

卵巣癌治療の個別化に関する基礎的研究

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

子宮内胎児発育のメカニズムと、発癌あるいは癌化のメカニズムが類似していることに着目し、反復流産の既往を有する卵巣癌患者の末梢リンパ球を用いて卵巣癌および流産に関与する遺伝子の単離を試み、卵巣癌患者の末梢リンパ球染色体切断点より得られた情報をもとに卵巣癌の発進展に関与すると考えられる KGF 遺伝子を単離し、卵巣癌臨床検体においても高率に発現していることを示した。

A. 研究目的

われわれは卵巣癌における key gene を見出すために、子宮内胎児発育のメカニズムと、発癌あるいは癌化のメカニズムが類似していることに着目し、反復流産の既往を有する卵巣癌患者の末梢リンパ球を用いて卵巣癌および流産に関与する遺伝子の単離を試みた。

B. 研究方法

卵巣癌患者 58 例の末梢リンパ球染色体分析を行い、染色体異常の有無を検討した。染色体切断点の同定は FISH 法を用いたポジショナルクローニングによった。さらに切断点の領域決定には FISH 法による YAC クローンで 1 次スクリーニングを行い、コスミッドクローンにより 2 次スクリーニングを行った。遺伝子単離同定における塩基配列決定にはショットガンシーケンス法を用いた。単離した候補遺伝子の臨床検体における検討は RT-PCR 法および免疫組織学的によった。

C. 研究結果

卵巣癌患者 58 例中 1 例に反復流産の既往を持つ患者があり、この患者のリン

パ球染色体において第 9 染色体逆位 inv(9)(p11q13)が見出された。この切断点を含む 57728bp におよぶ塩基配列を決定し、この塩基配列情報をもとにホモロジーサーチおよびエクソンサーチをかけたところ、この領域内には KGF 遺伝子が含まれており、この遺伝子のエクソン 3 に切断点があることが判明した。

臨床検体において KGF およびその受容体である KGFR の発現の増大はそれぞれ 70% (14/20)、74% (17/23)に認められた。

D. 考察

KGF-KGFR に関与するパスウェイは卵巣癌の発生進展に関与している可能性が強く示唆され、将来的に新たな分子標的治療薬のターゲットとなりうる。

E. 結論

卵巣癌患者の末梢リンパ球染色体切断点より得られた情報をもとに卵巣癌の発進展に関与すると考えられる KGF 遺伝子を単離し、卵巣癌臨床検体においても高率に発現していることを示した。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

本研究に関する論文は発表は本年度
はなし

他の発表論文は別添参照

2. 学会発表

第1回 日本婦人科がん分子標的治療
研究会学術集会 7月12日(金沢)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定
含)

なし

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）

分担研究報告書

獲得性シスプラチン耐性卵巣癌における転写因子 YB-1 の
核内発現の上昇に関する研究

分担研究者 平川 俊夫 九州大学医学部附属病院 産科婦人科講師

研究要旨

DNA 結合蛋白の一つである Y-box 結合蛋白(YB-1)の核内発現はシスプラチン耐性癌細胞株でシスプラチン感受性親株よりもはるかに高いことが最近報告され、核内の YB-1 がシスプラチン耐性を誘導しうることが推察された。そこで培養細胞株と手術標本を用いてヒト卵巣癌における核内 YB-1 とシスプラチン耐性との関連を検討した。

核および細胞質での YB-1 発現をウエスタンブロット法で検討したところ、シスプラチン耐性細胞株は感受性親株に比し核内 YB-1 発現が著しく亢進していた。手術標本での免疫組織化学染色で核内 YB-1 は原発巣に比し、再発巣で有意に高かった。

核内 YB-1 の発現は卵巣癌における獲得性のシスプラチン耐性と関連があることが示唆された。核内 YB-1 はシスプラチン感受性の有用な予知マーカーとなる可能性のみならず、シスプラチンを主剤とする化学療法により再発卵巣癌を治療する際の分子標的となる可能性も示唆された。

A. 研究目的

DNA 結合蛋白の一つである Y-box 結合蛋白(YB-1)の核内発現はシスプラチン耐性癌細胞株でシスプラチン感受性親株よりもはるかに高いことが最近報告されている。また、YB-1 のアンチセンスを導入した癌細胞ではシスプラチンに対する薬剤感受性は上昇するが、他の MDR 関連抗癌剤に対する感受性は変化しなかったことも報告されている。これらの知見より核内 YB-1 発現はおそらく P 糖蛋白による MDR 発現機構を介しない機序でシスプ

ラチン耐性に関与すると考えられた。

シスプラチンは高い抗腫瘍効果を有する抗癌剤として知られており、卵巣癌患者の生存率の改善に大きく寄与してきたが、シスプラチンを中心とした化学療法をもってしても卵巣癌のかなりが未だに再発する。そのため、卵巣癌において YB-1 とシスプラチン耐性との関連を解明することは重要であると考えられる。

以上より、本研究の目的を(1)ヒト卵巣癌細胞株を用いてシスプラチン耐性獲得後に核内 YB-1 発現が増加するかどうかを定量的な方法で確認すること、およ

び(2)YB-1 が獲得性薬剤耐性に関与していることを臨床的にも確認するためにシスプラチンを主剤とする化学療法後の再発卵巣癌病巣と同一患者におけるその原発巣との間で核内 YB-1 の発現を比較すること、とした。

B. 研究方法

1. ヒト卵巣癌の細胞株である KF とそのシスプラチン耐性細胞株である KFr を用い、核成分および細胞質成分を抽出するために遠心分離を行った。核内 YB-1 と細胞質内 YB-1 の発現を比べるために、全細胞よりの抽出物と核あるいは細胞質分画を同数の培養細胞から調整した。次いで、ウエスタンブロット解析により各々のサンプルから得られたバンドの強さをデンストメーターによって測定した。lamin B は核内に特異的に局在する代表的蛋白のため、核分画と細胞質分画が適切に分離できていることを確認するために用いた。
2. 初回手術と再発手術の 2 回で腫瘍検体が採取された 35 例の卵巣癌手術標本を用いて抗 YB-1 抗体による免疫組織化学染色を行った。腫瘍切片で細胞質のみに YB-1 が同定できるものを核 YB-1 陰性例とした。一方、核が強く染色され細胞質は弱く染色されるものを核 YB-1 陽性例とした。また、統計学的解析にはウィルコクソン順位和検定を用い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意とした。

C. 研究結果

1. シスプラチン感受性親株である KF では核分画の YB-1 バンドの強さは細胞質分画のそれと比較して 1.02 倍でほぼ同レベルであった。一方、シスプラチン耐性亜株である KFr では核の YB-1 バンドの強さは細胞質分画のそれより 1.63 倍高値であった。核蛋白である lamin B は細胞質分画には認められず、核成分のみで認められ、KF と KFr

のいずれの場合でも核と細胞質が適切に分離できていることが確認された。

2. 原発(未治療)病巣と再発(化学療法後)病巣の核内 YB-1 発現の態様によって 4 グループに分けた。35 例中 14 例(40%)は原発巣および再発巣ともに YB-1 陽性(陽性→陽性不変群)であった。10 例(29%)は原発巣では陰性であったが、再発巣では陽性(陰性→陽性変化群)となった。一方、わずか 2 例(6%)が原発巣が陽性であるにもかかわらず、再発巣で陰性(陽性→陰性変化群)であった。9 例(26%)は原発巣および再発巣ともに陰性(陰性→陰性不変群)であった。これら同一患者での原発巣と再発巣を解析した結果より、YB-1 の核内発現は原発巣より再発巣で有意に高いことが確認された(Wilcoxon signed rank test、 $p=0.02$)。

D. 考察

シスプラチン耐性卵巣癌細胞株である KFr はシスプラチン感受性親株 KF との比較によりシスプラチン耐性を獲得する過程で核内の YB-1 が明らかに上昇し、細胞質内の YB-1 が減少すると考えられた。

シスプラチン耐性卵巣癌における手術標本では 29%(10 例)は原発巣で核内 YB-1 は陰性であったが、シスプラチン治療後の再発巣では陽性となった(陰性→陽性変化群)。また、40%(14 例)の(陽性→陽性不変群)においても原発(化学療法前)病巣より、再発(化学療法後)病巣においてより強い核内 YB-1 の染色性を認める傾向にあった。一方、‘陽性→陰性変化群’は 2 例(5%)と非常に少数であった。本研究における 4 グループ全ての統計学的解析の結果は卵巣癌においては YB-1 の核への局在とシスプラチン耐性の獲得の間には関連があるとの仮説を支持

するものであった。

シスプラチン耐性には様々な機序が関与していることが報告されている。即ち(1) thioredoxin を含む分子によるシスプラチンの不活化、(2)topoisomerase 1 などの分子による DNA 修復の亢進、(3)glutathione 抱合後の細胞外排出、あるいは cMOAT として単離、同定された細胞外への移送ポンプによる細胞内薬剤濃度の減少などが報告されている。これらの機序の中で YB-1 は DNA 修復に関連すると考えられる。また、YB-1 は紫外線や抗癌剤などの細胞外からの外的ストレスにより腫瘍細胞の細胞質から核内へと移動することが報告されており、さらに、YB-1 のアンチセンスを導入した口腔癌細胞株ではシスプラチンに対する感受性が増強したが、MDR 関連薬剤のビンクリスチンとドキシソルビシンおよびトポイソメラーゼ標的薬剤の CPT-11 とエトポシドに対する薬剤感受性は変化はなかったことも知られている。これらの報告からヒト卵巣癌における YB-1 の核内局在の上昇はおそらく YB-1 が増強する DNA 修復能を介しての獲得性シスプラチン耐性の‘原因’となりうると考えられた。

E. 結論

卵巣癌治療において YB-1 は(1)再発病巣におけるシスプラチン感受性の有用な指標となる可能性と、(2)シスプラチン化学療法後の再発病変を治療する際の分子標的となる可能性が考えられた。本研究はシスプラチン耐性を獲得した再発卵巣癌に対するセカンドライン化学療法の進歩に寄与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yahata H, Kobayashi H, Kamura T, Amada S, Hirakawa T, Kohno K, Kuwano

M, Nakano H: Increased nuclear localization of transcription factor YB-1 in acquired cisplatin-resistant ovarian cancer. J Cancer Res Clin Oncol 128:621-626, 2002

2. Ohishi Y, Oda Y, Uchiyama T, Kobayashi H, Hirakawa T, Miyamoto S, Kinukawa N, Nakano H, Kuwano M, Tsuneyoshi M: ATP-binding cassette superfamily transporter gene expression in human primary ovarian carcinoma. Clin Cancer Res 8:3767-3775, 2002

2. 学会発表

なし

- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定)

なし

上皮性卵巣癌の予後改善に関する研究

分担研究者 安田 允 東京慈恵会医科大学附属柏病院 産婦人科教授

研究要旨

CDDP の腹腔内投与法による CAP 併用療法は上皮性卵巣癌の進行癌症例にも有効であり、III期卵巣癌の 5 年生存率は 52%と良好であった。一方、近年開発された Paclitaxel と Carboplatin との併用療法の pilot-phase I study では、Paclitaxel は 150-180mg/m²、CBDCA を AUC=4-7 まで dose escalation を行った。また、再発、不応上皮性卵巣癌に対する weekly Paclitaxel+Carboplatin 併用化学療法での至適投与量を Paclitaxel 80mg/m²、CBDCA AUC=2 とした。その他副作用も重篤なものは確認されなかった

A. 研究目的

上皮性卵巣癌は近年増加傾向にあり、早期診断の困難さから進行癌症例が多く、その予後は不良である。我々は本腫瘍の予後改善のためには何が重要かを retrospective に検討する。

B. 研究方法

東京慈恵医大柏病院産婦人科にて各種抗癌剤治療を行った上皮性卵巣癌の予後を後方視的に検討した。また、摘出材料の一部を多目的酸素電極装置を用い、新しい感受性試験を開発し、上皮性卵巣癌の感受性試験と一次奏効率を検討した。なお、摘出材料の感受性試験は患者の同意のもと実験に供された。

C. 研究結果

CDDP の腹腔内投与法による CAP 併用療法は上皮性卵巣癌の進行癌症例にも有効であり、III期卵巣癌の 5 年生存率は 52%と良好であった。一方、近年開発された Paclitaxel と Carboplatin との併用療法の pilot-phase I study では、Paclitaxel は 150-180mg/m²、CBDCA を AUC=4-7 まで dose escalation を行った。非血液毒性の発現は大部分 grade 1 であった。一方血液毒性は grade 3 以上で白血球減少 15 症例中 5 例、好中球減少 5 例、血小板減少は 0 例であった。以上の成績より本邦における TJ 療法の推奨用量は TXL 180mg/m²、CBDCA AUC=6 と判断した。また、再発、不応上皮性卵巣癌に

対する weekly Paclitaxel+Carboplatin 併用化学療法での至適投与量を Paclitaxel 80mg/m²、CBDCA AUC=2 とした。その他副作用も重篤なものは確認されなかった。以上のことから weekly Paclitaxel + Carboplatin 療法は外来治療が可能であり、腫瘍効果(21.4 R.R)も期待される。

D. 考察

1980年代に Paclitaxel の卵巣癌に対する phase I study が実施され、その結果 30%の奏効率が確認された。そのうち、白金製剤に抵抗性を示す患者に対しても 24%の奏効が認められた。その後、1992年、Gynecologic Oncology Group (GOG)は、それまで上皮性卵巣癌の標準的治療であった CAP 療法 (Cyclophosphamide, Cisplatin, Adriamycin)と Paclitaxel と CDDP 併用療法(TP 療法)を first line として比較する臨床試験(GOG-111)を開始した。その結果、TP 療法が優れていることが確認された。その後、TP 療法と TJ 療法の比較試験が行われ(AGO trial)、効果は同等であるが、副作用で神経毒性が TJ で軽微であり、TJ に多い血液毒性は G-CSF などの支持療法で克服できることなどにより、TJ 療法が上皮性卵巣癌の first line chemotherapy として確立されてきた。また、今回の weekly TJ 療法の検討では再発、不応卵巣癌に有効な治療法であることが確認された。しかし、本邦における研究は今まだ十分といえず、種々の試みが必要である。一方、酸素電極を用いた抗癌剤感受性試験は基礎的実験と臨床実験を同時に進むべきと考えている。

E. 結論

上皮性卵巣癌の予後向上のためには、手術療法、その後の化学療法を適正に使用することにより奏効率の良い結果が認められ、その成績が予後向上につながると考えられる。その点からも、より有効な抗癌剤の選択は重要で、感受性試験が重要となってくる。また、今後標準的化学療法の確立が必要となる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1)木村英三、三沢昭彦、田部宏、鈴木永純、小林重光、安田允、田中忠夫、石川博：多目的酸素電極装置を用いた抗癌剤感受性試験法の開発、産婦人科の世界 59：191-199, 2002
- (2)西井寛、安田允、和知敏樹、木村英三、落合和彦、落合和徳、田中忠夫：Second line chemotherapy を要した難治性卵巣癌の後方視的検討、日本産婦人科学会誌 54：1429-1436, 2002
- (3)Yasuda M, Kobayashi S, Kikuchi Y, Kuramoto H, Ohta Y, Tsunoda H, Inaba N, Hata T, Kimura E. A Phase II study of combination chemotherapy with Docetaxel and Carboplatin for epithelial ovarian cancer. IGCS (a): 177-181, 2002
- (4)安田允、和知敏樹、林博、齊藤元章：卵巣癌Ⅲ期症例に対する CAP 腹腔内療法と TJ 療法の比較検討。産婦人科治療 85：710-714, 2002

2. 学会発表

- (1)和知敏樹、種元智洋、堀江裕美子、

- 橋本朋子、杉本公平、小林重光、安田允、田中忠夫：卵巣癌Ⅲ期症例に対する CAP 療法(ip)と TJ 療法の比較—TJ 療法は CAP 療法を越えられるか—第 54 回日産婦総会 (H14 年 4 月、東京)
- (2)木村英三、安田允、落合和徳、田中忠夫、喜多恒利、菊池義公、青木大輔、野沢志朗、角田肇、吉川裕之、上皮性卵巣癌に対する Paclitaxel + Carboplatin 併用化学療法の phase I study 登録症例に関する予後の検討第 54 回日産婦総会 (H14 年 4 月、東京)
- (3)齊藤絵美、種元智洋、堀江裕美子、橋本朋子、和知敏樹、杉本公平、小林重光、安田允、田中忠夫、卵巣癌における微小残存腫瘍細胞(MRD)のサイトケラチン(CK20)を用いた評価検討第 54 回日産婦総会 (H14 年 4 月、東京)
- (4)高梨裕子、安田允、木村英三、落合和彦、磯西成治、田中忠夫、上皮性卵巣癌患者における DJ の有用性第 40 回日本癌治療学会総会(H14 年 10 月、東京)
- (5)平間正規、中島邦宣、高田全、柳田聡、杉本公平、和知敏樹、篠崎英雄、小林重光、安田允、田中忠夫、再発、不応悪性上皮性卵巣癌に対する weekly Paclitaxel+Carboplatin 併用化学療法 phase I study 最終報告第 40 回日本癌治療学会総会 (H14 年 10 月、東京)
- (6)Yasuda M, Kobayashi S, Kikuchi Y, Kuramoto H, Ohhata Y, Inaba N, Kimura E. A study of combination chemotherapy with Docetaxel and Carboplatin for epithelial ovarian cancer (2002 年 10 月、Seoul)
- (7)Yamada K, Yasuda M, Hashimoto H, Tachibana T, Suzuki N, Tanabe H, Misawa A, Ishiwata I, Tanaka T, Ishikawa H. Establishment and characterization of nerve cell line delivered from juvenile ovarian immature teratoma (15th international symposium of Japan Human Cell)
- (8)Ishikawa H, Yasuda M, Kimura E, Tachibana T, Ishiwata I, Hashimoto H, Tanaka T Establishment of E1, E2 and progesterone secreting human granulosa cell line (JHOMS) expressing follicle stimulating hormone receptors. — special reference to oocyte growth in vitro — (15th international symposium of Japan Human Cell)
- (9)Tanabe H, Kimura E, Yasuda M, Hashimoto H, Tanaka T, Ishikawa H. New method for anticancer agent susceptibility test using oxygen electrodes in various types of gynecological cancer (15th international symposium of Japan Human Cell)
- (10)小林重光、安田允、菊池義公、喜多恒和、蔵本博行、上坊敏子、大蔵健義、太田順子、吉川裕之、角田肇、上皮性卵巣癌に対する Docetaxel(DOC)と Carboplatin(CBDCA)併用化学療法の検討—中間報告— 第 32 回日本婦人科腫瘍学会 (H14 年 7 月、北九州)
- (11)杉本公平、岩崎稚子、堀江裕美子、柳田聡、和知敏樹、平間正規、小林重光、神谷直樹、安田允、田中忠夫、TJ

療法中に RPLS を呈した卵巣原発小細胞癌の一例 第 32 回日本婦人科腫瘍学会 (H14 年 7 月、北九州)

- (12) 鈴木永純、木村英三、田部宏、三沢昭彦、高梨裕子、小林重光、安田允、石川博、田中忠夫. 卵巣癌培養細胞より得た subclone における抗癌剤感受性の多様性と化学療法後再発との関連／酸素電極法を用いた感受性試験の応用 第 61 回日本癌学会総会 (H14 年 10 月、東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

なし

卵巣癌に対する weekly TP(paclitaxel/cisplatin)療法に関する研究

分担研究者 日浦昌道 国立病院四国がんセンター婦人科医長

研究要旨

再発例を含む卵巣癌 32 例に対して dose intensity (DI)を高めた paclitaxel (TXL) / cisplatin (CDDP)の weekly 投与を行った。年齢は 37~73 (平均 51) 歳, 化学療法は, TXL/CDDP(mg/m²): 60~70/30~40 を 1 日目, 8 日目, 15 日目に投与, 22 日目は休薬し, 28 日間を 1 コースとした。抗腫瘍効果は, 初回治療で評価病変を有する 7 例中 complete response (CR) 4 例, partial response (PR) 2 例, no change (NC) 1 例で, 奏効率は 85%, 再発例で評価病変を有する 8 例中 CR 7 例, NC 1 例で, 奏効率は 87%であった。全症例の有害反応をみると, grade3 以上の白血球減少は 19 例(59%), grade3 以上の血色素低下は 14 例(44%), 内 2 例に濃厚赤血球の輸血を施行, grade3 以上の血小板減少は 1 例(3%)にみられた。grade2 以上の悪心・嘔吐は 3 例(9%), grade1 の関節痛, 末梢神経障害は, それぞれ 3 例(9%), 11 例(34%), grade1 の肝機能障害は 2 例(6%)で, grade2 の脱毛は全例にみられた。

本法は血液毒性に注意しながら, 安全に施行でき, 再発例および初期治療例においても十分な抗腫瘍効果が認められた。

A. 研究目的

Paclitaxel (TXL)は, 再発卵巣癌に対して 36%の奏効率が得られ¹⁾, 再発卵巣癌の治療薬として 1992 年に承認された。その後, 白金製剤との併用療法の有用性が国際的に認められ, CAP 療法に代わる標準的治療として普及してきた²⁾。しかし, その投与方法や投与量に関しては未だ議論のあるところである。

今回, 再発例を含む卵巣癌に対して dose intensity (DI)を高めた TXL/cisplatin (CDDP)の weekly 投与を

行い, 安全性・有効性について検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は, 1998 年以降に国立病院四国がんセンターで, 病理組織学的に卵巣癌と診断された 32 例である。対象症例の選択基準は, ①組織学的に原発性卵巣癌が確認されているもの, ②化学療法が 2 コース以上投与可能と思われるもの, ③年齢 18~75 歳, ④performans status(PS)0~2, ⑤肝臓・腎臓・心臓・骨髄機能が

正常なもの、⑥活動性の重複癌のないもの、⑦重篤な合併症のないもの、⑧妊婦または妊娠している可能性のものは除く、⑨文書による同意が得られたものとした。年齢は 37~73 (平均 51) 歳、FIGO 進行期は、I 期:10 例、II 期:5 例、III 期:11 例、IV 期:6 例、組織型は、漿液性腺癌:16 例、類内膜腺癌:10 例、明細胞腺癌:5 例、粘液性腺癌:1 例、また、performance status (PS) は 0:30 例、2:2 例であった。

投与方法は、TXL/CDDP を 1 日目、8 日目、15 日目に投与、22 日目は休薬して 28 日間を 1 コースとし、2 コース以上の投与を原則とした。投与スケジュールは、前投薬として、TXL 投与 30 分前に dexamethasone 10mg 静注、ranitidine 50mg 静注、diphenhydramine 50mg 経口投与した後、TXL ($60\sim 70\text{mg}/\text{m}^2$) を 1 時間、CDDP ($30\sim 40\text{mg}/\text{m}^2$) を 2 時間で点滴静注した。用量設定に関しては、TXL は $40\sim 100\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ で設定されることが一般的で^{3), 4)}、また CDDP は抗腫瘍効果を得るには $20\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ は必要とされ⁵⁾、併用療法では $25\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ が多い⁶⁾。以上から、最低投与量は TXL を $60\text{mg}/\text{m}^2$ ($45\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$)、CDDP を $30\text{mg}/\text{m}^2$ ($22.5\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$) とした。また評価病変を有する初回治療 7 例、再発 8 例では奏効率を検討した。

(倫理面への配慮)

本治療を受けなくても不利益を受けないこと、いつでも治療は希望により中止できることなどの倫理面への配慮を行った。

C. 研究結果

1. 抗腫瘍効果

評価病変を有する初回治療 7 例では、臨床進行期:IIIc 期-4 例、IV 期-3 例(試

験開腹)、組織型:漿液性腺癌-5 例、類内膜癌-2 例、抗腫瘍効果:complete response (CR) 4 例、partial response (PR) 2 例、no change (NC) 1 例で、奏効率は 85%(6/7)であった。評価病変を有する再発治療の 8 例では、臨床進行期:IIb 期-1 例、IIIb 期-1 例、IIIc 期-4 例、IV 期-2 例、組織型:漿液性腺癌-7 例、類内膜癌-1 例、抗腫瘍効果:CR 7 例、NC 1 例で、奏効率は 87%(7/8)であった。既往化学療法は白金製剤を中心とする併用療法が全てになされ、そのうち TXL と白金製剤の併用療法は 5 例であった。

2. 有害反応

有害反応の判定は、Common Toxicity Criteria に従った⁸⁾。全症例の有害反応をみると、grade3 以上の白血球減少は 19 例(59%)、grade3 以上の血色素低下は 14 例(44%)、2 例に濃厚赤血球の輸血を施行、grade3 以上の血小板減少は 1 例(3%)にみられた。消化器障害では、grade2 以上の悪心・嘔吐は 3 例(9%)、下痢は認められなかった。grade1 の関節痛、末梢神経障害は、それぞれ 3 例(9%)、11 例(34%)、grade1 の肝機能障害は 2 例(6%)で、grade2 の脱毛は全例にみられた。

D. 考察

進行卵巣癌に対する初回化学療法は、国際的にも TXL と carboplatin(CBDCA)あるいは CDDP との併用療法が標準的治療となっているが、TXL の投与時間、投与量と臨床効果、有害反応に関する検討がいろいろなされている。初回化学療法での無効例や再発例に対する second-line chemotherapy も確立されたものはない。

このような背景から、我々は、再発卵巣癌および初回治療例に対して DI を高め

た TXL/CDDP の weekly 投与を施行し、安全性・有効性を検討した。

再発卵巣癌に、TXL135 mg/m²と 175 mg/m²、3 時間投与と 24 時間投与を組み合わせた 4 グループの比較試験が行われ⁹⁾、生存率では 4 グループとも差はなく、175 mg/m²、24 時間投与が最も有効率が高かったが、骨髄抑制が強く認められた。有効率からは、175 mg/m²、24 時間投与が有効と結論づけている。国内臨床第 II 相試験¹⁰⁾においては、再発および白金製剤不応卵巣癌に TXL:210 mg/m²/3 時間、3 週間毎投与で、奏効率 29.8%が得られている。前治療に TXL と platinum 製剤の投与された症例で、前治療から 6 ヶ月以上間隔のあいた再発卵巣癌に対し、TXL:135 mg/m²/24 時間と CBDCA:AUC5~6 の併用療法で、90%の奏効率が報告され¹¹⁾。組み合わせる白金製剤に関する検討では、CBDCA より、CDDP 併用の方が有効との指摘もある¹²⁾。また、TXL の投与方法に関しては、Fennelly ら⁴⁾は、進行卵巣癌 18 例に TXL 単剤 (40, 50, 60, 80, 100 mg/m²) の weekly 投与を行い、評価病変を持つ 13 例中 4 例 (40 mg/m²: 1 例, 60 mg/m²: 2 例, 100 mg/m²: 1 例) の 30.7%に PR を認め、さらに TXL の 3 週間毎投与で PD であった 2 例にも有効であったと報告している。同時に有害反応に関しては、白血球の最低値の平均は 4,000/ μ l、血小板減少はなく、TXL の増量によって骨髄抑制が増強されず、脱毛は 1 例に、grade3 の末梢神経障害を 4 例に認めている。

現時点では、①TXL は再発卵巣癌に有効であり、CDDP 耐性、あるいは CDDP 抵抗性の卵巣癌患者に対して有効なレジメ

ンがない、②TXL/CDDP の 3 週間毎投与で末梢神経障害の軽減のためは、3 時間投与よりは 24 時間投与であるが、好中球減少に関しては 3 時間投与の方がよい⁹⁾、③TXL と CDDP の交差耐性はなく、一部の副作用の出現のみである¹³⁾、④進行卵巣癌に対して、TXL 単剤の weekly 投与が有効かつ有害反応が軽度である⁴⁾、⑤進行卵巣癌に対する TXL/CDDP の隔週投与で DI においても 3 週間毎投与の標準的治療をしのぐメリットは認められない¹⁴⁾、⑥TXL¹⁵⁾と CDDP⁵⁾における DI の有用性が考慮される。以上よりわれわれは、DI を高めた TXL/CDDP の weekly 投与を計画し、再発卵巣癌および初回治療例において有効性および安全性を検討した。

TXL/CDDP の weekly 投与の成績は、奏効率 87%と Goldberg らが行った TXL/CDDP の 3 週間毎投与での奏効率 53%に比べ¹⁶⁾、良好であった。再発例は、8 例がプラチナ製剤を主体とする化学療法後 6 ヶ月以上経過後再発しており、5 例に TXL/CDDP (CBCCA) が投与されていた。また試験開腹例においても 2 例はよく奏効しており、DI を高めた抗腫瘍効果を期待する本投与方法の有用性が示唆された。奏効例はいずれも 2~3 コースの投与後に効果が得られており、効果判定には少なくとも 3 コースの投与が必要であると考えられた。

本法の全症例での有害反応をみると、grade3 以上の白血球減少は 19 例 (59%)、grade3 以上の血色素低下は 14 例 (44%)、2 例に濃厚赤血球の輸血を施行、grade3 以上の血小板減少は 1 例 (3%) にみられた。grade2 以上の悪心・嘔吐は 3 例 (9%)、grade1 の関節痛、末梢神経障害は、それ

全例にみられたが重篤な有害反応は認められなかった。しかし、TXL の末梢神経障害の発現には、用量依存的傾向があるといわれ¹³⁾、今後の長期間の観察が必要である。

DI を高めた TXL/CDDP の weekly 投与の抗腫瘍効果については症例数が少なく、さらに検討を要するが、有害反応は TXL の3週間毎投与よりも軽度で、患者の QOL はかなり改善されている。したがって、TXL/CDDP の weekly 投与は、再発例のみならず初回進行例においても有用かつ安全な投与方法で、QOL を考慮した外来投与の可能性が今後期待される。

文献

1)Thigpen T, Blessing J, Ball H, et al: Phase II trial of taxol as second-line therapy for ovarian carcinoma : A gynecologic oncology group study. Proc ASCO 9 : 156, 1990.

2)McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, et al: Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. N Engl J Med 334 : 1-6, 1996.

3)Abu-Rustum NR, Aghajanian C, Barakat RR, et al: Salvage weekly paclitaxel in recurrent ovarian cancer. Semin Oncol 24 : S15-62-S15-67, 1997.

4) Fennelly D, Aghajanian C, Shapiro F, et al; Phase I and pharmacologic study of paclitaxel administered weekly in patients with relapsed ovarian cancer. J Clin Oncol 15 : 187-192, 1997.

5)Simon R and Karn El; Selecting drug

combination based on total equivalent dose (dose intensity). J Natl Cancer Inst 82 : 1469-1476, 1990.

6)Pronzato P, Bertelli G, Vigan A, et al: A feasibility study of accelerated polychemotherapy with cisplatin, epidoxorubicin and cyclophosphamide (PEC) in advanced ovarian cancer. Br J Cancer 73 : 1425-1427, 1996.

7)日浦昌道, 小川一誠, 野澤志朗・他: 進行・再発卵巣がんに対する High Dose CEP(Cyclophosphamide, Epirubicin, Cis-platinum)療法の Pilot Trial. 癌と化学療法 27 : 585-591, 2000.

8)National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-CTC Version 2.0, Jan, 30, 1998.)

9)Eisenhauer EA, ten Bokkel-Huinink WW, Swenerton K, et al. European-Canadian randomized trial of paclitaxel in relapsed ovarian cancer : high-dose versus low-dose and long versus short infusion. J Clin Oncol 12 : 2654-2666, 1994.

10)野田起一郎, 池田正典, 工藤隆一・他: Paclitaxel(BMS-181339)の卵巣癌患者に対する臨床第II相試験 (3時間点滴静注). 癌と化学療法 23 : 317-325, 1996.

11)Rose PG, Fusco N, Fluellen L, et al: Second-line therapy with paclitaxel and carboplatin for recurrent disease following first-line therapy with paclitaxel and platinum in ovarian or peritoneal carcinoma. J Clin Oncol 16 : 1494-1497, 1998.

12)DuBois A, Lueck HJ, Meier W, et al:

Cisplatin/Paclitaxel vs Carboplatin / Paclitaxel in ovarian cancer ; Update of an Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) Study Group Trial. Proc ASCO : 1374, 1999.

13) Eric KR and Ross CD : PACLITAXEL (TAXOL). N Engl J Med 332 : 1004-1014, 1991.

14) Swenerton K, Hoskins P, Stuart G, et al : A phase I study of bi-weekly paclitaxel / cisplatin as initial therapy for advanced ovarian cancer. Ann Oncol 7 : 1077-1079, 1996.

15) Hudis CA : The current state of adjuvant therapy for ovarian cancer : Focus on paclitaxel. Semin Onco 26 : 1-5, 1999.

16) Goldberg JM, Piver MS Hempling RE, et al : Paclitaxel and cisplatin combination chemorthrapy in recurrent epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol 63 : 312-317, 1996.

E. 結論

DIを高めたTXL/CDDPのweekly投与は有用かつ安全な投与法で、その抗腫瘍効果については再発例、初回治療例の奏効率は85%、87%と良好で、有害反応ではTXLの末梢神経障害は軽度で、患者のQOLはかなり改善されている。血液毒性に注意しながら、安全に施行でき、TXL使用後の再発例および試験開腹例においても十分な抗腫瘍効果が認められた。奏効例はいずれも2~3コースの投与後に効果が得られており、効果判定には少なくとも3コースの投与が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 日浦 昌道、伊藤 啓二郎、野河 孝充 : 子宮海頸癌における各種腫瘍マーカー測定の臨床的意義. 産婦人科治療 85(2):240-245, 2002.
- 2) 日浦 昌道、野河 孝充 : 特集 子宮体癌の早期診断法のコツ子宮鏡の手技と実際—とくに注意点とコツ—産婦人科の実際 51(7):959-965, 2002.
- 3) 温泉川 真由、日浦 昌道. 他 : 子宮頸癌 Ib 期、IIb 期に対する術後照射と補助化学療法と比較検討. 産婦人科の実際 51(7):1039-1045, 2002.
- 4) 温泉川 真由、日浦 昌道. 他 : 外陰粘液癌の一例. 日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会雑誌. 50(2): 121-125, 2002.
- 5) 横山 隆、日浦 昌道. 他 : IV 期卵巣癌の治療成績と予後因子. 日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会雑誌. 51(1): 30-34, 2002.
- 6) 日浦昌道、野河 孝充 : 婦人科領域の洗浄細胞診. 体腔液細胞診アトラス—体腔液細胞診の理解のために—(海老原善郎、亀井敏昭編集) 篠原出版社 pp153-160, 2002.
- 7) M Hiura et al: A Long-Term Survival in Patient with Para-Aortic Lymph Node Metastases from Endometrial Carcinoma by Postoperative Adjuvant Chemotherapy. 9th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer

Society. Monduzzi Editore S.p.A.

Medimond Inc. pp189-193, 2002.

- 8) T Nogawa, M Hiura et al: Weekly Low Dose Paclitaxel and Cisplatin as Neoadjuvant Chemotherapy for Uterine Cervical Cancer. 9th Biennial Meeting of the International Gynecologic Cancer Society. Monduzzi Editore S.p.A. Medimond Inc. pp53-156, 2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

卵巣癌における血管新生因子に関する研究

分担研究者 藤井 恒夫 国立病院呉医療センター 産婦人科医長

研究要旨

卵巣癌組織における Thrombospondin(TSP)の発現と血管新生の関連について検討した。その結果、TSP 発現スコアの増加に伴い血管新生の指標である微小血管密度 (microvessel density: MVD) 値は減少した。また、血管新生促進因子である VEGF との関係で、VEGF 陽性 TSP 陰性例の MVD 値が VEGF 陰性 TSP 陽性例に比し高値であった。これらのことから卵巣癌において腫瘍細胞から産生される TSP は血管新生抑制因子として重要である可能性が示唆された。

A. 研究目的

血管新生は多くの癌の増大や浸潤、転移に深く関係しており、癌における血管新生因子の発現やこれを標的とする新しい治療法が検討されている。血管新生因子の発現を検索して卵巣癌の進展機構を明らかにし、新しい治療法の開発を目指す。これまでの研究で卵巣癌において腫瘍細胞から産生される vascular endothelial growth factor(VEGF)は血管新生促進因子として重要である可能性を指摘してきた。今回は卵巣癌における Thrombospondin(TSP)の発現と血管新生の関連について検討した。

B. 研究方法

患者の同意を得た上で、卵巣癌 71 例（臨床進行期；I期 27 例、II期 10 例、III期 28 例、IV期 6 例、組織型；漿液性腺癌 26 例、粘液性腺癌 16 例、類内膜腺癌 17 例、明細胞腺癌 12 例）の手術時摘出標本を対象として、抗 VEGF 抗体および抗 TSP 抗体を用いた免疫組織学的染色

を行い、VEGF および TSP の発現を腫瘍部と間質部に分けて検討した。VEGF および TSP の発現は腫瘍部もしくは間質部に観察された場合を陽性、いずれにも観察されなかった場合を陰性とした。また、TSP については腫瘍部、間質部を陽性、弱陽性、陰性の 3 段階に分類し、それぞれ 0、1、2 点でスコア化し評価した。血管新生に関しては抗 CD34 抗体を用いた免疫染色を行い、染色された微小血管を光学顕微鏡下でカウントし、微小血管密度 (microvessel density: MVD) として算出した。

C. 研究結果

表 1 に卵巣癌組織における VEGF および TSP の発現率を示した。卵巣癌組織における VEGF、TSP の発現率を腫瘍部、間質部の部位別に分けて評価すると、腫瘍部で VEGF70.4% (50/71)、TSP 63.4% (45/71)、間質部で VEGF36.6%(26/71)、TSP84.5%(60/71)であった。表 2 に卵巣癌組織における MVD の結果を示した。卵巣

癌組織における MVD の mean±SE は 65.7 ±4.2 となり、臨床進行期別 MVD は I 期 76.4±7.5、II 期 48.5±12.8、III 期 65.7 ±5.8、IV 期 45.8±8.3 であり、臨床進行期との関連は認められなかった。組織型別検討では粘液性腺癌において MVD は 87.5±11.4 を示し、漿液性腺癌の 57.4 ±5.3 および明細胞腺癌の 56.2±10.6 と比較して血管密度が有意に高値であった (粘液性腺癌 vs. 漿液性腺癌; p<0.01, 粘液性腺癌 vs. 明細胞腺癌; p=0.02, Fisher の PLSD 検定)。VEGF、TSP の発現率と臨床進行期、組織型の間には、特定の相関は認められなかった。卵巣癌組織における TSP 発現スコアと血管新生の指標である MVD 値との関係を表 3 に示した。TSP 発現スコアの増加に伴い、MVD 値は減少した。また、VEGF、TSP の発現と血管新生の指標である MVD 値との関係を検討した結果を表 4 に示した。VEGF 陽性 TSP 陰性例は VEGF 陰性 TSP 陽性例に比し、MVD 値は高値であった。

D. 考察

血管新生が癌の増大や浸潤、転移に深く関わっていることは周知の事実であり、これまでに様々な血管新生促進因子、抑制因子が発見されてきた。前回の検討で著者は卵巣癌において VEGF、platelet-derived endothelial growth factor (PDGF) の発現と血管新生の関連について検討し、腫瘍細胞から産生される VEGF が血管新生促進として腫瘍の血管新生に密接に関与していることが予想された。今回は同一検体を用いて血管新生因子である VEGF と血管新生抑制因子である TSP の関連ならびに血管新生について検討した。

今回、TSP については腫瘍部、間質部を陽性、弱陽性、陰性の 3 段階に分類し、それぞれ 0、1、2 点でスコア化し評価

したが、その結果、TSP 発現スコアの増加に伴い MVD は減少した。このことから卵巣癌で腫瘍細胞から産生されている TSP は血管新生抑制因子として働いている可能性が予想される。また、VEGF との関係で、VEGF 陽性 TSP 陰性例の MVD 値が VEGF 陰性 TSP 陽性例に比し高値であったことから同様のことが考えられる。

E. 結論

卵巣癌において腫瘍細胞から産生される TSP は血管新生抑制因子として重要である可能性が示唆された。腫瘍血管新生には複数の促進因子のみならずいくつかの抑制因子も複雑に絡み合っていることが予想される。それらの因子が腫瘍の浸潤、転移、また予後等にいかに関与しているか、さらに検討したいと考えている。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. N Nagai, T Fujii, et al., Tumor dihydropyrimidine dehydrogenase activity in advanced cervical carcinoma. *Oncol. Reports* : 1033 - 1040, 2002.
2. 藤井恒夫, どこまで可能か — 悪性腫瘍と妊孕能温存 — 円錐切除は不妊の原因となるか. *臨婦産* 56 (8) : 1366 - 1371, 2002.
3. 竹原和宏, 藤井恒夫, 卵巣癌における VEGF、PDGF 発現と血管新生に関する検討. *日産婦中四会誌* 50(2) : 114 - 120, 2002.
4. 熊谷正俊, 藤井恒夫, 子宮頸部腺扁平上皮癌の 1 例. *日臨細胞広島会報* 23 : 15 - 18, 2002.

2. 学会発表

1. 藤井恒夫, 子宮頸癌 bulky に対する CPT-11+MMC を用いた Neoadjuvant chemotherapy の検討. 第 40 回日本癌治療学会総会, 2002 年 10 月 16-18 日 (東京)
2. 藤井恒夫, シンポジウム「がん検診の適応拡大」・子宮頸癌「広島県における若年子宮頸癌の動向と癌検診実施成績」. 第 11 回日本婦人科がん検診学会学術集会, 2002 年 11 月 9 日 (東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

なし

表 1 卵巣癌組織における VEGF、TSP 発現率

	症例数	VEGF(%)	TSP(%)
卵巣癌全体	71	53(74.6)	64(90.1)
部位別			
腫瘍部	71	50(70.4)	45(63.4)
間質部	71	26(36.6)	60(84.5)
臨床進行期			
I 期	27	22(81.5)	25(92.6)
II 期	10	6(60.0)	9(90.0)
III 期	28	21(75.0)	24(85.7)
IV 期	6	4(66.7)	6(100)
組織型			
漿液性腺癌	26	19(73.0)	23(88.5)
粘液性腺癌	16	13(81.3)	15(93.8)
類内膜腺癌	17	12(70.6)	16(94.1)
明細胞腺癌	12	9(75.0)	10(83.3)

表 2 卵巣癌組織における臨床進行期および組織型別 MVD 値

	症例数	MVD (mean ± SE)
卵巣癌	71	65.7 ± 4.2
臨床進行期		
I 期	27	76.4 ± 7.5
II 期	10	48.5 ± 12.8
III 期	28	65.7 ± 5.8
IV 期	6	45.8 ± 8.3
組織型		
漿液性腺癌	26	57.4 ± 5.3*
粘液性腺癌	16	87.4 ± 11.4**, **
類内膜腺癌	17	64.5 ± 7.3
明細胞腺癌	12	56.2 ± 10.6**

* 粘液性腺癌 vs. 漿液性腺癌; $p < 0.01$,

** 粘液性腺癌 vs. 明細胞腺癌; $p = 0.02$, Fisher の PLSD 検定

表 3 卵巣癌における TSP 発現と MVD 値

TSP 発現スコア	MVD
	(mean ± SE)
0	72.4 ± 15.3
1 - 2	68.6 ± 5.3
3 - 4	51.7 ± 5.9

表 4 卵巣癌組織における VEGF、TSP 発現と MVD 値

	VEGF	
	陽性	陰性
陽性	70.4 ± 4.9	53.7 ± 8.9
陰性	79.8 ± 15.9	28.0