

肝細胞癌に対する術前免疫合併療法 (nocardia rubra cell wall skelton/Lipiodol 肝動注) の遠隔成績に与える影響

千葉県がんセンター消化器外科, 千葉大学第2外科*

渡辺 一男 浅野 武秀* 竜 崇正
坂本 薫 吉田 雅博 藤田 昌宏
本田 一郎 渡辺 敏 川上 義弘

肝細胞癌の術後には、残した癌と多中心性の再発が考えられる。術前の N-cws/Lipiodol 動注による免疫療法が、これら再発に与える影響を検討した。

対象は肝細胞癌治癒切除例とし、紹介時未処置例のうち11例を治療群、その他の22例を対照群とした。治療群は N-cws/Lipiodol を術前に肝動注し、切除後は N-cws を皮内投与。対照群は切除後必要に応じて種々の治療法を適宜施行。

治療群生存は8例、7例が無再発、最長5年2か月を経過、再発はすべて1年以内。対照群生存は12例、9例が無再発、最長3年2か月を経過。対照群の再発は13例であり9例が1年以内4例が2年以後再発。検定により治療群は術後2年以後の再発に抑制がみられ、4年以後、生存率が有意の改善を示した。

機序として本治療法による腫瘍免疫賦活が再度の発癌を抑制する可能性が示唆された。

Key words: nocardia rubra cell wall skelton, hepatocellular carcinoma, preoperative immunotherapy, recurrence of residual liver tumor, multicentral tumorigenesis

はじめに

肝細胞癌は、切除術後に高率に残肝に再発し、このことがあたかもこの癌の特徴の1つの観がある^{1)~3)}。また、この臨床的な意味での再発癌は、取り残した癌とは別に、新たに多中心性に発生した癌をもかなりの割合で含むと考えられる⁴⁾。したがって、肝細胞癌の治療成績の向上は、これらの再発をいかに減少させうるかにかかっているといえる。

われわれは肝細胞癌に対し、腫瘍の壊死と免疫学的な賦活を期待して、nocardia rubra cell wall skelton (以下 N-cws) を肝動注する免疫療法を行い、その安全性と局所効果について報告してきた⁵⁾⁶⁾。この治療法の組織学的な特徴は、腫瘍への T-cell を主としたリンパ球の著しい浸潤と類上皮細胞からなる肉芽腫を形成することである。また、免疫学的には、末梢リンパ球サブセットの変動より、抑制状態にある肝細胞癌患者の免疫能を賦活することが確認された⁵⁾。

このような反応は宿主介在性であるため、投与時の局所への作用のみならず、術後も免疫記憶として持続し、再度の発癌に対し何らかの影響を与えることが期待される。

そこで、この N-cws/Lipiodol 術前合併療法が肝細胞癌の遠隔成績、特に再発率にどのような影響を与えるかを検討した。

対 象

1984年4月より1990年10月末日までに当センター消化器外科において治療した肝細胞癌は121例であり、手術例は75例、非手術例は46例であった。手術例75例の内訳は治癒切除34例、非治癒切除32例、非切除9例であった。治癒切除34例のうち、術前治療として N-cws/Lipiodol 動注療法が施行された症例は11例であり、これを治療群とした。また術前に本治療を施行しなかった治癒切除22例を対照群として、再発の形式および再発率、生存率など遠隔成績を比較検討した。なお治癒切除であるが、術直後に N-cws/Lipiodol 動注を施行した1例は、術前、つまり腫瘍抗原存在下での動注でない点において治療群ではなく、また再発確認後の動

<1991年3月13日受理> 別刷請求先: 渡辺 一男
〒280 千葉市仁戸名町666-2 千葉県がんセンター
消化器外科

注でない点において対照群でもないことより検討の対象より除いた。

なお、本パイロット・スタディ施行期間中は、原則として、紹介時に前治療がなされていない症例には N-cws/Lipiodol 動注を施行し、紹介時、既に transcatheter arterial embolization (以下 TAE) や動注化療などの治療経過のある症例に対しては、術前に N-cws/Lipiodol 動注を付加することなく手術を施行したが、本検討の対照群には、本スタディ実施期間の前後の症例で術前治療なしに切除したものの10例が含まれてい

る。したがって、対照群の術前の治療に不均一性がみられるが、術前に免疫学的な治療歴がない点で同一の群とし検討した。

また、ここでいう治癒切除とは、肝切離面における癌浸潤の有無(TW)については、腫瘍と断端との距離ではなく、術者が残らず取れたと判断するか否かとしており、この点においては規約上の治癒切除と異なる。

これら対象症例の背景因子について、比較的予後を左右するとされる、腫瘍数、腫瘍径、血管侵襲の有無を含む肉眼所見を比較すると⁷⁾、規約上の TW で対照群が、また腫瘍径、血管侵襲で治療群の方がやや不利な傾向にあるが有意差はみられない (Table 1)。

Table 1 Comparison of prognostic factors between treatment group and control group

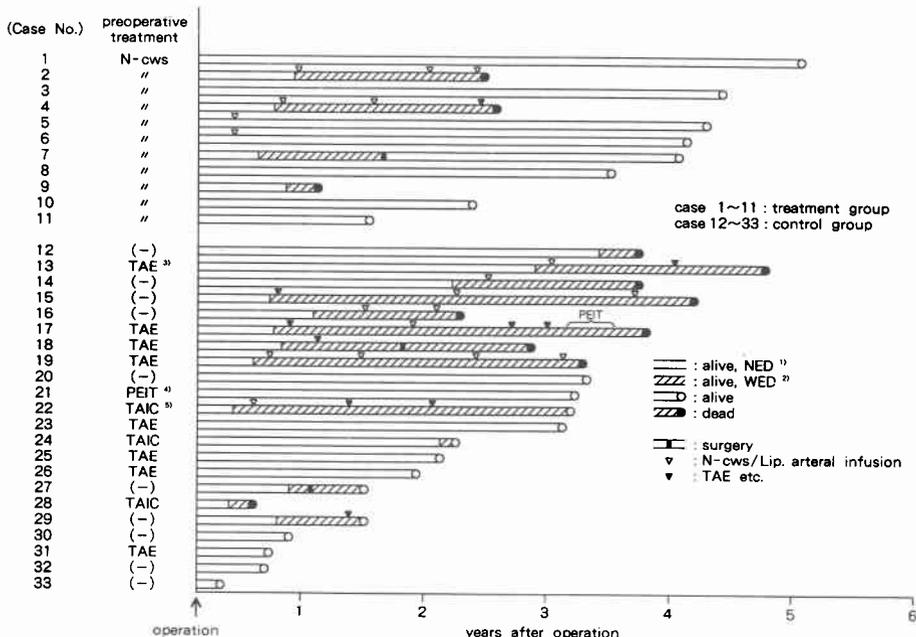
	Age	No. of Tumor (M/S)	Tumor Diameter (max.)	TW (+/-)	Vascular Invasion (+/-)
Treatment group* (11 cases)	59.4 ± 8.0	1/10	38.3 ± 16.8 (20mm ≥, 2 cases) (20mm <, 9 cases)	5/6	2/9
Control group** (22 cases)	55.4 ± 6.5	3/19	31.1 ± 16.0 (20mm ≥, 7 cases) (20mm <, 15 cases)	16/6	0/22

* patient with preoperative N-cws/Lipiodol arterial infusion therapy
** patient without preoperative N-cws/Lipiodol arterial infusion therapy

方法

N-cws/Lipiodol 動注の方法についてはすでに報告したが⁵⁾、略記すると、N-cws(藤沢薬品 KK)0.2~1.0 mg を、60%Urografin (日本シェーリング) 0.4ml に溶解し、Lipiodol (児玉 KK) 5~10ml に加えて、2本のシリンジ間をピストン移動させて混和し、血管造影時に経肝動脈的に投与。その後2~4週後に肝切除施行し、以後、4週ごとに N-cws 0.4mg を皮内に投与するものである。

Fig. 1 Clinical courses of treatment group and control group



- 1) no evidence of disease 2) with evidence of disease
- 3) transcatheter arterial embolization
- 4) percutaneous ethanol injection therapy
- 5) transcatheter arterial infusion chemotherapy

再発の確認は、退院時に computed tomography(以下CT)、超音波検査施行し、その後外来にて2か月ごとにAFP (α -fetoprotein) およびPIVKA-II (protein induced by vitamin K absence or antagonist-II) など腫瘍マーカーを測定し、3か月ごとに超音波検査とdynamic CTを交互に繰り返し施行することによって総合的に判定した。

再発確認以前には、治療群は免疫療法のみとし、対照群では特に治療を行わなかった。

再発確認後においては、両群ともTAE, エタノール局所注入, 手術など適宜治療を追加し延命をはかった。

無再発率と生存率はKaplan-Meier法にて求め、2群間の有意差検定は両群の生存率の差の標準誤差を用いてZ検定にて評価した。なお、術後261日目に再発し、892日目に肺感染症にて死亡した治療群の1例は、生存率の検討対象より除外した。

成 績

1) 臨床経過の概略

対象症例の臨床経過をFig. 1に示す。N-cws/Lipiodol治療群11例のうち、生存は8例、そのうち7例が無再発で、最長5年2か月を経過している。再発4例のうち1例(No. 7)は肺への転移再発であり、肝切除の1年6か月後に肺切除し、その後再発なく健在である。対照群22例のうち、生存は12例、そのうち9例が無再発で、最長3年2か月を経過している。

2) 再発時期の検討

対象とした治癒切除33例のうち17例に再発をみたが、再発の時期には一定の傾向がみられた。すなわち、再発は切除後1年以内に、治療群で4例、対照群で9例の合計13例と集中し、その後の1年間には見られず、2年以後に治療群のみ4例の散発的な再発を認めた。つまり、術後1年以内の早期に再発する群と、術後2年以後の比較の後期に再発をみる群とに別れた(Fig. 2)。なお、後期に再発を来した症例はすべて対照群であり、治療群においてはこの時期の再発例はない。

3) 原発巣と肝内再発部位の検討

肺に再発した1例を除き、肝内に再発した16例について、原発巣と再発位置との関係を見ると、多発したもの4例、原発区域またはそれに隣接した区域に再発したもの9例、原発巣より離れた区域に再発したもの3例であった(Table 2)。なお離れた区域に再発を来した3例はすべて対照群であり、そのうちの2例は術後2年以上たってから再発したものである。

4) 遠隔成績の比較

Fig. 2 Recurrence-free survival rates after curative hepatectomy for HCC (Kaplan-Meier method)

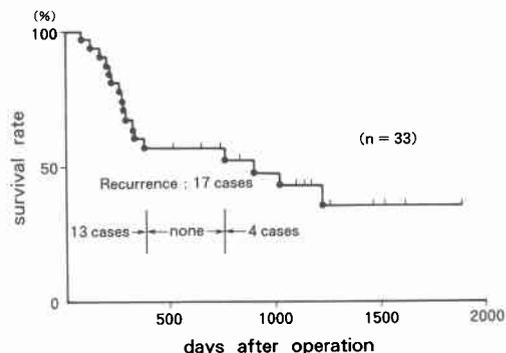


Table 2 Site-distribution of primary tumors and intrahepatic recurrent tumors in patients with recurrent diseases

○: treatment group (3 cases)
△: control group (13 cases)

Recur.	lat. seg.	med. seg.	ant. seg.	post. seg.	multi. recur.
Primary					
lat. seg.	△				△
med. seg.		△			○△△
ant. seg.			△	○△	
post. seg.			○△	△	

* recurrence within one year
** recurrence after two years

対象33症例の無再発生存曲線を、治療群11例と対照群22例に分けてFig. 3に表示する。

これら2群の間で、各観察期間における無再発生存率を比較検定するに、術後ほぼ2年までの再発には両群間に全く差を認めないが、1,089日以後には、検定値t=1.79となり、治療群の再発に抑制傾向が見られた。

Fig. 4は、他病死1例を除いた2群の生存率曲線を示す。2群間の生存率の比較では、1,521日以降0.1%の危険率で有意差を持って治療群に延命効果を認められた。

考 察

近年の画像診断の進歩により手術の適応となる症例は増加し⁷⁾、また、病態の把握や術後管理の発達により、安全に手術が出来るようになってきた⁸⁾。しかしながら、遠隔成績についてみると、術後比較的早期の生存率が向上している反面長期的な予後にはそれほどの

Fig. 3 Comparison of recurrence-free survival rates between treatment group and control group (Kaplan-Meier method)

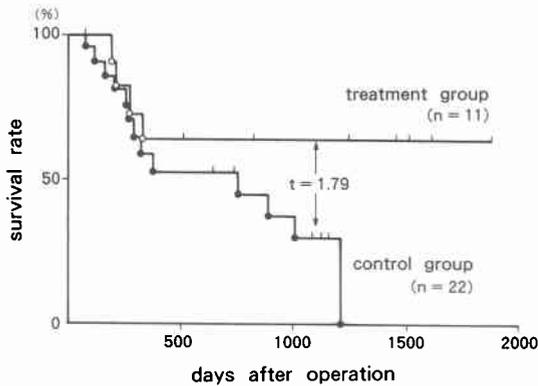
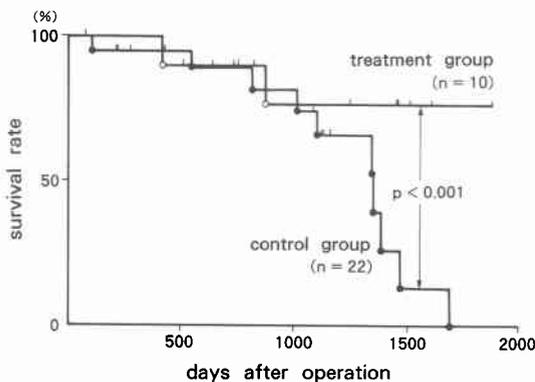


Fig. 4 Comparative survival rates between treatment group and control group (Kaplan-Meier method)



改善をみない¹⁾。この最大の原因は、この癌の特徴ともいえる残肝の再発にある。切除後の再発率としては、長尾ら¹⁾は23/54 (43%)、黒田ら²⁾は23/55 (41.8%)、また山本ら³⁾は51/95 (54%)と約半数に再発が見られたと報告しており、われわれの症例においても17/33 (52%)に再発を見ている。

しかし、肝細胞癌は肝硬変などその発生母地との関連性が強い癌であり⁷⁾、多中心性発生が強く指摘されていることは周知のとうりである⁴⁾。したがって残肝再発は、取り残した癌とは別に、術後、新たに多中心性に発生した癌 (second primary) をも含んでいるはずである。しかし現時点では、これらを明確に区別する手段がなく、このことが治療方法を評価する際の混乱を招いている。

一般に、肝細胞癌は腫瘍栓が門脈内を逆行性に遡上

し転移進展すると考えられており、このことは腫瘍栓の有無が再発に強く関与していることによって裏付けられている⁹⁾。したがって、取り残し再発は原発巣に近く、また、取り残しであるゆえに術後早期に発生すると考えやすい。これに対し、多中心性発癌は、どの時点においても、また、残肝のどこにでも発生しうることから、鑑別が困難である。

それゆえ、一般には原発巣から離れて再発し、かつ単発であれば可能性が高いとされている。しかし、これは、いわば必要十分条件に近いものであり、この条件と同じ確率で残肝のどこにでも発生しているはずであり、実際にはかなり高率であると考えざるをえない。

このような観点より、われわれの症例の再発時期について検討すると、17例中13例が術後1年以内に再発し、その後の1年間には再発例が無く、2年以後に残りの4例が再発しており、結果として前期再発と後期再発とに明確に別れた。

また肝内に再発した16例について、再発位置と原発巣との関係を検討すると、原発巣の近位か、または全体に多発再発した症例が13例であり、原発巣から離れて単発で再発したものが3例であった。なお肝内に再発した前期再発は12例であったがそのうち11例が近位か多発再発例であったのに対して、後期再発の4例の内2例は遠位再発例であった。したがって早期再発には近位か多発再発が多く、後期再発には遠位再発が多いという傾向が見られた。

以上の事実と先に述べた肝細胞癌の病態とを考え合わせると、われわれの症例においては、早期再発は取り残した癌の再発であり、後期の再発は新たに多中心性に発生した癌である可能性が高いと考えられる。

長尾ら¹⁾は再発形式を検討し、再発の半数以上が原発巣と近接した位置に起こることより、残存肝機能の許す限り広範な肝切除を行うことが成績の向上につながると報告している。同様な理由から高崎ら⁹⁾は、グリソン鞘を一括処理する術式を提唱している。しかし、これらはいずれも、近位の癌つまり取り残し再発の予防処置であり、残りの遠位の再発への対策については述べられていない。また、従来より再発防止の工夫として術前のTAEが期待されているが¹⁰⁾、最近の報告ではその効果に疑問が持たれている³⁾¹¹⁾。

一方、われわれが行ってきた、N-cws/Lipiodol 動注療法は、特徴として、局所に著しいリンパ球浸潤をもたらすこと、および動注前後のリンパ球サブセットのバランスを抗腫瘍性に変動させることより、免疫賦活

に作用していると考えられる⁵⁾。これら一連の反応は宿主介在性であることから、術後の再発に何らかの影響が期待される。

われわれが対象とした治癒切除33例の紹介時における治療歴がさまざまであったため、厳密には対照群はTAEなどの術前治療歴のある12例と無治療の10例とに分かれる。この点に関しては、この2群の再発が前者7/12例、後者6/10例と差がないこと、諸家の報告³⁾¹¹⁾も同様であること、および、上述したごとく本研究が宿主介在性の効果の検討を目的とすることなどから、術前N-cws/Lipiodol動注の有無のみによって2群に分けて検討した。

まず、術後再発の時期についてみると、治療群では4/11例、対照群では13/22例が早期に再発しており、その再発率には有意差がみられない。早期の再発例は取り残した癌の発育と考えやすいことより、術前のN-cws/Lipiodol動注療法はこのような再発には治療効果を認めないことになる。

一方、後期の再発について見ると、治療群には再発例が無いのに対して、対照群には4例の再発を見ている。また全症例のうち、取り残した癌の多くが再発すると考えられる切除後1年を経過した症例のみを対象とすると、治療群7例の全例が無再発なのに対し、対照群においては9例のうち4例と高率に再発している。このことは、治療群においては後期の再発つまり多中心性の新たな発癌が有意に抑制されたことになる。

このような示唆は、両群間の無再発率を比較した際、術後早期においては全く差を認めないが、切除後1,089日以後、 $t=1.79$ となり、治療群の再発に抑制傾向が見られる事実によっても裏付けられる。当然ながら、この結果は生存率に反映されて、1,521日以降0.1%の危険率を持って有意に生存率を向上させた。

われわれが術前投与に用いたN-cwsは、東ら¹²⁾によりBCG-cwsに代わるbiological response modifier (BRM)として開発、基礎実験がなされた免疫調節剤である。主に実験腫瘍系において確認された事実によれば、腫瘍内に注入されたN-cwsは、局所的には活性化大食細胞を誘導して腫瘍の壊死をもたらし¹³⁾¹⁴⁾、周囲のリンパ球組織においては、多クローン性のTリンパ球の増殖を促すことによって特異的感作を受けやすい状態を準備し¹⁵⁾、その結果として抗腫瘍性に作用する免疫が成立する¹⁶⁾。これらの基礎データを基に、数多くの臨床応用がなされ、その有用性も報告されている

が¹⁷⁾、いまだ確認された癌の消失したとの報告は見ない。

癌の発生は、宿主の免疫学的な抵抗機構の敗北とも考えられ、したがって、取り残した癌を免疫賦活によって治癒させることは至難の技といわざるをえない。

しかし、Lipiodolに混じて動注されたN-cwsは、長期にわたって腫瘍内に留まり、周囲のリンパ系を刺激し続けるとともに、慢性的な炎症と腫瘍の壊死とによって修飾された腫瘍抗原を大量に放出すると考えられる⁵⁾¹⁶⁾。

上述した実験的事実から、このような病態下では、特異的な免疫が成立する可能性が高く、また、この免疫能は腫瘍を摘出した後も、記憶として持続することが期待される¹⁸⁾。

このようにして宿主が獲得した抗腫瘍免疫は弱いものと予想されるが、免疫学的監視機構として作用し再度の発癌を抑制することは可能と考えられる。

肝細胞癌の術後の再発に関して、清松ら¹⁹⁾は5年後に、また中本ら²⁰⁾は、6年9か月後に再発した症例を報告していることから、術後の管理は長期にわたって必要である。

この間、未再発の患者に行うべき有効な補助療法がなく、ただ検査を行い再発の発見にのみ努めているのが現状である。

再発の一形式として多中心性の続発癌(second primary)が否定できない以上、N-cws/Lipiodol術前投与による免疫合併療法は再発を防止する工夫として検討に値すると考える。

文 献

- 1) 長尾 桓, 河野信博, 長島郁雄ほか: 肝細胞癌切除療法の遠隔成績と問題点. 日消外会誌 21: 1175-1178, 1988
- 2) 山本 宏, 山本義一, 竜 崇正ほか: 肝細胞癌切除例の残肝再発に関する検討. 日消外会誌 22: 72-76, 1989
- 3) 黒田雄志, 岡崎正敏, 小野広幸ほか: 肝細胞癌の術後残肝再発に関する臨床病理学的検討. 日消外会誌 22: 2256-2264, 1989
- 4) 奥平雅彦, 佐々木憲一: 原発性肝癌は多中心性発生か. 肝・胆・膵 5: 933-937, 1982
- 5) 渡辺一男, 浅野武秀, 竜 崇正ほか: 肝細胞癌に対するN-cws/Lipiodol動注免疫療法の安全性と効果について. 日消外会誌 23: 1062-1070, 1990
- 6) 河崎純忠, 吉田 豊, 渡辺一男: Nocardia rubra Cell Wall Skeleton (N-cws) の動脈内注入がもたらす臨床的影響—敗血症様反応の発生について

- 一. Biotherapy 4:1658-1663, 1990
- 7) 日本肝癌研究会編: 原発性肝癌に関する追跡調査(第8報). 肝臓 29:1619-1626, 1988
- 8) 高安 隆, 小澤和恵, 牧 淳彦ほか: 肝細胞癌切除症例の検討. 日癌治療会誌 25:1162-1171, 1990
- 9) 高崎 健: 肝硬変併存肝癌の切除術式の選択基準—安全性, 根治性を考慮に入れた切除範囲の調節とそれに必要な手術手技の工夫—. 日消外会誌 19:1881-1889, 1986
- 10) 長谷川博: 肝癌に対する集学的治療—Embolizationを併用した肝切除の検討—. 内科 52:555-559, 1983
- 11) 井沢邦英, 瀬川 徹, 東 尚ほか: 肝細胞癌の再発形式と対策. 日消外会誌 21:2730-2737, 1988
- 12) Azuma I, Taniyama T, Yamawaki M et al: Adjuvant and antitumor activities of Nocardia cell-wall skeletons. Gann 67:733-736, 1976
- 13) 岸本 進, 川瀬一郎: BRMの臨床応用—N-cws—. 最新医 42:274-282, 1987
- 14) 小倉 剛: Nocardia rubra cell wall skeleton 抗腫瘍エフェクター機構への影響. Biotherapy 2:479-485, 1988
- 15) Kawase I, Uemiya M, Yoshimoto T et al: Effect of Nocardia rubra cell wall skeleton on T-cell-mediated cytotoxicity in mice bearing syngeneic sarcoma. Cancer Res 41:660-666, 1981
- 16) Oguraa T, Hara H, Yokota S et al: Effector mechanism in concomitant immunity potentiated by intratumoral injection of Nocardia rubra cell wall skeleton. Cancer Res 45:6371-6375, 1985
- 17) 佐藤 博, 落合武徳, 佐藤裕俊ほか: Randomized Controlled StudyによるN-cwsの胃癌術後免疫療法の臨床的評価. 日外会誌 83:635-647, 1982
- 18) 沼田光弘, 川原浩通, 山本明彦ほか: 化学療法剤での腫瘍治療後の免疫記憶. Biotherapy 1:232-238, 1987
- 19) 清松和光, 中島 収, 杉原茂孝ほか: 肝細胞癌の病理学的研究—径3cm以下の切除小肝癌の形態と再発に関する検討. 肝臓 30:332-337, 1989
- 20) 中本 実, 成瀬 勝, 柳沢 暁ほか: 肝癌切除後再発形式の検討. 日消外会誌 23:2557-2563, 1990

Prognostic Influence of Preoperative Nocardia Rubra Cell Wall Skeleton/Lipiodol Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma

Kazuo Watanabe, Takehide Asano*, Munemasa Ryu, Kaoru Sakamoto, Masahiro Yoshida, Yoshihiro Hujita, Ichiro Honda, Satoshi Watanabe and Yoshihiro Kawakami
Division of Surgery, Chiba Cancer Center Hospital
*Second Department of Surgery, Chiba University, School of Medicine

The emergence of a new tumor after surgery for hepatocellular carcinoma may be due to either recurrence of the residual tumor or multicentral tumorigenesis in a cancerprone liver. From this standpoint the effects of preoperative N-cws/Lipiodol immunotherapy via the hepatic artery were evaluated. Patients who underwent curative surgery for hepatocellular carcinoma were entered into this study. They consisted of 11 patients who received no treatment at the initial presentation as the treatment group and 22 patients with various treatments other than immunotherapy as a control group. In the treatment group N-cws/Lipiodol was given via the hepatic artery preoperatively and N-cws was delivered intracutaneously after surgery. In the control group various treatments were given with clinical consideration in each instance. In the treatment group seven of the eight survivals were free of the tumor and the longest survival period was five years and two months after the treatment. emergence of all tumors in this group occurred within one year. In the control group nine of the 12 survivals were free of the tumor and the longest survival period was three years and two months. In four of the 13 patients who developed a tumor after surgery the tumor appeared two years or longer after surgery. In the treatment group no tumor developed two years or later postoperatively and therefore the four-years- or -longer survival rate improved significantly. The suggested mechanism is that activation of tumor immunity via this immunotherapy suppresses new tumorigenesis in the cancer-prone liver.

Reprint requests: Kazuo Watanabe Division Digestive Surgery, Chiba Cancer Center Hospital
666-2 Nitona, Chiba, 280 JAPAN