

- 日本肝臓学会大会(JDDW2010) 2010.10 横浜.
- 13) 中村秀次, 榎本平之, 西口修平. 血漿中の肝癌由来増殖因子HDGFは肝細胞癌の再発・予後マーカーとなりうるか? 第14回日本肝臓学会大会 (JDDW2010) 2010.10 横浜.
- 14) 岩井孝史, 飯島尋子, 田中弘教, 蒲惠蔵, 中野宏朗, 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. 肝細胞癌はPDであったが脳・骨転移にSorafenibが有効であった1症例 第2回分子標的治療研究会 2010.6 東京.
- 15) 榎本平之, 中村秀次, 今西宏安, 齋藤正紀, 岩田恵典, 池田直人, 田中弘教, 下村壯治, 飯島尋子, 西口修平. 未分化肝細胞の増殖因子Hepatoma-derived growth factorは、血管新生誘導を介して腫瘍増殖に関与する. 第18回浜名湖シンポジウム 2010.12 浜松.
- 16) 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.
- 17) 田中弘教, 飯島尋子, 森脇英一郎, 岩井孝史, 中野宏朗, 高嶋智之, 坂井良行, 會澤信弘, 岩田恵典, 榎本平之, 齋藤正紀, 今西宏安, 下村壯治, 西上隆之, 藤元治朗, 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2回分子標的治療研究会 2010.6 東京.
- 18) 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.
- 19) 會澤信弘, 森脇英一郎, 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.
- 20) 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.
- 21) 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, 森脇英一郎, 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.
- 22) 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 $\alpha$ 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.
- 23) 田中弘教, 飯島尋子, 森脇英一郎, 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.

24) 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.

25) 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.

26) 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

工藤 正俊 近畿大学医学部消化器内科 教授

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

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

### 1) 原発性肝癌における腫瘍細胞の分子生物学的特徴に関する研究

#### A. 研究目的

原発性肝癌の分子生物学的特徴を明らかにし、診断法の開発および治療に有用な遺伝子を特定することを目的とした。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- $\gamma$ -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. 学会報告  
なし
- 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

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

### A. 研究目的

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

### B. 研究方法 (倫理面への配慮)

文書による同意を得られた進行肝細胞癌患者に対して本併用療法を施行する。

### C. 研究結果

シスプラチン、フルオロウラシル動注化学療法とソラフェニブ併用療法における推奨投与量を決定すべく、平成 21 年 9 月より、Phase I/II 試験が施行された。目的は Phase I 部分において、推奨投与量の決定と安全性を、Phase II 部分においては、併

用療法の有効性を探索することである。

PhaseI 部分は、平成 22 年 10 月に終了し、推奨用量は、ソラフェニブ 400mg1 日 2 回、シスプラチン 20mg/m<sup>2</sup>、フルオロウラシル 330mg/m<sup>2</sup> と決定された。安全性については、問題はなく、DLT (Dose Limiting Toxicity) は、Grade4 の血小板減少 1 例、多形紅斑 3 例にみられた。また、PhaseI 部分において、十分な抗腫瘍効果が確認されたため、PhaseII 部分は取りやめとし、PhaseIII へ移行することとなった。

#### D. 考察

本邦において肝動注療法は、切除不能、局所壊死療法および肝動脈化学塞栓療法が適応とならない進行肝細胞癌患者に対して選択される療法である。しかしながら、奏効率が 50%を超える報告があるものの、いずれも少数例を対象とした、あるいは対照を伴わない研究であるため、科学的根拠を持って推奨されている薬剤の組み合わせがないとされているのが実情である。一方、ソラフェニブは根治不能の進行肝細胞癌患者に対して唯一、臨床試験にて全生存率を延長させた薬剤であり、実臨床での有用性が期待されている。以上のことより、ソラフェニブと低用量シスプラチン/フルオロウラシル肝動注療法を併用することにより、再発あるいは再増悪が抑制できるとすれば、臨床的に大きな意味がある。また、この併用療法群と、ソラフェニブ単独療法群の比較により、併用療法の有用性および安全性を明確にすることは、将来の患者に対する大きなベネフィットをもたらすと期待され

る。

#### E. 結論

推奨用量は、ソラフェニブ 400mg1 日 2 回、シスプラチン 20mg/m<sup>2</sup>、フルオロウラシル 330mg/m<sup>2</sup> と決定された。現在、この推奨用量における、有効性を検証するための PhaseIII 試験が進行中である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. Digest Dis29: 273-277, 2011.
- 2) Kudo M: Signaling pathway and molecular-targeted therapy for hepatocellular carcinoma. Digest Dis29: 289-302, 2011.
- 3) Kudo M: mTOR inhibitor for the treatment of hepatocellular carcinoma. Digest Dis29: 310-315, 2011.
- 4) Kudo M: Future treatment option for hepatocellular carcinoma: a focus on brivanib. Digest Dis29: 316-320, 2011.
- 5) 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 Dis29: 321-325, 2011.
- 6) Kudo M, Izumi N, Kokudo N, Matsui O, Sakamoto M, Nakashima O, Kojiro M, Makuuchi M: Management of hepatocellular carcinoma in Japan: Consensus-based

- clinical practice guideline proposed by the Japan Society of Hepatology (JSH) 2010 updated version. *Digest Dis* 29: 339-364, 2011.
- 7) 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, Tsuji 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.
  - 8) 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.
  - 9) 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- $\gamma$ -carboxyprothrombin in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 46:1219-1229, 2011.
  - 10) 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* 41:1208-1215, 2011.
  - 11) Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Digest Dis* 29: 273-277, 2011.
  - 12) Sakurai T, Kudo M: Signaling pathways governing tumor angiogenesis. *Oncology* 81(suppl 1):24-29, 2011.
  - 13) Kudo M: Adjuvant therapy after curative treatment for hepatocellular carcinoma. *Oncology* 81(suppl 1):50-55, 2011.
  - 14) 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.
  - 15) 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.
  - 16) Kudo M: Preface. *Digestion*, 2011 (in press)

- 17) Kudo M, Tateishi R, Yamashita T, Ikeda M, Furuse J, Ikeda K, Kokudo N, Izumi N, Matsui O: Current status of hepatocellular carcinoma treatment in Japan: Case study and discussion-voting system. *Clin Drug Invest*, 2011 (in press)
- 18) Kudo M: Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: Sorafenib and beyond. *Curr Cancer Drug Tar*, 2011(in press)
- 19) 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)
- 20) Inaba Y, Kanai F, Aramaki T, Yamamoto T, Tanaka T, Yamakado K, Kaneko S, KudoM, Imanaka K, 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 transarterialchemoembolization. *Jpn J ClinOncol*, 2011 (in press)
- 21) Takayasu K, Arii S, Ikai I, Kudo M, Matsuyama Y, Kojiro M, Makuuchi M; Liver Cancer Study Group of Japan: Overall survival after transarteriallipiodol infusion chemotherapy with and without embolization for unresectable hepatocellular carcinoma: propensity score analysis.*AJR Am J Roentgenol* 194: 830-837, 2010.
- 22) Kudo M:The 2008 Okuda lecture: Management of hepatocellular carcinoma: from surveillance to molecular targeted therapy. *J GastroenHepato*l 25: 439-452, 2010.
- 23) Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen PJ, Lin SM, Yoshida H, Kudo M, Lee JM, Choi BI, Poon RTP, Shiina S, Cheng AL, Jia JD, Obi S, Han KH, Jafri W, Chow P, Lim SG, Chawla YK, Budihusodo U, Gani RA, Lesmana CR, Putranto TA, Liaw YF, Sarin SK: Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma .*HepatoInt* 4: 439-474, 2010.
- 24) Lencioni R, Marrero J, Venook A, Ye SL, Kudo M: Design and rationale for the non-interventional Global Investigation of therapeutic DEcisions in hepatocellular carcinoma and Of its treatment with sorafeNib (GIDEON) study. *Int J ClinPract*64:1034-1041, 2010.
- 25) Kudo M: Current status of molecularly targeted therapy for hepatocellular carcinoma: clinical practice. *Int J ClinOncol* 15: 242-255, 2010.
- 26) Kudo M: Management of hepatocellular carcinoma: from the prevention to molecular targeted therapy.*Oncology*78: S1-6, 2010.
- 27) Ueshima K, Kudo M, Takita M, Nagai T, Tatsumi C, Ueda T, Kitai S, Ishikawa E, Yada N, Inoue T, Hagiwara S, Minami Y, Chug H: Hepatic arterial infusion chemotherapy using low-dose 5-fluorouracil and cisplatin for advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 78: S148-153, 2010.



- 28) Kudo M, Ueshima K: Positioning of a molecular-targeted agent, Sorafenib, in the treatment algorithm for hepatocellular carcinoma and implication of many complete remission cases in Japan. *Oncology* 78: S154-166, 2010.
- 29) Kudo M: Real practice of hepatocellular carcinoma in Japan: conclusions of the Japan Society of Hepatology 2009 Kobe Congress. *Oncology* 78: S180-188, 2010.
- 30) Makuuchi M, Kokudo N, Arii S, Igaki H, Ikai I, Kaneko S, Kawasaki S, Kudo M, Matsuyama Y, Ohtomo K, Okazaki M, Omata M, Takayama T, Takayasu K, Tateishi R: Clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma –The Japan Society of Hepatology 2009 update. *Hepatol Res* 40: S1-144, 2010.
- 31) Kudo M, Makuuchi M, Kokudo N, Arii S, Igaki H, Ikai I, Kaneko S, Kawasaki S, Matsuyama Y, Ohtomo K, Okazaki M, Omata M, Takayama T, Takayasu K, Tateishi R: Local ablation therapy. *Hepatol Res* 40: S113-119, 2010.
- 32) Arii S, Sata M, Sakamoto M, Shimada M, Shimada M, Kumada T, Shiina S, Yamashita T, Kokudo N, Tanaka M, Takayama T, Kudo M: Management of hepatocellular carcinoma: Report of consensus meeting in the 45th Annual Meeting of the Japan Society of Hepatology (2009). *Hepatol Res* 40: 667-685, 2010.
- 33) Kudo M, Kubo S, Takayasu K, Sakamoto M, Tanaka M, Ikai I, Furuse J, Nakamura K, Makuuchi M, for The Liver Cancer Study Group of Japan (Committee for response evaluation criteria in cancer of the liver, Liver cancer study group of Japan): Response evaluation criteria in cancer of the liver (RECICL) proposed by the liver cancer study group of Japan (2009 revised version). *Hepatol Res* 40: 686-692, 2010.
- 34) Kudo M, Han KH, Kokudo N, Cheng AL, Choi BI, Furuse J, Izumi N, Park JW, Poon RT, Sakamoto M: Liver cancer working group report. *Jpn J Clin Oncol* 40: i19- i 27, 2010.
- 35) Ikai I, Kudo M, Arii S, Omata M, Kojiro M, Sakamoto M, Takayasu K, Hayashi N, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M: Report of the 18th follow-up survey of primary liver cancer in Japan. *Hepatol Res* 40: 1043-1059, 2010.
- 36) Okusaka T, Kasugai H, Shioyama Y, Tanaka K, Kudo M, Saisho H, Osaki Y, Sata M, Fujiyama S, Kumada T, Sato K, Yamamoto S, Hinotsu S, Sato T: Transarterial chemotherapy alone versus transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a randomized phase III trial. *J Hepatol* 51: 1030-1036, 2009.
- 37) Kudo M: The burden of HCC in Asia-Pacific. *LIVER MRI* 4: 1-2, 2009.
- 38) Kudo M, Chung H: Single HCC between 2 and 5cm: the grey zone: Hepatologist's perspective. *J Hepato-Biliary-Pan*: Nov, published online, 2009.
- 39) Eguchi S, Kanematsu T, Arii S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Ikai I, Kudo M, Kojiro

- M, Makuuchi M, Monden M, Matsuyama Y, Nakamura Y, Takayasu K; The Liver Cancer Study Group of Japan: Comparison of the outcomes between an anatomical subsegmentectomy and a non-anatomical minor hepatectomy for single hepatocellular carcinomas based on a Japanese nationwide survey. *Surgery* 143: 469-475, 2008.
- 40) Chung H, Kudo M, Takahashi S, Hagiwara S, Sakaguchi Y, Inoue T, Minami Y, Ueshima K, Fukunaga T, Matsunaga T: Comparison of three current staging systems for hepatocellular carcinoma: Japan integrated staging score, new Barcelona clinic liver cancer staging classification, and Tokyo score. *J GastroenHepatol* 23: 445-452, 2008.
- 41) Kitai S, Kudo M, Minami Y, Ueshima K, Chung H, Hagiwara S, Inoue T, Ishikawa E, Takahashi S, Asakuma Y, Haji S, Osaki Y, Oka H, Seki T, Kasugai H, Sasaki Y, Matsunaga T: A new prognostic staging system for hepatocellular carcinoma: value of the biomarker combined Japan integrated staging score. *Intervirolgy* 51: S86-S94, 2008.
- 42) Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, Osaki Y, Kimura T, Arimoto A, Oka H, Yamazaki O, Manabe T, Urano F, Chung H, Kudo M, Matsunaga T: Prognostic value of pretreatment levels of tumor markers for hepatocellular carcinoma on survival after curative treatment of patients with HCC. *J Hepatol* 49: 223-232, 2008.
- 43) Ogawa C, Kudo M, Minami Y, Chung H, Kawasaki T: Tumor markers after radiofrequency ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterol* 55: 1454-1457, 2008.
- 44) Kudo M, Zheng RQ, Chung H, Yonekura T, Yagi M, Nakashima O, Kojiro M: Long-term follow-up of atypical progressive focal nodular hyperplasia increasing in size and number implicates its pathogenesis. *Am J Gastroenterol* 103: 2153-2155, 2008.
- 45) Hasegawa K, Makuuchi M, Takayama T, Kokudo N, Arii S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Kudo M, Kojiro M, Nakanuma Y, Takayasu K, Monden M, Matsuyama Y, Ikai I; for the Liver Cancer Study Group of Japan: Surgical resection vs. percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma: a preliminary report of the Japanese nationwide survey. *J Hepatol* 49: 589-594, 2008.
- 46) Kudo M: Hepatocellular carcinoma 2009 and beyond: from the surveillance to molecular targeted therapy. *Oncology* 75: S1-12, 2008.
- 47) Kim SR, Kudo M, Hino O, Han KH, Chung YH, Lee HS: Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan and Korea. *Oncology* 75: S13-16, 2008.
- 48) Kitai S, Kudo M, Minami Y, Haji S, Osaki Y, Oka H, Seki T, Kasugai H, Sasaki Y, Matsunaga T: Validation of a new prognostic staging system for heptaocellular carcinoma: a comparison of the biomarker combined Japan integrated staging(JIS) score,

- the conventional JIS score and the BALAD score. *Oncology* 75: S83-90, 2008.
- 49) Takahashi S, Kudo M, Chung H, Inoue T, Ishikawa E, Kitai S, Tatsumi C, Ueda T, Nagai T, Minami Y, Ueshima K: PIVKA-II is the best prognostic predictor in patients with hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation therapy. *Oncology* 75: S91-98, 2008.
- 50) Xia Y, Kudo M, Minami Y, Hatanaka K, Ueshima K, Chung H, Hagiwara S, Inoue T, Ishikawa E, Kitai S, Takahashi S, Tatsumi C, Ueda T, Hayaishi S, Maekawa K: Response evaluation of transcatheter arterial chemoembolization in hepatocellular carcinomas: the usefulness of Sonazoid-enhanced harmonic sonography. *Oncology* 75: S99-105, 2008.
- 51) Ueshima K, Kudo M, Tatsumi C, Ueda T, Takahashi S, Kitai S, Ishikawa E, Inoue T, Minami Y, Chung H: Combination therapy with S-1 and pegylated interferon alpha for advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 75: S106-113, 2008.
2. 学会報告
- 1) Kazuomi Ueshima, Masatoshi Kudo, Masatoshi Tanaka, Takashi Kumada, Toshiharu Sakurai, Hobyung Chung, Yasunori Minami, Satoru Hagiwara, Tatsuo Inoue, Norihisa Yada, Satoshi Kitai, Tadaaki Arizumi, Sosuke Hayaishi and Japan Liver Oncology Group : Phase I Study of Sorafenib in Combination with Low-dose cisplatin and fluorouracil Intra-arterial Infusion Chemotherapy (SILIUS trial) AASLD2011, San Francisco.
- 2) Kazuomi Ueshima, Masatoshi Kudo, Masatoshi Tanaka, Takashi Kumada, Toshiharu Sakurai, Hobyung Chung, Yasunori Minami, Satoru Hagiwara, Tatsuo Inoue, Norihisa Yada, Satoshi Kitai, Tadaaki Arizumi, Sosuke Hayaishi and Japan Liver Oncology Group : Phase I Study of Sorafenib in Combination with Low-dose cisplatin and fluorouracil Intra-arterial Infusion Chemotherapy (SILIUS trial) ILCA2011, Hong Kong.
- 3) 上嶋一臣, 有住忠晃, 田北雅弘, 北井 聡, 矢田典久, 井上達夫, 萩原 智, 南 康範, 櫻井俊治, 工藤正俊: 進行肝細胞癌に対するソラフェニブと低用量シスプラチン/フルオロウラシル肝動注療法併用化学療法の第 I / II 相臨床試験, 第 4 回日本がん分子標的治療研究会, 2011, 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  
ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00933816

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(レチノイド不応状態)は、肝発癌に深く関与している。我々は本研究において、リン酸化RXR $\alpha$ を分子標的としRXR $\alpha$ の機能を回復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、アポトーシスの誘導や細胞周期の制御を介し、肝癌細胞の増殖が相乗的に抑制されることを明らかにした。本研究結果は、非環式レチノイドをkey drugとした併用療法が、肝発癌抑制の有効なstrategyとなりうる可能性を示唆するものである。さらに我々は、非環式レチノイドがRXR $\alpha$ のリン酸化修飾を解除しレチノイド不応状態を改善することで、マウスの肥満関連肝発癌を抑制すること、また肥満関連因子であるインスリン抵抗性と高レプチン血症が、肝癌の早期再発予測因子として有用なbiomarkerであることを明らかにした。肥満は肝発癌の危険因子であるが、これらの研究結果は、肥満関連分子異常を標的とする肝発癌予防法(薬)の可能性と、(肥満を合併した)肝硬変患者の肝発癌予防において、非環式レチノイドが重要な役割を果たす可能性をあらためて示唆するものである。

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 drug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。また肝発癌のリスクを上昇させる肥満に関連した新規biomarker・分子異常を明らかにし、これらを標的とした肥満関連肝発癌予防法(薬)の開発をめざす。

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抗HER2抗体(Trastuzumab)、HDAC阻害剤(バルプロ酸)、および核内受容体FXRの合成リガンド(GW4064)で併用処理し、細胞増殖の抑制効果について検討した。肝癌細胞移植片モデルを用いて、非環式レチノイドと分岐鎖アミノ酸(BCAA)の併用処理による腫瘍増殖抑制効果について検討した。また非環式レチノイドの肥満・糖尿病関連肝腫瘍形成に対する抑制効果を、2型糖尿病マウス(*db/db* マウス)を用いた肝化学発癌モデルで検討した。臨床研究として、肝癌再発に関与する肥満関連分子異常に関するretrospectiveな解析を、肝癌

患者の血清を用いて行った。

(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、検体と個人情報との関連を無くした検体を使用した。

### C. 研究結果

非環式レチノイドとこれらの薬剤の併用処理により、RXR $\alpha$ 、Erk、Akt、Stat3 蛋白のリン酸化抑制、相乗的なアポトーシスの誘導と細胞増殖抑制、G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 期における細胞周期の停止が観察された。非環式レチノイドと BCAA の併用によって、RXR $\alpha$  蛋白のリン酸化抑制と、p21 および RAR $\beta$  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。非環式レチノイドは Ras の活性化と RXR $\alpha$ 、Erk、Akt、JNK、Stat3 蛋白のリン酸化を抑制し、インスリン感受性を改善することで、肥満・糖尿病に関連したマウスの肝腫瘍形成を抑制した。臨床研究において、HOMA-IR 高値(インスリン抵抗性の出現)とレプチンの上昇(アディポサイトカインの不均衡)が、肝癌早期再発の予測因子として有用であることが明らかになった。

### D. 考察

Ras/MAPK、受容体型チロシンキナーゼ、ヒストン修飾、核内受容体を標的とする薬剤は、RXR $\alpha$  のリン酸化を阻害することで非環式レチノイドの作用を増強し、アポト

ーシスの誘導と細胞周期の制御を介して、相乗的な発癌予防、腫瘍細胞増殖抑制効果を発揮した。慢性肝疾患患者の栄養・代謝異常を改善し、肥満を合併した肝硬変患者の肝発癌を抑制する BCAA と非環式レチノイドの併用が、肝癌細胞移植片に対し増殖抑制効果を発揮したこと、またリン酸化 RXR $\alpha$  を解除することで、非環式レチノイドが肥満関連肝発癌を抑制したことは、同剤の今後の臨床展開を考える上で大変興味深い結果と考えられた。様々な肥満関連因子の中で、測定が簡便である HOMA-IR とレプチンが、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、これらの分子の測定が肝発癌高危険群のスクリーニングに有用である可能性が示唆された。

### E. 結論

RXR をリン酸化する受容体型チロシンキナーゼの阻害剤や、ヒストン修飾、細胞内シグナル、核内受容体を制御する薬剤と非環式レチノイドの併用療法は、相乗効果を発揮する有効な肝発癌化学予防法になる可能性が示唆された。栄養・代謝異常を制御する BCAA と非環式レチノイドの併用療法が肝癌細胞の増殖を抑制したこと、また非環式レチノイドが肥満に関連した肝発癌を抑制したことより、今後増加が危惧される肥満合併肝硬変患者の肝発癌抑制における同剤の有用性が示唆された。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Shimizu M, Shirakami Y, Iwasa J, Shiraki M, Yasuda Y, Hata K, Hirose Y, Tsurumi H,

- Tanaka T, Moriwaki H. Supplementation with branched-chain amino acids inhibits azoxymethane-induced colonic preneoplastic lesions in male C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Clin Cancer Res* 2009;15:3068-3075.
- 2) Adachi S, Shimizu M, Shirakami Y, Yamauchi J, Natsume H, Matsushima-Nishiwaki R, To S, Weinstein IB, Moriwaki H, Kozawa O. (-)-Epigallocatechin gallate downregulates EGF receptor via its phosphorylation at Ser1046/1047 mediated by p38 MAP kinase in colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2009;30:1544-1552.
- 3) Ito H, Hoshi M, Ohtaki H, Taguchi A, Ando K, Ishikawa T, Osawa Y, Hara A, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. Ability of IDO to attenuate liver injury in alpha-galactosylceramide-induced hepatitis model. *J Immunol* 2010;185:4554-4560.
- 4) Osawa Y, Seki E, Adachi M, Suetsugu A, Ito H, Moriwaki H, Seishima M, Nagaki M. Role of acid sphingomyelinase of Kupffer cells in cholestatic liver injury in mice. *Hepatology* 2010;51:237-245.
- 5) Shiraki M, Terakura Y, Iwasa J, Shimizu M, Miwa Y, Murakami N, Nagaki M, Moriwaki H. Elevated serum tumor necrosis factor- $\alpha$  and soluble tumor necrosis factor receptors correlate with aberrant energy metabolism in liver cirrhosis. *Nutrition* 2010;26:269-275.
- 6) Iwasa J, Shimizu M, Shiraki M, Shirakami Y, Sakai H, Terakura Y, Takai K, Tsurumi H, Tanaka T, Moriwaki H. Dietary supplementation with branched-chain amino acids suppresses diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic C57BL/KsJ-*db/db* mice. *Cancer Sci* 2010; 101: 460-467.
- 7) Komi Y, Sogabe Y, Ishibashi N, Sato Y, Moriwaki H, Shimokado K, Kojima S. Acyclic retinoid inhibits angiogenesis by suppressing the MAPK pathway. *Lab Invest* 2010;90:52-60.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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) 小嶋聡一、塚本秀和、森脇久隆. タンパク質架橋酵素トランスグルタミナーゼを介する肝細胞死、肝線維化、肝細胞癌抑制. JDDW2009 (肝臓学会・消化器病学会合同) ワークショップ8「肝線維化・発癌機構の解明」2009年10月14日 岐阜
- 2) 清水雅仁、白木 亮、森脇久隆. 分枝鎖アミノ酸製剤 (BCAA)を用いた肥満関連肝および大腸発癌の予防. 第96回日本消化器病学会総会、シンポジウム2「消化器癌と栄養療法」2010年4月22-24日、新潟
- 3) 清水雅仁、岩砂淳平、森脇久隆. インスリン抵抗性とIGF/IGF-1受容体シグナルを標的とした肥満関連肝発癌予防. 第46回日本肝臓学会総会 ワークショップ5「肝発癌・進展とインスリン抵抗性」2010年4月22-24日、新潟
- 4) Shimizu M, Moriwaki H. Combination chemoprevention of hepatocellular carcinoma using acyclic retinoid. EASL Monothematic Conference. 2010年2月18-20日 アムステルダム
- 5) Shimizu M, Moriwaki H. Combination chemoprevention of hepatocellular carcinoma using acyclic retinoid. 101<sup>th</sup> AACR Annual Meeting 2010年4月17-21日 Washington D.C.
- 6) Shimizu M, Sakai H, Yasuda Y, Kubota M, Moriwaki H. Combination chemoprevention of hepatocellular carcinoma using acyclic retinoid. 第69回日本癌学会学術総会 2010年9月22-24日 大阪
- 7) 清水雅仁、安田陽一、森脇久隆. 肥満関連分子異常を標的とした大腸発癌予防. JDDW2010 (第52回日本消化器病学会大会) 2010年10月13-16日、横浜
- 8) 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の病態ーその多様性と相同性ー」2011年5月13日-15日、新潟

9) 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

10) 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

11) 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

12) 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

13) 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

14) Shimizu M, Tanaka T, Moriwaki H. Acyclic retinoid inhibits diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and

diabetic C57BLKS/J- +Lepr<sup>db</sup>/+Lepr<sup>db</sup> mice. The 3<sup>rd</sup> JCA-AACR Special Joint Conference, The Latest Advances in Liver Cancer Research 2011年3月1-3日、舞浜

15) 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. 102<sup>th</sup> 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：**肝細胞癌患者での糖鎖やサイトカインの変化による、診断・肝癌化学療法効果予測について解析を行った。欧米人で腫瘍マーカーとして報告されているフコシル化ヘモペキシンは、日本人においても肝癌患者血清で高値を示した。しかし癌細胞が産生している従来の癌マーカーではなく、肝臓の高癌化状態を示すマーカーとして有用であることを明らかとした。また、血清中の糖鎖を網羅的に解析するスイートプロットを用い、肝癌の分子標的薬であるソラフェニブの治療効果予測への応用を検討した。その結果、網羅的糖鎖解析による腫瘍縮小効果の予測は困難であったが、皮膚合併症等を事前に予測できる可能性のある糖鎖を見出し、今後の前向き試験の基礎となるデータを得る事ができた。また、血清中の血管新生サイトカインの同時測定がソラフェニブの予後予測に有用である可能性を示すことができた。

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。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い。そこで我々は、糖鎖およびソラフェニブのターゲットである血管新生にターゲットを絞り、肝癌化学療法の効果予測を目的とした本研究を、企画・遂行した。

B. 研究方法

患者同意取得済みの血液を用い、血清中のフコシル化ヘモペキシンをハイスルーブットのレクチン ELISA 法を用い測定した。また、抗人ヘモペキシン抗体結合ダイナビーズを用いてヘモペキシンを精製後、メン

ブレンに転写、AAL を反応させることによりフコシル化ヘモペキシンの発現特異性を確認した。

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、血清中糖鎖を分析した。

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

肝細胞癌患者 322 症例、非担癌慢性肝疾患患者 97 症例の血清でのフコシル化ヘモペキシンの値を測定した（他臓器癌は除外）。肝細胞癌患者、肝硬変、慢性肝炎患者血清中のフコシル化ヘモペキシンの中央値はそれぞれ 7.6, 4.5, 3.8AU であり、肝細胞癌と肝硬変、慢性肝炎等の非担癌肝疾患患者との間には明らかな差異を認めた。これらの症例での診断能を従来の腫瘍マーカーと対比検討したところ、フコシル化ヘモペキシンの AUROC は 0.76 であり、AFP の 0.78、PIVKaII の 0.71 に類似する良好なものであった。しかし、腫瘍径、腫瘍数などの腫瘍因子と血清値の間には相関が認められず、

抽出肝組織を用いた解析では、ヘモペキシンおよび、フコシル化ヘモペキシンは癌近傍の非癌部にも癌部と同様に発現していることが確認された。腫瘍因子以外の臨床パラメーターとの相関解析では、アルブミン低値、血小板低値が、フコシル化ヘモペキシン高値と関係していた。多変量解析においては、これらの因子に加え、癌の存在が独立した発現にかかわる因子として抽出された。また、局所治療前後での比較では発現量に変化は認められなかった。

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

数多くのフコシル化蛋白が、肝細胞癌患者血清中において発現亢進していることが海外より報告され、新たな腫瘍マーカー候補として期待されてきた。糖鎖発現パターンは人種間で異なっていることが知られているため、我々は最も腫瘍マーカーとしての有用性が高いと考えられてきたフコシル化ヘモペキシンの日本人における発現について検討を行った。本研究において肝癌の診断能は、現在臨床で使用されている AFP や PIVKALII に匹敵し、日本人においても、診断に有用であることを示唆させる所見を得た。

発現増強のメカニズムとしては、局所治療前後での血清中の発現変化が乏しいことや、非癌部での発現が認められる事より、癌細胞の存在によるものではなく、非癌肝組織での発現量が増加していることが原因と考えられ、フコシル化ヘモペキシンは従来の腫瘍マーカーとは明らかに異なった意味を持った指標といえる。この非癌部における発癌増強は、他の発がんに関与する因子とは独立したファクターであり、新たな高発癌状態の指標となるものと考えられ、今後前向きな検討が必要となろう。しかしフコシル化ヘモペキシンの生理的作用は不

明であり、今後、肝細胞や肝癌細胞に対し、いかなる作用があるかについて解析を進めてゆく必要がある。

糖鎖の変化が、肝癌においてもその生物学的特性とかかわっていることが明らかになってきたが、糖鎖修飾の全貌は解明されておらず、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。我々の3年目の検討で、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あることを明らかとしたが、ここでも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も得ることができている。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な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、肝臓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, Nouse K, Kobayashi Y, Yasunaka T, Onishi H, Nakamura S, Shiraha