

- pemetrexed of NSCLC associated with EML4-ALK and low thymidylate synthase expression. *Clin Lung Cancer* 2012;13(2):157-9.
27. 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.* 2012;103(2):221-7 .
 28. 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.* 2011; 6(11): 1889-94.
 29. Fujita Y, Islam R, Kaneda H, Kudo K, Tamura D, Aomatsu K, Nagai T, Kimura H, Matsutmoto K, Velasco MA, Arao T, Okawara T, Nishio K. Aza-derivatives of resveratrol are potent macrophage migration inhibitory factor inhibitors. *Invest New Drugs* 2012; 30(5): 1878-86.
 30. 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.* 2012;7(1):115-21.
 31. 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* 2011;3(99):99ra86.
 32. 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* 2011;105(8): 1210-7.
 33. 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.* 2011 ;31(9):2787-96.
 34. 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.* 2011; 26;105(3):407-12.
 35. Kodera 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.* 2011; 13(3):R66.
 36. 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): 4097-1069, 2011.
 37. 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 pemetrexed sensitivity in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2011;104(10):1594-601.
38. Nishimura S, Tsuda H, Kataoka F, Arao T, Nomura H, Chiyoda T, Susumu N, Nishio K, Aoki D. Overexpression of cofilin 1 can predict progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer receiving standard therapy. *Hum Pathol*. 2011; 42(4):516-21.
39. 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*. 2011;17(8):2528-37.
40. 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*. 2011;407(1):219-24.
41. Kim HK, Choi IJ, Kim CG, Kim HS, Oshima A, Yamada Y, Arao T, Nishio K, Michalowski A, Green JE. Three-gene predictor of clinical outcome for gastric cancer patients treated with chemotherapy. *Pharmacogenomics J*. 2010;12(2):119-27.
42. 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*. 2011;102(2):382-6.
43. 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*. 2011 Jan;10(1):169-77.
44. Kudo K, Arao T, Tanaka K, Nagai T, Furuta K, Sakai K, Kaneda H, Matsumoto K, Tamura D, Aomatsu K, De Velasco MA, Fujita Y, Saijo N, Kudo M, Nishio K. Antitumor activity of BIBF 1120, a triple angiokinase inhibitor, and use of VEGFR2+pTyr+ peripheral blood leukocytes as a pharmacodynamic biomarker in vivo. *Clin Cancer Res*. 2011;17(6):1373-81.
45. Okamoto K, Okamoto I, Okamoto W, Tanaka K, Takezawa K, Kuwata K, Yamaguchi H, Nishio K, Nakagawa K. Role of survivin in EGFR inhibitor-induced apoptosis in non-small cell lung cancers positive for EGFR mutations. *Cancer Res*. 2010 ;70(24):10402-10.
46. Tamura K, Shimizu C, Hojo T, Akashi-Tanaka S, Kinoshita T, Yonemori K, Kouno T, Katsumata N, Ando M, Aogi K, Koizumi F, Nishio K, Fujiwara Y. Fc γ R2A and 3A polymorphisms predict clinical outcome of trastuzumab in both neoadjuvant and metastatic settings in patients with HER2-positive breast cancer. *Ann Oncol*. 2011;22(6):1302-7.
47. Izumi H, Wakasugi T, Shimajiri S, Tanimoto A, Sasaguri Y, Kashiwagi E, Yasuniwa Y, Akiyama M, Han B, Wu Y, Uchiumi T, Arao T, Nishio K, Yamazaki R, Kohno K. Role of ZNF143 in tumor growth through transcriptional regulation of DNA replication and cell-cycle-associated genes. *Cancer Sci*. 2010 ;101(12):2538-45.
48. 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

- upregulation of SNAI1 and SNAI2 through Smad and non-Smad pathways in a human corneal epithelial cell line. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(5):2437-43.
49. Okamoto W, Okamoto I, Tanaka K, Hatashita E, Yamada Y, Kuwata K, Yamaguchi H, Arao T, Nishio K, Fukuoka M, Jänne PA, Nakagawa K. TAK-701, a humanized monoclonal antibody to hepatocyte growth factor, reverses gefitinib resistance induced by tumor-derived HGF in non-small cell lung cancer with an EGFR mutation. *Mol Cancer Ther.* 2010 ;9(10):2785-92.
 50. Hagiwara S, Kudo M, Ueshima K, Chung H, Yamaguchi M, Takita M, Haji S, Kimura M, Arao 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.* 2011;46(2):212-21.
 51. Kasahara K, Arao T, Sakai K, Matsumoto K, Sakai A, Kimura H, Sone T, Horiike A, Nishio M, Ohira T, Ikeda N, Yamanaka T, Saijo N, Nishio K. Impact of serum hepatocyte growth factor on treatment response to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with non-small cell lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2010 ;16(18):4616-24.
 52. Okamoto I, Kaneda H, Satoh T, Okamoto W, Miyazaki M, Morinaga R, Ueda S, Terashima M, Tsuya A, Sarashina A, Konishi K, Arao T, Nishio K, Kaiser R, Nakagawa K. Phase I safety, pharmacokinetic, and biomarker study of BIBF 1120, an oral triple tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced solid tumors. *Mol Cancer Ther.* 2010 ;9(10):2825-33.
 53. Tominaga E, Tsuda H, Arao T, Nishimura S, Takano M, Kataoka F, Nomura H, Hirasawa A, Aoki D, Nishio K. Amplification of GNAS may be an independent, qualitative, and reproducible biomarker to predict progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2010 ;118(2):160-6.
 54. Yamada Y, Arao T, Matsumoto K, Gupta V, Tan W, Fedynshyn J, Nakajima TE, Shimada Y, Hamaguchi T, Kato K, Taniguchi H, Saito Y, Matsuda T, Moriya Y, Akasu T, Fujita S, Yamamoto S, Nishio K. Plasma concentrations of VCAM-1 and PAI-1: a predictive biomarker for post-operative recurrence in colorectal cancer. *Cancer Sci.* 2010 ;101(8):1886-90.
 55. Kaneko A, Tsukada M, Fukai M, Suzuki T, Nishio K, Miki K, Kinoshita K, Takahashi K, Koyama K. KDR Kinase Inhibitor Isolated from the Mushroom *Boletopsis leucomelas*. *J Nat Prod.* 2010 ;73(5):1002-4.
 56. Ohkawa Y, Miki K, Suzuki T, Nishio K, Sugita T, Kinoshita K, Takahashi K, Koyama K. Antiangiogenic metabolites from a marine-derived fungus, *Hypocrea vinosa*. *J Nat Prod.* 2010 ;73(4):579-82.
 57. Okamoto W, Okamoto I, Yoshida T, Okamoto K, Takezawa K, Hatashita E, Yamada Y, Kuwata K, Arao T, Yanagihara K, Fukuoka M, Nishio K, Nakagawa K. Identification of c-Src as a potential therapeutic target for gastric cancer and of MET activation as a cause of resistance to c-Src inhibition. *Mol Cancer Ther.* 2010 ;9(5):1188-97.
 58. Takezawa K, Okamoto I, Tanizaki J, Kuwata K, Yamaguchi H, Fukuoka M, Nishio K, Nakagawa K. Enhanced anticancer effect of the combination of BIBW2992 and thymidylate synthase-targeted agents in non-small cell lung cancer with the T790M mutation of epidermal growth factor receptor. *Mol Cancer Ther.* 2010 ;9(6):1647-56.

59. Tamura D, Arao T, Tanaka K, Kaneda H, Matsumoto K, Kudo K, Aomatsu K, Fujita Y, Watanabe T, Saijo N, Kotani Y, Nishimura Y, Nishio K. Bortezomib potentially inhibits cellular growth of vascular endothelial cells through suppression of G2/M transition. *Cancer Sci.* 2010 ;101(6):1403-8.
60. Kaneda H, Arao T, Tanaka K, Tamura D, Aomatsu K, Kudo K, Sakai K, De Velasco MA, Matsumoto K, Fujita Y, Yamada Y, Tsurutani J, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. FOXQ1 is overexpressed in colorectal cancer and enhances tumorigenicity and tumor growth. *Cancer Res.* 2010 ;70(5):2053-63.
61. Takeda M, Okamoto I, Fujita Y, Arao T, Ito H, Fukuoka M, Nishio K, Nakagawa K. De novo resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in EGFR mutation-positive patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010 ;5(3):399-400.
62. Yoshida T, Okamoto I, Okamoto W, Hatashita E, Yamada Y, Kuwata K, Nishio K, Fukuoka M, Jänne PA, Nakagawa K. Effects of Src inhibitors on cell growth and epidermal growth factor receptor and MET signaling in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer cells with acquired MET amplification. *Cancer Sci.* 2010 ;101(1):167-72.

2. 学会発表

- 永井知行、木村英晴、荒尾徳三、松本和子、藤田至彦、吉田修平、林秀敏、工藤正俊、西尾和人、ソラフェニブの上皮間葉移行阻害効果、第10回日本臨床腫瘍学会学術集会、2012. 7. 26-28
- 永井知行、荒尾徳三、土師誠二、松本和子、木村英晴、藤田至彦、吉田修平、加藤寛章、林秀敏、萩原智、櫻井俊治、上嶋一臣、工藤正俊、西尾和人、EMT関連遺伝子発現と肝細胞癌術後予後の解析、第16回日本がん分子標的治療学会学術集会、

2012. 6. 27-29

- Nagai, T., Arao, T., Matsumoto, K., Sakai, K., Kaneda, H., Tamura, D., Aomatsu, K., Kimura, H., Fuita, Y., Hagiwara, S., Sakurai, T., Ueshima, S., Kudo, M., Nishio K. Impact of TJP-1 and TWIST expression on post-operative prognosis in hepatocellular carcinoma. American Association for Cancer Research 102nd Annual Meeting 2012, 2012. 3. 1-4. 4
- 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.
- 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、西尾和人、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.
- 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.
- 永井知行、荒尾徳三、坂井和子、工藤可苗、金田裕靖、田村大介、青松圭一、木村英晴、藤田至彦、松本和子、西條長宏、工藤正俊、西尾和人 ソラフェニブは肝細胞癌株において、HGF起因の上皮間葉移行 (Epithelial mesenchymal transition) を阻害する、第69回日本癌学会学術総会、2010年9月
- 松本和子、荒尾徳三、工藤可苗、古田一行、坂井和子、永井知行、金田裕靖、田村大介、青松圭一、藤田至彦、木村英晴、西尾和人 血管内皮細胞におけるVEGFR2チロシンキナーゼ阻害薬の耐性機構、第69回日本癌学会学術総会、2010年9月
- Nagai, T., Arao, T., Furuta, K., Sakai, K., Kudo, K., Kaneda, H., Tamura, D., Aomatsu, K., Fujita, Y., Matsumoto, K., Saijo, N., Kudo, M.,

Nishio, K. Sorafenib inhibits hepatocyte growth factor-induced epithelial mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. American Association for Cancer Research 101st Annual Meeting 2010, 2010.

10. Matsumoto, K., Arao, T., Furuta, K., Sakai, K., Nagai, T., Kudo, K., Kaneda, H., Tamura, D., Aomatsu, K., Fujita, Y., Nishio, K.
Characterization of human umbilical vein endothelial cell clones resistant to VEGFR2 tyrosine kinase inhibitor. American Association for Cancer Research 101st Annual Meeting 2010, 2010.

H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

特許取得

（特許公開）

1. ソラフェニブの効果予測方法、西尾和人、他3名（特許公開2012-249633）2012年12月20日公開

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)ならびに効果を予測するbiomakerの探索

分担研究テーマ：本臨床試験の種々の条件を考慮に入れた最適な試験デザインの検討

研究分担者 赤澤 宏平 国立大学法人新潟大学医歯学総合病院医療情報部教授

研究要旨

本臨床試験を実施するにあたり、必要症例数の算出と適切な統計解析手法を検討した。必要症例数は有意水準 0.05、検出力 80%の片側ログランク検定を実施する際に必要となる症例数を計算した。また、主要評価尺度が全生存期間、副次評価尺度が無増悪期間であることから、Intention-to-treat の原則に基づく治療効果判定の統計学的手法について検討した。

A. 研究目的

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)において、低用量シスプラチン+ソラフェニブ併用療法とソラフェニブ単独療法の治療効果の推定と2群の治療効果・安全性の優劣評価を行うために必要とされる症例数の算出と一連の統計解析の手順を立案し、実際の統計解析を実施することである。また、低用量シスプラチン+ソラフェニブ併用療法の効果を予測するbiomakerの探索に関する統計解析についても計画を立案し実施する。

B. 研究方法

本臨床試験の実実施計画書作成時に、低用量シスプラチン+ソラフェニブ併用療法とソラフェニブ単独療法の想定される治療効果に関する文献を本研究課題の専門医から収集した。具体的には、全生存期間、無増悪期間、客観

的奏効率についてのエビデンスレベルの高い学術論文を抽出してもらった。これらの治療効果の推定値と有意水準 0.05、検出力 80%の条件下で必要症例数を算出した。算出にあたっては専用のソフトウェア nQuaryAdvisor Ver. 6.0 を用いた。

治療効果や安全性を評価する際の統計解析手順については、収集されるデータの性質(連続、2値、順序、Time to event のいずれか)と臨床的な仮説に基づき立案した。

(倫理面への配慮)

本試験の実施にあたっては、各施設の臨床試験審査委員会もしくは倫理審査委員会で審査・承認された後に施設の長の承認を得て実施された。本臨床試験で収集されたデータは各施設での連結匿名化がなされているので、データセンターでは個人を特定できないデータの集積が行われた。データ解析は近畿大学と新潟大学で行われる予定であるが、これらの匿名化されたデータが用いられる。

C. 研究結果

(1) 症例数の設定

有効性の主要評価尺度である全生存期間に基づいて必要症例数を算出した。死亡が指数分布に従い発生すると仮定した。ソラフェニブ単独療法群の全生存期間の中央値を10ヶ月、低用量シスプラチン+ソラフェニブ併用療法による全生存期間の中央値の延命効果を、文献に基づき70%と仮定した。これらの仮定により、ソラフェニブ単独療法群に対する低用量シスプラチン+ソラフェニブ併用療法群のハザード比は0.59と推定された。

全生存期間に基づく生存率曲線の差を有意水準0.05、検出力80%の片側ログランク検定で検定する場合、上述の条件下で必要とされる死亡例数は112例である。

試験期間36ヶ月（登録期間24ヶ月、観察期間12ヶ月）中に164例を追跡することで必要死亡例数が観察されると期待される。約15%の追跡不能例を見込み、190例（各群95例）の登録が必要であると算出された。

(2) 統計学的解析

実際の統計解析はデータ集積を終了してこれらのデータを固定した後に実施するのでこれからの作業となる。統計解析の概略をまとめると以下のとおりである。

ソラフェニブ単独療法に低用量シスプラチンを併用した場合の上乗せ効果を全生存期間で評価する。各群の累積死亡率の分布をKaplan-Meier法により推定する。ITT(Intention-to-treat)の原則による主要評価尺度を用いた治療効果判定は、一つまたは二つの層別因子を考慮に入れた層別ログランク検定により行う。また、プロトコール遵守症例のみを用いた同様の解析も行い、治療効果判定結果の整合性を確認する。

さらに、補完的な解析としてCoxの比例ハザ

ードモデルによる多変量解析も実施する。すなわち、生存予後に大きな影響を与える予後因子の影響を補正した上で上述の治療効果判定も行うこととする。その際、連続データや順序データについては、ハザードへの影響が必ずしも線形ではないと予想される。そこで、比例ハザードモデルの予後指数部分に折れ線ハザード関数を適用して、これらのハザードの変化を正確に表現する。副次評価尺度である無増悪期間、無増悪生存期間についても上述と同様の解析を実施する。

客観的奏効率(ORR)による治療効果判定はFisherの直接確率法による検定を行う。他の背景因子の影響を補正するために、多重ロジスティック回帰分析を適用する。ただし、通常の尤度理論に基づくロジスティック回帰分析を実施する際に症例数が少なすぎる場合には、Exactなロジスティック回帰分析も行うこととする。

D. 考察

目標症例数の集積、データセンターに提出すべき報告書の回収、データの不備等の確認、解析データの固定が終了した後の統計解析が今後行われる予定である。本分担研究者は今後の統計解析と論文作成に深くかかわると思われる。

Time-to-Eventを評価尺度とする臨床試験での治療効果判定手法は、主たる解析をログランク検定もしくは層別ログランク検定、補完的な解析あるいはサブセット解析としてCoxの比例ハザードモデルによる解析が行われる。これらの手法や手順はある程度確立された方法ではあるが、疾患の種類や重症度の違いにより統計手法の適用に注意を要する点がある。統計学的な理論と実践能力を兼ね備えたスタッフによる統計解析が必須となるとともに、解析結果の解釈には臨床家との密接

なコミュニケーションが必要である。

E. 結論

本臨床試験の必要症例数の算出の具体的な説明と今後行われる治療効果判定・安全性評価の統計解析手順について検討した。これらの作業が滞りなく進められ、新しい治療法の有効性と安全性に関する確証的な結論が早期に得られることを期待する。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Wakai T, Korita P V, Ajioka Y, Inoue M, Takamura M, Akazawa K, Shirai Y, Hatakeyama K. Intraepithelial Ductal Spread in Colorectal Carcinoma Liver Metastasis, Hepato-Gastroenterology 58:583-588, 2011.

Sakata J, Shirai Y, Wakai T, Ajioka Y, Akazawa K, Hatakeyama K, Assessment of the nodal status in ampullary carcinoma: the number of positive lymph nodes versus the lymph node ratio, World Journal of Surgery 35(9):2118-2124, 2011.

2. 学会発表

なし

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

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 国立がん研究センター中央病院 科長

研究要旨：進行肝がんの予後は極めて不良であり、より有効な薬物療法の開発が求められている。今回、「進行肝細胞がんに対するS-1とシスプラチン肝動注療法併用療法の第I相臨床試験」を施行し、最大耐容量および推奨用量を決定した。この結果にもとに第II相臨床試験を計画中である。

A. 研究目的

肝がん（以降、肝細胞がん）ラジオ波焼灼術（RFA）や肝動脈塞栓化学療法（TACE）など局所治療は重要な治療であるが、一旦これらの治療が不応となると有効性を示す治療はマルチTKIであるソラフェニブのみであるため、新たな治療の開発が必須である。

本邦で行われた進行肝細胞がんに対するS-1単剤療法の第I/II相臨床試験が実施され、高い安全性と奏効性（奏効割合20%）が報告されており、ソラフェニブ不応後の肝細胞がんに対する治療としては第III相臨床試験が実施されている。

さらに、本邦では、ソラフェニブ登場以前より肝細胞がんに分布する動脈血流からアトラサイクリン、フッ化ピリミジン製剤やプラチナ製剤を注入することにより腫瘍に高濃度の抗がん剤に投与する（肝動注療法）ことにより、抗腫瘍効果を期待する治療が実施されている。しかしながら、未だ有効性を示すことができず、世界的な標準治療としては認識されていない。

今回、進行肝細胞がんに対して有効性が期待されているS-1とシスプラチン肝動注療法を併用することにより高い奏効性と生存の延長を期待する治療開発として、安全性を検証する第I相臨床試験を計画した。

B. 研究方法

(1) 「進行肝細胞がんに対するS-1とシスプラチン肝動注療法併用療法の第I相臨床試験」について：

[研究形式] 多施設共同（国立がん研究センター中央・東病院）の第I相試験、エンドポイントは用量制限毒性（DLT）の評価であり、これにより最大耐容量（MTD）と第II相試験における推奨用量（RD）を決定することにある。

[対象症例] 外科切除、局所壊死療法やTACEなどの局所療法に不応あるいは不適格な進行肝細胞がん、PS 0から2、骨髄・肝・腎などの主要臓器機能が保持されている患者（肝予備能[Child-Pugh:A-B]ま

で)。十分な説明後に本人より文書で同意の得られた症例。

[治療内容] S-1内服療法とシスプラチン肝動注療法の併用療法である。本試験では用量試験であり、試験開始用量をレベル1としDLTを評価しながらレベル3まで用量を増量する。レベル1：S-1 (50 mg/day [体表面積 < 1.25 m²], 60 mg/day [1.25 m² ≤ 体表面積 < 1.5 m²], 80 mg/day [1.5 m² ≤ 体表面積]) をday1-21の間連日内服する。シスプラチン肝動注療法は65 mg/m²をday1に投与する。レベル2：S-1 (60 mg/day [体表面積 < 1.25 m²], 80 mg/day [1.25 m² ≤ 体表面積 < 1.5 m²], 100 mg/day [1.5 m² ≤ 体表面積]) をday1-21の間連日内服する。レベル3：S-1 (80 mg/day [体表面積 < 1.25 m²], 100 mg/day [1.25 m² ≤ 体表面積 < 1.5 m²], 120 mg/day [1.5 m² ≤ 体表面積]) をday1-21の間連日内服する。シスプラチン肝動注療法は65 mg/m²をday1に投与する。これを5週毎に原疾患の悪化または毒性のため中止するまで継続する。

[用量制限毒性の評価]

DLTの設定はCommon Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) version 3.0.を用いて以下の通りとする。

- ①発熱性好中球減少症あるいはグレード3あるいは4の好中球減少症に伴う感染症。
- ②グレード4の白血球あるいは好中球減少が7日間以上持続する場合。
- ③グレード4の血小板減少あるいは血小板輸血が必要なグレード3の血小板減少。
- ④グレード3の非血液毒性（ただしAST, ALT, ALP、とγ-GTPが施設基準値の15倍以上となる場合）。
- ⑤治療開始から49日を超えても次治療の開始ができない場合。

⑥S-1の内服は各コース中50%以下の用量となる場合。

[倫理的配慮と被験者の安全]

被験者に対して「説明文書」を用いて次の項目を説明し、「同意書」を用いて文書で同意を確認する。被験者の安全性確保については、適格条件やプロトコール治療の中止変更規準を厳しく設けており、試験参加による不利益は最小化される。また、「臨床研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言などの国際的倫理原則を遵守する。

個人情報管理者により匿名化され厳重に管理され、症例登録以後は匿名化された番号のみで取り扱う。

C. 研究結果

- 1) 登録状況：2010年1月より登録を開始し、2011年6月に登録を完了した(13例)。本試験では12例で解析を行った(1症例は試験治療用量の順守がなされていないことから除外。)
- 2) 患者背景：主な背景は、年齢中央値(範囲)：64.5 (47-80) 歳、男/女：11/1、PS 0/1：11/1、Stage II/IIIA/IIIB/IVA/IVB：3/3/2/0/4、背景肝(ウイルス感染)、HBV/HCV/非B, C：7/3/2、背景肝(Child-Pugh score、5/6/7)：7/3/2。
- 3) 有害事象：本試験におけるDLTは認められなかった。レベル1/レベル2/レベル3の主な(10%以上)Grade 3-4の有害事象(%)は、ヘモグロビン低下：0/33/17、AST上昇：0/67/50、ALT上昇：33/33/0であった。
- 4) 治療効果：生存期間中央値：328日、無増悪生存期間中央値：73日であった。奏効性は部分寛解(PR)：2 (17%) 例、不変(SD)：5 (41.5%) 例であった。増悪(PD)：5 (41.5%) 例であった。

5) 総括:本試験におけるレベル3:S-1 (80 mg/day [体表面積 < 1.25 m²], 100 mg/day [1.25 m² ≤ 体表面積 < 1.5 m²], 120 mg/day [1.5 m² ≤ 体表面積]) をday1-21の間連日内服が推奨される。

D. 考察

進行肝細胞がんに対するS-1とシスプラチン肝動注療法併用療法はDLTに該当する有害事象を認めず、安全性の高い治療である。今後、有用性(奏効割合)を検証する第II相臨床試験による更なる検証が必要である。

E. 結論

進行肝細胞がんにおいてはソラフェニブのみが有効性を示した治療であり、その治療選択は限られる。ソラフェニブ不応あるいは適応外の患者に対する治療開発が必須である。

現在、本邦において進行肝細胞がんに対するS-1単剤内服療法の有効性を検証するランダム化比較第III相臨床試験が実施されており、その結果が待たれるところである。この結果をもって本試験によるS-1とシスプラチン肝動注療法の併用療法により高い奏効性と生存の延長を期待する治療開発を検討する予定であるが本治療は肝動注が汎用される本邦における選択肢としての確立を目指すものである。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato K, Sato S, Furuse J, Kasugai H,

Konishi M, Kosuge T, Saito A, Sasaki Y, Takasaki K, Okusaka T. A conundrum for randomized controlled trials: experier from a small hepatocellular carcinoma trial. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(10): 949-953.

2. Furuse J, Okusaka T, Kaneko S, Kudo M, Nakachi K, Ueno H, Yamashita T, Ueshima K. Phase I/II study of the pharmacokinetics, safety and efficacy of S-1 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*, 2010, 101(12): 2606-2611.

3. Okusaka T, Furuse J. Chemotherapy and recent clinical trials for HCC in Japan. 2nd Japan-Taiwan Joint symposium on Medical Oncology (Dec12-13, 2009). Session 3: Hepatocellular carcinoma. *Journal of the Chinese Oncology Society (JCOS)*, 2011, 1: 30-35.

4. Okusaka T, Ueno H, Ikeda M, Morizane C. A phase I and pharmacokinetic clinical trial of oral administration of the acyclic retinoid NIK-333. *Hepatology Research*, 2011, 41(6): 542-552.

5. 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.

6. 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.
7. 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.
 8. 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.
 9. 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 transarterial chemoembolization in Japanese and Korean patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*, 2011, 47(14): 2117-2127.
 10. Okusaka T, Ueno H, Ikeda M, Takezako Y, Morizane C. Phase I study of TAC-101, an oral synthetic retinoid, in Japanese patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci*, 2012, 103(8): 1524-1530.
 11. 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 Drugs*, 2012, 30(5): 2015-2025.
 12. Kondo S, Ojima H, Tsuda H, Hashimoto J, Morizane C, Ikeda M, Ueno H, Tamura K, Shimada K, Kanai Y, Okusaka T. Clinical impact of c-Met expression and its gene amplification in hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2012, Jan 5 [Epub ahead of print]
 13. Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, Boroevich KA, Hosoda F, Nguyen HH, Aoki M, Hosono N, Kubo M, Miya F, Arai Y, Takahashi H, Shirakihara T, Nagasaki M, Shibuya T, Nakano K, Watanabe-Makino K, Tanaka H, Nakamura H, Kusuda J, Ojima H, Okusaka T, Ueno M, Shigekawa Y, Kawakami A, Arihiro K, Phdan H, Gotoh K, Ishikawa O, Ariizumi S, Yamamoto M, Yamada T, Chayama K,

- Kosuge T, Yamaue H, Kamatani N, Miyano S, Makagama H, Makamura Y, Ysunoda T, Shibata T, Nakagawa H. Whole-genome sequencing of liver cancers identifies eriological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators. *Nat Genet*, 2012, 44(7): 760-764.
14. Shiba S, Kondo S, Ueno H, Morizane C, Ikeda M, Okusaka T. Hepatitis B virus reactivation during treatment with multi-tyrosine kinase inhibitor for hepatocellular carcinoma. *Case Rep Oncol*, 2012, 5(3): 515-519.
15. Furuse J, Ishii H, Okusaka T. The Hepatobiliary and Pancreatic Oncology (HBPO) Group of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG): Histpry and Futer Direction. *Jpn J Clin Oncol*, 2013 , 43(1): 2-7.
2. 学会発表
1. 橋本 淳、近藤俊輔、萩原淳司、森実千種、上野秀樹、田村研治、金井弥栄、津田 均、奥坂拓志、尾島英知. (一般口演 01-050) 切除肝細胞がんにおけるc-MET発現と再発・浸潤について. 第8回日本臨床腫瘍学会学術集会 2010年3月18-19日. 於：東京都
2. Okita K, Matusi O, Kumda H, Tanaka K, Kaneko S, Horiwaki H, Izumi N, Okusaka T, Ohashi Y, Makuuchi M, Pereinoin Study Group. Effect of peretinoin on recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC): Results of a phase II/III randomized placebo-controlled trial. (Poster Session) 46th ASCO, June 4-8, 2010, Chicago, IL, U. S. A. *J Clin Oncol* 28(15S, Part I of II): 306S(Abstract No. 4024), 2010.
3. Ikeda M, Okusaka T, Ueno H, Morizane C, Nakachi K, Mitsunaga S, Sato Y, Inaba Y, Satake M, Arai Y. A phase I/II trial of continuous hepatic intra-arterial infusion of 5-fluorouracil, mitoxantrone, and cisplatin (FMP therapy) for advanced hepatocellular carcinoma. 46th ASCO, June 4-8, 2010, Chicago, IL, U. S. A. *J Clin Oncol* 28(Suppl): e14556, 2010.
4. 柴 知史、森実千種、奥坂拓志、池田公史、仲地耕平、光永修一、上野秀樹、近藤俊輔. 分子標的治療薬による治療中にB型肝炎が再活性化した肝細胞癌の1例. 第2回日本肝がん分子標的治療研究会. 2010年6月19日. 於：東京.
5. 高橋秀明、池田公史、清水 怜、大野泉、小島康志、光永修一、仲地耕平、近藤俊輔、森実千種、上野秀樹、奥坂拓志. 進行肝細胞がんに対する Sorafenib 投与例における腫瘍マーカーの推移と無増悪期間の関係. (ワークショップ1 感癌における分子標的治療の現状と将来展望 WS1-5) 第46回日本肝癌研究会 2010年7月8日-9日. 於：大阪市. 第46回日本肝癌研究会 プログラム集, pp104(WS1-5), 2010.
6. 萩原淳司、池田公史、奥坂拓志 (シンポジウム1、演題番号：肝S1-9) 進行肝細胞がんに対するソラフェニブとシスプラチン肝動注療法の併用化学

- 療法の第 I 相臨床試験. 第52回日本消化器病学会大会 JDDW2010 2010年10月13日-10月16日. 於:横浜市.
7. 池田公史、奥坂拓志、佐藤洋造、仲地耕平、光永修一、森実千種、上野秀樹、加藤弥菜、竹内義人、佐竹光夫、稲葉吉隆、荒井保明. 肝細胞癌に対して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-. (パネルディスカッション)第48回日本癌治療学会学術集会. 2010年10月28日-30日. 於:京都市.
 8. 山口智宏、奥坂拓志、近藤俊輔、森実千種、上野秀樹、清水 怜、光永修一、仲地耕平、池田公史. 進行肝細胞癌におけるソラフェニブ早期無効例と長期投与可能例との比較. (セッション 1 分子標的治療が有効であった症例) 第3回日本肝がん分子標的治療研究会 2011年1月15日. 於:下関市.
 9. Okusaka T. Clinical benefit of peretinoin for the suppression of hepatocellular carcinoma (HCC) recurrence in patients with child-pugh grade A (CP-A) and small tumor: A subgroup analysis in a phase II/III randomized placebo-controlled trial. American Society of Clinical Oncology, The 2011 Gastrointestinal Cancers Symposium (ASCO-GI), Jan 20-22, 2011, San Francisco, CA, U. S. A.
 10. 奥坂拓志. 基調講演:肝がんに対する分子標的治療の動向と今後の展望. 第4回日本肝がん分子標的治療研究会. 2011年6月18日 於:東京都
 11. 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.
 12. Okuaka 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.
 13. Terazawa T, Kondo S, Morizane C, Yamaguchi T, Shimizu S, Mitsunaga S, Ikeda M, Ueno H, Okusaka T. (General Poster Session B) Transarterial infusion chemotherapy with cisplatin plus S-1 for treating hepatocellular carcinoma: Results of a phase I trial. (Abstract #357) American Society of Clinical Oncology, The 2012 Gastrointestinal Cancers Symposium (ASCO-GI), Jan 19-21, 2012, San Francisco, CA, U. S. A.
 14. 奥坂拓志. (シンポジウム) 分子標的治療. シンポジウム 4 :肝細胞癌集学的治療の現況と再発予防. 第98回日本消化器病学会総会 2012年4月19日-21日. 於:東京都

15. 奥坂拓志. (ワークショップ13) GIDEON第2回中間解析における日本人サブ解析結果「国際共同非介入試験GIDEON第2回中間解析における日本人集団解析結果ならびに投与開始時AFP値での層別解析の検討」. ワークショップ13「肝細胞癌に対する分子標的薬開発の基礎から臨床」. 第48回日本肝臓学会総会. 2012年6月7日-8日. 於: 金沢市
16. 奥坂拓志, 池田公史, Park Sang Joon, 竹内義人, 穴井 洋, Kim Jae Kyu, 稲葉吉隆, 新槇 剛, Kwon Se Hwan, 山本精一郎, 荒井保明. 切除不能肝細胞癌に対する肝動脈化学塞栓療法—日本・韓国共同研究— (パネルディスカッション1 肝癌治療におけるTACEの位置づけ: 追加発言). 第48回日本肝癌研究会. 2012年7月20日-21日. 於: 金沢市
17. 高山忠利, 池田公史, 沼田和司, 泉 並木, 國土典宏, 古瀬純司, 奥坂拓志, 角谷眞澄, 伊藤雄一郎, 工藤正俊. Sorafenib国際試験GIDEONの中間解析: TACE施行歴による層別解析. (パネルディスカッション4 肝細胞癌分子標的治療: 現状と問題点 PD4-2). 第48回日本肝癌研究会. 2012年7月20日-21日. 於: 金沢市
18. 奥坂拓志. Development of nermolecular agents for hepatocellular carcinoma (SY6-6). 新規分子標的薬の開発状況. 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2012年7月26日-28日. 於: 大阪市
19. 上野秀樹, 池田公史, 光永修一, 奥坂拓志. 肝細胞癌における血管新生阻害療法の適正化(SY9-3). 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2012年7月26日-28日. 於: 大阪市
20. 寺澤哲志, 近藤俊輔, 森実千種, 山口智宏, 清水 怜, 光永修一, 池田公史, 上野秀樹, 奥坂拓志. 進行肝細胞癌に対するシスプラチン肝動注療法とS-1の併用化学療法—第I相臨床試験— (OS24肝胆膵がん①02-054) 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2012年7月26日-28日. 於: 大阪市
21. Ikeda M, Arai Y, Park S-J, Takeuchi Y, Anai H, Kim J-K, Inaba Y, Aramaki T, Kwon S-H, Yamamoto S, Okusaka T. (MIS5-3) Expanded treatment efficacy and safety study of transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma with epirubicin/doxorubicin-lipiodol emulsion and gelatin particles: A cooperative study between Korea and Japan (MIS5-3) 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2012年7月26日-28日. 於: 大阪市
22. Ikeda K, Kumada T, Kudo M, Kawazoe S, Osaki Y, Ikeda M, Okusaka T, Suzuki T, Tamai T, O'Brien JP, Okita K. Phase I/II trial of Lenvatinib (E7080), a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor, in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). 37th ESMO Congress, 28 Sep-02Oct, 2012, Vienna (Wien), Austria.
23. 奥山浩之, 桑原明子, 高橋秀明, 大野泉, 清水 怜, 光永修一, 仲地耕平,

上野秀樹、森実千種、近藤俊輔、奥坂拓志、池田公史。進行肝細胞癌におけるソラフェニブ療法中止の予後因子。(PS2-282)。第50回日本癌治療学会学術集会。2012年10月25日-27日。於：横浜市

24. Okusaka T. A phase I study of GC33 in Japanese patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). (General poster session B: Cancers of the pancreas, small bowel, and hepatobiliary tract, Abstract control number: 105294, Permanent abstract ID: 235), Jan 24-26, 2013, ASCO-GI, Sanfrancisco, California, U. S. A.

25. Mitsunaga S, Ikeda M, Ueno H, Nakachi K, Morizane C, Kondo S, Shimizu S, Kojima Y, Suzuki T, Tamai T, Okusaka T. Phase I/II study of lenvatinib (E7080), a multitargeted tyrosine kinase inhibitor, in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): Phase I results. Jan 24-26, 2013, ASCO-GI, Sanfrancisco, California, U. S. A.

26. 清水 怜、桑原朋子、奥山浩之、高橋秀明、大野 泉、光永修一、篠原 旭、小林美沙樹、船崎秀樹、近藤俊輔、森実千種、上野秀樹、奥坂拓志、池田公史。血小板低値の肝細胞癌患者に対するSorafenib。(一般講演 セッションV 使用経験(3)) 第7回日本肝がん分子標的治療研究会。2013年1月19日。於：岐阜県岐阜市

27. 桑原朋子、池田公史、光永修一、清水

怜、大野 泉、高橋秀明、奥山浩之、近藤俊輔、森実千種、上野秀樹、佐竹光夫、荒井保明、奥坂拓志。肝動脈化学塞栓術に不応の肝細胞癌に対するソラフェニブの有効性-肝動注化学療法との比較-。(一般講演 セッションIV 使用経験(2)) 第7回日本肝がん分子標的治療研究会。2013年1月19日。於：岐阜県岐阜市

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 24 年度 がん臨床研究事業（肝炎関係研究分野）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

HCV キャリアにおける HCVRNA の変動—reference change value (RCV) による解析—

分担協力者 熊田 卓 大垣市民病院 消化器内科 副院長

研究要旨：2007 年 12 月から 2011 年 12 月までの間に経験し、3 年以上経過観察された C 型肝炎ウイルス (HCV) キャリアのうち、検討 1 として 1) 経過観察中に ALT が常に 40IU/L 以下、2) 抗ウイルス療法未施行、3) 3 カ月毎もしくは 6 カ月ごとに HCVRNA (HCV Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan System) をを満たす無症候性キャリア 119 例から 2 段階枝分かれ分散分析法 (2-level nested ANOVA) を用いて、個体内変動、個体内変動、分析時変動を求めた。検討 2 として 1) 抗ウイルス療法未施行、2) 3 カ月毎もしくは 6 カ月ごとに HCVRNA (HCV Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan System) を測定を満たす無症候性 HCV キャリア+症候性 HCV キャリアから基準変化値 (RCV : reference change value) の手法を用いて異常変動の頻度、異常変動に関与する因子について検討した。検討 1 : 分析時変動 (CV_A) は 2.35%、個体内変動 (CV_I) は 10.96%、個体内変動 (CV_G) は 86.70% で RCV (95%) は 31.0% であった。検討 2 : 変化率 (%) を (検査値 A - 検査値 B) / 検査値 A × 100 で求め、RCV (95%) の 31.0% と比較したところ異常変動率は 21.1% (71/336) であった。低 HCVRNA、遺伝子型 2 型、ALT 高値、AST 高値、血小板低値、ウルソデオキシコール酸服用が異常変動に有意に関連していた。ALT 値等に比して血中の HCVRNA の変動幅は少なく、治療開始のタイミングを得るために、ウイルス量の減少を期待して経過観察するのは現実的でないと考えた。

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

数値として得られる臨床検査値を判断する指標には①健常と考えられる集団の測定分布を示す基準値（従来は「正常値」と呼ばれていたが、あたかも健康状態の指標であるかのような誤解を与えるこの言葉に替えて「基準値」、「基準範囲」が用いられるようになった）と②特定の病態に対する識別指標であるカットオフ値（病態識別値）の 2 つがある。前者には多くの生化学検査値が含まれ、後者には腫瘍マーカーやウイルスマーカーなどが含まれている。しかし実際に使用する時は両者を混在して使用していることが多い。

一方、基準範囲として利用される検査値の多くが、生理的変動による影響が大きい検査のため基準値として解釈するには限界があることもわかってきた。各々の検査値には生理的個性があり、その構成成分には分析時変動 (CV_A)、個体内変動 (CV_I 、年齢、食事、飲酒、運動、体位、日内変動、生活様式などに基づく生理的な変動) と個体内変動 (CV_G 、性差、個体差などに基づく生理的な変動) がある。個体内変動はほとんどの検査項目において個体内変動より小さい。臨床検査値に変動が観察された際に、これが生理的変動なのか、あるいは何らかの原因で生じた異常変動なのかを判断する必要がある。特に個性指数が低い検査値では、たとえ基準値内の変化であっても安易にこれが異常変動ではないと判断することは危険である。理想的には「個人の基準範囲」をあらかじめ求めておくことができれば良いが現実的には困難である。

そこで臨床検査の分野では分析時変動 (CV_A)、個体内変動 (CV_I) から計算される基準変化値 (RCV : reference change value) から異常の変動を生じているかどうかを判断することが提唱されている。今回われわれは RCV の手法を用いてとして血中 HCVRNA の変

動につき検討した。

B. 研究方法

対象は 2007 年 12 月から 2011 年 11 月までの間に経験した 3 年以上経過観察された HCV キャリアのうち、(検討 1)

無症候性 HCV キャリアとして、

- 1) 経過観察中に ALT が常に 40IU/L 以下
- 2) 抗ウイルス療法未施行
- 3) 3 カ月毎もしくは 6 カ月ごとに HCVRNA (HCV Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan System) を測定を満たす 119 例を抽出し、2 段階枝分かれ分散分析法 (2-level nested ANOVA) を用いて、個体内変動、個体内変動、分析時変動を求めた。

なお、血中 HCVRNA は対数正規分布を示したため、対数変換した値を用いて検討した

(検討 2)

無症候性 HCV キャリア+症候性 HCV キャリアとして、

- 1) 抗ウイルス療法未施行
- 2) 3 カ月毎もしくは 6 カ月ごとに HCVRNA (HCV Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan System) を測定を満たす 336 例を抽出し、検討 1 で求めた RCV (95%) を用いて、異常変動の頻度、異常変動に関与する因子について検討した。

C. 研究結果

1) 検討 1

①背景因子

女性 82 例、男性 37 例、年齢は 72 歳 (31~84)、血中 HCVRNA 6.3 log copies/mL (3.0~7.4)、遺伝子型 1B 81 例、2A 27 例、2B 11 例、個々の測定回数 12 回 (6~17)、合計 1392 回、平均測定間隔 3.4 カ月 (2.6~7.4)、ALT 22IU/mL (9~39) であった。

②RCV の測定

2 段階枝分かれ分散分析法 (2-level nested ANOVA) を用いて計算すると分析時変動 (CV_A) は 2.35%、個体内変動 (CV_I) は 10.96%、個体内変動 (CV_G) は 86.70%

であった。これらをもとにRCVをを計算すると、 $RCV=Za \times 2^{1/2} \times ([\text{個体内変動}]^2 + [\text{分析時変動}]^2)^{1/2}$
ZaはZスコア(標準正規偏差、standard normal deviates)で信頼度95%に対するスコアは1.96、信頼度99%に対するスコアは2.58で今回は1.96を使用した。同様にAST、ALT、 γ -GTP、血小板の内変動(CV_I)、個体間変動(CV_G)、分析時変動(CV_A)、基準変化値(RCV)を求め表1に示した。

表1、変動と個体性指数と基準変化値

	CV _I	CV _G	CV _A	個体性指数	RCV(95%)
AST	11.9	17.9	6.0	0.66	41.8
ALT	18.0	42.0	9.0	0.43	55.8
γ -GTP	13.8	41.0	6.9	0.34	42.8
血小板	9.1	21.9	4.6	0.42	28.3
HCV RNA	11.0	86.7	2.4	0.13	31.0

2) 検討2

①背景因子

女性198例、男性138例、年齢は71歳(19~88)、血中HCV RNA 6.4 log copies/mL(2.6~7.6)、遺伝子型1A 2例、1B 240例、2A 67例、2B 27例、個々の測定回数13回(6~27)、合計4075回、平均測定間隔3.3カ月(1.5~7.5)、ALT 31IU/mL(9~549)、ウルソデオキシコール酸使用(有り/なし)194例/142例、強力ミノファゲンC使用(有り/なし)46例/290例であった。

②RCVから見た異常変動の頻度と異常変動に関与する因子

変化率(%)を(検査値A-検査値B)/検査値A×100で求め、RCV(95%)の31.0%と比較したところ異常変動率は21.1%(71/336)であった。

異常変動に関与する因子を表2に示すが、低HCV RNA、遺伝子型2型、ALT高値、AST高値、血小板低値、ウルソデオキシコール酸服用であった。

表2、異常変動に関与する因子

	異常変動無し(n=265)	異常変動有り(n=71)	P
年齢(年)	70(19-84)	72(46-88)	0.2589
性(女/男)	189/183	9/5	0.6750
HCV RNA(log copies/mL)	6.5(3.9-7.5)	5.0(2.1-6.8)	<0.0001
遺伝子型(1/2)	214/51	29/42	<0.0001
AST(IU/L)	37.9(12.5-114.1)	46.6(24.2-116.1)	0.0003
ALT(IU/L)	31.3(9.0-103.0)	39.6(13.9-160.8)	0.0043
γ -GTP(IU/L)	26.6(6.3-219.7)	27.8(9.7-277.0)	0.4928
血小板(10 ⁴ /mm ³)	17.0(3.3-48.7)	13.8(2.8-30.6)	0.0032
SNMC*(有/無)	31/234	15/56	0.0512
ウルソ***(有/無)	140/125	54/17	0.0003

*: 強力ミノファゲンC、***: ウルソデオキシコール酸

E. 結論

血中のHCV RNAの変動をRCVの手法を用いて検討し以下の結果を得た。

①抗ウイルス療法の介入のないHCVキャリアのHCV RNAの異常変動は71例(21.1%)に認められた。

②異常変動はHCV RNA低値例、遺伝子型2型、AST高値例、ALT高値例、血小板低値例で多く認めた。

以上からALT値等に比して血中のHCV RNAの変動幅は少なく、治療開始のタイミングを得るために、ウイルス量の減少を期待して経過観察するのは現実的でないと考えた。

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. Toyoda H, [Kumada T](#), Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Murakami Y. Higher hepatic gene expression and serum levels of matrix metalloproteinase-2 are associated with steatohepatitis in non-alcoholic fatty liver diseases. *Biomarkers*. 2013 Feb;18(1):82-7. doi: 10.3109/1354750X.2012.738249. Epub 2012 Nov 9. PubMed PMID: 23136827.
2. [Kumada T](#), Toyoda H, Kiriyama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tada T, Tanaka J. Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Feb;28(2):357-64. doi: 10.1111/jgh.12057. PubMed PMID: 23190084.
3. Honda T, Katano Y, Kuzuya T, Hayashi K, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Toyoda H, [Kumada T](#), Yamamoto K, Matsushita T, Kojima T, Takamatsu J, Goto H. Comparison of the efficacy of ribavirin plus peginterferon alfa-2b for chronic hepatitis C infection in patients with and without coagulation disorders. *J Med Virol*. 2013 Feb;85(2):228-34. doi: 10.1002/jmv.23444. Epub 2012 Nov 14. PubMed PMID: 23160930.
4. Toyoda H, [Kumada T](#), Tada T, Niinomi T, Ito T, Sone Y, Kaneoka Y, Maeda A. Non-hypervascular Hypointense Nodules Detected by Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI is a Risk Factor for Recurrence of HCC after Hepatectomy. *J Hepatol*.

- 2013 Jan 29. doi:pil: S0168-8278(13)00077-9. 10.1016/j.jhep.2013.01.030. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23376360.
5. Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Baseline factors and early viral response (week 4) to antiviral therapy with peginterferon and ribavirin for predicting sustained virologic response in patients infected with hepatitis C virus genotype 1: a multicenter study. *J Med Virol.* 2013 Jan;85(1):65-70. doi: 10.1002/jmv.23428. PubMed PMID: 23154876.
 6. Toyoda H, Kumada T, Tada T. Lower incidence of hepatocellular carcinoma in patients with transient virologic response to peginterferon and ribavirin combination therapy: Is it really the effect of the therapy? *J Hepatol.* 2012 Dec 1. doi:pil: S0168-8278(12)00904-X. 10.1016/j.jhep.2012.11.034. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23207142.
 7. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Niinomi T, Ito T, Kaneoka Y, Maeda A. Prognostic significance of a combination of pre- and post-treatment tumor markers for hepatocellular carcinoma curatively treated with hepatectomy. *J Hepatol.* 2012 Dec;57(6):1251-7. doi: 10.1016/j.jhep.2012.07.018. Epub 2012 Jul 20. PubMed PMID: 22824818.
 8. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Placement of a sodium hyaluronate solution onto the liver surface as a supportive procedure for radiofrequency ablation of hepatocellular carcinomas located on the liver surface: a preliminary report. *J Vasc Interv Radiol.* 2012 Dec;23(12):1639-1645.e1. doi: 10.1016/j.jvir.2012.08.024. PubMed PMID: 23177110.
 9. Toyoda H, Kumada T, Shimada N, Takaguchi K, Ide T, Sata M, Ginba H, Matsuyama K, Izumi N. Significance of a reduction in HCV RNA levels at 4 and 12 weeks in patients infected with HCV genotype 1b for the prediction of the outcome of combination therapy with peginterferon and ribavirin. *BMC Infect Dis.* 2012 Nov 27;12(1):324. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23181537.
 10. Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Niinomi T, Yasuda S, Andou Y, Yamamoto K, Tanaka J. Effect of nucleos(t)ide analogue therapy on hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B patients: A propensity score analysis. *J Hepatol.* 2012 Oct 30. doi:pil: S0168-8278(12)00826-4. 10.1016/j.jhep.2012.10.025. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23123221.
 11. Hayashi K, Katano Y, Masuda H, Ishizu Y, Kuzuya T, Honda T, Ishigami M, Itoh A, Hirooka Y, Nakano I, Ishikawa T, Urano F, Yoshioka K, Toyoda H, Kumada T, Goto H. Pegylated interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis C with low viremia and its relationship to mutations in the NS5A region and the single nucleotide polymorphism of interleukin-28B. *Hepatol Res.* 2012 Oct 18. doi: 10.1111/hepr.12005. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23356752.
 12. Toyoda H, Kumada T, Katano Y, Goto H. Week 4 viral response to peginterferon and ribavirin: how should it be used in combination with a baseline predictive factor? *J Hepatol.* 2012 Oct;57(4):927-8. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.032. Epub 2012 Jun 23. PubMed PMID: 22727528.
 13. Arai T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, Kumada T, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, Izumi N, Arii S, Nishio K,

- Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2012 Aug 13. doi: 10.1002/hep.25956. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22890726.
14. Toyoda H, Kumada T. Incidence of hepatocellular carcinoma and response to interferon therapy in HCV-infected patients: effect of factors associated with the therapeutic response and incidence of HCC. *Liver Int*. 2012 Jul;32(6):1029-31. doi: 10.1111/j.1478-3231.2012.02763.x. Epub 2012 Feb 8. PubMed PMID: 22314231.
15. Toyoda H, Kumada T, Osaki Y, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A. Novel method to measure serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin for hepatocellular carcinoma in patients taking warfarin: a preliminary report. *Cancer Sci*. 2012 May;103(5):921-5. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02232.x. Epub 2012 Mar 8. PubMed PMID: 22320249.
16. Kanke F, Kumada T, Toyoda H, Satomura S. Reference change values for lens culinaris agglutinin-reactive α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem Lab Med*. 2012 Mar 6;50(5):957-60. doi: 10.1515/cclm-2011-0912. PubMed PMID: 22628340.
17. Toyoda H, Kumada T. Favorable association between genetic polymorphisms near the IL28B gene and hepatic steatosis: direct or indirect? *J Hepatol*. 2012 Mar;56(3):738-9; author reply 739. doi: 10.1016/j.jhep.2011.07.030. PubMed PMID: 22340673.
18. 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 correlation of mutations in the NS5A region and single-nucleotide polymorphism of interleukin-28B with the response to combination therapy with pegylated-interferon-alpha 2b and ribavirin. *J Med Virol*. 2012 Mar;84(3):438-44. doi: 10.1002/jmv.23207. PubMed PMID: 22246829.
19. Toyoda H, Kumada T, Tada T, Sone Y, Fujimori M. Transarterial chemoembolization for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma: improved survival after concomitant treatment with nucleoside analogues. *J Vasc Interv Radiol*. 2012 Mar;23(3):317-22. e1. doi: 10.1016/j.jvir.2011.11.012. Epub 2012 Jan 21. PubMed PMID: 22265248.
20. 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 the IL28B gene in patients infected with HCV genotype 1b. *J Med Virol*. 2012 Jan;84(1):61-70. doi: 10.1002/jmv.22272. PubMed PMID: 22095536.
21. Murakami Y, Toyoda H, Tanahashi T, Tanaka J, Kumada T, Yoshioka Y, Kosaka N, Ochiya T, Taguchi YH. Comprehensive miRNA expression analysis in peripheral blood can diagnose liver disease. *PLoS One*. 2012;7(10):e48366. doi:10.1371/journal.pone.0048366. Epub 2012 Oct 31. PubMed PMID: 23152743; PubMed Central PMCID: PMC3485241.
22. 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, 新家 卓郎, 安東 直人, 坂井 圭介, 安田 諭, 木村 純, 安藤 祐資, 山本 健太:【B型肝炎の抗ウイルス療法の進歩と耐性】 B型肝炎に対する核酸アナログ投与例の長期予後、消化器内科(1884-2895)54巻5号 Page608-613(2012.05)