

効果について腹膜中皮細胞を介した効果と卵巣癌細胞自体に与える効果の両面から解析し、最終的には(3)動物実験モデルを用いて腹膜播種を制御することを試みた。

B. 研究方法

1. 使用した培養細胞株と動物

ヒト卵巣癌細胞株として SKOV3、SHIN-3、MCAS/as、OVAS-21/om、RMG-1、MH を用いた。腹膜中皮細胞株として FK と CCL14 を用い、線維芽細胞株としては NIH3T3 を使用した。NIH3T3 細胞は 10%胎仔血清添加 DMEM 培地にて 37°C・5%CO₂ 環境下で培養し、他の全ての細胞は 10%胎仔血清添加 RPMI 1640 培地にて培養した。

本実験で用いた 6-8 週齢の BALB/c 由来 nu/nu 雌ヌードマウスは無菌状態で飼育された。行ったすべての実験は九州大学大学院動物実験倫理委員会により審査され、九州大学大学院動物実験指針と日本政府の動物の保護及び管理に関する法律(法律第 105 号)および実験動物の飼養及び保管等に関する基準(総理府告示第 6 号)に準拠して行われた。

2. 使用したベクター

CNh1 遺伝子を含むアデノウイルスベクターとプラスミドベクターは共同研究者である信州大学・分子腫瘍学の谷口俊一郎博士より供与して頂いた。アデノウイルスベクターは Adenovirus Expression Vector Kit (Takara 社) を用いて COS-TPC 法に基づき作製された。Mammal で働く強力な CAG プロモーターを含む pAxCawt ベクターに CNh1 と green fluorescent protein (GFP) の融合遺伝子を組み込んだ AdCnh1 ベクターと、GFP 遺伝子のみを組み込んだ AdGFP 対照ベクターを作製し(図 2)、対数増殖期の各細胞株の培養液に 2×10⁷ pfu 相当のウイルス液を添加し 2 時間培養後ウイルス液を除き、更に一定時間培養した細胞を各実験に用いた。プラスミ

ドベクターはヒト CNh1 の cDNA を pCMV-neo-Bam ベクターに組み込んだものを用い、リポフェクチン法にて SKOV3 卵巣癌細胞株に導入した。

3. ELISA による卵巣腫瘍内容液中の PDGF 濃度の測定

同意のもと当科手術時に得られた各種卵巣腫瘍の内容液を血小板由来増殖因子(PDGF)測定用 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) キット (Amersham・Biotrak 社製;PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB の全てが検出可能)にて測定した。

4. Western blot 法による CNh1 とアクチン蛋白質発現の検討

各培養細胞から調整した 100 μg 相当の蛋白を電気泳動(SDS-PAGE)後、ニトロセルロースメンブレンに転写した。抗 CNh1 抗体 (Sigma 社)、抗 α-SMA 抗体 (Progen 社)、抗 β-actin 抗体 (Sigma 社)、抗 γ-actin 抗体 (Chemicon 社)、インターナルコントロールとして抗 rasGAP 抗体 (Santa Cruz 社) を用いた。バンドの発色は ECL 法で行い、得られたバンドの強度はデンシトメーターにて比較した。

5. 細胞内アクチンファイバーおよび GFP の観察

アデノウイルス感染後 3-5 日の細胞あるいは非感染の細胞を固定後、ローダミン・ファロイジン法にて蛍光染色した。腹膜中皮細胞は卵巣癌培養上清存在下あるいは非存在下に 6-24 時間追加培養したものを用いた。アクチンファイバーおよび GFP の観察にはそれぞれローダミンおよび FITC 検出用のフィルターを用い、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

6. 卵巣癌細胞の増殖能の検討

軟寒天内コロニー形成能は soft-agar colony forming assay にて評価した。0.5% soft agar の上にアデノウイルス感染後 2 日目の卵巣癌細胞を浮遊させた 0.3%の soft agar を重層し、14 日後に形成されたコロニー数を位相差顕微鏡の 6 視

野 (x60) で計測した。

in vivo での腫瘍増殖能の評価のために SKOV3 卵巣癌細胞親株からプラスミドベクターを用いて *CNh1* 遺伝子を導入した SKOV/*CNh1* クローンと対照のプラスミドベクターのみを導入した SKOV/mock クローンを作製した。この 3 株のそれぞれ 10^7 個の細胞をヌードマウス大腿に筋注移植し、腫瘍を含めた大腿の厚さを経時的に計測した。

7. 卵巣癌細胞の浸潤能と細胞運動能の検討

$8\mu\text{m}$ ポアメンブレンを有するトランスウェルチェンバーを用いて、浸潤能は *in vitro* invasion assay に基づきメンブレンをマトリゲルでコーティングし、細胞運動能は cell motility assay に基づきコーティングせずに評価した。アデノウイルス感染後 5 日目の卵巣癌細胞を用い、トランスウェルチェンバーの上室に単一細胞浮遊液を入れ、*in vitro* invasion assay では 24 時間後に、cell motility assay では 12 時間後にメンブレン下に移動した細胞を染色して光学顕微鏡の 6 視野 (x400) で計測した。

8. 重層培養法による浸潤の検討

腹膜中皮細胞層への卵巣癌細胞の浸潤の程度は重層培養法にて検討した。コンフルエントに単層培養した CCL14 腹膜中皮細胞の培養液中に卵巣癌細胞の単一細胞浮遊液を加え、24 時間後に中皮細胞層下に浸潤した癌細胞のコロニー数を位相差顕微鏡の 6 視野 (x300) で計測した (図 9A)。アデノウイルス感染の効果を検討する場合は感染 5 日目の腹膜中皮あるいは卵巣癌細胞を用いた。

9. 走査型電子顕微鏡によるマウス腹膜中皮の観察

SKOV3i.p.1 卵巣癌細胞株のヌードマウス腹腔内移植後 7 日目に壁側腹膜を採取し走査電顕にて非移植の対照マウスの腹膜と比較観察した。Ad*CNh1* または AdGFP アデノウイルス (5×10^8 pfu/2ml) を移植日と 3 日後に腹腔内投与し、7 日

目に壁側腹膜を走査電顕にて比較観察した。

10. 腹腔内担癌マウスの治療実験

OVAS-21/om 卵巣癌細胞株 10^7 個をヌードマウスに腹腔内移植した。Preliminary な実験で腹腔内へのウイルス投与後、感染した中皮細胞に認める GFP の発色は少なくとも 3 日間は維持されたので、Ad*CNh1* または AdGFP アデノウイルス液 (4×10^8 pfu/2ml) は癌細胞移植 2 日前と移植日およびその後は 12 日目まで 3 日おきに腹腔内投与した。各群 8 匹ずつマウスを用い Kaplan-Meier 法により生存率の比較を行った。

C. 研究結果

1. 卵巣癌培養上清が間質細胞の α -SMA と *CNh1* の発現に与える変化

3 種のヒト卵巣癌培養上清存在下に培養した NIH3T3 線維芽細胞の α -SMA と *CNh1* の発現は減弱した。CCL14 腹膜中皮細胞でも、SHIN-3 ヒト卵巣癌細胞培養上清は濃度依存的に両蛋白の発現を低下させた。対照として添加した CCL14 中皮細胞自体の培養上清ではいずれの蛋白も発現抑制を生じなかった。

2. 卵巣癌培養上清中に含まれる α -SMA 発現低下を来す因子の検索

NIH3T3 線維芽細胞の培地に MH ヒト卵巣癌細胞株の培養上清を加えたあとの α -SMA の発現変化を見た Western blot analysis であるが、培養上清を 2 倍希釈から原液へと高濃度に加えていくに従い α -SMA のバンドは薄くなった。この発現低下は PDGF 中和抗体を加えることによって濃度依存性に回復したので、培養上清中に PDGF が存在し α -SMA の発現低下をもたらしていると考えられた。各種卵巣腫瘍内容液中の PDGF 濃度を ELISA により測定したが、良性腺腫例ではほとんどが検出濃度以下であったのに対し、境界悪性腫瘍、さらには悪性腫瘍 (卵巣癌) となるに従い、内容液中 PDGF 濃度が高くなっていく傾向を認めた。

以上より、線維芽細胞の α -SMA 発現低下を引き起こす卵巣癌由来の液性因子に少なくとも PDGF が含まれると考えられた。

3. 卵巣癌培養上清が腹膜中皮細胞の細胞骨格（アクチンフィラメント）に与える変化

SKOV3 ヒト卵巣癌培養上清存在下に FK ヒト腹膜中皮細胞を培養すると、そのアクチンフィラメントは上清非添加時にみられる胞体内を縦走する太く長く発達したストレスファイバーを中心としたものから、核の周辺にびまん性に存在する細く短い小フィラメントを中心としたものへと変化した。これに伴い細胞の形態も、大きく伸展した本来の中皮細胞の形態から、サイズが縮小（retraction）し、かつ細胞辺縁に小フィラメントを含む微小な突起を有した形態へと変化した。

コンフルエントに培養した CCL14 腹膜中皮細胞層に SKOV3 卵巣癌培養上清を添加し、経時的にアクチンフィラメントを染めて変化をみたところ、上清添加前の秩序だって敷石状に並ぶ中皮細胞層は、添加 6 時間後にはアクチンストレスファイバーの減少が生じ細胞間に開裂が生じた。さらに添加 12 時間後には伸展したストレスファイバーはほとんど見えなくなり、培養面から離脱する中皮細胞が観察された。

4. 卵巣癌腹腔内移植後のマウス腹膜中皮細胞表面の変化

In vivo で卵巣癌細胞が腹膜中皮細胞に与える変化を検討するために、ヒト卵巣癌細胞をヌードマウスの腹腔内に移植し、生じた変化を走査電顕により観察した。正常のマウス腹膜中皮細胞は平坦かつ整然と配列して腹壁を覆っており、これはコントロールとして投与した RPMI1340 培養液にても変化しなかった。これに対し、高度に腹膜播種する SKOV3i.p.1 細胞を含む RPMI1340 培養液を腹腔内投与した場合、マウス腹膜中皮細胞の表面に微絨毛のような無数の微

小突起が生じた。

以上の結果より、卵巣癌由来の液性因子が腹膜中皮細胞の細胞骨格（アクチンフィラメント）や細胞形態に変化を与え、整然と並んだ中皮細胞に retraction と dissociation を生じさせる可能性が示された。中皮細胞層を越えて間質内へ浸潤しようとする癌細胞にとって、この変化は自己の浸潤を容易にすると推察される。そこで我々は *CNh1* 遺伝子を腹膜中皮細胞に導入してアクチンフィラメントを安定化させた場合、卵巣癌の浸潤抑制効果の増強につながるか検討してみた。

腹膜中皮細胞への *CNh1* 遺伝子導入がもたらす形態変化と癌細胞浸潤に対する抑制効果に関する検討

1. *CNh1* 遺伝子を導入後の腹膜中皮細胞における *CNh1* およびアクチンの発現変化

Ad*CNh1* ウイルスを感染させると、内在性に *CNh1* 蛋白質を発現する CCL14 腹膜中皮細胞は GFP 蛋白との結合により分子量の増した外来性 *CNh1* 蛋白質を発現した。これに伴い、内在性に認めた α -SMA 蛋白質の発現増強が生じた。一方 β および γ アクチンの発現は *CNh1* 遺伝子を導入しても変化しなかった。

2. *CNh1* 導入腹膜中皮細胞の卵巣癌培養上清に対する反応

GFP 遺伝子のみを導入した FK 中皮細胞は、ウイルス非感染時の中皮細胞と同様、卵巣癌培養上清の添加によって細胞内を縦走するストレスファイバーが減少しむしろ細胞辺縁の微小突起様フィラメントが目立ち、細胞自体の大きさが縮小した。これに対し *CNh1* を導入した中皮細胞は卵巣癌培養上清存在下でも発達した長いストレスファイバーを維持し、細胞も伸展した形状のままであった。GFP 蛋白の局在とアクチンファイバーの局在が一致する（両蛋白の局在を merge して観察したデータ示さず）ことから、Ad*CNh1* 感染中皮に認めた発達したスト

レスファイバーは外来性に送り込んだ *CNh1* 遺伝子によりもたらされていることが確認された。

3. *CNh1* 導入が腹膜中皮細胞層に与える 卵巣癌細胞浸潤抑制効果

重層培養法を用いて SKOV3 卵巣癌細胞の CCL14 腹膜中皮細胞層に対する浸潤能を評価した場合、Ad*CNh1* 感染中皮細胞層は AdGFP 感染中皮細胞層に比し、癌細胞の浸潤を 50%以下に抑制した。

以上より、腹膜中皮細胞に *CNh1* 遺伝子を導入すると、卵巣癌由来の液性因子に拮抗してアクチンフィラメントが安定化し、卵巣癌の浸潤に対する腹膜中皮細胞層としての抑制能が強化されることが示唆されたため、次に卵巣癌細胞に *CNh1* を強制発現させた場合、抗腫瘍効果が得られるか検討してみた。

卵巣癌細胞への *CNh1* 遺伝子導入が もたらす形態変化および増殖能と浸潤能への影響に関する検討

1. *CNh1* 導入後の卵巣癌細胞における *CNh1* およびアクチンの発現変化

Ad*CNh1* ウイルスを感染させると、内在性に *CNh1* 蛋白質を発現する SKOV3 卵巣癌細胞は GFP 蛋白との結合により分子量の増した外来性 *CNh1* 蛋白質を発現した。同時に親株や AdGFP 感染細胞では発現していなかった α -SMA のバンドが出現した。他のヒト卵巣癌細胞株 (SHIN-3 と MCAS/as) でも Ad*CNh1* ウイルスの感染に伴い、 α -SMA 蛋白質の発現が誘導された。 β および γ アクチンは 3 種全ての細胞株で元来発現していたが、その発現は AdGFP と Ad*CNh1* のいずれの感染にても変化しなかった。

2. *CNh1* 導入後の卵巣癌細胞における細胞骨格 (アクチンフィラメント) の変化

GFP 遺伝子のみを導入した SHIN-3 卵巣癌細胞では太いストレスファイバーは認めず、むしろ細胞辺縁と一部胞体内に細いフィラメントが集積していたが、これは非感染の SHIN-3 親株と同じ所見で

あった。一方、Ad*CNh1* アデノウイルスを感染させると胞体内を縦走する太く長いストレスファイバーが出現し細胞自体も伸展し大きくなった。GFP 蛋白の局在とアクチンファイバーの局在が一致する (両蛋白の局在を merge して観察したデータ示さず) ことから、Ad*CNh1* 感染卵巣癌細胞に出現したストレスファイバーは外来性に導入した *CNh1* 遺伝子がもたっていることが確認された。

3. *CNh1* 導入が卵巣癌細胞に与える増殖能抑制効果

CNh1 導入が卵巣癌細胞の増殖能に対してどのような影響を与えるかにつき、まず通常の単層培養系で細胞増殖速度を検討したが、Ad*CNh1* アデノウイルス感染細胞に変化を認めなかったため、軟寒天内でのコロニー形成能を検討した。SKOV3 と SHIN-3 いずれの株でも AdGFP 感染細胞に比し、Ad*CNh1* 感染群で明らかにコロニー形成能が低下した。

in vivo での腫瘍増殖能に与える影響の検討はアデノウイルスによる遺伝子導入効果が一過性のためプラスミドベクターを用いておこなった。SKOV3 親株への *CNh1* 遺伝子導入により得た *CNh1* 蛋白高発現クローン (SKOV/*CNh1*) とプラスミドベクターのみを導入した対照クローン (SKOV/mock) を樹立し、マウス大腿に筋注したところ、SKOV/mock の腫瘍増殖速度は親株とほぼ同等であったのに対し、SKOV/*CNh1* の腫瘍増殖能は明らかに低下していた。

4. *CNh1* 導入が卵巣癌細胞に与える浸潤 および細胞運動能抑制効果

SKOV3i.p.1 と SHIN-3 卵巣癌株による *in vitro* invasion assay では、いずれの株でも AdGFP 感染細胞に比し Ad*CNh1* 感染群で有意の浸潤能の低下を認めた。浸潤能に影響する 3 因子としては一般的に細胞接着能、蛋白融解酵素産生能および細胞運動能が挙げられるが、*CNh1* 導入後に細胞骨格が大きく変化したことより、細胞運動能に関して検討し

てみた。SKOV3i.p.1 と SHIN-3 卵巣癌株による in vitro cell motility assay では、in vitro invasion assay の結果と同様、いずれの株でも *CNh1* 導入群で明らかかな細胞運動能の低下を認めた。

以上より、卵巣癌細胞への *CNh1* 遺伝子導入は抗増殖および抗浸潤効果をもたらすことが示唆された。

卵巣癌と腹膜中皮の両者に *CNh1* を導入した場合の治療効果

1. 卵巣癌と腹膜中皮の両者に *CNh1* を導入した場合の浸潤抑制効果の増強

CNh1 遺伝子を腹膜中皮細胞あるいは卵巣癌細胞に導入した場合のそれぞれの癌浸潤抑制効果より、両者に同時に導入した場合の更なる浸潤抑制効果が期待されたため、重層培養法を用いて検討した。卵巣癌細胞と CCL14 中皮細胞の両者に AdGFP ウイルスを感染させた対照群に対し、卵巣癌細胞あるいは中皮細胞のいずれかに *CNh1* を導入した群では、中皮細胞層を越えての癌細胞の浸潤がいずれの場合でも抑制された。卵巣癌細胞と中皮細胞の両者に Ad*CNh1* ウイルスを感染させた場合は更なる浸潤の抑制が得られ、その抑制効果は単独の細胞にのみ Ad*CNh1* ウイルスを感染させた場合の抑制効果に対して相加的であった。SKOV3i.p.1 と SHIN-3 卵巣癌株で検討したが、いずれも同じ傾向の結果を示した。

2. 卵巣癌が引き起こす腹膜中皮細胞表面の変化に対するアデノウイルス投与の効果

SKOV3i.p.1 ヒト卵巣癌細胞のマウス腹腔内移植後 7 日目に認めた腹膜中皮細胞表面の多数の微小突起は AdGFP アデノウイルスを腹腔内投与しても変わりなく生じた。これに対し Ad*CNh1* アデノウイルスを投与すると、微絨毛様構造は生じず、卵巣癌を移植しなかったマウスの腹膜中皮細胞で認めたような平坦かつ整然とした配列を保った。

3. *CNh1* 遺伝子導入のマウス卵巣癌腹膜播種に対する治療効果

高度に腹腔内播種するヒト明細胞腺癌株である OVAS-21/om 株をヌードマウスの腹腔内に移植し、移植 2 日前と移植日およびその後 12 日目まで 3 日おきにウイルス液を腹腔内投与した。移植後 40 日目まで観察したマウスの生存曲線を図 16 に示す。AdGFP ウイルスを投与した群は 11 から 16 日目の間に全例が死亡し、生存日数中央値は 14 日であったが、Ad*CNh1* ウイルスを投与した群は 18 日目から死亡し始めるも 40 日後の観察終了の時点でまだ 1 匹が生存し、生存日数中央値も 24 日と明らかな延命効果を示した ($p < 0.01$; Log-rank 検定)。副作用評価として非担癌マウスに各ウイルス液を投与し体重をモニターしたが、両群ともウイルス投与に起因する体重減少を認めず、屠殺して腹腔内を観察しても癒着などの変化を認めなかった。

AdGFP ウイルス投与群のうち 13 日目に死亡したマウスの腹部および腹腔内所見では、腹部は血清腹水により膨満し、開腹すると腹壁および腹腔内臓器の表面に多数の播種性腫瘍を認めた。一方、Ad*CNh1* 治療群のうち 40 日目まで生存したマウスでは、腹部皮下には卵巣癌移植時の刺入部位に一致した腹壁内腫瘍を認めるものの、腹腔内に腹水は認めず、子宮後壁に径 5mm ほどの播種性病巣を一方所認めるのみであった。

D. 考察

卵巣癌細胞の腹膜播種過程において宿主防御の最前線に位置する腹膜中皮細胞層は、通常は *CNh1* によりアクチンストレスファイバーを主体とする細胞骨格が安定し、整然とした中皮細胞の配列によって腹膜としての防御能を維持していると考えられる。ところが卵巣癌細胞が近づくと、PDGF などの癌細胞由来の液性因子を介して中皮細胞の *CNh1* および α -SMA の発現低下とアクチンファイバー

の減弱が生じる。この状態の中皮細胞は微絨毛様の細胞表面変化および細胞自体のリトラクションと細胞間開裂を生じ、卵巣癌細胞はたやすく中皮細胞層を突き抜けて浸潤していくと思われる。他方、腹腔内に投与したAdCNh1アデノウイルスが中皮細胞および卵巣癌細胞に感染しCNh1蛋白を強制発現させた場合、中皮細胞では卵巣癌由来の液性因子に拮抗してCNh1および α -SMAの発現低下が回避されアクチンストレスファイバーが発達し、卵巣癌の浸潤に対するバリアとしての機能を高めると考えられる。同時に卵巣癌細胞で強制発現させたCNh1はアクチンファイバーの構築を促進し、それが癌細胞自身に対しても抗増殖および抗浸潤に働くと考えられる。

このようにカルポニン腹腔内遺伝子療法は同一遺伝子が癌抑制および宿主防御能の増強という二面的効果を有する新しい概念の遺伝子治療と成りうる。このような二面的効果が得られた理由の一つとして、腹膜中皮と表層上皮性卵巣癌が共に筋細胞ではないものの間葉系由来の上皮であり、いずれもCNh1蛋白を発現しかつ α -SMAを誘導し得る細胞であったことが挙げられる。動物実験モデルながらも本療法に副作用が認められなかったことより、本治療を臨床応用する場合には繰り返しのアデノウイルス腹腔内投与が可能になると期待できる。加えて、卵巣癌細胞が腹膜中皮層を越えて浸潤するまでの過程を抑制した本療法の作用機転から考えると、(卵巣癌患者の初回手術時に設置した腹壁ポートなどを介して)術後補助化学療法の際にアデノウイルスを繰り返し腹腔内投与することによる腹膜播種の予防が当面の治療対象と成りうるであろう。しかし、組織到達性・移行性の良いベクターや全身性のCNh1発現誘導を可能とするsmall moleculeの開発等によりCNh1が腹膜中皮下の間質や血管壁でも十分に発現されれば、(今までの研究成果からも分かるように本療法は間

質浸潤や血行性転移も抑制しうるので)腹膜播種の形成のみならず一旦成立した播種巣や更なる進行症例に対しても効果が期待できるであろう。

E. 結論

線維芽細胞の α -SMA発現低下を引き起こす卵巣癌由来の液性因子に少なくともPDGFが含まれると考えられた。

卵巣癌由来の液性因子が腹膜中皮細胞の細胞骨格(アクチンフィラメント)や細胞形態に変化を与え、整然と並んだ中皮細胞にretractionとdissociationを生じさせる可能性が示された。

腹膜中皮細胞にCNh1遺伝子を導入すると、卵巣癌由来の液性因子に拮抗してアクチンフィラメントが安定化し、卵巣癌の浸潤に対する腹膜中皮細胞層としての抑制能が強化されることが示唆された。

卵巣癌細胞へのCNh1遺伝子導入は抗増殖および抗浸潤効果をもたらすことが示唆された。

CNh1遺伝子導入により、マウス卵巣癌腹膜播種モデルにおいて治療効果を認めた。

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

小林裕明：細胞間相互作用からみた卵巣癌腹膜播種の進展機序とその制御に関する研究. 日産婦誌 56: 1296-1308, 2004.

2. 学会発表

- 小林裕明：細胞間相互作用からみた卵巣癌腹膜播種の進展機序とその制御に関する研究 第56回日本産科婦人科学会総会・学術集会、2004年4月13日、東京。
- 上岡陽亮、小林裕明、小倉寛則、奥川馨、河野善明、加来恒壽、平川俊夫、中野仁雄：アクチン結合蛋白カルポニ

ン h1 が腹膜中皮に与える卵巢癌浸潤抑制効果の検討 第 56 回日本産科婦人科学会総会・学術集会、2004 年 4 月 13 日、東京.

3. 小倉寛則、小林裕明、上岡陽亮、奥川馨、河野善明、加来恒壽、平川俊夫、中野仁雄：卵巢癌細胞に対するアクチン結合蛋白カルポニン h1 の遺伝子導入効果に関する検討 第 56 回日本産科婦人科学会総会・学術集会、2004 年 4 月 13 日、東京.

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

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

卵巣癌細胞株における薬剤耐性の研究

分担研究者 波多江正紀 鹿児島市立病院 産婦人科・部長

研究要旨

卵巣癌の治療は cytoreductive surgery に引き続く白金製剤を中心とする化学療法が標準である。化学療法としては CDDP+Paclitaxel, あるいは GOG132 の結果発表以来は CBDCA+Paclitaxel が広く使用されている。これらの治療法の発展により進行卵巣癌の成績は向上しつつあるが、不幸な事に多くの進行癌患者は一旦病変が消失しても再発する。しかし、再発時の治療方法は標準的なものではなくその成績は概ね不良である。再発癌の治療においてもっともその成績を左右するのは癌細胞の薬剤耐性である。この数十年白金製剤が初発、再発卵巣癌の中心であり薬剤耐性を考えるときにもっとも臨床で問題となるのは白金製剤に対する薬剤耐性である。

NIH にて確立された卵巣癌細胞株 2780CP とその親株である A2780 を実験にもちいた。二株を 10^{-2} microM の Paclitaxel に暴露した。約三ヶ月 Paclitaxel を含む培養液で細胞を維持した。Paclitaxel に暴露した細胞は A2780 由来のものを A2780-Tx、2780CP 由来のものを 2780CP-Tx とした。薬剤感受性は MTT-assay 法を用いて検査した。Cisplatin に関しては A2780-Tx は A2780 に比較して 1.1 倍の耐性を示したが、2780CP-Tx は 0.58 倍の耐性を示し、Cisplatin 耐性の低下がみられた。

元来白金耐性である 2780CP は Paclitaxel の暴露により、白金感受性となった。このことは臨床において、白金耐性と思われる症例に Paclitaxel の治療を行うことが白金耐性の変化をもたらす可能性を示唆する。

A. 研究目的

再発時に Paclitaxel や Topotecin で治療をおこない、その後に再度白金製剤で治療すると、再度ある程度の効果が得られるとの臨床での観察が Kavanagh や Bookman らにより報告されている。ここで疑問となるのは無白金治療の期間が薬剤耐性に影響を与えているのか、あるいはその間に投与される薬剤が白金耐性の変化に影響しているのかという事である。

この実験では再発卵巣癌の in vitro モデルを作成、すなわち白金耐性卵巣癌株

2780CP を用いて、Paclitaxel の暴露が白金耐性卵巣癌株の薬剤感受性にどのように影響するかを検討した。2780CP は我々の施設において、約 15 年間白金製剤の暴露をうけないで耐性を保っている。多くの白金耐性株は白金製剤に暴露をしなければ耐性が自然に低下してしまうが、2780CP は長期間耐性を保っており、臨床における無治療期間の長さによる耐性の低下という要素は除外できると考えた。

B. 研究方法

NIHにて確立された卵巣癌細胞株 2780CP とその親株である A2780 を実験にもちいた。二株を 10⁻²microM の Paclitaxel に暴露した。約三ヶ月 Paclitaxel を含む培養液で細胞を維持した。それぞれの株が耐性になった事を確認し、その後は約一年以上、薬剤暴露なしに継代培養している。Paclitaxel に暴露した細胞は A2780 由来のものを A2780-Tx、2780CP 由来のものを 2780CP-Tx とした。薬剤感受性は MTT-assay 法を用いて検査した。

(倫理面への配慮)

細胞株での実験であり問題なしと考える。

C. 研究結果

A2780-Tx は親株である A2780 に比較し約 10 倍の Paclitaxel 耐性、1.1 倍の Cisplatin 耐性、2780CP-Tx は 15 倍の Paclitaxel 耐性を示した。興味あることに Cisplatin に関しては A2780-Tx は A2780 に比較して 1.1 倍の耐性を示したが、2780CP-Tx は 0.58 倍の耐性を示し、Cisplatin 耐性の低下がみられた。

D. 考察

卵巣癌細胞株における Paclitaxel の暴露による白金耐性の変化を白金感受性株 A2780 と白金耐性株である 2780CP とで研究した。元来白金耐性である 2780CP は Paclitaxel の暴露により、白金感受性となった。このことは臨床において、白金耐性と思われる症例に Paclitaxel の治療を行うことが白金耐性の変化をもたらす可能性を示唆する。

E. 結論

この in vitro のモデルは再発卵巣癌、あるいは元来白金耐性と考えられる clear cell carcinoma などの初回治療などの開発に際して、また薬剤耐性機序の解明に役立つモデルと考えられる。

F. 健康危害情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

日本産婦人科学会、日本獣医学会

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

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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 国立病院機構四国がんセンター 婦人科医長

研究要旨

再発例を含む卵巣癌 69 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 25～76 (平均 55) 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 21 例中 complete response (CR) 5 例、partial response (PR) 12 例、stable disease (SD) 2 例、progressive disease (PD) 2 例、奏効率は 81.0%であった。これまで初回治療 57 例中 23 例が再発を来しており、Ⅲ期症例の 5 年生存率は 58.3%である。再発例で評価病変を有する 10 例中 CR 1 例、PR 4 例、SD 4 例、PD 1 例、奏効率は 50%で、奏効期間 8.2 ヶ月、安定期間 9.5 ヶ月 (中央値) が得られた。全症例の有害事象をみると、grade3 以上の白血球減少は 37 例(53.6%)、grade3 以上の血色素低下は 29 例(42.0%)、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(1.4%)にみられた。消化器障害では、grade2 以上の嘔気は 14 例 (20.3%)・嘔吐は 16 例(23.2%)。その他、grade1 以上の肝機能障害は 28 例 (40.6%)、腎機能障害は 3 例 (4.3%) であり、TXL で特徴とされる末梢神経障害は 35 例 (50.7%)、関節痛は 4 例 (5.8%) に認められたが、grade2 以上はそれぞれ 3 例 (4.3%)、0 例 (0%) であった。また CDDP の dose intensity (DI) は 25.7mg/m²/week であった。

本法は卵巣癌の標準的治療である 3 週間毎の TJ 療法、TP 療法に比べ良好な抗腫瘍効果が得られ、有害事象においても血液毒性に注意を要するものの非血液毒性は軽度であることから、患者の QOL にも貢献できる治療法であることが示唆された。長期予後に関しては今後の検討が必要である。

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(以下weekly TP療法)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年から2004年の期間に四国がんセンターで治療をおこなった卵巣癌のうち、weekly TP療法を行った69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18~76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。対象の年齢は25~76(平均55)歳、FIGO進行期は、I期:17例、II期:6例、III期:40例、IV期:6例、組織型は、漿液性腺癌:37例、類内膜腺癌:17例、明細胞腺癌:10例、粘液性腺癌:5例であり、weekly TP療法は初回化学療法として57例に、再発症例に対するセカンドライン化学療法として12例使用した。

投与方法は、TXL/CDDPを1日目、8日目、15日目に投与、22日目は休薬する28日間を1コースとした。投与スケジュールは、前投薬としてTXL投与60分前にdexamethasone 6mg静注(1コース目の1日目のみ24mg)、ranitidine 50mg静注、30分前に

diphenhydramine 50mg経口投与した後、TXL(60~70mg/m²)を1時間で、CDDP(30~40mg/m²)を2時間で点滴静注した。用量設定に関しては、TXLは40~100mg/m²/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20mg/m²/weekは必要とされ⁵⁾、併用療法では25mg/m²/weekが多い^{6,7)}。以上から、最低投与量はTXLを60mg/m²(45mg/m²/week)、CDDPを30mg/m²(22.5mg/m²/week)とした。抗腫瘍効果は、評価病変を有する初回治療21例、再発12例の奏効率、奏効期間、安定期間をRECISTにより検討、副次的にInterval Debulking Surgery (IDS)の実施割合を算出、有害事象はNCI-CTC Version2.0、JCOG版⁸⁾により評価し、生存曲線はKaplan-Meier法により作成し、5年生存率を検討した。

(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

初回化学療法としてwTP療法を施行した57例のうち、評価可能病変を有する21例で奏効率は81.0%であった(CR:5例、PR:12例、SD:2例、PD:2例)。wTP療法を3~5コース(平均3.9コース)施行し、21例中19例(90.5%)にInterval Debulking Surgeryが可能となった。なお、SDは低分化型漿液性腺癌2例、PDは明細胞腺癌1例、粘液性腺癌1例であった。一方、評価可能病変を有する再発症例の10例の詳細を表1に提示するが、前化学療法としてTXLとプラチナ製剤の併用療法が6例に施行されているにもかかわらず、奏効率は50%(CR:1例、PR:4例、SD:4

例、PD：1 例)が得られ、その奏効期間の中央値は 8.2 ヶ月であった。また、Rustin の定義⁹⁾による腫瘍マーカーCA125 値 50%、75%低下を含む無増悪、すなわち SD 以上の評価は 91.7% (11/12) に認められ、その安定期間の中央値は 9.5 ヶ月であった。

2. 初回治療例における再発、予後

57 例のうち 23 例が再発 (再燃 2 例を含む)した。症例の一覧を表 2 に提示するが、進行期では I 期：2 例、II 期：1 例、III 期：16 例、IV 期：4 例、組織型別では漿液性腺癌：12 例、類内膜腺癌：6 例、明細胞腺癌：3 例、粘液性腺癌：2 例であった。最終化学療法から 23 例中 10 例 (43.5%) が 6 ヶ月以内、19 例 (82.6%) が 12 ヶ月以内の再発であった。再発部位としては腹腔内が 16 例 (69.6%) と最も多く、その他、リンパ節 (傍大動脈リンパ節、骨盤リンパ節、Virchow リンパ節)、肝が認められた。III 期症例の生存曲線、I ~ IV 期症例の無増悪生存曲線を図 1 に提示する。観察期間 3 年以上の症例における 5 年生存率は III 期 (12 例) 58.3%、IV 期 3 例 (0%) であった。

3. 有害事象

全 69 症例の有害事象を表 3 に提示する。grade 3 以上の白血球減少は 37 例 (53.6%)、好中球減少 50 例 (72.5%)、grade 3 以上の血色素低下は 29 例 (42.0%)、2 例に濃厚赤血球の輸血を施行、grade 3 以上の血小板減少は 1 例 (1.4%) にみられた。消化器障害では、grade 2 以上の嘔気は 14 例 (20.3%)、嘔吐は 16 例 (23.2%)。その他、grade 1 以上の肝機能障害は 28 例 (40.6%)、腎機能障害は 3 例 (4.3%) であり、TXL で特徴とされる末梢神経障害は 35 例 (50.7%)、関節痛は 4 例 (5.8%) に認められたが、grade 2 以上はそれぞれ 3 例 (4.3%)、0 例 (0%) であった。

4. weekly TP 療法の中止および変更

初回治療例 57 例のうち、Ccr 低下 11 例、末

梢神経障害 5 例、外来化学療法への移行 4 例の計 20 例 (35.1%) は TJ (TXL/CBDCA) 療法へ治療を変更し、治療の継続を行った。

5. CDDP の dose intensity (DI)

DI は 25.7 mg/m²/week であった。

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 とプラチナ製剤 (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¹⁰⁾が、Ozols et al.¹¹⁾は GOG158 study として optimal stage IIIc に対する TXL/CDDP (TP 療法) と TXL/CBDCA (TJ 療法) のランダム化比較試験を行い、生存率には差はないものの、毒性は TP 療法で強いことを示し、現在では TJ 療法 (TXL 175-180 mg/m², 3h, CBDCA AUC5-6, 1-2h, q3-4wks) が卵巣癌に対する標準的化学療法と認識されている。しかしながら、この試験では、末梢神経障害等の有害事象を考慮して TP 療法の TXL が 135 mg/m², 24h と用量が低く設定してあること、また進行卵巣癌では suboptimal 症例をしばしば経験するものの、本試験の対象はすべて optimal stage IIIc 症例である点に、さらなる検討の余地があると考えている。すなわち、suboptimal 症例に対する抗腫瘍効果の検討はされておらず、du Bois et al.¹²⁾ は組み合わせる白金製剤は CBDCA より、CDDP 併用の方が有効である可能性もあると指摘している。ただし末梢神経障害などの有害事象は患者の QOL を損なうこととなり、注意が必要である。一方、初回化学療法での無効例や再発例に対するセカンドライン化学療法も確立されたものはない。このような背景から、われわれは有害事象の軽減と抗腫瘍効果の増強を考慮し、dose intensity (DI) を高めた weekly TP 療法を施行し、安全性・有効性を検証した。

初回治療例における weekly TP 療法の効果は、評価可能病変を有する 21 例において CR5 例、PR12 例であり、奏効率 81.0%と良好な抗腫瘍効果が得られ、19 例 (90.5%) に Interval Debulking Surgery が可能であった。AGO study¹³) で は TXL185mg/m²/3h+CDDP75mg/m² 、 q3wks で 奏 効 率 81.4% 、 TXL185mg/m²/3h+CBDC AUC6 、 q3wks で 67.7%、また OV-10 study¹⁴)では TXL175mg/m²/3h+CDDP75mg/m² 、 q3wks により奏効率 58.6%とされており、今回の成績は奏効率の面からは、3 週間毎投与の TP 療法、TJ 療法と同等以上の結果であった。なお、PD であった 2 例の組織型は明細胞腺癌と粘液性腺癌であり、これらの組織型に対する抗癌剤の選択は今後の課題である。予後に関しては、Ⅲ期症例で 5 年生存率 (観察期間 3 年以上、n=12) 58.3%と良好な結果が得られているが、すでに 23 例が再発を来していることから、もうしばらくの観察期間と症例数の追加が必要であると考えている。

一方、再発例におけるわれわれの成績は奏効率 50%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¹⁵⁾ 同等であった。再発例の先行化学療法は全てプラチナ製剤を主体とするものであり、5 例に 3 週間間隔の TJ 療法が施行されていたが、PR3 例、SD1 例、PD1 例であり、特に 6 ヶ月以内の再発症例 2 例においても weekly TP 療法により PR が得られたことから、奏効期間、安定期間の中央値はそれぞれ 8.2 ヶ月、9.5 ヶ月と十分な成績ではないが、標準治療である TJ 療法後のセカンドライン化学療法として検討する価値のあるレジメンと思われる。TXL は通常の tri-weekly 投与と dose dense である weekly 投与でその癌細胞に対する作用機序が異なる¹⁶⁾ こと、また今回 CDDP は 25.7mg/m²/week

と良好な DI が得られたことが重要であると考えられ、本投与法の有用性が示唆された。ま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。

全症例での有害事象をみると、grade3 以上の白血球減少は 37 例(53.6%)、好中球減少 50 例 (72.5%) grade3 以上の血色素低下は 29 例(42.0%)、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(1.4%)にみられた。消化器障害では、grade2 以上の嘔気は 14 例 (20.3%)・嘔吐は 16 例(23.2%)。その他、grade1 以上の肝機能障害は 28 例 (40.6%)、腎機能障害は 3 例 (4.3%) であり、TXL で特徴とされる末梢神経障害は 35 例 (50.7%)、関節痛は 4 例 (5.8%) に認められたが、grade2 以上はそれぞれ 3 例 (4.3%)、0 例 (0%) であった。これらの成績を 3 週間毎投与の TP 療法、TJ 療法と比較すると^{13, 14)}、grade3/4 の血液毒性が極めて高率である。特に血色素低下は著明であり、治療中の患者 QOL 低下を招く可能性があるが、逆に血小板減少は TJ 療法より軽度、TP 療法と同等であり、白血球、好中球減少は高率ではあるものの G-CSF support により重篤な感染症を来たすことなく、計画的な治療の遂行が可能であった。消化器症状に関しても AGO study¹³⁾ では grade2 以上の嘔気、嘔吐は TP 療法で 58.1%、37.7%、TJ 療法で 37.3%、16.4%であり、weekly TP 療法では CDDP を用いたレジメンであるにもかかわらず症状の軽減が可能であった。また、AGO study¹³⁾における grade2/3/4 の末梢神経障害は、それぞれ TJ 療法で 28.4%/6.7%/0.5%、TP 療法で 36.2%/12.5%/1.0%であり、OV-10 study¹⁴⁾では grade3/4 が 19%/0.6%となっており、われわれの weekly TP 療法により末梢神経障害もかなり軽減できることが示唆された。ただし 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¹⁷⁾、今後の長期間の観察が必要である。また、weekly TP 療法の中止および変更については、初回治療例 49 例のうち、Ccr 低下 8 例、末梢神経障害 3 例、外来化学療法への移行 4 例、その他 2 例を含む計 17 例 (34.7%) は TJ (TXL/CBDCA) 療法へ治療を変更した。数コース以後の症例がほとんどであるが、腎機能低下には注意する必要がある。

DI を高めた weekly TP 療法は、3 週間毎投与の TJ 療法、TP 療法に比べ奏効率は高く、有害事象も軽度で、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と考えられ、今後 QOL を考慮した外来投与の可能性と同時に長期予後の結果が期待される。

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 EI : Slecting 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 feasiability 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. 福田治彦、西條長宏 : NCI-CTC 日本語訳 JCOG 版-第 2 版について-癌と化学療法 28:1993-2027,2001.
9. Rustin GJ, Bast RC Jr, Kelloff GJ, et al: Use of CA-125 in clinical trial evaluation of new therapeutic drugs for ovarian cancer. Clin Cancer Res 10:3919-3926,2004.
10. 日本婦人科腫瘍学会・編 : 卵巣がん治療ガイドライン、p24-40、金原出版、東京、2004。
11. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, et al : Gynecologic Oncology Group 。 Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 21:3194-3200,2003.
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. du Bois A, Luck HJ, Meier W, et al : Arbeitsgemeinschaft Gynakologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. J Natl Cancer Inst 95 : 1320-1329, 2003.
14. Neijt JP, Engelholm SA, Tuxen MK, et al : Exploratory phase III study of paclitaxel and cisplatin versus paclitaxel and carboplatin in advanced ovarian cancer. J Clin Oncol 18:3084-3092, 2000.
15. Goldberg JM, Piver MS Hempling RE, et al : Paclitaxel and cisplatin combination chemortherapy in recurrent epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol 63:312-317, 1996.
16. Torres K, Horwitz SB : Mechanisms of Taxol-induced cell death are concentration dependent. Cancer Res 58:3620-3626, 1998.
17. Eric KR and Ross CD : PACLITAXEL (TAXOL). N Engl J Med 332:1004-1014, 1991.

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 50%、81.0%と良好で、有害事象では 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. 森脇昭介、日浦昌道、野河孝充 : 女性性器にみられた adenoid tumor - とくに潜在病変について - 日本婦人科腫瘍学会誌 22(1): 50-60, 2004.
2. 日浦昌道、野河孝充、伊藤啓二郎、温泉川真由、横山隆、大下孝史 : 再発子宮頸癌の早期発見に対する腫瘍マーカー測定 of 臨床的意義 日本婦人科腫瘍学会誌 22(1): 13-17, 2004.
3. Oshita T, Nagai N, Mukai K, Shigemasa K, Hiura M, Ohama K.: Telomerase activation in endometrial epithelial cells by paracrine effectors from stromal cells in primary cultured human endometrium. Int J Mol Med 13(3): 425-430, 2004.
4. 横山 隆、温泉川真由、伊藤啓二郎、大下孝史、野河孝充、日浦昌道 : 卵巣粘液性腺癌の治療成績。産科と婦人科 71(6): 807-811, 2004.
5. 日浦昌道、大下孝史、野河孝充、横山 隆 : III. 子宮体癌 子宮体癌の治療。術後ホルモン療法日本臨床 (増刊号) 381-385, 2004.
6. 横山 隆、大下孝史、野河孝充、日浦昌道 : IV. 卵巣癌 卵巣癌の境界病変。日本臨床 (増刊号) 476-479, 2004.
7. 山内政之、日浦昌道、大下孝史 : 術中体腔洗

浄細胞診—その進め方、細胞の見方、臨床上
の問題点— 5. 婦人科系 Medical
Technology 32(11): 1148-1154, 2004.

2. 学会発表

なし

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

表1. 再発症例に対するweekly TP療法

年齢	進行期	組織型	前化学療法 a	期間	効果	奏効期間 (日) ^b	安定期間 (日) ^c	予後
1	72	I c	明細胞腺癌	FPEC	2M	TM低下50%	195	癌死
2	55	I c	明細胞腺癌	wTP	34M	SD	253	癌死
3	54	II c	漿液性腺癌	TJ	19M	PR	396	担癌生存
4	45	III b	漿液性腺癌	CAP→TJ	2M	PR	144	癌死
5	73	III c	漿液性腺癌	CAP	32M	PR	209	癌死
6	51	III c	類内膜腺癌	CAP→TJ	56M	SD	400	癌死
7	57	III c	漿液性腺癌	CAP→EJ	9M	TM低下75%	853	癌死
8	63	III c	漿液性腺癌	TJ	4M	PR	245	担癌生存
9	58	III c	漿液性腺癌	TJ	23M	PD		癌死
10	69	III c	漿液性腺癌	CAP	108M	CR	持続中	無病生存
11	49	IV	漿液性腺癌	FPEE→EJ	7M	SD	259	担癌生存
12	45	IV	漿液性腺癌	TCP	4M	SD	182	癌死

a: FPEC: 5FU/CDDP/VP-16/CPA, EJ: VP-16/CBDCA, FPEE: 5FU/CDDP/VP-16/EpiADM, TCP: Taxol/CPA/CDDP

b: PR/CR確認日-PD確認日 c: wTP開始日-PD確認日

*: TM低下: マーカ一(CA125) 2M続けて50, 75%効果あり (Rustinらによる評価基準)

表2. weekly TP療法初回治療後の再発症例

年齢	進行期	組織型	TP/TJ	再発部位	TFI a	再発後治療 b	予後
37	I a	明細胞腺癌	5	マーカ- (後に肋骨)	316	手術	担癌生存 63M
55	I c	明細胞腺癌	5	PAN, Virchow LN	1061	wTP	癌死 62M
61	II c	類内膜腺癌 (G3)	3	骨盤腔	275	TJ	担癌生存 64M
71	III b	漿液性腺癌	10	骨盤内, 鼠径LN	205	oral VP-16	担癌生存 32M
73	III b	漿液性腺癌	7	PeN	35	wTP→wDC	担癌生存 27M
54	III c	漿液性腺癌	6	PAN, PeN	116	TJ	担癌生存 13M
52	III c	類内膜腺癌 (G3)	10	PAN, 骨盤内	127	TJ	無病生存 26M
70	III c	粘液性腺癌	4	腹腔内播種	142	DP→oral VP-16	担癌生存 48M
43	III c	漿液性腺癌	5	骨盤内	504	wTJ	担癌生存 26M
60	III c	漿液性腺癌	7	腹腔内	131	FPEC	癌死 25M
61	III c	漿液性腺癌	6	肝, 腹腔内	153	wDC	癌死 18M
76	III c	漿液性腺癌	6	腹腔内	191	CPT-11/VP-16	癌死 11M
52	III c	漿液性腺癌	6	マーカ-	215	wTJ	担癌生存 15M
67	III c	漿液性腺癌	8	PAN, 腹腔内	221	wTP	担癌生存 38M
74	III c	漿液性腺癌	6	マーカ-	305	TJ	無病生存 30M
74	III c	類内膜腺癌 (G3)	6	肝, 腹腔内	310	なし	癌死 25M
65	III c	漿液性腺癌	6	腹腔内	359	CAP	無病生存 25M
55	III c	明細胞腺癌	2	肝, 腹腔内	再燃	wTC	癌死 8M
32	III c	粘液性腺癌	2	大網, 肝被膜	再燃	FEC	担癌生存 4M
65	IV	類内膜腺癌 (G3)	5	胃周囲	429	wTJ	担癌生存 52M
60	IV	類内膜腺癌 (G2)	10	腹腔内	82	wDC	担癌生存 28M
73	IV	漿液性腺癌	7	腹腔内	122	wTJ	癌死 52M
57	IV	類内膜腺癌 (G3)	4	胸水	375	wTJ	癌死 41M

a: TFI: treatment free interval, b: DP: Docetaxel/CDDP, FPEC: 5FU/CDDP/VP-16/CPA, FEC: 5FU/VP-16/CPA

表3. 有害事象

	Grade				Grade 3+4 (%)		
	0	1	2	3		4	
白血球減少	8	0	24	36	1	37/69	53.6%
好中球減少	6	3	10	30	20	50/69	72.5%
ヘモグロビン減少	3	8	29	22	7	29/69	42.0%
血小板減少	57	9	2	0	1	1/69	1.4%
嘔気	5	50	13	1	0	1/69	1.4%
嘔吐	39	14	12	4	0	4/69	5.8%
脱毛	8	25	36	—	—	—	—
肝機能(GOT/GPT等)	41	22	6	0	0	0/69	0%
腎機能(BUN/Cr)	66	3	0	0	0	0/69	0%
神経障害(知覚性)	34	32	1	2	0	2/69	2.9%
関節痛	65	4	0	0	0	0/69	0%
アレルギー反応/過敏症	68	0	0	1	0	1/69	1.4%

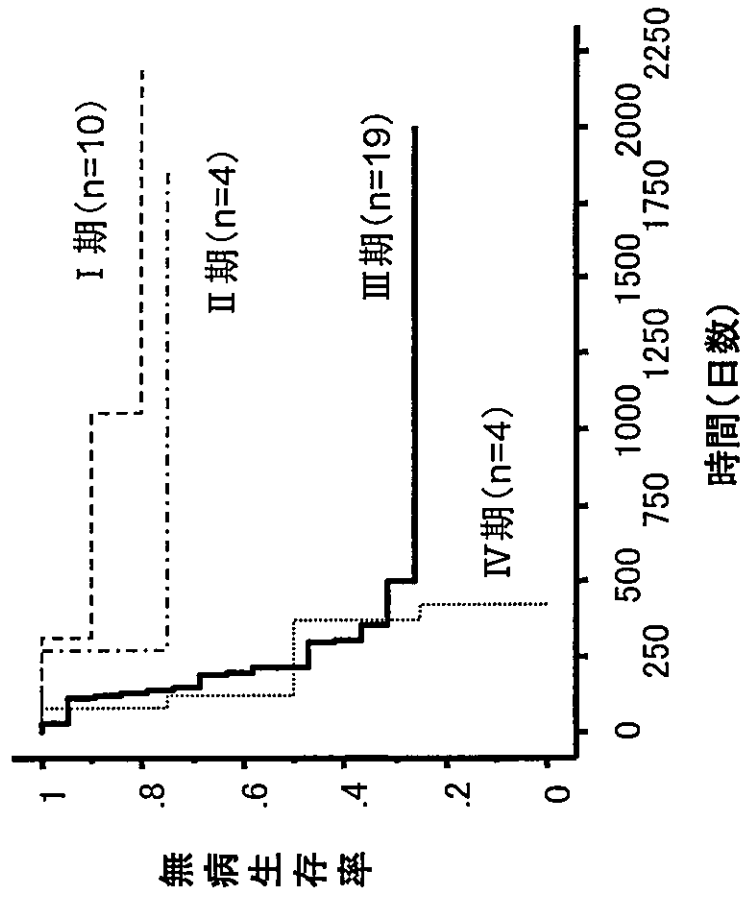
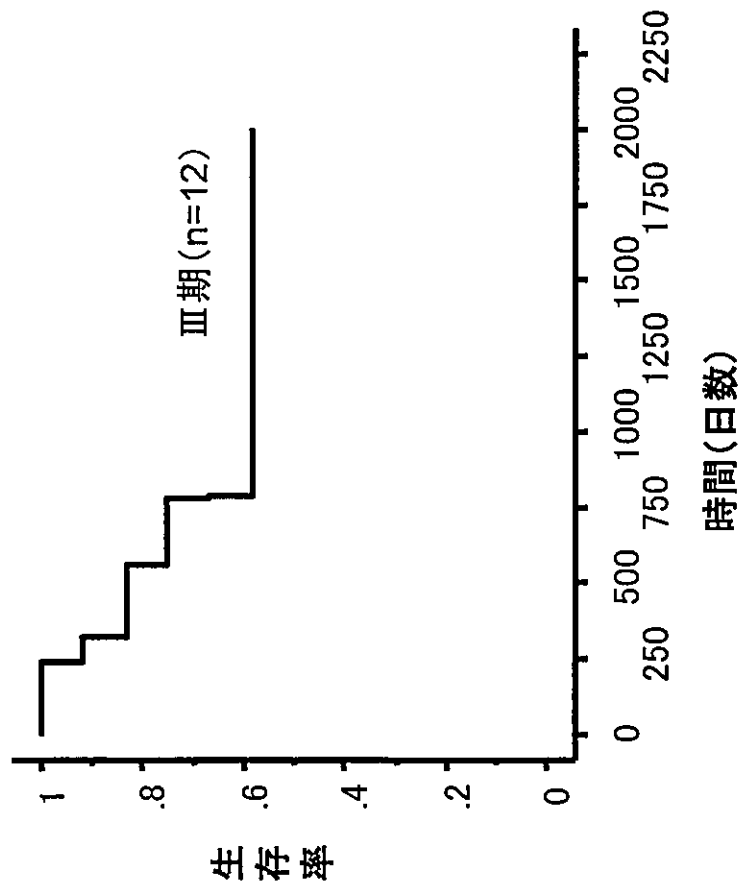


図1. 全生存曲線と無病生存曲線