

平成21年6月1日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591586
 研究課題名（和文） 胆道癌に対する抗癌剤 gemcitabine 奏効例の選別化
 研究課題名（英文） Selection of long survivor with biliary tract cancer treated with gemcitabine
 研究代表者 味木 徹夫（AJIKI TETSUO）
 神戸大学・医学研究科・特命教授
 研究者番号：80379403

研究成果の概要：

進行・再発胆道癌に対する新規抗癌剤 gemcitabine(GEM)の効果につき検討した。臨床例では奏効率 18%、腫瘍制御率 59%、無効が 41%であり、部位別には胆嚢癌や肝内胆管癌に比べ肝外胆管癌に高い有効性が認められた。奏効例選別化を目的とし、胆道癌における GEM 代謝酵素の発現を調べたところ、3種の代謝酵素のタンパク発現と抗腫瘍効果に有意な関連は見られなかったが、GEM 奏効例に限り hENT1 タンパクの高発現が見られた。また、胆道癌に対する薬剤効果判定を実現するために、同所性移植胆道癌ヌードマウスモデルを確立した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

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：癌、薬剤反応性、動物

1. 研究開始当初の背景

本邦では、胆道癌は年々増加傾向にあり、現在癌による死亡原因の第9位となっている。各種画像診断の進歩した現在でも、胆道癌はいまだ発見が困難で、発見時には高度に進行した例が多く、手術が不可能な場合が多い。また、手術治療が可能な症例でも、胆道癌は

消化器癌の中でも再発率が非常に高い。こういった背景から、胆道癌に対する補助化学療法の確立は急務であるが、エビデンスのある至適抗癌剤が胆道癌にはないのが現状であった。

胆道癌に対する化学療法は、これまで5-FU系薬剤が中心に使用されてきた。しか

し、その臨床例に対する効果は十分とは言えなかった。我々はこれまでに、胆道癌に対する 5-FU 系抗癌剤の効果につき実験的検討を行い、胆道癌は *in vitro* で強い 5-FU 抵抗性を示し、その原因として、5-FU の key enzyme である thymidylate synthase (TS) が高値を示すことや、臨床胆道癌の切除例の検討から、進行胆道癌は高い TS 発現に加え、5-FU の分解を司る dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 酵素の発現も高く、これらは消化器癌である胃癌や大腸癌に比べ高値を示すことを明らかにした。これら key enzyme が高値を示す胆道癌では 5-FU 系薬剤の効果は十分に期待できず、新規抗癌剤の策定が望まれた。

こういった現状の中、2006 年 6 月に塩酸ゲムシタビン (gemcitabine) が多数の臨床試験の結果から、胆道癌に有効な抗癌剤として 23 年ぶりに保険認可された。我々は *in vitro* の抗癌剤感受性試験や、新規に作成した同所性移植胆嚢癌ヌードマウスモデルでの投与実験から、gemcitabine が胆道癌に対し、5-FU に比し優れた効果を示すことを見だし、また、胆道癌患者への gemcitabine の投与を、2002 年から informed consentのもとに開始し、臨床試験として施行した。開腹非切除例や再発例約 60 人の胆道癌患者への投与の成績は、腫瘍増大のない stable disease (SD) が 44% と多いものの、奏効率 (CR+PR) は 13% と十分でなく、薬剤効果の見られない progressive disease (PD) が 44% であった。

以上のように新規抗癌剤 gemcitabine は、進行胆道癌に対し実験レベルでも臨床例でも一定の効果を示したが、現時点での最大の問題点は、投与が有効になる患者を選別できない、という事である。Gemcitabine が明らかに無効であれば、別の抗癌剤や治療法を選

択する必要があるからである。

Gemcitabine の投与効果の予測については、膵臓癌でいくつかの報告がみられる。これらはいずれも gemcitabine の薬剤代謝に着目したもので、gemcitabine のリン酸化の key enzyme である deoxycytidine kinase (dCK) に関する報告が多いが、catabolic enzyme である 5'-nucleotidase (5'-NT)、cytidine deaminase (CDA)、gemcitabine の耐性に関与するとされる ribonucleotide reductase subunit M1, M2 (RRM1, RRM2)、細胞内 transport に重要な human equilibrative nucleoside transporter-1 (hENT1) などが報告され、その発現と薬剤効果、予後との関連性が検討されてきた。

2. 研究の目的

胆道癌に対し gemcitabine が有効な患者の選別を行うことを目的とした。具体的には、以下とした。

(1) 現在まで開腹手術を施行し、組織採取が行えた患者の gemcitabine の代謝酵素発現を測定する。

(2) (1) の結果と gemcitabine 投与の効果との相関を検討する。

(3) 我々の作成した胆嚢癌同所性移植モデルを用いて、gemcitabine 代謝酵素の転移部位ごとの発現、治療における変化につき検討する。

(4) 生検検体や血清を用い、gemcitabine 代謝酵素発現の測定が手術前にも可能かを検討する。

3. 研究の方法

(1) 胆道癌同所性移植モデルの確立
10 週齢の BALB/c ヌードマウスを使用し、胆嚢に胆嚢癌細胞株 NOZ 5×10⁶ 個を移植し、7 日目からの生着を確認、28 日目まで犠死させ

ると 100%に胆嚢癌を形成、肺転移、腹膜播種などヒト胆嚢癌類似の進展形式を示すことを確認した。

(2) 臨床例への胆道癌投与

進行・再発胆道癌に対し gemcitabine の投与を施行し、再発の有無や生存期間などの成績の集計を行った。

(3) Gemcitabine 代謝酵素のタンパク発現 Gemcitabine の代謝酵素 6 種類につき、胆道癌手術材料凍結組織を用いて、Western blotting 法と免疫組織化学染色法によるタンパク発現の検討を施行した。これらタンパク発現の結果と臨床成績との比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) 同所性移植胆道癌ヌードマウスモデルの確立と、このモデルの gemcitabine 投与効果判定実験の適性につき Annals of Surgical Oncology 誌に報告した。

(2) 臨床進行・再発胆道癌での gemcitabine 投与例 73 例につきその効果を判定し、各種学会や雑誌に報告を行った。結果は、全体の 78%に gemcitabine の継続投与が可能で、投与例の平均生存期間 12 ヶ月、1 年生存率 48%、CR 0%、PR 18%、SD 41%、PD 41%で、部位別には胆嚢癌や肝内胆管癌に比較して肝外胆管癌に高い有効性が認められた。

(3) 蓄積した胆道癌の凍結組織を用いて gemcitabine 代謝酵素の発現を Western blot 法で検討した。検討を予定していた 6 種類の代謝酵素の中で、3 種類 (5'-NT, dCK, RRM2) は特異抗体による目的バンドの検出が難しく、本研究には適当でないと思われた。3 種類 (RRM1, CDA, hENT1) は目的バンドが明瞭に検出でき、本研究でのタンパク発現検討に適当と考えられた。また、これらのタンパク発現は免疫組織化学染色でも確認された。

(4) 上記 3 種のタンパク発現と gemcitabine 投与効果との関連につき検討を行った。対象は 18 例で、その内訳は抗腫瘍効果を認めた例 (PR+SD) 12 例、認めなかった例 (PD) 6 例であった。それぞれのタンパク発現を β actin で標準化した量で検討すると、各タンパク発現と抗腫瘍効果に明らかな関連を認めなかったが、gemcitabine が奏効した PR 例では hENT1 高発現という特徴があった。

(5) 同所性移植モデルでの転移部位ごとの gemcitabine 代謝酵素発現の検討、生検材料を用いた代謝酵素発現の検討は現在施行中である。

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 5 件)

1. Morimoto H, Ajiki T, et al. Resection of gallbladder cancer with hepatic metastasis after chemotherapy with gemcitabine. J Hepatobiliary Pancreat Surg 15, 655-8, 2008.
2. 森本大樹、味木徹夫ほか. Gemcitabine 投与による横紋筋融解症が疑われ入院治療が必要であった胆管癌の 1 例. 日臨外会誌 69, 2097-101, 2008.
3. 松本 拓、味木徹夫ほか. 胆管癌局所再発例にバイパス手術と gemcitabine, TS-1 投与を行い長期生存した 1 例. 日臨外会誌 69, 662-5, 2008.
4. 味木徹夫、ほか. 胆道がんの化学療法と薬剤の最新知識. 消化器肝胆膵ケア 13, 34-8, 2008.
5. Mita Y, Ajiki T, et al. Antitumor effect of gemcitabine on orthotopically inoculated human gallbladder cancer cells in nude mice. Ann Surg Oncol, 14, 1374-80, 2007.

[学会発表] (計 11 件)

1. 味木徹夫、ほか. 肝内、肝門部胆管癌に対する GEM、S-1 療法の成績、第 50 回日本消化器病学会大会 (JDDW) (2008. 10 月、東京)

2. 藤田恒憲、味木徹夫、ほか。非切除・再発胆道癌化学療法の治療効果判定における腫瘍マーカーの有用性、第 63 回日本消化器外科学会総会（2008. 7 月、札幌）
3. 味木徹夫、ほか。再発胆道癌に対する化学療法を中心とした治療成績、第 63 回日本消化器外科学会総会（2008. 7 月、札幌）
4. 森本大樹、味木徹夫、ほか。Gemcitabine 投与による横紋筋融解症が疑われた肝門部胆管癌の 1 例、第 69 回日本臨床外科学会総会（2007. 12 月、横浜）
5. 味木徹夫、ほか。胆道癌の寛解導入を目指す外来化学療法の要点、第 69 回日本臨床外科学会総会（2007. 12 月、横浜）
6. 味木徹夫、ほか。Gemcitabine, S-1 を基軸とした進行胆道癌に対する化学療法、第 49 回日本消化器病学会大会（JDDW）（2007. 10 月、神戸）
7. 味木徹夫、ほか。Gemcitabine, S-1 を中心とした進行胆道癌に対する化学療法の成績、第 43 回日本胆道学会総会（2007. 9 月、東京）
8. 味木徹夫、ほか。胆道癌に対する補助化学療法としてのgemcitabine投与の意義、第 62 回日本消化器外科学会総会（2007. 7 月、東京）
9. Fujita T, Ajiki T, et al. Gemcitabine treatment for advanced biliary tract cancers. Digestive Disease Week 2007 (AGA)（2007. 5 月、Washington DC, USA）
10. 味木徹夫、ほか。胆道癌に対する外来化学療法としてのgemcitabine投与の成績、第 93 回日本消化器病学会総会（2007. 4 月、青森）
11. 味木徹夫、ほか。Gemcitabine, S-1 を中心とした進行胆道癌に対する化学療法の成績、第 43 回日本胆道学会（2006. 9 月、東京）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

味木 徹夫 (AJIKI TETSUO)
神戸大学・医学研究科・特命教授
研究者番号：80379403

(2) 研究分担者

藤田 恒憲 (FUJITA TSUNENORI)
神戸大学・医学部附属病院・特定助教
研究者番号：0031477

神垣 隆 (KAMIGAKI TAKASHI)

神戸大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20372641

黒田 嘉和 (KURODA YOSHIKAZU)
神戸大学・医学研究科・教授
研究者番号：70178143

具 英成 (GU EISEI)
神戸大学・医学研究科・教授
研究者番号：40195615

(3) 連携研究者