として汎用されている。しかしこれまでの比較試験では、対象はChild-Pugh Aの肝機能良好な患者に限られており、肝機能不良例での安全性や有効性は確立していない。一般臨床では化学療法の適応となる中等度肝機能が低下したChild-Pugh Bの患者も少なくない。本研究では肝機能低下例を含めた進行肝細胞がん患者を対象として、安全性と有効性を検証する前向き第Ⅱ相試験を実施する。

A. 研究目的

進行肝細胞がんに対する全身化学療法として、従来の抗がん剤では有用性が確認された標準治療は確立していなかった。最近、マルチキナーゼ阻害剤ソラフェニブとプラセボによる第Ⅲ相試験が製薬会社主導による治験として実施され、ソラフェニブ治療群で生存期間の改善が確認されたことから、ソラフェニブは進行肝細胞がんに対する標準治療薬として位置づけられた。その結果に基づき、わが国でも2009年5月保険適応が承認され、一般臨床でも用いられてきている。しかしこれまでの製薬会社主導によるランダム化比較試験では対象はChild-Pugh Aの肝機能の良好な患者に限られており、肝機能低下例での安全性や有効性は確立していない。一般臨床では化学療法の適

応となる中等度肝機能が低下した患者も少なくないことから、そのような患者においてもソラフェニブの効果が期待されている。本研究では肝機能低下例におけるソラフェニブの安全性と有効性について明らかにするため、前向き第Ⅱ相試験を実施する。

B. 研究方法

ソラフェニブによる単アーム前向き第Ⅱ相試験を実施するため、以下の研究計画を立案した。対象は肝切除や肝移植、局所壊死療法、肝動脈化学塞栓療法など局所治療により根治が期待できない進行肝細胞がん患者とした。

1) 主な適格規準

(1) 組織学的もしくは臨床的に肝細胞がん（但し混合型を除く）であることが確

認されている。

- (2) 肝切除術や肝移植術の適応がなく、局所壊死療法(エタノール注入療法やラジオ波焼灼術など) および肝動脈化学塞栓療法により根治が見込めない。
 - (3) 年齢は20才以上79歳以下。
 - (4) 測定可能病変を有する。
 - (5) ECOG Performance Status は0-2である。
 - (6) 主要臓器の機能が保持されている。
 - (7) 肝機能がChild-Pugh scoreで5-8点。
 - (8) 前治療から少なくとも4週間以上経過している。
 - (9) 全身化学療法の治療歴を有さない。
 - (10) 患者本人から文書による同意が得られている。
 - (11) 少なくとも8週以上の生存が期待できる。
- 2) 除外規準
- (1) 治療に反応しない中等量または大量の腹水、胸水を有する。
 - (2) 重篤な合併症を有する。
 - (3) 妊婦・授乳中および妊娠の可能性または意思がある症例、又は挙児を希望する。
 - (4) 経口摂取が困難である。
 - (5) 強力なCYP3A4を誘導する薬剤を内服している。(ワーファリンなどのクマリン誘導体の内服は慎重投与の上許容される)
 - (6) その他、医師が本試験を安全に実施するのに不相当と判断する。

3) 治療方法

使用薬剤：ソラフェニブ

ソラフェニブは、1回投与量400mg、1日2回連日経口投与する。原則として、がんの増悪を認めず、忍容性がある限り継続する。6-8週ごとにCTまたはMRIにて評価を行う。

4) 評価項目2-1-1 有効性評価項目

- (1) 主要評価項目：無増悪期間
- (2) 副次的評価項目：奏効割合、全生存期間
- (3) 安全性評価項目
有害事象の種類、発現頻度およびその重症度
- (4) バイオマーカーの検討
末梢血、腫瘍組織の解析

(倫理面への配慮)

本研究における治療に際しては、患者には文書を用いて十分な説明を行い、患者自身による同意を本人より文書で取得した。データの取り扱いに関して、直接個人を識別できる情報を用いず、データベースのセキュリティを確保し、個人情報保護を遵守する。

C. 研究結果

今年度は研究体制の確立と臨床試験のプロトコールの完成と登録開始を目指した。現在、20施設が参加を予定している。各々の倫理委員会での承認が得られた施設から、症例登録の予定である。

D. 考察

肝細胞がん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。全身化学療法では生存期間の延長が確認された標準治療は確立していなかった。しかし、肝外転移例や肝動脈塞栓化学療法が無効な例など化学療法が適応となる症例も少なくないことから、有効な治療法の開発が望まれていた。

近年、分子標的薬の開発が盛んに行われ、肝細胞がんでも多くの臨床試験が行われるようになってきていた。その中で、RAF キナーゼ、VEGFR-1-3、PDGFR- β などを標的とするマルチキナーゼ阻害薬ソラフェニブを用いたプラセボコントロールによるランダム化比較試験 (SHARP 試験)の結果、ソラフェニブ治療群はプラセボ群に比べ有意な生存期間の延長が確認された。わが国では肝細胞がんに対する第 I 相試験が行われ、SHARP 試験と同じ推奨用量が示されている。これらの成績を基に、2009 年 5 月、わが国でもソラフェニブは肝細胞がんに適応が承認されている。現在、ソラフェニブによる化学療法は肝外転移を有する例や局所治療が適応にならない進行例に対する標準治療として位置づけられ、汎用されている。しかし、これまで、Child-Pugh A の肝機能良好例のみを対象としてその有用性が検証されており、Child-Pugh B および C の肝機能低下例での安全性と有効性は確立していない。一般臨床では約半数の進行肝細胞がん患者は Child-Pugh B あるいは C であり、これらの患者におけるソラフェニブの安全性と有効性を明らかにすることが求められている。Child-Pugh C の高度肝機能不良例は化学療法の適応はないことから、本研究では Child-Pugh C とそれにほぼ近い肝機能である Child-Pugh B (score 9 点)の患者は除

いて臨床試験を計画した。また、Child-Pugh A と B の患者を同時に登録および治療を行い、安全性と有効性を比較検討することで Child-Pugh B の患者における適応の妥当性を検証できると考え、本研究では Child-Pugh A の患者も対象とした。登録期間を 1 年間とし、主要評価項目である無増悪期間をこれまでの臨床試験の結果から 5.0-5.5 ヶ月と設定すると Child-Pugh A の患者を 40 例集積すれば、検出率は 90%以上となる。その間、Child-Pugh B の患者がどの位登録されるかをみることで、対象となる患者集団も推定できると考える。以上から、本臨床試験は登録期間 1 年、追跡期間 1 年の 2 年間で研究期間と設定した。

E. 結論

製薬会社主導によるソラフェニブの大規模な臨床試験では Child-Pugh B の肝機能低下例での安全性と有効性は検証されていない。今後本研究により、Child-Pugh B 肝細胞がん患者でのソラフェニブの有効性と安全性を明らかにすることで、一般臨床での適正使用の確立に大きな貢献ができるものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 古瀬純司：肝癌－基礎・臨床研究のアップデート－. IX. 肝癌の治療. 腫瘍因子からみた治療戦略. 多発肝細胞癌. 日本臨床 67 supp3:421-425, 2009.

- 2) 古瀬純司、鈴木英一郎、長島文夫：肝細胞癌に対する抗癌剤治療の進歩。Cancer Frontier11(1):161-169, 2009.
- 3) 古瀬純司、鈴木英一郎、長島文夫：肝細胞癌薬物治療の最前線。進行肝細胞癌に対する分子標的薬の臨床試験。The Liver Cancer Journal1(2):33-40, 2009.
- 4) 古瀬純司、鈴木英一郎、長島文夫：特集 消化器疾患に対する分子標的治療の最前線。肝・胆道・膵癌治療の最前線—エルロチニブ, ソラフェニブ。G. I. Research 17(5):419-424, 2009.
- 5) 鈴木英一郎、長島文夫、古瀬純司：特集 肝・胆道・膵がん治療の動向—最新のエビデンス。肝がん 全身化学療法の動向。腫瘍内科 4(4):328-335, 2009.
- 6) 古瀬純司、鈴木英一郎、長島文夫：癌治療の現状と展望1—標準治療の連携と分子標的薬剤のバイオマーカー。肝臓癌—ソラフェニブ導入と肝炎ウイルスキャリアの管理。カレントセラピー 27(11):56-60, 2009.
- 7) 古瀬純司、鈴木英一郎、長島文夫：連載 薬の知識。ソラフェニブ (ネクサバル®)。臨床消化器内科 25(1):129-133, 2009.
- 8) 古瀬純司：原発性肝がん (肝細胞がん)。What's New in Oncology がん治療エッセンシャルガイド。佐藤隆美, 藤原康弘, 古瀬純司, 大山優編。東京, 南山堂, 2009。p 276-285.
- 9) 古瀬純司：肝・胆・膵。原発性肝がん。入門腫瘍内科学。『入門腫瘍内科学』編集委員会編。東京, 篠原出版新社, 2009。p 155-158.
- 10) 鈴木英一郎、古瀬純司、長島文夫：肝細胞がん, 胆道がん, 膵がん。がん化学療法・分子標的治療 update。西條長宏, 西尾和人編。東京, 中外医学社, 2009。p 656-666.
- 11) 古瀬純司：原発性肝がん。新臨床腫瘍学改訂第2版。日本臨床腫瘍学会編。東京, 南江堂, 2009。p 518-527.
2. 学会発表
- 1) 仲地耕平、古瀬純司、池田公史、光永修一、鈴木英一郎、清水怜、吹野晃一：ソラフェニブ治療開始後早期に見られる膵酵素上昇：肝細胞癌患者を対象とした国内第 I 相試験結果より。第 45 回日本肝癌研究会, 福岡市, 2009 年 7 月 4 日
- 2) 池田公史、古瀬純司、仲地耕平、光永修一、鈴木英一郎、清水怜、吹野晃一：ソラフェニブに関連する高血圧：肝細胞癌患者を対象とした国内第 I 相試験結果より。第 45 回日本肝癌研究会, 福岡市, 2009 年 7 月 4 日
- 3) 清水怜、古瀬純司、池田公史、仲地耕平、光永修一、小島康志、大野泉、高橋秀明、吹野晃一：ソラフェニブに伴う手足皮膚反応：肝細胞癌を対象とした国内第 I 相臨床試験結果より。第 47 回日本癌治療学会学術集会, 横浜市, 2009 年 10 月 22 日
- 4) 古瀬純司：肝細胞癌治療におけるソラフェニブの役割とその適正使用について。第 47 回日本癌治療学会学術集会, 横浜市, 2009 年 10 月 23 日

5) 古瀬純司：日本から発信するエビデンス～TS-1 トライアル. 第 47 回日本癌治療学会学術集会, 横浜市, 2009 年 10 月 24 日

6) Furuse J:Future perspective; Sorafenib and beyond. Sorafenib. Working Report-Hepatic Cancer. The 20th Asia Pacific Cancer Conference, Tsukuba, 13 November, 2009.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

「肝硬変患者の免疫機構に關与する遊離アミノ酸の研究」に關する研究

上野 義之 東北大学大学院医学系研究科 消化器病態学 准教授

研究要旨：肝硬変患者では各種免疫細胞の機能が低下する。我々は肝硬変で出現するアミノ酸不均衡が樹状細胞機能を低下させることを近年報告した。しかし、個々のアミノ酸の免疫細胞に与える影響・メカニズムは依然として不明な点が多い。肝硬変患者の免疫細胞機能を改善または抑制する作用を有するアミノ酸を同定しその作用・メカニズムを研究する。

A. 研究目的

肝硬変患者の血漿中アミノ酸濃度を基準に20種類のアミノ酸の個々の免疫細胞に与える影響を網羅的に解析し、免疫細胞機能を改善・抑制するアミノ酸を同定する。

B. 研究方法

肝硬変患者の血漿中アミノ酸濃度に一致した無血清培地を作成し（GMP グレード）、これに個々のアミノ酸を添加し、免疫細胞（T-cell, B-cell, Monocyte, DC etc）の機能を解析する。更に肝硬変患者（n=84）の各種遊離アミノ酸と血液・生化学 DATA を比較統計した。

（倫理面への配慮）

患者からの検体採取は倫理委員会の許可を得て行う。

C. 研究結果

20種類のアミノ酸の中でL-cystineが非代償性肝硬変患者の単球数に正の相関があった。また、in vitroにおいてもL-cystineには濃度依存性に単球からのTNF- α の産生増加効果を認めた。

D. 考察

これまでにcystine/cysteine redoxにより単球や樹状細胞のproliferationやcytokine productionに影響を与えるとの報告がなされている。非代償性肝硬変では血漿中L-cystine濃度が高くなることで免疫細胞に影響を与えている可能性が考えられる。

E. 結論

L-cystineは非代償性肝硬変患者の単球の細胞数・サイトカイン産生に影響を与える可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kakazu E, Ueno Y, Kondo Y, Fukushima K, Shiina M, Inoue J, Tamai K, Ninomiya M, Shimosegawa T. Branched chain amino acids enhance the maturation and function of myeloid dendritic cells ex vivo in patients with advanced cirrhosis. *Hepatology* 2009;50:1936-1945.

その他和文3篇

2. 学会発表

- 1) 第44回日本肝臓学会総会・神戸、非代償性肝硬変のアミノ酸インバランスが樹状細胞成熟化に及ぼす影響について
- 2) APASL・香港、An imbalance in plasma amino acids of advanced cirrhotic patients impairs the maturation of dendritic cells via mTOR/S6K signaling pathway.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

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

肝細胞癌における腫瘍抗原特異的細胞性免疫応答

広石 和正 昭和大学医学部消化器内科 准教授

研究要旨：肝癌患者を対象に各種癌抗原に対する細胞性免疫応答の解析を行い、臨床への応用を検討した。肝癌局所療法で癌を完治できたと考えられた患者を対象に、治療前後で、MAGE-1抗原、Glypican-3抗原、NY-ESO-1抗原に対する肝癌患者の末梢CD8陽性細胞のIFN- γ 産生能をELISpot法で解析した。80%の症例で癌抗原特異的なELISpot陽性の免疫応答が認められた。多変量解析の結果、治療後の癌抗原に対する免疫応答だけが無再発期間と関連が認められた。肝癌治療後に肝癌特異的免疫を誘導することができる、ペプチドワクチン療法などのような治療法の開発が、肝癌再発防止に有用であることが示唆された。

A. 研究目的

局所療法や集学的治療が発展し、肝癌のコントロールは以前と比較しある程度の進歩が遂げられたがまだ治療困難な症例も多く、副作用が少なくかつ効果的な新規治療の開発が急務である。そこで、免疫療法が期待されている。これまでの報告で、肝癌にはGlypican-3、NY-ESO-1、MAGE-1といった癌抗原の発現が報告されているが、それらの癌抗原に対して強い免疫応答を惹起することができれば、癌の縮小が期待できる。本研究では、肝癌患者を対象に各種癌抗原に対する細胞性免疫応答の解析を行い、臨床への応用を目的とする。

B. 研究方法

MAGE-1 抗原、Glypican-3 抗原、NY-ESO-

1 抗原、それぞれの全長を網羅し、10 アミノ酸ずつオーバーラップする 20 アミノ酸のペプチドを作成した。肝癌患者を対象に、肝癌患者末梢リンパ球から CD8 陽性細胞を分離した後、 1×10^5 cells/well ずつを 96 穴プレートに入れ、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で合成ペプチドと単球を加えた。48 時間培養した後、ELISpot 法にて IFN- γ 産生細胞を算定した。

（倫理面への配慮）

昭和大学倫理委員会に研究実施申請書を提出し、倫理規定と照合された結果、研究実施の承認を得た。肝癌患者に研究内容を説明し、研究への参加同意書を書面で取得した。

C. 研究結果

- 80%の症例で癌抗原特異的な ELISpot 陽性 (SFC \geq 10) の免疫応答が認められた。
- 単変量解析により、血小板数、プロトンポンプ時間、治療後の癌特異的 CD8 陽性細胞の免疫応答が、無再発期間に関連していた。
- 多変量解析の結果、治療後の癌抗原に対する免疫応答だけが無再発期間と関連することがわかった。
- 治療前の SFC 数や肝癌の大きさ、個数などと無再発期間に関連は認められなかった。

D. 考察

肝癌局所治療後に、癌抗原に対し強く免疫応答が認められる症例では、再発までの期間が長いことがわかり、肝癌治療後に肝癌特異的免疫を誘導する、ペプチドワクチン免疫療法などのような治療を行うことが、肝癌再発防止に有効であることが期待された。今後は症例数を増やし、肝癌の大きさや個数、治療法などと、腫瘍特異的免疫応答との関連性を検討する必要があると考えられた。

E. 結論

肝癌局所治療後の癌抗原に対する免疫応答は、肝癌再発を抑制することが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inokuchi M, Ito T, Uchikoshi M, Shimozuma Y, Morikawa K, Nozawa H, Shimazaki T, Hiroishi K, Miyakawa Y, Imawari M. Infection of B cells with hepatitis C virus for the development of lymphoproliferative disorders in patients with chronic hepatitis C. J Med Virol. 2009;81(4):619-27.
- 2) Hiroishi K, Eguchi J, Baba T, Shimazaki T, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Doi H, Uozumi S, Omori R, Matsumura T, Yanagawa T, Ito T, Imawari M. Strong CD8(+) T-cell responses against tumor-associated antigens prolong the recurrence-free interval after tumor treatment in patients with hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol. 2010 in press.

2. 学会発表

- 1) 土肥弘義、広石和正、江口潤一、石井成明、平出綾子、坂木理、井廻道夫. インターロイキン-4 と CpG を用いた消化器癌に対する免疫療法の検討. 第 95 回日本消化器病学会総会
- 2) 広石和正、江口潤一、石井成明、平出綾子、土肥弘義、井廻道夫. C 型肝炎における CTL エピトープの同定と CTL 応答の解析. 第 45 回日本肝臓学会総会
- 3) 広石和正、土肥弘義、江口潤一、石井成明、平出綾子、坂木理、大森里紗、伊藤敬義、馬場俊之、井廻道夫. 肝細胞癌患者の腫瘍抗原特異的細胞性免疫応答と治療後肝癌再発に関する検討. 第 13 回日本肝臓学会大会.
- 4) Hiroishi K., Doi, H., Baba, T., Eguchi, J., Ishii, S., Hiraide, A., Sakaki, M., Uchikoshi,

M., Shimozuma, Y., Ohmori, R., Ito, T., Imawari, M. Tumor associated antigen-specific CD8+ T-cell responses would suppress recurrence of hepatocellular carcinoma. The Liver Meeting 2009, The 60th Annual Meeting of The American Association for The Study of Liver Diseases.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

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

インターフェロンによる血管新生抑制を介した抗腫瘍効果発現の基礎的検討

西口 修平 兵庫医科大学内科学 肝胆膵科 教授

研究要旨：インターフェロン（IFN） α/β は抗ウイルス作用に加えて抗腫瘍効果を有しており、われわれは肝癌局所治療後のIFN治療が、有意に再発を抑制することを報告している。今回IFNの肝癌に対する抗腫瘍効果として推定されている2つの機序、すなわち癌細胞の増殖抑制作用と血管新生抑制作用について検討した。その結果、IFNは血管内皮細胞の増殖抑制効果とアポトーシス誘導能を有し、更に肝癌細胞に対しても増殖抑制効果とアポトーシスの誘導能を有することが判明した。したがってIFNは肝癌に対しても血管新生抑制作用と癌細胞の増殖抑制作用との両者を介して抗腫瘍作用を発揮すると考えられた。

またヒト肝癌細胞株Hep3Bを培養し、マウスインターフェロン（mIFN）とヒトインターフェロン（hIFN）による細胞増殖抑制効果を*in vitro*で比較し、更にHep3B細胞をSCIDマウス皮下に移植することで形成される腫瘍に対してもmIFNとhIFNを投与し、*in vivo*における腫瘍増殖抑制効果を比較した。Hep3Bに対する*in vitro*での増殖抑制効果はhIFNの方が高いにもかかわらず、*in vivo*における抗腫瘍効果では間質細胞をターゲットとするmIFNの方が高い有効性を示した。したがってIFNの抗腫瘍効果の機序として、直接的な肝癌細胞の増殖抑制作用のみならず、血管新生抑制を含む間質への作用がより重要であることが示唆された。

A. 研究目的

癌組織の形成・増大には癌細胞の増殖のみならず周囲組織との相互作用が必要であり、特に血管新生の誘導は重要と考えられている。インターフェロン（IFN） α/β は抗ウイルス作用に加えて抗腫瘍効果を有しており、肝細胞癌においても抗癌剤との併用や根治治療後の再発予防における有効性が報告されている。

IFNの抗腫瘍効果の機序には癌細胞の直接的な増殖抑制作用と血管新生抑制を介する間接的な作用が考えられているが、そのいずれが主体を占めているのかは不明である。今回われわれはIFNの肝癌に対する抗腫瘍効果に関して上記2つの機序の抑制作用について、IFNの種特異性を利用して評価する実験系を考案した。

B. 研究方法

IFN の血管新生抑制作用に関し、コラーゲンゲルを用いた tube formation assay により IFN の血管新生抑制効果を検討し、更に IFN 投与による血管内皮細胞 (HUVEC) の増殖とアポトーシスへの影響を検討した。またヒト肝癌細胞株 Hep3B を培養し、マウスインターフェロン (mIFN) とヒトインターフェロン (hIFN) による細胞増殖抑制効果を *in vitro* で比較した。Hep3B 細胞を SCID マウス皮下に移植することで形成される腫瘍に対しても mIFN と hIFN を投与し、*in vivo* における腫瘍増殖抑制効果を比較した。本研究は兵庫医科大学において動物実験計画の審査を受け、承認を得た上で行われた。

C. 研究結果

コラーゲンゲルを用いた tube formation assay により IFN の *in vitro* での血管新生抑制作用が確認された (図 1)。

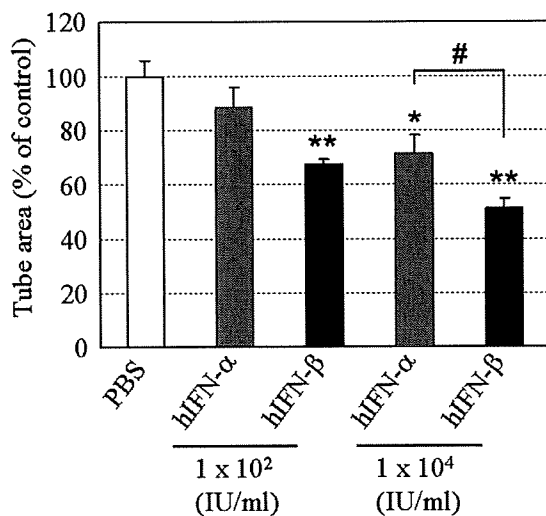


図 1 IFN による tube formation 抑制効果

また IFN の HUVEC に対する *in vitro* での増殖抑制効果、およびアポトーシス誘導効果が認められた (図 2 および図 3)。すなわち、IFN による血管新生抑制の機序として血管内皮細胞の増殖抑制とアポトーシス誘導があることが確認された。

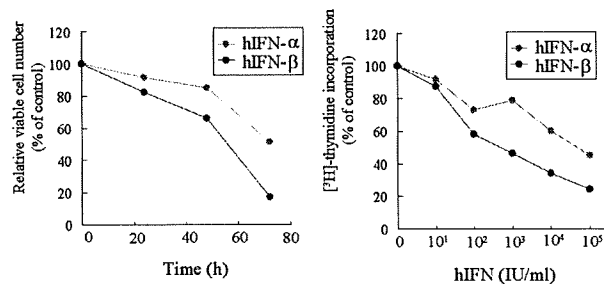


図 2 IFN による HUVEC の増殖抑制効果

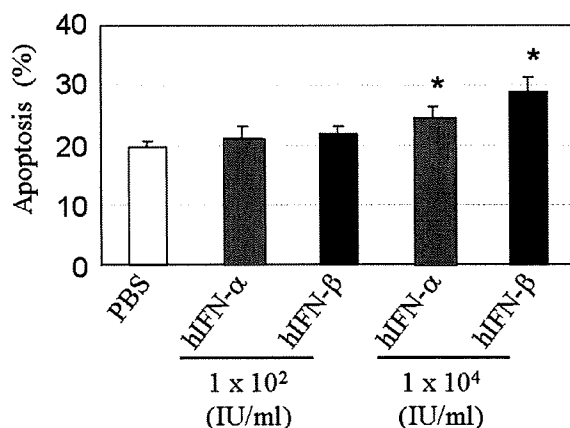


図 3 IFN による HUVEC のアポトーシス誘導

一方肝癌細胞株 Hep3B を用いた検討から、IFN の肝癌細胞に対する *in vitro* での増殖抑制効果、およびアポトーシス誘導効果も認められた。またこの Hep3B 細胞に対する効果は mIFN よりも hIFN で強く認められた (図 4 および図 5)。

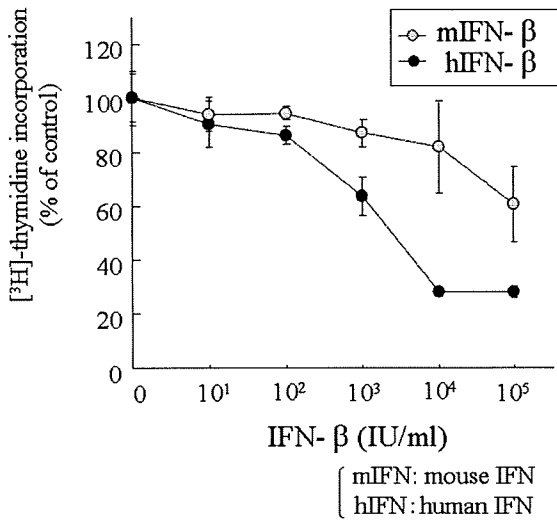


図4 IFNによるHep3B細胞の増殖抑制効果

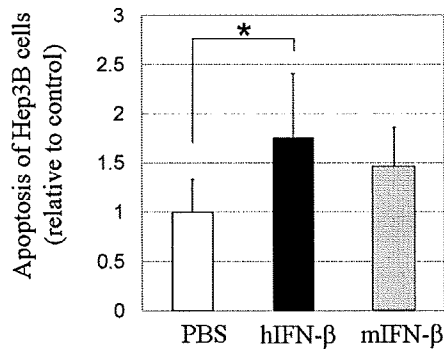


図5 IFNによるHep3B細胞のアポトーシス誘導効果

以上の *in vitro* での検討結果から肝癌に対するIFNの抗腫瘍効果の機序として、癌細胞の増殖抑制作用と血管新生抑制作用の両者が存在すると考えられた。

次いでHep3B細胞をSCIDマウス皮下に移植することで腫瘍を形成させ、IFNの*in vivo*における作用を検討した。すると*in vivo*での抗腫瘍効果についてはhIFNより

もmIFNの方がより強い結果であった(図6)。また組織学的検討では、mIFN投与ではhIFN投与に比較して広範な壊死が認められ(図7)、また新生血管形成もmIFNによって強く抑制されていた(図8)。

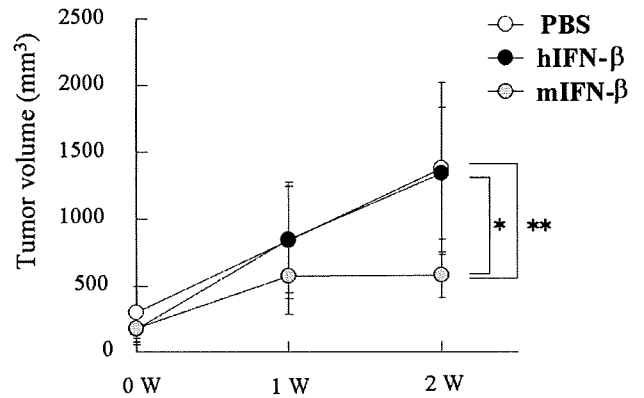


図6 IFNによる*in vivo*での腫瘍増殖抑制効果

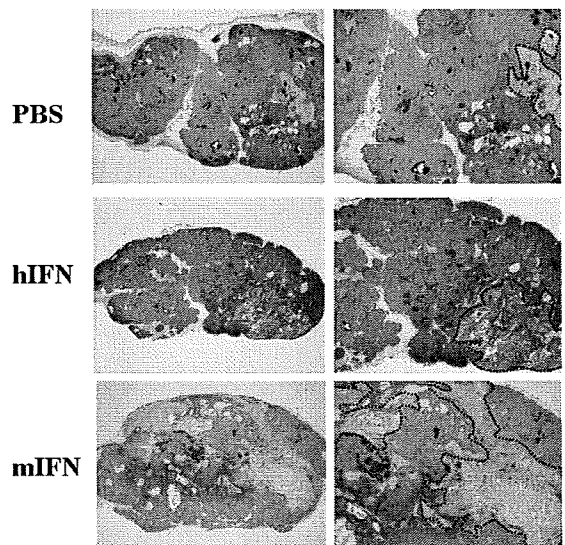


図7 IFNによる腫瘍壊死効果
(点線で囲った部位が壊死部分)

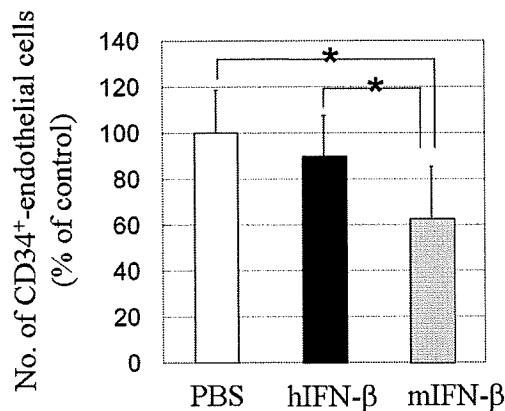


図8 IFNによる *in vivo* 血管新生抑制効果

D. 考察

今回の検討で、肝癌に対するIFNの抗腫瘍効果の機序には、血管新生抑制作用と癌細胞の増殖抑制作用との両者が存在すると考えられた。

IFNによる血管新生抑制の機序に血管内皮細胞の増殖抑制があり、アポトーシス誘導もその一因と考えられた(図1-3)。一方IFNは肝癌細胞に対しても増殖抑制効果とアポトーシスの誘導能を示した(図4および5)。

今回の検討で特徴的なのは *in vitro* と *in vivo* でのIFNの効果の違いである。すなわち *in vitro* でのヒト肝癌細胞に対する増殖抑制効果はhIFNがmIFNよりも強い結果であった(図4)。しかしながら逆に *in vivo* での抗腫瘍効果については、mIFNがhIFNよりも強いという結果が得られた

(図6-8)。今回の実験でSCIDマウスに形成された腫瘍は、ヒト由来の癌細胞とマウス由来の間質細胞から構成される腫瘍である。インターフェロンの作用における種特異性の高さを勘案すれば、hIFNは主に

肝癌細胞に、mIFNは主に新生血管などの間質組織の細胞に対して作用するものと考えられる。したがってIFNの抗腫瘍効果の機序として、直接的な肝癌細胞の増殖抑制作用のみならず、血管新生抑制を含む間質への作用がより重要であることが示唆された。

以上の結果から、肝癌に対するIFNの抗腫瘍効果における血管新生抑制の重要性が示されたため、今後はIFNと分子標的薬(血管新生阻害剤)の併用による抗腫瘍効果増強の可能性等の検討を進める。また以上の検討を通じてより優れた治療の開発を目指す。

E. 結論

肝癌に対するIFNの抗腫瘍効果の機序を検討した。IFNは血管内皮細胞の増殖抑制効果とアポトーシス誘導能を示し、更に肝癌細胞に対しても同様に増殖抑制効果とアポトーシスの誘導能を示した。したがってIFNは、血管新生抑制作用と癌細胞の増殖抑制作用との両者を介して抗腫瘍作用を発揮すると考えられた。

一方ヒト由来肝癌細胞Hep3Bに対する *in vitro* での増殖抑制効果はhIFNの方が高いにもかかわらず、*in vivo* における抗腫瘍効果では間質をターゲットとするmIFNの方が高い有効性を示した。したがってIFNの抗腫瘍効果の機序として、直接的な肝癌細胞の増殖抑制作用のみならず、血管新生抑制を含む間質への作用がより重要であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 榎本平之, 辻村亨, 今西宏安, 齋藤正紀, 康典利, 田中弘教, 岩田恵典, 山田大輔, 石井昭生, 坂井良行, 吉川昌平, 会澤信弘, 山本晃久, 下村壯治, 中村秀次, 飯島尋子, 西口修平. インターフェロンによる肝癌増殖抑制機序の検討. 肝臓 50 巻 Suppl. 1: A304, 2009.

2) Enomoto H, Tsujimura T, Nakamura H, Imanishi H, Saito M, Yamamoto T, Iwata Y, Tanaka H, Shimomura S, Iijima H, Nishiguchi S. Analyses of the antiangiogenetic and antitumor effects of interferons. Hepatology 50, Supple 4: 914A, 2009.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

- 1) 原発性肝癌における腫瘍細胞の分子生物学的特徴に関する研究
- 2) 進行肝細胞癌に対するソラフェニブと低用量シスプラチン／フルオロウラシル肝動注療法の併用化学療法の第 I / II 相臨床試験

工藤 正俊 近畿大学医学部 消化器内科 教授

1) 原発性肝癌における腫瘍細胞の分子生物学的特徴に関する研究

A. 研究目的

原発性肝癌の分子生物学的特徴を明らかにし、診断法の開発および治療に有用な遺伝子を特定する。

B. 研究方法（倫理面への配慮）

原発性肝癌症例を対象とする。ただし CGH 解析は組織学的に原発性肝癌と診断された症例に限る。本研究に用いる DNA からの遺伝子変異検出は癌細胞の体細胞性変異を検出するものであり、正常細胞のゲノム解析は行わない。よって、3省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の対象ではないが、その趣旨を踏まえた対応を行う。

C. 研究結果

2009年5月より2009年10月までにソラフェニブを投与した患者は36例である。解析については60例に達した段階で施行する予定である。

D. 考察

本研究は、原発性肝癌に対し腫瘍組織と末梢血を用いて、腫瘍細胞の遺伝子変異プロファイルと臨床像の対比を行う探索的研究である。本研究の意義は、腫瘍細胞の遺伝子変異プロファイルから、より正確な新しい予後予測モデルを構築することにある。本研究で得られる結果の妥当性については本研究内で統計的検証を行う。その結果が有用であると判断されれば、臨床的妥当性を検証するため別プロトコールで検証研究を計画している。これらの成果が得られれば、早期診断法の開発や個々の患者により投与計画を最適化できる「個別化治療」の貴重な基礎情報を提供すると考えられる。

E. 結論

現在のところ、分子標的薬の効果予測、副作用予測に関する解明はなされておらず、分子生物学的アプローチを進めてゆく必要がある。

F. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

2) 進行肝細胞癌に対するソラフェニブと低用量シスプラチン／フルオロウラシル肝動注療法の併用化学療法の第Ⅰ／Ⅱ相臨床試験

A. 研究目的

外科的切除、局所壊死療法および肝動脈化学塞栓療法が適応とならない進行肝細胞癌患者に対して、ソラフェニブと低用量シスプラチン／フルオロウラシル肝動注療法の併用化学療法の安全性を評価し、推奨投与量を決定する。(第Ⅰ相) 続いて推奨投与量での有効性を確認する。(第Ⅱ相)

B. 研究方法 (倫理面への配慮)

文書による同意を得られた進行肝細胞癌患者に対して本併用療法を施行する。

C. 研究結果

現在、第Ⅰ相部分が開始されたところである。結果については症例の集積を待つ必要がある。

D. 考察

本邦において肝動注療法は、切除不能、局所壊死療法および肝動脈化学塞栓療法が適応とならない進行肝細胞癌患者に対して選択される療法である。しかしながら、奏効率が50%を超える報告があるものの、いずれも少数例を対象とした、あるいは対

照を伴わない研究であるため、科学的根拠を持って推奨されている薬剤の組み合わせがないとされているのが実情である。一方、ソラフェニブは根治不能の進行肝細胞癌患者に対して唯一、臨床試験にて全生存率を延長させた薬剤であり、実臨床での有用性が期待されている。以上のことより、ソラフェニブと低用量シスプラチン／フルオロウラシル肝動注療法を併用することにより、再発あるいは再増悪が抑制できるとすれば、臨床的に大きな意味がある。また、この併用療法群と、ソラフェニブ単独療法群の比較により、併用療法の有用性および安全性を明確にすることは、将来の患者に対する大きなベネフィットをもたらすと期待される。

E. 結論

ソラフェニブ単独での効果については第Ⅲ相試験において証明されているが、他療法との併用について、効果安全性は確立されていない。従来の治療方法との併用について研究を進める必要性が高い。

F. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

ClinicalTrials.gov Identifier
: NCT00933816

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kudo M: Viral hepatitis A to E: An update in 2010. *Intervirology* 2010;53: 5-9.
- 2) Chung H, Ueda T, Kudo M: Changing trends in hepatitis C infection over the past 50 years in Japan. *Intervirology* 2010;53: 39-43.
- 3) Ueda T, Chung H, Kudo M, Ishikawa E, Hayaishi S, Tatsumi C, Inoue T, Yada N, Hagiwara S, Minami Y, Ueshima K: Prolonged PEG-IFN and RBV is effective in patients with HCV genotype 1 and high viral load who achieved virological response later than 24 weeks. *Intervirology* 2010;53: 55-59.
- 4) Yada N, Kudo M, Chung H, Hayaishi S, Takita M, Ueda T, Tatsumi C, Hatanaka K, Kitai S, Ishikawa E, Inoue T, Hagiwara S, Ueshima K: PEG-IFN α /RBV combination therapy for chronic hepatitis C patients increases serum ferritin level and improves sustained viral response rate. *Intervirology* 2010;53: 60-65.
- 5) Tatsumi C, Kudo M, Ueshima K, Kitai S, Takahashi S, Inoue T, Minami Y, Chung H, Maekawa K, Fujimoto K, Kato M, Tonomura A, Mitake T: Non-invasive evaluation of hepatic fibrosis for type C chronic hepatitis. *Intervirology* 2010;53: 76-81.
- 6) Okusaka T, Kasugai H, Shioyama Y, Yanaka K, Kudo M, Saisho H, Osaki Y, Sata M, Fujiyama S, Kumada T, Sato K, Yamamoto S, Hinotsu S, Sato T: Transarterial infusion chemotherapy alone versus transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma: Results of a multicenter randomized phase III trial. *J Hepatol* 2009 (in press).
- 7) Chung H, Watanabe T, Kudo M, Maenishi O, Watatsuki Y, Chiba T: Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis. *Liver Int* 2009 (in press)
- 8) Tanimoto A, Lee JM, Kudo M, Murakami T, Huppertz A, Grazioli L: Consensus report of the 2nd international forum for liver MRI. *Eur Radiol* 2009 (in press)
- 9) Nakaoka R, Das K, Kudo M, Chung H, Inoue T: Percutaneous aspiration and ethanolamine oleate sclerotherapy for sustained resolution of symptomatic polycystic liver disease: an initial experience. *AJR Am J Roentgenol* 2009 (in press)
- 10) Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen PJ, Lin SM, Yoshida H, Kudo M, Lee JM, Choi BI, Poon RTP, Shiina S, Cheng AL, Jia JD, Obi S, Han KH, Jafri W, Chow P, Lim SG, Chawla YK, Budihusodo U, Gani RA, Lesmana CR, Putranto TA, Liaw YF, Sarin SK: Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int* 2009 (in press)
- 11) Sasase N, Kim SR, Kudo M, Kim KI, Taniguchi M, Imoto S, Mita K, Hayashi Y, Shouji I, El-Shamy A, Hotta H: Relation between treatment outcome and early viral dynamics of viral mutation in PEG-IFN/RBV combination therapy for chronic hepatitis

- with high viral loads of serum HCV RNA genotype 1b. *Intervirology* 2009 (in press)
- 12) Kim SR, Imoto S, Kudo M, Mita K, Taniguchi M, Kim KI, Sasase N, Shouji I, Ngano M, El-Shamy A, Hotta H, Nagai T, Nagata Y, Hayashi Y: Double filtration plasmapheresis plus interferon treatment for non-sustained virological responders with genotype 1b and high viral load to previous peginterferon plus ribavirin combination therapy: focus on early viral dynamics. *Intervirology* 2009 (in press)
- 13) Kudo M: Management of hepatocellular carcinoma: From the prevention to molecular targeted therapy. *J Gastroen Hepatol* 2009 (in press)
- 14) Kudo M, Chung H: Single HCC between 2-5cm: the grey zone: Hepatologist's perspective. *J Hepato-Biliary-Pan* 2009 (in press)
- 15) Kim SR, Imoto S, Nakajima T, Ando K, Mita K, Fukuda K, Nishikawa R, Koma Y, Matsuoka T, Kudo M, Hayashi Y: Utility of Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI in diagnosing small hepatocellular carcinoma. *Case Report Gastroenterology* 2009 (in press)
- 16) Takayasu K, Arii S, Ikai I, Kudo M, Omata M, Matsuyama Y, Kojiro M, Makuuchi M, for the Liver Cancer Study Group of Japan: Overall survival after transarterial lipiodol infusion chemotherapy with and without embolization for unresectable hepatocellular carcinoma. A propensity score analysis. *AJR Am J Roentgenol* 2009 (in press)
- 17) Minami Y, Kudo M, Hatanaka K, Inoue T, Hagiwara S, Chung H, Ueshima K: Radiofrequency ablation guided by contrast harmonic sonography using perfluorocarbon-filled microbubbles (Sonazoid) for occult hepatic malignancies resolved poorly on B-mode sonography. *J Gastroenterol* 2009 (in press)
- 18) Kim SR, Taniguchi M, Sasase N, Kim KI, Ninomiya T, Imoto S, Ando K, Mita K, Fuki S, Fukuda K, Kudo M, Sakamoto H, Inui K, Hayashi Y: Multicentric occurrence of HCC detected 3-4 yerars after AFP-L3 positivity. *Intern Med* 2009 (in press)
- 19) Kim SR, Imoto S, Nakajima T, Ando K, Mita K, Fukuda K, Taniguchi M, Sasase N, Matsuoka T, Kawada N, Kudo M, Hayashi Y: Two cases of non-alcoholic steatohepatitis developing from simple fatty liver. *J Hepatol* 2009 (in press)
- 20) Kudo M: Multistep human hepatocarcinogenesis: correlation of imaging with pathology. *J Gastroenterol* 2009;44: 112-118.
- 21) Kim SR, Imoto S, Mita K, Taniguchi M, Sasase N, Muramatsu A, Kudo M, Kitai S, El-Shamy A, Hotta H, Hayashi Y: Pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C with high viral load of serum hepatitis C virus RNA, genotype 1b, discontinued on attaining sustained virological response at week 16 after onset of acute pancreatitis. *Digestion* 2009;79: 36-39.