

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591983

研究課題名(和文)慢性日本住血吸虫症の肝細胞癌切除後の再発・予後に与える影響とそのメカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the impact of chronic schistosomiasis japonica on recurrence and prognosis of the patients of hepatocellular carcinoma after hepatic resection and its mechanism.

研究代表者

松田 政徳(MATSUDA, Masanori)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80242642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：日本住血吸虫症併存肝癌症例は減少してきたが、近年は18%程度で横ばい傾向であった。特徴は、高齢で、赤血球数、IgM値、CD19陽性リンパ球が有意に低値など、造血機能やB細胞系の免疫障害が、肝癌切除後の予後に悪影響していると推定した。肝細胞癌の病理学的所見には差はなく、肝硬変の合併が低率であった。EOB-MRIおよび術中造影超音波検査の導入と早期肝細胞癌の同時治療で、日本住血吸虫症併存例の肝癌切除後の予後が改善した。

研究成果の概要(英文)：Proportion of hepatocellular carcinoma (HCC) patients with chronic schistosomiasis japonica (SJ) who underwent hepatic resection is about 18% in our department in recent years. Age in the SJ group was significantly higher and red blood cell count, IgM concentration and CD19 positive lymphocyte were significantly lower than in the non-SJ group. We assumed that deficiency in hematopoiesis and B cell function was adverse prognostic factor for survival after hepatic resection. Introduction of EOB-MRI and intraoperative contrast enhanced US and simultaneous treatment of early HCC prolonged survival after hepatic resection even in patients with chronic SJ.

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：日本住血吸虫症 肝細胞癌 肝内胆管癌 肝切除 免疫障害 早期肝細胞癌

1. 研究開始当初の背景

(1) かつて、山梨県は日本住血吸虫症の三大流行地域の一つであったが、官民上げての努力によってその撲滅に成功した。しかし、慢性日本住血吸虫症によると思われる肝障害や、併存するウイルス肝炎によって、本県の肝臓による死亡率は現在、東日本一である。当施設では、近年でも肝細胞癌患者に占める慢性の日本住血吸虫症患者の占める割合は、20%前後で、最近 20 年間変化が見られていない。一方、日本を除いたアジア地域、特に東南アジア地域では現在でも日本住血吸虫症が猛威をふるっており、2 億人の感染者がいると推定され、世界的には決して過去の疾患ではない。さらに、現在のエジプトでは日本の過去の状況と酷似した住血吸虫とウイルス肝炎の併存による肝細胞癌の発生が最大の保健問題となっている。急性期の日本住血吸虫症の治療は有効な経口薬剤の登場でコントロール可能となったが、今後急性期の治療が普及しても、慢性の日本住血吸虫症患者は今後も増加し、将来的に本県同様、肝硬変への進展や肝臓（肝細胞癌や胆管細胞癌）発生の問題がさらにクローズアップされてくるものと推定される。

(2) 私たちは、慢性日本住血吸虫症が肝細胞癌患者の切除後の独立した予後不良因子であることをはじめて明らかとした。慢性日本住血吸虫症は、肝切除後の無再発生存率には影響を与えないものの、累積生存率を著しく低下させていた。これは、今まで知られていた腫瘍因子や肝機能因子だけでなく、寄生虫感染という外因により引き起こされた肝線維症によって肝臓切除後の患者の予後が影響されることを示したものである。

2. 研究の目的

(1) 慢性日本住血吸虫症併存肝細胞癌患者の臨床病理学的特徴を解明し、さらに、肝切除後の予後が併存群に比較して不良である原因を臨床病理学的、免疫学的観点から解明する。

(2) 臨床病理学的、免疫学的解析を基に、慢性日本住血吸虫症併存肝細胞癌患者の肝切除後の予後を向上させるための方策を、臨床的に応用可能な画像診断技術、手術治療、薬物治療等を応用して確立する。

3. 研究の方法

(1) 過去の日本住血吸虫症併存肝臓切除症例について、対象期間の非併存肝臓症例と臨床的パラメーターおよび血液検査データ、病理学的データを比較検討し、日本住血吸虫症併存症例の臨床病理学的特徴を明らかとする。

(2) 日本住血吸虫症の免疫機能へ及ぼす影響については、液性免疫因子の定量的解析お

よび免疫担当細胞（B 細胞、T 細胞、NK 細胞などの抗腫瘍作用に関与する細胞）の量的差異とプロファイルを特異的抗体による免疫染色とフローサイトメトリー法により解析することによって明らかとする。これらのデータを網羅的に統合し、日本住血吸虫症併存例の特徴を明らかとする。肝予備力や発癌との関連で重要な肝臓の線維化については免疫組織学的検討により線維化率を定量的に比較し、経時的に比較検討が可能な症例については、過去の組織との比較も加え、日本住血吸虫症併存症例の肝線維化に及ぼす影響を明らかとする。

(3) 近年導入された新しい画像診断技術（EOB-MRI や MR elastography や術中造影超音波検査）を応用して、日本住血吸虫症併存症例の特徴を明らかとする。肝細胞癌肝切除後の予後向上の方策を、手術療法を含む臨床手段を実際の臨床例に応用することによって検討、開発する。

4. 研究成果

(1) 臨床的因子の比較検討（表 1）

日本住血吸虫症併存者の年齢の中央値（範囲）（以下同様に記載）は 72.5 歳（64 - 83 歳）で非併存者の 67.0 歳（16-85 歳）と比較して有意に高齢であった（ $p=0.03$ ）。男女比、アルコール多飲歴、糖尿病の合併などには差を認めなかった。

	慢性日本住血吸虫症併存群 n=14	慢性日本住血吸虫症非併存群 n=65	P value
性別 (男/女)	13/1	49/16	0.28
年齢 (歳)*	72.5 (64-81)	67.0 (16-85)	0.03
線維症 (なし/あり)	11/3	49/17	>0.99
アルコール多飲歴 (なし/あり)	8/6	34/31	0.78
糖尿病 (なし/あり)	7/7	18/47	0.12
糖尿病 (なし/あり)	9/5	47/18	0.53
食道静脈瘤 (なし/あり)	10/4	47/18	>0.99

*中央値 (範囲)

表 1 臨床的因子の比較

(2) 血液検査所見の比較検討（表 2）

日本住血吸虫症併存群の赤血球数は $406 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ($258-454 \times 10^3 / \mu\text{L}$) で、非併存群の $436 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ($312-550 \times 10^3 / \mu\text{L}$) と比較して有意に低値であった（ $p=0.02$ ）。肝機能検査、各種腫瘍マーカー、肝炎ウイルス感染状況には差を認めなかった。

	慢性日本住血吸虫症併存群 n=14	慢性日本住血吸虫症非併存群 n=65	P value
赤血球数 ($10^3 / \mu\text{L}$)*	406 (258-454)	436 (312-550)	0.02
Hb (g/dL)*	13.3 (9.7-14.5)	13.5 (9.8-16.4)	0.11
血小板数 ($10^4 / \mu\text{L}$)*	14.1 (6.8-21.9)	12.5 (4.0-33.5)	0.46
アルブミン (g/dL)*	4.1 (3.2-4.5)	4.1 (3.2-4.9)	0.61
総ビリルビン値 (mg/dL)	0.35 (0.4-1.1)	0.7 (0.3-1.8)	0.15
ALT (IU/L)*	33.0 (17.0-86.0)	33.0 (10.0-168.0)	0.94
IGT5分値(%)*	12.1 (5.9-26.3)	17.0 (5.4-34.5)	0.61
PT (%)	81.9 (63.8-113.5)	77.8 (47.0-102.1)	0.29
Child-Pughスコア (A/B)	13/1	58/7	>0.99
AFP (ng/mL)*	9.6 (3.1-540)	10.8 (1.9-128900)	0.35
AFP L3 (%)	0.25 (0-51.7)	1.3 (0-80.4)	0.47
PIVKA-II (mAU/mL)*	126.0 (9.0-4688)	33.0 (9.0-16756)	0.37
Hepatitis B surface antigen (-/+)	12/2	50/15	0.72
Hepatitis C antibody (-/+)	7/7	28/37	0.54
非B非C肝臓 (いいえ/はい)	9/5	50/15	0.33

*中央値 (範囲)

表 2 血液検査所見の比較

(3) 免疫学的因子の比較検討（表 3）

日本住血吸虫症併存群での末梢血 CD19 陽性リンパ球は 7.6% (1.4-23.3%) で、非併存

群の 12.3% (2.8-41.1%) に比較して有意に低値であった ($p=0.02$)。また、IgM 値も併存群が 69.0mg/dL (142-610mg/dL) で、非併存群の 103mg/dL (22-291mg/dL) と比較して有意に低値であった ($p=0.006$)。白血球数、白血球分画、CD3、CD4、CD8、CD56 陽性リンパ球比率、NK 活性などには差を認めなかった。

	慢性日虫症併存群 n=14	慢性日虫症非併存群 n=65	P value
白血球数 (/ μ L)	4460 (2200-6310)	4400 (1720-10290)	0.64
好中球数 (/ μ L)	2590 (1210-4290)	2470 (900-7900)	0.94
単球数 (/ μ L)	285 (200-500)	310 (20-770)	0.74
リンパ球数 (/ μ L)	1270 (480-1870)	1400 (310-3330)	0.44
CD3 (%)	70.6 (48.4-89.0)	72.2 (34.1-87.9)	0.51
CD19 (%)	7.6 (1.4-23.3)	12.3 (2.8-41.1)	0.02
CD4 (%)	46.8 (30.1-65.7)	46.0 (25.5-74.8)	0.85
CD8 (%)	24.5 (13.3-41.4)	22.9 (3.6-48.0)	0.62
CD4/CD8	1.64 (0.88-4.35)	2.13 (0.74-13.3)	0.44
CD56 (%)	13.3 (5.2-43.6)	11.5 (3.2-61.2)	0.32
NK 活性 (%)	31.0 (8.0-65.0)	39.0 (6.0-70.0)	0.51
IgG (mg/dL)	1432 (1005-2829)	1504 (772-3089)	0.49
IgA (mg/dL)	303.5 (142-610)	293 (108-722)	0.86
IgM (mg/dL)	69.0 (24.0-127)	103 (22.0-291)	0.006

中央値 (範囲)

表 3 免疫学的因子の比較

(4) 病理学的因子の比較検討 (表 4) 肝癌の病理学的所見に関し、日本住血吸虫症併存群と非併存群との間に差異は認められなかったが、肝硬変の併存率は併存群で有意に低率であった ($p=0.04$)。

	慢性日虫症併存群 n=14	慢性日虫症非併存群 n=65	P value
最大腫瘍径 (cm)*	3.1 (1.5-7.5)	2.5 (1.0-10.7)	0.42
腫瘍数 (単発/多発)	11/3	39/26	0.23
被膜形成 (なし/あり)	5/9	17/48	0.52
被膜浸潤 (なし/あり)	1/8	3/45	0.51
門脈浸潤 (なし/あり)	11/3	59/6	0.19
肝癌の分化度 (高中/低)	10/4	58/7	0.10
肝硬変 (なし/あり)	10/4	26/39	0.04
Stage (I-II/III-IV)	9/5	42/23	>0.99

*中央値 (範囲)

表 4 病理学的因子の比較

(5) EOB-MRI 施行による early HCC 発見率の変化と日本住血吸虫症併存症例の比率 EOB-MRI 施行 77 例と非施行例 70 例で、DCP のみ非施行例で高値であった ($p=0.02$) 以外、背景因子に差は認められなかった。eHCC 疑い病変の発見数は施行例で 17 症例 24 結節 (非施行例 6 症例 8 結節) と有意に多く、施行例の 24 結節中 23 結節を切除、1 結節は焼灼治療した。切除 23 結節中 21 結節は病理学的に eHCC と診断された。施行例には日本住血吸虫症併存症例 10 例 (13%)、非施行例には 12 例 (17%) 含まれていたが、有意差は無かった ($p=0.50$)。

(6) EOB-MRI 施行と発見された early HCC の同時治療の意義 (図 1、2) 肝切除後の無再発生存率は 1 年、3 年、5 年の順に施行例が 81.4%、62.6%、48.7%、非施行例が 82.1%、41.5%、25.5% と 1 年以内の再発率は同等であったが、2 年以降は施行例で良好で、有意差を認めた ($P=0.01$)。一方、累積生存率は 1 年、3 年、5 年累積生存率の順に施行例が 98.7%、90.7%、80.8%、非施行例が 97.0%、86.3%、72.4% と現時点で有意差を認めなかった ($P=0.38$) が、施行例では、5 年生存率が初めて 80% を超えた。また、無再発生存に関与する因子の多変量解析でも、

EOB-MRI 施行は有意な因子であった。また、住血吸虫症併存の有無による生存率の差は認められなくなった。

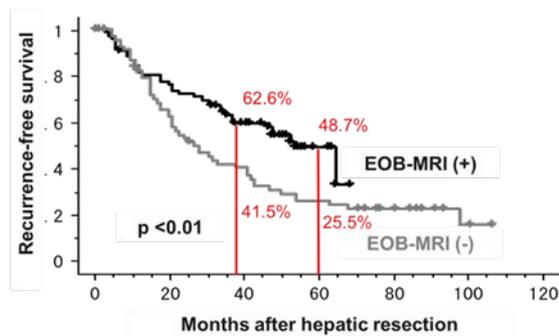


図 1

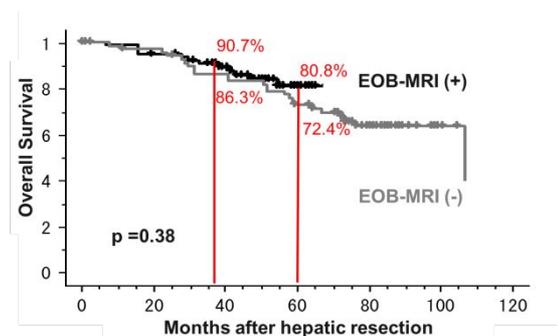


図 2

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 2 3 件)

Matsuda M, Ichikawa T, Amemiya H, Maki A, Watanabe M, Kawaida H, Kono H, Sano K, Motosugi U, Fujii H: Pre operative gadoxetic acid-enhanced MRI and simultaneous treatment of early hepatocellular carcinoma prolonged recurrence-free survival of progressed hepatocellular carcinoma patients after hepatic resection. HPB surgery, 2014 (査読有) (DOI:1155/2014/641685)

Chen N, Motosugi U, Sano K, Ichikawa T, Nakano M, Morisaka H, Ichikawa S, Matsuda M, Fujii H, Enomoto N, Araki T: Early hepatocellular carcinomas showing isointensity or hyperintensity in gadoxetic Acid-enhanced, hepatocyte-phase magnetic resonance images. J Comput Assist Tomogr 37:466-469, 2013 (査読有) (DOI:10.1097/RCT.0b013e3182873799)

Ichikawa S, Ichikawa T, Motosugi U, Sano K, Morisaka H, Enomoto N, Mat

suda M, Fujii H, Araki T: Presence of a hypovascular hepatic nodule showing hypointensity on hepatocyte-phase image is a risk factor for hypervascular hepatocellular carcinoma. *J Magn Reson Imaging*, 2013 (査読有) (DOI:10.1002/jmri.24164)

Matsuda M, Amemiya H, Kawaida H, Okamoto H, Hosomura N, Asakawa M, Sano K, Motosugi U, Ichikawa T, Nakazawa T, Fujii H: Typical fibrolamellar hepatocellular carcinoma in a Japanese boy: report of a case. *Surg Today*, 2013 (査読有) (DOI:10.1007/s00595-013-0653-y)

Motosugi U, Ichikawa T, Araki T, Matsuda M, Fujii H, Enomoto N: Bayesian prediction for liver fibrosis staging: Combined use of elastography and serum fibrosis markers. *Hepatology* 58:450-451,2013 (査読有) (DOI:10.1002/hep.26144)

Motosugi U, Ichikawa T, Koshiishi T, Sano K, Morisaka H, Ichikawa S, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Araki T: Liver stiffness measured by magnetic resonance elastography as a risk factor for hepatocellular carcinoma: a preliminary case-control study. *Eur Radiol* 23:156-162,2013 (査読有) (DOI:10.1007/s00330-012-2571-6)

Muhi A, Ichikawa T, Motosugi U, Sano K, Fatima Z, Matsuda M, Fujii H, Enomoto N, Araki T: Diffusion-weighted imaging of hepatocellular carcinoma for predicting early recurrence and survival after hepatectomy. *Hepatology International* 7:662-668,2013 (査読有) (DOI:10.1007/s12072-012-9383-2)

Ichikawa S, Motosugi U, Ichikawa T, Sano K, Morisaka H, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Araki T: Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Magn Reson Med Sci* 11:291-297,2012 (査読有) (DOI:10.2463/mrms.11.291)

Tsukui Y, Mochizuki H, Hoshino Y, Kawakami S, Kuno T, Fukasawa Y, Iwamoto F, Hirose S, Yoshida T, Hosoda K, Suzuki Y, Hosoda K, Kojima Y, Hirose Y, Shindou K, Matsuda M, Yagawa S, Tawara A, Kobayashi M, Konishi

T, Yamazaki T, Takahashi S, Fuji H, Enomoto N, Omata M: Factors contributing to the overall survival in patients with hepatocellular carcinoma treated by sorafenib. *Hepatology* 59:2536-2539,2012 (査読有) (URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Factors+contributing+to+the+overall+survival+in+patients+with+hepatocellular+carcinoma+treated+by+sorafenib>)

Hosomura N, Kono H, Tsuchiya M, Ishii K, Ogiku M, Matsuda M, Fujii H: HCV-related proteins activate Kupffer cells isolated from human liver tissues. *Dig Dis Sci* 56:1057-1064,2011 (査読有) (DOI:10.1007/s10620-010-1395-y)

Matsuda M, Asakawa M, Amemiya H, Fujii H: Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of AFP is a useful prognostic biomarker for survival after repeat hepatic resection for HCC. *J Gastroenterol Hepatol* 26:731-738,2011 (査読有) (DOI:10.1111/j.1440-1746.2010.06532.x)

Motosugi U, Ichikawa T, Sano K, Sou H, Onohara K, Muhi A, Kitamura T, Amemiya F, Enomoto N, Matsuda M, Asakawa M, Fujii H, Araki T: Double-dose gadoteric Acid-enhanced magnetic resonance imaging in patients with chronic liver disease. *Invest Radiol* 46:141-145,2011 (査読有) (DOI:10.1097/RLI.0b013e3181f9c487)

Motosugi U, Ichikawa T, Sano K, Sou H, Onohara K, Muhi A, Amemiya F, Enomoto N, Matsuda M, Fujii H, Araki T: Outcome of hypovascular hepatic nodules revealing no gadoteric acid uptake in patients with chronic liver disease. *J Magn Reson Imaging* 34:88-94,2011 (査読有) (DOI:10.1002/jmri.22630)

Motosugi U, Ichikawa T, Oguri M, Sano K, Sou H, Muhi A, Matsuda M, Fujii H, Enomoto N, Araki T: Staging liver fibrosis by using liver-enhancement ratio of gadoteric acid-enhanced MR imaging: comparison with aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index. *Magn Reson Imaging* 29:1047-52,2011 (査読有) (DOI:10.1016/j.jmri.2011.05.007)

Sano K, Ichikawa T, Motosugi U, Sou H, Muhi AM, Matsuda M, Nakano M, Sakamoto M, Nakazawa T, Asakawa M, Fujii H, Kitamura T, Enomoto N, Araki T: Imaging study of early hepatocellular carcinoma: usefulness of gadoteric acid-enhanced MR imaging. Radiology 261:834-844,2011(査読有)(DOI:10.1148/radiol.11101840)

〔その他〕

ホームページ等

http://erdb.yamanashi.ac.jp/rdb/A_Index.Main

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 政徳 (MATSUDA, Masanori)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80242642

(2) 研究分担者

雨宮 秀武 (AMEMIYA, Hidetake)

山梨大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70377547