様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成　２４年　５月　３１日現在

機関番号：１１１０１
研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2009～2011
課題番号：２１５９１７４２
研究課題名（和文）　大腸癌肝転移に対する合理的集学的治療体系の確立に関する基礎研究

研究課題名（英文）　Basic research on the establishment of a new multidisciplinary treatment strategy against colorectal liver metastasis

研究代表者
袴田　健一（HAKAMADA KENICHI）
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30271802

研究成果の概要（和文）：
切除不能大腸癌肝転移に対する化学療法後肝切除成績が向上しつつある。本課題では、化学療法後肝障害を回避して、より多くの肝切除を可能とすべく、肝障害の病態に関する研究を行った。臨床例では種々の化学療法により生じる肝障害のパターンと、診断法について明らかにした。一方、新たに抗がん剤イリノテカンによる肝障害動物モデルを新たに作成し、肝障害の分子機構の一機序を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：
Conversion hepatectomy is now accepted as a promising strategy against initially unresectable colorectal liver metastasis. In this project, we investigated the mechanisms of liver cell injury for the purpose of expanding the indication of conversion hepatectomy by preventing chemotherapy induced liver damage. In clinical observation, we disclosed the histological pattern of liver injury according to chemotherapy regimen. In basic research, we developed a new animal model of irinotecan-induced chemotherapy-associated steatohepatitis, and revealed molecular regulatory mechanisms in lipid metabolism and expression of organic anion transporters.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００９年度	1,900,000	570,000	2,470,000
２０１０年度	1,100,000	330,000	1,430,000
２０１１年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総　計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学
キーワード：大腸癌、転移性肝癌、化学療法、薬剤性肝障害、トランスポーター、イリノテカン、脂肪肝炎、類洞拡張

１．研究開始当初の背景
化学療法の進歩と肝臓外科の進歩により、従来、治療困難とされてきた切除不能大腸癌肝転移例も化学療法後に肝切除を行うことで(Conversion Hepatectomy)、治癒あるいは長期生存が得られるようになってきた。一方で、化学療法に伴う肝障害が原因となり、抗腫瘍効果は得られても肝切除に至らない症

例も多く存在するため、化学療法後肝障害の機序の解明と予防法の創出が今日的課題となってきた。

２．研究の目的

化学療法後に生じる肝障害の分子病態機構を、特に薬物の排泄動態を制御するトランスポーターの発現変動を解析病理組織学的特徴と臨床所見との相関、さらに肝障害の分子病態機構の解析を目的に研究を行った。

３．研究の方法

化学療法後肝切除を施行した臨床例をもとにした解析と、化学療法剤投与によるラット肝障害モデルを用いた肝障害の分子病態解析、の大きく２つに分けて研究を行った。

(1)化学療法後肝切除症例を用いた、化学療法後肝障害の病理組織学的検討

化学療法後肝切除を施行した臨床例を対象に、化学療法内容、患者背景、手術内容、周術期合併症を含む短期成績、長期成績、さらに切除標本の病理学的検討を行い、化学療法後肝障害の実態解明と診断法の開発、予防法について検討した。

(2)イリノテカン投与によるラット肝障害モデルの作成と解析

まず、イリノテカン投与肝障害モデルの作製を試みた。従来の報告に基づき SD ラットの腹腔内に、イリノテカン 40, 60, 80, 100mg/kg の単回投与を試み、術後１週から６週まで６群のモデルについて下痢などの有害事象と肝障害発生の有無を血液生化学的、病理学的に検討した。しかしながら、諸家の報告とは異なり、肝障害の発生を見なかったため、最大容量の 100mg/kg を、1 週あたり 4 回腹腔内投与し、それを 1,2,3 週投与する 3 群について検討した。結果、各群で生化学的肝障害ならびに組織学的肝障害を確認し、研究対象とした。

検討項目としては、ラットイリノテカン肝障害モデルを用いて、マイクロアレイによる全遺伝子の網羅的発現解析、化学療法後肝切除を想定して、90%肝切除時の肝遺伝子変動についても網羅的解析を行った。

４．研究成果

(1) 臨床例の病理組織学的解析による成果

主な研究成果は以下のごとくである。

① 化学療法内容に応じて組織学的脂肪肝炎、類洞拡張の頻度に差があるものの、いずれの化学療法でも一定頻度の肝障害を生じていた。

② これらの肝障害を術前予想する指標として、一般的な患者背景因子に加え、ICG15 分値、脾臓容積、アシアロシンチ等で肝機能評価を行ったが、いずれも組織学的肝障害を予想することは困難であった。

③ 肝転移巣診断率の向上を目的として、プリもビスト MRI ならびにソナゾイド造影超音波を導入したところ、いずれも感度特異度とも 96%前後と最も高く、術中ソナゾイドの併用による新規病変診断のため約 27%の症例で術式変更になった。

④ 障害肝に対する肝切除後の肝再生に関する検討では、肝障害度スコアの高値例で術後１週間目の肝再生が有意に低下しており、再生不全を惹起していることが判明した。

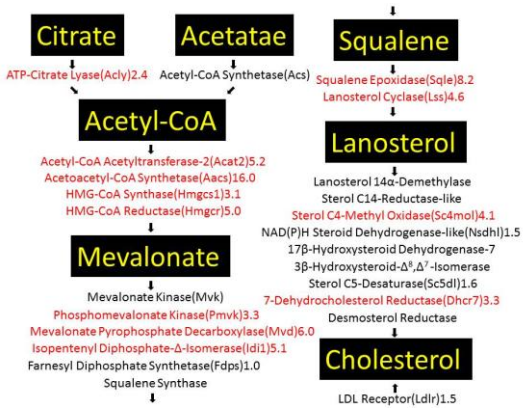
⑤ 化学療法後肝切除を積極的に推し進めた結果、まだ追跡期間は短いものの、Kaplan Meier 法による２年生存率は 90%以上、向上し、推定５年生存率は現時点では 70%前後が見込まれる

(2)肝障害モデル実験による研究成果

⑥ イリノテカン肝障害モデルの評価

イリノテカン投与方法別の肝障害度を NASH score で評価した。
100mg/kg 週 4 回投与を 1 サイクル実施群、2 サイクル実施群、3 サイクル実施群設定し、各々生化学的に肝機能以上を認め、各々組織学的に検討した。NASH スコアにより障害度を定量化したところ、いずれの群でも投与 21 日目に組織学的脂肪肝が確認され、2 サイクル群を以下の解析に用いることとした。

⑦ ①のモデルで Irinotecan 投与により肝障害を生じた後、休薬で脂肪肝炎の組織学手改善の見られた群を対象として、肝組織の Microarray を用いて検討した。結果としてコレステロール代謝に関する遺伝子群の発現が著しく亢進していることが明らかとなった（以下の図で赤字が２倍以上の発現変化を示す)。想定外の脂質代謝異常が明らかとなり、今後その機序を継続研究することとなった。



⑧ 肝細胞膜トランスポーターの発現変化
肝切除後

肝細胞膜トランスポーターの肝切除に伴う変動についてラット 90%肝切除モデルを用いて肝再生時の肝の Whole genome 解析をお行った。結果 multidrug resistance protein (MRP) 2 and organic anion transporting polypeptide (OATP) 1 の発現が低下し、類洞側への排泄を担う MRP1 と MRP3 の発現更新が見られた。(Int J Mol Med. 2012 Jul;30(1):28-34)

同様に、コレステロール代謝にも関係して、胆汁酸の排泄動態に関係するトランスポーターを解析したところ、肝細胞基底膜側トランスポーターである Mrp4 が術後 3 日に亢進し、一方、胆汁酸の取り込みトランスポーターである Ntcp は発現低下していた。Bsep は変化しなかった。免疫組織染色では、Mrp4 と Bsep が基底膜側と毛細胆管側に発現するのに対して、Ntcp は細胞質内へと移動し、細胞膜上には観察されなかった。以上のごとく、Ntcp の発現抑制と Mrp4 の発現亢進が肝切除後し生じ、有機アニオンの蓄積の原因となっていることが推定された。
(J Hepatol. 2011;55(2):407-14.)

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　８件）

1. 工藤 大輔、堤 伸二、赤坂 治枝、神 寛之、大橋 大成、 室谷 隆裕、長谷部達也、坂本 義之、石戸圭之輔、小山 基、豊木　嘉一、 村田 暁彦、鳴海　俊治、鬼島 宏、袴田　健一　大腸癌肝転移切除術前に施行された化学療法による背景肝の病理組織学的肝障害度を予測する因子に関する検討　癌と化学療法 2009; 36: 2025-2027. (査読あり)

2. 工藤 大輔、大橋 大成、赤坂 治枝、神 寛之、小山 基、豊木　嘉一、村田 暁彦、鳴海　俊治、鬼島 宏、袴田　健一 大腸癌肝転移切除症例における科学療法による肝障害度の病理組織学的検討　消外会誌 2010;43(1):26-26 (査読あり)

3. 小山 基、村田 暁彦、木村 寛、坂本 義之、諸橋 一、木村 憲央、賀佐冨二彦、照井 一史、粟津 朱美、袴田　健一　切除不能進行・再発大腸癌に対する二次治療としての Bevacizumab 併用化学療法と化学療法　2010;37(6):1069-1073 (査読あり)

4. 工藤 大輔、室谷 隆裕、吉川 徹、小笠原紘志、矢越 雄太、堤 伸二、三浦 卓也、木村 昭利、諸橋 一、坂本 義之、石戸圭之輔、小山 基、村田 暁彦、豊木嘉一、鳴海　俊治、袴田　健一　造影超音波技術の問題解決 術中ソナゾイド造影超音波が肝切除術に与える影響 INNERVISION 2010;25(11):78-80 (査読なし)

5. Miura T, Kimura N, Yamada T, Shimizu T, Nanashima N, Yamana D, Hakamada K, Tsuchida S. Sustained repression and translocation of Ntcp and expression of Mrp4 for cholestasis after rat 90% partial hepatectomy. J Hepatol. 2011;55(2):407-14. (査読あり)

6. Kimura N, Hakamada K, Ikenaga SK, Umehara Y, Toyoki Y, Sasaki M. Gene expression of ATP-binding cassette transporters during liver regeneration after 90% hepatectomy in rats. Int J Mol Med. 2012;30(1):28-34. (査読あり)

7. Sakamoto Y, Murata A, Koyama M, Morohashi H, Tsutsumi S, Yonaiyama S, Morita T, Hakamada K. A case of lung metastases after surgery for colon cancer demonstrating complete response for more than six years after treatment with UFT/LV. Gan To Kagaku Ryoho. 2011;38(12):2520-2. (査読あり)

8. Miura T, Kimura N, Yamada T, Shimizu T, Nanashima N, Yamana D, Hakamada K, Tsuchida S. Reply to Transient elevation of serum bile salts after partial hepatectomy is due to metabolic overload and not to

cholestasis. J Hepatol. 2012 Mar;56(3):744-5. （査読あり）

〔学会発表〕（計 23 件）

1. 豊木 嘉一、石戸圭之輔、工藤 大輔、三浦 卓也、堤 伸二、鳴海 俊治、袴田 健一 当科における転移性肝癌治療の考え方とその戦略 第 22 回日本肝胆膵外科学会学術集会 平 21.6.10～12 於名古屋

2. 三浦 卓也、久保 寛仁、工藤 大輔、石戸圭之輔、奈良 昌樹、豊木 嘉一、鳴海 俊治、袴田 健一 転移性肝癌の術前診断において primovist MRI は有用か 第 21 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 平 21.6.10～12 於名古屋

3. 工藤 大輔、 池永照史郎一期、 加藤 雅志、坂本 義之、 堤 伸二、山名 大輔、赤坂 治枝、神 寛之、 大橋 大成、小山 基、豊木 嘉一、鳴海 俊治、袴田 健一 術前に施行された化学療法が大腸癌肝転移切除術におよぼす臨床的・病理組織学的影響 第 21 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 平 21.6.10～12 於名古屋

4. 工藤 大輔、加藤 雅志、大橋 大成、神 寛之、赤坂 治枝、小山 基、村田 暁彦、豊木 嘉一、鳴海 俊治、袴田 健一 術前の化学療法が大腸癌肝転移切除術におよぼす影響 第 64 回日本消化器外科学会総会 平 21.7.16～18 於大阪

5. 小山 基、村田 暁彦、 木村 寛、坂本 義之、 佐藤 淳也、照井 一史、 粟津 朱美、袴田 健一 切除不能進行・再発大腸癌に対する２次治療としてのベバシズマブ併用化学療法 第 47 回日本癌治療学会学術集会 平 21.10.22～24 於横浜

6. Hakamada K A new image-analyzing system facilitating loco-regional treatment for multiple colorectal liver metastases 第 1 回 International Forum of Regional and Targeting therapies for Cancer 平 21.11.7～8 於上海

7. 小山 基、村田 暁彦、木村 寛、坂本 義之、太田 栄、室谷 隆弘、矢越 雄太、袴田 健一 切除不能進行・再発大腸癌に対する２次治療としてのベバシズマブ併用科学療法 第 71 回日本臨床外科学会総会 平 21.11.19～21 於京都

8. 工藤 大輔、諸橋 聡子、小笠原 紘志、堤 伸二、赤坂 治枝、神 寛之、室谷 隆裕、坂本 義之、石戸圭之輔、小山 基、豊木 嘉一、村田 暁彦、鳴海 俊治、吉原 秀一、鬼島 宏、袴田 健一 大腸癌肝転移切除例における背景肝の病理組織学的肝障害と脾腫に関する検討 第 22 回日本肝胆膵外科学会定期学術集会 平 22.5.26～28 於仙台

9. 工藤 大輔、諸橋 聡子、小笠原紘志、堤 伸二、赤坂 治枝、神 寛之、室谷 隆裕、大橋 大成、坂本 義之、石戸圭之輔、小山 基、豊木 嘉一、村田 暁彦、鳴海 俊治、吉原 秀一、鬼島 宏、袴田 健一 術前化学療法が行われた大腸癌肝転移症例における背景肝の肝障害と脾容積との関係に関する検討 第 65 回日本消化器外科学会定期学術総会 平 22.7.14～16 於下関

10. 工藤 大輔、小笠原 紘志、堤 伸二、赤坂 治枝、大橋 大成、三浦 卓也、諸橋 聡子、諸橋 一、坂本 義之、石戸圭之輔、小山 基、豊木 嘉一、村田 暁彦、鳴海 俊治、鬼島 宏、袴田 健一 シンポジウム 「転移・再発消化器癌に対する新しい治療戦略」 大腸癌化学療法による背景肝の肝障害を予測する因子に関する研究 第 18 回日本消化器関連学会週間（JDDW2010） 平 22.10.13～16 於横浜

11. 小山 基、村田 暁彦、坂本 義之、諸橋 一、高橋研太郎、赤坂 治枝、袴田 健一 外科医が行う進行再発大腸癌に対する分子標的治療 第 72 回日本臨床外科学会総会 平 22.11.21～23 於横浜

12. 諸橋 一、高橋研太郎、坂本 義之、小山 基、村田 暁彦、袴田 健一 「結腸・直腸癌の肝・肺転移の治療戦略」 結腸・直腸癌の肝・肺転移に対する治療戦略 第 72 回日本臨床外科学会総会 平 22.11.21～23 於横浜

13. Miura T, Kimura N, Yamana D, Hakamada K. Sustained repression and translocation of aantcp and expression of Mrp4 for cholestasis after rat 90% partial hepatectomy. 21th Conference of the Asian Pacific Association of the Study of the Liver (ASPAL2011) 平 23.2.17～20 於 Bangkok

14. Hakamada K. Inttaoperative Sonazoid-enhanced Ultrasonography Changes the Surgical Management for

Colorectal Liver Metastasis. 21th Conference of the Asian Pacific Association of the Study of the Liver (ASPAL2011)平23.2.17～20 於Bangkok

15. 工藤 大輔、石戸圭之輔、豊木　嘉一、鳴海　俊治、袴田　健一 術中ソナゾイド造影超音波をもちいた大腸癌肝転移切除 第111回日本外科学会定期学術集会 平23.5　震災のため紙上発表

16. 三浦　卓也、木村　憲央、山名　大輔、袴田　健一 ラット90%肝切除 Cholestasis モデルにおける胆汁酸輸送膜蛋白の発現と現在の変化. 第111回日本外科学会定期学術集会. 平23.5 震災のため紙上発表

17. 諸橋　　一、赤坂　治枝、高橋研太郎、坂本　義之、小山　　基、村田　暁彦、袴田　健一 当教室における大腸癌肝転移に対する治療戦略第111回日本外科学会定期学術集会平23.5　震災のため紙上発表

18. 工藤 大輔、堤　　伸二、大橋　大成、石戸圭之輔、豊木　嘉一、鳴海　俊治、袴田　健一　化学療法による背景肝の肝障害と手術のベストタイミングに関する検討. 第23回日本肝胆膵外科学会学術集会平23.6.8～10 於東京

19. 三浦　卓也、木村　憲央、山名　大輔、袴田　健一　ラット大量肝切除後肝再生時における胆汁酸輸送膜蛋白の発現と局在の変化　第23回日本肝胆膵外科学会学術集会　平23.6.8～10 於東京

20. 工藤 大輔、木村　憲央、坂本　義之、石戸圭之輔、小山　　基、豊木　嘉一、村田　暁彦、鳴海　俊治、鬼島　　宏、袴田　健一　大腸癌肝転移切除術後の残肝肥大と背景肝の病理組織学的肝障害に関する検討　第66回日本消化器外科学会総会　平23.7.13～15 於名古屋

21. 諸橋　　一、米内山真之介、坂本　義之、小山　　基、村田　暁彦、袴田　健一 当教室における大腸癌肝転移に対する治療戦略第66回日本消化器外科学会総会　平23.7.13～15 於名古屋

22. Kudo D, Toyoki Y, Ishido K, Kimura N, Narumi S, Hakamada K. Impact of perflubutane micobubble (Sonazoid)-enhanced intraoperative ultrasound on the surgical management of colorectal liver metastases. 21st World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists (IASGO2011) 平23.11.9～12 於東京

23. 諸橋　　一、坂本　義之、小山　　基、村田　暁彦、袴田　健一　シンポジウム肝単独転移、肺単独転移、肝肺２臓器転移の比較「大腸癌肝転移・肺転移症例の検討」第66回日本大腸肛門病学会学術集会　平23.11.25～26 於東京

〔図書〕(計１件)
袴田　健一、他. 最新がん治療、朝日新聞社　2011.

〔産業財産権〕
○出願状況（計０件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　０件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~surgery2/

６．研究組織
(1)研究代表者
袴田　健一（HAKAMADA KENICHI）
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30271802

(2)研究分担者
鳴海　俊治　(NARUMI SHUNJI)
弘前大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：90250612

豊木　嘉一　(TOYOKI YOSHIKAZU)

弘前大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：70301025

石戸　圭之輔　(ISHIDO KEINOSUKE)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00436023

工藤 大輔　(KUDO DAISUKE)
弘前大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00587024

(3)連携研究者