

#### b) 至適線量と分割法

今のところ、子宮頸部断端癌に対する治療の指標となるような至適線量と分割法は示されておらず、個々の症例ごとの個別化が必要である。腔内照射で投与可能な線量は、子宮腔内線源長に依存する。子宮腔内に線源が全く入らないような場合は、腔内線源（オボイド）のみの照射となり、腫瘍に対する conformity がきわめて悪くなる一方で、直腸・膀胱線量が非常に高くなる。また、A点線量で算出された子宮頸癌の標準治療法をそのまま用いることはできない。組織内照射による子宮頸癌治療例の報告を参考にすると、外部照射（全骨盤照射）30～40Gyと併用する場合は、高線量率換算で腫瘍線量20～30Gyを4～5分割で投与し、単純加算で計60Gy程度が総投与線量の目安となる<sup>1)</sup>。

#### c) 組織内照射

子宮頸部断端癌に対する小線源治療では、腔内照射よりも組織内照射の方が線量分布が優れている。腔内照射と比較すると簡便性が劣るものの、可能であれば、治療の適応について組織内照射に精通した放射線腫瘍医にコンサルトするべきである。

### B. その他の治療法

現在、子宮頸癌IB2期以上のほとんどにcisplatinを中心とした化学療法が推奨されている。子宮頸部断端癌のみに限ったエビデンスがあるわけではないが、子宮頸癌治療同様に、外部照射に同時併用で化学療法を行う根拠は充分にあると考えられる。むしろ、外部照射の比率が高く、腔内照射の前に腫瘍の十分な縮小が必要となることから、同時併用化学放射線療法は積極的に検討されるべきであろう。

小線源治療を行うことが不可能な子宮頸癌症例に対して、3次元原体照射などの最新の技術を用いた外部照射、あるいはその化学療法との併用が行われる場合がある。このような治療が子宮頸部断端癌における腔内照射の代替治療となりうるかについては、今後の検討が必要である。

### C. 治療成績

治療成績は一般の子宮頸癌と同等とされる。5年生存率はI期が90%、II期が70～80%、III期が50～60%程度とされる<sup>2)</sup>。

- 文 献
- 1) Haie-Meder C, Gerbaulet A, Potter R. Interstitial Brachytherapy in Gynaecological Cancer. In: Gerbaulet A, Potter R, Mazeron JJ, et al, editors. The GEC ESTRO Handbook of Brachytherapy. Brussels: ESTRO; 2002. p.417-33.
  - 2) Stehman FB, Perez CA, Kurman RJ, et al. Uterine Cervix. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC, editors. Principles and Practice of Gynecologic Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p.841-918.

## Radiation-Induced Chromosome Aberrations in Ataxia Telangiectasia Cells: High Frequency of Deletions and Misrejoining Detected by Fluorescence *In Situ* Hybridization

Tetsuya Kawata,<sup>a,1</sup> Hisao Ito,<sup>a</sup> Kerry George,<sup>b,c</sup> Honglu Wu,<sup>b,c</sup> Takashi Uno,<sup>a</sup> Kouichi Isobe<sup>a</sup> and Francis A. Cucinotta<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Radiology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan; <sup>b</sup> Wyle Laboratory, Houston, Texas; and <sup>c</sup> NASA, Johnson Space Center, Houston, Texas

Kawata, T., Ito, H., George, K., Wu, H., Uno, T., Isobe, K. and Cucinotta, F. A. Radiation-Induced Chromosome Aberrations in Ataxia Telangiectasia Cells: High Frequency of Deletions and Misrejoining Detected by Fluorescence *In Situ* Hybridization. *Radiat. Res.* 159, 597-603 (2003).

The mechanisms underlying the hyper-radiosensitivity of AT cells were investigated by analyzing chromosome aberrations in the G<sub>2</sub> and M phases of the cell cycle using a combination of chemically induced premature chromosome condensation (PCC) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with chromosome painting probes. Confluent cultures of normal fibroblast cells (AG1522) and fibroblast cells derived from an individual with AT (GM02052) were exposed to  $\gamma$  rays and allowed to repair at 37°C for 24 h. At doses that resulted in 10% survival, GM02052 cells were approximately five times more sensitive to  $\gamma$  rays than AG1522 cells. For a given dose, GM02052 cells contained a much higher frequency of deletions and misrejoining than AG1522 cells. For both cell types, a good correlation was found between the percentage of aberrant cells and cell survival. The average number of color junctions, which represent the frequency of chromosome misrejoining, was also found to correlate well with survival. However, in a similar surviving population of GM02052 and AG1522 cells, induced by 1 Gy and 6 Gy, respectively, AG1522 cells contained four times more color junctions and half as many deletions as GM02052 cells. These results indicate that both repair deficiency and misrepair may be involved in the hyper-radiosensitivity of AT cells. © 2003 by Radiation Research Society

### INTRODUCTION

Ataxia telangiectasia (AT) is a human autosomally recessive syndrome characterized by neurological degeneration, immune dysfunction, genomic instability, and high rates of cancer incidence (1, 2). AT cell lines exhibit abnormal responses to agents that induce DNA double-strand breaks (3, 4), including a pronounced sensitivity to ionizing

radiation. The diverse clinical features in individuals affected by AT and the complex cellular phenotypes are all linked to the functional inactivation of a single gene (AT mutated) (5). Several theories have been proposed for the underlying processes involved in this radiation hypersensitivity, including loss of cell cycle arrest, DNA repair deficiency, and impaired accuracy of DNA break rejoining.

In normal cells, ionizing radiation induces a delay in cell cycle progression at a number of different checkpoints including G<sub>1</sub>/S and G<sub>2</sub>/M and a replication-associated S-phase checkpoint. It is assumed that these delays in cell cycle progression allow the cell time to repair radiation-induced damage before the DNA undergoes replication. It has been shown that AT cells do not undergo an appropriate arrest at the G<sub>1</sub>/S-phase cell cycle checkpoint after irradiation (6-10), and this loss of checkpoint control was therefore proposed as the principal mechanism underlying the hypersensitivity of AT cells to radiation (7, 11, 12).

However, studies of intrinsic radiosensitivity in confluent nondividing cells, where the effects arising from cell cycle progression are eliminated, have shown that AT fibroblasts, unlike normal fibroblasts, have almost completely lost the ability to repair potentially lethal damage (PLD) (13-17). Slightly elevated levels of unrejoined DSBs have been detected in AT cells after long incubation periods (18, 19); about 10% of the initial radiation-induced DNA breaks persist in AT cells after 24 h compared to almost zero in normal cells. Since residual DSBs are strongly linked to cell killing, chromosome aberrations, and genomic instability, DNA repair deficiency has been proposed as the cause of hyper-radiosensitivity in AT cells (9, 19, 20).

Recently, plasmid-based recombination assays have demonstrated that the frequency of DSB misrepair in AT cells is higher due to a process of error-prone recombination (21). Löbrich *et al.* (22) used pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to investigate DSBs after exposure of cells to 80 Gy of X rays and found that the proportion of misrejoined breaks was 50% higher in AT cells compared to normal cells, suggesting that the hyper-radiosensitivity of AT cells might result from impaired accuracy of break rejoining. In summary, despite extensive studies concerning

<sup>1</sup> Address for correspondence: Department of Radiology (L1), Graduate School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba-shi, Chiba, 260-8670 Japan; e-mail: tkawata@med.m.chiba-u.ac.jp.

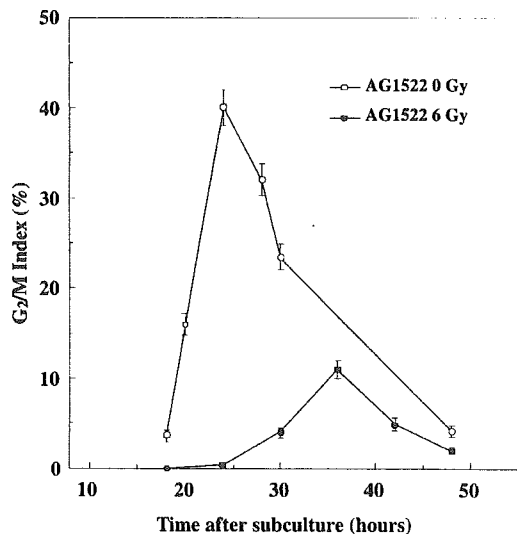


FIG. 1.  $G_2/M$  index in AG1522 cells exposed to 0 Gy and 6 Gy at different times after subculture. Bars are standard errors of the mean, estimated using the Bernoulli distribution.

the hyper-radiosensitivity of AT cells, the underlying mechanism still remains unclear.

In this study we investigated the processes involved in the hyper-radiosensitivity of AT cells by exposing nondividing ( $G_0$ ) cells of normal and AT fibroblast lines to  $\gamma$  rays and studied the relationship between cell survival and chromosome aberrations. A novel technique for chemically induced premature chromosome condensation (PCC) was used. Calyculin-A, a specific inhibitor of protein phosphatases type 1 and 2A, can induce PCC in a large fraction of the  $G_2$ -phase cell population (23–28) and allows chromosome aberrations to be analyzed in  $G_2$  phase after cells are exposed to radiation in  $G_0$ . Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with whole-chromosome DNA probes specific for human chromosome 1 and 3 was used to study chromosome aberrations.

## MATERIALS AND METHODS

### Cell Culture

Cells of the normal human fibroblast cell line, AG1522, were obtained from the NIA cell repository, and the ataxia telangiectasia fibroblast cells, GM02052, were obtained from the NIGMS human mutant cell repository. Low-passage AG1522 cells were grown in  $\alpha$ -minimum essential medium with 10% newborn calf serum. Low-passage GM02052 cells were grown in minimum essential medium with 15% fetal bovine serum. Cells were plated in T-25 flasks at 25% confluence and grown for 5–9 days before being irradiated in the confluent state.

### Irradiation

Irradiation with  $\gamma$  rays was performed using a  $^{137}\text{Cs}$  source with a dose rate of around 5 Gy/min at Baylor College of Medicine, Texas Medical Center, Houston. After irradiation, flasks were kept on ice to inhibit repair and carried to the biophysics laboratory at NASA Johnson Space Center, Houston.

### Cell Surviving Fraction after Irradiation

The fraction of surviving cells after irradiation was measured from the frequency of colony formation. After  $\gamma$  irradiation, cells were allowed to repair at 37°C for 24 h in a 95% air/5%  $\text{CO}_2$  atmosphere. Cells were then trypsinized and plated onto 100-mm-diameter plastic dishes. The concentration of the cell suspension was determined using a Coulter counter, and the number of cells seeded was adjusted to yield 30–100 colonies per 100-mm dish. Surviving cells were determined from the number of colonies containing a minimum of 50 cells.

### Harvesting Cells and Chromosome Aberrations

A chemically induced PCC technique was used to collect  $G_2$ -phase chromosomes as described elsewhere (25–28). Briefly, cells were incubated for 24 h after irradiation and were transferred from a T-25 flask to a T-75 flask. Colcemid (0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) was added to the medium 18 h after the subculture to increase the frequency of scorable cells (mitotic cells). After further incubation at 37°C, calyculin-A (Wako Chemicals, Japan; final concentration 50 nM) was added and the cells were incubated for 30 min at 37°C. The optimal collection time for  $G_2$ -phase and mitotic cells in the first cell cycle after irradiation was determined from the  $G_2$  and M-phase ( $G_2/M$ ) index curve generated from cells collected at various incubation times after subculture. The  $G_2/M$  index was determined using 1,000 cells for each time as follows:

$$(\text{Number of } G_2\text{- and M-phase cells}) / (\text{total cells observed}) \times 100 (\%)$$

Figure 1 shows the time course of the  $G_2/M$  index for AG1522 cells exposed to 0 Gy and 6 Gy. For nonirradiated samples, the  $G_2/M$  index peaked at 24 h, then decreased with incubation time. For samples irradiated with 6 Gy, the  $G_2/M$  index peaked at 36 h due to radiation-induced cell cycle delay (29). We selected these peak times for harvesting the AG1522 cells irradiated with 0 and 6 Gy. The harvest times for both cell types exposed to other doses were determined in the same manner. After treatment with calyculin-A, cells were transferred to a tube and centrifuged for 5 min at 2000 rpm. The pellet was carefully resuspended in 8 ml of 75 mM KCl then incubated at 37°C. After 20 min, 2 ml of freshly prepared fixative solution (methanol:glacial acetic acid = 3:1 v/v) was slowly added to the solution, and the tubes were centrifuged again. A final wash and fixation in fresh fixative was completed before dropping cells onto a glass slide. Cells were aged overnight at 37°C on a slide warmer and then hybridized *in situ* with fluorescent whole DNA probes 1 and 3 (Vysis). Details of the protocol have been described elsewhere (30). Cells were counterstained with DAPI and chromosome aberrations were viewed with a Zeiss Axioskop fluorescence microscope. Chromosomes were analyzed using FISH in one sample of cells irradiated with each dose.

The fraction of aberrant cells, which gives a direct measurement of the extent of chromosome damage, was calculated as the ratio of the number of cells containing one or more aberrations involving chromosomes 1 and/or 3 and the total number of cells scored, which ranged from 200 to 1000. We measured the number of color junctions per cell as a simple parameter representing the frequency of chromosome misrejoining. One bicolor junction originates from misrejoining of two different broken chromosomes and can easily be identified in FISH-painted chromosomes. For example, two bicolor junctions are involved in a simple reciprocal exchange (two bicolor chromosomes). Kreder *et al.* (31) recently reported the value of assessing color junctions by demonstrating a good correlation between the yields of color junctions and cell survival in cells of a lung carcinoma cell line after irradiation at different dose rates and radiosensitization by BrdU. The number of deletions was determined from the number of excess chromosome fragments, excluding those involved in incomplete reciprocal interchanges (only one bicolor chromosome).

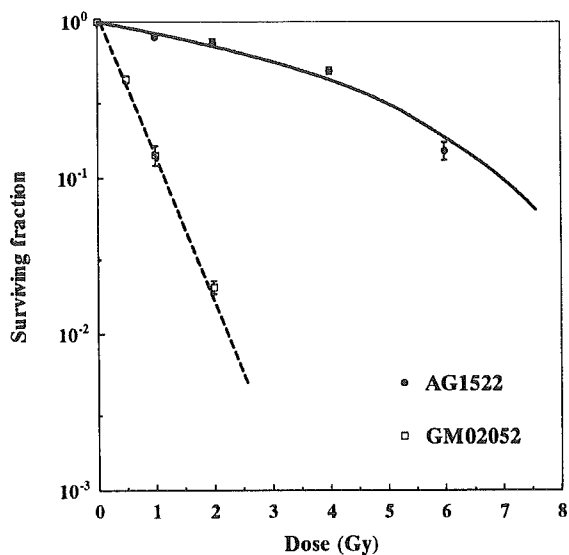


FIG. 2. Survival curves for nondividing AG1522 and GM02052 cells irradiated with  $\gamma$  rays. Each point represents the mean and standard error (SE) of three independent experiments.

## RESULTS

### Clonogenic Assays after $\gamma$ Irradiation

Figure 2 illustrates the results of the colony formation studies in AG1522 and GM02052 cells. The survival data

agree with the results of previous investigations (13–17) in which GM02052 cells showed a marked  $\gamma$ -ray sensitivity compared to AG1522 cells. The doses inducing 10% survival ( $D_{10}$ ) were around 1.2 Gy for GM02052 cells and 6.7 Gy for AG1522 cells, respectively, indicating that GM02052 cells were approximately five times more sensitive to  $\gamma$  rays than AG1522 cells.

### Correlation between Chromosome Aberrations and Cell Survival

Figure 3 shows an example of chromosome aberrations detected in a GM02052 cell after exposure to 4 Gy of  $\gamma$  rays. Here two deletions from chromosome 3, four bicolor junctions involving chromosome 1, and DAPI-stained chromosomes are clearly visible.

Figure 4a shows the dose-response curves for the induction of deletions and color junctions in GM02052 and AG1522 cells. A similar trend was observed for both cell lines. However, at a given dose, GM02052 cells had a much higher frequency of both deletions and color junctions than AG1522 cells. After 4 Gy, the number of deletions per cell was 0.6 for GM02052 cells and 0.1 for AG1522 cells, while the number of color junctions per cell was 1.3 and 0.32, respectively. The higher yields of both deletions and misrejoining in GM02052 cells provide evidence that radiation-induced aberrations in GM02052 cells evolve, at least in part, from a reduced repair efficiency and an impaired ac-

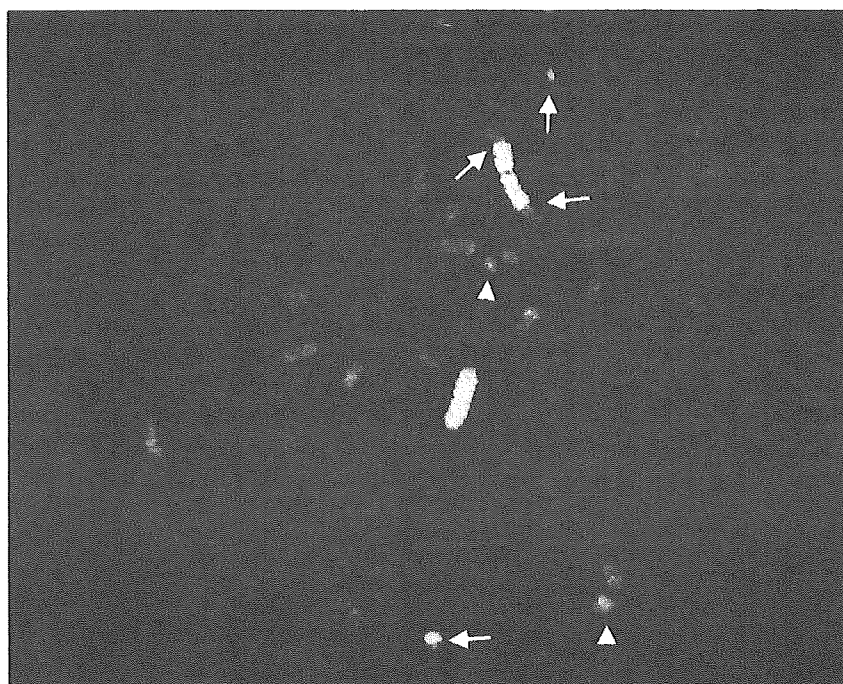


FIG. 3. Example of chromosome aberrations in GM02052 cell exposed to 4 Gy. Chromosome 1 was painted with a Spectrum Green probe and chromosome 3 with Spectrum Orange probe. Spreads were counterstained with DAPI. The arrows show bicolor junctions (misrejoining) and the arrowheads show deletions. In this example, there are four bicolor junctions and two deletions.

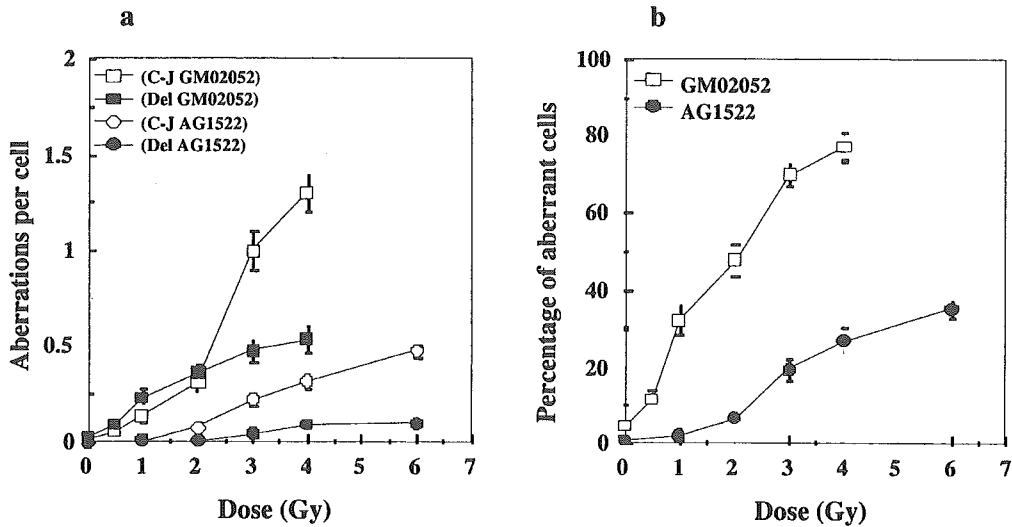


FIG. 4. Panel a: Dose response for the induction of deletions and color junctions in AG1522 and GM02052 cells. Bars are SE. Panel b: Dose response for the percentage of aberrant AG1522 and GM02052 cells. Bars are SE estimated using the Bernoulli distribution.

curacy of break rejoining. In Fig. 4b, aberrant cells are plotted as a function of dose. Due to the higher yields of deletions and misrejoining, GM02052 cells showed a marked increase in the percentage of aberrant cells with dose. Around 30% of GM02052 cells had a deletion(s) and/or color junction(s) after irradiation with 1 Gy; this increased to 80% after 4 Gy. By contrast, around 35% of AG1522 cells contained aberrations after exposure to 6 Gy. Previously, Russell *et al.* (32) irradiated eight human fibroblast cell lines of different radiation sensitivities and found a highly statistically significant correlation between survival and percentage of aberrant cells for all eight cell types. Figure 5 shows the relationship between the percentage of

aberrant cells and the surviving fraction for AG1522 and GM02052 cells. In agreement with the results of Russell *et al.* (32), a good correlation was found between the percentage of aberrant cells and cell survival. Therefore, the percentage of aberrant cells measured using the FISH technique may predict the intrinsic radiosensitivity of human fibroblast cells.

The relationship between cell survival and misrejoining is shown in Fig. 6, where the surviving fraction is plotted as a function of the number of color junctions per cell. A

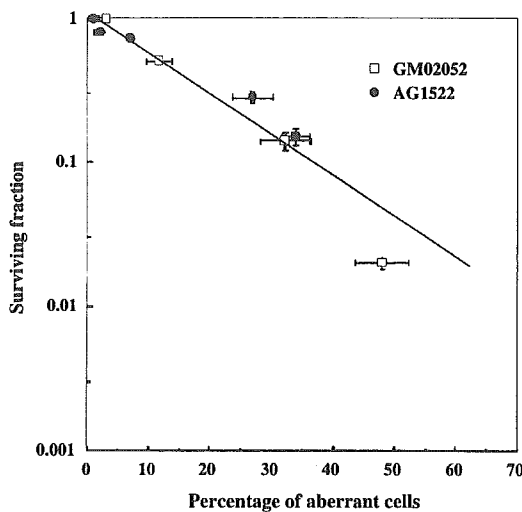


FIG. 5. Relationship between cell survival and the percentage of aberrant AG1522 and GM02052 cells. Data are from Figs. 2 and 4b. The line represents a linear best fit to the pooled data. Bars are SE.

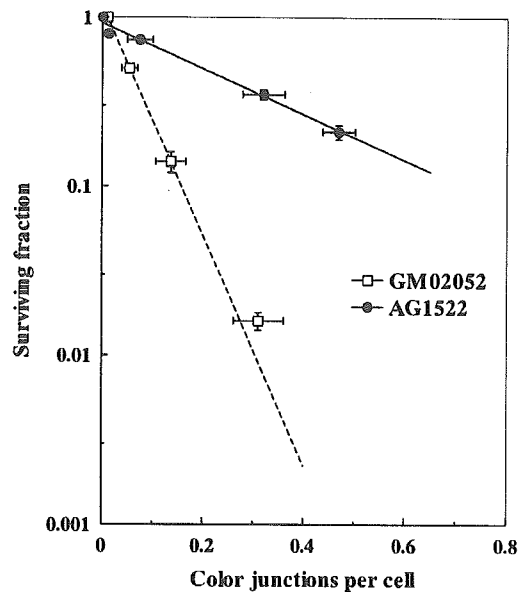


FIG. 6. Relationship between cell survival and the number of color junctions per cell. Data are from Figs. 2 and 4a. The lines represent best fits to the data. Bars are SE.

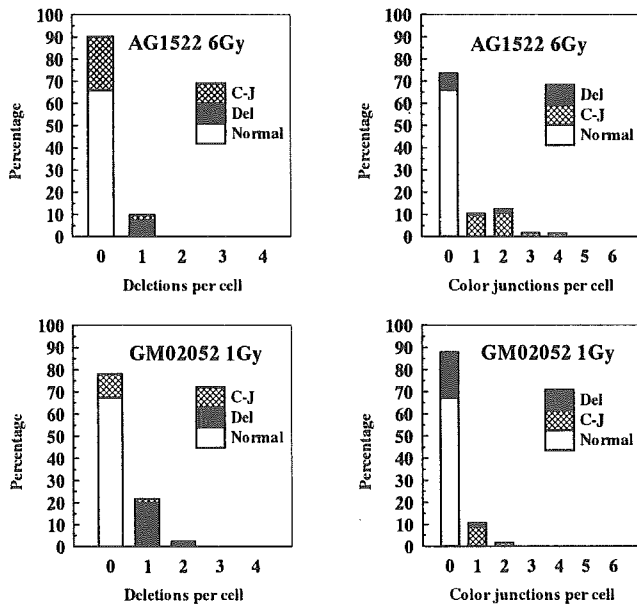


FIG. 7. Distribution of cells with deletions and/or color junctions in AG1522 and GM02052 cells at similar survival levels. Doses were 6 Gy for AG1522 cells and 1 Gy for GM02052 cells.

close correlation between survival and misrejoining was found in both AG1522 and GM02052 cells. However, the slope of the curve for GM02052 cells was much steeper than for AG1522 cells; i.e., at the same surviving fraction, AG1522 cells had about four times as many color junctions per cell. Since comparable surviving fractions of AG1522 and GM02052 cells have a similar percentage of aberrant cells (see Fig. 5), higher frequencies of color junctions in AG1522 cells suggest that a different aberration pattern exists in GM02052 and AG1522 cells. To investigate this further, the distribution patterns of damage in the aberrant cells were compared. Figure 7 shows the distribution of deletions and/or color junctions in populations with a similar surviving fraction of cells: a 15% surviving fraction for GM02052 cells after a 1-Gy exposure, and a 20% surviving fraction for AG1522 cells after a 6-Gy exposure. Although the percentage of aberrant cells was almost the same (35%), GM02052 cells had a much higher fraction of cells with one or more deletions, 22% compared to 10% of AG1522 cells, and AG1522 cells had a higher fraction of cells containing one or more color junction, 27% compared to 12% in GM02052 cells. Furthermore, the numbers of color junctions per cell were distributed more widely in AG1522 cells.

## DISCUSSION

After cells are exposed to radiation in  $G_0$ , chromosome damage can be studied either in metaphase (by harvesting the cells at the first postirradiation mitosis) or in interphase (by PCC). PCC techniques provide a tool for analyzing

chromosomal aberrations before the cell reaches mitosis. It has been reported that the frequencies of chromosome aberrations in mitotic cells are lower than those in  $G_0$  or  $G_2$ -phase cells (33, 34). Recent studies have also suggested that the frequencies of chromosome aberrations induced by high-LET radiation increase in mitotic cells collected after longer incubation (35, 36). Assessing chromosome aberrations in prematurely condensed chromosomes would therefore provide more precise estimation of radiation-induced damages than in mitotic cells collected at one time after exposure.

Although calyculin-A condenses chromosomes mostly in the  $G_2$  phase of the cell cycle, the yield of chromosome aberrations in  $G_2/M$  phase would closely reflect values in  $G_0$  after the 24-h repair period. Most of the DNA breaks and chromosome fragments induced in both normal and AT fibroblasts are rejoined within 24 h after irradiation, and the rate of unrejoined breaks then reaches a plateau (16, 19, 37). When normal and AT fibroblast cells are allowed to repair for 24 h after exposure to 4 Gy X rays, the majority of both cell types then progress through the cell cycle to the first mitosis (38). Primary human fibroblasts do not undergo apoptosis after irradiation (37, 39). Similar frequencies of aberrations have been reported in chromosomes condensed using calyculin-A and in chromosome condensed in  $G_0$  using the cell fusion PCC technique (34). Our results are therefore reflective of the yields of misrepaired DSBs or chromosome breaks in  $G_0$  after repair. In Fig. 4a, we show that after 4 Gy of  $\gamma$  rays, GM02052 cells had around six times more deletions than AG1522 cells, which is in excellent agreement with the results of Cornforth and Bedford (40), who reported that irradiated GM02052 fibroblasts retained a five to six times higher level of residual  $G_0$  prematurely condensed chromosome breaks than AG1522 cells after exposure to 6 Gy. It follows, therefore, that analysis of aberrations in chromosomes prematurely condensed in  $G_2$  phase by calyculin-A could be an easy and useful alternative for assessing repair of DNA DSBs or chromosome breaks induced during  $G_0$ .

To assess chromosome misrejoining after irradiation, we measured the frequency of color junctions using the FISH technique. The probability of a DNA break joining either correctly or incorrectly is believed to depend on the spatial proximity and the number of DSBs induced at one time; i.e., the presence of multiple DSBs at one time enhances misrejoining in repair-proficient cells (41). Previous studies have reported that a given dose of radiation induces almost the same number of initial  $G_0$  chromosome breaks in AG1522 and GM02052 cells (40, 42), and that both cell types are proficient in rejoining the breaks (40). A number of investigators have also reported that the rates of DSB induction and repair in AT cells are similar to those of normal fibroblast cells (18, 22, 43-47). Foray *et al.* (19) reported that the rejoining of DNA breaks in AT fibroblast cells was faster than in normal fibroblast cells. From these data, we would expect AG1522 and GM02052 cells to have

similar yields of chromosome misrejoining after exposure to the same dose of  $\gamma$  rays. However, our results, shown in Fig. 4a, demonstrate that when both cell types were irradiated with the same dose, the frequency of misrejoining was around six times higher in GM02052 cells than in AG1522 cells. Since the number of initial chromosome breaks was the same for both cell types, this indicates that GM02052 cells are less efficient at correctly repairing DNA break ends during  $G_0$ .

It has recently become clear that there are at least two different DSB repair pathways in mammalian cells: non-homologous end joining (NHEJ) and homologous recombination (HR) (48). The NHEJ pathway plays a dominant role in DSB repair during  $G_1$  and early S phase, while recombinational repair is preferentially used in late S/ $G_2$  phase (49). When nondividing cells are exposed to radiation and allowed to repair, most DNA DSB repair is believed to occur through the NHEJ pathway. The indication that GM02052 cells repair DSBs less accurately during the  $G_0$ / $G_1$  phase is consistent with observations that the ataxia telangiectasia mutated (*ATM*) gene binds preferentially to DNA break ends and functions as an upstream sensor of DNA damage (50–52). *ATM* may play a role in correctly joining DNA break ends in cooperation with NHEJ.

A higher rate of misrejoining in GM02052 cells accounts in part for the hyper-radiosensitivity of this cell line. However, this does not fully explain the cause, since a similar surviving fraction of GM02052 and AG1522 cells contained a similar number of aberrant cells, but GM02052 cells had only one-fourth the number of color junctions per cell and twice the number of cells with deletions observed in AG1522 cells (Figs. 6 and 7). This result indicates that the extremely high frequency of deletions induced in GM02052 cells is another important factor involved in the hyper-radiosensitivity of AT cells. In the present study, deletions included terminal deletions as well as certain misrejoined breaks such as centric rings and acentric rings (intra-chromosomal exchanges). The number of deletions per cell was calculated from the number of excess chromosome fragments, excluding those involved in incomplete interchanges. The observed deletions would therefore represent mostly interstitial deletions, and this would indicate that the DNA or chromosome misrejoining process would be the principal mechanism involved in the hyper-radiosensitivity of GM02052 cells. Telomere probes will help to distinguish between "true" terminal deletions (unrejoined) and intra-chromosomal exchanges (misrejoined).

In conclusion, we have shown good correlation between cell survival and  $G_2$ -phase chromosome aberrations detected by FISH painting. GM02052 cells have shown a much higher frequency of deletions and misrejoining after irradiation than AG1522 cells. An impaired accuracy of DNA break rejoining in GM02052 cells appears to provide an explanation of the hyper-radiosensitivity of AT cells. However, this is not yet conclusive, since this result was obtained from a comparison of a single AT and normal cell

line. Inclusion of more data from other AT cell lines are necessary to confirm the results, and further experiments using other normal and AT fibroblast cells are under way to investigate the mechanism underlying the hyper-radiosensitivity of AT cells.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. Marco Durante for fruitful discussion on this research. This work was supported by NASA Space Radiation Health Program. T. Kawata was supported by Universities Space Research Association during the period he worked at the NASA Johnson Space Center.

Received: April 17, 2002; accepted: October 3, 2002

#### REFERENCES

1. M. Swift, D. Morrell, R. B. Massey and C. L. Chase, Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia. *N. Engl. J. Med.* **325**, 1831–1836 (1991).
2. A. M. R. Taylor, J. A. Metcalfe, J. Thiek and Y. F. Mak, Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* **87**, 423–438 (1996).
3. A. M. R. Taylor, D. G. Harnden, C. F. Arlett, S. A. Harcourt, A. R. Lehmann, S. Stevens and B. A. Bridges, Ataxia telangiectasia: A human mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature* **258**, 427–429 (1975).
4. J. Thacker, Cellular radiosensitivity in ataxia-telangiectasia. *Int. J. Radiat. Biol.* **66** (Suppl.), S87–S96 (1994).
5. K. Savitsky, A. Bar-Shira, S. Gilad, G. Rotman, Y. Ziv, L. Vanagaite, D. A. Tagle, S. Smith, T. Uziel and Y. Shiloh, A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* **268**, 1749–1753 (1995).
6. J. Houldsworth and M. F. Lavin, Effect of ionizing radiation on DNA synthesis in ataxia telangiectasia cells. *Nucleic Acids Res.* **8**, 3709–3720 (1980).
7. R. B. Painter and B. R. Young, Radiosensitivity in ataxia-telangiectasia: A new explanation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 7315–7317 (1980).
8. H. Beamish, R. Williams, P. Chen and M. F. Lavin, Defect in multiple cell cycle checkpoints in ataxia-telangiectasia postirradiation. *J. Biol. Chem.* **271**, 20486–20493 (1996).
9. P. A. Jeggo, A. M. Carr and A. R. Lehmann, Splitting the ATM: Distinct repair and checkpoint defects in ataxia-telangiectasia. *Trends Genet.* **14**, 312–316 (1998).
10. G. Xie, R. C. Habbersett, Y. Jia, S. R. Peterson, B. E. Lehnert, E. M. Bradbury and J. A. D'Anna, Requirements for p53 and the ATM gene product in the regulation of  $G_1$ /S and S phase checkpoints. *Oncogene* **16**, 721–736 (1998).
11. M. S. Meyn, Ataxia-telangiectasia and cellular responses to DNA damage. *Cancer Res.* **55**, 5991–6001 (1995).
12. T. J. Jorgensen and Y. Shiloh, The ATM gene and the radiobiology of ataxia-telangiectasia. *Int. J. Radiat. Biol.* **69**, 527–537 (1996).
13. R. R. Weichselbaum, J. Nove and J. B. Little, Deficient recovery from potentially lethal radiation damage in ataxia telangiectasia and xeroderma pigmentosum. *Nature* **271**, 261–262 (1978).
14. R. Cox, W. K. Masson, R. R. Weichselbaum, J. Nove and J. B. Little, The repair of potentially lethal damage in x-irradiated cultures of normal and ataxia telangiectasia human fibroblasts. *Int. J. Radiat. Biol.* **39**, 357–365 (1981).
15. C. F. Arlett and A. Priestley, Defective recovery from potentially lethal damage in some human fibroblast cell strains. *Int. J. Radiat. Biol.* **43**, 157–167 (1983).
16. M. N. Cornforth and J. S. Bedford, A quantitative comparison of potentially lethal damage repair and the rejoining of interphase chro-

# 放射線はなぜ癌に効くのか

—より効果を上げるためには—

伊東久夫\*

キーワード◎ 放射線治療 放射線感受性 正常組織障害 三次元照射法

## はじめに

レントゲンが1895年にX線を発見し、放射線治療はその翌年から始まった。最初は体表から見える腫瘍を対象に、腫瘍の縮小で効果を判定した。20世紀初頭には、1回に多量の放射線を照射した場合に比べて、数回に分けて照射(分割)すると、“皮膚の障害が少なく、分裂の盛んな細胞を多く殺す”ことが発見され、分割照射の概念が導入された<sup>1)</sup>。身体深部の腫瘍に対する本格的な治療は、超高圧放射線治療機(コバルト, リニアック)が広く普及した1950年以後である。

放射線で腫瘍が治る真の機序は、現在でも分かっていない。放射線治療は経験の積み重ねから、①分割の方法を変えると腫瘍と正常組織に対する反応が変化する、②放射線で根治できる腫瘍がある、③正常組織はある線量まで照射しても目立った副作用が発生しない、ことを修得し臨床に利用している。

## I. 放射線の(癌)細胞に対する作用

癌は放射線照射のみでも治るため、放射線で



\*いとう・ひさお：千葉大学大学院医学研究院教授(放射線腫瘍学)。昭和45年慶應義塾大学医学部卒業。昭和55年慶應義塾大学医学部専任講師。昭和56年テキサス大学M.D.アンダーソンがんセンター研究員。平成2年慶應義塾大学医学部助教授。平成8年現職。主研究領域/放射線治療(特に婦人科領域の放射線治療)、放射線生物学。

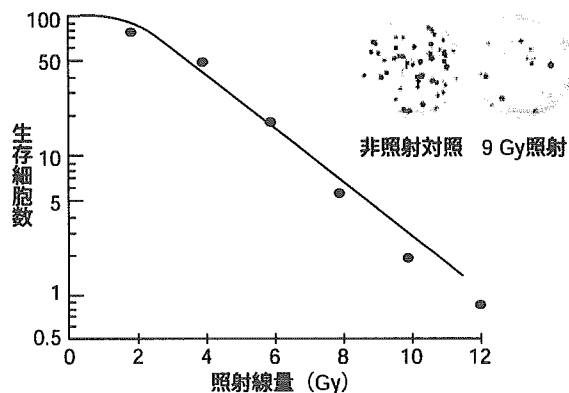


図1 培養細胞の生存曲線

細胞に放射線を照射すると、線量に応じて生存細胞数が減少する。線量の増加に伴い、生存細胞数は限りなく“ゼロ”に近づく。右上に、コロニー形成の例を示した。

癌細胞が死滅することは明らかである。癌細胞の死滅する機序として、1956年以前には2つの説が提唱されていた。第1は放射線が癌細胞を直接殺す、というものである。第2は放射線が腫瘍周囲の間質に作用して線維化を起し、腫瘍への血流を途絶させるため、癌細胞が間接的に死滅する、という説である。この論争は、Puck & Marcusによって細胞培養の技術が開発され、細胞の照射実験が可能になり決着した。すなわち、照射線量と照射後に生存する細胞数との間に、直線関係(対数目盛りにした場合)が認められ、放射線は細胞を直接殺すことが証明された(図1)<sup>2)</sup>。

たとえば、各シャーレに100個の細胞を入れて、それぞれのシャーレに各種の線量を照射す



る。1週間くらい培養すると、目に見える細胞集団（コロニー）がシャーレ中に出現する（図1上方左）。1つのコロニーは1つの細胞が増殖して形成される。100個の細胞を入れたシャーレは、照射しないと100個のコロニーができるはずである。照射すると、生き残った細胞だけがコロニーを形成する（図1上方右）。したがって、線量と生存細胞数の関係を解析できる。

放射線療法と化学療法は非観血的治療であるが、両者には大きな違いがある。薬剤は血流によって目的臓器・組織に分配される。すなわち、薬剤の癌細胞に対する効果は、細胞に対する直接作用以外に、分配という因子が大きく影響する。放射線は目的の臓器・組織に均一に分布するため、薬剤と異なり、分配の因子を考慮する必要がない。したがって、照射された細胞が死滅するか否かは、細胞の反応のみに依存する。放射線が同じように照射されても、ある細胞は死滅し、他のものは生存する。このような細胞の反応の違いは、なぜ起こってくるのであろうか。

放射線による細胞死の主な原因は、核のDNAが放射線で切断（損傷）されるためと考えられている。放射線によって損傷されたDNAは、細胞自身もっている修復機能で修復される。この修復機能が細胞ごとに異なり、その大小が細胞の生死（放射線で癌が治るか否か）に大きく関連すると考えられる<sup>3)</sup>。たとえば、細胞を兵士、放射線を戦場における弾丸とすると、細胞のDNA修復機能は野戦病院である。兵士（細胞）は弾丸（放射線）に当たっても、最高設備の野戦病院（DNA修復機能）で治療を受ければ、負傷した兵士の多くは、治癒して生存できる（放射線感受性が低い）。一方、治療を受けることができないと、多くの兵士が無為に死亡することになる（放射線感受性が高い）。

## II. 放射線の癌に対する作用と副作用

“放射線治療により癌が治る”とは、どのよう

な病態を意味するのであろうか。種々の説があるが、いちばん分かりやすいのは、“残存する癌細胞がなくなる”という仮説である<sup>2)</sup>。本稿ではこの仮説に従って解説していく。

もう一度図1に戻り、この図の意味を考えてみよう。放射線の量が多くなると生存する細胞数は著しく減少し、最終的には“ゼロ”に限りなく近づく<sup>2)</sup>。すなわち、どのような癌細胞でも、放射線の線量を多くすれば、最終的には完全に死滅させることが可能である。放射線を無制限に照射できれば、どのような癌でも、放射線で必ず治すことができるはずである。これが放射線治療の根本である。しかし、現実には放射線で治る癌はきわめて限定され、期待するほどの効果が得られていない。この理想と現実の違いは何に由来するのであろうか。

放射線治療で常に問題になることは、放射線の副作用である。通常の放射線治療では、腫瘍周囲の正常組織にも放射線が照射されてしまう。図2は身体の中での放射線量分布の割合（深部線量率）を示している。前後対向2門という一般的に使われる治療法で、肺癌を治療した場合、腫瘍と周囲の正常組織には、ほとんど同じ量の放射線が照射されている。正常組織はある程度以上の線量を被ばくすると、重篤な副作用が発生する。そのため、腫瘍には多くの線量を照射したいが、副作用を考えると、不十分な線量で中止せざるをえない。結果として、腫瘍に対して、期待するほどの効果が得られない。

図3は、線量と局所腫瘍の治る割合（腫瘍制御率：曲線A）および副作用の発生頻度（正常組織障害発生率：曲線B）との関係を模式図で示したものである。腫瘍制御率の曲線AはS字型曲線となり、その意味は以下ようになる。

照射線量がある線量（図3のイ）に達するまでは、腫瘍が治る可能性はない。しかし、ある線量を超えると治る患者の割合が急速に増加する。特に50%の患者が治る線量（図3のロ）辺りでは、少し線量を増加するだけで、治る患者

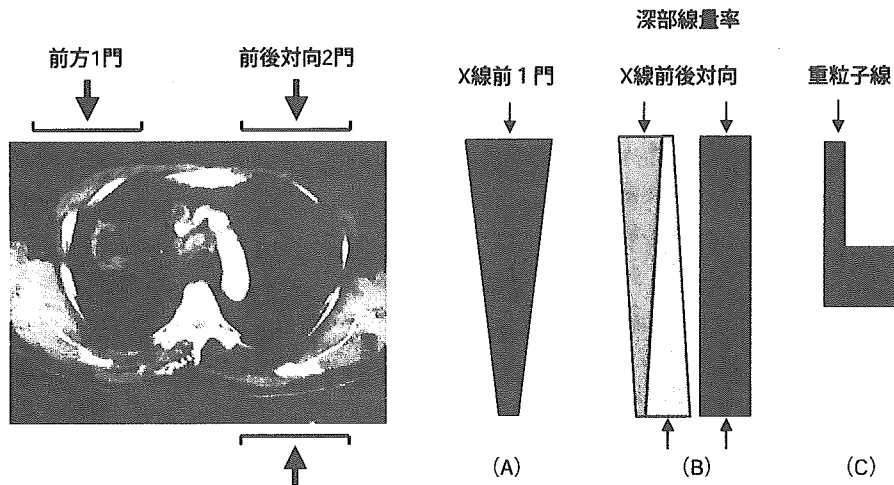


図2 体内での放射線量分布の割合（深部線量率）

放射線を体外から照射した場合、体内での線量の分布状態を示す。X線は照射した部位から、身体の内  
部に向かって減少する(A)。前後から均等に照射すると、全体に均一に分布する(B)。重粒子線は身体  
内の目的の部位で、大量の放射線を発生する(C)。

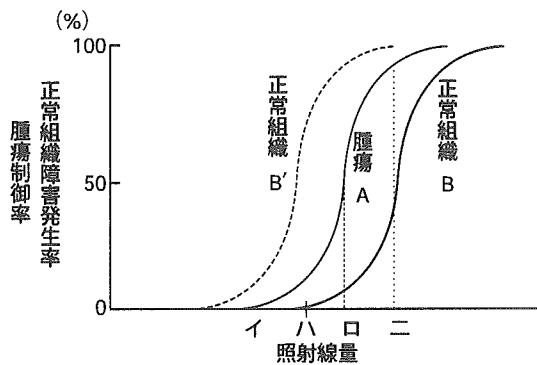


図3 照射線量と腫瘍制御率および障害発生頻度  
の関係

ある照射線量を超えると、腫瘍の治る患者が出現し、その後  
はわずかな線量の増加で、治る患者の率は急上昇する。しか  
し、障害発生頻度も急上昇する。

の割合が急上昇する。副作用の曲線 B は、腫瘍  
制御の曲線 A の右側に描かれている。腫瘍制御  
の曲線と同様に、ある線量を超えると急速に副  
作用の頻度が上昇する。この副作用が出現する  
直前の線量、すなわち S 字曲線の立ち上がりの  
線量（図 3 のハ）が、正常組織が放射線被ばく  
に耐えられる線量（耐容線量）となる。

図 3 の曲線は動物実験から得られた結果で

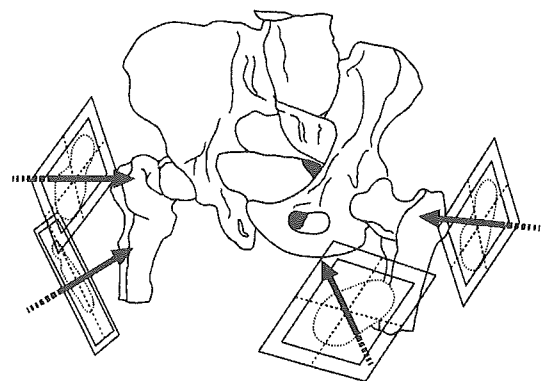


図4 三次元原体照射法

立体的にいろいろな方向から照射して、腫瘍に放射線を集  
中させる。

あるが、多くの臨床上の経験から、臨床的にも  
このような曲線関係は認められている。また、  
临床上は臓器・組織によっては、腫瘍制御の曲  
線 A と副作用の曲線 B の位置関係が逆転する  
こともありうる(曲線 B') (たとえば、全腎臓や  
全肝臓と腫瘍)。この場合は、放射線治療が最初  
から成立しない。

### III. 放射線治療成績改善のための工夫

放射線の増量によって癌を根治できるとすれば、放射線治療は正常組織の被ばくの軽減を考えればよいことになる。放射線治療医は正常組織への線量を少なくし、腫瘍に多くの線量を照射する方法を工夫してきた。もう一度図3を参照されたい。現在、30～50%の患者が治るような腫瘍は、照射線量を10～20%増加すれば(図3の二)、大幅な治癒の改善が期待できる。過去の臨床的報告の解析から、すべての癌を対象とした場合、1 Gy 余分に照射できれば、5年生存率が1～1.5%向上すると推定されている<sup>9)</sup>。しかし、従来の治療法で照射すると、副作用も著しく増加し、治療として成立しない。そのため、腫瘍に放射線を集中し、周囲正常組織の被ばくを避ける手技の開発が必要となる。

周囲正常組織への被ばく線量を減少させる方法は、画像診断とコンピュータの進歩により、日常利用できる治療手技となってきた<sup>5)</sup>。従来、放射線治療は二次元で行われてきた。すなわち、前後や左右という二次元の方向から治療していた。最近では、周辺機器の進歩により、放射線を三次元の立体的方向から照射し、体内の癌に集中させることが可能になった(図4)。

この概念を最初に臨床応用したのが、ガンマナイフである。その後、通常のリニアック治療機でも容易に行えるようになり、原体照射法(conformal radiotherapy)、定位手術的照射(stereotactic radiosurgery; SRS)、定位的放射線治療(stereotactic radiotherapy; SRT)などの各種の手技が開発された。いずれも腫瘍周囲の正常組織への被ばくを軽減し、放射線を三次元的に腫瘍に集中させる手技である。最近では、より効果的に治療するため、治療機器にも新しい工夫が施され、強度変調放射線治療(intensity modulated radiation therapy; IMRT)が開発されてきた。これらの治療法は、小さな腫瘍に適用する場合、1回に多くの線量を照射可能で、治療

期間の短縮にも役立っている。

上記手技は放射線治療で通常使用するX線やガンマ線を用いるが、粒子線(陽子線、重イオン線)を利用した治療法も登場した。粒子線はX線やガンマ線と異なり、放射線のもつ固有の性質として、身体のある深さの部位に到達すると、突然大きなエネルギーを放出して消滅する。

このエネルギー放出部位の深さを癌の部位に合わせると、正常組織の被ばくを少なくして、腫瘍に多くの放射線を照射できる(図2重粒子線)。理想的な放射線治療と思われるが、設備投資や経常経費が、通常の放射線治療の数十～数百倍必要である。また、理論的には理想的と思われるが、実際の臨床上の成果ははまだ不明瞭で、経費と効果の関係も不明である。

今まで述べてきたことは、治療に関する機器の進歩である。いずれにしても、導入には多くの経費を必要とする。機器は従来のものを用いて、使用法から治療成績を改善する工夫も行われている。

第1は、薬剤を用いる方法である。腫瘍に対する放射線の作用を増強させる薬剤の開発が行われている。放射線増感薬と呼ばれるが、現在までのところ、臨床的に役立つ薬は開発されていない。多くの抗癌剤は増感作用を多少有しているため、放射線との併用効果が期待され、同時併用されることが多くなっている。一方、正常組織を放射線から保護する目的で、放射線防護薬も開発されているが、これも現状では臨床上有用なものはない。

第2は、放射線の分割法の変更(1回に照射する線量を変えて、治療回数や治療日数を変化させる)である。多分割照射法は腫瘍と正常組織との差(図3の曲線Bをより右方へ移動させる)を大きくして、多くの線量を腫瘍に照射する試みである<sup>5)</sup>。

## おわりに

分子生物学的手法が広く活用できるようになり、放射線による細胞死の機序も詳細に解明されてきている。しかし、現状では臨床上、治療効果の改善に結び付くような結果は得られていない。

現在、放射線治療を理解していただくうえで必要なことは、①治療成績は正常組織の被ばくを避けて腫瘍にいかにも多くの線量を照射できるか、に依存している、②腫瘍への線量を増加できれば治らない癌も治る可能性がある、ことであろう。

日常、放射線治療を行っても多くの癌が治っていない。これは放射線が癌に効かないのか、

放射線を十分に照射できないためか、現状ではだれにも分からない。

## 文 献

- 1) Hall EJ : Time, dose and fractionation in radiotherapy. In *Radiobiology for the radiologist*, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins Publishers, Philadelphia, 2000 ; 397—418.
- 2) Withers HR, Peters LJ : Basic principles of radiotherapy, ed Fletcher GH, In *Textbook of Radiotherapy*, 3rd ed, Lea and Febiger, Philadelphia, 1980 ; 103—227.
- 3) Lichter AS, Lawrence TS : Recent advances in radiation oncology. *N Engl J Med* 1995 ; 332 (6) : 371—379.
- 4) The Swedish Council on Technology Assessment in Health Care : Future development in radiotherapy. *Acta Oncol* 1997 ; 35 (Suppl 6) : 75—83.
- 5) Special issue : Implementation of three dimensional conformal radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995 ; 33 (5) : 979—1321.



子宮頸癌治療の CONTROVERSY

## 6. 放射線治療の適応と限界

伊東久夫・宇野 隆・川田哲也。  
千葉大学大学院医学研究院放射線腫瘍学。

Key Words/化学放射線療法, シスプラチン

### 要旨

米国の5つの臨床試験で、子宮頸癌にはCDDPを含む同時併用化学放射線療法の有効性が示された。これはきわめてエビデンス・レベルの高い事実で、本邦でもこの治療法を標準治療法とすべきかもしれない。しかし、日米で子宮頸癌や放射線治療という同一の用語を用いても、その内容には大きな差がある。この点を考慮し、米国の臨床試験の結果をそのまま本邦に導入することには注意が必要である。

### はじめに

子宮頸癌の放射線治療は長い歴史がある。1895年、レントゲンがX線を発見し、1898年にキューリ婦人がラジウムを発見した。子宮頸癌の放射線治療はその直後から開始され、根治性があり優れた治療法と評価された。1913年、子宮頸癌に対するラジウム治療の良好な成績がドイツで報告され、手術法の開発に情熱を傾けていた婦人科医が嘆いたと言われている<sup>1)</sup>。その後も臨床的経験に基づき、治療法は少しずつ改善されて治療成績も向上した。1950年代、超高压放射線治療機器が開発・普及し、リンパ節転移や骨盤側壁の腫瘍も治療が可能となった。

最近は無注療法を含めて様々な投与方法で化学療法を併用し、治療成績の改善が模索されてきた。しかし、併用療法は局所腫瘍の良好な縮小効果を示すが、生存率を改善しないとされていた。米国 National Cancer Institute (NCI) による1996年の子宮頸癌治療指針でも、「現在のところ化学療法の併用は何らの利点もない」とされていた。しかし、NCIは1999年2月、緊急提言を行い、「子宮頸癌に化学療法と放射線を同時併用すると、生存率は著しく改善し有効な治療法である」と変更した<sup>2)</sup>。その根拠は、GOG (Gynecologic Oncology Group) と RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) で行われた5つの無作為臨床試験の結果、すべての研究でシスプラチン (CDDP) 併用群の生存率が、

非併用群を上回ったためである(表1)<sup>3)-7)</sup>。米国NCIの進行子宮頸癌の治療指針では、放射線療法とCDDPを含む化学療法の同時併用が強く推奨されている(表2)<sup>8)</sup>。本邦における子宮頸癌放射線治療でも、この治療指針を標準治療とすべきか否かについて考察する。

### 放射線療法の補助化学療法

多くの化学療法剤が頸癌の転移や再発にある程度の効果を示す。シスプラチンは最も有用な化学療法剤で、反応率が20~40%である。ある程度効果を示す(10~15%)化学療法剤とし

て、アドリアマイシン、ブレオマイシン、マイトマイシンC、5-FU、ビンブラスチン、メソトレキセートがある。化学療法剤は一般に無治療例には良好な成績を示すが、進行癌や再発癌ではCRを得ることは難しく、効果持続期間も短い。CDDPを含んだ多剤併用療法の第2相試験あるいは第3相試験では、PR率が50%で時にCRが見られる。

放射線療法に補助化学療法を行った場合、少なくとも7つの臨床試験では利点が示されなかった。1990年、Chauvergneらは195例を対象に無作為臨床試験を行い、2~4回の化療療法後に放射線を行った群と、放射線療法単独群を比較した<sup>9)</sup>。腫瘍の反応は両群に差がなく(放射

表1 CDDP同時併用化学放射線療法の概要

試験名	適応	治療法	患者数	3年生存率	文献
GOG85	II B-IVA; PAN (-)	RT + HU <sup>1)</sup>	191	57	4; Whitney CW
		RT + 5FU + CDDP <sup>1)</sup>	177	68	
GOG120	II B-IVA; PAN (-)	RT + HU <sup>2)</sup>	177	47	5; Rose PG
		RT + CDDP <sup>2)</sup>	176	65	
		RT + CDDP + 5FU + HU <sup>2)</sup>	173	65	
GOG123	I B > 4 cm, node (-)	RT → EF hyst. *	183	74	6; Keys HM
		RT + CDDP → EF hyst. <sup>3)</sup>	186	83	
RTOG90-01	I B1 (n+) or I B2 (> 5) - I VA PAN (-)	RT (pelvic + PA)	193	63	3; Morris M
		RT + CDDP + 5FU <sup>4)</sup>	193	75	
SWOG87-97	I B- II A, S/P RH-Pel N1 Margin or para (+)	RT	116	77	7; Peters III WA
		RT + CDDP + 5FU <sup>5)</sup>	127	87	
NCI Canada	I B/II A/II B (> 5 cm), III, IV or pelvic N + any size	RT	127	66	12; Pearcey R
		RT + CDDP <sup>6)</sup>	126	69	

EF hyst \* : extrafascial hysterectomy

1) CDDP 50 mg/m<sup>2</sup>, day 1, 29; 5-FU 4,000 mg/m<sup>2</sup>/96hr, day 2-5, 30-33; HU 80 mg/kg 2 × /w, 6w

2) CDDP 40 mg/m<sup>2</sup>, 1 × /w, 6w or CDDP 50 mg/m<sup>2</sup>, day 1, 22; 5-FU 4,000 mg/m<sup>2</sup>/96hr, day 1-4, 22-25

3) CDDP 40 mg/m<sup>2</sup>, 1 × /w, 4-6w; 5-FU 4,000 mg/m<sup>2</sup>/96hr, day 1-4, 22-25; HU 2.3 mg/m<sup>2</sup> 6w

4) CDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, day 1, 22, 43, 64; 5-FU 4,000 mg/m<sup>2</sup>/96hr, day 1-4, 22-25, 43-46, 64-67\*\*

\*\* : 2 cycles were given during RT and two after

5) CDDP 40 mg/m<sup>2</sup>, 1 × /w, 6w

6) CDDP 40 mg/m<sup>2</sup>, 1 × /w, 6w

表2 NCIの子宮頸癌治療指針(放射線治療に関する部分のみ抜粋)

## 総論

- 1) 5つの第Ⅲ相無作為試験の結果、放射線とCDDPを含む化療の同時併用により、生存率が改善することが示された。
- 2) これらの検討ではFIGO stages I B 2 to IV A 頸癌患者に放射線療法が行われた。
- 3) 化療の同時併用により死亡率が30%~50%減少した。その結果、頸癌患者で放射線療法を行う場合、化療を同時併用することを強く推奨することとなった。

## 各論

## 頸癌0期

医学的に手術不能例には腔内照射を1回行う。(5,000 milligram hours (8,000 cGy 腔表面))

## 頸癌I A期

放射線療法は手術不能例に限る。

## 頸癌I B期—II A期

放射線療法を行う場合、CDDPを含む化療の同時併用が強く推奨される。  
治療法：大きな腫瘍にはCDDPあるいはCDDP+5-FU同時併用放射線療法を行う。

## 頸癌II B期—IV A期

放射線療法を行う場合、CDDPを含む化療の同時併用が強く推奨される。  
治療法：化療と放射線療法(外照射と腔内照射に化療(CDDP, CDDP+5FU)を同時併用する)。

線単独群 86.8%, 併用群 96.3%), 3年無病生存率や生存中央値にも差はなかった。ブラジルでの研究ではⅢB期の107例を、放射線治療単独群と3回のBOMP後に放射線治療を行った群とにした<sup>10)</sup>。その結果、BOMP療法を受けた患者は、放射線治療単独群に比べて有意に予後が不良であった。これは化療群にプレオ肺線維症による死亡があったことも関与している。再発部位の解析でも、化療の効果は認められなかった。これらの結果から、化学療法後に放射線治療を行う治療法は、有用ではなく推奨できないとされ、現在もこの考え方には変わりがない。

## 同時化学放射線療法の有用性

化学療法と放射線療法の同時併用も長い間研究されてきた。第2相試験ではしばしば有用と思われたが、患者数が少なく経過観察期間も短かった。1999年、CDDPを含む化学療法と放射線を同時併用する5つの別々の研究から、放射線と化学療法の同時併用に一定の利点が示された(表1)。その結果、過去50年間で最も重要な子宮頸癌治療法の突破口が見つかったと評価されている。5つの研究中、ただ一つが放射線治療単独群を対照群としている(表1, RTOG 90-01)。この研究はI B-II A期では腫瘍径5 cm以上あるいは骨盤リンパ節転移がある症例と、II B-IV A期症例403例を対象とした。外照射

45Gy 単独群と CDDP + 5FU を 3 週間間隔で 3 回併用する群の 2 群に分けた。経過観察の中央値は 43 カ月で、併用群の 5 年無病生存率は 63%、単独群 40% となった。再発と遠隔転移は単独群で有意に多くなった。化療併用群では早期の副作用が多かったが、晩期の副作用発生は同様であった。GOG 120 と SWOG 87-97 は対照群に放射線治療と子宮摘出を使用し、化療併用群は再発率に著しい改善が見られた。他の 2 つの検討では、ハイドロオキシウレア (HU) 併用放射線治療を対照群としている。Rose らの局所進行癌に対する 3 つの同時併用療法は、CDDP と放射線治療群、CDDP + 5FU + HU と放射線治療群および HU と放射線治療群である (表 1, GOG 120)。傍大動脈リンパ節転移のない II B-IVA 期の原発性頭部扁平上皮癌、腺癌、腺扁平上皮癌を対象とした。CDDP 単独群では毎週 40 mg/m<sup>2</sup> を 6 週間、CDDP + 5FU 併用群では CDDP 50 mg/m<sup>2</sup> と 4 g の 5FU を 96 時間持続静注で 1 日目と 29 日目に、3 g の HU を週 2 回投与した。526 例で平均経過観察期間は 35 カ月であった。CDDP を投与された 2 つの群は、投与されなかった群と比べて、有意に無病生存率と生存率が高くなった (表 1)。これらの結果から、子宮頸癌に対する CDDP 同時併用放射線治療はきわめてエビデンス・レベルの高い治療法と評価された。

## 同時化学放射線療法有用性への疑問

カナダの国立癌研究所が行った同様な研究では、有用性が証明されなかった<sup>13)</sup>。対象患者は I B-IVA 期の 259 例で、腫瘍サイズは 5 cm 以上、あるいは組織的にリンパ節転移が証明されている患者である。治療は外照射と腔内照射併用し、化学療法は CDDP 40 mg/m<sup>2</sup> を毎週投

与した。経過観察期間中央値が 82 カ月で、5 年生存率が化学放射線群 62%、放射線単独群 58% となり、1 年骨盤内制御率 83% と 78% であった。米国での研究と異なる結果になったことについて、筆者らはいろいろの理由を考察している。米国の研究では全治療期間が遷延したものがあり、遷延群に併用効果が見られた。カナダでは治療の遷延はなく、併用両用の効果が不明瞭となった可能性が指摘された。また、カナダの研究では CDDP を単独で用い、5FU を併用した米国との違いも考えられた。さらに、カナダの研究は生存率が 15% 程度異なると予測して計画されたが、差が予測より小さく、統計的に有意さが証明されなかった可能性も指摘されている。化学療法により発生した貧血の関与も示唆されている。しかし、いずれにしても明らかな理由は分かっていない。対象患者や治療法の微妙な違いにより、併用効果が打ち消されるのかもしれない。

古平らは子宮頸癌 II 期と診断された 84 例全例に MRI 検査を施行し、放射線治療を行った結果を retrospective に解析した<sup>14)</sup>。MRI 検査の結果から得られた腫瘍サイズ、腫瘍進展、およびリンパ節腫大の有無の所見と、治療成績 (粗生存率、無病生存率、局所制御率、無転移生存率) の関係を解析した。その結果、腫瘍径 5 cm 以上の患者群は、5 cm 未満の群と比べて 5 年無病生存率が著しく悪くなった。リンパ節腫脹のある患者群も、ない群に比べて生存率等が有意に悪くなった。MRI 所見の腫瘍サイズとリンパ節腫大の 2 つの因子を用いて、患者を 3 群に層別した。すなわち、1) 腫瘍サイズ 5 cm 以下でリンパ節腫脹がない群、2) 腫瘍サイズ 5 cm 以上またはリンパ節腫脹のいずれか一つがある群、3) 腫瘍サイズは 5 cm 以上でリンパ節腫脹もある群、である。その結果、5 年無病生存率は 1) 群が 47 例で 93.2%、2) 群は 29 例で 53.3%、3) 群は 7 例で 25.0% となった。II 期の患者の約半



数は、根治的放射線療法単独できわめて良好な成績が得られた。これらの患者は化学療法を行うと副作用等から却って治療成績が低下するおそれがある。

一方、5 cm 以上でリンパ節腫脹がある患者(Ⅱ期患者の約10%)は、治療成績がきわめて悪く、化学放射線療法が必要と考えられる。この論文は放射線治療領域で最も権威がある雑誌に最近発表された<sup>12)</sup>。NCIがⅠB期以上の全子宮頸癌患者に、CDDP併用放射線治療を推奨して2年以上経過後、この論文は採用されている。放射線とCDDPの併用療法に疑問を持つ臨床家が米国にもいることを伺わせる。

従来、リンパ節転移は術後照射の最大の適応とされていた。しかし、最近ではリンパ節転移例では遠隔転移が多く、術後照射が役立っていない可能性が指摘されている。宇野らは従来の術後照射の適応からリンパ節転移を除いて検討すると、術後照射により無病5年生存率が約90%になるとしている<sup>13)</sup>。最近と同様な報告が多くなっている。米国NCIの治療指針では、術後照射にもCDDPの併用が強く推奨されている。しかし、リンパ節転移のない症例では、術後照射のみで化学療法を併用しなくても十分と考えられる。

## 併用化学療法の未解決な問題

米国の5つの研究結果から、CDDPの同時化学放射線療法が有用であることが示された。しかし、実際にこの治療法を行うためには、未解決な問題が存在している。

1) CDDPの最良な投与スケジュールは不明である。RTOGの研究と毎週のCDDP投与法は、CDDP投与量が最も多い。GOG-85はCDDP量が最少であり、RR率が最も低くなった。現在明らかなことは、CDDPの毎週投与法

あるいはRTOGの投与法が最良と思われる。現時点ではCDDP量を毎週40 mg/m<sup>2</sup>以下に減量するのは危険である。

2) 5FUの併用が有用なのか否か不明である。GOG 123での二つのCDDP群の生存率は、5FUが貢献していないことを示唆している。一方、Eifelらは1960年代に行われた持続動注5FU併用放射線治療の成績を最近解析したところ、大きな腫瘍のⅢB期患者は外照射50Gyと5FUを併用すると、驚くべき長期の生存がみられたとしている。

3) 他の薬剤で有効なものはあるか否か。Taxanes, gemcytabine, 等の薬剤も放射線増感剤として興味を持たれる。しかし、現在CDDPが著明な効果を示すことが確認され、他の薬剤を単独で試すことは不可能である。腎障害のある患者ではカルボプラチンを使用することが考えられるが、頸癌に対してはCDDPと比べて全体的反応率が低く、カルボプラチンの効果を認めた臨床データはほとんどない。カルボプラチンの価値が無作為臨床試験で示されない限り、CDDPの代用として使用すべきではないと思われる。

4) 本邦と米国では同一進行期における腫瘍サイズ、骨盤部の解剖学的条件、小線源治療法、手術適応等、子宮頸癌の治療に関して異なる点が多々ある。米国の臨床治験の結果はきわめて高いエビデンスであるが、日米では病名が同一でも内容がかなり異なることに注意が必要である。したがって、米国のエビデンスをそのまま取り入れることは危険を伴う。

## おわりに

米国の5つの臨床治験で、CDDPを含む同時併用化学放射線療法の対象となった病態には、本邦でもこの治療法を標準治療法とすべきかも

しれない。しかし、これらの臨床試験の対象は割合若い患者であった。本邦で放射線治療を受ける患者は、高齢者が多い傾向がある。日本人と欧米人の体型・局所解剖学的違い等を考慮すると、このプロトコールがそのまま日本人に当てはまるか否かは不明である。また、米国は低線量率腔内照射が主体であるが、本邦では高線量率腔内照射が主に用いられる。同一進行期で日米の腫瘍サイズを比較すると、本邦に比べて米国の患者の腫瘍は著しく大きい。そのため、米国では本邦より同一進行期の局所制御率や生存率も低くなっている。本邦の治療成績は、化学放射線療法により改善した米国の生存率よりさらに高い。本邦ではCDDPを放射線と併用した大規模な臨床試験は行われていない。しかし、各施設で個別に行った成績を見ると、CDDPの併用は放射線の副作用を増強し、治療効果を改善している印象はあまりない。このような状態で、化学放射線療法を行った場合、治療成績が改善するか否かが疑問がある。本邦で化学放射線療法を行う場合、古平の検討<sup>12)</sup>のように、対象患者の選択が必要と思われる。

- 1) 田崎瑛生：日本における子宮頸癌に対する放射線治療の歴史的展開。日腫放会誌 11:157-173, 1999.
- 2) National Cancer Institute: Cancer Trials: NCI issues clinical announcement on cervical cancer. cancernet.
- 3) Morris M, et al.: Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *Engl J Med* 340:1137-43, 1999.
- 4) Whitney CW, et al.: Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage II B-IV A carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. *Clin Oncol*

17:1339-48, 1999.

- 5) Rose PG, et al.: Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *N Engl J Med* 340:1144-53, 1999.
- 6) Keys HM, et al.: A comparison of weekly cisplatin during radiation therapy versus irradiation alone each followed by adjuvant hysterectomy in bulky stage I B cervical carcinoma: A randomized trials of the Gynecologic Oncology Group. *N Engl J Med* 340:1154-1161, 1999.
- 7) Peters WA III, et al.: Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 18:1606-1613, 2000.
- 8) CancerNet [cancer.net@icicc.nci.nih.gov](mailto:cancer.net@icicc.nci.nih.gov) cn-1000103 Cervical Cancer-Treatment option overview.
- 9) Chauvergne J, et al.: Essai randomize de chimiotherapie initiale dans 151 carcinomes du col uterin localement etendus. *Bulletin du Cancer (Paris)* 77:1007-1024, 1990.
- 10) Southami L, et al.: A randomized trial of chemotherapy followed pelvic radiation therapy in Stage III B carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27:871, 1993.
- 11) Pearcey R, et al.: Phase III Trial Comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced Squamous cell carcinoma of the cervix. *J Clin Oncol* 20:966-972, 2002.
- 12) Kodaira T, et al.: Clinical assessment by MRI for patients with stage II cervical carcinoma treated by radiation alone in multicenter analysis: Are all patients with stage II disease suitable candidates for chemo-radiotherapy? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 52:627-636, 2002.
- 13) Uno T, et al.: Adjuvant pelvic irradiation in patients with node-negative carcinoma of the uterine cervix. *Anticancer res* 22:1213-1216, 2002.

---

著者連絡先

(〒260-8670)  
 千葉市中央区亥鼻 1-8-1  
 千葉大学大学院医学研究院放射線腫瘍学 (L1)  
 伊東久夫

---

【子宮頸がん 4】

## 術後放射線照射のエビデンスは？

宇野 隆\* 磯部 公一 伊東 久夫

### はじめに

子宮頸癌に対する術後放射線治療は、主として術後の病理組織学的検索を基に、予後不良とされる因子を持つ症例を選んで、経験的に施行されてきた。そのため、術後照射の有用性を支持する根拠のほとんどは、遡及的研究結果によるものであり、よく計画された前向き臨床試験の結果に基づくレベルの高いエビデンスは少ない。したがって、術後照射を行うことによって最終的に患者の予後が改善するかどうかは、いまだに明らかではない。

### 子宮頸癌術後照射—欧米の研究対象

欧米と日本とでは、そもそも切除の対象となる臨床病期に大きな違いがみられる。欧米では、根治的手術はIB、IIA期までの病変を対象としている。したがって、術後照射は「再発危険因子を持つIIAまでの早期例に対する術後補助療法」という位置づけである<sup>1)</sup>。一方日本では、IIB期までは切除対象とされる場合がほとんどであり、最近の報告でも、IIB期までを術後照射の検討に含めているものが多い<sup>2-4)</sup>。さらに、国際的に十分な根拠があるとはいえないIII期症例に対する導入化学療法後の切除例までもが術後照射の対象となっている。つまり日本では「病期は問わず手術後に行われる放射線照射」という考え方である。一

般に、IIB期以上では、再発危険因子を持つ場合がほとんどで、根治術後に術後照射あるいは術後化学放射線治療が行われることが多い。したがって、どうしても手術と放射線治療の両方が必要となり、放射線治療単独あるいは化学放射線療法よりも晩期毒性が強くなる。そのため欧米では、はじめからIIB期を手術対象外の進行例としている。つまり、術後照射の有用性についての多くの議論は、IB~IIAまでの早期例を対象として進められてきた。IIB期以上の症例の術後照射については、おもにアジアを中心とした地域の単一施設からの遡及研究しか報告がないことに注意が必要である。IIB期以上については、治療方針自体が日本と欧米で異なることから、本稿における術後照射はおもにIB~IIAを対象とした場合について論じることとする。

### 再発危険因子の決定過程—欧米での術後照射

再発危険因子は、切除後の病理組織学的所見と再発様式とを対比することによって、おもに症例数の多い遡及的研究で抽出されてきた<sup>5-7)</sup>。腫瘍径、骨盤リンパ節転移、リンパ節転移の個数、筋層浸潤の程度、脈管侵襲、病理組織型、分化度などさまざまな因子が挙げられてきた。しかし、腫瘍径、筋層浸潤の程度とリンパ節転移の有無の間には関係があるなど、再発危険因子相互の間には相関関係が報告されている<sup>8,9)</sup>。したがって、統計学的検討が制限されることもあり、再発危険

\* うの たかし、いそべ こういち、いとう ひさお：  
千葉大学大学院医学研究院放射線腫瘍学  
(〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1)

因子の重要度に順位をつけることはきわめて難しいと考えられてきた。このような状況で、ThomasとDembo<sup>10)</sup>は、同様に大規模な遡及的研究をすることによって、再発危険因子と主要な再発部位とを検討した。彼らによると、リンパ節転移が陽性の場合、骨盤内再発の有無にかかわらず遠隔転移が主要な再発となり予後不良である。そのため、生存率の向上には全身化学療法が必要となる。一方、術後の骨盤照射が有用なのは、再発が骨盤内に限局されやすい症例、つまりリンパ節転移以外の再発危険因子を持つ症例であるとしている。これに対して、FIGO分類にリンパ節転移が勘案されていないこともあり、一般には、早期子宮頸癌の最も重要な予後因子として、腫瘍径が挙げられている<sup>11)</sup>。腫瘍径は、現行のFIGOの病期分類にも取り入れられている。また、根治的放射線治療が行われた症例における遠隔転移を規定する因子としても知られている<sup>12)</sup>。したがって、リンパ節転移の有無のみで、再発危険因子の重要度を分けてしまうThomasとDemboの考え方には無理がある。

しかし手術症例における遡及研究の多くで、最も重要な予後因子は、骨盤内リンパ節転移の有無であることが示されてきた<sup>5,7,13,14)</sup>。実際、IB期におけるリンパ節転移陽性例の5年生存率は50~60%程度である<sup>15,16)</sup>。これらの経緯から、現在、手術症例における最も重要な再発危険因子は骨盤リンパ節転移であるとする考え方が主流となりつつある。なお、癌遺残がある場合の術後照射は、本来の術後補助療法の定義とは異なる。切除断端陽性を再発危険因子に含めているかどうかは研究ごとにまちまちであり、注意が必要である。

### 術後照射の適応—今日の考え方

IB~IIA期子宮頸癌に対する術後放射線照射の適応は、上述のような再発危険因子を症例ごとに検討したうえで決定する必要がある。近年、これらの因子を組み合わせて検討することで、放射線照射を必要としない症例、術後照射によって骨盤内制御率が上昇し、ひいては予後の向上につながる可能性のある症例、および全身化学療法を併用

すべき症例に分類する努力がなされている。

Gynecologic Oncology Group (GOG)の基準によれば、骨盤リンパ節転移が陰性で、腫瘍径が4cm未満、リンパ管侵襲がなく、筋層浸潤が1/3未満のものは、骨盤内再発の可能性がきわめて低いとされ、術後照射の適応外とされる。骨盤リンパ節転移陰性の症例のうち、リンパ管侵襲があるものでは、間質浸潤が外側1/3に及ぶ、中間1/3で腫瘍径が2cm以上、内側1/3までで腫瘍径が5cm以上のいずれかの場合、あるいはリンパ管侵襲がないものでは、腫瘍径が4cm以上かつ間質浸潤1/3以上の場合は(表1)、根治術後の経過観察のみでは骨盤内制御率が不十分とされ、これらを中等度再発危険因子群としている<sup>6)</sup>。

GOGでは広汎子宮全摘術および骨盤リンパ節郭清が行われたIB期子宮頸癌の中等度再発危険因子群に対して、術後骨盤照射の有用性を検討するランダム化比較試験を行った(GOG 92)。照射群では再発率が47%減と有意に低下し、2年無再発率は照射群88%に対して非照射群79% ( $p = 0.008$ )であった<sup>17)</sup>。この研究により、中等度再発危険因子群では骨盤照射によって再発率が有意に低下することが示された。しかしこの試験には、経過観察が不十分で生存率の解析がまだ行われていない、術後例にもかかわらず客観性を欠く術前の双合診で決定された腫瘍径を用いた、放射線治療のコンプライアンスが低い、減少したものの骨盤再発が照射群で13%とまだ高かった、消化管障害、下肢の浮腫など重要な晩期有害事象について検討されていない、などのさまざまな問題点があった。したがって今のところ、中等度再発危険因子群に対して術後骨盤照射が有用であるかどうかについてのエビデンスは十分ではない。

一方、骨盤リンパ節転移陽性例では、遠隔転移出現の可能性が高く、術後照射を行っても、ほかの因子によって術後照射が施行されたリンパ節転移陰性群と比較して生存率は有意に低い(表2)<sup>18-22)</sup>。米国では、骨盤リンパ節転移陽性例を85%含むIA2~IIA期の再発危険因子群を対象とした大規模なランダム化比較試験(SWOG 8797)が行われた。全身化学療法としてCDDPと5-FUの同時併