

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。これまでにIFNの肝癌に対する抗腫瘍効果について検討しIFNの抗腫瘍効果の機序として血管新生抑制を含む間質への作用の重要性を報告した。またマウス担癌モデルに対し、血管新生を主要なターゲットとする分子標的薬SorafenibとIFNを単独あるいは併用投与してその抗腫瘍効果を検討し、両者の併用投与によってその効果は増強されることを報告した。

本年度は*in vivo*におけるIFNによるSorafenibの抗腫瘍効果増強の機序についての検討を行い、Sorafenib単独の場合に比して、IFNの併用によってアポトーシス関連遺伝子群の発現増強と、同時に血管新生や細胞増殖シグナル関連遺伝子群の発現低下を生じることを明らかにした。また肝癌細胞を用いた*in vitro*での検討でも、IFNはSorafenibの有する抗腫瘍効果機序を増幅、特に遺伝子発現抑制を介する作用を増幅させることが示唆された。以上の結果から、肝癌に対する両薬剤の併用療法はSorafenibの効果を増強させ、有効な治療となることが期待できる。

共同研究者

榎本平之 兵庫医科大学肝胆膵科 講師

辻村 亨 兵庫医科大学分子病理部門 教授

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増殖抑制作用と血管新生抑制作用が考えられているが、一昨年われわれはIFNの肝癌に対する抗腫瘍効果に関して *in vitro*および *in vivo*で検討を行い、血管新生抑制作用の重要性を報告した。また昨年度は、その結果に基づいて血管新生を主要なターゲットとする分子標的薬（Sorafenib）とIFNとの併用による抗腫瘍効果増強の可能性について検討を行い、*in vivo*モデルでIFNとSorafenibの併用投与で腫瘍壊死が増強されることを報告した。

これらの結果から、本年度はSorafenib

にIFNを併用することで抗腫瘍効果が増強される機序について検討を行った。

B. 研究方法

ヒト肝癌細胞株 Hep3B 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、移植 5 週間後から 2 週間連続で Sorafenib (経口投与) 単剤投与、あるいは Sorafenib (経口投与) と IFN (腫瘍近傍へ注入) を併用投与した。その後腫瘍を摘出して total RNA を抽出し、発現遺伝子の差異について検討を行った。なお昨年までの検討から、この *in vivo* モデルは主に腫瘍間質への IFN の作用に関して調べることを意味する。しかしながら実際のヒトでの臨床応用を考えると肝癌細胞に対する IFN の作用についても考える必要がある。そこで更に IFN の肝癌細胞に対する抗腫瘍効果の機序について、Sorafenib の作用との関連を含め *in vitro* で検討を行った。Hep3B 細胞に *in vitro* で Sorafenib または IFN を作用させ、24 時間後に total RNA を抽出してこれらの薬剤によって発現が変動する遺伝子について検討した。なお本研究は遺伝子実験および動物実験委員会の審査・承認を受けて行われている。

C. 研究結果

肝癌由来 Hep3B 細胞を培養し、SCID マウスの皮下に移植して腫瘍を形成させ、移植 5 週間後から 2 週間連続で①Sorafenib を単剤投与あるいは②Sorafenib+IFN の併用投与を行った。これら両群の腫瘍組織を摘出し、BRB-Array Tools Version: 4.1.0167 を用いて各種シグナル伝達経路

における遺伝子群の発現について解析したところ、そのうち 22 の経路 pathway において発現遺伝子群の有意な差が認められた。

図 1 に主な増強あるいは減弱するシグナル伝達経路を示すが、Sorafenib+IFN 併用群では、Sorafenib 単剤投与群に比してアポトーシス関連遺伝子群の発現亢進が認められ、一方で細胞増殖関連遺伝子群や VEGF の血管新生関連遺伝子群の減弱が認められた。したがって *in vivo* の xenograft モデルに対する腫瘍間質・血管新生を標的とした IFN の作用は、アポトーシス誘導や VEGF シグナルの抑制という Sorafenib の作用機序を増強して抗腫瘍効果を高めることが考えられた。

Pathway 名称	遺伝子数	シグナル	P値
Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	57	増強	< 0.005
Apoptosis	81	増強	< 0.005
Cytokine-cytokine receptor interaction	175	減弱	< 0.005
Streptomycin biosynthesis	10	減弱	< 0.005
2,4-Dichlorobenzoate degradation	5	減弱	< 0.005
Type II diabetes mellitus	43	減弱	< 0.005
Insulin signaling pathway	136	減弱	< 0.005
Colorectal cancer	84	減弱	< 0.005
Inositol phosphate metabolism	46	減弱	< 0.005
Fc epsilon RI signaling pathway	70	減弱	< 0.005
Adherens junction	80	減弱	< 0.005
VEGF signaling pathway	71	減弱	0.035
MAPK signaling pathway	270	減弱	0.035

図 1 Sorafenib の単剤投与と IFN の併用投与の両者において遺伝子群の発現の差が認められる主なシグナル伝達経路

ところで実際のヒト肝癌症例への治療応用を考えると、マウスモデルとは異なり IFN は腫瘍間質の細胞以外に肝癌細胞に対しても作用する。したがって肝癌細胞に対する IFN の作用についても検討が必要であるため、Sorafenib の作用との関連を含めて *in vitro* での検討を行った。

Hep3B 細胞を *in vitro* で培養して

Sorafenib と IFN を各々24時間作用させ、採取した細胞の遺伝子発現パターンを検討したところ、Sorafenib および IFN によって2倍以上に発現誘導される遺伝子群が、各々124個と25個同定された(図2)。また Sorafenib および IFN によって2分の1以下に発現抑制される遺伝子群については、各々80個と38個同定された(図3)。興味深いことに、IFN で発現誘導される遺伝子は、Sorafenib で誘導される遺伝子と一つも一致しなかった(図2)。一方で IFN によって抑制される38個の遺伝子のうち、大部分の30個については Sorafenib によっても抑制される遺伝子であった(図3)。

以上の *in vitro* の検討からは、IFN は肝癌細胞に対しては Sorafenib とは異なる遺伝子群の誘導を介した作用を有する一方で、Sorafenib と共通した遺伝子群の抑制作用を示すことも示唆された。

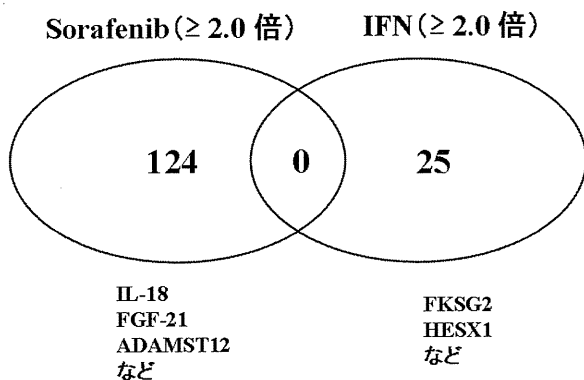


図2 Sorafenib と IFN によって2倍以上の発現が上昇した遺伝子群

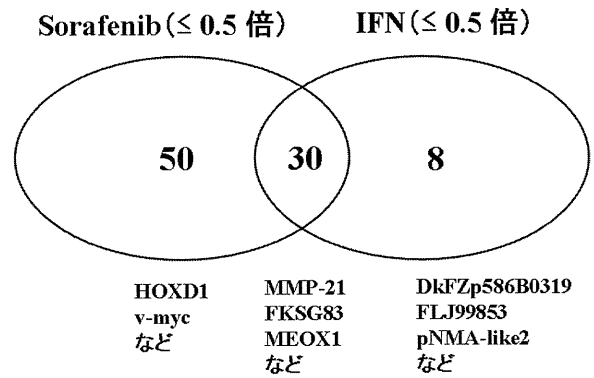


図3 Sorafenib と IFN によって0.5倍以下に発現が低下した遺伝子群

D. 考察

一昨年度の検討から、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肝癌細胞の増殖抑制作用との両者が存在すること、しかしながら直接的な肝癌細胞の増殖抑制作用以上に、血管新生抑制を含む間質への作用が重要であることを報告した。そしてその成果に基づき昨年度は IFN と分子標的薬(血管新生阻害剤)の併用実験を行い、抗腫瘍効果増強の可能性の検討を示した。本年度はさらに Sorafenib と IFN の併用で認められた *in vivo* モデルでの間質を標的とした抗腫瘍効果に関する機序を明らかにすることを目指し、まず遺伝子発現パターンの検討を行った。

肝癌由来の Hep3B 細胞を移植する Xenograft モデルにおいて Sorafenib に IFN を併用した場合、血管新生を含む間質への作用としてアポトーシス関連遺伝子の増強や血管新生シグナル・細胞増殖シグナルの抑制が認められた。すなわち IFN の併用によって、血管新生を中心とした間質に対する Sorafenib の抗腫瘍効果機序が増強

されることが考えられた。

一方肝癌細胞に対する IFN の効果についての *in vitro* での検討から、IFN は肝癌細胞に対しては Sorafenib とは異なる遺伝子群の誘導を介した作用と、Sorafenib と共通した遺伝子群の抑制作用を有することが示唆された。すなわち IFN は肝癌細胞に対して独自の作用に加え、Sorafenib の作用機序（抑制シグナル）を高める作用を有することが示唆された。以上から IFN は肝癌細胞に対しても Sorafenib の抗腫瘍効果を高めることができる可能性があると考えられる。

肝細胞癌と同じく多血性の腫瘍である腎癌においては、肝癌に先行して Sorafenib の有効性が確立され、更に Sorafenib+IFN による臨床効果の増強も既に報告されて臨床応用されている。これまでの検討で Sorafenib と IFN の併用療法の肝癌における有効性を示唆する知見が得られたため、腎癌症例と同様の臨床応用を目指したいと考えている。また IFN による抗腫瘍効果について更に詳細な機序の解明を進めていきたい。

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 は腫瘍間質に対しては Sorafenib の作用機序を増強させた。また肝癌細胞に対しては、Sorafenib と異なる遺伝子誘導作用を示す一方で、Sorafenib の遺伝子抑制シグナルを増強させる作用も有すると考えられた。以上の結果から IFN は Sorafenib の作用を増強させることが考えられ、これらの薬剤による併用療法の有

用性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimomura S, Ikeda N, Saito M, Ishii A, Takashima T, Sakai Y, Yoshikawa S, Aizawa N, Tanaka H, Imanishi H, Iwata Y, Enomoto H, Nishiguchi S. Long-term interferon therapy after radiofrequency ablation is effective in treating patients with HCV-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology International*, 5: 559-66, 2011.
- 2) Enomoto H., Nakamura H., Nishiguchi S., Role of Hepatoma-derived Growth Factor(HDGF) in Hepatocellular carcinoma. *Current Research in Gastroenterology & Hepatology*, 5: 19-26, 2011.
- 3) Enomoto H., Nakamura H., Nishiguchi S., The Role of Hepatoma-derived Growth Factor(HDGF) in cancer development and progression. *Current Research in Cancer*, 5: 11-25, 2011.
- 4) Shimomura S., Nishiguchi S., Anticarcinogenic impact of interferon therapy on the progression of hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral infection. *Hepatology Res.* 42: 22-32, 2012.
- 5) Tanaka H., Iijima H., Nouse K., Aoki N., Iwai T., Takashima T., Sakai Y., Aizawa N., Iwata K., Ikeda N., Iwata Y., Enomoto H., Saito M., Imanishi H., Nishiguchi S., Cost-effectiveness analysis on the surveillance for hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis patients using contrast-enhanced ultrasonography. *Hepatology Res.* (*in press*)

2. 学会発表

- 1) Enomoto H, Nakamura H, Imanishi H, Iwai T, Takashima T, Aizawa N, Sakai Y, Iwata K, Ikeda N, Tanaka H, Iwata Y, Saito M, Iijima H, Nishiguchi S. Hepatoma-derived growth factor as a potential target molecule for the treatment of hepatocellular carcinoma. The 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2011) 2011. Nov. San Francisco.
- 2) Tanaka H, Iijima H, Higashiura A, Aizawa N, Ikeda N, Enomoto H, Iwata Y, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Hirota S, Nishigami T, Tujimura T, Fujimoto J, Nishiguchi S. Prediction of portal venous invasion by malignant grading system for Hepatocellular carcinoma using Sonazoid contrast enhanced ultrasonography. 12th International symposium on ultrasound contrast imaging 2010.12 Tokyo.
- 3) 下村壯治, 池田直人, 西口修平. C型関連肝癌RFA後のインターフェロン長期投与による再発抑制効果. 日本消化器病学会第94回近畿支部例会 2011.2 大阪.
- 4) 田中弘教, 飯島尋子, 高田亮, 岩井孝史, 高嶋智之, 坂井良行, 會澤信弘, 岩田一也, 池田直人, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 西口修平. 分子標的治療投与時の造影超音波によるモニタリング法の試み. 日本消化器病学会近畿支部第95回例会 2011.8 大阪.
- 5) 會澤信弘, 森脇英一朗, 岩井孝史, 高嶋智之, 坂井良行, 池田直人, 田中弘教, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 藤元治朗, 西口修平. 慢性肝疾患組織におけるミトコンドリア遺伝子異常と肝発癌. 第97回日本消化器病学会総会 2011.5 東京.
- 6) 榎本平之, 會澤信弘, 西口修平. C型慢性肝炎組織に生じるミトコンドリア遺伝子異常と発癌に関する検討. 第47回日本肝臓学会総会 2011.6 東京.
- 7) 榎本平之, 中村秀次, 今西宏安, 齋藤正紀, 岩田恵典, 池田直人, 會澤信弘, 岩井孝史, 森脇英一朗, 高嶋智之, 坂井良行, 田中弘教, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 肝癌細胞増殖因子と血管新生因子としてのHepatoma-derived growth factor:治療標的の可能性に関する検討. 第47回日本肝臓学会総会 2011.6 東京.
- 8) 高嶋智之, 會澤信弘, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 飯島尋子, 金守良, 井本勉, 城村尚登, 奥新浩晃, 菅野雅彦, 二宮俊明, 大岡照二, 瀬戸靖, 廣田誠一, 西口修平. Peg-IFN+RBV併用療法後の天然型IFN α 少量長期投与によるHCV再燃と肝発癌の抑制効果に関する検討. 第47回日本肝臓学会総会 2011.6 東京.
- 9) 田中弘教, 飯島尋子, 森脇英一朗, 岩井孝史, 高嶋智之, 坂井良行, 會澤信弘, 池田直人, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西口修平. 造影超音波検査を用いた分子標的薬の早期治療効果予測の試み. 第47回日本肝臓学会総会 2011.6 東京.
- 10) 會澤信弘, 岩田恵典, 西口修平. C型慢性肝炎組織に生じるミトコンドリア遺伝子異常と発癌に関する検討. 第53回日本消化器病学会大会 2011.10 福岡.

11) 田中弘教, 飯島尋子, 西口修平. 造影超音波による簡便な分子標的治療薬効果判定法の試み. 第53回日本消化器病学会大会 2011.10 福岡.

12) 高嶋智之, 田中弘教, 高田亮, 岩井孝史, 坂井良行, 會澤信弘, 岩田一也, 池田直人, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 飯島尋子, 西口修平. PET-CTがソラフェニブの早期治療効果判定に有用であった1例. 第39回日本肝臓学会西部会 2011.12 岡山.

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

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

工藤 正俊 近畿大学医学部消化器内科 教授

研究要旨： 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ことを目的として、原発性肝癌患者を対象とし、組織および血液を採取し、上皮間葉移行に着目、遺伝子検索を行い予後関連因子を見出した。

A. 研究目的

原発性肝癌（肝細胞癌）の予後予測因子として上皮間葉移行（Epithelial-Mesenchymal transition 以下、EMT）に着目した。EMTは癌の進行、転移において重要な役割を果たすと考えられている。しかし、EMTと肝細胞癌の進行との関係はまだ十分解明されていない。

B. 研究方法

今回、2005年から2010年までに当院外科で施行された肝細胞癌切除症例（n=72）の臨床検体を用いて、患者の臨床背景、EMT 関連因子（CDH1，CDH2，Snail，Slug，ZEB1，ZEB2，TWIST，Vimentin，Fibronectin，DDR2，S100A4，TJP-1，FOXC2，SIX1，GSC）の mRNA 発現レベルと肝細胞癌術後の recurrence-free survival（RFS）と overall survival（OS）との関係を解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は、近畿大学遺伝子倫理委員会の承認を得て施行した。

C. 研究結果

多変量解析において、RFS における独立規定因子は AFP（ $p=0.0002$ ）と TWIST（ $p=0.004$ ）の2因子であった。OS における独立規定因子は TNM stage（ $p=0.041$ ）、組織型（ $p=0.013$ ）、PIVKA-II（ $p=0.023$ ）、TWIST（ $p=0.007$ ）、TJP-1（ $p=0.029$ ）の5因子であった。

D. 考察

EMT 関連因子として TWIST と TJP-1 は、肝細胞癌術後の予後予測に有用である。

E. 結論

EMT 関連因子として TWIST と TJP-1 は、肝細胞癌術後の予後予測に有用であると同時に肝細胞癌術後の予後に対して、新しいバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Nagai T, Arao 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 K, Arao 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.
 - 3) Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Digest Dis*29: 273-277, 2011.
 - 4) Kudo M: Signaling pathway and molecular-targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *Digest Dis*29: 289-302, 2011.
 - 5) Kudo M: mTOR inhibitor for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Digest Dis*29: 310-315, 2011.
 - 6) Kudo M: Future treatment option for hepatocellular carcinoma: a focus on brivanib. *Digest Dis*29: 316-320, 2011.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) Kudo M: Hepatocellular Carcinoma in 2011 and Beyond: From the Pathogenesis to Molecular Targeted Therapy. *Oncology*81(suppl 1):1-10, 2011.
 - 10) Sakurai T, Kudo M: Signaling pathways governing tumor angiogenesis. *Oncology*81(suppl 1):24-29, 2011.
 - 11) Kudo M: Adjuvant therapy after curative treatment for hepatocellular carcinoma. *Oncology*81(suppl 1):50-55, 2011.
 - 12) Kudo M: Diagnostic imaging of hepatocellular carcinoma: Recent progress. *Oncology*81(suppl 1):73-85, 2011.
 - 13) 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(suppl 1):152-157, 2011.
 - 14) 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(suppl 1):158-164, 2011.
 - 15) Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Nakajima T, Ando K, Fukuda K,

- Otono Y, Kim KI, Ohtani A, Sugimoto K, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Hotta H, Maekawa Y, Hayashi Y, Kudo M: Correlation between insulin resistance and outcome of peginterferon and ribavirin therapy, hepatic steatosis, hepatic fibrosis in chronic hepatitis C-1b and high viral load. *Digestion* 84(suppl 1):5–9, 2011.
- 16) Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: Sorafenib and beyond. *Curr Cancer Drug Tar*, 2011(in press)
- 17) Sherman M, Chen M, Chen P-J, Colombo M, Cui B, Johnson P, Kudo M, ParkJ-W, Roberts L, Schwartz M, Therneau T, Degos F, Harmsen S, Orsini L: The HCC BRIDGE study: Design of a longitudinal cohort study in hepatocellular carcinoma. *Liver Int*, 2011(in press)
- 18) Inaba Y, Kanai F, Aramaki T, Yamamoto T, Tanaka T, Yamakado K, Kaneko S, Kudo M, ImanakaK, Kora S, Nishida N, Kawai N, Seki H, Arioka H, Arai Y: A randomized phase II study of TSU-68 in patients with hepatocellular carcinoma treated by transarterial chemoembolization. *Jpn J Clin Oncol*, 2011 (in press)
- 2) 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. AACR 102th Annual Meeting 2011, Florida, USA, April 2-6, 2011.
- 3) Nagai T, Arao T, Matsumoto K, Kudo K, Kimura H, Fujita Y, Hagiwara S, Sakurai T, Ueshima K, Haji S, Kudo M, Nishio K: Impact of TJP-1 and TWIST expression on post-operative prognosis in hepatocellular carcinoma. 70th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Nagoya, Japan, October 3-5, 2011.
- 4) Nagai T, Arao T, Matsumoto K, Fujita Y, Hayashi H, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Ueshima K, Haji S, Kudo M, Nishio K: Prognostic impact of EMT-related genes on post-operative prognosis in hepatocellular carcinoma. AACR 103rd Annual Meeting 2011, Chicago, USA, March 31- April 4, 2012.
2. 学会報告
- 1) Kimura H, Sakamoto H, Nagai T, Kudo K, Furuta K, Arao T, Kitano M, Kudo M, Nishio K: Serum concentrations of Angiogenesis-related molecules in Patients with Pancreatic Cancer. AACR 102th Annual Meeting 2011, Florida, USA, April 2-6, 2011.
- 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

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 岐阜大学医学部大学院・消化器病態学 教授

研究要旨：レチノイド核内受容体RXRのリン酸化修飾に伴う機能不全は、肝発癌に深く関与しており、RXRを分子標的とする非環式レチノイドは、肝発癌抑制薬として臨床応用が期待されている。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。本研究において、非環式レチノイドと核内受容体FXRの合成リガンドであるGW4064、および非代償性肝疾患患者の栄養・代謝異常を改善する分岐鎖アミノ酸の併用療法が、RXRのリン酸化修飾を解除しその機能を回復することで、肝癌細胞の増殖を相乗的に抑制することが明らかになった。非環式レチノイドを単剤、あるいは併用化学肝発癌予防のkey drugとして積極的に用いることで肝発癌が抑制され、慢性肝疾患患者の予後が改善されることが期待される。

A. 研究目的

レチノイド核内受容体RXR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。RXRを標的分子とする非環式レチノイドは、肝発癌予防薬として臨床応用が期待されている。本研究は、非環式レチノイドをkey drugとした併用肝発癌化学予防の有効性を検討し、相乗効果を発揮する新規肝発癌予防法(薬)を開発することを目的とする。また肝発癌に関与する肥満に関連したbiomarkerを明らかにし、肥満関連分子異常を標的とした肝発癌予防法の可能性について検討する。

B. 研究方法

基礎研究として、ヒト肝癌細胞を非環式レチノイドと核内受容体FXRの合成リガン

ドであるGW4064で併用処理し、細胞増殖抑制効果について検討した。また肝癌細胞移植片モデルを用いて、肥満を合併した非代償性肝疾患患者の肝発癌を抑制する分岐鎖アミノ酸(BCAA)と非環式レチノイドの併用処理による、腫瘍片に対する増殖抑制効果について検討した。臨床研究として、肝癌患者の血清解析を行い、肝癌根治治療後早期再発に関与する肥満関連分子異常についてretrospectiveな検討を行った。

(倫理面への配慮)

動物を用いた研究は、岐阜大学大学院医学系研究科動物実験審査委員会の承認を得た。ヒト検体の利用に関しては、岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会の承認を得た。検体に関しては使用の同意が得られたもののみを用い、検体と個

人情報の関連を無くした検体を使用した。

C. 研究結果

ヒト肝癌細胞 HLE を非環式レチノイドと GW4064 で併用処理したところ、RXR α 、ERK、Stat3 蛋白のリン酸化抑制と、FXRE promoter 活性の亢進が認められた。また、これらの薬剤の併用によって、相乗的なアポトーシスの誘導と細胞増殖抑制、および G₀-G₁ 期における細胞周期停止が観察された。非環式レチノイドと BCAA の併用によって、RXR α 蛋白のリン酸化抑制と、p21 および RAR β 蛋白の発現亢進が認められ、肝癌細胞移植片の増大は相乗的に抑制された。また臨床研究において、アディポサイトカインの一つであるレプチンの上昇 (5 ng/ml 以上) が、肝癌治療後早期再発の有用な予測因子であることが明らかになった。

D. 考察

核内受容体の合成リガンドである非環式レチノイドと GW4064 が、共同的に RXR α のリン酸化を阻害し、RXR α および FXR の標的遺伝子の発現を調節することでアポトーシスと細胞周期停止を誘導し、肝癌細胞の増殖を相乗的に抑制したことより、これらの薬剤の併用療法は、有効な肝発癌化学予防法になりうると考えられた。また、非環式レチノイドと既に臨床の場で慢性肝疾患患者に広く使われている BCAA が、肝癌細胞移植片に対し強い増殖抑制効果を発揮したことは、今後の臨床展開を考える上で大変興味深い研究結果と考えられた。様々な肥満関連因子の中で、レプチンが初発肝癌根治治療後の再発予測因子として有効で

あったことより、高レプチン血症が肝発癌高危険群の同定に有用であると考えられた。

E. 結論

核内受容体を制御する薬剤 (GW4064) や栄養・代謝異常を制御する薬剤 (BCAA) と非環式レチノイドの併用療法が、有効な肝発癌化学予防法になる可能性と、レプチンをはじめとする肥満に関連した分子異常が、肝発癌 (肝癌早期再発) に関与している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimizu M, Sakai H, Shirakami Y, Iwasa J, Yasuda Y, Kubota M, Takai K, Tsurumi H, Tanaka T, Moriwaki H. Acyclic retinoid inhibits diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BLKS/J- +(db)/+Lepr(db) mice. *Cancer Prev Res* 2011; 4: 128-136.
- 2) Shimizu M, Sakai H, Shirakami Y, Yasuda Y, Kubota M, Terakura D, Baba A, Ohno T, Hara Y, Tanaka T, Moriwaki H. Preventive effects of (-)-epigallocatechin gallate on diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* Mice. *Cancer Prev Res* 2011; 4: 396-403.
- 3) Shimizu M, Yasuda Y, Sakai H, Kubota M, Terakura D, Baba A, Ohno T, Kochi T, Tsurumi H, Tanaka T, Moriwaki H. Pitavastatin suppresses diethylnitrosamine-induced liver preneoplasms in male C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *BMC Cancer*

- 2011; 11: 281.
- 4) Shimizu M, Adachi S, Masuda M, Kozawa O, Moriwaki H. Cancer chemoprevention with green tea catechins by targeting receptor tyrosine kinases. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 832-843.
 - 5) Shimizu M, Sakai H, Moriwaki H. Chemoprevention of hepatocellular carcinoma by acyclic retinoid. *Front Biosci* 2011; 16: 759-769.
 - 6) Adachi S, Yasuda I, Nakashima M, Yamauchi T, Yoshioka T, Okano Y, Moriwaki H, Kozawa O. Rho-kinase inhibitor upregulates migration by altering focal adhesion formation via the Akt pathway in colon cancer cells. *Eur J Pharmacol* 2011;650:145-150.
 - 7) Adachi S, Yasuda I, Nakashima M, Yamauchi T, Kawaguchi J, Shimizu M, Itani M, Nakamura M, Nishii Y, Yoshioka T, Hirose Y, Okano Y, Moriwaki H, Kozawa O. Ultraviolet irradiation can induce evasion of colon cancer cells from stimulation of epidermal growth factor. *J Biol Chem* 2011;286:26178-26187.
 - 8) Adachi S, Yasuda I, Kawaguchi J, Yamauchi T, Nakashima M, Itani M, Nakamura M, Yoshioka T, Moriwaki H, Kozawa O. Ultraviolet enhances the sensitivity of pancreatic cancer cells to gemcitabine by activation of 5' AMP-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;414:53-59.
 - 9) Osawa Y, Kanamori H, Seki E, Hoshi M, Ohtani H, Yasuda Y, Ito H, Suetsugu A, Nagaki M, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. L-tryptophan-mediated enhancement of susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease is dependent on the mammalian target of rapamycin. *J Biol Chem* 2011;286:34800-34808.
 - 10) Osawa Y, Seki E, Kodama Y, Suetsugu A, Miura K, Adachi M, Ito H, Shiratori Y, Banno Y, Olefsky JM, Nagaki M, Moriwaki H, Brenner DA, Seishima M. Acid sphingomyelinase regulates glucose and lipid metabolism in hepatocytes through AKT activation and AMP-activated protein kinase suppression. *FASEB J* 2011;25:1133-1144.
 - 11) Suetsugu A, Osawa Y, Nagaki M, Saji S, Moriwaki H, Bouvet M, Hoffman RM. Imaging the recruitment of cancer-associated fibroblasts by liver-metastatic colon cancer. *J Cell Biochem* 2011;112:949-953.
 - 12) Suetsugu A, Osawa Y, Nagaki M, Moriwaki H, Saji S, Bouvet M, Hoffman RM. Simultaneous color-coded imaging to distinguish cancer "stem-like" and non-stem cells in the same tumor. *J Cell Biochem* 2010;111:1035-1041.
 - 13) Terakura Y, Shiraki M, Nishimura K, Iwasa J, Nagaki M, Moriwaki H. Indirect calorimetry and anthropometry to estimate energy metabolism in patients with liver cirrhosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 2010;56:372-379.
 - 14) Tatsukawa H, Sano T, Fukaya Y, Ishibashi N, Watanabe M, Okuno M, Moriwaki H, Kojima S. Dual induction of caspase 3- and transglutaminase-dependent apoptosis by

acyclic retinoid in hepatocellular carcinoma cells. Mol Cancer 2011;10:4.

2. 学会発表

- 1) 清水雅仁、森脇久隆. 非環式レチノイドによる肥満関連肝腫瘍形成の抑制. 第97回日本消化器病学会総会 ワークショップ7「Steatohepatitisの病態～その多様性と相同性～」2011年5月13日-15日、新潟
- 2) 清水雅仁、森脇久隆. 肥満関連分子異常を標的とした肝発癌化学予防. がん予防大会2011京都、シンポジウム「がん予防戦略の最前線」2011年6月20日-21日、京都
- 3) 清水雅仁、久保田全哉、森脇久隆. 緑茶カテキンを用いた肥満関連大腸および肝発癌予防JDDW2011（第53回日本消化器病学会大会）ワークショップ18「消化器疾患におけるprobioticsと機能性食品の有用性」2011年10月20日-23日、福岡
- 4) 足立政治、森脇久隆、小澤 修. ROCK/Rho-kinaseによる大腸がんの抑制機能について～新規治療標的の可能性～. JDDW2011 (第53回消化器病学会大会) パネルディスカッション10「消化器疾患における分子標的治療」2011年10月、福岡
- 5) 大澤陽介、森脇久隆、清島 満. 肝臓の糖・脂質代謝における酸性スフィンゴミエリナーゼの役割. JDDW2011 (第15回日本肝臓学会大会) シンポジウム14「代謝性・遺伝性肝疾患研究の進歩」2011年10月21日、福岡
- 6) 清水雅仁、境 浩康、森脇久隆. 非環式レチノイドによる肥満関連肝腫瘍形成の抑制. 日本レチノイド研究会第21回学術集会 2010年11月13日-14日、大阪

- 7) Shimizu M, Tanaka T, Moriwaki H. Acyclic retinoid inhibits diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BLKS/J- +Lepr^{db}/+Lepr^{db} mice. The 3rd JCA-AACR Special Joint Conference, The Latest Advances in Liver Cancer Research 2011年3月1-3日、舞浜
- 8) Shimizu M, Sakai H, Shirakami Y, Yasuda Y, Kubota M, Moriwaki H. Acyclic retinoid inhibits diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* mice. 102th AACR (American Association for Cancer Research) Annual Meeting 2011年4月2日-6日 Orlando

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、および有効な症例の選択に関する研究

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： 進行肝細胞癌に対するソラフェニブを含む新規抗がん剤や低用量シスプラチンがどのような症例に有効かということ进行を明らかにするため、血液中の様々なサイトカインや糖鎖について解析を行った。当初計画していた網羅的糖鎖解析での治療効果予測は現段階では困難であると考えられた。しかし、治療前の血管新生にかかわるサイトカイン発現を同時に測定することにより、ソラフェニブの治療効果のある程度予測することが可能ではないかという結果を得ることができた。

A. 研究目的

肝癌診療において、近年分子標的薬が導入されているが、使用前に治療効果を予測する事は極めて困難というのが現状である。また使用開始早期の治療効果判定についても、CTや造影超音波を用いた血流変化を捉え、治療効果予測を行う、あるいは血中のVEGF等の血管新生にかかわる蛋白発現の変化を解析するなど、様々な試みがなされているが、コンセンサスが得られた有用な指標はない。

糖鎖は環境の変化に敏感であるとされ、抗癌剤であるcisplatinに対する薬剤耐性獲得時にはその発現パターンが変化することが報告されている。また、肝癌では糖鎖修飾をうけたAFP-L3が癌の悪性度の指標となることが判明している。様々な糖鎖が生物学的特性に重要な役割を担っていることはよく知られた事実であり、AFP-L3以外の糖鎖蛋白も肝癌の臨床病態にかかわっていることは容易に想定され、事実我々もフコ

シル化ヘモペキシンが肝細胞癌患者血清中に高発現していることを明らかとしてきた。

これらの背景となる研究をふまえ、今回血清中の糖鎖の発現プロファイルの違いや血管新生サイトカインの発現パターンの差により、化学療法治療効果を予測できるかどうかの検討を行った。

B. 研究方法

患者同意取得済みの血液を用い、ソラフェニブ投与前の血清中の糖鎖やサイトカイン発現について、測定を行った。網羅的糖鎖解析は、北海道大学の西村紳一郎教授の開発したGlycoblot法を用い、またサイトカインについては、BioRad社のMultiplex ELISAシステムを用い測定した。得られたデータは、各種臨床パラメーターと比較しその有用性を、Cox 比例ハザードモデル等を用い検討した。

（倫理面への配慮）

これらの研究は、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、発表時に個人情報が漏洩しないよう配慮している。また、個人データは施錠可能な部屋にパスワードでロックしたファイルとして保管し、万全の管理体制のもと研究を行っている。

C. 研究結果

網羅的糖鎖解析で肝癌と健常人の間に発現の差異が認められる糖鎖の存在は、以前より確認されていた。これら糖鎖の治療前の発現量をソラフェニブ治療後の非進行例と、進行例で検討したところ、これら2つのグループ間の発現量には差がなかった。これらの糖鎖を含めた50種類以上の糖鎖発現を、網羅的に解析した結果、5つの糖鎖の発現が、ソラフェニブ投与後1か月の時点での進行例では、高いという結果であった。しかしP値は、最も小さいものでも0.004であり、Bonferroni補正を行うとその有意性は失われた。これらの糖鎖の臨床的意義をさらに明らかにするためには、症例数を増加させて再検討する必要があると考えられた。次に、糖鎖発現と副作用の関連について、検討したところ、症例数が少なく、今後のvalidationが必要ではあるが、手足症候群等との関連を示唆させる所見が得られた。

血清サイトカイン値と治療効果との関係では、Angiopoietin-2, Follistatin, G-CSF, HGF, PDGF, VEGFがソラフェニブ投与後1か月の時点での判定で進行していた症例では高値を示していたものが多かった。中央値より高値であるサイトカインの数が、多い症例と少ない症例の2群に分けて検討

した結果、無増悪生存率は、高値であるサイトカイン数が多い方が短く、サイトカイン測定 of 臨床的有用性を示唆させる所見を得ることができた。

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り、糖鎖の修飾が肝癌においてもその生物学的特性と密接にかかわっていると考えられる。ほとんどの膜内在性タンパク質はグリコシル化されており細胞接着やシグナル伝達に重要な働きをしていることが判明しているが、その全貌は明らかではなく、果たしてどのような糖鎖が癌化や、薬剤耐性にかかわっているかなど、未知の部分も多い。今回の検討でソラフェニブの効果や副作用とかかわっている可能性のある糖鎖が抽出できたが、具体的にどのタンパク質のどの部分についている糖鎖が変化しているのか、あるいはその糖鎖の変化によりそのタンパク質の生理活性にどのような影響が出るのかなど、今後検討すべき課題は多い。今後は多数例で検討を行い、糖鎖変化のvalidationを行い、最も重要であると思われる糖鎖を特定した後、これら糖鎖につくタンパク質をreverse glycoblot法等を用い明らかとして行く必要がある。

今回の検討で、プレリミナリーではあるが、血中の血管新生にかかわるサイトカインがソラフェニブの治療効果予測に有用であるとの結果を得た。高値である血管新生因子の数が多いほど予後が不良という結果であったが、おそらく、血管新生にかかわ

るメカニズムが多岐にわたるため、多くのサイトカインの発現量が多いグループでは、ソラフェニブでブロックできない経路が活性化されており、十分な抗腫瘍効果が得られなかったのではないかと考えられる。今後は臨床応用を視野に入れ、この仮説を検証する前向きの研究を行う必要がある。

E. 結論

治療前の血清中のサイトカインや、糖鎖パターンを解析することにより、肝癌化学療法の効果予測や副作用予測ができる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kinugasa H, Nouse K, Takeuchi Y, Yasunaka T, Onishi H, Nakamura SI, Shiraha H, Kuwaki K, Hagihara H, Ikeda F, Miyake Y, Takaki A, Yamamoto K. Risk factors for recurrence after transarterial chemoembolization for early-stage hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 2011 in press
- 2) Miyahara K, Nouse K, Tomoda T, Kobayashi S, Hagihara H, Kuwaki K, Toshimori J, Onishi H, Ikeda F, Miyake Y, Nakamura S, Shiraha H, Takaki A, Yamamoto K. Predicting the treatment effect of sorafenib using serum angiogenesis markers in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Nov;26(11):1604-11.
- 3) Tomoda T, Nouse K, Sakai A, Ouchida M, Kobayashi S, Miyahara K, Onishi H,

Nakamura S, Yamamoto K, Shimizu K. Genetic risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus: a case control study. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 in press

- 4) Miyatake H, Kobayashi Y, Iwasaki Y, Nakamura SI, Ohnishi H, Kuwaki K, Toshimori J, Hagihara H, Nouse K, Yamamoto K. Effect of Previous Interferon Treatment on Outcome After Curative Treatment for Hepatitis C Virus-Related Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis Sci*. 2011 in press
- 5) Kobashi H, Miyake Y, Ikeda F, Yasunaka T, Nishino K, Moriya A, Kubota J, Nakamura S, Takaki A, Nouse K, Yamada G, Yamamoto K. Long-term outcome and hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis B or cirrhosis patients after nucleoside analog treatment with entecavir or lamivudine. *Hepatol Res*. 2011 ;41(5):405-16.
- 6) Nouse K, Kobayashi Y, Nakamura S, Kobayashi S, Takayama H, Toshimori J, Kuwaki K, Hagihara H, Onishi H, Miyake Y, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Iwasaki Y, Kobashi H, Yamamoto K. Prognostic importance of fucosylated alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with low alpha-fetoprotein. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(7):1195-200.
- 7) Kuwaki K, Nouse K, Kobayashi Y, Nakamura S, Ito YM, Iwadou S, Hagihara H, Yasunaka T, Toshimori J, Miyatake H, Miyoshi K, Onishi H, Miyake Y, Shoji B,

- Takaki A, Shiraha H, Iwasaki Y, Kobashi H, Yamamoto K. Prognostic model for hepatocellular carcinoma with time-dependent factors. *Acta Med Okayama*. 2011;65(1):11-9.
- 8) Kinugasa H, Nouso K, Kobayashi Y, Yasunaka T, Onishi H, Nakamura S, Shiraha H, Takayama H, Toshimori J, Kuwaki K, Hagihara H, Miyake Y, Ikeda F, Takaki A, Kobashi H, Yamamoto K. Hepatocellular carcinoma occurring in hepatobiliary fibropolycystic disease. *Hepatol Res*. 2011;41(3):277-81.
- 9) Nakanishi Y, Shiraha H, Nishina S, Tanaka S, Matsubara M, Horiguchi S, Iwamuro M, Takaoka N, Uemura M, Kuwaki K, Hagihara H, Toshimori J, Ohnishi H, Takaki A, Nakamura S, Kobayashi Y, Nouso K, Yagi T, Yamamoto K. Loss of runt-related transcription factor 3 expression leads hepatocellular carcinoma cells to escape apoptosis. *BMC Cancer*. 2011;11:3.
- 10) Takayama H, Miyake Y, Nouso K, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Kobashi H, Yamamoto K. Serum levels of platelet-derived growth factor-BB and vascular endothelial growth factor as prognostic factors for patients with fulminant hepatic failure. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(1):116-21.
- 11) Hagihara H, Nouso K, Kobayashi Y, Iwasaki Y, Nakamura S, Kuwaki K, Toshimori J, Miyatake H, Ohnishi H, Shiraha H, Yamamoto K. Effect of pegylated interferon therapy on intrahepatic recurrence after curative treatment of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2011;16(3):210-20.
2. 学会発表
- 1) 友田健, 能祖一裕, 山本和秀 C型慢性肝炎からの肝発癌及び治療後再発に対する予測因子としての SNP の検討 第53回日本消化器病学会大会 2011年10月福岡
- 2) 森藤由記, 池田房雄, 岩崎良章, 高口浩一, 永野拓也, 妹尾知典, 馬場伸介, 竹内康人, 安中哲也, 三宅康広, 高木章乃夫, 小橋春彦, 山本和秀 C型肝炎における PNPLA3 遺伝子の遺伝子多型と病態・インターフェロン治療効果の検討 第53回日本消化器病学会大会 2011年10月福岡
- 3) 池田房雄, 岩崎良章, 森藤由記, 安中哲也, 竹内康人, 三宅康広, 高木章乃夫, 高口浩一, 荒木康之, 山本和秀 C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α +リバビリン併用療法の期間延長投与による治療効果改善における IL28B、ITPA 遺伝子多型の影響 第53回日本消化器病学会大会 2011年10月福岡
- 4) 宮原孝治, 能祖一裕, 山本和秀 消化器疾患における分子標的治療 血管新生関連サイトカインによるソラフェニブ効果予測 第53回日本消化器病学会大会 2011年10月福岡
- 5) 河合大介(岡山大学 消化器・肝臓内科学), 高木章乃夫, 山本和秀 NASH 発症の分子機構と治療標的 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデルマウスの病態進行に対する水素水の効果の検討 第53回日本消化器病学会大会 2011年10月

- 福岡
- 6) 岩崎良章, 池田房雄, 森藤由記, 竹内康人, 高木章乃夫, 三宅康広, 安中哲也, 高口浩一, 荒木康之, 山本和秀 C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α +リバビリン併用療法における IL28B 遺伝子多型とウイルス動態の検討 第 15 回日本肝臓学会大会 2011 年 10 月 福岡
 - 7) 安中哲也, 池田房雄, 三宅康広, 白羽英則, 高木章乃夫, 小橋春彦, 藤岡真一, 岡本良一, 狩山和也, 高山裕基, 宮武宏和, 守屋昭男, 高口浩一, 辰川匡史, 金吉俊彦, 坂田達朗, 高島弘行, 守本洋一, 山田剛太郎, 山本和秀 本学関連病院における急性 B 型肝炎の実態調査 第 15 回日本肝臓学会大会 2011 年 10 月 福岡
 - 8) 大西秀樹, 能祖一裕, 山本和秀 進行肝癌に対する治療戦略 進行肝細胞癌の病期別にみる肝動注化学療法と分子標的薬の治療選択 第 15 回日本肝臓学会大会 2011 年 10 月 福岡
 - 9) 池田房雄(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科分子肝臓病学), 岩崎良章, 安中哲也, 三宅康広, 高木章乃夫, 小橋春彦, 山本和秀 C 型慢性肝炎(1 型かつ高ウイルス量)に対するペグインターフェロン α +リバビリン併用療法におけるコア蛋白アミノ酸配列と IL28B 遺伝子多型の検討 第 47 回肝臓学会総会 2011 年 6 月 東京
 - 10) 岩崎良章, 狩山和也, 藤岡真一, 荒木康之, 岡本良一, 橋本訓招, 下江俊成, 芦田耕三, 宮武宏和, 下村宏之, 谷口英明, 高島弘行, 佐藤敦彦, 保崎泰弘, 妹尾知典, 松村周治, 中村進一郎, 川口憲二, 池田房雄, 三宅康広, 高木章乃夫, 小橋春彦, 山本和秀 C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α -2a+リバビリン併用療法の解析 第 47 回肝臓学会総会 2011 年 6 月 東京
 - 11) 河合大介, 高木章乃夫, 松本和幸, 津崎龍一郎, 安中哲也, 中司敦子, 小池和子, 三宅康広, 白羽英則, 和田淳, 山本和秀 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)モデルマウスの病態進行に対する水素水の効果の検討 第 47 回肝臓学会総会 2011 年 6 月 東京
 - 12) 小橋春彦, 池田房雄, 安中哲也, 三宅康広, 中村進一郎, 高木章乃夫, 能祖一裕, 西野謙, 窪田淳一, 守屋昭男, 山田剛太郎, 山本和秀 B 型慢性肝炎・肝硬変における核酸アナログ療法の長期効果と肝発癌に対する影響 第 47 回肝臓学会総会 2011 年 6 月 東京
 - 13) 河合大介, 高木章乃夫, 山本和秀, 松本和幸, 津崎龍一郎, 安中哲也, 小池和子, 三宅康弘, 白羽秀則 水素水はマウスにおける NASH の進行を抑制する 第 97 回日本消化器病学会総会 2011 年 5 月 東京
 - 14) 小林功幸, 能祖一裕, 植松周二, 中村進一郎, 大西秀樹, 岩堂昭太, 桑木健志, 歳森淳一, 萩原宏明, 森元裕貴, 荒木康之, 山本和秀 進行肝細胞癌に対する肝動注化学療法の有効性 propensity analysis による検討 第 97 回日本消化器病学会総会 2011 年 5 月 東京
 - 15) 小橋春彦, 池田房雄, 山本和秀 非代償性肝硬変の合併症とその対策 B 型非代償性肝硬変に対する核酸アナログ療法

の長期効果 第 97 回日本消化器病学会
総会 2011 年 5 月 東京

16) 三宅康広, 高木章乃夫, 山本和秀 急性肝不全の治療戦略と移植医療 劇症肝炎における予後予測・肝移植の適応決定に SIRS の評価が重要である 第 97 回日本消化器病学会総会 2011 年 5 月 東京

17) 大西秀樹, 能祖一裕, 山本和秀 進行肝細胞がんの治療選択 門脈腫瘍塞栓合併肝細胞癌への放射線療法の治療効果 第 97 回日本消化器病学会総会 2011 年 5 月 東京

18) 高山裕基, 三宅康広, 能祖一裕, 安中哲也, 池田房雄, 白羽英則, 高木章乃夫, 岩崎良章, 小橋春彦, 山本和秀 劇症肝炎患者の血清中における血管増殖因子レベルと予後 第 47 回肝臓学会総会 2011 年 6 月 東京

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

肝臓に対する新規薬剤ミリプラチンの治療成績の検討

池田 健次 虎の門病院肝臓センター・肝臓内科 部長

研究要旨：次年度は新規抗癌剤ミリプラチンの治療効果を検討した。動注治療3ヶ月後の効果判定ではTE4が23%、TE3が23%（奏効率46%）で、重大な副作用はなかった。3年度はミリプラチンの投与方法について検討した。両葉多発性肝臓で片葉にミリプラチン動注のみ・残葉に塞栓併用を行った23例では、塞栓併用肝臓での奏効率が56%で動注のみ群の39%より有意に高かった。ミリプラチンのリピオドール中への濃縮使用（105mg/3ml）や緩徐間歇投与（3ml動注/20分）では奏効率の向上は得られなかった。ミリプラチンの反復投与で奏効率が向上し、大きな有害事象は見られず、安全な動注化学療法剤として使用可能であった。

A. 研究目的

根治的な局所療法が不可能な病期となった肝細胞癌症例に対しては、反復して肝動脈化学塞栓療法(TACE)が施行される。従来はエピルビシンもしくはシスプラチンを併用する化学療法で行われていたが、2010年より新規の抗がん剤ミリプラチンが参入し、これら中期に進行した肝臓に対するミリプラチンの治療効果・副作用、有用性を検討した。

B. 研究方法

対象は2011年9月までの間に肝細胞癌に対してミリプラチンを使用し、3ヶ月後の治療効果を確認した214例とした。

ミリプラチンは肝動脈動注として使用し、一部の症例では多孔性ゼラチン粒による塞栓を併用した。肝臓に対する直接治療効果判定は3ヶ月後のダイナミックCTで行い、

日本肝臓学会の効果判定基準に従って、TE4（腫瘍の完全壊死）、TE3（腫瘍の50%以上100%未満壊死）、TE2（腫瘍の50%未満壊死）、TE1（腫瘍の増大、増加）の4段階で判定を行った。

統計学的検討は、 χ^2 二乗検定・Cox 比例ハザードモデルを使用し、有意水準は5%とした。

（倫理面への配慮）

症例はすべて文書によるインフォームドコンセントによる採血検査・治療を行った。

C. 研究結果

a. 全体の直接治療効果

ミリプラチン動注3ヶ月後に行われた214例のダイナミックCTでの効果判定では、TE4が49例（22.9%）、TE3が50例（23.4%）、TE2が73例（34.1%）、TE1が43例（20.1%）であった。TE4、TE3をあわ