

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590783

研究課題名（和文）鉄キレート剤による新たな進行肝細胞癌治療の開発

研究課題名（英文）Development of a novel therapy using the iron chelator for advanced hepatocellular carcinoma

研究代表者

山崎 隆弘 (YAMASAKI TAKAHIRO)

山口大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号：00304478

研究成果の概要（和文）：肝癌に対する DFO の効果を *in vitro* での検討と肝線維化・発癌モデルラットを使用して DFO の抗腫瘍効果および線維化抑制効果を検討した。肝 hepatoma cell line の *in vitro* では DFO 投与により細胞増殖の抑制効果が明らかになった。また肝線維化・発癌モデルラットを使用した *in vivo* での検討では、DFO 投与群では非投与群と比べ、体重、肝重量が有意に軽く、非投与群と比較し腫瘍の増大は有意に抑制された。DFO 等の鉄キレート剤は従来の抗腫瘍剤とは異なり、DNA 障害などは少なく、肝癌特異的に作用する可能性があり、従来の抗腫瘍薬抵抗性進行肝癌に対し新たな抗腫瘍効果が得られる薬剤である可能性を今回の研究で認めることができた。

研究成果の概要（英文）：We investigated the anti-tumor effect and the fibrosing suppression effect of the iron chelator deferoxamine (DFO) *in vitro* and in the model rats using diethylnitrosamine and choline-deficient L-amino acid-defined diet. We proved the antiproliferative effect of DFO in hepatoma cell line. In the *in vivo* model, the body weight and liver weight in the DFO therapy group was significantly lower than those in the control group, and the tumor growth was significantly suppressed in the DFO therapy group comparing the control group. The iron chelator has few DNA damage and has the potential of hepatoma specific action different from the traditional anticancer drugs. In this study, we founded that the iron chelator has the potential of a novel antiproliferative drug in patients who had advanced hepatocellular carcinoma and were non-responders for anticancer drugs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝細胞癌・鉄キレート剤・肝発癌

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は、本邦では癌死亡第四位を占める重要な疾患のひとつである。本邦ではC型肝炎ウイルスによる肝癌が約70%を占めており、C型肝炎ウイルスに起因する肝硬変では年率7-8%の発癌を認める。今後も増加傾向を示す疾患であり、早期発見や早期治療が望まれ、画像診断や腫瘍マーカーの進歩により、早期に診断される肝癌が増加しており、局所治療の進歩と相まって、5年生存率で50-60%が得られている。しかし、肝癌は他の癌腫と異なり、年率15-20%と再発率が高く、5年では約80%の症例で再発を余儀なくされる。このように再発を繰り返すたびに癌および背景肝の状態により治療法が選択されるのが現状である。内科的局所療法が適応でない進行癌・治療無効例に対する治療法の確立は急務であり、肝機能不良例に対しては今までの抗癌剤による動注化学療法では限界がある。鉄キレート剤であるDesferoxamine (DFO)は、慢性鉄過剰症に対して用いられる薬剤であるが、以前より肝機能の改善および前癌病変が減少する抗腫瘍効果について報告がある。

2. 研究の目的

肝癌に対するDFOの効果、in vitroでの検討と肝線維化・発癌モデルラットを使用してDFOの抗腫瘍効果および線維化抑制効果を検討する。

3. 研究の方法

①肝hepatoma cell lineを使用したin vitroでの検討

HepG2、HuH7、HLF、HLEなどを用いて、Desferoxamine(DFO)の投与による、細胞増殖制御の有無、アポトーシスの誘導等を評価する

②肝線維化・発癌モデルラットを使用したin vivoでの検討

DENとCDAA(Choline-deficient L-amino acid-defined diet: コリン欠乏食)ラットを併用してDENをinitiator、CDAAをpromotorとして肝発癌を誘導するモデルを作成し、DFOを持続投与する群とコントロール群に分け、ラット外頸静脈よりカテーテルを挿入、インフュージョンポンプを装着し50mg/kg、100mg/kg、25mg/kgを24時間持続投与する。肝臓組織を摘出し、肝線維化抑制・肝腫瘍の抑制効果を解析・検討する

4. 研究成果

①肝hepatoma cell lineを使用したin vitroでの検討

肝hepatoma cell lineにDFO投与により細胞増殖の抑制効果が明らかになり、TUNEL法にてアポトーシスの誘導が確認された。またウェスタンブロットにてCell cycle 関連蛋白を評価したところ、Cyclin D1やCyclin dependent kinase 4などの発現が低下していた。

②肝線維化・発癌モデルラットを使用したin vivoでの検討

8週投与で死亡したラットはいなかったが、DFO投与群では非投与群と比べ、体重、肝重量が有意に軽かった。また試験開腹し、肉眼で判明する腫瘍径を計測したところ腫瘍径に関してはDFO投与群で有意な縮小は認めなかったが、非投与群と比較し腫瘍の増大は有意に抑制された。またこのモデルで餌にDeferasirox(Exjade)を混在し投与し同様な手法で検討したところ、腫瘍の増大は有意に抑制していた。様々なラット肝発癌モデルでの検討では血液データ上は腎機能障害やTransaminaseの有意な変化は見られなかったが、肝発癌は著明に減少していた。DFO等の鉄キレート剤は従来の抗腫瘍剤とは異なり、DNA障害などは少なく、より肝癌特異的に作用する可能性があり、従来の抗腫瘍薬抵抗性進行肝癌に対し新たな抗腫瘍効果が得られる薬剤である可能性を今回の研究で認めることができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

①Yamasaki T, Hamabe S, Saeki I, Harima Y, Yamaguchi Y, Uchida K, Terai S, Sakaida I. A novel transcatheter arterial infusion chemotherapy using iodized oil and degradable starch microspheres for hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial. J Gastroenterol. 2011 Mar;46(3):359-366. 査読有

②Harima Y, Yamasaki T, Hamabe S, Saeki I, Okita K, Terai S, Sakaida I. Effect of a late evening snack using branched-chain amino acid-enriched nutrients in patients undergoing hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma. Hepatol Res. 2010 Jun;40(6):574-584. 査読有

③ Korenaga K, Korenaga M, Furukawa M, Yamasaki T, Sakaida I. Usefulness of Sonazoidcontrast-enhancedultrasonography for hepatocellular carcinoma: comparison with pathological diagnosis and superparamagnetic iron oxide magnetic resonance images. J Gastroenterol. 2009; 44(7):733-741. 査読有

④ Takaki-Hamabe S, Yamasaki T, Saeki I, Harima Y, Okita K, Terai S, Sakaida I. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: Is the addition of subcutaneous interferon-alpha-2b beneficial? Hepatol Res. 2009 Mar;39(3):223-230. 査読有

⑤ Shiraishi R, Yamasaki T, Saeki I, Okita K, Yamaguchi Y, Uchida K, Terai S, Sakaida I. Pilot study of combination therapy with transcatheter arterial infusion chemotherapy using iodized oil and percutaneous radiofrequency ablation during occlusion of hepatic blood flow for hepatocellular carcinoma. Am J Clin Oncol. 2008 Aug;31(4):311-316. 査読有

⑥ Korenaga K, Korenaga M, Uchida K, Yamasaki T, Sakaida I. Effects of a late evening snack combined with alpha-glucosidase inhibitor on liver cirrhosis. Hepatol Res. 2008;38(11):1087-1097. 査読有

[学会発表] (計 12 件)

① Yamasaki Takahiro Effect of a nutritional therapy using a late evening snack for hepatocellular carcinoma The Liver Meeting 2010, AASLD Boston USA 2010 年 11 月 2 日

② Yamasaki Takahiro Transcatheter arterial infusion chemotherapy using iodized oil and degradable starch microspheres for hepatocellular carcinoma carcinoma The Liver Meeting 2010, AASLD Boston USA 2010 年 11 月 2 日

③ 山崎 隆弘 肝細胞癌の集学的治療：肝細胞癌における栄養療法の意義 第 69 回日本癌学会総会 大阪 大阪国際会議場 2010 年 9 月 23 日

④ 山崎 隆弘 肝細胞癌における栄養療法の意義 第 96 回日本消化器病学会総会 新潟 新潟市民芸術文化会館 2010 年 4 月 22

日

⑤ Yamasaki Takahiro Bortezomib inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo study The Liver Meeting 2009, AASLD Boston USA 2009 年 11 月 3 日

⑥ Yamasaki Takahiro A novel transarterial chemoembolization using a mixture of cisplatin and iodized oil, and degradable starch microspheres for hepatocellular carcinoma: a randomized study The Liver Meeting 2009, AASLD Boston USA 2009 年 11 月 3 日

⑦ 佐伯 一成 山崎 隆弘 ユビキチンプロテアソーム阻害薬 Bortezomib の肝細胞癌に対する抗腫瘍効果についての検討 第 45 回日本肝臓学会総会 2009 年 6 月 5 日 神戸 神戸ポートピアホテル

⑧ 山崎 隆弘 肝細胞癌に対するリポドール+微小デンプン球併用肝動脈化学療法 (Lip+DSM-TAI) の有用性 第 45 回日本肝臓学会総会 2009 年 6 月 5 日 神戸 神戸ポートピアホテル

⑨ Yamasaki Takahiro A novel Transarterial Chemoembolization Using a Mixture of Cisplatin and Iodized Oil, and Degraable Starch Microspheres for hepatocellular Carcinoma : Pilot study, APASL Hong Kong, China 2009 年 2 月 15 日

⑩ 山崎 隆弘 当科における肝悪性腫瘍に対する動注化学療法の現状 JDDW 東京 グランドプリンスホテル新高輪 2008 年 11 月

⑪ 佐伯 一成 山崎 隆弘 肝癌培養細胞株に対するプロテアソームインヒビター Bortezomib の抗腫瘍効果の検討 第 44 回日本肝臓学会総会 愛媛 愛媛県民文化会館 2008 年 6 月 5 日

⑫ 山崎 隆弘 肝細胞癌に対する微小デンプン球 (Degradable starch microspheres) を用いた新たな肝動脈塞栓療法の開発 第 44 回日本肝臓学会総会 愛媛 愛媛県民文化会館 2008 年 6 月 5 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.ichinai-yamaguchi.jp/content/s4/?categoryId=7>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 隆弘 (YAMASAKI TAKAHIRO)

山口大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号：90448283

(2) 研究分担者

坂井田 功 (SAKAIDA ISAO)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80263763

寺井 崇二 (TERAI SHUJI)

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00332809

山本 直樹 (YAMAMOTO NAOKI)

山口大学・大学教育機構・講師

研究者番号：90448283

(3) 連携研究者

なし