

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591990

研究課題名(和文) 切除不能大腸癌肝転移に対する化学療法後肝切除の適応拡大に向けた新たな戦略

研究課題名(英文) Extended indication of conversion hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastasis

研究代表者

袴田 健一 (Hakamada, Kenichi)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30271802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌化学療法のキードラッグであるイリノテカンによるラット肝障害モデルを作成し、化学療法後肝障害機構の解明を試みた。結果、肝細胞の脂肪変性に先行して、コレステロールならびに脂肪酸合成に關与する遺伝子群の発現上昇と、脂肪酸合成酵素強陽性細胞ならびに肝前駆細胞の活性化が生じることを明らかにした。一方、肝障害診断を迅速かつ非侵襲的に行うため、超音波信号の統計学的解析方法応用し、脂肪肝の客観的かつ定量的測定法を開発した。さらに、各種画像診断法と肝予備能検査法の再評価を基に、切除不能大腸癌に対する集学的治療戦略を構築したところ、肝切除適応が拡大し、5年生存率60%以上と治療成績の向上が確認された。

研究成果の概要(英文)：First, we successfully established a new model of chemotherapy-associated liver damage by treating rats with irinotecan, and found that genetic up-regulation of both cholesterol and fatty acid synthesis occurred prior to pathological fatty degeneration. Second, we introduced a new statistical technique of ultrasound called acoustic structure quantification method to the diagnosis of fatty degeneration caused by chemotherapy. Finally, by integrating multi-modalities of diagnostic imaging and liver function tests, we successfully could improve the surgical results of conversion hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastases as high as 60% of 5 year survival after surgery.

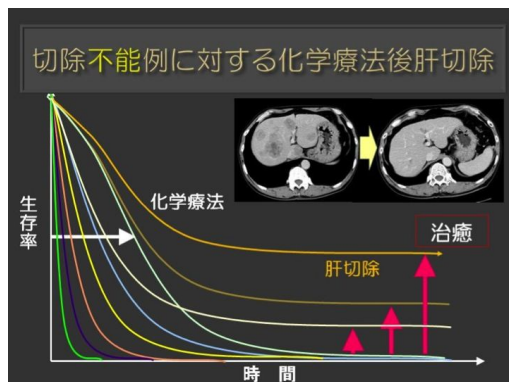
研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸癌肝転移 化学療法後肝切除 化学療法後肝障害 イリノテカン 脂肪肝 脂肪肝

1. 研究開始当初の背景

我が国の大腸癌は、罹患者数ならびに死亡者数が増加の一途を辿り、対応の急がれる癌腫である。大腸癌は、約 30% に肝転移をきたすが、原発巣と共に肝転移巣を切除することは意義があり、根治を得ることも可能なことから、積極的に肝切除を行うことが推奨されている(大腸癌治療ガイドライン、NCCN ガイドライン、他)。しかしながら、大腸癌肝転移の 80% は切除不能例であり、肝切除可能例は 20% に留まっている。

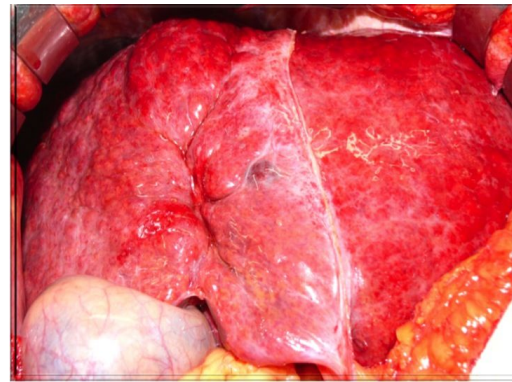
近年、大腸癌に対する化学療法成績が向上し、切除不能肝転移症例であっても代謝拮抗薬 (fluorouracil (5FU) /Leucovorin(LV)、Capecitabine、S-1) に、新規抗癌剤 (Irinotecan、Oxaliplatin) さらに分子標的薬 (bevacizumab、cetuximab、panitumumab) を併用することで、治癒切除が可能となり (conversion hepatectomy)、長期予後の得られることが明らかにされつつある。化学療法のみでの治療には限界があるため、積極的な化学療法と化学療法後の肝切除を適切に併用する集学的治療戦略は、大腸癌肝転移治療の目指すべき方向と言える (図 1)。



(図 1)

化学療法後肝切除を進めて行く上で、現在最大の障壁となっているのは、化学療法に伴う薬剤性肝障害である (図 2)。Oxaliplatin では類洞拡張や線維化、irinotecan では脂肪肝炎が特徴とされ、いずれも肝切除後の合併症発生頻度は増加するが、特に irinotecan による脂肪肝炎では術後 90 日死亡率の上昇が指摘されている。そのため、化学療法に伴う肝障害機構の解明は今日的課題である。

さらに、肝障害を術前に的確に診断することも重要な課題である。従前、超音波検査での肝腎コントラスト、CT 値などが用いられて来たが、特異度・感度とも低く、新たな非侵襲的診断法の開発が求められている。



(図 2)

2. 研究の目的

今回の研究では、以下の 3 点を目的とする。

- 1) 肝切除術後死亡率上昇との関連が指摘されている irinotecan による薬剤性肝障害に焦点をあて、irinotecan の肝細胞内排泄動態と肝障害発生の分子機構について検討する。
- 2) 化学療法後肝障害の新規低侵襲診断法を開発する。
- 3) 各種画像診断法と肝予備能検査法に基づいて、切除不能大腸癌肝転移に対する治療戦略を構築する。

3. 研究の方法

(1) irinotecan 肝障害モデルの作成と肝障害の分子機構の解明

先行研究で SD rat (6 週齢、雄) に irinotecan を腹腔内投与し (投与量 100mg/kg、投薬期間は day1/2/3/4 の 4 投 3 休を 1 クールとし 2 クール投与)、28 日目ならびに 35 日目の harvest で肝機能障害を確認したことから、新たに投与方法を至適化してラット irinotecan 肝障害モデル作成する。この肝障害モデルを用いて、irinotecan 薬剤排泄に関わる有機アニオントランスポーターの発現ならびに、特に脂肪代謝関連の遺伝子発現について解析する。

(2) 化学療法後肝障害の低侵襲診断法の開発

超音波信号の統計学的解析技術である Acoustic Structure Quantification (ASQ) を導入し、臨床例において脂肪肝ならびに脂肪肝炎の初期像の診断を試みる。

(3) 各種画像診断法と肝予備能検査の再検討を基にする切除不能大腸癌肝転移に対する新たな治療戦略の構築

化学療法中の肝障害診断と効果判定を最適化し、multidisciplinary team approach による切除不能大腸癌肝転移の Conversion hepatectomy 適応拡大を図る。

4. 研究成果

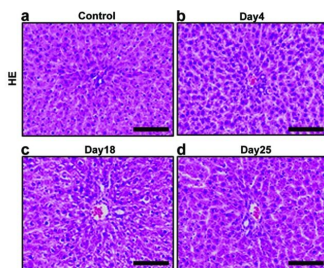
(1) irinotecan 肝障害モデルの作成と肝障害の分子機構の解明

雄性 SD ラットに対して irinotecan 200mg/kg 1 週 4 日間を 1 クールとして 3 クール腹腔内投与して、投与後 4、18、25 日に犠牲死させて肝を摘出し、HE 染色、免疫組織染色、マイクロアレイ解析を行った。

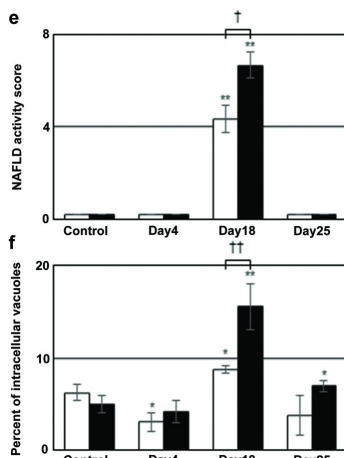
結果、HE で 18 日目に脂肪肝炎様変化を確認した(図 3)。しかし、有機アニオントランスポーターの発現解析では、当初予想していたこれらトランスポーターの発現に変化は認められなかった。一方、脂質代謝に関係する遺伝子発現に変動が見られたため、以下、これらの遺伝子発現を中心に検討を進めた。

このモデルにより得られた結果は以下の如くであった。

- 1) 肝細胞内の空胞は D4、D25 に見られたが D18 では検出できなかった。このような変化は中心静脈領域よりも胆管周囲で優位に多かった。(図 3、4)
- 2) マイクロアレイ解析では、D4 にコレステロール合成ならびに脂肪酸合成に関与する遺伝子の発現を認めた。
- 3) 免疫組織化学組織染色では、fatty acid synthase (Fasn) 強陽性細胞の検出と、肝前駆細胞の活性化を D4 に認め、一方で、肝細胞内空胞は D18 に carbonic anhydrase 3 発現肝細胞に明瞭に認めた。
- 4) 以上の結果から、irinotecan による肝細胞の脂肪化に先立って、Fasn 強陽性細胞の出現と肝前駆細胞の活性化が生じることを発見した。



(図 3)



(図 4)

すなわち、irinotecan による化学療法後肝障害の機序としては、irinotecan 輸送に関わる有機アニオントランスポーターの発現変化による、irinotecan 代謝の変化による者ではなく、irinotecan の肝細胞脂肪代謝に対する直接関与が原因と推定された。

以上から、化学療法後肝障害の回避については、化学療法中に微細な脂肪変性を早期に発見可能な非侵襲的方法の開発し、これを基に薬剤の on-off を考慮する方法が現実的な解決策になりうるのではないかと結論に達した。

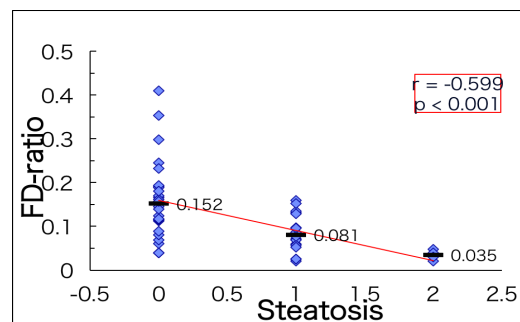
(2) 化学療法後肝障害の低侵襲診断法の開発

上記(1)の結果を受けて、従前脂肪肝ならびに脂肪肝炎診断に用いられて来た超音波検査や CT を越える非侵襲的な脂肪肝診断法の導入を試みることにした。

そこで、近年開発された超音波信号の統計学的解析法による診断である Acoustic Structure Quantification (ASQ)法の肝障害診断の有効性について、2012 年 4 月~2013 年 12 月に研究代表者施設で肝切除術が施行された 49 例を用いて検討を行った。得られた結果は以下の如くであった。

- 1) ASQ は病理学的な脂肪肝ならびに脂肪肝炎のグレードと良好な相関を示した。この相関は通常 CT で検知されない早期の段階でも良好な結果であった。
- 2) ASQ は病理学的な線維化や炎症による影響を受けなかった。

以上の結果から、ASQ を指標にして化学療法後の脂肪肝ならびに脂肪肝炎の早期診断の可能性が示された(図 5)。



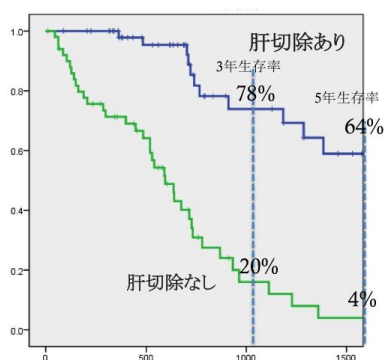
(図 5)

(3) 各種画像診断法と肝予備能検査の再検討を基にする切除不能大腸癌肝転移に対する新たな治療戦略の構築

従前の US、造影 CT、MRI、術中超音波に加えて、全例で EOB-primovist MRI、Sonazoid 造影術中超音波を実施。さらに 6 か月間の経過観察で再発の有無を確認し、最終的な各診断法の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率、正診率を算定した。結果、EOB-primovist MRI ならびに Sonazoid 造影術中超音波の感度・特異度・正診率が共に 96%以上と、それ以外の診断法と比べて極めて高かった。

一方、化学療法後肝切除前の肝予備能評価について、ICG-R15 値が化学療法後肝障害の指標となるか否か、大腸癌肝転移手術施行例の96例について、ICG-R15 値と病理学的な化学療法後肝障害発生との関連を検討した。結果、ICG-R15 値と sinusoidal pathological score ならびに NASH score との相関は見られなかった。

以上の結果から、正診率の高い診断手法と、ICG R15 以外の予備能検査法も含めた評価を multidisciplinary team conference で検討する集学的診療システムを導入したところ、生存率の改善が見られた(図6)



(図6)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計10件)

1 Sawano T, Shimizu T, Yamada T, Nanashima N, Miura T, Morohashi S, Kudo D, Hui FM, Kijima H, Hakamada K, Tsuchida S. Fatty acid synthase-positive hepatocytes and subsequent steatosis in rat livers by irinotecan. *Oncology Reports*, 査読有、2015;33(5):2151-60. doi:10.3892/or.2015.3814

2 Wakiya T, Kudo D, Toyoki Y, Ishido K, Kimura N, Narumi S, Kijima H, Hakamada K. Evaluation of the usefulness of the indocyanine green clearance test for chemotherapy-associated liver injury in patients with colorectal cancer liver metastasis. *Ann Surg Oncol*. 査読有、2014;21(1):167-72. DOI 10.1245/s10434-013-3203-3

3 豊木嘉一, 袴田健一. Conversion therapyによる切除の実際 大腸癌肝転移巣の切除, 臨床腫瘍プラクティス, 査読有、2015; 11:45-48.

4 Koyama M, Murata A, Sakamoto Y, Morohashi H, Takahashi S, Yoshida E, Hakamada K. Long-term clinical and functional results of intersphincteric resection for lower rectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 査読有、2014;21(3):S422-8. doi:10.1245/s10434-014-3573-1.

5 Yakoshi Y, Kudo D, Toyoki Y, Ishido K, Kimura N, Wakiya T, Sakuraba S, Yoshizawa T, Sakamoto Y, Kijima H, Hakamada K. Non-invasive quantification of liver damage by a novel application for statistical analysis of ultrasound signals. *Hirosaki Med J*. 査読有、2014;65:199-208.

6 工藤大輔, 豊木嘉一, 石戸圭之輔, 木村憲央, 脇屋太一, 村田暁彦, 小山基, 坂本義之, 諸橋一, 矢越雄太, 横山拓史, 吉田枝里, 鬼島宏, 袴田健一. 化学療法による肝障害. 肝胆膵, 査読有、2013;67(4):581-588.

7 諸橋一, 横山拓史, 赤坂治枝, 坂本義之, 小山基, 村田暁彦, 袴田健一. 大腸癌同時性肝転移に対する Conversion therapy の検討. 癌と化学療法, 査読有、2013;40(12):1665-1667.

8 横山拓史, 小山基, 室谷隆弘, 諸橋一, 坂本義之, 高橋誠司, 村田暁彦, 照井一史, 袴田健一. 進行直腸癌に対して術前 SOX 療法を施行した10例. 癌と化学療法, 査読有、2013;40(12):1971-1973.

9 高橋誠司, 吉田枝里, 諸橋一, 坂本義之, 小山基, 村田暁彦, 袴田健一. 大腸癌腹膜播種症例の予後規定因子と治療戦略. 癌と化学療法, 査読有、2013;40(12):2044-2046.

10 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% hepatectomy. *Hirosaki Med J*, 査読有、2013;64:S99-S106.

〔学会発表〕(計22件)

1 矢越雄太, 工藤大輔, 豊木嘉一, 石戸圭之輔, 木村憲央, 三浦卓也, 袴田健一. 超音波 ASQ(Acoustic Structure Quantification)法を用いた肝障害の非侵襲的定量. 第12回に本消化器外科学会2014年10月23~26日(神戸)

2 坂本義之, 村田暁彦, 小山基, 長谷部達也, 齋藤傑, 袴田健一. cStage IV 直腸癌に対する術前化学療法の有用性. 第12回に本消化器外科学会大会2014年10月23~26日(神

戸)

3 矢越雄太、工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、三浦卓也、中山義人、袴田健二。Acoustic Structure Quantification (ASQ)法を用いた脂肪肝の非侵襲的定量評価。第69回日本消化器外科学会総会 2014年7月16~18日(郡山)

4 工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、三浦卓也、脇屋太一、袴田健二。切除可能大腸癌肝転移症例に対する全身化学療法は予後に寄与せず、特に有効例ほど肝障害発生が高まる。第69回日本消化器外科学会総会 2014年7月16~18日(郡山)

5 諸橋一、斎藤傑、長谷部達也、坂本義之、小山基、村田暁彦、袴田健二。他臓器転移を伴う大腸癌の治療戦略 1 同時性他臓器転移を伴う大腸癌の治療戦略。第69回日本消化器外科学会総会 2014年7月16~18日(郡山)

6 Hakamada K. Multidisciplinary team approach to initially unresectable colorectal liver metastases. Postgraduate course of IASGO 2014 in Moscow, 2014年6月6日~8日(モスクワ)。

7 三浦卓也、諸橋一、坂本義之、小山基、村田暁彦、脇屋太一、木村憲央、工藤大輔、石戸圭之輔、豊木嘉一、袴田健二。R1切除となった大腸癌肝転移切除症例の検討。第114回日本外科学会定期学術集会 2014年4月3日~5日(京都)

8 矢越雄太、工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、坂本義之、木村憲央、脇屋太一、櫻庭伸吾、吉澤忠司、鬼島宏、袴田健二。脂肪肝の定量的評価におけるASQ(Acoustic Structure Quantification)法の有用性。第114回日本外科学会定期学術集会 2014年4月3日~5日(京都)

9 工藤大輔、諸橋一、豊木嘉一、小山基、石戸圭之輔、坂本義之、木村憲央、三浦卓也、脇屋太一、矢越雄太、一戸大地、袴田健二。大腸癌肝転移に対する全身化学療法後肝切除の短期的・長期的成績に関する検討、切除可能肝転移に化学療法は必要なのか。第114回日本外科学会定期学術集会 2014年4月3日~5日(京都)

10 諸橋一、島田拓、中山義人、坂本義之、小山基、村田暁彦、袴田健二。大腸癌取り扱い規約第8版に基づいた多臓器転移を有するStage IV大腸癌治療。第114回日本外科学会定期学術集会 2014年4月3日~5日(京都)

11 澤野武行、三浦卓也、工藤大輔、清水武文、

七島直紀、山田俊幸、土田成紀、袴田健二。CPT-11によるSDラット肝のsteatosis誘発とそれに先行するKupffer細胞の減少：CPT-11肝障害の動物モデル。第114回日本外科学会定期学術集会 2014年4月3日~5日(京都)

12 Kudo D., Toyoki Y., Ishido K., Kimura N, Miura T, Hakamada K. Is prehepatectomy chemotherapy necessary for initially resectable colorectal liver metastasis? International Hepato-Pancreatic-Biliary Association World Congress 2014年3月22日~27日(ソウル、韓国)。

13 諸橋一、長瀬勇人、神寛之、坂本義之、小山基、村田暁彦、袴田健二。当科におけるStage IV大腸癌の治療戦略。第68回日本大腸肛門病学会学術集会 2013年11月15日~16日(東京)

14 諸橋一、室谷隆裕、高橋誠司、木村憲央、坂本義之、工藤大輔、石戸圭之輔、小山基、豊木嘉一、村田暁彦、袴田健二。当科における大腸癌肝転移に対する集学的治療。第114回日本消化器外科学会大会 2013年10月10日~12日(東京)

15 袴田健二 Conversion hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastasis 中国実験外科腫瘍会議 2013年8月9日~11日(西安、中国)

16 諸橋一、吉田枝里、坂本義之、高橋誠司、小山基、村田暁彦、袴田健二。術前化学療法を中心とした大腸癌同時性肝転移に対する治療戦略。第68回日本消化器外科学会総会 2013年7月17日~19日(宮崎)

17 工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、脇屋太一、矢越雄太、袴田健二。病理組織学的腫瘍壊死効果と背景肝の肝障害に基づいた肝切除タイミング。第68回日本消化器外科学会総会 2013年7月17日~19日(宮崎)

18 工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、脇屋太一、袴田健二。大腸癌肝転移に対する肝切除前全身化学療法が背景肝に与える影響。第49回日本肝臓学会総会 2013年6月6日~7日(東京)

19 脇屋太一、工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、矢越雄太、鳴海俊治、鬼島宏、袴田健二。大腸癌肝転移切除症例における化学療法による肝障害とICG検査との相関について。第113回日本外科学会定期学術集会 2013年4月11日~13日(福岡)

20 矢越雄太、工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之

輔、木村憲央、脇屋太一、松村知憲、袴田健二。肝悪性腫瘍切除症例における EOB-MRI の診断能に関する検討。第 113 回日本外科学会定期学術集会 2013 年 4 月 11 日～13 日(福岡)

21 諸橋一、長瀬勇人、神寛之、坂本義之、小山基、村田暁彦、袴田健二。当教室における大腸癌同時性肝転移術前化学療法施行群の検討。第 113 回日本外科学会定期学術集会 2013 年 4 月 11 日～13 日(福岡)

22 工藤大輔、豊木嘉一、石戸圭之輔、木村憲央、脇屋太一、袴田健二。大腸癌肝転移に対する全身化学療法の病理組織学的効果反映に基づいた肝切除のベストタイミング。第 113 回日本外科学会定期学術集会 2013 年 4 月 11 日～13 日(福岡)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.hirosaki-surgery2.org>

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

石戸 圭之輔 (ISHIDO, Keinosuke)
弘前大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：00436023

(3) 研究分担者

工藤 大輔 (KUDO, Daisuke)

弘前大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：00587024

(4) 研究分担者

豊木 嘉一 (TOYOKI, Yoshikazu)
弘前大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：70301025