

平成23年5月12日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890146

研究課題名（和文）肝癌化学療法早期治療効果予測

研究課題名（英文） Prediction of the treatment effect of chemotherapy for the patients with hepatocellular carcinoma

研究代表者

能祖 一裕 (NOUSO KAZUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：10314668

研究成果の概要（和文）：近年様々な肝細胞癌に対する化学療法剤が開発され、予後延長が可能となってきたが、それぞれの治療薬が全ての癌に対し、一様に効果があるわけではなく、非常に効果のある場合、副作用が強く出て全く効果のない場合など、その反応性は様々である。本研究において、血管の増殖に関与する物質が血液中に多く発現している場合や、ある種の糖鎖の発現が低下している場合に、肝細胞癌に対する分子標的薬の効果が乏しかったり、副作用が多く出たりする可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Recently, several anti-cancer drugs for the treatment of hepatocellular carcinoma were developed and the survival of the patients was prolonged. However, the effect and side effect of the drugs were different from the patient to patient. In this experiment, we reported that over-expression of several cytokines related to angiogenesis and down regulation of certain glycans were correlated with poor response to the drugs and with increased side effects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,050,000	315,000	1,365,000
2010年度	950,000	285,000	1,235,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：消化器病学

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：肝癌、化学療法、糖鎖、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景
肝細胞癌は、ラジオ波焼灼療法などの進歩により局所治療効果は改善したが、すでに発生

母地である肝臓が、遺伝子変異の蓄積や、同時に線維化など epigenetic な変化が生じた、いわゆる高癌化状態にあるため、再発は根治

治療後であっても年間約 20%と高率に生ずる事が知られている。

我々は中四国の基幹病院において、3000 症例を越える肝細胞癌患者の臨床経過をデータベース化し、肝癌の生命予後に対する規定因子の解析など、様々な観点より解析を行ってきた (Br J Cancer 2008, J Gastroenterol Hepatol 2008, Am J Gastroenterol 2006 等)。これらの解析より、腫瘍の進展度と、残肝機能という 2 つの肝細胞癌の予後因子のなかで、残肝機能はインターフェロンや核酸アナログの出現によりある程度温存可能となったこと、結果的に癌が進展し、制御不能となるケースが多くなってきているということが明らかとなってきた。

進行癌に対する治療として、一般的には化学療法や放射線療法が選択されるが、事前の治療効果予測は、手術で摘出された組織を用いて、一塩基多型やマイクロアレー解析、プロテオミクス解析など様々な手法を用い試みられている。しかし現状は大腸癌のセツキシマブの治療効果が上皮増殖因子レセプターの変異により規定される事や、肺非小細胞癌のシスプラチンに対する感受性がデオキシリボ核酸修復酵素である ERCC1 発現の有無により異なる事など、効果予測はごく一部の分子標的薬で成功しているにすぎない。

進行肝細胞癌に対する治療法としては、ソラフェニブ、スミチニブ、ベバシズマブ、インターフェロン+5 フルオロウラシル、シスプラチン+5 フルオロウラシルなど日本、欧米より、様々な化学療法が開発されているが、治療効果予測は現状では極めて困難である。肝細胞癌は残肝機能の温存の観点からも、できるだけ早期にその患者様に合った治療法を選択するいわゆるテーラーメイド医療の確立が最も必要な癌のひとつである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、早期に抗がん剤治療効果を判定する方法論を開発し、より効率的な化学療法レジメンの個別化を可能とし、進行肝細胞癌の生命予後を延長させる事である。化学療法前後における、腹部造影超音波を用いた腫瘍内血流変化の測定、腫瘍マーカーや増殖因子を含めた生化学検査など、従来の方法論による評価に加え、血清中の糖鎖変化の測定(グライコミクス)などの、新たな方法論を用いた評価を総合的に行い、治療効果、生命予後と対比させ進行肝細胞癌に対するテーラーメイド医療の基盤構築を行う。

3. 研究の方法

岡山大学及び関連施設で化学療法を施行した進行肝細胞癌患者を対象とした。各患者の治療前、及び治療後の血液学的パラメーターを含む臨床所見、及び化学療法に対する効果、副作用を多角的に解析した。

本研究は参加病院の倫理委員会の承認を得て施行されている。検討項目は以下の通り。各パラメーターを臨床所見と対比させその有用性を検討した。

(1) 新規血清パラメーター (フコシル化ヘモペキシン) の解析

フコシル化ヘモペキシンについては、AUROC=0.95 という高い肝細胞癌の診断能を示したという報告があったため、同方法に準じ、サンドイッチレクチンエライザ法にて測定を行った。(J Proteome Res 8, 595-602, 2009)。

(2) 糖鎖パターン解析

糖鎖パターン解析は北海道大学西村紳一郎教授の協力を得て、測定を行った。方法は、ビーズで糖鎖をトラップしマスマスペクトロメトリーで分子量を定量する、いわゆる網羅的糖鎖解析であり、新しく開発された方法である。

(3) サイトカイン解析

マルチプレックスエライザ法を用い血管新生に関与する 9 種類のサイトカインの化学療法前後での発現を測定した。

4. 研究成果

(1) フコシル化ヘモペキシンについては、肝細胞癌約 400 例、慢性肝炎/肝硬変約 100 例の患者血清中での発現を、サンドイッチレクチンエライザにより定量した。肝細胞癌での発現は慢性肝炎/肝硬変症例に比べ明らかに高値であり、既知の腫瘍マーカーとの明らかな相関は認めないことが判明した。しかし、腫瘍数、最大腫瘍径などの腫瘍因子との相関も認められず、腫瘍が産生するいわゆる従来の腫瘍マーカーとは異なった発現パターンを呈した。高発癌状態のマーカーであることが示唆されたが、化学療法効果判定には応用が難しいと考えられた (投稿中)。従って肝癌に対する化学療法の治療効果予測については、以下の項目を中心に行った。

(2) 糖鎖パターン解析及びサイトカイン解析は、慢性肝疾患、早期肝細胞癌検体に加え、低用量 5-フルオロウラシル+シスプラチン

による治療が施行された 38 症例と、ソラフェニブ治療が行われた 30 症例より採取された血清を用いて行った。

① 糖鎖パターン解析

網羅的糖鎖解析では、50 種類を超えるピークを解析し、肝癌患者で特徴的な糖鎖発現パターンを見出している。化学療法効果との関係では、低用量 5-フルオロウラシル+シスプラチン療法の治療前の糖鎖パターンによる効果予測は、困難であったが、ソラフェニブについては、副作用である手足症候群や皮疹の発現が、治療前血清における特定の糖鎖のピーク値が低いもので多いという結果が得られている。現在さらに多数例での解析を進めている。

糖鎖と化学療法の治療効果との関係は今まで詳細に検討されたことがなく、今後確認試験を行い、その有用性が証明されれば、今まで困難であった化学療法の事前効果予測に応用可能となることが示唆される。

② サイトカイン解析

サイトカイン発現と化学療法効果予測との関係においては、30 症例と少数例の検討ではあるが、アンジオポエチン 2、フォリスタチン、顆粒球コロニー刺激因子、肝細胞増殖因子、レプチン、血小板由来増殖因子、CD31 や血管内皮増殖因子が多く発現している症例では、ソラフェニブによる治療効果は「増悪」である事が多く、治療前にこれらを測定する事により、治療効果予測に有用である可能性があることを見出した。

また、今回治療効果と関連のある事が示唆された 8 種類のサイトカイン全てが治療前に高発現であった 8 人の肝細胞患者では、ソラフェニブ治療後の効果判定は全て「増悪」であり、複数のサイトカインを同時に測定する事が、極めて重要であると考えられた（投稿中）。

治療後の生存率は、アンジオポエチン 2、顆粒球コロニー刺激因子、肝細胞増殖因子、レプチンが高値である場合、有意に短かった。

従来の報告では一つのファクターで予測を行った解析がほとんどであり、今回の新たな方法論による解析を行うことによって、はじめて治療効果を事前に予測しうる指標作りの基礎データを得ることができた。

(3) 当初予定していたリンパ球の反応性については、サンプル数の確保が困難であったため、現段階では施行していない。また、デ

ータマイニングについては、解析候補因子が今回の検討でほぼ明らかとなったため、解析できていない項目を追加した後に施行予定である。

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 19 件)

- ① Nakanishi Y, Shiraha H, Nishina SI, Tanaka S, Matsubara M, Horiguchi S, Iwamuro M, Takaoka N, Uemura M, Kuwaki K, Hagihara H, Toshimori J, Ohnishi H, Takaki A, Nakamura S, Kobayashi Y, Nouso K, Yagi T, Yamamoto K. Loss of runt-related transcription factor 3 expression leads hepatocellular carcinoma cells to escape apoptosis. *BMC Cancer*. (査読有) 11(1):3, 2011
- ② Hagihara H, Nouso K, Kobayashi Y, Iwasaki Y, Nakamura S, Kuwaki K, Toshimori J, Miyatake H, Ohnishi H, Shiraha H, Yamamoto K. Effect of pegylated interferon therapy on intrahepatic recurrence after curative treatment of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol*. (査読有) 2010 Dec 9.
- ③ Ohnishi H, Sakaguchi K, Nouso K, Kobayashi Y, Nakamura S, Tanaka H, Miyake Y, Shoji B, Iwadou S, Shiratori Y. Outcome of small liver nodules detected by computed tomographic angiography in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int*. (査読有) 4(3):562-8, 2010
- ④ Takuma Y, Nouso K, Makino Y, Hayashi M, Takahashi H. Clinical trial: oral zinc in hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*. (査読有) 32(9):1080-90, 2010. 4(3):562-8, 2010
- ⑤ Shoji B, Ikeda F, Fujioka SI, Kobashi H, Yasunaka T, Miyake Y, Shiraha H, Takaki A, Nouso K, Iwasaki Y, Yamamoto K. Laparoscopic findings of reddish markings predict hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus-related liver disease. *J*

- Gastroenterol (査読有)
45(11):1172-82, 2010
- ⑥ Iwadou S, Nouso K, Kuwaki K, Kobayashi Y, Nakamura S, Tanaka H, Miyoshi K, Ohnishi H, Miyake Y, Shiraha H, Iwasaki Y, Shiratori Y, Yamamoto K. Time-dependent analysis of predisposing factors for the recurrence of hepatocellular carcinoma. Liver Int. (査読有) 30(7): 1027-32, 2010
- ⑦ Yumoto Y, Yagi T, Sato S, Nouso K, Kobayashi Y, Ohmoto M, Yumoto E, Nagaya I, Nakatsukasa H. Preoperative estimation of remnant hepatic function using fusion images obtained by (99m)Tc-labelled galactosyl-human serum albumin liver scintigraphy and computed tomography. Br J Surg (査読有) 97(6): 934-44, 2010
- ⑧ Nouso K, Kobayashi Y, Nakamura S, Kobayashi S, Toshimori J, Kuwaki K, Hagihara H, Onishi H, Miyake Y, Ikeda F, Shiraha H, Takaki A, Iwasaki Y, Kobashi H, Yamamoto K. Evolution of prognostic factors in hepatocellular carcinoma in Japan. Aliment Pharmacol Ther. (査読有) 31(3):407-14, 2010
- ⑨ Takuma Y, Nouso K. Nonalcoholic steatohepatitis-associated hepatocellular carcinoma: our case series and literature review. World J Gastroenterol. (査読有) 16(12): 1436-41, 2010
- ⑩ Matsuo N, Shiraha H, Fujikawa T, Takaoka N, Ueda N, Tanaka S, Nishina S, Nakanishi Y, Uemura M, Takaki A, Nakamura S, Kobayashi Y, Nouso K, Yagi T, Yamamoto K. Twist expression promotes migration and invasion in hepatocellular carcinoma. BMC Cancer, (査読有) 18(9):240, 2009

[学会発表] (計6件)

- ① 能祖一裕、非B非C型肝細胞癌のハイリスクグループの設定およびその妥当性、第14回日本肝臓学会大会、2010年10月13日 横浜
- ② 能祖一裕、高齢者肝細胞癌の治療成績、第13回高齢消化器病学会、2010年7月10日、東京

- ③ 能祖一裕、非B非C型肝細胞癌の現状及び対策、第46回日本肝臓学会、2010年7月8日、大阪
- ④ 能祖一裕、New glycan-markers for the diagnosis of pancreas cancer、Cancer congress in Singapore、2010年6月23日 シンガポール
- ⑤ 能祖一裕、非B非C肝細胞癌のリスク集団の囲い込み、第38回日本肝臓学会西部会、2009年12月4日、鳥取
- ⑥ 能祖一裕、Recent changes of the prognostic factors of hepatocellular carcinoma. 3rd IKLS with ILCA scientific session 2009年6月4日 神戸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

能祖 一裕 (NOUSO KAZUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：10314668