

## 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25年5月29日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591325

研究課題名（和文） ソラフェニブによる肝細胞癌多段階発癌阻止の可能性

研究課題名（英文） potential of sorafenib in inhibition of multi-step carcinogenesis for hepatocellular carcinoma

研究代表者

竹原 康雄（TAKEHARA YASUO）

浜松医科大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：70188217

研究成果の概要（和文）：

Sorafenib の早期投与がラット肝において dysplastic nodule (DN) から多血性細胞癌への多段階発癌を阻止できるかどうかについて、化学発癌モデルを使用して検討した。早期投与群では、肝内に誘導される結節の個数は有意に少なく、それら結節は多血性肝細胞癌が少ない傾向にあり、特に出血性結節は少ない傾向にあることが造影 MRI と病理組織化学的検討で判明した。Sorafenib 早期投与により、DN への血管誘導を妨げられ、多血性肝細胞癌発生を防ぐことができると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of the study was to assess if per-oral administration of sorafenib can inhibit multi-step carcinogenesis for chemically induced hepatocellular carcinoma (HCC) in rat model. Contrast enhanced MRI using Gd-EOB-DTPA and immunohistochemically stained liver specimen were performed to evaluate the induction of the hypervascular HCC. As a result, an earlier administration of the sorafenib resulted in less developments of hypervascular HCC by inhibiting vascular inductions to the dysplastic nodules.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：画像診断学

## 1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌（HCC）で、死亡する日本人は年間約3万人とされ、男性では癌による死亡率において、肺癌、胃癌に次いで第3位に位置する。ほとんどの肝細胞癌は多段階発癌を経て多血性の古典的肝細胞癌となると考えられている。その、前癌状態である dysplastic nodule (DN) においては、結節は一旦乏血

性となり、低酸素状態に陥った結節が VEGF (vascular endothelial growth factor) などの血管誘導物質を分泌し、栄養動脈が新たに誘導され、動脈からの供血が豊富となることで、進行 HCC へと増殖が加速すると推測されている。誘導された未熟な動脈血で HCC が栄養され、門脈から血液が逆行性に導出されるようになると、癌細胞が門脈経由で肝内

に散布され、多発性の肝内転移をきたすことが多い。こうなってしまうと、手術の適応から外れる症例が出てくるのは勿論、不規則かつ無数に誘導された動脈から栄養されている結節を全て塞栓することも容易ではなく、様々な介入治療を駆使して手を尽くしても、結局腫瘍をコントロールできずに患者を失うケースがほとんどである。もし、DNの状態にあっても血管誘導物質が分泌されなければ、あるいは結節が血管誘導物質を分泌してもその効果が打ち消されれば、栄養動脈の誘導は生じないため、仮に結節内に進行HCCが発生したとしても容易には増殖できず、肝内転移も生じないか、あるいはその時期を遅らせることができる可能性がある。Sorafenibは最近臨床現場に登場した経口投与が可能な分子標的薬であり、世界初のキナーゼ阻害剤である。Sorafenibは腫瘍細胞の増殖に働くMAPキナーゼ経路を直接阻害するのみならず、血管新生に働くVEGF受容体、PDGF受容体活性を併せて阻害することにより、優れた臨床効果を発揮するとされる。Sorafenibは進行肝細胞癌患者で延命効果を有することは証明されているが、HCC発癌の阻止や他の治療との併用療法での効果は証明されていない。

## 2. 研究の目的

sorafenibにより慢性障害肝に多血性HCCが誘導されるのを妨げることができるか、あるいは遅らせることができるか？できるとしたら、その至適用量はどの程度か？至適投与開始時期はどの時期は何時かを動物モデルで検討することである。

## 3. 研究の方法

100ppmのdiethylnitrosamine溶液(DEN)を40日間自由飲水させて作製する化学発癌モデルラット30匹を3群に分け、sorafenib(800 mg/50kg/day)による薬理的介入により、肝細胞癌発癌を阻止できるかどうかを検討した。sorafenibの介入は早期から投与する群(DEN開始後20日に投与開始)、後期から投与する群(DEN開始後40日から投与開始)、偽薬群(コントロール群)に分割して施行した。DEN開始から40日後に造影MRIを施行し、多血性肝細胞癌はその時点では誘導されていないことを確認している。DEN開始から120日後にGd-EOB-DTPAによる造影MRIを(造影前、造影動脈相、造影肝細胞造影相)施行した後、採血の後、麻酔薬の過量投与で動物を屠殺し、肝臓を摘出してホルマリン固定後連続切片を作製した。造影MRI上で最大径5mm以上の結節について隣接する背景肝組織と共に各時相において平均信号強度を計測し、結節/背景肝、信号比を計算した。エンドポイントで採取した血液は質量分析し

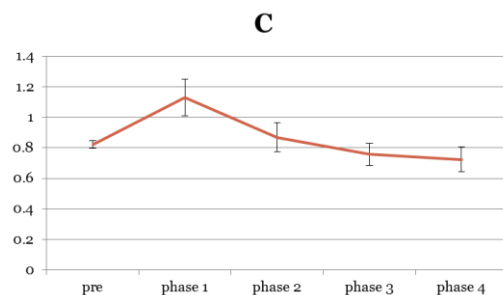
て、sorafenibの定量を行った。病理組織標本はHE染色、 $\alpha$ SMA染色、CD34染色を行い、低倍率の顕微鏡写真をデジタル化し、染色の陽性部位の面積をアプリケーションにて2値化して自動計測した。

## 4. 研究成果

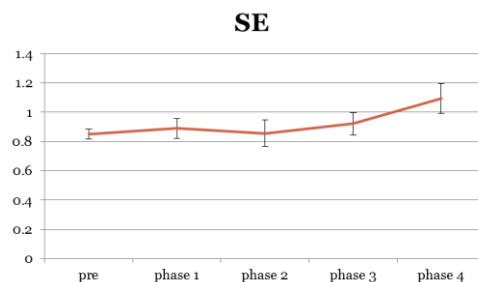
DEN開始40日では肝内には多数のdysplastic nodules(DN)が形成されるものの、多血肝細胞癌は形成されなかったが、120日後には大小の多血肝細胞癌が形成されていた。そのうち、sorafenib投与群では径5mm以上の結節の個数(平均1.78個)は偽薬群の個数(平均3.86個)よりも有意に少なく、特に、早期に投与した群では結節数は更に少ない傾向にあり(平均1.71個)、出血性結節も早期投与群で少ない傾向にあることがわかった。

造影MRIでは、偽薬群の結節は造影動脈相にピークを有する成熟肝細胞癌のパターンを呈した。これに対して、sorafenib早期投与群では、造影動脈相にはピークは無く、肝細胞造影相にピークを有する、正常肝実質～DNの造影パターンを呈した。

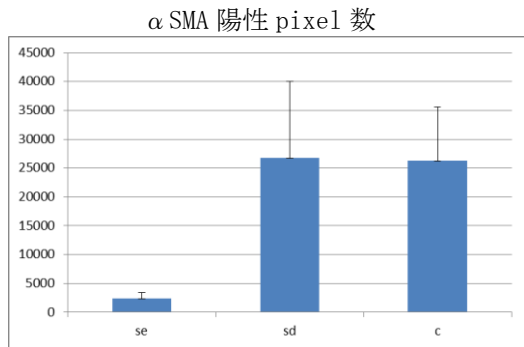
偽薬群のGd-EOB-DTPA造影パターン  
(多血性HCCの誘導を示唆する動脈相増強パターンである)



早期投与群のGd-EOB-DTPA造影パターン  
(DNあるいは正常肝実質の肝細胞造影相増強パターンである。)

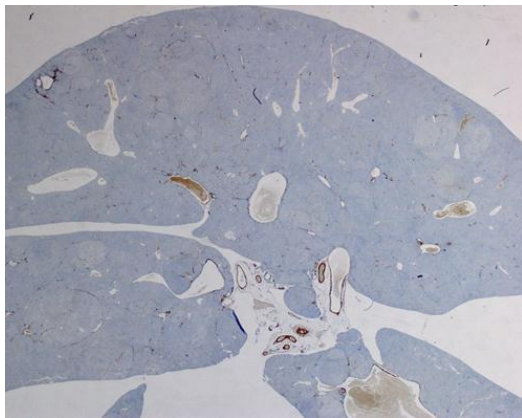


病理組織化学的検討でも、結節内 $\alpha$ SMA染色陽性領域は早期投与群で有意に少なかった(p=0.0018)。下図参照。

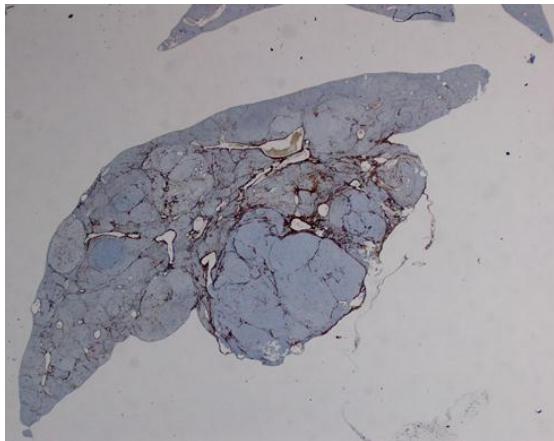


se：早期投与群、sd：遅延投与群、c：偽薬群

早期投与群肝の $\alpha$ SMA染色陽性領域が少ない(DNも目立たず、新生血管誘導を示唆する陽性領域も少ない)。



偽薬群肝の $\alpha$ SMA染色陽性領域が多い(DN内に新生血管誘導が顕著)。



結論として、臨床で使用されている標準量においては、Sorafenibの経口投与によりDNへの血管誘導を妨げることができ、しかもその効果は早期投与で増強されると考えられた。

今後の展望としては、1) sorafenibが比較的高価であることから、低容量で、同等の効果を引き出すことができるかどうかを動物実験で確認する、2) 慢性肝障害に肝細胞癌の発生する以前に sorafenibを予防投薬した場合、癌の発生を阻止できるかどうか、また、比較的大きなDNやGd-EOB-DTPAを肝細胞造影相で取り込まなくなったDNにおいて、sorafenibを投与することにより多血肝細胞癌発生を阻止できるかどうかを検証する臨床試験を行う、3) sorafenibをTACE後に投与して、治療域に存在するDNが虚血から血管誘導に至らないようにできるかなどの臨床試験を施行することなどが考えられる。仮に、これらのことが、臨床試験でも良好な成績が得られれば、肝臓癌診療へのインパクトも大きなものとなるであろう。

#### 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 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔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 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹原 康雄 (TAKEHARA YASUO)

浜松医科大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：70188217

(2) 研究分担者

藤江 三千男 (FUJIE MICHIO)

浜松医科大学・実験実習機器センター・技

術専門員

研究者番号：90397373