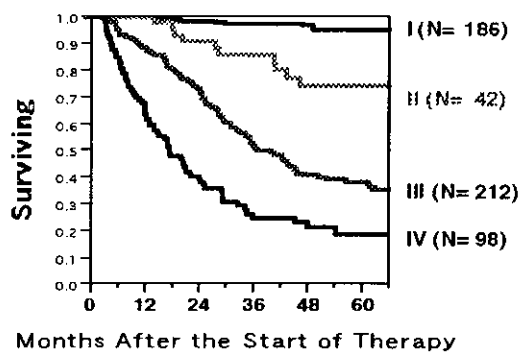


'Initial Maximal Debulking' Can Augment the Response of Residual Tumors to Subsequent Platinum-based CTX ?

Investigator	Regimen	Residuum (cm)	No, pts	Response (%)			MST (Mo)
				CR	PR	Overall	
Ehrlich et al (1979)	CAP	≤ 3	14	46	8	54	NA
		> 3	25	32	46	78	NA
Conte et al (1986)	CAP/CP	≤ 2	37	70	6	76	>40
		> 2	38	32	50	82	16

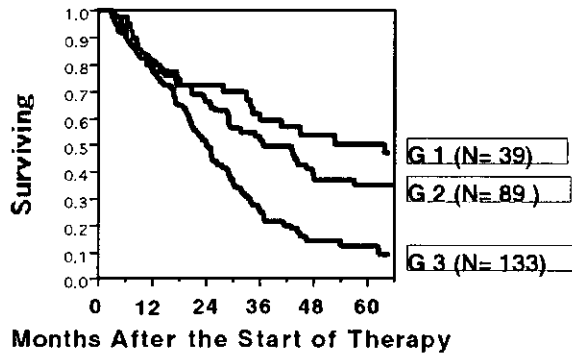
NA: not assessed

Survival of 538 Patients with Ovarian Carcinoma by FIGO Stage (1980-1997)



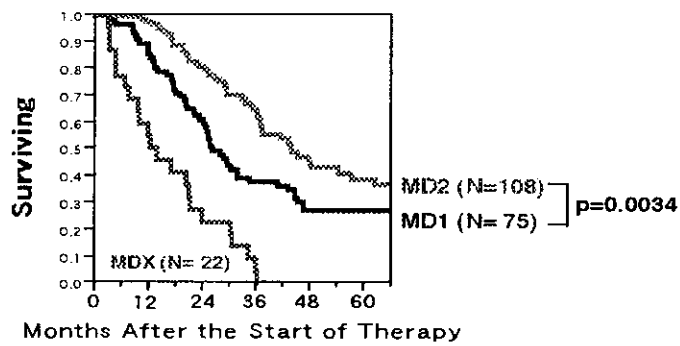
Tests Between Groups			
Test	Chi-Square	DF	Prob>ChiSq
Log-Rank	237.1455	4	0.0000
Wilcoxon	228.9079	4	0.0000

Survival of 261 patients with T3 Ovarian Carcinoma by New Grade



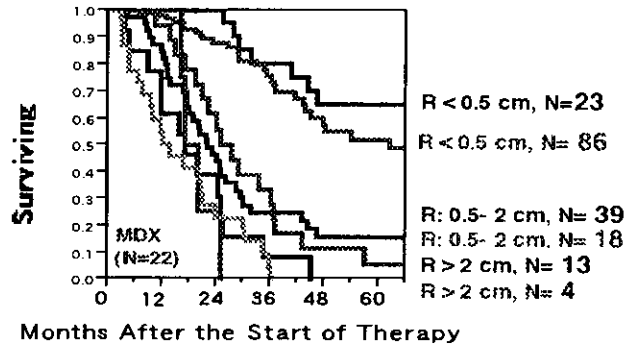
Tests Between Groups			
Test	Chi-Square	DF	Prob>ChiSq
Log-Rank	23.7048	3	0.0000
Wilcoxon	12.7854	2	0.0017

Survival of Patients with T3 Ovarian Carcinoma (Serous, Transitional, and Endometrioid) by the Timing of Maximal Debulking



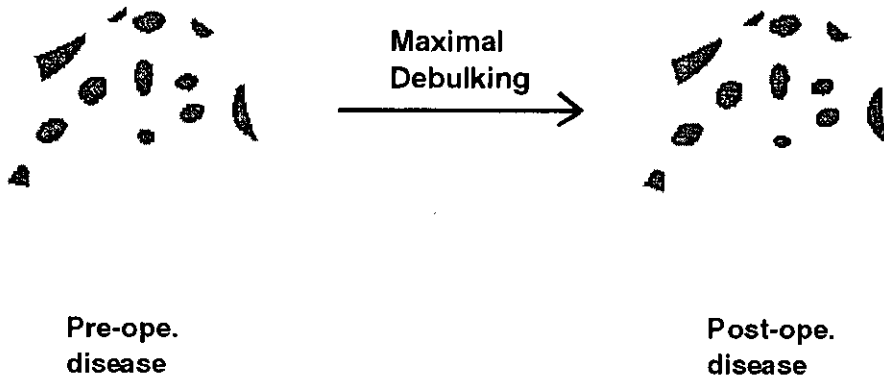
Tests Between Groups			
Test	Chi-Square	DF	Prob>ChiSq
Log-Rank	54.5372	3	0.0000
Wilcoxon	56.3484	3	0.0000

Survival of Patients with T3 Ovarian Carcinoma
(Serous, Transitional, and Endometrioid)
by the Timing (MD1 vs MD2) and Residuum of
Maximal Debulking

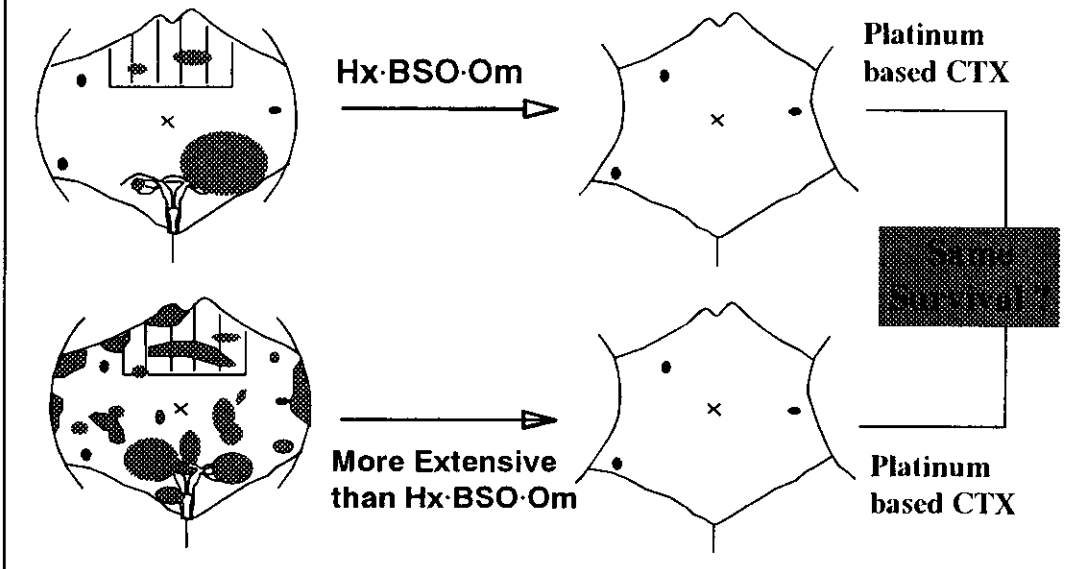


Tests Between Groups			
Test	Chi-Square	DF	Prob>ChiSq
Log-Rank	137.3975	7	0.0000
Wilcoxon	118.7038	7	0.0000

“Initial Maximal Debulking” can augment the response to CTX of the remaining cancer cells ?



Is the “primary cytoreductive surgery” only prognostic factor ? → No (Hoskins WJ et al, GOG 52, 1992; GOG 97, 1994)



上皮性進行卵巣癌の初回治療早期における根治性の評価に関する研究

分担研究者 八杉 利治 東京大学医学部 産婦人科助手

研究要旨

進行卵巣癌の根治には、手術での腫瘍の可及的縮小と有効な化学療法との両者が重要であり、初回治療早期に根治性の高い治療がなされているかを普遍的に検証できる指標を持つことが、新たな卵巣癌治療の開発を考える上で必要である。本研究では CA125 値の初回治療中の推移と化学療法 4 コース後の Second Look Laparoscopy (SLLS) に着目し、予後との相関を検討した。CA125 血中半減期は初回手術による腫瘍量の減少と残存腫瘍の対する化学療法による腫瘍減少効果を総合的に示し、進行卵巣癌の初期治療の妥当性、さらには根治性を、早期（化学療法 2 コース後）に示す指標となると考えられた。SLLS は初回治療の終了時期の決定に有用であり、またこれらの指標はさらに強力な治療を選択すべき予後不良群の早期抽出にも有用と考える。

A. 研究目的

進行卵巣癌の根治には、手術での腫瘍の可及的縮小と極めて有効な化学療法との両者が必要条件と考えられている。初回手術で optimal debulking がなされた場合、その後の画像での効果判定は一般に不可能である。初回治療早期に根治性の高い治療がなされているかを普遍的に検証できる指標を持つことが、新たな卵巣癌治療の開発を考える上で必要である。

そこで進行卵巣癌の多くの症例で陽性となる CA125 値の初回治療中の推移と化学療法 4 コース後の Second Look Laparoscopy (SLLS) による、予後良好群、不良群の早期抽出の可能性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

長期予後の判明している 1984 年から 1997 年までに初回治療を行った上皮性卵巣癌症例のうち、臨床進行期 3、4 期の進行卵巣癌 112 例を対象とした。

治療の基本方針は初回手術後 CDDP を含む化学療法を 6 コース以上施行することとし、SLLS 陰性群では、同一 regimen を 2 コース追加、陽性群は regimen または投与方法を変更して 4 コース追加して初回治療を終了した。このうち治療前 CA125 値が 150U/ml 以上の 86 例について、CA125 血中半減期の値により 3 群に分け、さらに SLLS の陽性、陰性を加えて各群の予後を検討した。

(倫理面への配慮)

卵巣癌における CA125 値の測定や、セカンドルック手術は、日常の臨床で汎用されていることである。またセカンドルック手術は、治療の効果判定として一般に行われており、その結果によって治療内容を変更していくことは倫理的にも問題はない。

C. 研究結果

CA125 血中半減期が6日未満、6-13日、13日以上の3群では推定5年生存率はそれぞれ84%、22%、0%であり、SLLS陰性群、陽性群ではそれぞれ、63%、39%であった。

各群の推定5年生存率には有意差を認め、これらの指標は予後の推定には有用と考えられた。

D. 考察

CA125 血中半減期は初回手術による腫瘍量の減少と残存腫瘍の対する化学療法による腫瘍減少効果を総合的に示すものと考えられ、手術と化学療法による治療効果を早期に判断する指標になりうると考えられた。CA125の絶対値による検討も行ったが、半減期による判断の方が妥当であると考えられた。またSLLSは残存腫瘍の明らかな症例に対する治療終了時期の判断に有用と思われた。

E. 結論

CA125 血中半減期は進行卵巣癌の初期治療の妥当性、さらには根治性を、早期(化学療法2コース後)に示す指標となり、SLLSは初回治療の終了時期の決定に有用である。またこれらはさらに強力な治療を選択すべき予後不良群の早期抽出にも有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Minaguchi T, Yoshikawa H, Oda K, Ishino T, Yasugi T, Onda T, Nakagawa S, Matsumoto K, Kawana K, Taketani Y. PTEN mutation located only outside exons 5, 6, and 7 is an independent predictor of favorable survival in endometrial carcinomas. Clin Cancer Res. Sep; 7(9):2636-42.2001
2. Xin CY, Matsumoto K, Yoshikawa H, Yasugi T, Onda T, Nakagawa S, Yamada M, Nozawa S, Sekiya S, Hirai Y, Shiromizu K, Fujii T, Taketani Y. Analysis of E6 variants of human papillomavirus type 33, 52 and 58 in Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia/cervical cancer in relation to their oncogenic potential. Cancer Lett. Sep 10; 170(1):19-24.2001
3. Hiroi H, Yasugi T, Matsumoto K, Fujii T, Watanabe T, Yoshikawa H, Taketani Y. Mucinous adenocarcinoma arising in a neovagina using the sigmoid colon thirty years after operation: a case report. J Surg Oncol. May; 77(1):61-4. 2001

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（21世紀型医療開拓推進研究事業）
分担研究報告書

進行卵巣癌の長期予後改善における腹腔鏡診断の役割

分担研究者 星合 昊 近畿大学医学部 産婦人科教授

研究要旨

進行卵巣癌の長期予後改善を目的として、腹腔鏡による病期の確認を行い臨床進行期Ⅲ期以上と判定された卵巣癌症例について化学療法先行治療群と手術先行治療群の2群について無作為化比較臨床試験に参加した。

A. 研究目的

近年の化学療法の進歩によって進行卵巣癌の予後は改善の方向にあるものの、進行卵巣癌における長期予後改善は未だ不十分であり、新たな治療法の選択が必要となっている。そこで、進行卵巣癌に対する術前化学療法の予後改善効果について計画された多施設共同臨床研究に参加した。

B. 研究方法

術前検査によって臨床進行期Ⅲ期以上の進行卵巣癌と診断された症例を対象として術前抗癌剤投与を行う群と手術治療を先行させる群との2群を設定して、計画された無作為化比較臨床試験に参加した。

（倫理面での配慮）

本研究では計画の経緯ならびに試験実施法について詳細に記載された同意書を作成し、担当主治医による説明が行われる。また参加同意は患者本人から文書をもって得られ、試験途中での同意撤回を妨げないよう配慮されている。

C. 研究結果

本年度は本研究への参加を目的に当大学附属病院倫理委員会への申請と臨床試験実

施のためのシステム整備を中心として分担研究を行った。特に本院において過去に経験された進行卵巣癌の予後調査と各種化学療法の効果について、後方視的研究を行った。

D. 考察

過去の治療成績は各々一定の治療効果が認められるものの、その結果は総て後方視的検討であり、本研究において計画された無作為化比較臨床試験が極めて重要であると考えられた。

E. 結論

本研究は進行卵巣癌の予後改善に十分寄与すると考えられる有用な研究である。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 上田 晴彦、渡部 洋、中嶋 博之、野崎 晃一、星合 昊、野田 起一郎
「卵巣癌における CA125 正常化率から

見た Taxol+CBDCA 療法と CDDP+CPM 療法
法の検討」第39回日本癌治療学会総
会、2001年

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

進行卵巣癌初回化学療法としての Taxane 系薬剤併用化学療法(CBDCA-Paclitaxel, CBDCA-Docetaxel)及び非 Taxane 系薬剤併用化学療法の有用性に関する比較研究

分担研究者 齋藤 俊章 国立病院九州がんセンター 婦人科医長

研究要旨

進行卵巣癌に対する併用化学療法として、従来行われきた CEP 療法、最近行われている新しい標準治療の CBDCA-Paclitaxel 療法 (TJ 療法)、さらに新規の Taxane 系薬剤を使用した CBDCA-Docetaxel (DJ 療法)の3者をその効果、副作用の両面から比較検討した。臨床効果については、十分な症例数と観察期間がないため断定的な結論を出すには至らなかったが、いずれの治療法も大きな差異はない事が推測された。副作用は、それぞれの治療法によりそのスペクトラムが異なり、これを熟知して使用する必要があると考えられた。DJ 療法は、患者の立場より考えれば、より受け入れ易い治療法であり、今後の初回化学療法として標準治療となり得る可能性が示唆された

A. 研究目的

Cisplatin の登場で卵巣癌の治療成績は向上したが、進行例の治療成績は満足できるものではなく、なおかつ強い悪心嘔吐などの消化器系副作用により治療を受ける患者の苦痛は大きなものであった。1990 年に Paclitaxel(TXL)が登場しその良好な治療成績と共に軽い消化器系副作用のため、欧米においてはまず TXL/CDDP 療法が CPA/CDDP 療法にとってかわった。さらに TXL/CDDP と同等の治療成績とより簡便で腎障害の少ない TXL/Carboplatin (CBDCA)療法が近年の標準的治療とみなされるようになった。同じ Taxane 系薬剤 Docetaxel についても CBDCA と併用し卵巣癌治療の first line としての有用性が報告され始めている。欧州における SCOTROC Trial では TXL/CBDCA(TJ)療法と Docetaxel/ CBDCA(DJ)療法の比較試験により、治療効果に差を認めないという報告が

なされている。

進行卵巣癌の予後を改善するには、first line の化学療法として上記のいずれを選択するかは極めて重要な課題である。効果にすぐれ、副作用が軽微で治療のコンプライアンスが良い治療が標準的治療として選択されるべきである。

本研究は従来の CEP 療法と、近年本邦で使用可能となった2つの Taxane 系薬剤と CBDCA との併用療法; CBDCA-Paclitaxel(TJ 療法)と CBDCA-Docetaxel(DJ 療法)の3群について、卵巣癌初回化学療法としての妥当性を効果、副作用の両観点から検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象は 1994 年 4 月から 2001 年 5 月まで当科にて初回治療を行った卵巣癌症例で、CEP 群 46 例、TJ 群 33 例、DJ 群 20 例とした。一次効果、予後、副作用について日

本癌治療学会の効果判定基準と副作用判定基準により解析した。また副作用については患者アンケートによる検討も行った。食欲、しびれ、日常生活への影響、美容面で気になる色素沈着などに関して17項目について、解答は選択式にした。

DJ療法については本邦においては、未だ卵巣癌の初回標準療法としてのコンセンサスは得られていないので、当施設倫理委員会で「上皮性卵巣癌に対する初回化学療法臨床第II相試験（施設内臨床研究）」（交付番号2002-3）として施行することで承認を得た。また、それぞれの患者については、治療施行前に詳しい説明を行った上で同意を得た。

C. 研究結果

1. 患者背景

3群間に年齢、PS、進行期、組織型、手術時残存腫瘍径の分布に差を認めなかった。

症例あたりの施行コース数の中央値はそれぞれ6、6、3コースで、副作用が評価可能であったのはそれぞれ合計で237、170、70コースであった。

2. 治療成績

測定可能病変を有し化学療法を3コース以上施行した例はCEP群7例でCR5例PR2例で奏効率は100%であった。TJ群は9例でCR2例PR6例で奏効率は89%であった。DJ群は2例ともPRであった。

III-IV期症例の無病生存曲線をCEP群、TJ群の2群についてKaplan-Meier法で作成し無病生存期間をlog-rank検定で比較した。平均無病生存期間はCEP群19.7カ月、TJ群14.6カ月と統計学的に有意な差を認めなかった。

3. 副作用

副作用により治療を中止した例はCEP群にはなかった。TJ群では4例12%が偽膜性腸炎、肝機能障害、末梢神経障害、過敏反応が理由で治療が中止され、DJ群で

は腸炎2例、口内炎1例、過敏反応2例の計5例25%が副作用で治療が中止された。

骨髄抑制はgrade4の白血球減少、好中球減少の頻度は群間で統計学的に有意差を認め、DJ群で統計学的に有意に高頻度であった。逆に血色素減少、血小板減少はgrade3、4がCEP群で高い傾向を示した。

骨髄抑制を血球数の最低値でみると、白血球数はDJ群で最も低く、好中球数はCEP群に比較し、TJ群、DJ群共に有意に低い結果であった。血小板数は逆にCEP群で有意に低値を示し、TJ、DJ療法では比較的血小板数が保たれていた。

悪心、嘔吐はgrade2以上はCEP群で88%とTJ群DJ群に比較し明らかに高頻度であった。DJ群に特徴的な副作用として、下痢、口内炎、味覚障害が認められた。

その他の副作用では、感染は好中球減少の強いTJ群、DJ群でより重症の感染の頻度が高く見られた。TJ群に特徴的な副作用としては末梢神経障害と関節痛で、同じTaxane系のDJ群と比較しても高頻度であった。

4. 患者へのアンケート調査の結果

患者へのアンケート調査は、CEP群11例、TJ群17例、DJ群16例に対して行った。

食欲については、食事が半分も食べられない期間はどの問いに3日以上と答えた人は、DJ群で32%、TJ群で28%であったのに対しCEP群では64%と高率であった。また、食事がおいしくない期間はどの問いに7日以上と答えた人は、DJ群で12%、TJ群で0%であったのに対しCEP群では45%とこれも高率であった。

しびれについて、しびれがある、または強いと答えた人がDJ群で31%、CEP群で27%であったのに対しTJ群では60%と高率であった。家事において炊事などで困ると答えた人も同様にTJ群で高い傾向を示した。

色素沈着は、顔などではCEP群に多く、

爪の変化はDJ群に多かった。

D. 考察

近年、卵巣癌の併用化学療法に関して十分に計画された比較試験が活発に行われるようになってきている。GOG111の報告では suboptimal のIII、IV期の卵巣癌 386例を対象に TXL+CDDP 投与と CPM+CDDP 投与の2群についてその成績が解析された。その結果、奏効率 73% vs 60%、progression free survival 18ヶ月 vs 13ヶ月、生存期間の中央値 38ヶ月 vs 24ヶ月と TXL+CDDP 療法の優位性が示された¹⁾。その後の報告でも卵巣癌の初回化学療法としての標準治療は TXL と platinum 製剤の併用療法であると認識された。

その後 GOG158により TXL+CDDP 群と TJ 群との比較が行われ、同じ TXL と platinum 製剤でも TJ 群の方がより副作用が少なく同等な効果を有する治療法であると認識されるにいたった²⁾。

一方、欧州においては Docetaxel+CBDC 療法が first line での標準的治療法としての座を獲得しつつある。卵巣癌 Ic-IV 期 1077例を対象にした SCOTROC trial により TJ 群との比較が行われつつある。TJ 群: TXL 175mg/m²(3時間)+CBDC AUC5 と DJ 群: Docetaxel 75mg/m²+CBDC AUC5 との比較試験であるが、中間報告では奏効率 (62% vs 65%)、12ヶ月までの progression free survival において両群間に有意差を認めなかった。副作用では grade3 以上の好中球減少とそれに伴う感染などは DJ 群で強かったが充分に対応可能で、神経毒性など長期にわたり QOL に影響する副作用は TJ 群に強く、DJ 療法は TJ にかわる治療となりうる可能性がある³⁾⁴⁾と結論している。

本研究では卵巣癌初回治療例において CEP 群、TJ 群で奏効率およびIII-IV期の無病生存期間に有意差を認めなかった。GOG132の様に CDDP 単独療法と CDDP+TXL

併用療法で治療成績に差がないとする報告もあり⁵⁾、また GOG111の長期予後には差がないという最近の知見もある。これらから考えるといずれの治療法をとっても臨床的に意味がある程には予後の差はないとも考えられる。

治療効果の大きな差がないとすれば、患者の生活背景と副作用のスペクトラムを十分に考慮した上で化学療法を選択することが必要と考えられる。CEP 群の副作用の特徴はやはり悪心嘔吐の強さである。アンケートでも摂食の問題を訴える患者が多かった。Taxane 系は悪心嘔吐が弱く患者にとって受けやすい治療ではある。しかし、過敏反応や腸炎など治療を中止せざるをえない副作用が少なからずあり、この薬剤を使用する場合には副作用を熟知した上で慎重な観察をしていく必要がある。実際、好中球減少は CEP 群と Taxane 群で有意差を認め、また TJ 群より DJ 群でより高度であった。多くは G-CSF 等により適切に管理し得るが、下痢、腸炎を合併するものでは重篤化する可能性もあり慎重な管理が必要であると思われた。

TJ 療法は末梢神経障害の頻度が高く、治療後にも残存し日常生活に支障をきたすことも少なくなかった。また DJ 療法では口内炎、味覚障害などの minor な問題が比較的多かった。

本研究の結果では、治療中断を行った症例の頻度は DJ 群で最も高かったが、臨床試験治療法であるため、安全性の設定の厳しさによるものと考えられる。治療を中断しなかった症例の客観的副作用は骨髄抑制以外はより軽微であり、アンケート調査による主観的治療の受け入れ易さも他の群に比し、有意に高かった。

参考文献

1. McGuire WP, et al.: Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients

with stage III and stage IV ovarian cancer. *New Engl J Med* 334:1-6, 1996.

2. Ozols RF, et al.: Randomized phase III study of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel in optimal stage III epithelial ovarian cancer: A gynecologic oncology group trial. *Proc. ASCO* 18:356a, 1999.
3. Vasey PA: Preliminary results of the SCOTROC trial: a phase III comparison of paclitaxel-carboplatin (PC) and docetaxel-carboplatin (DC) as first-line chemotherapy for stage Ie-IV epithelial ovarian cancer (EOC). *Proc. ASCO* 20: 202a, 2001.
4. Vasey PA, et al.: Docetaxel-carboplatin as first line chemotherapy for epithelial ovarian cancer. *British J Cancer* 84:170-178, 2001.
5. Muggia FM, et al.: Phase III randomized study of cisplatin versus paclitaxel versus cisplatin and paclitaxel in patients with suboptimal stage III or IV ovarian cancer: A gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol* 18:106-115, 2000.

E. 結論

本研究から卵巣癌の初回化学療法としての CEP、TJ、DJ 療法は副作用のスペクトラムがかなり異なることが明らかとなった。現在では、TJ 療法が標準的治療となっているが、今後 DJ 療法が患者の治療の受け易さ、コンプライアンスの高い治療という観点から、初回の標準治療となる可能性は高いと考えられた。その場合においても、一部の患者に発生する重篤な副作用を熟知しておく必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

上述の様に、それぞれの化学療法に特有の副作用スペクトラムが認められた。Taxane 系薬剤の併用療法では過敏反応や腸炎を合併する症例では重篤化する可能性のある症例が認められた。しかし、本研究の範囲内では、死に至る重篤な副作用を呈したものはなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 齋藤俊章：転移。新女性医学大系 41、婦人科腫瘍の分子・細胞生物学、和氣徳夫、中山書店、181-200, 2001
2. 齋藤俊章、他：末期癌患者に対するケアと病診連携—病院における終末期医療—産科と婦人科、68:73-79, 2001
3. 齋藤俊章、他：「外陰上皮性悪性腫瘍の病理と進行期別治療について」3. 外陰癌の治療—手術療法を中心に。産科と婦人科、68:1124-1128, 2001
4. 衛藤貴子、齋藤俊章、他：卵巣癌に対する化学療法は CAP かバクリタキセルか卵巣癌初回化学療法としての Taxane 系薬剤併用化学療法と非 Taxane 併用白金製剤化学療法の副作用の検討。日本産科婦人科学会九州連合地方部会雑誌、52:98-103, 2001
5. 園田真由、齋藤俊章：卵巣腫瘍の診断とその対応治療、83:112-116, 2001
6. Maruyama A, Saito T, et al. Clinicopathologic and familial characteristics of endometrial carcinoma with multiple primary carcinomas in relation to the loss of protein expression of MSH2 and MLH1. *Cancer* 91:2056-2064, 2001
7. Nishimura N, Saito T, et al. Subsequent endometrial carcinoma with adjuvant tamoxifen treatment in Japanese breast cancer patients. *International Journal of*

Gynecological Cancer 11:272-276,
2001

2. 学会発表

1. 衛藤貴子、齋藤俊章、他：進行、再発子宮体癌に対する Paclitaxel (TXL), Carboplatin (CBDCA) 併用化学療法 (TJ 療法) の検討。第 53 回日本産科婦人科学会学術講演会、2001 年 5 月 14 日、札幌
2. 宮原大輔、齋藤俊章、他：婦人科手術に伴う不顕性肺塞栓症と低分子ヘパリンによる予防効果に関する検討。第 53 回日本産科婦人科学会学術講演会、2001 年 5 月 14 日、札幌
3. 有吉和也、齋藤俊章、他：進行卵巣癌における長期生存例の病理像の特徴に関する検討。第 53 回日本産科婦人科学会学術講演会、2001 年 5 月 15 日、札幌
4. 衛藤貴子、齋藤俊章、他：卵巣癌初回

化学療法としての Taxane 系薬剤併用化学療法と非 Taxane 併用白金製剤化学療法の副作用の検討。第 57 回日本産科婦人科学会九州連合地方部会、2001 年 5 月 27 日、福岡

5. 永野忠義、齋藤俊章、他：卵巣癌に対する Paclitaxel・Carboplatin 併用化学療法 (TC 療法)。第 39 回日本癌治療学会総会、2001 年 11 月 7 日、広島
6. Mashiba H, Saito T. et al. Augmented Antiproliferative Effect on Human Cancer Cell Lines in Combination with Electroporation and Paclitaxel. 22nd International Congress of Chemotherapy, June 30th-July 3rd, 2001, Amsterdam

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生科学研究費補助金 (21世紀型医療開拓推進研究事業)
分担研究報告書

卵巣がんの発生ならびに薬剤耐性に関する研究

分担研究者 落合 和徳 東京慈恵会医科大学 産婦人科教授

研究要旨

がん抑制遺伝子のひとつである p51 が卵巣がんの発生に関与しているかどうかについて検討した。手術摘材標本、卵巣がん樹立細胞株ともに p51 の変異を認めなかったことから p51 は卵巣がん発生に直接的に関与している可能性は低いものと考えられた。

またシスプラチン耐性卵巣がん細胞株 2008/C13*5.25 から新たな遺伝子 CRR9 をクローニングした。Transfect 実験の結果から CRR9 はシスプラチンが誘導するアポトーシスに関与することが示唆された。さらに 2008/C13*5.25 で up-regulate されているバンドについて検討を加えた結果、Heat shock protein (HSP)27 と HSP70 が up-regulate されていることが判明した。HSP27 を 2008 に transfect したところ耐性が増したことから HSP27 は卵巣がんの耐性獲得に関与していることが示唆された。

A. 研究目的

卵巣がんは難治性がんとして知られている。卵巣がんの発生については多くの癌遺伝子、癌抑制遺伝子が複雑に関与しているが、これらを解明していくことにより、卵巣がんの分子標的治療も可能となる。また抗癌化学療法を困難にしている一因に薬剤耐性があげられる。この機序解明も卵巣がん治療の中で早急に解決しなければならない課題である。

本研究では卵巣がんの発生に関与する遺伝子と耐性機序に関与する因子を解明することを目的とした。

B. 研究方法

1. Mutation の解析には 40 例の卵巣がん検体および 6 種類の卵巣がん培養細胞株を用い PCR-SSCP および direct sequencing 法によって検討した。p51 mRNA の発現に関しては 9 例の手術摘

出材料および 5 種類の卵巣がん培養細胞株について Northern blot 法および RT-PCR 法により解析した。

2. シスプラチン耐性卵巣がん株 2008/C13*5.25 を用い、mRNA differential display 法で発現が増強しているバンドから 5'RACE system kit により cDNA をクローニングし、新たな遺伝子 CRR9 (Cisplatin Resistance Related gene 9) を検出した。C シスプラチン感受性卵巣がん株 2008 に CRR9 の transfect 実験を行い耐性発現の有無を検討した。また同様の方法で 2008/C13*5.25 で up-regulate されているバンドについて検討を加えた

(倫理面への配慮)

手術検体を用いる研究においては、術前に患者に研究の目的、内容について説明し、同意を得た上で組織採取を行った。なお組織は匿名化し検査結果と組織提供者が判明

しないよう配慮した。

C. 研究結果

1. Allelic imbalance は卵巣がん組織 16 例中 3 例 (16%) に認められたが、p51 の mRNA は 9 例の卵巣がん組織、および対応する正常卵巣組織ともに発現が確認されなかった。卵巣がん培養細胞では 5 例中 1 例 (20%) に p51 の発現が認められた。しかしながら卵巣がん組織、培養細胞ともに p51 の変異がなかった。
2. CRR9 をに transfect しても耐性は生ぜず、むしろ感受性が増す結果となった。また Heat shock protein (HSP)27 と HSP70 が up-regulate されていることが判明した。HSP27 を 2008 に transfect したところ耐性が増した

D. 考察

1. p51 が p53 のような卵巣がん発生に関与するがん抑制遺伝子であれば、p51mRNA や mutation が認められるはずである。
2. CRR9、HSP が耐性に関与しているとすれば、シスプラチン感受性株 2008 に transfect しシスプラチン耐性を誘導することができる。

E. 結論

1. p51 が卵巣がん発生に関与している可能性は低い。
2. CRR9 はシスプラチン耐性に関与する

というより、むしろシスプラチンが誘導するアポトーシスに関与することが示唆された。

3. HSP27 は卵巣がんの耐性獲得に関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shinozaki H, Okamoto A, Shimizu K, Saito M, Yokota J, Ochiai K. Absence of p51 alternation in human ovarian cancer. Int J Oncol 18: 549-552, 2001
2. Yamamoto K, Okamoto A, Isonishi S, Ochiai K, Ohtaka Y. A novel gene, CRR9, which was up-regulated in CDDP-resistant ovarian tumor cell line, was associated with apoptosis. Biochem Biophys Res Comm 280; 1148-1154, 2001
3. Yamamoto K, Okamoto A, Isonishi S, Ochiai K, Ohtaka Y. Heat shock protein 27 was up-regulated in cisplatin resistant human ovarian tumor cell line and associated with the cisplatin resistance. Cancer letter 168; 173-181, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

卵巣癌における微小血管密度，vascular cuffing，
血管内皮成長因子の発現の臨床的意義に関する研究

分担研究者 平川 俊夫 九州大学医学部 産婦人科講師

研究要旨

〔目的〕 卵巣癌における微小血管密度(MVD)、vascular cuffing(VC)、血管内皮成長因子(VEGF)の発現と臨床病理学的パラメータの相関を論証することである。

〔方法〕 原発性卵巣癌 105 例の切除切片を用いて免疫組織化学染色法で血管像と VEGF 発現を調べた。

〔結果〕

高 MVD 群(MVD \geq 70)と VEGF 陽性群は早期癌(I、II 期)においてのみ予後(progression-free survival)良好であった。明細胞腺癌のみにおいて MVD と予後との有意な相関を認めた。complete VC 群は MVD と同様の傾向を示したが、統計学的に有意ではなかった。多変量解析では MVD が progression-free survival と相関した。

〔結論〕 卵巣癌では MVD が独立した予後因子であった。さらに明細胞腺癌では MVD が高値のものは予後が良好であった。血管新生の臨床病理学的役割は組織型を考慮に入れて検討する必要がある。

A. 研究目的

卵巣癌における微小血管密度(MVD)、vascular cuffing(VC)、血管内皮成長因子(VEGF)の発現と予後に関する臨床病理学的パラメータの相関を検討し、その臨床的意義を解明する。

B. 研究方法

1) 症例

1980年から1995年までに九州大学医学部付属病院産科婦人科で105例の原発性卵巣癌症例の初回治療を行った。境界悪性卵巣腫瘍と原発性腹膜癌は除外した。初回手術は腹式単純子宮全摘術、両側付属器摘出術、傍大動脈リンパ節生検、大網切除術、虫垂切除術から成った。1986年以降は初

回手術の定型術式として骨盤リンパ節郭清を併せて行った。骨盤リンパ節郭清は両側の外巔径、内巔径、閉鎖、総腸骨、上巔径リンパ節の摘出を含んだ。傍大動脈リンパ節生検は大動脈分岐部から腎血管の高さまで行った。大きい腫瘍がある場合はできる限りの摘出を行った。手術後はシスプラチン、アドリアマイシン、サイクロフォスファミドの併用化学療法を行った。手術進行期はFIGOの進行期分類で行い、I期が33例、II期が12例、III期が44例、IV期が16例であった。

2) 免疫組織化学法

CD-34 抗原を血管内皮細胞の免疫組織化学マーカーとして用いた。免疫組織化学的解析のために各症例の代表切片を抽出し、

ホルマリン固定パラフィン包埋標本に対して標準的なストレプトアビジン-ビオチン-ペロキシダーズ複合法（ヒストファイン SAB-PO キット；ニチレイ）をおこなった。まず 4 μ m の切片のパラフィンを除去し、加水してリン酸バッファ塩(PBS)に浸したのち 0.3%過酸化水素加メタノールに 30 分間浸透して内因性のペロキシダーズの反応をブロックした。血管内皮細胞の染色のために、抗原性の賦活化の目的でスライドを 37°C の 0.1%トリプシン加 PBS に 30 分間暴露し、マウス抗 CD-34 モノクローナル抗体（希釈 1:100、Novocastra Laboratories, Newcastle, UK)を一次抗体として用いた。PBS で三回洗浄した後ビオチン化ウサギ抗マウス IgG 抗体に暴露し、ついでアビジン-ペロキシダーズ複合体に浸透し、3,3'-ジアミノベンジジンテトラヒドロクロライドに暴露した。VEGF の染色には内因性ペロキシダーズのブロックの後、抗原性の賦活化のために 10mM クエン酸バッファ(pH 6.0)に浸透して 400W の電子レンジで 15 分間処理し、その後 10%ヤギ血清に 20 分間浸透した。そしてウサギ抗ヒト VEGF ポリクローナル抗体(希釈 1:200、Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)に 4°C下で一晩浸透した。妊娠 39 週の胎盤を陽性コントロールに用い、その他は上記の血管内皮染色と同じ過程を踏んだ。正常マウスあるいはウサギ IgG 抗体を陰性コントロールとして用いた。コントロール群の切片では有意な免疫組織化学反応は起こらなかった。

3) 評価

MVD は Weidner らの原法に基づき、浸潤癌の毛細血管や細静脈が単位面積あたり最も数が多い領域において光学顕微鏡で評価した。低倍率(40 倍と 100 倍)で腫瘍切片を走査して、単位面積あたりの CD34 で染色された微小血管の最も多い浸潤癌の領域を同定した。血管新生の最も高度な領域を同定した後、個々の微小血管数を 200 倍一

視野(対物 20 倍、対眼 10 倍、一視野 0.785mm²)で患者の予後の情報を得ずに計測した。茶色に染色した血管内皮細胞あるいは血管内皮細胞塊で、近接した微小血管、腫瘍細胞、結合組織と明確に分離されるものはすべて単一の計測されうる微小血管とみなした。結果は 200 倍一視野での最も多い微小血管数として表現した。

VC は顕微鏡的腫瘍包巣とその周囲の間質の間に沿った CD-34 陽性微小血管の数珠状配列として組織学的に定義した。VC の程度は以前述べたように三種類の型、すなわち“なし”、“不完全”、“完全”に分類した。腫瘍包巣の周りの上皮-間質間の微小血管がないか、わずかな場合は“なし”；首飾り様の微小血管鎖が明確に腫瘍包巣を完全に取り囲んでいる場合は“完全”；腫瘍包巣の周りを一部だけばらばらに微小血管鎖が囲んでいるものを“不完全”と分類した。

VEGF の免疫反応は以下のように分類した；陰性(-)：腫瘍細胞の 5%未満が染色されたもの、弱陽性(+)：腫瘍細胞の 5 から 49%が染色されたもの、強陽性：腫瘍細胞の 50%以上が染色されたもの。

VEGF と VC の評価もまた患者の予後の情報を得ずに行った。MVD、VC、VEGF 発現の評価の際の評価者間の相違を検討するために、著者(S.O.)は、共著者(T.K.)の評価と比較した。まずスライドを別々に評価し、その後対面顕微鏡を用いて二人の著者が評価が異なった症例について一緒に再評価した。

4) 統計解析

生存率は Kaplan-Meier 法を用いて算出し、log-rank テストで生存率の違いを評価した。血管新生に関しては、著者が高 MVD と低 MVD の境界を 40、50、60、70、80、90、または 100 と仮定し、70 が progression-free survival に対して最も有意な予後への影響を持っていた。progression-free survival に影響する変数すなわち年齢、

臨床進行期、組織型、MVD、VC、VEGF 発現について Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量解析した。すべての検定で P 値が 0.05 未満を有意差と判定した。

(倫理面への配慮)

倫理面での特別の配慮を必要とする研究手法(人体への侵襲、遺伝子情報の使用、動物実験など)は用いていない。

C. 研究結果

症例は 25 歳から 77 歳(平均 52 歳)であった。腫瘍の組織型は漿液性腺癌が 57 例、明細胞

腺癌が 22 例、粘液性腺癌が 17 例、類内膜腺癌が 9 例であった。

MVD の平均は 77 であった(21 から 244 まで)。MVD70 以上の群は早期(I-II 期)において progression-free survival が良好であった(log-rank, $P=0.003$)。進行症例(III-IV 期)では MVD は progression-free survival と相関しなかった。MVD と年齢、進行期、組織型との有意な相関を認めなかった。組織型については明細胞腺癌のみにおいて MVD が早期症例の progression-free survival との相関していた(log-rank, $P=0.0001$)。明細胞腺癌以外の組織型では MVD は progression-free survival との相関を認めなかった。

VC は“なし”が 31 例、“不完全”が 43 例、“完全”が 31 例であった。“完全”VC はより低い VC (“なし”あるいは“不完全”)と比較して早期症例において生存率が高い傾向を示したが統計学的に有意ではなかった(log-rank, $P=0.077$)。進行症例においては有意差を認めなかった。VC は MVD と有意に相関していた($P<0.0001$, Kruskal-Wallis test)。

VEGF 発現の強陽性は 49 例、弱陽性は 43 例、陰性は 13 例であった。早期症例では陽性例(弱陽性あるいは強陽性)は陰性例より progression-free survival が良好であ

った(log-rank, $P=0.005$)が、進行症例では両者に差を認めなかった。

Cox 比例ハザードモデルを用いた stepwise multivariate analysis では臨床進行期、年齢と MVD が progression-free survival に対して独立した相関を示した($P=0.0003$, $P=0.0010$ and $P=0.0214$, respectively)

D. 考察

卵巣癌では、血管新生の臨床病理学的役割はまだ充分知られていない。MVD と生存率との間に有意な相関がないとする複数の報告がある。Van Diest は進行卵巣癌において MVD が予後、進行期、腫瘍 grade、DNA ploidy と相関しないことを報告した。Abulafia と Nakanishi も同様に MVD が患者の予後と関連しないことを示した。

一方、高 MVD 値と不良な予後との相関を示した報告があるが、多変量解析では必ずしも MVD は予後との相関を認めていない。Hollingsworth は進行卵巣癌で微小血管数と進行期は progression-free survival および overall survival と相関することを報告した。多変量解析で overall survival は進行期が、progression-free survival は微小血管数が最も有意な予後規定因子であった。Gasparini は多変量解析で MVD が化学療法効果と相関することを示した。他の二つの報告では単変量解析では低 MVD は良好な予後と有意に相関するが、多変量解析では相関しなかった。

本研究で、我々は早期の明細胞腺癌において高 MVD が良好な progression free survival と有意に相関する事を見いだした。進行症例あるいは早期の明細胞腺癌以外の症例では MVD と予後との相関を認めなかった。本研究は MVD と予後との相関が組織型に依ることを最初に示した。

日本では明細胞腺癌は卵巣癌の中で漿液性腺癌に次いで二番目に多い組織型である;Fukunaga らは 28%(50/179 症例)、Jimbo

らは 19%(32/172 症例)、Sugiyama らは 15%(101/662 症例)と報告している。欧米での報告は 2 から 6 症例(2 から 14%)しか含んでいない。我々の症例は 22 症例(21%)が明細胞腺癌であった。

我々が知る限りでは VC に注目した報告は 3 つしかない。Guidi らは子宮頸部扁平上皮内病変と浸潤癌における血管構築を評価した。彼らは VC が腫瘍細胞からの VEGF mRNA の発現と有意に相関し、low-grade の上皮内病変あるいは正常扁平上皮と比較して浸潤癌あるいは high-grade の上皮内病変で有意に増加していることを示した。彼のもう一つの乳房の上皮内腺管癌についての報告では、VC は他の組織学的特徴と相関しなかった。我々の子宮頸部扁平上皮癌についての研究では、完全 VC 型は予後不良であった。

VC は血管新生のパラメータの一つであり、ある種の腫瘍では予後規定因子であると思われる。本研究では完全 VC 型は予後良好な傾向を示した。VC は MVD と有意な相関を持っており、MVD が独立した予後因子であるから、VC はあまり臨床像に影響しないのかもしれない。

卵巣癌において VEGF 発現が予後に影響するかどうかの評価は一定していない。Yamamoto らは 110 例の卵巣腫瘍の VEGF 発現を免疫組織学的に検討した。VEGF 強染色した症例は弱く染色されたあるいは全く染色されなかった症例よりも生存率が低かったが、多変量解析では VEGF は独立した予後因子ではないことが判明した。Nakanishi らの研究では VEGF の免疫反応と予後との関連を認めなかった。一方、別の二つの報告では VEGF 発現の増加は多変量解析で独立した予後不良因子であった。

本研究では早期の症例では VEGF 発現が強い症例は有意に予後が良好であった。我々は VEGF の発現が多くの場合(65/105 症例)、一枚のスライド上で不均一であることを見いだした(データ未発表)。従って、

この不均一さが MVD の場合と同様に、研究によって VEGF 発現と予後との関係に相違が大きい理由の一つかもしれない。本研究の結果はいくぶん今までの報告と矛盾したように見えるが、高 MVD、完全 VC と高 VEGF 発現がともに予後良好な傾向を示していることから我々はこの成績は信頼できるものと考えている。

数人の著者は高 MVD と良好な予後との正の相関を示している。Protopapa らは術後化学療法を行った乳癌症例において、高い微小血管数が良好な予後と相関することを示した。Kainz らは手術と一部術後放射線療法を行った Ib-IIb 期の子宮頸癌症例において高 MVD 群が有意に予後良好であることを見いだした。Kohno らは広汎子宮全摘術後に高圧動注化学療法を行った局所進行 (IIa-IVa)子宮頸癌において、生検材料の血管密度(40 μ m 以上の血管径) が治療が奏効した群では有意に高かったことを報告した。Volm らは肺非小細胞癌において *in vitro* で低 MVD と VEGF 低発現がドキシソルピシンに対する抵抗性と関係することを示した。Giatromanolaki らは局所進行頭頸部癌において血管新生と化学療法あるいは化学療法併用放射線療法の治療効果との関係を調べた。中程度の血管新生を示した症例で著効率が高く、local relapse-free survival と overall survival が良好であった。彼らは、これはふたつの血管に依存する因子、すなわち薬剤/酸素の効能と最適に酸素のある環境での癌細胞の再増殖能の結果かもしれないと推測している。これらの報告は、血管新生が治療に対する反応性を促進するかもしれないことを示唆している。

本研究では、二番目に多い組織型である明細胞腺癌症例において血管新生因子と progression-free survival との間に相関を認めた。明細胞腺癌の割合が多かったことから、日本人を元にした本研究と欧米からの研究との間で患者の予後に相違を認め

たのかもしれない。卵巣明細胞腺癌を含めてある種の腫瘍では血管新生は化学療法の効果に影響するかもしれない。いずれにせよ血管新生の臨床病理学的役割は組織型を考慮に入れて検討するべきである。

E. 結論

卵巣癌では MVD が独立した予後因子であった。さらに明細胞腺癌では MVD が高値のものは予後が良好であった。血管新生の臨床病理学的役割は組織型を考慮に入れて検討する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ogawa S, Kaku T, Kobayashi H, Hirakawa T, Ohishi Y, Kinukawa N, Nakano H: Prognostic significance of microvessel density, vesicular cuffing and vascular endothelial growth factor expression in ovarian carcinoma: a special review for clear cell adenocarcinoma. Cancer Lett 176:111-118, 2002

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし