

Serum transferrin as a predictor of prognosis for hepatic arterial infusion chemotherapy in advanced hepatocellular carcinoma.

(血清トランスフェリンは進行肝細胞癌の動注
化学療法における予後予測因子となりうる)

氏名 在津 潤一

所属 山口大学大学院医学系研究科

応用分子生命科学系専攻 消化器病態内科学分野

平成 25 年 6 月

目次

1. 要旨	1
2. 研究の背景	2
3. 目的	2
4. 方法	3-5
(1)対象	3
(2)カテーテル留置	4
(3)レジメン	4
(4)評価方法	4
(5)解析	4
5. 結果	5-10
(1)治療効果	5
(2)生存期間	5
(3)生存に関与する因子	7
(4)血清トランスフェリンと治療効果の関係	9
6. 考察	10-12
7. 結語	12
8. 謝辞	12
9. 参考文献	13-16

1. 要旨

目的:我々は近年、鉄キレート剤デフェロキサミン (DFO) が進行肝細胞癌患者に有効であることを報告しており、鉄の制御は肝細胞癌の治療において重要な役割を果たしているといえる。トランスフェリンは生体内で鉄の恒常性を調整し、鉄キレート作用を有している蛋白であり、このことから DFO に類似した抗腫瘍作用を有している可能性があるとして我々は考えた。この研究は、血清トランスフェリン濃度が動注化学療法の適応となった進行肝細胞癌の予後を予測しうるかを検討したものである。

方法:我々は動注化学療法の適応となった 44 症例の肝細胞癌患者を後ろ向きに検討し、予後予測因子となりうると思われるさまざまな因子に関して、トランスフェリンを含めて検討した。

結果:全体の 1 年・2 年・3 年生存率はそれぞれ 36.4%、18.2%、8.5%であり、中央生存期間 (MST) は 7.0 カ月であった。血清トランスフェリンが 190mg/dl 以上の症例はそれ未満の症例と比して良好な MST (12.0 カ月 vs 4.9 カ月) であった。多変量解析では血清トランスフェリン 190mg/dl 以上 (ハザード比 [HR], 0.282; 95% 信頼区間 [CI], 0.132-0.603; P=0.001)・Child-Pugh B (HR 1.956; 95% CI, 1.034-3.700; P=0.039) が独立した予後因子として抽出された。また、血清トランスフェリン高値の症例は、動注化学療法の治療効果も有意に良好であった。

結語:血清トランスフェリンは、進行肝細胞癌の症例に動注化学療法を施行する際、有用な予後因子となりうることが示唆された。

2. 研究の背景

鉄は DNA の合成を含めた細胞の代謝¹に必須である。また鉄は、癌細胞の増殖において DNA 合成を開始する前に必要である²。正常な細胞と比較し、癌は一般に正常な組織よりも早い速度で増殖するため、正常細胞よりも多くの鉄を必要とする^{3, 4}。鉄キレート剤は、*in vitro* および *in vivo* の両者で肝癌細胞の増殖を抑える報告がなされている^{5, 6}。我々は過去に、ラットにおいて鉄キレート剤であるデフェロキサミンが肝障害と前癌病変の発育の両方を抑制することを報告した⁷⁻⁹。さらに、我々は進行肝細胞癌患者に対するデフェロキサミン療法の予備研究を行い、鉄キレート剤の有用性を報告している¹⁰。デフェロキサミンは細胞周期を阻止し、細胞のアポトーシスに影響を及ぼす合成鉄キレート剤である¹¹ため、鉄の制御が肝細胞癌の治療に重要な役割を果たした可能性がある。

トランスフェリンは血清の鉄輸送に関与し、通常 20~35%が飽和している。トランスフェリンは2個の鉄分子と結合し、血液内を Fe₂-transferrin の形で循環する。トランスフェリンは鉄のホメオスタシスを調整する体内に備わった鉄キレーターであるため¹²、デフェロキサミンと類似した機序で抗癌作用を有する可能性がある。血清トランスフェリン濃度は、肝癌細胞の発育に関与している可能性がある。過去にはフェリチン高値、トランスフェリン低値が将来の発癌リスクになるとの報告¹³や、神経芽細胞種の患者では血清フェリチン濃度高値が予後不良に関連している¹⁴との報告がある。しかしながら、血清トランスフェリン濃度を肝細胞癌と関連付けた先行研究はなされていない。

3. 目的

これらの背景を踏まえ、我々は血清トランスフェリンが肝細胞癌患者において予後予測因子になりうる可能性を考えた。進行肝細胞癌患者、特に門脈腫瘍塞栓を有する患者の予後は依然として不良である¹⁵。マルチキナーゼ阻害薬であるソラフェニブは、脈管侵襲を有する、または肝外転移を有する advanced stage (Barcelona Clinic Liver Cancer[BCLC] staging system¹⁶) の肝細胞癌患者に推奨されている¹⁷。対照的に、日本の肝癌診療ガイドラインや、日本肝臓学会の肝癌治療アルゴリズムでは、動注化学療法が BCLC staging system における intermediate - advanced stage の肝細胞癌患者に推奨されている¹⁸。

我々は過去に進行肝細胞癌患者における動注化学療法の効果を後ろ向きに検討し、多変量解析で Child-Pugh score、治療効果、追加治療の有無が生存期間に有意に関連したことを示した^{19, 20}。しかしこれらの因子は、動注化学療法を開始する前の予後予測因子としては有用とは言いかねる。今回の目的は、血清トランスフェリンが動注化学療法を開始する前の予後予測因子となりうるかを評価するものである。

4. 方法

(1) 対象

1997年から、我々は低用量のシスプラチン(CDDP)と5-フルオロウラシル(5-FU)をベースとした(low dose FP)数種類の動注化学療法を進行肝細胞癌患者に行い、治療効果を検討してきた¹⁹⁻²⁵。1997年7月から2012年6月までに、我々は130例の切除不能な肝細胞癌を有する当院入院患者に動注化学療法を導入しているが、今回はこのうち動注化学療法開始前に血清トランスフェリンを測定しえた44症例で後ろ向き研究を行った。いずれも肝両葉病変、肝外転移、門脈浸潤、切除不能なサイズの病変といった、肝切除術の適応とならない病変を有していた。これらの44例のうち、1例はlow dose FPを²¹、38例はlow dose FP+isovorinを²²⁻²³、5例にはlow dose FP+isovorinにPEG IFN- α -2b皮下注を併用した²⁵動注化学療法を行っていた。我々はこの3種類のレジメン間で治療効果、生存期間ともに有意差がなかったことを報告している¹⁹。肝細胞癌の診断は画像診断、およびAFP・DCPの上昇をもって肝細胞癌と診断した。この研究は山口大学倫理審査委員会の承認のもとに行われた。Table 1に動注化学療法を施行した44例の臨床的背景を示した。腫瘍の臨床病期は日本肝癌研究会の診断基準に準拠した²⁶⁻²⁷。

Table 1 Clinical profiles of 44 patients with hepatocellular carcinoma

Clinical characteristics	Values†
Age	67.5 ± 8.6
Sex (male/female)	34/10
HCVAb (+)/HBsAg (+)/others	27/11/6
Child-Pugh (A/B)	19/25
Maximum tumor size (<50/≥50 mm)	15/29
PVTT grade, Vp0/1/2/3/4‡	15/3/5/12/9
Tumor stage II/III/IVA/IVB‡	1/12/15/16
AFP (<1000/≥1000 ng/mL)	24/20
DCP (<1000/≥1000 mAU/mL)	18/26
AFP-L3 (<15%/≥15%)	19/25

†Data are presented as the mean with standard deviation or as the number of patients.

‡According to the criteria of the Liver Cancer Study Group of Japan.

AFP, α -fetoprotein; AFP-L3, *Leus culinaris* agglutinin-reactive fraction of AFP; DCP, des- γ -carboxy prothrombin; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HCVAb, hepatitis C virus antibody; PVTT, portal vein tumor thrombosis.

腫瘍の臨床病期は下記の3因子(T因子)により決定される、すなわち①単発病変②径2 cm以下③脈管侵襲なし、のうち3つを満たせばStage I (T1)、2つを満たせばStage II (T2)、1つのみ満たせばStage III (T3)、Stage IVaは上記を1つも満たさず(T4)、かつ遠隔転移がない、またはT因子に関わらずリンパ節転移を有する場合で、Stage IVbはT因子に関わらず遠隔転移を有するものである。44例の臨床病期は、Stage II/III/IVA/IVbがそれぞれ

れ 1/12/15/16 例であった。Stage II・III の 13 例はいずれも肝動脈化学塞栓療法の不応例である。Stage IVb の 16 例は、脈管侵襲を伴った巨大な肝内病変があり、これが予後に最も影響すると考えられたため、動注化学療法の適応とした。

(2) カテーテル留置

ヘパリンでコーティングされた 5Fr のカテーテル (Anthon P-U カテーテル 東レメディカルジャパン社) を大腿動脈、鎖骨下動脈・上腕動脈のいずれかから経動脈的に先端を固有肝動脈または総肝動脈まで挿入し、皮下に埋め込んだポートと接続して留置を行った。胃十二指腸動脈や右胃動脈は抗癌剤による消化管粘膜傷害を避けるために金属コイルで塞栓した。これらの手技は局所麻酔下に行った。リザーバー内腔は 5ml (5000 単位) のヘパリンでみたし、その後 2 週間ごとに動脈血栓症を予防するためにヘパリン注入を繰り返した。

(3) レジメン

抗癌剤の投与は動注ポートを介して、経動脈的に投与した。量及び順序は、連続する 5 日間 (day1-5) 毎日 CDDP (10mg/body 1 時間で投与)、isovorin (6.25mg/body 10 分で投与)、5-FU (250mg/body 5 時間で投与) の順で投与を行った (44 例のうち 1 例は、isovorin の投与を行わなかった)。その後 2 日間 (day6-7) を休薬期間とした。これを 2 週間繰り返したのち、1 週間の休薬期間を設け、さらに上述の抗癌剤投与を 2 週間行い 1 コースとした。44 例のうち 5 例は、これに加え、動注化学療法を開始する週の初めに毎回 (すなわち休薬する週以外は毎週 1 回) PEG IFN α -2b (50 μ g) の皮下注を併用した。すなわち、動注化学療法 20 回と PEG IFN α -2b 皮下注 4 回をもって 1 コースとした。44 例すべての症例で、抗癌剤投与直前に、制吐薬としてオンダンセトロン静注を毎回行った。

(4) 評価方法

ダイナミック CT を治療前、治療後でそれぞれ行い治療効果を評価した。治療効果は 1 コースごとに繰り返し施行した。治療効果は Eastern Cooperative Oncology Group criteria^{2,8} に準拠し評価を行った。すなわち治療効果は以下のように表記した。complete response (CR) : 計測可能な病変がすべて消失し、腫瘍による症状や生化学所見の変化が 4 週間以上なく、新規病変の出現もないもの、partial response (PR) : 計測可能な病変の最大径とそれに直交する径の積を病変ごとに求め、それらを合計したとき治療前後で 50% 以上の減少が認められ、かつ新規病変の出現を認めないもの、stable disease (SD) : 計測可能な病変の最大径と、それに直交する径の積の総和をすべての病変で求め、それらの総和が治療前後で -50~+25% の変化を認め、かつ新規病変の出現を認めないもの、progressive disease (PD) : 計測可能な病変の最大径とそれに直交する径の積の総和をすべての病変で求め、それらの総和が治療前後で +25% 以上の増大を認める、または新規病変の出現しているもの。

(5) 解析

データは平均±標準偏差で表した。予後予測因子に関する検討は、Kaplan-Meier 法^{2,9}

を用いて単変量解析を行い、log rank 検定を行った。多変量解析は Cox 比例ハザードモデル (stepwise 法) を用いた。予後予測因子として以下の 16 因子、性別 (男/女)・年齢 (65 歳以上/未満)・HCV 感染 (有/無)・肝予備能 (Child-PughA/B)・腫瘍臨床病期 (stage II・III/IVa・IVb)・門脈浸潤 (Vp1 以下/Vp2 以上)・肝外転移 (有/無)・最大腫瘍径 (5 cm 以上/未満)・AFP (1000ng/ml 以上/未満)・AFP-L3 分画 (15%以上/未満)・DCP (1000mAU/ml 以上/未満)・過去の治療歴 (有/無)・糖尿病合併 (有/無)・空腹時インスリン (10.4 μ U/ml 以上/未満)・血清アルブミン (3g/dl 以上/未満)・血清トランスフェリン (190mg/dl 以上/未満)、を検討した。血清トランスフェリンのカットオフ値 (190mg/dl) は健常者の基準値下限である。生存期間は、動注化学療法開始日から死亡または追跡終了日 (2012 年 9 月 30 日) までの日数として算出した。生存期間は 53-4568 日 (462 \pm 717 日) であった。統計学的有意差は $p<0.05$ をもって有意とした。すべての統計解析は JMP ver.9.0 を用いて行った。

5. 結果

(1) 治療効果

44 例のうち、2 例 (4.55%) が CR、13 例 (29.55%) が PR、17 例 (38.6%) が SD、12 例 (27.3%) が PD で、奏効率 (CR または PR の割合) は 34.1% であった。Low-dose FP (1 例) は CR、Low-dose FP+isovorin (38 例) は 1 例 (2.6%) CR、12 例 (31.6%) PR、15 例 (39.5%) SD、10 例 (26.3%) PD、Low-dose FP+isovorin+PEG IFN (5 例) は 1 例 (20.0%) PR、2 例 (40.0%) SD、2 例 (40.0%) PD であった。

(2) 生存期間

全体の 1/2/3 年生存率はそれぞれ 36.4%、18.2%、8.5% で、中央生存期間は 7.0 カ月であった (Figure 1)。

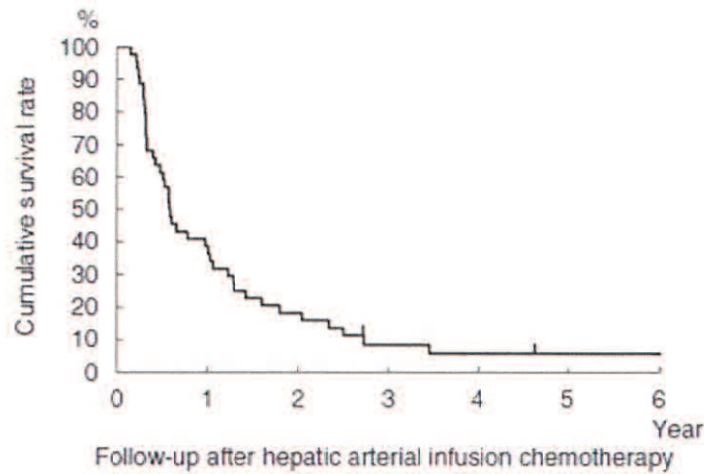


Figure 1 Cumulative survival of 44 patients with advanced hepatocellular carcinoma receiving hepatic arterial infusion chemotherapy. The 1-, 2- and 3-year cumulative survival rates were 36.4%, 18.2% and 8.5%, respectively. The median survival time was 7.0 months.

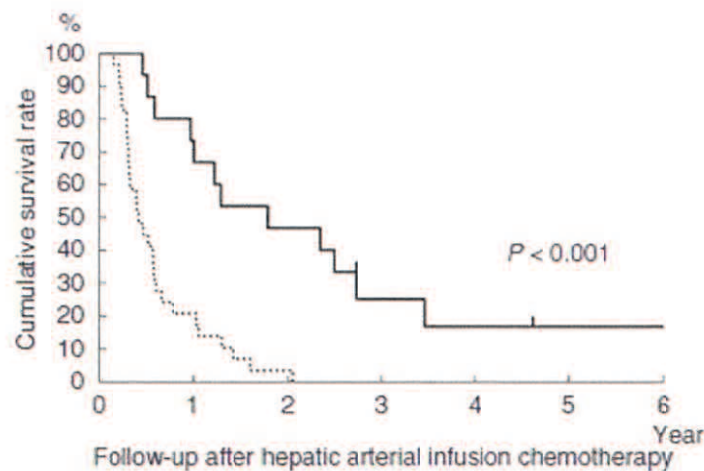


Figure 2 Cumulative survival rates of patients by therapeutic effects of hepatic arterial infusion chemotherapy. The 1-, 2- and 3-year cumulative survival rates of patients who achieved complete response (CR) or partial response (PR) were 66.7%, 46.7% and 25.0%, respectively (median survival time, 21.5 months), whereas the 1-, 2- and 3-year cumulative survival rates of patients who achieved stable disease (SD) or progressive disease (PD) were 20.7%, 3.4% and 0%, respectively (median survival time, 5.0 months) ($P < 0.001$). —, CR + PR; ·····, SD + PD.

奏功例の1/2/3年生存率はそれぞれ66.7%、46.7%、25.0%（中央生存期間21.5カ月）であったのに対し、非奏功例の1/2/3年生存率はそれぞれ20.7%、3.4%、0.0%（中央生存期間5.0カ月）であった（ $p < 0.001$ ）（Figure 2）。44例のうち2例は生存中で、42例は

追跡中に死亡した。死因は癌死 21 例、肝不全死 20 例、肝膿瘍 1 例である。

(3) 生存に関与する因子

Table 2 に生存期間に関与する因子を示した。

Table 2 Predictors for survival

Factors	Category	Patients numbers	Univariate analysis			Multivariate analysis		
			Hazard ratio	95% CI	P value	Hazard ratio	95% CI	P value
Sex	Male	54	1					
	Female	10	0.960	0.467-1.975	0.912			
Age	<65 years	15	1					
	≥65 years	29	1.422	0.734-2.756	0.288			
Biology	HCV positive	27	1					
	Others	17	1.774	0.941-3.346	0.222			
Child-Pugh score	A	19	1			1	1.034-3.700	0.039
	B	25	1.946	1.023-3.642	0.039	1.956		
Tumor stage	I, III	15	1					
	IVa, IVb	31	1.378	0.695-2.692	0.363			
PVT	Vp0, 1†	18	1					
	Vp2, 3, 4†	28	1.494	0.796-2.800	0.210			
Intrahepatic spread	Absent	28	1					
	Present	16	1.192	0.626-2.266	0.596			
Maximum tumor size	<5 cm	15	1					
	≥5 cm	29	1.866	0.967-3.602	0.057			
AFP	<1000 ng/ml	24	1					
	≥1000 ng/ml	20	0.668	0.351-1.269	0.213			
AFP-L3	<1%	19	1					
	≥1%	25	1.262	0.677-2.349	0.462			
DCP	<1000 mAU/ml	18	1					
	≥1000 mAU/ml	26	1.532	0.816-2.873	0.180			
Previous treatment	No	18	1					
	Yes	26	0.934	0.496-1.781	0.847			
Diabetes mellitus	No	26	1					
	Yes	18	1.008	0.540-1.881	0.960			
BH	<10.4 μl/ml	23	1					
	≥10.4 μl/ml	20	1.732	0.903-3.323	0.099			
Serum albumin	<3 g/dl	13	1					
	≥3 g/dl	31	0.651	0.334-1.269	0.219			
Serum transferrin	<190 mg/dl	12	1			1	0.132-0.603	0.001
	≥190 mg/dl	32	0.267	0.135-0.609	0.002	0.282		

According to the criteria of the Liver Cancer Study Group of Japan.

†One patient was not done.

AFP, α-fetoprotein; AFP-L3, less-calcium agglutinin-reactive fraction of AFP; CI, confidence interval; DCP, des-γ-carboxy prothrombin; HCV, hepatitis C virus; BH, immunoreactive usulin; PVT, portal vein tumor thrombosis.

単変量解析では、上記 16 個の因子のうち 2 個、すなわち Child-Pugh score(p=0.039)と血清トランスフェリン (p=0.002) が有意な予後因子として抽出された。多変量解析では、上記 2 因子はそれぞれ独立した予後因子であることが示された (血清トランスフェリン 190mg/dl 以上のハザード比[HR] : 0.282、95%信頼区間[CI] : 0.132-0.603、p=0.001、Child-Pugh B の HR : 1.956、95%CI : 1.034-3.700、p=0.039)。血清トランスフェリン 190mg/dl 未満の症例では 1/2 年生存率はそれぞれ 8.3%、0.0% (中央生存期間 4.9 カ月) であったのに対し、血清トランスフェリン 190mg/dl 以上の症例では 1/2/3 年生存率はそれぞれ 46.9%、25.0%、11.7%、中央生存期間は 12.0 カ月であった (Figure 3)。さらに、非奏功例においても、血清トランスフェリン 190mg/dl 以上の症例の方が生存期間が長い傾向 (p=0.114) が認められた (Figure 4)。

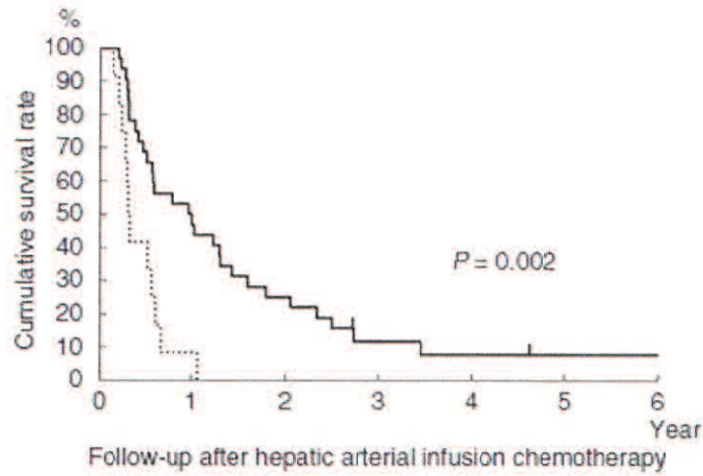


Figure 3 Comparison of cumulative survival rates of patients in the low (serum transferrin, <190 mg/dL) and high transferrin groups (serum transferrin, \geq 190 mg/dL). The 1-, 2- and 3-year cumulative survival rates in the low transferrin group were 8.3%, 0% and 0%, respectively (median survival time, 4.9 months), whereas the 1-, 2- and 3-year cumulative survival rates in the high transferrin group were 46.9%, 25.0% and 11.7%, respectively (median survival time, 12.0 months) ($P = 0.002$). —, serum transferrin of 190 mg/dL or more; ·····, serum transferrin of less than 190 mg/dL.

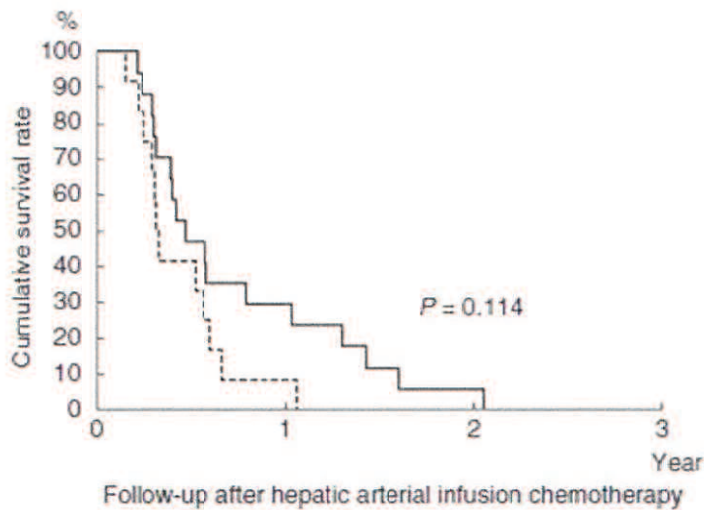


Figure 4 Comparison of cumulative survival rates of patients who achieved stable disease (SD) or progressive disease (PD) in the low (serum transferrin, <190 mg/dL) and high transferrin groups (serum transferrin, \geq 190 mg/dL). Survival tended to improve in patients who had serum transferrin of 190 mg/dL or more ($P = 0.114$). —, SD + PD with serum transferrin of 190 mg/dL or more; ·····, SD + PD with serum transferrin of less than 190 mg/dL.

(4) 血清トランスフェリンと治療効果の関係

トランスフェリン低値（血清トランスフェリン<190mg/dl）群のトランスフェリン値は156.2±26.7mg/dl、高値（血清トランスフェリン≥190mg/dl）群のトランスフェリン値は247.6±45.3mg/dlであった。背景肝や過去の治療歴を除くと、両群の間に有意な偏りは認められなかった（Table 3）。

Table 3 Clinical characteristics between low transferrin group and high transferrin group

	Low transferrin	High transferrin	P-value
Sex (male/female)	9/3	25/7	1.000
Age	69.7 ± 9.7	66.7 ± 8.3	0.320
Etiology (HCV positive/others)	4/8	23/9	0.035
Child-Pugh A/B	5/7	14/18	1.000
Serum albumin (g/dL)	3.1 ± 0.6	3.3 ± 0.4	0.183
Tumor stage† II, III/IVA, IVB	1/11	12/20	0.075
PVT grade: Vp0, 1/2, 3, 4†	2/10	16/16	0.083
Extrahepatic spread (absent/present)	6/6	22/10	0.303
Maximum tumor size (mm)	93.9 ± 40.1	67.5 ± 38.6	0.051
AFP (ng/mL)	6 503 ± 17 241	13 498 ± 26 437	0.401
AFP-L3 (%)	40.2 ± 36.4	32.0 ± 31.1	0.465
DCP (mAU/mL)	50 242 ± 97 579	12 221 ± 19 271	0.207
Previous treatment (no/yes)	8/4	10/22	0.045
Diabetes mellitus (no/yes)	8/4	18/14	0.732
IRI (μU/mL)	9.2 ± 6.2	14.9 ± 13.8	0.070

†According to the criteria of the Liver Cancer Study Group of Japan.

AFP, α-fetoprotein; AFP-L3, *Lens culinaris* agglutinin-reactive fraction of AFP; CI, confidence interval; DCP, des-γ-carboxy prothrombin; HCV, hepatitis C virus; IRI, immunoreactive insulin; PVT, portal vein tumor thrombosis.

Table 4 に両群間の治療効果を示す。

Table 4 Correlation between serum transferrin level and therapeutic effect

	CR	PR	SD	PD	Response rate (%)
Serum transferrin <190 mg/dL (n = 12)	0	0	7	5	0.0*
Serum transferrin ≥190 mg/dL (n = 32)	2	13	10	7	46.9*
Total (n = 44)	2	13	17	12	34.1

*P < 0.001.

CR, complete response; PD, progressive disease; PR, partial response; SD, stable disease.

トランスフェリン低値群（12例）ではCR/PRは1例もなく、7例（58.3%）がSD、5例（41.7%）がPDであった。一方トランスフェリン高値群（30例）ではCRが2例（6.3%）、PRが13例（40.6%）、SDが10例（31.3%）、PDが7例（21.9%）であり、両群間の治療効果には有意差（p<0.001）が認められた。さらに、奏功例（CR/PR）のトランスフェリン値は251.2±37.3mg/dl、非奏功例（SD/PD）のトランスフェリン値は207.9±61.6mg/dlであり、両者の間には有意差（p=0.017）が認められた（Figure 5）。

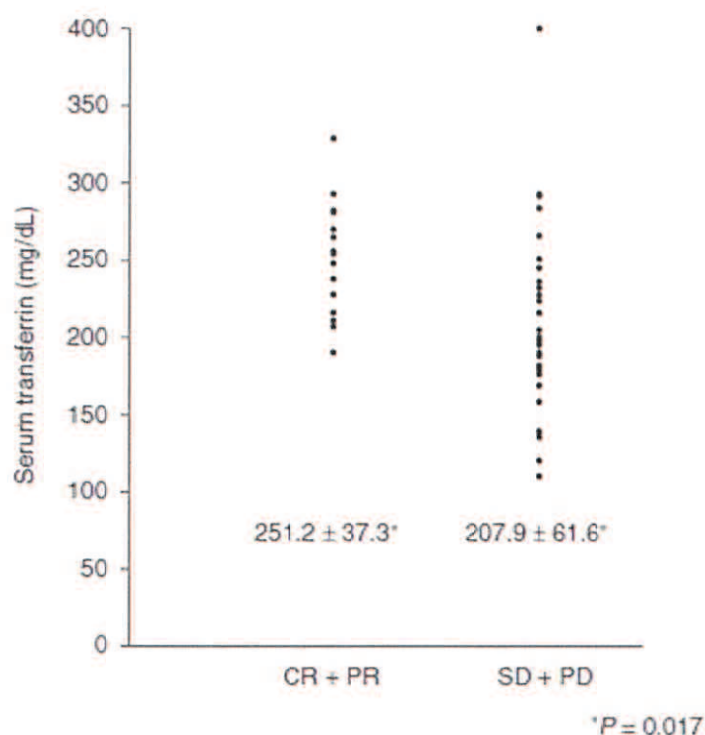


Figure 5 Comparison of serum transferrin levels of patients according to therapeutic effects of hepatic arterial infusion chemotherapy. The median level of transferrin was 251.2 ± 37.3 mg/dL in patients who achieved complete response (CR) and partial response (PR), and was 207.9 ± 61.6 mg/dL in those who achieved stable disease (SD) and progressive disease (PD). There was a significant difference between the two groups ($P = 0.017$).

6. 考察

進行肝細胞癌患者、とりわけ門脈浸潤を呈する肝細胞癌患者の予後は依然として不良である¹⁵。このような患者には、本邦の治療アルゴリズムでは動注化学療法が治療の一つとして挙げられている¹⁸。過去に100例以上の進行肝細胞癌患者で動注化学療法の有用性を検討した報告は少ない¹⁹⁻³³。すべての報告で、奏功した（CR または PR）患者群は非奏功（SD または PD）であった患者群よりも有意に予後良好である。我々は過去に多変量解析を用いて、奏功の有無と追加治療の有無が予後に関連する因子であることを報告している¹⁹⁻²⁰。奏功の有無は最も重要な予後因子といえる。いくつかの報告では、Child-Pugh score と奏功の有無が動注化学療法の有意な予後因子であったとされている³⁴⁻³⁶。しかしながら、奏功の有無は動注化学療法施行前の予後予測には有用とはいえない。過去には IFN- α を併用した 5-FU 動注化学療法で、IFN- α type2 受容体や³⁷、肝細胞癌組織における 63 の遺伝子解析³⁸が予後と関連したとの報告もあるが、これらを検討するには高度な技術を要するため十分な結果がすぐに得られない可能性がある。このため、我々は血液生化学所見から動注化学療法の予後を予測しうるパラメータを模索してきた。

今回の検討では、動注化学療法開始前に予後予測が可能となる因子を探索する目的であるため、奏功の有無と追加治療を検討項目から除外したところ、単変量・多変量解析では、血清トランスフェリンと Child-Pugh score が有意な予後因子となった。Child-Pugh score が有意な予後因子であることは過去に報告を行っている¹⁹。また門脈浸潤の有無が肝細胞癌患者の予後に影響する重要な因子であることは過去に報告されている³⁹⁻⁴⁰が、我々や他の先行研究では、門脈浸潤の有無は動注化学療法を施行した肝細胞癌患者における予後には有意に影響しなかったとされる^{19-23, 34-36}。今回、血清トランスフェリンは生存期間に最も寄与する因子であることが指摘された。血清トランスフェリン高値（190mg/dl 以上）の生存期間におけるハザード比は 0.282、95%信頼区間は 0.132-0.603 ($p=0.001$) であった。また非奏功（SD または PD）の症例に限定しても、血清トランスフェリン高値群は低値（190mg/dl 未満）群に比して、背景に有意な偏りがないにも関わらず予後が良好である傾向が認められた ($p=0.114$) (Table 4)。加えて、血清トランスフェリンの高低は治療効果にも有意に関連していた。この機序は依然として判明していない。背景肝として HCV 抗体陽性率はトランスフェリン高値群で 71.9%、低値群で 33.3% ($p=0.035$) であった。5-FU 動注化学療法とインターフェロン全身投与の併用療法を行った際、C 型肝硬変患者は非 C 型肝硬変患者に比して治療効果が良好であったとの報告がある³¹⁻³⁴。背景肝によりトランスフェリンの産生量に違いがあるかが今後の検討課題である。興味深いことに、血清トランスフェリン 190mg/dl 未満の症例では奏功例は 1 例も認められなかった。トランスフェリンは肝臓で産生されるため⁴¹、肝予備能が低下すれば血清トランスフェリンも低下する。しかし今回の検討では、トランスフェリン高値/低値群間で Child-Pugh score に有意差はなく (図 3)、さらに Child-Pugh A (19 例) のトランスフェリン値は 228.7 ± 57.8 mg/dl、Child-Pugh B (25 例) のトランスフェリン値は 218.0 ± 58.8 mg/dl で Child-Pugh A/B 間で血清トランスフェリン値には有意差を認めなかった ($p=0.550$)。このため、動注化学療法開始前に血清トランスフェリン 190mg/dl 未満であった症例には、鉄キレート剤デフェロキサミン¹⁰が有効なのかもしれない。

トランスフェリンは生体内で強力な鉄キレート作用を有し、鉄と強固に、しかし可逆的に結合する。トランスフェリンの鉄キレート作用には 3 つの目的がある。すなわち、①生体内で Fe^{3+} を可溶性の状態に保つ、②鉄の細胞への輸送と取り込みを調整する、③ Fe^{3+} からの毒性の強いフリーラジカルの産生を抑える作用を有する¹²。正常な状態では、血清に存在する鉄のほとんどはトランスフェリンと結合しているが、鉄過剰の状態になると、トランスフェリン非結合鉄 (non-transferrin-bound iron [NTBI]) が生じる⁴²。NTBI はフリーラジカルの産生と関係しており、毒性の強い活性酸素 (reactive oxygen species [ROS]) が過度になると肝障害や肝細胞の癌化を引き起こす可能性がある⁴³。African dietary iron overload において、NTBI と総鉄結合能すなわちトランスフェリン濃度には、有意な相関が認められるとされる⁴²、すなわちトランスフェリンが低ければ、NTBI は増加するとされる。

肝細胞癌患者における NTBI の量を評価した報告はないが、NTBI はアルコール性肝硬変患者で高率に (89.6%) 認められる⁴⁴との報告がある。また非肝硬変患者においても、化学療法を受ける前には NTBI が検出感度未満であったにもかかわらず、化学療法施行中に血液中に検出されたとの報告⁴⁵ ⁴⁶もある。我々は、血清トランスフェリンの低い肝細胞癌患者では高濃度の NTBI が存在しているのではないかと推測している。そして抗癌剤を用いた動注化学療法では、さらに NTBI が増加し、ROS を産生する。もし血清トランスフェリン濃度が高ければ、動注化学療法中の NTBI がトランスフェリンによって抑制される可能性がある。Hu らは基礎研究において、ROS はヒト肝癌細胞の HepG2 の産生をプロテインキナーゼ C およびインテグリンシグナルを介して促進すると報告している⁴⁷。他の臨床研究では、肝切除後の肝細胞癌患者において、ROS の一種である dual oxygenase(DUOX)1、および DUOX2 が予後因子となる、と報告している⁴⁸。このように ROS は、その機序こそ依然として不明であるが、肝細胞癌の進行や肝細胞癌患者の予後に関連する可能性がある。これらのことから、血清トランスフェリン濃度は NTBI や ROS の濃度と関連するために、予後にも関係してくるのかもしれない。進行肝細胞癌患者の予後予測因子として、NTBI や ROS はルーチンの血液検査では測定できないため、代替のマーカーとして血清トランスフェリンは有用となる可能性がある。

この研究にはいくつかの制約がある。他の鉄関連マーカー、すなわち血清鉄そのものやフェリチン、NTBI、治療中のトランスフェリン濃度の変化については検討できていない。これは今回の検討が後ろ向き研究であるためである。このため、今後治療期間中の鉄関連マーカーの推移を測定することが今後必要と考える。特に、トランスフェリンと NTBI の関連については将来検討を要する。今回は小規模な後ろ向き研究であるため、今後はより大きい母集団での前向き検討を行うことが必要となる。

7. 結語

血清トランスフェリンは動注化学療法を施行する前の進行肝細胞癌患者における予後予測因子として有用となりうる。今回の検討では動注化学療法のための検討であるが、他の治療を受ける肝細胞癌患者においても有用な予後予測マーカーとなる可能性も考えられる。

8. 謝辞

本検討を進めるにあたり、御指導を頂いた指導教官の坂井田功教授に深く感謝致します。また議論を通じて多くの知識や示唆を頂いた山口大学大学院消化器病態内科学講座の皆様にも感謝致します。

9. 参照文献

1. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341: 1986–95.
2. Brodie C, Siriwardana G, Lucas J, et al. Neuroblastoma sensitivity to growth inhibition by deferrioxamine: evidence for a block in G1 phase of the cell cycle. *Cancer Res* 1993; 53: 3968–75.
3. Le NT, Richardson DR. The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1603: 31–46.
4. Kalinowski DS, Richardson DR. The evolution of iron chelators for the treatment of iron overload disease and cancer. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 547–83.
5. Hann HW, Stahlhut MW, Rubin R, Maddrey WC. Antitumor effect of deferoxamine on human hepatocellular carcinoma growing in athymic nude mice. *Cancer* 1992; 70: 25–6.
6. Kicic A, Chua AC, Baker E. Effect of iron chelators on proliferation and iron uptake in hepatoma cells. *Cancer* 2001; 92: 3093–110.
7. Sakaida I, Hironaka K, Uchida K, Okita K. Iron chelator deferoxamine reduces preneoplastic lesions in liver induced by choline-deficient L-amino acid-defined diet in rats. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 560–9.
8. Sakaida I, Kayano K, Wasaki S, Nagatomi A, Matsumura Y, Okita K. Protection against acetaminophen-induced liver injury in vivo by an iron chelator, deferoxamine. *Scand J Gastroenterol* 1995; 50: 61–7.
9. Jin H, Terai S, Sakaida I. The iron chelator deferoxamine causes activated hepatic stellate cells to become quiescent and to undergo apoptosis. *J Gastroenterol* 2007; 42: 475–84.
10. Yamasaki T, Terai S, Sakaida I. Deferoxamine for advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 576–8.
11. Yu Y, Gutierrez E, Kovacevic Z, et al. Iron chelators for the treatment of cancer. *Curr Med Chem* 2012; 19: 2689–702.
12. Gkouvatsos K, Papanikolaou G, Pantopoulos K. Regulation of iron transport and the role of transferrin. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820: 188–202.
13. Stevens RG, Beasley RP, Blumberg BS. Iron-binding proteins and risk of cancer in Taiwan. *J Natl Cancer Inst* 1986; 76: 605–10.
14. Silber JH, Evans AE, Fridman M. Models to predict outcome from childhood neuroblastoma: The role of serum ferritin and tumor histology. *Cancer Res* 1991; 51: 1426–33.
15. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985; 56: 918–28.
16. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: The BCLC

staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329–38.

17. Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, et al. Panel of Experts in HCC-Design Clinical Trials. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Int* 2008; 1000: 698–711.

18. Arii S, Sata M, Sakamoto M, et al. Management of hepatocellular carcinoma: Report of Consensus Meeting in the 45th Annual Meeting of the Japan Society of Hepatology (2009). *Hepatol Res* 2010; 40: 667–85.

19. Urayama N, Yamasaki T, Harima Y, et al. Hepatic arterial infusion chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma: analysis of 114 cases (in Japanese with English abstract). *Kanzo* 2011; 52: 449–60.

20. Yamasaki T, Sakaida I. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma and future treatments for the poor responders. *Hepatol Res* 2012; 42: 340–48.

21. Yamasaki T, Kurokawa F, Shirahashi H, et al. Novel arterial infusion chemotherapy using cisplatin, 5-fluorouracil, and leucovorin for patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2002; 23: 7–17.

22. Yamasaki T, Kurokawa F, Takami T, et al. Arterial infusion chemotherapy using cisplatin, 5-fluorouracil, and isovorin for patients with advanced hepatocellular carcinoma, pilot study: Is a high dose of the biochemical modulator effective? *Hepatol Res* 2003; 27: 36–44.

23. Yamasaki T, Kimura T, Kurokawa F, et al. Prognostic factors in patients with advanced hepatocellular carcinoma receiving hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Gastroenterol* 2005; 40: 70–8.

24. Takaki-Hamabe S, Yamasaki T, Saeki I, et al. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: Is the addition of subcutaneous interferon- α -2b beneficial? *Hepatol Res* 2009; 39: 223–30.

25. Okita K, Yamasaki T, Hamabe S, et al. Hepatic arterial infusion chemotherapy in combination with pegylated interferon- α -2b for advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 533–7.

26. Liver Cancer Study Group of Japan. The General Rules for the Clinical and Pathological Study of Primary Liver Cancer, 5th edn. Tokyo: Kanehara, 2009 (in Japanese).

27. Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). *J Gastroenterol* 2003; 38: 207–15.

28. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5: 649–55.

29. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observation. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457–81.
30. Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973; 60: 646–9.
31. Obi S, Yoshida H, Toune R, et al. Combination therapy of intraarterial 5-fluorouracil and systemic interferon-alpha for advanced hepatocellular carcinoma with portal venous invasion. *Cancer* 2006; 106: 1990–7.
32. Nagano H, Wada H, Kobayashi S, et al. Long-term outcome of combined interferon- α and 5-fluorouracil treatment for advanced hepatocellular carcinoma with major portal vein thrombosis. *Oncology* 2011; 80: 63–9.
33. Kim BK, Park JY, Choi HJ, et al. Long-term clinical outcomes of hepatic arterial infusion chemotherapy with cisplatin with or without 5-fluorouracil in locally advanced hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 659–67.
34. Uka K, Aikata H, Takaki S, et al. Pretreatment predictor of response, time to progression, and survival to intraarterial 5-fluorouracil/interferon combination therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2007; 42: 845–53.
35. Park JY, Ahn SH, Yoon YJ, et al. Repetitive short-course hepatic arterial infusion chemotherapy with high-dose 5-fluorouracil and cisplatin in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2007; 110: 129–37.
36. Niizeki T, Sumie S, Torimura T, et al. Serum vascular endothelial growth factor as a predictor of response and survival in patients with advanced hepatocellular carcinoma undergoing hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Gastroenterol* 2012; 47: 686–95.
37. Ota H, Nagano H, Sakon M, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with major portal vein thrombosis by combined therapy with subcutaneous interferon- α and intra-arterial 5-fluorouracil: role of type I interferon receptor expression. *Br J Cancer* 2005; 93: 557–64.
38. Kurokawa Y, Matoba R, Nagano H, et al. Molecular prediction of response to 5-fluorouracil and interferon- α combination chemotherapy in advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6029–38.
39. Qin LX, Tang ZY. The prognostic significance of clinical and pathological features in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 193–9.
40. op den Winkel M, Nagel D, Sappl J, et al. Prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. Validation and ranking of established staging-systems in a large western HCC-cohort. *PLoS One* 2012; 7: e45066.
41. Büyükaşık NS, Nadır I, Akin FE, et al. Serum iron parameters in cirrhosis and chronic hepatitis: detailed description. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 606–11.

42. McNamara L, MacPhail AP, Mondishona E, et al. Non-transferrin-bound iron and hepatic dysfunction in African dietary iron overload. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 126–32.
43. Takami T, Sakaida I. Iron regulation by hepatocytes and free radicals. *J Clin Biochem Nutr* 2011; 48: 103–6.
44. De Feo TM, Fargion S, Duca L, et al. Non-transferrin-bound iron in alcohol abusers. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 1494–9.
45. Harrison P, Marwah SS, Hughes RT, Bareford D. Non-transferrin bound iron and neutropenia after cytotoxic chemotherapy. *J Clin Pathol* 1994; 47: 350–2.
46. Bradley SJ, Gosriwitana I, Srichairatanakool S, Hider RC, Porter JB. Non-transferrin-bound iron induced by myeloablative chemotherapy. *Br J Haematol* 1997; 99: 337–43.
47. Hu CT, Wu JR, Cheng CC, et al. Reactive oxygen species-mediated PKC and integrin signaling promotes tumor progression of human hepatoma HepG2. *Clin Exp Metastasis* 2011; 28: 851–63.
48. Lu CL, Qiu JL, Huang PZ, et al. NADPH oxidase DUOX1 and DUOX2 but not NOX4 are independent predictors in hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Tumour Biol* 2011; 32: 1173–82.