

201119038A

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による
新規治療法の確立を目指した臨床試験(Phase III)
ならびに効果を予測するbiomarkerの探索研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 工藤 正俊

平成24(2012)年 3月

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による
新規治療法の確立を目指した臨床試験(Phase III)
ならびに効果を予測するbiomarkerの探索研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 工藤 正俊

平成24(2012)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (Phase III) ならびに効果を予測するbiomarkerの探索研究

1

主任研究者 工藤正俊
近畿大学医学部消化器内科 教授

II. 分担研究報告

1. 肝細胞癌に対する動注化学療法・塞栓療法と分子標的薬併用の効果予測バイオマーカーの探索

西尾 和人
近畿大学医学部ゲノム生物学教室 分子生物学 教授

2. 進行・再発肝がんに対する臨床試験の統計・解析
(研究成果の刊行に関する一覧表参照)

赤澤 宏平
新潟大学医歯学総合病院 医療情報部、医療統計学・医療情報学 教授

3. 肝がんに対する治療法の確立に関する研究

奥坂 拓志
国立がんセンター中央病院 肝胆膵内科 第一領域外来部 胆・膵臓科医長

4. 高感度AFP-L3測定によるサーベイランスでの早期段階での肝細胞癌の診断

熊田 卓
大垣市民病院 消化器科 部長

5. 「肝細胞癌に対する肝動注化学療法は全身化学療法より有効か？
-FMP療法での検討-」に関する研究

池田 公史
国立がんセンター東病院 肝胆膵腫瘍科 副科長

6. マイクロバルーンカテーテルを用いた超選択的肝動脈注入における血行動態の変化に関する研究

荒井 保明
国立がん研究センター放射線診断科長

7. 肝細胞癌に対する分子標的治療薬の使用経験

永野 浩昭
大阪大学大学院医学系研究科 消化器外科学 講師

8. 術後補助療法の適応決定を目的とした PET/CT による肝細胞癌肝切除後再発パターンと再発時期予測

波多野 悦朗
京都大学医学研究科 肝胆膵・移植外科 講師

9. 非B非C肝癌における生活習慣の関与

佐々木 裕
熊本大学大学院生命科学研究部 消化器内科学 教授

10. 肝静脈/下大静脈腫瘍栓合併進行肝細胞癌に対するIFN併用5FU肝動注化学療法の検討

相方 浩
広島大学病院 消化器・代謝内科 講師

11. 肝細胞癌に対する新規の肝動脈化学塞栓療法の有用性に関する研究
坂井田 功
山口大学大学院医学系研究科 消化器病態内科学 教授
12. 肝細胞癌患者におけるソラフェニブ投与症例の効果予測に関連する検討
田中 正俊
久留米大学医療センター 消化器科 准教授
13. 肝細胞癌に対する分子標的薬治療の効果および安全性の検討
金井 文彦
千葉大学大学院医学研究院 腫瘍内科学 講師
14. 進行肝細胞癌に対する腫瘍マーカーを用いたソラフェニブ治療効果の予測
泉 並木
武蔵野赤十字病院 副院長兼消化器科部長
15. 肝細胞癌の分子標的薬治療効果判定における評価方法に関する研究
大崎 往夫
大阪赤十字病院 消化器科 部長
16. 進行肝細胞がんの治療選択 -特に門脈腫瘍浸潤例を中心として-
小尾 俊太郎
財団法人 佐々木研究所附属杏雲堂病院 消化器・肝臓内科 科長
17. 肝細胞癌の遺伝子変異に関する研究
山本 和秀
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・肝臓内科学 教授
18. 肝細胞癌の多段階発癌における組織所見とEOB造影MRIとSonazoid造影超音波の造影所見の比較に関する研究
今井 康陽
市立池田病院 消化器内科
19. ミリプラチン+ヨード化ケン油脂肪酸エチルエステルを用いた肝動脈化学塞栓療法の安全性と短期抗腫瘍効果についての検討
日野 啓輔
川崎医科大学 肝胆膵内科学 教授
20. 進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (PhaseIII)
高山 哲治
国立大学法人徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
消化器内科学 教授
21. 肝動脈化学塞栓療法+ラジオ波焼灼術における白金製剤の薬物動態
～生体ブタによる基礎的研究
國分 茂博
順天堂大学医学部附属練馬病院 消化器内科先任准教授

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 51

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 65

I. 総括研究報告

厚生労働省科学研究費補助金 がん臨床研究事業

「進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (Phase III) ならびに効果を予測するbiomarkerの探索研究」

平成23年度 総括報告書

進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (Phase III) ならびに効果を予測するbiomarkerの探索研究

主任研究者：工藤正俊 近畿大学医学部消化器内科 教授

研究要旨：本研究は、進行肝細胞癌に対する標準的治療薬であるソラフェニブと、従来わが国で行われてきた低用量シスプラチン/フルオロウラシル (Low-doseFP) の動注化学療法の併用の有効性を検証するランダム化比較第III相試験である。前者はグローバル第III相試験において、生存期間の延長が明確に証明されている。また後者においては、明確なエビデンスは存在せず、世界的には標準治療ではないが、約40%の奏効率が得られる治療方法である。これらの併用により、前者の生存期間延長と、後者の奏効率上昇が期待されるため、臨床的に大きな意味があり、将来、標準的治療として位置づけられる可能性がある。またLow-doseFPの動注化学療法の上乗せ効果が客観的に証明された場合に、これまで前向き比較試験として検証されてこなかった動注化学療法の有用性も客観的に評価されることになり、世界に向けてエビデンスを日本から発信することができる。本研究で得られた結果は、エビデンスレベルの高い結果として臨床現場にフィードバックされ、肝細胞癌患者の治療に貢献し、予後改善につながることが予想される。本研究は平成22年10月より登録を開始し、平成24年2月現在全国28施設で78例 (41.1%) の患者が登録され、順調に試験は進行している。

A. 研究目的

肝細胞癌においては、罹患率の高さや進行した場合の効果的な治療法がない現状から、根治および再発予防、生存期間の延長などの点で有効な新薬の開発や、新たな治療法が開発が望まれている。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。また生存期間の延長については確認されていない。

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奏効率は低いものの、唯一、臨床試験にて全生存率を延長させた薬剤である。

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、前者の生存期間延長と、後者の奏効率上昇の相乗効果が期待されるため、臨床的に大きな意味があり、将来、標準的治療として位置づけられる可能性がある。また Low-doseFPの上乗効果が証明された場合、これまで前向き比較試験として検証されてこなかった肝動注化学療法（Low-doseFP療法）の有用性も客観的に評価されることとなる。

B. 研究方法

本研究は、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を対象としたソラフェニブと Low-doseFPによる肝動注化学療法の併用療法のソラフェニブ単独治療に対する優越性を確認するための前向き、無作為化、非盲検、多施設共同、並行群間、第III相、比較臨床試験である。目標症例数190例（片群95例）で、試験デザインはソラフェニブ単独群とソラフェニブとLow-doseFPによる肝動注化学療法の併用療法の2アームでの比較試験である。プライマリエンドポイントは全生存期間（Overall survival）である。

（倫理面への配慮）

（1）患者の保護について

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および「臨床研究に関する倫理指針」（平成20年厚生労働省告示第415号）に従って本試験を実施している。

（2）インフォームド・コンセント

登録に先立って、担当医は医療機関の承認が得られた説明文書（付表の説明文書または医療機関で改変を加えた説明文書）を患者本人に渡し、以下の内容を口頭で詳しく説明している。

- 1) 病名、病期、推測される予後に関する説明

- 2) 本試験が臨床試験であること
- 3) 本試験のデザインおよび根拠
- 4) プロトコール治療の内容
- 5) プロトコール治療により期待される効果
- 6) 予期される有害事象、合併症、後遺症とその対処法について
- 7) 費用負担と補償
- 8) 代替治療法
- 9) 予想される利益と可能性のある不利益について
- 10) 病歴の直接閲覧について
- 11) 同意拒否と同意撤回
- 12) 人権保護
- 13) 質問の自由

（3）同意

試験についての説明を行い、十分に考える時間を与え、患者が試験の内容をよく理解したことを確認した上で、試験への参加について依頼する。患者本人が試験参加に同意した場合、付表の同意書または医療機関で定められた書式の本試験の同意書を用い、説明をした医師名、説明を受け同意した患者名、同意を得た日付の記載があることを確認している。

（4）個人情報の保護と患者識別

個々の患者のプライバシーを保護するため、登録患者の同定や照会は、登録時に発行される症例登録番号を用いて行う。すべての研究者は個人情報保護のため最大限の努力を払っている。

（5）プロトコールの遵守

本試験に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限り、本プロトコールを遵守する。

（6）利益相反

本試験は、厚生労働省科学研究費補助金により遂行される。いかなる企業とも営利関係はないことを確認している。

C. 研究結果

平成22年9月30日に近畿大学医学部倫理委員会の承認を得て、平成22年10月1日より登録を開始した。平成24年2月現在全国28施設で78例(41.1%)の患者が登録され、順調に試験は進行している。現在のところ、試験の継続に問題となるような有害事象や倫理的問題は発生していない。

D. 考察

本研究は、進行肝細胞癌に対する標準的治療薬であるソラフェニブと、従来わが国で行われてきた。低用量シスプラチン/フルオロウラシルの動注化学療法併用の有効性を検証するランダム化比較第III相試験である。前者はグローバル第III相試験において、生存期間の延長が明確に証明されている。また後者においては、明確なエビデンスは存在せず、世界的には標準治療ではないが、約40%の奏効率が得られる治療方法である。併用療法により、前者の生存期間延長と、後者の奏効率上昇が期待されるため、臨床的に大きな意味があり、将来、標準的治療として位置づけられる可能性がある。実際、先に行われた第I相試験の結果、本併用療法のTTPは9.7カ月と、ソラフェニブ単独療法5.4カ月及び動注化学療法単独療法4.1カ月を相加した結果であり、奏効率は38.9%であったことから併用による治療効果が大きいと期待される。また、低用量シスプラチン/フルオロウラシルの動注化学療法の上乗せ効果が客観的に証明された場合に、これまで前向き比較試験として検証されてこなかった動注化学療法の有用性も客観的に評価されることになり、世界に向けてエビデンスを日本から発信することができる。本研究で得られた結果は、エビデンスレベルの高

い結果として臨床現場にフィードバックされ、肝細胞癌患者の治療に貢献し、予後改善につながる事が予想される。

E. 結論

本研究班はこの臨床試験の遂行を第一義として活動している。班員が一丸となって登録を推し進めており、進捗は順調である。本研究の成功は日本の肝細胞癌治療のすぐれた技術を世界に示すために必ず成功させる必要がある。最終年度である本年9月までに190例の登録を終えることができるよう、鋭意登録促進中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagai T, Arai T, Furuta K, Sakai K, Kudo K, Kaneda H, Tamura D, Aomatsu K, Kimura H, Fujita Y, Matsumoto K, Saijo N, **Kudo M**, Nishio K: Sorafenib inhibits the hepatocyte growth factor-mediated epithelial mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther* 10: 169-177, 2011.
2. **Kudo M**, Hatanaka K, Kumada T, Toyoda H, Tada T: Double-contrast ultrasound: a novel surveillance tool for hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 106: 368-370, 2011.
3. Kudo K, Arai T, Tanaka K, Kaneda H, Matsumoto K, Tamura D, Aomatsu K, Velasco M, Fujita Y, Saijo N, **Kudo M**, Nishio K: Antitumor activity of BIBF 1120, a vascular endothelial growth factor-2 inhibitor and use of VEGFR2+pTYR+leucocyte as a pharmacodynamic biomarker. *Clin Cancer Res* 17: 1373-1381, 2011.
4. Hagiwara S, **Kudo M**, Ueshima K, Chung H, Yamaguchi M, Takita M, Haji S, Kimura M, Arai T, Nishio K, Park AM, Munakata H: The cancer stem cell marker CD133 is a predictor of the effectiveness of S1+pegylated interferon α -2b therapy against advanced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 46: 212-221, 2011.
5. Kagawa Y, Okada M, Kumano S, Katsube T, Imaoka I, Tanigawa N, Ishii K, **Kudo M**, Murakami T: Optimal scanning protocol of arterial dominant phase for hypervascular hepatocellular carcinoma with gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pentaacetic

- acid-enhanced MR. *J Magn Reson Imaging* 33: 864-872, 2011.
6. Minami Y, Kudo M: Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: A literature review. *Int J Hepatol* 2011: 9pages (104685), 2011.
 7. Eguchi S, Kanematsu T, Arii S, Omata M, Kudo M, Sakamoto M, Takayasu K, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M, for the Liver Cancer Study Group of Japan: Recurrence-free survival more than 10 years after liver resection for hepatocellular carcinoma. *Brit J Surg* 98: 552-557, 2011.
 8. Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Digest Dis* 29: 273-277, 2011.
 9. Kudo M: Signaling pathway and molecular-targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *Digest Dis* 29: 289-302, 2011.
 10. Kudo M: mTOR inhibitor for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Digest Dis* 29: 310-315, 2011.
 11. Kudo M: Future treatment option for hepatocellular carcinoma: a focus on brivanib. *Digest Dis* 29: 316-320, 2011.
 12. Ueshima K, Kudo M, Takita M, Nagai T, Tatsumi C, Ueda T, Kitai S, Ishikawa E, Yada N, Inoue T, Hagiwara S, Minami Y, Chung H, Sakurai T: Des- γ -carboxyprothrombin may be a promising biomarker to determine the therapeutic efficacy of Sorafenib for hepatocellular carcinoma. *Digest Dis* 29: 321-325, 2011.
 13. Hayaishi S, Chung H, Kudo M, Ishikawa E, Takita M, Ueda T, Kitai S, Inoue T, Yada N, Hagiwara S, Minami Y, Ueshima K: Oral branched-chain amino acid granules reduce the incidence of hepatocellular carcinoma and improve event-free survival in patients with liver cirrhosis. *Digest Dis* 29: 326-332, 2011.
 14. Yoshida H, Shiratori Y, Kudo M, Shiina S, Mizuta T, Kojiro M, Yamamoto K, Koike Y, Saito K, Koyanagi N, Kawabe T, Kawazoe S, Kobashi H, Kasugai H, Osaki Y, Araki Y, Izumi N, Oka H, Tsuiji K, Toyota J, Seki T, Osawa T, Masaki N, Ichinose M, Seike M, Ishikawa A, Ueno Y, Tagawa K, Kuromatsu R, Sakisaka S, Ikeda H, Kuroda H, Hokuryu H, Yamashita T, Sakaida I, Katamoto T, Kikuchi K, Nomoto M, Omata M: Effect of vitamin K2 on the recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 54: 532-540, 2011.
 15. Kudo M, Imanaka K, Chiba N, Nakachi K, Tak WT, Takayama T, Yoon JH, Hori T, Kumada H, Hayashi N, Kaneko S, Tsubouchi H, Suh DJ, Furuse J, Okusaka T, Tanaka K, Matsui O, Wada M, Yamaguchi I, Ohya T, Meinhardt G, Okita K: Phase III study of Sorafenib after transarterial chemoembolisation in Japanese and Korean patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 47: 2117-2127, 2011.
 16. Llovet JM, Paradis V, Kudo M, Zucman-Rossi J: Tissue biomarkers as predictors of outcome and selection of transplant candidates with hepatocellular carcinoma. *Liver Transplant* 17: S67-71, 2011.
 17. Kim SK, Marusawa H, Eso Y, Nishikawa H, Ueda Y, Kita R, Kimura T, Chiba T, Osaki Y, Kudo M: Clinical characteristics of non-B non-C hepatocellular carcinoma: A single-center retrospective study. *Digestion* 84: 43-49, 2011.
 18. Kudo M: Hepatocellular carcinoma in 2011 and beyond: From the pathogenesis to molecular targeted therapy. *Oncology* 81: 1-10, 2011.
 19. Kudo M: Adjuvant therapy after curative treatment for hepatocellular carcinoma. *Oncology* 81: 50-55, 2011.
 20. Alaboudy A, Inoue T, Hatanak K, Chung H, Hyodo T, Kumano S, Murakami T, Moustafa EFA, Kudo M: Usefulness of combination of imaging modalities in the diagnosis of hepatocellular carcinoma using Sonazoid-enhanced ultrasound, gadolinium diethylene-triamine-pentaacetic acid-enhanced magnetic resonance imaging, and contrast-enhanced computed tomography. *Oncology* 81: 66-72, 2011.
 21. Kudo M: Diagnostic imaging of hepatocellular carcinoma: Recent progress. *Oncology* 81: 73-85, 2011.
 22. Inuzuka T, Nishikawa H, Sekikawa A, Takeda H, Henmi S, Sakamoto A, Saito S, Kita R, Kimura T, Osaki Y, Kudo M: Complete response of advanced hepatocellular carcinoma with multiple lung metastases treated with Sorafenib: A case report. *Oncology* 81: 152-157, 2011.
 23. Han KH, Kudo M, Ye SL, Choi JY, Poon RTP, Seong J, Park JW, Ichida T, Chung JW, Chow P, Cheng AL: Asian consensus workshop report: Expert consensus guideline for the management of intermediate and advanced hepatocellular carcinoma in Asia. *Oncology* 81: 158-164, 2011.
 24. Minami Y, Kudo M: Review of dynamic contrast-enhanced ultrasound guidance in ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 17: 4952-4959, 2011.
 25. Higashi T, Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, Ichida T, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y, Sobue T; the Liver Cancer Study Group of Japan: Demonstration of quality of care measurement using the Japanese liver cancer registry. *Hepatol Res* 41: 1208-1212, 2011.
 26. Suzuki H, Murata K, Gotoh T, Kusano M, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Imamura M, Kudo M, Mizokami M, Sakamoto A: Phenotype-dependent production of des- γ -carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 46: 1219-1229, 2011.

2. 学会発表

1. **Kudo M**: Special Invited Lecture
“Sonazoid-enhanced US in the management of HCC. The 42nd Annual Congress of the Korean Society of Ultrasound in Medicine (KSUM), Seoul, Korea, May 20, 2011.
2. **Kudo M**: Luncheon “Hepatocellular carcinoma: prevention and treatment by interferon.” The Japanese Society for Interferon and Cytokine Research-The Japanese Society for Macrophage Molecular and Cell Biology (JSICR-MMCB) 2011, Osaka, Japan, May 25, 2011.
3. **Kudo M**: Special Invited Lecture
“Sonazoid-enhanced US in the management of HCC” XV Congress of the Latin American Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (FLAUS), Asuncion, Paraguay, June 22-25, 2011.
4. **Kudo M**: Special Lecture “Current situation of HCC management in Japan.” The 2nd Asia-Pacific Primary Liver Cancer Expert Meeting (APPLE), Osaka, Japan, July 1-3, 2011.
5. **Kudo M**: US-guided ablation of HCC.
“US-guided tumor therapy”, 13th World Congress of the world federation for ultrasound in medicine and biology (WFUMB) 2011, Vienna, Austria, August 26-29, 2011.
6. **Kudo M**: Future prospects of ultrasound diagnosis for diffuse liver disease.
Symposium “Hitachi Aloka Medical Ltd.: The next generation in high-resolution imaging technology and elastography”, 13th World Congress of the world federation for ultrasound in medicine and biology (WFUMB) 2011, Vienna, Austria, August 26-29, 2011.
7. **Kudo M**: “Establishing treatment algorithms for hepatocellular carcinoma: What tests do we need?” Symposium “When East meets West: Management of hepatocellular carcinoma”, 19th United European Gastroenterology Week (UEGW), Stockholm, Sweden, October 24, 2011.
8. **Kudo M**: Hepatocellular carcinoma: Recent development of molecular targeted agent.
JSCO university “Hepatobiliary and pancreas cancers”, The 49th Annual Meeting of Japan Society of Clinical Oncology, Aichi, Japan, October 27-29, 2011.
9. **Kudo M**: Lecture “Sonazoid-enhanced US in the management of HCC.” 9th ABDA teaching course in conjunction with AFSUMB Workshop, Bali, Indonesia, November 17-19, 2011.
10. **Kudo M**: Clinical staging systems for HCC.
Symposium “HCC staging and response assessment” APASL 2nd Hepatocellular carcinoma conference (APASL STC), Jeju, Korea, December 1-3, 2011.
11. **Kudo M**: Diagnosis of gross pathology of HCC: Value of Kupffer phase of Sonazoid-enhanced US. 3rd Asia-Pacific Conference on Ultrasound Contrast Imaging, 13th International Symposium on Ultrasound Contrast Imaging, Kunming, China, December 15-18, 2011.
12. **Kudo M**: Molecular targeting therapy.
Session “HCV and HCC I”. The 7th APASL single topic conference, Chiba, Japan, December 18, 2011.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

本試験は、全肝細胞癌患者の利益に資することを目的とし、研究者の特別な利益を追求するものではないため、特許関連の申請は行わないことを確認している。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

II. 分担研究報告

肝細胞癌に対する動注化学療法・塞栓療法と分子標的薬併用の効果予測バイオマーカーの探索

分担研究者 西尾 和人 近畿大学医学部ゲノム生物学教室 教授

研究要旨

*FGF3*および*FGF4*を含む染色体11q13の遺伝子増幅は、ソラフェニブ治療の効果予測バイオマーカーであることを特定した。血中血管新生関連因子の解析では、ソラフェニブ治療後に有意に変動する増殖因子を6個同定した。臨床試験およびバイオマーカー研究は順調に進行中である。

A. 研究目的

ソラフェニブを含む肝細胞がん治療に対して、層別化可能なバイオマーカーを特定することにより、がん治療成績の向上を図る。

B. 研究方法

(1) がん細胞ゲノムコピー数異常の測定
がん細胞ゲノムコピー数異常はComparative Genomic Hybridization (CGH)法を用いて検出した。パラフィン包埋サンプルへの遺伝子増幅の検出は、TaqMan Copy Number Assaysを用いた。(2) 血中血管新生因子・増殖因子の測定
治療前後の患者血清中の血管新生関連因子（増殖因子・サイトカイン）の定量測定は、Bioplex suspension array systemを用いて行う。

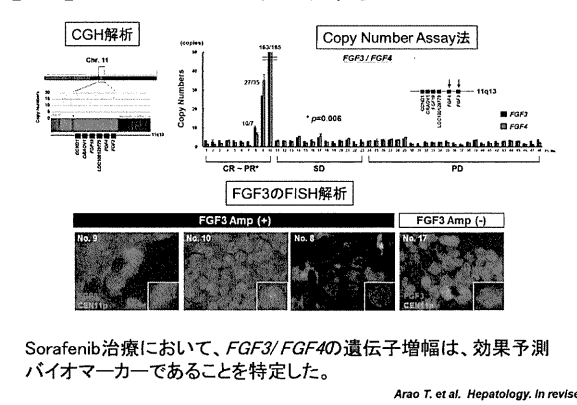
（倫理面への配慮）

本研究では倫理委員会の承認を得た共通プロトコールに基づき、検体提供者に説明し、検体提供者の同意を得る。

C. 研究結果

(1) ソラフェニブ著効例組織の遺伝子解析
ソラフェニブ著効例に対してCGH解析を行ったところ、*FGF3*および*FGF4*を含む染色体11q13の著明な遺伝子増幅を検出した。全国からソラフェニブ著効例を集積し、*FGF3/FGF4*遺伝子増幅の検討を行った。非奏効例38例には認められなかったが、著効例では10例中3例に遺伝子増幅が認められた（ $p=0.006$ 、特願2011-104275、図1）。FISHでも*FGF3/FGF4*領域の遺伝子増幅が確認された。臨床的バイオマーカーとしては、高度肺転移例（ $p=0.006$ ）および低分化型組織型（ $p=0.13$ ）がソラフェニブ著効症例で多く認められた。

【図1】 ソラフェニブ治療の効果予測バイオマーカー



基礎研究では*FGF4*過剰発現細胞株のマウス移植系実験においてソラフェニブ感受性を誘導する結果が得られている。

(2) 血中血管新生因子・増殖因子の測定
12種類の血中血管新生因子の濃度測定を行った。そのうち6種類の増殖因子は、ソラフェニブ治療前後の比較において有意に変動することを示した。

(3) サンプル集積

バイオマーカー研究サンプルの集積は順調に行われている。24年度はすべてのサンプルにCGHおよび血中血管新生因子の解析を行う予定である。

D. 考察

本研究ではじめて特定した肝細胞がんソラフェニブ治療への効果予測バイオマーカーとなる*FGF3/FGF4* 遺伝子増幅は、治療層別化を通じて肝細胞がんの治療成績の向上に貢献できると考えられる。

E. 結論

Sorafenibの感受性規定因子として、*FGF3/FGF4*

遺伝子増幅・肺転移例・低分化型組織型を特定した。血中血管新生因子分子の一部はソラフェニブ治療により有意に変動し、採血によるバイオマーカーとして有望な結果と考えられた。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

論文発表

1. Matsuoka, H., Arao, T., Makimura, C., Takeda, M., Kiyota, H., Tsurutani, J., Fujita, Y., Matsumoto, K., Kimura, H., Otsuka, M., Koyama, A., Imamura, CK., Tanigawara, Y., Yamanaka, T., Tanaka, K., Nishio, K., Nakagawa, K. Expression changes in arrestin β 1 and genetic variation in catechol-O-methyltransferase are biomarkers for the response to morphine treatment in cancer patients. *Oncol Rep*, E-pub ahead of print, 2012.
2. Kaneda, H., Okamoto, I., Sakai, K., Tanizaki, J., Takeda, M., Nishio, K., Nakagawa, K. Marked response to both S-1 and pemetrexed in a patient with echinoderm microtubule-associated protein-like 4-anaplastic lymphoma kinase-positive lung adenocarcinoma. *Acta Oncol*, E-pub ahead of print, 2012
3. Aomatsu, K., Arao, T., Abe, K., Kodama, A., Sugioka, K., Matsumoto, K., Kudo, K., Kimura, H., Fujita, Y., Hayashi, H., Nagai, T., Shimomura, Y., Nishio, K. Slug is upregulated during wound healing and regulates cellular phenotypes in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, E-pub ahead of print, 2012.
4. Tanaka, K., Arao, T., Tamura, D., Aomatsu, K., Furuta, K., Matsumoto, K., Kaneda, H., Kudo, K., Fujita, Y., Kimura, H., Yanagihara, K., Yamada, Y., Okamoto, I., Nakagawa, K., Nishio, K. SRPX2 is a novel chondroitin sulfate proteoglycan that is overexpressed in gastrointestinal cancer. *Plos One*, 7(1): e27922, 2012.
5. Matsumoto, K., Arao, T., Hamaguchi, T., Shimada, Y., Kato, K., Oda, I., Taniguchi, H., Koizumi, F., Yanagihara, K., Sasaki, H., Nishio, K., Yamada, Y. FGFR2 gene amplification and clinicopathological features in gastric cancer. *Br J Cancer*, E-pub ahead or print, 2012.
6. Tanizaki, J., Okamoto, I., Takezawa, K., Sakai, K., Azuma, K., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Hatashita, E., Nishio, K., Janne, PA., Nakagawa, K. Combined effect of ALK and MEK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer cells. *Br J Cancer*, E-pub ahead of print, 2012.
7. Makimura, C., Arao, T., Matsumoto, K., Takeda, M., Kiyota, H., Tsurutani, J., Fujita, Y., Matsumoto, K., Kimura, H., Otsuka, M., Koyama, A., Imamura, CK., Yamanaka, T., Nishio, K., Nakagawa, K. Prospective study evaluating the plasma concentrations of twenty-six cytokines and response to morphine treatment in cancer patients. *Anticancer Res*, 31(12): 4561-8, 2011.
8. Sakamoto, H., Kimura, H., Sekijima, M., Matsumoto, K., Arao, T., Chikugo, T., Yamada, Y., Kitano, M., Ito, A., Takeyama, Y., Kudo, M., Nishio, K. Plasma concentrations of angiogenesis-related molecules in patients with pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol*, 42(2): 105-12, 2012.
9. Arao, T., Matsumoto, K., Megawa, M., Nishio, K. What can and cannot be done using a microarray analysis? Treatment stratification and clinical applications in oncology. *Biol Pharm Bull*, 34(12): 1789-93, 2011.
10. Murakami, H., Tamura, T., Takahashi, T., Nokihara, H., Naito, T., Nakamura, Y., Nishio, K., Seki, Y., Sarashina, A., Shahidi, M., Yamamoto, N. Phase I study of continuous afatinib (BIBW2992) in patients with advanced non-small cell lung cancer after prior chemotherapy/erlotinib/gefitinib (LUX-Lung 4). *Cancer Chemother Pharmacol*, E-pub ahead of print, 2011.
11. Takeda, M., Okamoto, I., Sakai, K., Tanaka, K., Terashima, M., Nishio, K., Nakagawa, K. Successful long-term treatment with pemetrexed of NSCLC associated with EML4-ALK and low thymidylate synthase expression. *Clin Lung Cancer*, E-pub ahead of print, 2011.
12. Furuta, K., Arao, T., Sakai, K., Kimura, H., Nagai, T., Tamura, D., Aomatsu, K., Kudo, K., Kaneda, H., Fujita, Y., Matsumoto, K., Yamada, Y., Yanagihara, K., Sekijima, M., Nishio, K. Integrated analysis of whole genome exon array and array-comparative genomic hybridization in gastric and colorectal cancer cells. *Cancer Sci*, 103(2): 221-7, 2012.
13. Nishio, M., Yamanaka, T., Matsumoto, K., Kimura, H., Sakai, K., Sakai, A., Sone, T., Horiike, A., Koizumi, F., Kasahara, K., Ohira, T., Ikeda, N., Saijo, N., Arao, T., Nishio, K. Serum heparan sulfate concentration is correlated with the failure of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor treatment in patients with lung adenocarcinoma. *J*

- Thorac Oncol, 6(11): 1889-94, 2011.
14. Fujita, Y., Islam, R., Kaneda, H., Kudo, K., Tamura, D., Aomatsu, K., Nagai, T., Kimura, H., Matsutomo, K., Velasco, MA., Arao, T., Okawara, T., Nishio, K. Aza-derivatives of resveratrol are potent macrophage migration inhibitory factor inhibitors. Invest New Drugs, E-pub ahead of print, 2011.
 15. Goto, K., Ichinose, Y., Ohe, Y., Yamamoto, N., Negoro, S., Nishio, K., Itoh, Y., Jiang, H., Duffield, E., McCormack, R., Saijo, N., Mok, T., Fukuoka, M. Epidermal growth factor receptor mutation status in circulating free DNA in serum: from IPASS, a phase III study of gefitinib or carboplatin/paclitaxel in non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol, 7(1): 115-21, 2012.
 16. Yonesaka, K., Zejmullahu, K., Okamoto, I., Satoh, T., Cappuzzo, F., Souglakos, J., Ercan, D., Rogers, A., Roncalli, M., Takeda, M., Fujisaka, Y., Philips, J., Shimizu, T., Maenishi, O., Cho, Y., Sun, J., Destro, A., Taira, K., Takeda, K., Okabe, T., Swanson, J., Shivdasani, RA., Nishio, K., Fukuoka, M., Verella-Garcia, M., Nakagawa, K., Janne, PA. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-derived therapeutic antibody cetuximab. Sci Transl Med, 3(99): 99ra86, 2011.
 17. Kaneda, H., Arao, T., Matsumoto, K., Velasco, MA., Tamura, D., Aomatsu, K., Kudo, K., Sakai, K., Nagai, T., Fujita, Y., Tanaka, K., Yanagihara, K., Yamada, Y., Okamoto, I., Nakagawa, K., Nishio, K. Activin a inhibits vascular endothelial cell growth and suppresses tumor angiogenesis in gastric cancer. Br J Cancer, 5(8): 1210-7, 2011
 18. Arao, T., Matsumoto, K., Furuta, K., Kudo, K., Kaneda, H., Nagai, T., Sakai, K., Fujita, Y., Tamura, D., Aomatsu, K., Koizumi, F., Nishio, K. Acquired drug resistance to vascular endothelial growth factor receptor 2 tyrosine kinase inhibitor in human vascular endothelial cells. Anticancer Res, 31(9): 2787-96, 2011.
 19. Okamoto, W., Okamoto, I., Arao, T., Yanagihara, K., Nishio, K., Nakagawa, K. Differential roles of STAT3 depending on the mechanism of STAT3 activation in gastric cancer cells. Br J Cancer, 105(3): 407-12, 2011.
 20. Kodaera, Y., Katanasaka, Y., Kitamura, Y., Hitoshi, T., Nishio, K., Tamura, T., Koizumi, F. Sunitinib inhibits lymphatic endothelial cell functions and lymph node metastasis in a breast cancer model through inhibition of vascular endothelial growth factor receptor 3. Breast Cancer Res, 13(3): R66, 2011.
 21. Tanizaki, J., Okamoto, I., Fumita, S., Okamoto, W., Nishio, K., Nakagawa, K. Roles of BIM induction and survivin downregulation in lapatinib-induced apoptosis in breast cancer cells with HER2 amplification. Oncogene, 30(39): 4097-106, 2011.
 22. Takezawa, K., Okamoto, I., Okamoto, W., Takeda, M., Sakai, K., Tsukioka, S., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Nishio, K., Nakagawa, K. Thymidylate synthase as a determinant of perimetrex sensitivity in non-small cell lung cancer. Br J Cancer, 104(10): 1594-601, 2011.
 23. Takezawa, K., Okamoto, I., Nishio, K., Janne, P., Nakagawa, K. Role of ERK-BIM and STAT3-survivin signaling pathways in ALK inhibitor-induced apoptosis in EML4-ALK-positive lung cancer. Clin Cancer Res, 17(8): 2140-8, 2011.
 24. Azuma, K., Tsurutani, J., Sakai, K., Kaneda, H., Fujisaka, Y., Takeda, M., Watatani, M., Arao, T., Satoh, T., Okamoto, I., Kurata, T., Nishio, K., Nakagawa, K. Switching addictions between HER2 and FGFR2 in HER2-positive breast tumor cells: FGFR2 as a potential target for salvage after lapatinib failure. Biochem Biophys Res Commun, 407(1): 219-24, 2011.
 25. Yamada, K., Yamamoto, N., Yamada, Y., Nokihara, H., Fujiwara, Y., Hirata, T., Koizumi, F., Nishio, K., Koyama, N., Tamura, T. Phase I dose escalation study and biomarker analysis of E7080 in patients with advanced solid tumors. Clin Cancer Res, 17(8): 2528-37, 2011.
 26. Kato, H., Nishimura, T., Ikeda, N., Yamada, T., Kondo, T., Saijo, N., Nishio, K., Fujimoto, J., Nomura, M., Oda, Y., Lindmark, B., Maniwa, J., Hibino, H., Unno, M., Ito, T., Sawa, Y., Tojo, H., Egawa, S., Emdin, G., Lopez, M., Wigmore, M., Inase, N., Yoshizawa, Y., Nomura, F., Marko-Varga, G. Developments for a growing Japanese patient population: Facilitating new technologies for future health care. J Proteomics, 74(6): 759-64, 2011.
 27. Kashiwagi, E., Izumi, H., Yasuniwa, Y., Baba, R., Doi, Y., Kidani, A., Arao, T., Nishio, K., Naito, S., Kohno, K. Enhanced expression of nuclear factor I/B in oxaliplatin-resistant human cancer cell lines. Cancer Sci, 102(2): 382-6, 2011.
 28. Aomatsu, K., Arao, T., Sugioka, K., Matsumoto, K., Tamura, D., Kudo, K., Kaneda, H., Tanaka, K., Fujita, Y., Shimomura, Y., Nishio, K. TGF- β induces sustained up-regulation of SNAI1 and SNAI2 through Smad and non-Smad pathways in a human corneal epithelial cell line. Invest

学会発表

1. 永井知行、荒尾徳三、松本和子、工藤可苗、木村英晴、藤田至彦、萩原智、櫻井俊治、上嶋一臣、土師誠二、工藤正俊、西尾和人、肝細胞癌におけるTJP-1とTwist発現の肝癌切除後の予後への影響、第70回日本癌学会学術総会、名古屋市、2011.10.
2. 永井知行、荒尾徳三、古田一行、金田裕靖、工藤可苗、青松圭一、田村大介、坂井和子、木村英晴、ソラフェニブは肝細胞癌株のHGF誘導性上皮間葉移行を阻害する、日本がん分子標的治療学会 第15回学術集会、東京都、2011.6.
3. Nagai, T., Arao, T., Matsumoto, K., Kudo, K., Hagiwara, S., Sakurai, T., Ueshima, K., Haji, S., Kudo, M., Nishio, K. Expression levels of EMT-related genes in hepatocellular carcinoma. American Association for Cancer Research 102nd Annual Meeting 2011, Florida, 2011.4.

H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

特許取得

（特許出願）

1. ソラフェニブの効果予測方法、西尾和人、他3名（特願2011-104275）2011年5月9日出願

「進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (Phase III) ならびに効果を予測する biomarker の探索研究」

平成 23 年度 分担研究報告書

肝がんに対する治療法の確立に関する研究

研究分担者 奥坂拓志

国立がんセンター中央病院 肝胆膵内科 第一領域外来部 胆・膵臓科医長

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okusaka T, Furuse J. Session 3: Hepatocellular carcinoma. Chemotherapy and recent clinical trials for HCC in Japan. 2nd Japan-Taiwan Joint symposium on Medical Oncology (Dec12-13, 2009). Journal of the Chinese Oncology Society (JCOS)/ Proc JTJS, 2011, 1:30-35.
2. Okusaka T, Kasugai H, Ishii H, Kudo M, Sata M, Tanaka K, Shioyama Y, Chayama K, Kumada H, Yoshikawa M, Seki T, Saito H, Hayashi N, Shiratori K, Okita K, Sakaida I, Honda M, Kusumoto Y, Tsutsumi T, Sakata K. A randomized phase II trial of intra-arterial chemotherapy using SM-11355 (Miriplatin) for hepatocellular carcinoma. Invest New Drug, 2011 Dec 21. [Epub ahead of print], in press. (2011/11/28)
3. Kanai F, Yoshida H, Tateishi R, Sato S, Kawabe T, Obi S, Kondo Y, Taniguchi M, Tagawa K, Ikeda M, Morizane C, Okusaka T, Arioka H, Shiina S, Omata M. A phase I/II trial of the oral antiangiogenic agent TSU-68 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 67(2):315-324.
4. Totoki Y, Tatsuno K, Yamamoto S, Arai Y, Hosoda F, Ishikawa S, Tsustumi S, Totsuka H, Shirakihara T, Sakamoto S, Ojima H, Shimada K, Kosuge T, Okusaka T, Kato K, Kusuda J, Yoshida T, Aburatani H, Shibata T. High-resolution characterization of a hepatocellular carcinoma genome. Nat Genet, 2011, 43(5): 464-469.
5. Suzuki E, Furuse J, Ikeda M, Ishii H, Okusaka T, Nakachi K, Mitsunaga S, Ueno H, Morizane C. A phase I/II study of combined chemotherapy with mitoxantrone and uracil/tegafur for advanced hepatocellular carcinoma. Jpn J Clin Oncol, 2011, 41(3):328-333.
6. Iwasa S, Ikeda M, Okusaka T, Ueno H,

Morizane C, Nakachi K, Mitsunaga S, Kondo S, Hagihara A, Shimizu S, Satake M, Arai Y. Transcatheter arterial infusion chemotherapy with a fine-powder formulation of cisplatin for advanced hepatocellular carcinoma refractory to transcatheter arterial chemoembolization. Jpn J Clin Oncol, 2011, 41(6):770-775.

7. Kudo M, Imanaka K, Chiba N, Nakachi K, Tak W-Y, Takayama T, Yoon J-H, Hori T, Kumada H, Hayashi N, Kaneko S, Tsubouchi H, Suh DJ, Furuse J, Okusaka T, Tanaka K, Matsui O, Wada M, Yamaguchi I, Ohya T, Meinhardt G, Okita K. Phase III study of sorafenib after trasarterial chemoembolization in Japanese and Korean patients with unresectable hepatocellular carcinoma. Eur J Cancer, 2011, 47(14):2117-2127.

2. 学会発表

1. Okusaka T. (Session IV:Hepatobiliary tumors) Treatment algorithms for HCC Japanese perspective. World Congress on Gastrointestinal Cancer: Asian Perspective, August 26-27, 2001, Seoul, South Korea.
2. Okusaka T, Ikeda M, Ueno H, Morizane C, Mitsunaga S, Nakachi K, Kondo S, Ohno I, Shimizu S, Yamaguchi T, Suzuki T. (ポスター P-208) Phase I/II study of E7080, a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor, in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (HCC); phase I results in child-Pung A (CP-A) pts. International Liver Cancer Association (ILCA) Fifth Annual Conference, Sep.2-4, 2011, Hong Kong.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

平成23年度厚生労働省がん研究助成金「進行・再発肝細胞癌に対する動注化学療法と分子標的薬併用による新規治療法の確立を目指した臨床試験 (Phase III)」ならびに効果を予測する biomarker の探索研究

高感度 AFP-L3 測定によるサーベイランスでの早期段階での肝細胞癌の診断

研究分担者 熊田 卓 大垣市民病院 消化器内科 副院長

研究要旨：2000年1月から2009年12月の間に経験したB型肝炎ウイルス (HBV) キャリアもしくはC型肝炎ウイルス (HCV) キャリア2830例中、3年以上経過観察されかつ血清保存された1214例で経過観察中に114例の肝細胞癌 (HCC) が発生した。この114例と非発生例の1100例で年齢、性、成因 (HBVもしくはHCV)、Child-Pugh分類、血小板、alanine aminotransferase (ALT) の6因子を propensity score法でマッチさせて発癌例104例、非発癌例104例を抽出した。これらの症例の中でHCC診断時 (非発癌例では最終血清保存日)、1年前、2年前、3年前の保存血清で高感度 lens culinaris agglutinin A-reactive α -fetoprotein (AFP-L3分画) を測定した。診断時のHCCの結節径は1.9cm (hinge: 1.5-2.3cm)、単発/多発は72例/32例、TNM分類 I / II / IIIは49例/41例/14例であった。カットオフ値を7%とすると診断1年前の高感度AFP-L3分画の感度は34.3%、特異度74.7%であった。USで所見を認め診断に至った86例中、26.9%で1年前に高感度AFP-L3分画は7%以上となっていた。診断1年前に高感度AFP-L3分画が7%以上となった症例 (n=34) は7%未満の症例 (n=65) に比し有意に予後が不良であった (p=0.0392)。高感度AFP-L3分画は1年前に画像診断等で所見を認めない症例でも34.3%でも陽性等、これらの症例の予後は不良であった。もし診断1年前の時点で高感度AFP-L3分画の陽性症例にMRI等を含めた画像診断を行えば、より早期の発見が可能となり予後の改善が期待される可能性が示された。

共同研究者

豊田秀徳 大垣市民病院消化器科 医長
多田俊史 大垣市民病院消化器科 医長

A. 研究目的

肝細胞癌 (HCC) 診断に腫瘍マーカーとして、 α -fetoprotein (AFP)、lens culinaris agglutinin A-reactive α -fetoprotein (AFP-L3 分画) および DCP (des-gamma-carboxy prothrombin あるいは protein induced vitamin K absence-II: PIVKA II) の3種類が良く用いられている。2009年4月からはAFPとDCPの2つの腫瘍マーカーの同時測定が保険診療上認められ、肝癌診療ガイドライン (2009年版) にも、対象者を高危険群 (B型慢性肝炎、C型慢性肝炎、肝硬変) と超高危険群 (B型肝硬変、C型肝硬変) に分け、前者では6ヶ月に一度の超音波検査と腫瘍マーカー (AFPとAFP-L3%とDCP) の測定を、後者では3-4ヶ月毎の超音波検査と腫瘍マーカーの測定に加え6-12ヶ月毎のCT/MRI検査 (Option) が推奨されている。

これらの腫瘍マーカーは本来 HCC の診断に使用されてきたが、近年、HCC 発生の予知に使用できないか検討されるようになってきた。AFP-L3 分画は AFP の特異性を向上させることを目的として AFP の複合型糖鎖の癌性変化の一つをとらえたものである。従来の測定法では、AFP 低値例 (20ng/mL) での AFP-L3 分画の測定は困難であった。今回われわれは高感度化された全自動蛍光免疫測定装置 (μ TAS Wako i30) を用いて、前年度と同様に HCC 診断前の保存血清を経時的に測定し、その有用性について検討した。

B. 研究方法

B型肝炎ウイルス (HBV) キャリアもしくはC型肝炎ウイルス (HCV) キャリア2830例中、①HBs抗原もしくはHCV抗体が6か月以上陽性、②HCC診断前3年以上経過観察されている、③血清が12か月の間隔で少なくとも2点

以上で保存されている、④発癌例では最大腫瘍径3cm以下3個以下で診断されている、⑤ワーファリンが内服されていないの5点を満たす1214例を対象とした。経過観察中に114例で発癌が認められた。この114例と非発癌例1100例を年齢、性、成因 (HBVもしくはHCV)、Child-Pugh分類、血小板、alanine aminotransferase (ALT) の5因子を propensity score法を用いてマッチさせたところ、発癌群104例、非発癌群104例が抽出された。これらの症例でHCC診断時 (非発癌例では最終血清保存日)、1年前、2年前、3年前の保存血清でAFP、高感度AFP-L3分画、DCPを測定した。

高感度法ではAFP-L1およびL3濃度が0.3ng/mLまで測定可能となった。

C. 研究結果

1) 背景因子

発癌群104例、非発癌群104例の背景因子を示す (表1)。年齢、性、成因、Child-Pugh分類、ALT、血小板に差は認めていない。HCC診断時の腫瘍最大径は1.9cm (hinge 4.5-2.3)、単発72例 (69%)、多発32例 (31%)、stageはIが49例、IIが41例、IIIが14

表1 背景因子

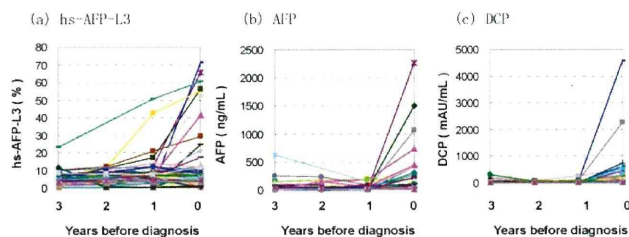
Characteristics		HCC (n=104)	Non-HCC (n=104)	P
Age	Median (Range)	67 (37-81)	68 (14-84)	0.980
Gender	Male / Female	58 (56%) / 46 (44%)	58 (56%) / 46 (44%)	0.889
Etiology	B / C / B+C	14 (13%) / 89 (86%) / 1 (1%)	14 (13%) / 89 (86%) / 1 (1%)	1.000
Child-Pugh classification	A / B / C	82 (79%) / 18 (17%) / 4 (4%)	84 (81%) / 17 (16%) / 3 (3%)	0.907
ALT (IU/L)	Median (Range)	49 (7-361)	46 (12-321)	0.582
Platelet (x10 ⁴ /mm ³)	Median (Range)	10.1 (3.2-34.0)	12.1 (2.1-41.4)	0.150
Tumor size (cm)	Median (25%, 75% quartile)	1.9 (1.5, 2.3)	NA	NA
Tumor number	Single / Multiple	72 (69%) / 32 (31%)	NA	NA
TNM stage	I / II / III	49 (47%) / 41 (39%) / 14 (14%)	NA	NA

例であった。

2) 発癌例、非発癌例での腫瘍マーカーの推移

発癌群 104 例の高感度 AFP-L3 値と AFP 値と DCP 値はそれぞれ 3 年前で 5.0% (0.5-23.1) と 10.3ng/mL (0.8-627.1) と 15mAU/mL (5-304)、2 年前で 5.1% (0.5-11.9) と 11.1ng/mL (0.5-238.9) と 17mAU/mL (5-91)、1 年前で 6.0% (0.5-50.6) と 10.3ng/mL (0.7-183.7) と 17mAU/mL (6-235)、診断時で 5.4% (0.5-71.3) と 13.1ng/mL (0.7-2260.1) と 24mAU/mL (6-4560) であった (図 1)。

図1 発癌例での腫瘍マーカーの推移



一方、非発癌例では高感度 AFP-L3 値と AFP 値と DCP 値で大きな変化は認めなかった (図 2)。

図2 非発癌例での腫瘍マーカーの変化

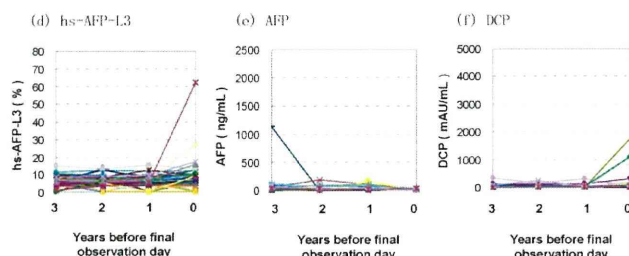


表2 診断時の腫瘍マーカーの感度、特異度

Analyte	Cutoff	Sensitivity	Specificity
hs-AFP-L3	7%	39.4%	77.0%
	10%	16.3%	96.0%
	15%	11.5%	100.0%
AFP	200 ng/mL	12.5%	99.0%
DCP	40 mAU/mL	34.6%	94.0%
All biomarkers	7% + 200 ng/mL + 40 mAU/mL	60.6%	76.0%

3) 診断時における腫瘍マーカーの感度・特異度 (表 2)

高感度 AFP-L3 のカットオフ値を 7%、10%、15% とすると感度と特異度はそれぞれ 39.4% と 77.0%、16.3% と 96.0%、11.5% と 100.0% であった。このため 7% をカットオフ値として採用した。一方 AFP のカットオフ値を 200ng/mL とすると感度は 12.5%、特異度は 99.0% であった。また DCP のカットオフ値を 40mAU/mL とすると感度は 34.0%、特異度は 94.0% であった。

4) 診断前の各種腫瘍マーカーの感度・特異度

高感度 AFP-L3 分画の診断 3 年前、2 年前、1 年前の感度と特異度はそれぞれ 24.5% と 77.0%、25.3% と 80.6%、34.3% と 74.7% であった。高感度 AFP-L3 分画は 1 年前で 34.3% が陽性であった。一方 AFP および DCP の感度は 1 年前で低率であった。

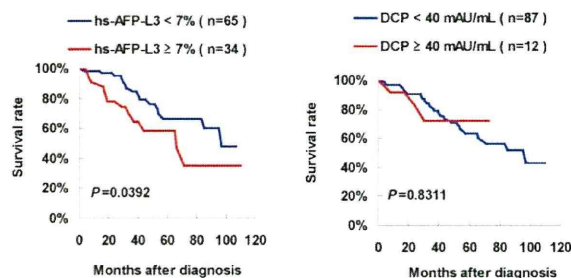
表3 診断前の腫瘍マーカーの感度、特異度

Analyte	Year	Sensitivity	Specificity
hs-AFP-L3 ≥ 7%	-1	34.3%	74.7%
	-2	25.3%	80.6%
	-3	24.5%	77.0%
AFP ≥ 200 ng/mL	-1	0.0%	100.0%
	-2	1.1%	100.0%
	-3	3.2%	99.0%
DCP ≥ 40 mAU/mL	-1	12.1%	93.9%
	-2	8.4%	94.9%
	-3	4.3%	94.0%

5) 診断1年前の腫瘍マーカー値による予後の比較 (図3)

診断 1 年前に高感度 AFP-L3 分画が 7% 以上となった症例 (n=34) は 7% 未満の症例 (n=65) に比し有意に予後が不良であった (p=0.0392)。一方、DCP 40mAU/mL 以上の症例 (n=12) と DCP 40mAU/mL 未満の症例 (n=87) の間には予後に差は認めなかった。

図3 診断1年前の腫瘍マーカー値による予後比較



6) HCCを疑いMRIを行うきっかけとなった理由と1年前診断時の高感度AFP-L3分画 (表4)

定期的に超音波検査 (US) が施行され、肝腫瘍性病変のサイズの増大を認め MRI が施行され HCC と診断された症例 54 例中 27.7% です。すでに高感度 AFP-L3 分画は 1 年前に陽性であった。同様にサイズの変化を認めた 18 例中 16.7% に、エコーパターンの変化した 17 例中

50.0%に高感度AFP-L3分画は1年前に陽性で、全体としては85例中29.6%に陽性率であった。

表4 HCCを疑いMRIのきっかけとなった理由と高感度AFP-L3分画

Triggers to perform MRI	n	hs-AFP-L3 >7%	hs-AFP-L3 >7%
		at -1 year	at diagnosis
(a) Ultrasound	86	29.6%	36.0%
Increase of the tumor number	51	27.7%	39.2%
Increase of the tumor size	18	16.7%	11.1%
Change of the echo pattern in nodules	17	50.0%	52.9%
(b) Biomarkers	5	80.0%	60.0%
(c) Others	13	46.2%	53.8%

E. 結論

高感度AFP-L3分画の測定法が開発され、従来測定信頼性が低かったAFP低濃度域（AFP20ng/mL未満）でのAFP-L3%の測定が可能となった。この方法を用いて1年前のAFP-L3値から発癌予測を試みた。

- ① 高感度AFP-L3分画は1年前にUS等の画像診断で診断し得なかった症例でも34.3%でも陽性で、特異度は74.3%であった。
- ② 診断1年前に高感度AFP-L3分画が7%以上となった症例（n=34）の予後は7%未満の症例（n=65）に比し有意に不良であった。

以上から、たとえUSで変化が認められなくてもAFP-L3の上昇を認める症例では積極的にMRI等の画像診断を行い、早期診断に努めることが予後不良である高感度AFP-L3分画高値HCCの治療成績の改善につながると期待された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanke F, Kumada T, Toyoda H, Satomura S. Reference change values for *lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in patients with chronic hepatitis C. Clin Chem Lab Med (in press).
2. Toyoda H, Kumada T. Incidence of HCC and response to IFN therapy in HCV-infected patients: effect of factors associated with the therapeutic response and incidence of HCC. Liver Int (in press).
3. Hayashi K, Katano Y, Kuzuya T, Tachi Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Prevalence of hepatitis C virus genotype 1a in Japan and correlations of mutations in the NS5A region and single-nucleotide polymorphism of

interleukin 28B with the response to combination therapy with pegylated-interferon-alpha2b and ribavirin. J Med Virol (in press).

4. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Sone Y, Fujimori M. Transarterial chemoembolization for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma: improved survival following concomitant treatment with nucleoside analogues. J Vasc Intervent Radiol (in press).
5. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Predictive value of early viral dynamics during peginterferon and ribavirin combination therapy based on genetic polymorphisms near *IL28B* gene in patients infected with HCV genotype 1b. J Med Virol 2012; 84: 61-70.
6. Toyoda H, Kumada T, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T. Markedly lower follow-up rate after liver biopsy in patients with non-alcoholic fatty liver diseases than those with viral hepatitis in Japan. BMC Res Note 2011; 4: 341.
7. Toyoda H, Kumada T, Tada T. Highly sensitive *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein (hs-AFP-L3): a new tool for the management of hepatocellular carcinoma. Oncology 2011; 81: S61-S65.
8. Matsushima-Nishiwaki R, Adachi S, Yoshioka T, Yasuda E, Yamagishi Y, Matsuura J, Muko M, Iwamura R, Noda T, Toyoda H, Kaneoka Y, Okano Y, Kumada T, Kozawa O. Suppression by heat shock protein 20 of hepatocellular carcinoma cell proliferation via inhibition of the mitogen-activated protein kinases and AKT pathways. J Cell Biochem 2011; 112: 3430-3439.
9. Toyoda H, Kumada T. Favorable association between genetic polymorphisms near the *IL28B* gene and hepatic steatosis: direct or indirect? J Hepatol 2012; 56: 738-739.
10. Hayashi K, Katano Y, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Ishikawa T, Nakano I, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Association between interleukin 28B and mutations in the core & NS5A region of hepatitis C virus with response to peg-interferon and ribavirin therapy. Liver Int 2011; 31: 1359-1365.
11. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A. Characteristics and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after the year 2000 in Japan. J Gastroenterol Hepatol 2011; 26: 1765-1771.
12. Toyoda H, Kumada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the *IL28B* gene. J Med Virol 2011; 83: 1559-1564.

13. Onomoto K, Morimoto S, Kawaguchi T, Toyoda H, Tanaka M, Kuroda M, Uno K, Kumada T, Matsuda F, Shimotohno K, Fujita T, Murakami Y. Dysregulation of FIN system can lead poor response to pegylated interferon and ribavirin therapy in chronic hepatitis C. PLoS ONE 2011; 6: e19799.
14. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kawaguchi T, Murakami Y, Matsuda F. Impact of genetic polymorphisms near the *IL28B* gene and amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region on interferon sensitivity/resistance in patients with chronic hepatitis C. J Med Virol 2011; 83: 1203-1211.
15. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A, Kanke F, Satomura S. Clinical utility of high sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein level less than 20 ng/mL. Cancer Sci 2011; 102: 1025-1031.
16. Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, Maeda A. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region are associated with post-operative recurrence and survival of patients with HCV genotype 1b-associated hepatocellular carcinoma. Ann Surg 2011; 254: 326-332.
17. Kumada T, Toyoda H, Arakawa T, Sone Y, Fujimori M, Ogawa S, Ishikawa T. Evolution of hypointense hepatocellular nodules observed only in the hepatobiliary phase using Gd-EOB-DTPA enhanced magnetic resonance imaging. Am J Roentgenol 2011; 197: 58-63.
18. Kumada T, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J, Yoshizawa H. Predictive value of tumor markers for hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus. J Gastroenterol 2011; 46: 536-544.
19. Kudo M, Hatanaka K, Kumada T, Toyoda H, Tada T. Double contrast ultrasound: a novel surveillance tool for hepatocellular carcinoma. Am J Gastroenterol 2011; 106: 368-370.
20. Toyoda H, Kumada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Arakawa T, Fujimori M, Niinomi T, Ando N, Yasuda S, Sakai K, Kimura J. High ability to predict the treatment outcome of peginterferon and ribavirin combination therapy based on the reduction in HCV RNA levels at 4 weeks after starting therapy and amino acid substitutions in hepatitis C virus in patients infected with HCV genotype 1b. J Gastroenterol 2011; 46: 501-509.
21. Toyoda H, Kumada T, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Hosokawa T, Arakawa T, Fujimori M. Outcome in partial early virologic responders to combination therapy with peginterferon and ribavirin in patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. J Med Virol 2011; 83: 101-107.
22. Hayashi K, Katano Y, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Mutations in the core and NS5A region of hepatitis C virus genotype 1b and correlation with response to pegylated-interferon-alpha 2b and ribavirin combination therapy. J Viral Hepat 2011; 18: 280-286.
23. 豊田秀徳、熊田卓：C型肝炎のすべて2012 HCVと発癌 HCV治療後発癌 肝・胆・膵 2011； 63：1009-1014.
24. 多田俊史、熊田卓、桐山勢生、谷川誠、久永康宏、豊田秀徳、金森明 【混合型肝癌および胆管形質を示す肝細胞癌：肝ステム細胞のインパクト】 混合型肝癌(肝癌取扱い規約を中心に)疫学臨床 混合型肝癌の臨床・生化学的特徴 肝・胆・膵 2011； 63：573-582.
25. 坂井圭介、熊田卓、豊田秀徳、桐山勢生、谷川誠、久永康宏、金森明、多田俊史、新家卓郎、安東直人、安田諭、安藤祐資、山本健太、木村純 【B型肝炎に対する新治療戦略】 肝発癌を視野に入れたB型肝炎の治療戦略 消化器内科 2011； 53：326-330.
26. 多田俊史、熊田卓、桐山勢生、谷川誠、豊田秀徳、久永康宏、金森明、曾根康博、小川定信 【肝細胞癌の化学療法-分子標的治療の進歩と効果判定】 各論 肝細胞癌の化学療法の治療効果判定 Dynamic MRIによる治療効果判定：肝胆膵画像 2011； 13：619-626.
27. 熊田卓、豊田秀徳、多田俊史 【肝炎・肝癌の新しい診断と治療】 (Session 3)C型肝炎 高齢者C型肝炎ではALT低値、血小板高値でも発癌する 犬山シンポジウム 2011； 28回：125-130.
28. 熊田卓、豊田秀徳、多田俊史 【早期肝細胞癌：病理と画像のinterplay】 早期肝細胞癌の治療の開始時期について 肝臓 2011； 52：441-448.
29. 竹島賢治、高橋健一、乙部克彦、加藤廣正、今吉由美、川島望、坂野信也、熊田卓、豊田秀徳、多田俊史、安東直人 【肝疾患における最新の超音波診断】 肝臓の精密診断 肉眼型・分化度・進展度診断 結節型肝細胞癌のBモード所見および造影超音波による造影パターンと肉眼所見の対比 Rad Fan 2011； 9：66-68.
30. 多田俊史、熊田卓、豊田秀徳、竹島賢治、小川定信、高田賢 【All About Gd-EOB-DTPA MRI】 Gd-EOB-DTPA造影MRI・微小肝細胞癌の検出能について 臨床画像 2011； 27：310-317.
31. 乙部克彦、竹島賢治、今吉由美、高橋健一、丹羽文彦、坂野信也、奥村恭己、熊田卓、豊田秀徳 脂肪肝の超音波所見のスコア化と肝生検組織像との比較 日本病院会雑誌 2011； 58：178-181.