

- 22) Kim SR, Imoto S, Nakajima T, Ando K, Mita K, Taniguchi M, Sasase N, Matsuoka T, Kudo M, Hayashi Y: Well-differentiated hepatocellular carcinoma smaller than 15mm in diameter totally eradicated with percutaneous ethanol injection instead of radiofrequency ablation. *Hepatol Int* 2009;3: 411-415.
- 23) Inoue T, Kudo M, Maenishi O, Kumata M, Nakashima O, Kojiro M, Maekawa K: Value of liver parenchymal phase contrast-enhanced sonography to diagnose the premalignant and borderline lesions and overt hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2009;192: 698-705.
- 24) Kojiro M, Wanless I, Alves V, Badve S, Balabaud C, Bedosa P, Bathal P, Bioulac-Sage P, Brunt E, Burt A, Craig J, Dhillon A, Ferrell L, Geller S, Goodman Z, Gouw ASH, Guido M, Guindi M, Hytiroglou P, Kage M, Kondo F, Kudo M, Lauwers G, Nakano M, Paradis V, Park YN, Quaglia A, Roncalli M, Roskams T, Ruebner B, Sakamoto M, Saxena R, Theise N, Thung S, Tiniakos D for the ICGHN Group: Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: A report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology* 2009;49: 658-664.
- 25) Kim SR, Imoto S, Nakajima T, Ando K, Mita K, Fukuda K, Nishikawa R, Koma Y, Matsuoka T, Kudo M, Hayashi Y: Scirrhous hepatocellular carcinoma displaying atypical findings on imaging studies. *World J Gastroenterol* 2009;15: 2296-2299.
- 26) Wada M, Marusawa H, Yamada R, Nasu A, Osaki Y, Kudo M, Nabeshima M, Fukuda Y, Chiba T, Matsuda F: Association of genetic polymorphisms with interferon-induced haematologic adverse effects in chronic hepatitis C patients. *J Viral Hepati* 2009;16: 388-396.
- 27) Hasegawa K, Makuuchi M, Kudo M, Okazaki M for the Liver Cancer Study Group of Japan: Hepatectomy versus radiofrequency ablation for early hepatocellular carcinoma: Reply. *J Hepatol* 2009;50: 1052-1053.

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

非環式レチノイドを用いた併用肝発癌化学予防に関する研究

森脇 久隆 岐阜大学消化器病態学 教授

研究要旨：レチノイド核内受容体RXRを分子標的とする非環式レチノイドと、作用機序（標的分子）の異なる薬剤を併用することで、相乗的に肝発癌と肝癌細胞の増殖を抑制することは、臨床的に有益な肝発癌予防法(薬)の開発に繋がる。

A. 研究目的

レチノイド核内受容体RXR $\alpha$ のリン酸化修飾による機能不全は、肝発癌に深く関与している。本研究は、RXR $\alpha$ を標的分子とする非環式レチノイドをkey compoundとした併用肝発癌化学予防の有効性を検討し、より効果的な肝発癌予防法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

ヒト肝癌細胞を、非環式レチノイドと抗HER2抗体のTrastuzumabや、HDAC阻害剤のバルプロ酸で併用処理し、細胞増殖の抑制効果について検討した。

C. 研究結果

これらの薬剤の併用によって、HER2、RXR $\alpha$ 、Erk、Akt、Stat3蛋白のリン酸化が抑制され、アポトーシスが誘導されることで、肝癌細胞の増殖は相乗的に抑制された。

D. 考察

Trastuzumabは、RXR $\alpha$ をリン酸化する受容体型チロシンキナーゼとMAPKの活性を阻害することで、またバルプロ酸は、ヒストン修飾を制御するとともに、Aktの活性化を阻害することでアポトーシスを誘導し、肝癌細胞の増殖を相乗的に抑制したものと考えられた。

E. 結論

RXR $\alpha$ をリン酸化する受容体型チロシンキナーゼの活性を阻害する薬剤や、ヒストン修飾を制御する薬剤と非環式レチノイドとの併用療法は、有効な肝発癌化学予防法になる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Tatebe H, Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, Yasuda Y, Tsurumi H, Moriwaki H. Acyclic retinoid synergises with valproic acid to inhibit growth in human

hepatocellular carcinoma cells. Cancer Lett  
2009;285:210-217.

2. 学会発表

- 1) 第 100 回アメリカ癌学会(AACR)、第 68 回  
日本癌学会学術総会、JDDW2009、等

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

肝細胞癌の糖鎖変化に関する研究

山本 和秀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨：発癌により糖鎖に変化が生じることは知られている。特に肝細胞癌では癌の悪性度や生命予後などに関連しているフコシル化AFP（AFPL3）が臨床応用されているが、それ以外の糖鎖変化についての検討はほとんどなされていない。本研究において、肝細胞癌患者の血清中のフコシル化蛋白を含む糖鎖パターンの変化を明らかとし、肝癌の診断や治療効果予測・早期判定への有用性について検討を行った。糖鎖マーカーとして欧米で報告されているGP73は、日本人の肝細胞癌患者ではダイナミックレンジが狭く診断的能力は低いと考えられた。またフコシル化ヘモペキシンは、非癌患者に比較し肝細胞癌患者血清中で上昇していることを確認しているが、癌の進行度に左右されない、硬変肝のいわゆる高癌化状態を現す分子である可能性を示唆する所見を得た。網羅的糖鎖解析においては、癌患者で特有の糖鎖パターンの存在を確認した。これらの結果を統合することにより、糖鎖変化は肝発癌や治療効果判定の指標としてのみならず、癌の高リスクグループを同定するために活用できると考えられた。

A. 研究目的

抗癌剤治療の投与前治療効果予測は、現状では困難である。また、治療効果判定もRECISTに代表される治療前後の画像診断に基づくものがGold standardとされている。ソラフェニブは、肝細胞癌の化学療法剤として延命効果が認められている唯一の経口分子標的薬であるが、その多くは腫瘍の縮小ではなく、増大阻止によりもたらされていると考えられ、更にその治療効果予測や判定が難しくなっている。従ってこの問題を解決する治療開始早期に効果判定可能なsurrogateマーカーの開発が急務であ

る。われわれは、現段階で解析が進められているSNPsに代表される遺伝子レベルの変化や、蛋白の発現レベルの変化ではなく、さらにその後の蛋白修飾に関する糖鎖に注目した。

糖鎖は環境変化に敏感であり、シスプラチンなどの薬剤耐獲得時に特有のパターンを示すことが知られている。肝細胞癌ではフコシル化AFPが癌の悪性度の指標となり、予後規定因子であることが判明している。従って他の様々な糖鎖も肝癌の発生や進展、薬剤耐性にかかわっていることが想定され、今後重要な指標となる可能性が高く、本研

究を企画・遂行した。

## B. 研究方法

入院時に採取した保存血清を用い、癌化による変化を確認した。

GP73 の検出はウエスタンブロッティング、フコシル化ヘモペキシンは一時抗体のレクチン反応性を過ヨウ素酸処理を行いブロックし、さらに2次抗体との異好抗体によるインターラクシオンをブロックしたELISAで測定した。

網羅的糖鎖解析には Sweet blot 法を用い測定した。

### (倫理面への配慮)

本糖鎖研究は、IRB の承認済みであり、対象患者より全て文章で同意を得て遂行している。連結可能匿名化を行い、発表時に個人情報漏洩しないよう配慮している。

## C. 研究結果

### —腫瘍マーカーとして—

GP73 については、肝癌患者のみならず非癌患者でも少なからず検出され、ダイナミックレンジも小さいため、癌と非癌との鑑別能は低かった。

フコシレーティッドヘモペキシンは非癌患者に比べ肝癌患者では明らかに高値であった。腫瘍因子との比較では AFPL3 と相関が認められたが、AFP や DCP とは相関を認めず、独立したマーカーと考えられた。しかし、腫瘍径との相関は認めなかったため、血液中での増加は、癌細胞での産生更新によるものではなく、担癌患者の非癌部での

発現亢進が影響したためである可能性が示唆された。現在フコシル化ヘモペキシシン産生細胞を同定中である。

また網羅的糖鎖解析においては、肝細胞癌での特徴的ピークの存在を確認した。

### —肝癌化学療法効果予測因子として—

現在倫理委員会の承認を得て肝癌化学療法前後での血清を収集中である。

## D. 考察

悪性度の高い進行肝癌において、フコシル化 AFP が血中で検出できることはよく知られた事実である。しかし、フコシル化を修飾する酵素である FUT8 は肝硬変でも活性化されており、なぜ肝硬変ではなく肝癌患者の血清中でのみ検出されるか、またなぜ生物学的悪性度を反映しているのかについては、いまだ不明である。多くの糖鎖がそれぞれどのような生理学的意義を持っているかについてはほとんど判明していないが、細胞の癌化、薬剤耐性獲得時に変化していることを利用し、癌の診断や治療のマーカーとして応用可能であると考えられる。

従来癌マーカーといわれていたものの中には、フコシル化ヘモペキシンのように正常細胞でフコシル化を受けていない蛋白が産生されているものもある。フコシル化ヘモペキシンは腫瘍径に相関しておらず、非癌部でもフコシル化を受けた蛋白が産生されている可能性が、今回の検討で明らかとなった。また、網羅的糖鎖解析においても腫瘍径に相関しない癌特有のパターンを示す糖鎖の存在も明らかとなりつつあり、糖

鎖変化が、いわゆる発癌しやすさを示すマーカーにもなりうることを示唆している。

今後手術や局所療法治療前後での発現の推移を測定し、そのパターンを解析することにより、化学療法時の変化の意義についても解明できるようになると考えられた。

## E. 結論

肝発癌における糖鎖変化は、発癌や治療効果判定の指標としてのみならず、癌の高リスクグループを同定するために活用できる可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nouse K, Kobayashi Y, Nakamura S, Kobayashi S, Toshimori J, Kuwaki K, Hagihara H, Onishi H, Miyake Y, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Iwasaki Y, Kobashi H, Yamamoto K. Evolution of prognostic factors in hepatocellular carcinoma in Japan. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; 31(3):407-414.
- 2) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Yamamoto K. Autoimmune hepatitis with acute presentation in Japan. *Dig Liver Dis.* 2010; 42: 51-54.
- 3) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Okamoto R, Takaguchi K, Ikeda H, Makino Y, Ando M, Sakaguchi K, Yamamoto K. Efficacy of ursodeoxycholic acid for Japanese patients with autoimmune hepatitis. *Hepatol Int.* 2009;3:556-562.
- 4) Kobashi H, Fujioka S, Kawaguchi M, Kumada H, Yokosuka O, Hayashi N, Suzuki K, Okanou T, Sata M, Tsubouchi H, Sato C, Kiyosawa K, Tanikawa K, Seriu T, Ishikawa H, Takaki A, Iwasaki Y, Osawa T, Takaki T, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K, Tenney DJ, Omata M. Two cases of development of entecavir resistance during entecavir treatment for nucleoside-naive chronic hepatitis B. *Hepatol Int.* 2009 ;3(2):403-10.
- 5) Iwasaki Y, Shiratori Y, Hige S, Nishiguchi S, Takagi H, Onji M, Yoshida H, Izumi N, Kohgo Y, Yamamoto K, Sato N, Shibuya A, Saito H, Sata M, Suzuki K, Kaneko S, Moriyama M, Omata M. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon alpha-2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. *Hepatol Int.* 2009;3:468-479.
- 6) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Yamamoto K. Clinical features of autoimmune hepatitis diagnosed based on simplified criteria of the International Autoimmune Hepatitis Group. *Dig Liver Dis.* (in press)
- 7) Kubota J, Ikeda F, Terada R, Kobashi H, Fujioka S, Okamoto R, Baba S, Morimoto Y, Ando M, Makino Y, Taniguchi H, Yasunaka T, Miyake Y, Iwasaki Y, Yamamoto K. Mortality rate of patients with asymptomatic primary biliary cirrhosis diagnosed at age 55 years or older is similar to that of the general

- population. *J Gastroenterol.* 2009;44(9):1000-6.
- 8) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Okamoto R, Takaguchi K, Ikeda H, Makino Y, Sakaguchi K, Ando M, Yamamoto K. Clinical features of type 1 autoimmune hepatitis in adolescence and early adulthood. *Hepatol Res.* 2009;39(8):766-71.
- 9) Tanioka D, Iwasaki Y, Araki Y, Osawa T, Ikeda H, Ando M, Kobashi H, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K. Factors associated with adherence to combination therapy of interferon and ribavirin for patients with chronic hepatitis C: importance of patient's motivation and physician's treatment experience. *Liver Int.* 2009; 29(5):721-9.
- 10) Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Yasunaka T, Ikeda F, Takaki A, Okamoto R, Takaguchi K, Ikeda H, Makino Y, Ando M, Sakaguchi K, Yamamoto K. Clinical features of antinuclear antibodies-negative type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatol Res.* 2009;39(3):241-6.
2. 学会発表
- 1) Kuwaki K, Kobayashi Y, Nakamura S, Iwadou S, Hagihara H, Toshimori J, Ohnishi H, Nouse K, Iwasaki Y, Yamamoto K. Time-Dependent COX Regression Model Is Superior in Prediction of Prognosis in Hepatocellular Carcinoma DDW2009 平成 21 年 5 月 30 日 (シカゴ)
- 2) Nakamura S, Kobayashi Y, Nouse K, Shiraha H, Hagihara H, Toshimori J, Kuwaki K, Ohnishi H, Yamamoto K. Diagnosis of Hypovascular Hepatocellular Carcinoma: Evaluated with Gd-EOB-DTPA-Enhanced Liver Magnetic Resonance Imaging DDW2009 平成 21 年 5 月 30 日 (シカゴ)
- 3) Toshimori J, Kobayashi Y, Nakamura S, Ohnishi H, Kuwaki K, Hagihara H, Nouse K, Yamamoto K. Radiofrequency Ablation Therapy for Recurrent Small Hepatocellular Carcinoma After Curative Treatment: Long-Term Results and Prognostic Factors. DDW2009 平成 21 年 5 月 30 日 (シカゴ)
- 4) Kobayashi Y, Nakamura S, Nouse K, Kuwaki K, Ohnishi H, Toshimori J, Hagihara H, Yamamoto K. Percutaneous Radiofrequency Ablation Versus Surgical Resection for Small Hepatocellular Carcinoma: a Propensity-Score Matched Analysis. DDW2009 平成 21 年 5 月 30 日 (シカゴ)
- 5) Ohnishi H, Sakaguchi K, Kobayashi Y, Nakamura S, Miyake Y, Toshimori J, Kuwaki K, Hagihara H, Nouse K, Yamamoto K. Clinical Effectiveness of Chemoradiation Therapy for Hepatocellular Carcinoma with Portal Vein Invasion. DDW2009 平成 21 年 5 月 30 日 (シカゴ)
- 6) Nishina S, Yamamoto K, et al. The decreased expression of runt-related transcription factor 3 causes jagged-1 expression in hepatocellular carcinoma. ISOBM Annual Meetings 2009 平成 21 年 9 月 27 日 (アムステルダム)
- 7) Shiraha H, Yamamoto K, et al. Des-gamma-

carboxy prothrombin promotes growth and  
angiogenesis in hepatocellular carcinoma.

ISOBM Annual Meetings 2009 平成 21 年  
9 月 27 日(アムステルダム)

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



肝細胞癌患者におけるCell Searchシステムを用いた血中循環癌細胞(CTC)の検出

池田 健次 虎の門病院肝臓センター 部長

研究要旨：各種悪性腫瘍において血液中の循環がん細胞（circulating tumor cell: CTC）の有用性に関する報告がなされている。今回は肝がんにおけるCTCの検出の有効性について検討した。

対象は肝外転移を有する肝細胞癌15例とStage I, II の肝細胞癌11例、肝がん非合併慢性肝疾患6例とした。CTCは4種類の抗体を用いて特異的に血液中の癌細胞を検出するCellSearchシステムにより行った。

転移15例中CTC陽性は8例（53.3%）、陰性は7例（46.7%）であった。対照群の17例ではCTCが陽性となった症例はなかった。以上のことからCellSearchのSensitivityは53.3%、Specificityは100%であった。転移臓器別にみると、肺転移7例中4例（57.1%）で陽性、骨転移3例中2例（66.7%）で陽性、リンパ節転移2例中1例（50%）が陽性であった。

肝細胞癌症例での血液中循環がん細胞の測定により、中期および進行肝がんの病態の把握、抗癌剤・分子標的薬の治療効果予測、予後予測などが可能になることが期待できる。

#### A. 研究目的

肝細胞癌に対する集学的治療の進歩、食道静脈瘤の治療やアルブミン製剤の使用により肝硬変のマネジメントが向上したことから、肝癌患者の予後が改善し、その結果肝外転移が問題となる症例が増加してきた。このような症例に対し化学療法や分子標的治療薬が肝癌診療の大きな柱となることが期待され、同時に新しい治療に対応した治療効果判定も必要と考えられる。乳癌など他臓器癌においては血液中の循環癌細胞

(circulating tumor cell: CTC)の検出に関する研究が成果をあげてきた [1]。

CellSearchシステムは4種類の抗体を用いて特異的に血液中の癌細胞を検出するシステムで、乳癌、前立腺癌、卵巣癌などにおいて有用性が報告されている [2]。今回は肝細胞癌におけるCellSearchによるCTCの検出の有効性について検討した。

#### B. 研究方法

2006年2月より2009年5月まで虎の門

病院肝臓センターにて肝外転移を有する肝細胞癌と診断された 15 症例とコントロールとして Stage I, II 肝細胞癌 11 例、肝癌非合併例の慢性肝疾患例 6 例に CellSearch を用いた CTC の検討を行った。肝外転移の臓器は肺転移 7 例、骨転移 3 例、リンパ節転移 2 例、副腎転移 1 例、肺転移+骨転移 1 例、肺転移+リンパ節転移 1 例であった。肺転移の診断は造影 CT 検査にて、骨転移の診断は  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP 骨シンチグラム+MRI 検査にて、リンパ節転移・副腎転移は造影 CT にて診断した。

CellSearch システムの概要は以下の通りである。

全血 10ml を専用採血管(CellSave)に 2 本採取、常温で保存し 72 時間以内に測定を行った。CellSearch は鉄ビーズを標識した抗 EpCAM 抗体により免疫磁気法で上皮細胞を選択し、さらに抗 cytokeratin 抗体 (cytokeratin 4, 5, 6, 8, 10, 13, 18, 19) により癌細胞を染色、diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI) 染色により癌細胞の核を染色し、さらに CD45 抗体により白血球を除外することで、循環上皮性細胞由来癌細胞を特異的に同定することが可能である。CTC の判定は患者の臨床背景を知らされていない計測者が行い、1 採血管(全血 10ml)中に CTC が 2 個以上検出された場合を陽性と判定した。

### C. 研究結果

肝外転移症例の臨床背景および CTC の結果を Table 1 に示す。転移 15 例中 CTC 陽性は 8 例 (53.3%)、陰性は 7 例 (46.7%)で

あった。一方コントロールの 17 例では CTC が陽性となった症例はなかった。以上のことから CellSearch の Sensitivity は 53.3%、Specificity は 100%、Positive Predictive Value は 100%、Negative Predictive Value は 70.8%、Accuracy は 78.1%であった。

転移臓器別の Sensitivity は肺転移が 7 例中 4 例 57.1%、骨転移例の 3 例中 2 例 (66.7%)、リンパ節転移例が 2 例中 1 例 (50.0%)であった(多臓器転移例を除外)。CTC 陽性の 8 例のうち 4 例には門脈浸潤を認めたが、他の 4 例では認めなかった。

$\alpha$  フェトプロテイン (AFP) ( $P=0.010$ )、Des- $\gamma$ -カルボキシルプロトロンビン (DCP) ( $P=0.001$ ) は転移陽性例でコントロール群に比して有意に高値であった。しかし転移例の中で CTC 陽性例と陰性例との間には統計学的有意差を認めなかった。

### D. 考察

CellSearch による肝細胞癌転移例における CTC の Sensitivity は 53.3%、Specificity は 100%であった。Allard らは種々の癌において CellSearch を用いた検討を行い、陽性率は前立腺癌 56.9%、卵巣癌 37.2%、乳癌 37.2%、胃癌 30.8%、大腸癌 29.7%と報告している [2]。この検討では肝細胞癌は対象とされていないが、今回の検討から肝細胞癌においても CellSearch は有効に CTC を検出できる検査方法であることが明かとなった。第 17 回全国原発性肝癌追跡調査報告によると HCC の転移臓器は肺、骨、リンパ節の順に

多い [3]。この中で骨転移と肺転移は血行性転移であるが、今回の検討ではリンパ行性転移と考えられるリンパ節転移単独の3例中1例でCTCが検出された。この症例は死亡までの6ヶ月間に他の転移は診断されなかったが、剖検を行っていないため他に血行性転移があった可能性も否定できず、リンパ節転移の検出におけるCTCの有用性についてはさらに検討が必要と考えられる。

今回の検討ではCTCとして検出された細胞を確認する実験は行っていないが、Shafferらは前立腺癌におけるCTCの検討で、CTC陽性細胞を細胞染色・蛍光抗体法・分子生物学的手法で癌細胞であることを確認している [4]。また最近EpCAMは癌幹細胞のマーカーとして注目されており [5]、今回検出された細胞が癌幹細胞である可能性も否定できない。しかし肝外転移症例で高率に検出され、一方早期肝癌症例、肝癌非合併例で検出されないことから、肝癌由来の細胞と考えて矛盾は無いと思われる。今後さらなる検討が必要と考えられる。

CTCの臨床的意義については、乳癌転移例において治療前のCTC数および治療1クール施行後のCTC数がoverall survival、progression free survivalに関係するとの報告がされている [1]。肝細胞癌に対する化学療法は肝動脈化学塞栓療法・動注化学療法が中心であったが、さらに分子標的治療薬が登場し、CTCが治療効果や予後予測の指標となることが期待される。また肝癌合併例の肝移植においても移植前の肝外転移の診断の有用なマーカーとなりうると考えられる。

## E. 結論

CTCによる肝がん症例評価は、中期以後の進行肝がんに有用と考えられ、抗癌剤・分子標的治療薬などの治療効果予測、肝移植予定症例での再発予測評価などに有用と考えられる。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
投稿予定(肝臓)

## 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

新規抗がん剤の研究、および併用療法の開発研究

佐田 通夫 久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門 教授

研究要旨：門脈腫瘍塞栓の出現は肝細胞癌患者における予後不良因子の一つである。本研究はシスプラチン（CDDP）とリピオドール懸濁液および5-FUを用いた肝動注化学療法の門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞がん患者に対する治療効果を前向きに検討したものである。51名の門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞がん患者を対象として抗腫瘍効果、累積生存率、無増悪期間、副作用を評価した。抗腫瘍効果に関しては51例中10例がcomplete response（CR）、34例がpartial response（PR）であった。全症例の平均生存期間は33カ月であり、CR 10例とPRのうち追加治療で腫瘍が消失した21例の平均生存期間は39カ月であった。多変量解析の結果予後に影響を及ぼす因子は治療効果であった。重篤な副作用は少なく1例にgrade 3の血小板減少を認めた。以上より、CDDPとリピオドール懸濁液と5-FUを用いた肝動注化学療法は門脈腫瘍塞栓を有する進行肝細胞癌に対する有効な治療法になりえることが示唆された。

A. 研究目的

肝細胞癌は肝臓に原発する悪性腫瘍の95%を占め、本邦では毎年32,000人以上が肝細胞癌によって死亡している。本邦においては肝細胞癌のうち約80%はC型肝炎ウイルスによる慢性肝疾患、10～15%はB型肝炎ウイルスによる慢性肝疾患より発症する。

近年、肝細胞癌の根治的治療法として肝切除のほかエタノール注入療法、ラジオ波焼灼療法が導入され肝切除とほぼ同等の治療成績を挙げている。さらに、肝移植も肝細胞癌の治療として用いられるようになり、肝細胞癌の根治的治療の成績は飛躍的に向上した。

一方、進行肝細胞癌の治療に関しては、今日まで肝動脈塞栓術（TACE）、肝動注化学療法（HAIC）、全身化学療法、免疫療法などが試みられてきたがTACE以外には予後延長に寄与することが証明された治療法はなかった。

さらに、進行肝細胞癌は容易に門脈へ浸潤する特徴を有しており、このことが患者の予後を極端に悪くしている。

近年、2つの第三相試験の結果、分子標的治療薬であるソラフェニブが切除不能肝細胞癌患者の予後を延長することが証明され、欧米においてはTACE不能例の第一選択として推奨されている。しかし、門脈腫瘍

塞栓を有する肝細胞がん患者にソラフェニブを使用しても平均生存期間はわずか5か月と非常に予後不良である。そこで今回は、CDDP とリピオドール懸濁液および5-FUを用いた肝動注化学療法の門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞がん患者に対する治療効果を前向きに検討した。

## B. 研究方法

### 対象患者

対象患者は門脈腫瘍塞栓 (Vp 2-4) を有する肝細胞癌患者で肝外病変がなく年齢は20歳以上、Child-Pugh class A もしくは B を満たす者とした。2004年から2009年までに51例が登録された (年齢: 57~85歳、男性43名、女性8名)。HCV陽性者は39例、HBs抗原陽性者は6名でChild-Pugh class Aが26名、class Bが25名であった。

### カテーテル留置法と治療プロトコール

大腿動脈もしくは上腕動脈からセルジंगा一法にて穿刺し、カテーテルの先端を総肝動脈もしくは固有肝動脈まで進め留置した。治療第1日目に皮下に造設したポートから50 mg の CDDP を 5~10 ml のリピオドールに懸濁して注入し、その後、5-FU 250 mg を投与した。さらに、1,250 mg の 5-FU を 5日間かけて持続投与した。この治療を入院中に週1回2クール行った。外来では、20 mg の CDDP をリピオドールに懸濁して注入し、その後、5-FU を 500 mg から 1,250 mg を 5日間かけて持続投与した。外来治療は2週間に1回続けられた。

### 治療効果の評価

抗腫瘍効果は治療開始後3か月目とその後、2か月ごとにCTもしくはMRIを撮影し、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) に基づいて評価した。副作用とカテーテルのトラブルは外来受診日ごとに検索し、National Cancer Institute Common Toxicity Criteria, version 3 に基づいて評価した。

### (倫理面への配慮)

本研究は前向き研究のため、患者に対し治療について十分に説明し文書にて同意を得た。研究を通して患者の個人的データは流出しないよう極力配慮した。

## C. 研究結果

### 腫瘍の特徴

全ての患者は治療開始後6ヶ月以上観察しえた。門脈腫瘍塞栓は10例が門脈本幹、18例が一次分枝、23例が二次分枝に認められた。平均腫瘍径は88.6 mm (50-170 mm)であった (表1)。

表1. 患者背景

患者数	51
年齢	68.5 ± 9.2
男性/女性	43 / 8
Child-Pugh class : A / B	26 / 25
HBV (+) / HCV (+) / HBV (-) and HCV (-)	6 / 39 / 6
前治療 (+/-)	35 / 16
門脈腫瘍塞栓 (本幹 / 一次分枝 / 二次分枝)	10 / 18 / 23
平均腫瘍径 (mm), (<100 mm / ≥100 mm)	88.6 ± 32.1, 31 / 20
AFP (ng/ml) (≤1,000 / >1,000, ≤10,000 / >10,000)	29 / 10 / 12
AFP L3 (≥10% (%))	86.3%
DCP (mAU/ml) (≤1000 / >1000, ≤10000 / >10000)	14 / 20 / 17
肉眼所見 (nodular / infiltrative)	15 / 36
腫瘍局在 (unilobular / bilobular)	18 / 33

### 治療効果

治療を受けた51症例のうち10例が完全寛解

(CR)、34例が部分寛解 (PR)、5例が安定 (SD)、2例が進行 (PD) であった。34例のPRのうち14例は外科的切除、ラジオ波焼灼療法、TACEの追加治療にて腫瘍が消失した。生存率と死因  
51症例の累積生存率を表1に示す。

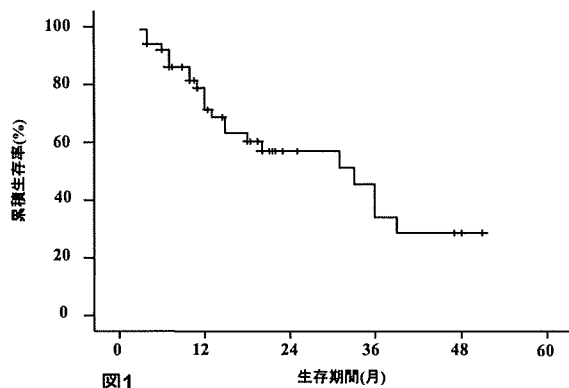


図1

1, 2, 3年生存率は各々 72.9%, 58.1%, 34.9% であった。全症例の平均生存期間は33ヶ月であり、CR, PR, SD症例の平均生存期間は各々 39, 31, 7ヶ月であった。CRとPR症例の1, 2, 3年生存率は各々 78.4%, 61.8%, 37.1% であり、CRとPR症例とSDとPD症例の間で生存期間に有意な差を認めた (図2)。

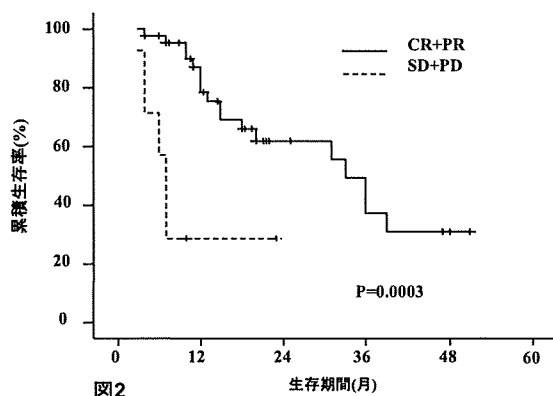


図2

CR 10例とPRのうち追加治療にて腫瘍が消失した14例の群の平均生存期間は 39 ヶ月

であり、1, 2, 3年生存率は各々 100%, 89.5%, 53.7%であった。一方、治療経過中に腫瘍が消失しなかった残りの27症例の群の1, 2, 3年生存率は各々 44.8%, 24.0%, 0%であり、これら2群間の平均生存期間に有意な差を認めた (図3)。

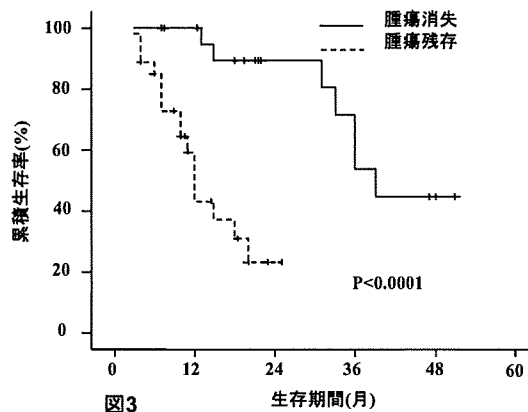


図3

無増悪生存期間を図4に示す。6, 12, 24ヶ月の無増悪生存率は各々62.1%, 21.9%, 11.7%であった。

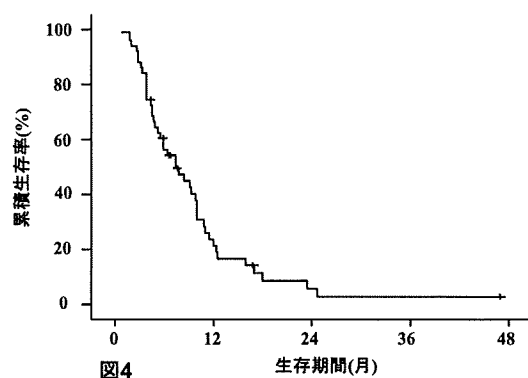


図4

患者の生存に関与する因子は、単変量解析で腫瘍の局在と、治療効果が認められ、多変量解析にて治療効果のみが予後に関与する因子であることが明らかとなった (表2)。

表2. 単変量解析

	HR (95% CI)	p value
性 (男性)	1.24 (0.54-2.87)	0.609
年齢 (> 65)	1.08 (0.32-3.65)	0.899
HCV (positive)	0.50 (0.20-1.29)	0.152
HBV (positive)	2.03 (0.56-6.23)	0.218
Child-Pugh class (B)	1.12 (0.49-2.57)	0.786
AFP (ng/ml) (> 1,000)	1.51 (0.67-3.43)	0.322
DCP (AU/ml) (> 1,000)	1.03 (0.41-2.63)	0.946
最大腫瘍径(mm) (> 100)	0.82 (0.34-2.01)	0.667
肉眼所見(infiltrative)	0.95 (0.39-2.31)	0.901
腫瘍局在(両葉)	2.56 (1.01-6.48)	0.048
門脈腫瘍塞栓(本幹)	1.62 (0.60-4.39)	0.344
治療効果(CR+PR)	0.17 (0.06-0.51)	0.001

経過観察期間中に28例が死亡し、このうち24例は肝細胞癌増悪による癌死、2例は静脈瘤破裂であり、肝不全死、腎不全死が各々1例ずつであった。

#### 副作用

重篤な副作用は少なく、1例にgrade 3の血小板減少を認めた。その他は、17例にgrade 1の食欲不振、6例に、grade 1の発熱、2例にgrade 2の腹水貯留を認めたが全て治療により改善した。

#### D. 考察

門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞癌患者の予後は極めて不良であり、未治療の場合生存期間は2.7~4.0ヶ月であると言われている。近年、分子標的治療薬であるソラフェニブが切除不能肝細胞癌患者の予後を延長することが証明された。しかし、門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞癌患者にソラフェニブを使用しても平均生存期間はわずか5カ月と非常に予後不良である。本邦において門脈腫瘍塞栓を有する肝細胞癌に対しては肝動注化学療法が選択されてきた。しかし、平均生存期間に関する報告で最も長いものでも11.8ヶ月にすぎなかった。今回の検

討で、全症例の平均生存期間は33ヶ月であり今までの報告に比べ際立って予後を改善した。また、生存期間を左右する因子は単変量と多変量解析の結果、治療効果であった。

今回の治療が患者の予後を延長した理由として考えられるのは、時間依存性に効果がある5-FUを通常肝動注化学療法では3~5時間で投与するところを5日間かけて投与したことである。CDDPをリピオドールと懸濁して投与したことでCDDPによる抗腫瘍効果以外にリピオドールによる塞栓効果が加わったことが推察される。さらに、リピオドールと懸濁したCDDPが長期間にわたって持続性に腫瘍内で作用したことが考えられる。実際、この治療後は外科的に切除された例での肝組織内CDDP濃度を調べると、投与後132日後でも9.8-13.5 µg/g wet tissueのCDDPが腫瘍組織で検出され、この濃度は周囲の非癌部肝組織に比べ高濃度であった。

今回の検討では、治療効果の有無が予後を左右し、CR+PR群とSD+PD群間に生存率に有意差を認めた。しかし、SHARP試験におけるソラフェニブはおもにSDを維持することで生存期間を延長させ、PRなどの抗腫瘍効果を認める症例はわずか5%程度である。このように今回の治療とソラフェニブなどの分子標的治療薬とは作用機序や効果に違いがあることから、今後さらに進行した肝細胞癌患者の治療効果を向上させるためには両者の併用が望ましいのかもしれない。

副作用に関しては、重篤な副作用は少な

く、1例に grade 3 の血小板減少を認めただけであった。一方、SHARP 試験においては、grade 3~4 の副作用は約 52%に認められ、そのうち、特に高頻度に認められたのは下痢と手足皮膚反応であった。今までの報告においても肝動注化学療法は投与する抗癌剤が全身化学療法に比べて少量のためか重篤な副作用は少なく、分子標的治療薬に比べて安全に治療が行えるように思われる。

## E. 結論

今回の検討において、CDDP とリピオドール懸濁液および 5-FU を用いた NFP 療法は重篤な副作用も少なく安全に治療を行うことができ、高い奏功率であった。今後、分子標的治療薬との比較試験でその有用性が証明されれば、門脈腫瘍塞栓を有する高度進行肝細胞癌に対する本邦における治療の第一選択肢となる可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 安藤栄治 他. 肝癌野治療内科的治療、科学療法幹動注化学療法 (TAI) Low dose FP (5-FU+CDDP) 幹動注療法. 日本臨床. 泰山堂書店. 2009;493-497.
- 2) 森田恭代、鳥村拓司、佐田通夫 他. 非アルコール性脂肪性肝炎による肝硬変から発症した肝細胞癌 3 症例. 酸化ストレスと肝疾患 第 5 巻. メディカルトリビューン. 2009;47-50.
- 3) 板野 哲、永松洋明、佐田通夫 他. 腫瘍減量術後の動注化学療法および全身

化学療法により著効を得た巨大肝細胞癌の 1 例. Liver Cancer. 癌と化学療法社. 2009;109-116.

- 4) 田中政俊、佐田通夫. ソナゾイド造影超音波検査の治療支援・ソナゾイド造影超音波による RFA 治療支援. INNERVISION. インナービジョン. 2009;37-41.
  - 5) Ueno T, Torimura T, Nakamura T, Sivakumar R, Nakayama H, Otabe S, Yuan X, Yamada K, Hashimoto O, Inoue K, Sata M. Epigallocatechin-3-gallate improves nonalcoholic steatohepatitis model mice expressing nuclear sterol regulatory element binding protein-1c in a dipose tissue. Int J Mol Med 2009;24:17-22.
- ### 2. 学会発表
- 1) 永松洋明、佐田通夫: 脈管侵襲を伴う進行肝細胞癌症例に対する治療、第 95 回日本消化器病学会総会、札幌 (106 (Suppl):A282,2009)
  - 2) 黒松亮子、高田晃男、佐田通夫: 小肝癌におけるラジオ波焼灼術 (RFA) の適応、第 95 回日本消化器病学会総会、札幌 (106(Suppl):A45,2009)
  - 3) 永松洋明、佐田通夫ほか: 肝細胞癌 Stage IV 肝細胞癌症例に対する長期生存を目標とした NewFP 療法、第 45 回日本肝臓学会総会、神戸 (50(Supple):A285,2009)
  - 4) 田中正俊、佐田通夫ほか: 病態に応じた肝細胞がん患者の自然経過、第 45 回日本肝臓学会総会、神戸 (50(Supple):A149,2009)
  - 5) 肝臓内科医から見た肝癌治療アルゴリズム、第 45 回日本肝臓学会総会、神戸 (50(Supple):A47,2009)



- 6) 鳥村拓司、佐田通夫ほか: VEGF Trap (Aflibercept) によるマウス肝癌の増殖抑制機序に関する検討、第 45 回日本肝臓学会総会、神戸 (50(Supple):A86,2009)
- 7) 黒木淳一、鳥村拓司、佐田通夫ほか: 肝外病変を伴う肝癌に対する TS-1 併用 CDDP 肝動注化学療法の見直し、第 45 回日本肝臓学会 福岡
- 8) 永松洋明、佐田通夫ほか: Satge IV 肝細胞癌症例に対する肝動注化学療法にて CR が得られた 26 症例の検討、第 45 回日本肝臓学会 福岡
- 9) 黒松亮子、高田晃男、佐田通夫ほか: 10 年以上生存した肝癌症例における治療経過の特徴、第 45 回日本肝臓学会 福岡
- 10) 住江修治、黒松亮子、佐田通夫: 肝細胞癌における腫瘍肉眼型の治療前予測の重要性、第 45 回日本肝臓学会 福岡
- 11) Hiroaki Nagamatsu, Takuji Torimura, Michio Sata, et al. Combination therapy of cisplatin suspension in lipiodol and 5-fluorouracil infusion for Hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis. International Liver Cancer Association, Thirs Annual Conference, Milan.
- 12) Takuji Torimura, Michio Sata, et al. Mechanisms of antitumor effect of VEGF Trap (Aflibercept) for hepatocellular carcinoma in mice. International Liver Cancer Association, Thirs Annual Conference, Milan.
- 13) Takuji Torimura, Michio Sata, et al. Mechanisms of antitumor effect of VEGF Trap for hepatocellular carcinoma in mice. 第 68 回日本癌学会学術総会 横浜
- 14) 新関敬、鳥村拓司、佐田通夫ほか: 切除不能 Stage IV-A 肝細胞癌に対するリザーバー動注療法の有用性及び後因子、第 24 回筑後 DDF、久留米。
- 15) 永松洋明、佐田通夫ほか: Satge IV 肝細胞癌症例に対する New FP 療法: 延命から治癒を目標とした治療へ、JDDW(第 13 回日本肝臓大会) 京都 (50(Supple2):A581,2009)
- 16) 新関敬、鳥村拓司、佐田通夫ほか: 切除不能脈管浸潤陽性肝細胞癌に対するリザーバー動注化学療法の予後因子、JDDW(第 13 回日本肝臓大会) 京都 (50(Supple2):A581,2009)
- 17) 永松洋明、佐田通夫ほか: Satge IV 肝細胞癌症例に対する長期生存を目標とした New FP 療法、第 38 回日本肝臓学会西部会、米子(50(Supple.3):A612,2009)

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

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
古瀬純司	原発性肝がん(肝細胞がん)	佐藤隆美, 藤原康弘, 古瀬純司, 大山優編	What's New in Oncology が ん治療エッ センシャル ガイド	南山堂	東京	2009	276-285
古瀬純司	肝・胆・膵. 原発性 肝がん	入門腫瘍内 科学編集委 員会編	入門腫瘍内 科学	篠原出版新 社	東京	2009	155-158
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	西條長宏、 西尾和人編	がん化学療 法・分子標的 治療 update	中外医学社	東京	2009	656-666
古瀬純司	原発性肝がん	日本臨床腫 瘍学会編	新臨床腫瘍 学改訂第2版	南江堂	東京	2009	518-527
森脇久隆	肝硬変	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療 指針2009年 版	医学書院	東京	2009	399-401
森脇久隆	2. 病状・病態	河田純男, 佐々木裕	現場の疑問 に答える肝 臓病診療Q&A	中外医学社	東京	2009	98-105
森脇久隆	レチノイド	沖田 極, 幕内雅敏	インフォー ムド・コンセ ント「肝がん 」	医薬ジャー ナル社	東京	2009	80-81
清水雅仁、森 脇久隆	レチノイド核内受容 体RXR $\alpha$ を標的分子 とした肝細胞癌化学 予防-非環式レチノ イドとclonal deletion-	日本消化器 病学会	消化器病学 の進歩-原点 から未来へ の情報発信	医学書院出 版サービス	東京	2009	232-238
池田健次	肝癌の治療(肝移植 以外)	林 紀夫 日比紀文 上西紀夫 下瀬川 徹	Annual Review	中外医学社	東京	2009	188-199

安藤栄治 他 (佐田)	内科的治療、化学療法 肝動注化学療法 (TAI) Low dose FP (5-FU+CDDP) 肝動注 療法		日本臨床	泰山堂書店	東京	2009	493-497
森田恭代、鳥 村拓司、佐田 通夫 他	非アルコール性脂肪 性肝炎による肝硬変 から発症した肝細胞 癌 3 症例		酸化ストレ スと肝疾患 第 5 巻	メディカル トリビュー ン	東京	2009	47-50
板野 哲、永 松洋明、佐田 通夫 他	腫瘍減量術後の動注 化学療法および全身 化学療法により著効 を得た巨大肝細胞癌 の 1 例		Liver Cancer	癌と化学療 法社		2009	109-116
田中政俊、佐 田通夫	ソナゾイド造影超音 波検査の治療支援 ソナゾイド造影超音 波による R F A 治療 支援		INNERVISION	インナービ ジョン		2009	37-41

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hodo Y, (本多)	Comprehensive gene expression analysis of 5'-end of mRNA identified novel intronic transcripts associated with hepatocellular carcinoma.	Genomics	(in press)		
Ootsuji H, (本多)	Altered Hepatic Gene Expression Profiles Associated with Myocardial Ischemia.	Circulation: Cardiovascular Genetics	3(1)	68-77	2010
Tanaka Y, (本多)	Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.	Nat Genet	41(10)	1105-9	2009
Kitao A, (本多)	Endothelial to mesenchymal transition via transforming growth factor-beta1/Smad activation is associated with portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension.	Am J Pathol	175(2)	616-26	2009
Ura S, (本多)	Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma.	Hepatology	49(4)	1098-112	2009
Yamashita T, (本多)	Activation of lipogenic pathway correlates with cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma.	J Hepatol.	50	100-10	2009