

13. 参考文献

- 1) 今野弘之：十全大補湯 *JIM* 14:71-75,2004.
- 2) 杉山 徹：婦人科癌（子宮癌、卵巣癌）と漢方治療の役割 *産婦人科治療* 86:968-974,2003.
- 3) Saiki, I: A Kampo medicine “ Juzen-taiho-to”; prevention of malignant progression and metastasis of tumor cells and the mechanism of action. *Biol Pharm Bull* 23(6):677-688, 2000.
- 4) Muraishi, Y, Mitani, N, Yamaura, T, Fuse, H, Saiki, I: Effect of interferon-alpha A/D in combination with the Japanese and Chinese traditional herbal medicine Juzen-taiho-to on lung metastasis of murine renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 20:2931-2938, 2000.
- 5) Dai, Y, Kato, M, Takeda, K, et al: T-cell-immunity-based inhibitory effects of orally administered herbal medicine Juzen-taiho-to on the growth of primarily developed melanocytic tumors in *RET*-transgenic mice. *J Invest Dermatol* 117:694-701, 2001.
- 6) 相良裕輔：癌再発予防のための一つの試み－免疫マーカーの開発と漢方の応用－ *産婦人科漢方研究のあゆみ* 17:1-4,2000.
- 7) Hisha, H, Yamada, H, Sakurai, MH, et al: Isolation and identification of hematopoietic stem cell-stimulating substances from Kampo (Japanese herbal) medicine, Juzen-Taiho-To. *Blood* 90:1022-1030, 1997.
- 8) 藤原道久，河本義之：婦人科悪性腫瘍の化学療法による骨髄抑制に対する十全大補湯の効果 *産婦人科漢方研究のあゆみ* 15:86-89, 1998.

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

パクリタキセルの体内動態に影響を及ぼす薬剤反応性遺伝子多型に
関する検討

実施チーム (c 組)	石岡千加史、高橋雅信、菅井美香
実施チーム (a 組)	八重樫伸生、徳永英樹、庄子美紀子
研究協力者	伊藤潔 東北大学医学系研究科助教授 菱沼隆則 東北大学病院薬剤部

研究要旨

卵巣癌はパクリタキセル (PTX) とプラチナ (PLT) 製剤による治療が標準化されているが、PTX の体内動態には大きな個人差が存在し、血中濃度上昇により、重篤な副作用の発現が報告されているが、個人差の原因は明らかになっていない。そこで今年度は PTX 体内動態の個人差の原因となる遺伝子多型を明らかにし、その多型診断を患者個々の遺伝的体質に基づく抗癌剤の適正使用に応用することを目的とした。初回 T1 療法を施行した卵巣癌患者 13 名を対象として PTX 投与開始後経時的に採血を行い、血漿中 PTX 及び代謝物濃度を測定し、遺伝子多型診断を行った。MDR1 遺伝子多型のうち、T-129C、T1236C 及び G2677(A,T) の変異型アレル保有者は PTX の AUC が低値を示す傾向が認められた。さらに、MDR1 遺伝子多型 4 種類すべてを合わせた変異型アレル数と、PTX の AUC 及び CL_{tot} はそれぞれ有意な相関性を示した。これは、MDR1 遺伝子多型により小腸及び肝における MDR1 の発現量あるいは基質輸送能が増大し、PTX の消化管再吸収の抑制あるいは胆汁排泄の促進が起こったためと考えられる。PTX 体内動態の個人差には MDR1 の遺伝子多型が密接に関与し、総合的な MDR1 遺伝子型診断が PTX 投与患者の副作用発現回避に有益である可能性が示された。

A. 研究目的

卵巣癌は PTX と PLT 製剤を用いた化学療法が標準化され、初回治療の奏効率は 70%ほどといわれている。PTX の体内動態には大きな個人差が存在し、血中濃度上昇により、骨髄抑制、末梢神経障害などの重篤な副作用の発現が報告されている。しかし、この個人差の原因は明

らかになっていない。PTX は、ヒト肝において CYP2C8 により 6 α -hydroxypaclitaxel (6 α -OH-PTX)、CYP3A4 により *p*-3'-hydroxypaclitaxel (*p*-3'-OH-PTX) という不活性代謝物にそれぞれ変換される。さらに、未変化体及び代謝物は主に胆汁中に排泄されるが、その輸送には消化管及び肝に発現す

る P-糖蛋白 (multidrug resistance 1, MDR1) が主に関与している。一方、核内レセプターの PXR (pregnane X receptor) は肝に多く発現しており、リファンピシンなどの薬物 (生体異物)、ステロイドホルモン代謝物や胆汁酸などをリガンドとして、CYP3A4、CYP2C8 及び MDR1 の遺伝子発現を誘導する。これら薬物動態関連分子及び転写調節因子には、その発現量や機能変化を起こす因子となる様々な遺伝子多型の存在が知られており、それらは基質薬物の体内動態に影響を及ぼす。そこで、本研究では PTX 体内動態の個人差の原因となる遺伝子多型を明らかにし、その多型診断を患者個々の遺伝的体質に基づく抗癌剤の適正使用に応用することを目的として、PTX 投与患者の薬物体内動態と遺伝子多型の関連性について検討した。

B. 研究方法

東北大医学部倫理委員会において承認を受けたプロトコールに従い、東北大学産科学婦人科学教室において、初回パクリタキセル・カルボプラチン併用化学療法 (TJ 療法) を施行した卵巣癌患者 13 名を対象とした。文書による同意を得た後、PTX 投与開始後 1 時間から 19 時間まで経時的に採血を行い、HPLC により血漿中 PTX 及び代謝物濃度を測定した。遺伝子多型については、CYP2C8 は A805T (CYP2C8*2)、G416A 及び A1196G (CYP2C8*3)、C792G (CYP2C8*4)、475A deletion (CYP2C8*5) 及び C1210G の 5 種類、CYP3A4 と基質特異性の類似する CYP3A5 は A6986G (CYP3A5*3)、

MDR1 は T-129C、T1236C、G2677(A,T) 及び C3435T の 4 種類、PXR は C-25385T を解析対象とした。患者の末梢白血球より抽出したゲノム DNA を用いて、PCR-RFLP 法 及び Allele-Specific Real-Time PCR 法によりそれぞれの遺伝子多型診断を行った。

C. 研究結果

PTX 投与患者 13 名の薬物動態を解析した結果、未変化体及び代謝物の AUC には著しい個人差が認められた。6 α -OH-PTX/*p*-3'-OH-PTX の AUC 比は、13 例中 3 例が約 1 であり、10 例が 1 以下であったことから、肝における PTX の代謝は CYP2C8 と CYP3A4 で同等か、CYP3A4 の方が優位であることが示された。CYP2C8 遺伝子多型については、患者 13 例中に変異型アレル保有者が存在しなかった。CYP3A5*3 の遺伝子型は、PTX の AUC 及び *p*-3'-OH-PTX/PTX の AUC 比との相関性は認められなかった。MDR1 遺伝子多型のうち、T-129C、T1236C 及び G2677(A,T) の変異型アレル保有者は PTX の AUC が低値を示す傾向が認められた。さらに、MDR1 遺伝子多型 4 種類すべてを合わせた変異型アレル数と、PTX の AUC 及び CL_{tot} はそれぞれ有意な相関性を示した。PXR C-25385T の遺伝子型は、PTX の AUC、PTX/6 α -OH-PTX の AUC 比及び PTX/*p*-3'-OH-PTX の AUC 比とはそれぞれ相関性は認められなかった。

D. 考察

CYP2C8 遺伝子多型については、患者 13 例中に変異型アレル保有者が存在しなかったため、CYP2C8 遺伝子多型は今

回認められた PTX 体内動態の個人差の原因ではないと考えられた。

In vitro における PTX の *p*-3'-水酸化代謝には CYP3A4 が主に関与し、CYP3A5 の寄与は少ないことが報告されている。しかし、実際の生体内における PTX 代謝への CYP3A5 の影響は不明であり、CYP3A5 遺伝子多型がヒト CYP3A 活性の個人差の一因となることも示唆されていることから、本研究では日本人における主な CYP3A5 遺伝子多型である CYP3A5*3 の遺伝子型と PTX 体内動態との関連性を検討した。CYP3A5*3 の遺伝子型と PTX の AUC との相関、遺伝子型と PTX に対する *p*-3'-OH-PTX の AUC 比との相関は認められなかったことから、CYP3A5*3 の PTX の *p*-3'-水酸化代謝や体内動態への影響は乏しいことが示唆された。この結果から、CYP3A5 は生体内においても PTX の代謝には関与しないか、あるいは関与していても CYP3A5*3 が CYP3A5 の薬物代謝能に及ぼす影響は小さいことが考えられた。

MDR1 の発現量や基質輸送能の変化により PTX の胆汁への排泄が影響を受ける可能性があるため、本研究では発現量や基質薬物の動態に影響を及ぼすことが示唆されている MDR1 遺伝子多型に関して、PTX 体内動態との関連性を検討した。その結果、C3435T を除くすべての SNPs において、変異型アレル保有者での PTX AUC の低下傾向が認められた。更に、MDR1 の全 SNPs を含めた変異型アレル数と PTX の AUC 及び CL_{tot} との間には有意な相関性が認められた。これらの結果より、MDR1 の T-129C、T1236C 及び G2677(A,T)は MDR1 による PTX 排泄能

を増大させ、血中濃度を低下させる可能性が示された。また、変異型アレル数の増加に従い PTX 血中濃度が低下するという、いわゆる遺伝子量効果 (gene dose effect) が認められたことから、これらの SNPs の組み合わせが、PTX 体内動態の個人差の一因となる可能性が示された。これまで、PTX 体内動態に関連する遺伝子多型と体内動態パラメータとの相関解析に関する報告はなく、MDR1 の遺伝子多型の PTX 体内動態に及ぼす影響は本研究が初めての報告となる。

E. 結論

PTX 体内動態の個人差には MDR1 の遺伝子多型が密接に関与し、総合的な MDR1 遺伝子型診断が PTX 投与患者の副作用発現回避に有益である可能性が示された。

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

Yamaguchi H, Ito K, Yaegashi N, et al. Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* in press.

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

進行・再発卵巣明細胞腺癌に対するパクリタキセル、プラチナ
製剤併用療法の有用性に関する検討

実施チーム（a組）八重樫伸生、徳永英樹、庄子美紀子
研究協力者 高野忠夫、吉永浩介（東北大学病院）

研究要旨

卵巣明細胞癌(CC)は卵巣癌の中でも予後不良で、化学療法抵抗性の癌とされている。今回 PTX,PLT 併用療法を施行した評価病変のある CC28 症例(初回治療例 12、再発例 16)と対照として漿液性腺癌初発 22 例に関して奏効率を後方視的に比較検討した。CC における奏効率は初回治療例 58%、再発例 19%と有意に初回治療例の方が高かった。漿液性腺癌での奏効率は 77%であり CC より高かったが、両者の間に有意差はなかった。初回治療例の奏効率は CAP 療法などの従来の治療法に比較すれば高く、将来 CC に対する第 1 選択の治療レジメの一つとして考えられる。

A. 研究目的

卵巣明細胞癌(CC)は卵巣癌の中でも予後不良で、従来の CAP 療法に対する奏効率が 10~20%にすぎない化学療法抵抗性の癌とされる。また CC は早期癌が多く評価可能病変を持つ症例が少ないために、化学療法に対する奏効率を検討することが困難である。本研究では評価病変のある進行、再発 CC に対して PTX、PLT 製剤併用療法の奏効率を求めることを目的とした。

B. 研究方法

症例は 10 施設で 1998 年から 2003 年に TJ 療法(T;175mg/m²,J;AUC;5)または TP 療法(T;175mg/m²,CDDP;50mg/m²)を施行した評価病変を有する進行、または再発の CC で、28 症例(初回治療 12、再発例 16)を対象とした。また同時期に治療した卵巣漿液性腺癌初回治療例

22 例を対照とした。CC は central pathological review により CC 成分が全体の 50%以上を占めるものとした。治療前と上記治療 3 コース後に CT にて RECIST の基準に従って治療効果を判定し、CR,PR を治療効果有効と判断した。カイ 2 乗検定、Fisher's exact test で解析し、P<0.05 を有意差ありと判断した。

C. 研究結果

全体の奏効率は CR が 3 例、PR が 7 例で 36%(10/28)であった。初回治療例のみでは 58%(7/12)、再発症例では 19%(3/16)であり、両者間で p<0.05 と有意差を認めた。一方、漿液性腺癌での初回治療例の奏効率は 77%(17/12)であり、CC より高かったが有意差はなかった。

D. 考察

これまでに、漿液性腺癌と比べて、CCはプラチナ製剤でPDの率が有意に高いという報告や進行CCでCAPまたはCP療法で生存率が有意に低いという報告があるがいずれもPTXを含んだ化学療法ではなかった。2000年のCancerのデータでは測定可能病変のある進行再発CCに対するCAP療法の奏効率は11%と低かった。また2003年のASCOの報告をみるとTJ療法の奏効率の検討において漿液性腺癌81%に比べてCCは18%で有意に低いという結果であったが11例という少数例の解析であった。今回のPTXとプラチナ製剤の併用療法の結果では再発症例は従来の報告と同様の奏効率であったが、初回治療例は従来の奏効率より明らかに高かった。またin vitroの実験でPTXがCCの細胞株に対して有効であるが、漿液性腺癌で効果が低いとの報告もある。今回の検討と併せて考えるとPTXを加えることにより高い奏効率を得ることができると考えられ、CCの初回治療としてPTXとプラチナ製剤の併用療法は有効な治療と考えられた。

E. 結論

CCに対するPTXとプラチナ製剤の併用療法の奏効率は漿液性腺癌に対する奏効率に比べて若干低い。しかしPTXとプラチナ製剤の併用療法は従来の治療法に比較すれば十分に高く、CCの初回治療の化学療法として有効な治療であ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

Paclitaxel-platinum combination chemotherapy for advanced or recurrent ovarian clear cell adenocarcinoma: a multicenter trial. Utsunomiya H, Yaegashi N, et al.

Int J Gynecol Cancer 2006,16, 52-56.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

なし

卵巣癌患者に対する CD-DST 法による感受性試験の妥当性の検討

実施チーム（a 組） 八重樫伸生、徳永英樹、庄子美紀子
研究協力者 高野忠夫、吉永浩介、新倉仁（東北大学病院）

研究要旨

初発の卵巣がん（原発性の上皮性卵巣悪性腫瘍）69 例を対象に CD-DST 法による薬剤感受性試験を施行した。使用した抗がん剤は、パクリタキセル、カルボプラチン、イリノテカン、マイトマイシン、ドセタキセル、エトポシド、アドリアマイシン、シスプラチンの 8 薬剤であった。組織型の内訳は漿液性腺癌 26 例、明細胞腺癌 15 例、粘液性腺癌 13 例、類内膜腺 10 例、癌肉腫 3 例、悪性ブレンナー腫瘍 2 例であった。進行期の内訳は Ia 期 9 例、Ic 期 15 例、IIC 期 4 例、IIIb 期 3 例、IIIc 期 31 例、IV 期 7 例であった。CD-DST 法による薬剤感受性試験は卵巣がんにも十分応用可能と考えられる。

A. 研究目的

卵巣がんの標準的治療として TJ 療法が施行されている。しかし薬剤感受性には個体差があることはよく知られており、TJ 療法の奏効率は 70%前後と報告されている。また全ての組織型の薬剤感受性は同一とは言えず、例えば粘液性腺癌や明細胞腺癌においては TJ 療法が不応である場合も多い。さらに感受性を示していた化学療法であっても再発した場合には耐性獲得していることもあり、これが患者を死に至らしめる要因ともなっている。

このような TJ 療法に対して耐性を有する腫瘍では他の薬剤に対する奏効率も 20%以下との報告が多く、有効な薬剤の選択は卵巣癌治療の重要な課題の一つである。

CD-DST 法 (collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test) は比較的近年に開発された *in vitro* の薬剤感受性試験である。本邦は単離細胞をコラーゲンゲル小滴内に包埋した三次元培養と画像定量法を組み合わせた全く新しい原理に基づく。すなわち

培養環境がコラーゲンを細胞外マトリックスとする、いわゆる生体内を再現した立体的環境にあることから、細胞は生体内に近い増殖形態を維持することが可能である。結果として培養系に接触させる薬剤の濃度は他方に比べてはるかに低くなり、临床上使用される治療量に近似した生理学的条件下での薬剤感受性の評価が可能である。

本研究では、卵巣がんに対する化学療法剤の感受性をCD-DST法を用いて検討することにより、本法の臨床的有効性を評価することを目的とした。

B. 研究方法

術前に初発卵巣がんを疑った症例を仮登録した。仮登録した症例は、術中に組織の一部を感受性試験に提出し、かつ術後の病理診断で卵巣原発の卵巣がん（卵巣上皮性悪性腫瘍）と診断された症例を本登録した。

薬剤感受性試験はCD-DST法で行った。感受性試験に供する癌細胞の培養条件を良くするために検体を24時間以内にコラーゲナーゼ処理して培養を開始した。感受性試験の対象薬剤数は原則として8薬剤とした。しかし検体量が十分でない場合、あるいは培養により細胞が十分に発育せずに結果的に細胞数が不足した場合には、検査する薬剤の優先順位をパクリタキセル、カルボプラチン、イリノテカン、マイトマイシン、ドセタキセル、エトポシド、アドリアマイシン、シスプラチンの順とした。

研究開始に際し東北大学の倫理委員会の承認を得た。患者の不利益を防止する為の措置として、すべてのデータを連結

可能匿名化した。

C. 研究結果

術前に卵巣がん（原発性かつ初発）を疑った103例を仮登録した。手術中、腫瘍摘出直後に腫瘍に割を入れ、腫瘍の一部（約1g）を感受性試験の組織培養検体として供した。103例中に術後に原発性卵巣がん（上皮性卵巣悪性腫瘍）と病理診断された症例は71例であった。71例中2例は病巣が小さすぎたため、もし感受性試験に検体を採取すると病理診断に影響が出ると判断し、感受性試験への組織提出を中止した。以上、卵巣がんと病理診断確定しかつ感受性試験に組織検体を提出した69症例を本登録し本研究の対象とした。対象者の年齢は18歳から75歳で、平均年齢は55.2歳であった。

対象の組織型の内訳は漿液性腺癌26例、明細胞腺癌15例、粘液性腺癌13例、類内膜腺10例、癌肉腫3例、悪性ブレインナー腫瘍2例であった。

対象の進行期の内訳はIa期9例、Ic期15例、IIc期4例、IIIb期3例、IIIc期31例、IV期7例であった。

69例中、感受性試験に成功した（薬剤感受性の結果が出た）ものが59例、不成功（培養不成功）が10例であった。すなわち感受性試験成功率は86% (59/69)であった。59例全例でTJ療法を施行した。59例のTJ化学療法に対する反応、再発、生存については現在経過観察中である。

D. 考察

今年度は臨床検体69例と比較的大規模でCD-DST法による薬剤感受性試験の

成功率を検討した。その結果、86%の成功率は他の抗がん剤感受性試験に比較しても十分高い成功率であることが示された。

感受性試験の成功例中、術後化学療法を施行した59症例については経過観察により化学療法の臨床効果と感受性試験の成績を合わせて検討する予定である。

E. 結論

CD-DST法による抗がん剤感受性試験の成功率は約90%である。感受性試験成績と臨床効果とのすりあわせを来年度以降に行う予定である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

なし

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（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

第12回がん臨床試験のCRCセミナー
参加報告書

研究実施チーム（a組） 臨床研究協力者 庄子美紀子

日程：2006年3月11日（土）～12日（日）

場所：北里大学白金キャンパス

主催：財団法人 パブリックヘルスリサーチセンター

共催：婦人科悪性腫瘍化学療法研究機構

受講者は107名で、CRC58名・医師22名ほか薬剤師、看護師でした。

CRCとしての基礎知識から、最新の情報までと幅の広い研修内容でした。今後はこの研修を生かし、CRCとして研鑽を積みたいと思います。

第12回がん臨床試験のCRCセミナー
スケジュール表

3/11 (土)

- 10:00~10:40 講義「健康アウトカム評価入門」 下妻 晃二郎先生
- 10:40~11:20 TOPICS①「新規臨床試験 SELECT BC プロトコール・コンセプト紹介」
向井 博文先生
- 11:20~12:10 TOPICS②「がん登録の歴史的背景・現状と問題点」 祖父江 友孝先生
- 13:00~14:30 講義「悪いニュースを伝える・ロールプレイをまじえて」
勝俣 範之・佐藤恵子先生
- 14:30~16:15 「臨床論文を読むための総合学習」—婦人科がん関連論文—
・総論、文献の紹介 津田浩史先生
・文献の読み方～Prosの立場から～ 高野忠夫先生
・文献の読み方～Consの立場から～ 大下孝史先生
・文献の読み方～放射線科の立場から～ 戸板孝文先生
- 16:30~17:15 講義「がん臨床試験の特徴とそのデザインへの影響」 大橋 靖雄先生
- 17:30~18:30 グループディスカッション
“こんなときどうする？インフォームド・コンセント”

3/12 (日)

- 8:30~9:30 講義「乳がん治療・個別化の実態」 渡辺 亨先生
- 9:45~14:00 グループディスカッション
“こんなときどうする？インフォームド・コンセント”
- 14:10~15:00 講義「癌化学療法の副作用とその対策」 山本 信之
- 15:00~16:00 講義「卵巣がん治療～甦った腹腔内化学療法～」 藤原 恵一先生
- 16:00~16:30 総合討論

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV 研究成果の刊行に関する一覧表

A. 書籍

なし

B. 雑誌

Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. Yamaguchi H, (12 persons), Yaegashi N.

Int J Gynecol Cancer 2006, in press.

Paclitaxel-platinum combination chemotherapy for advanced or recurrent ovarian clear cell adenocarcinoma: a multicenter trial. Utsunomiya H, (8persons), Yaegashi N.

Int J Gynecol Cancer 2006,16, 52-56.

Expression of estrogen-responsive finger protein (Efp) in human ovarian cancer.

Sakuma M, (8persons), Yaegashi N. Gynecol Oncol 2005, 99, 664-670.

Ber-EP4 and Anti-calretinin Antibodies: A Useful Combination for Differential Diagnosis of Various Histological Types of Ovarian Cancer Cells and Mesothelial Cells.

Okamoto S, (7persons), Yaegashi N. Tohoku J Exp Med 2005, 206, 31-40.

The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer.

Olivier M, (16), Ishioka C., Hainaut P, Borresen-Dale AL. Clin Cancer Res 2006, 12, 1157-1167.

Locus-specific mutation databases: pitfalls and good practice based on the p53 experience.

Soussi T, Ishioka C., Claustres M, Beroud C. Nat Rev Cancer 2006, 6, 83-90.

Meta-analysis of the p53 mutation database for mutant p53 biological activity reveals a methodologic bias in mutation detection. Soussi T, (3), Ishioka C., (2).

Clin Cancer Res 2006, 12, 62-69.

AFP-producing hepatoid adenocarcinoma in association with Barrett's esophagus with multiple liver metastasis responding to paclitaxel/CDDP.

Chiba N, (10), Ishioka C. Anticancer Res 2005, 25, 2965-2968.

Retrospective analysis on efficacy and toxicity of 5-fluorouracil (5-FU) and 1-leucovorin (1-LV) in advanced or recurrent colorectal cancer.

Chiba N, (12), Ishioka C. Gan To Kagaku Ryoho 2005, 32, 991-995.

V. 研究成果の刊行物・別刷

Paclitaxel–platinum combination chemotherapy for advanced or recurrent ovarian clear cell adenocarcinoma: a multicenter trial

H. UTSUNOMIYA*, J. AKAHIRA*†, S. TANNO*, T. MORIYA†, M. TOYOSHIMA*, H. NIIKURA*, K. ITO*, Y. MORIMURA‡, Y. WATANABE§ & N. YAEGASHI*

Departments of *Obstetrics and Gynecology and †Pathology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan; ‡Department of Obstetrics and Gynecology, Tuboi Hospital, Koriyama, Japan; and §Department of Obstetrics and Gynecology, Kinki University School of Medicine, Osakasayama, Japan

Abstract. Utsunomiya H, Akahira J, Tanno S, Moriya T, Toyoshima M, Niikura H, Ito K, Morimura Y, Watanabe Y, Yaegashi N. Paclitaxel–platinum combination chemotherapy for advanced or recurrent ovarian clear cell adenocarcinoma: a multicenter trial. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:52–56.

The therapeutic effect of a combination of paclitaxel (PTX) and platinum (PLT) in ovarian clear cell adenocarcinoma (CC) patients with measurable disease has yet to be elucidated. In this study, we used retrospective review to evaluate the results of treatment with a combination of PTX and PLT in CC patients with measurable disease. A total of 28 patients with measurable residual CC (15 cases with primary disease, 13 cases with recurrent disease) treated with combination PTX-PLT chemotherapy was identified through medical records from ten institutions. Clinical response to chemotherapy was evaluated using Response Evaluation Criteria in Solid Tumors criteria. Of the 28 cases, 8 of 15 patients with primary disease (53.3%) and 3 of 13 patients with recurrent disease (23.1%) responded to PTX-PLT chemotherapy. The response rate for cases with late recurrent disease (>12 months) was 20% (1/5), whereas the rate was 25% (2/8) for cases with early recurrent (<12 months) or refractory disease. Our results indicate that the combination of PTX and PLT may have greater efficacy against CC than conventional PLT-based chemotherapy that does not include PTX.

KEYWORDS: chemotherapy, clear cell adenocarcinoma, ovary, paclitaxel, platinum.

Epithelial ovarian cancer is the leading cause of death among gynecological malignancies in the great majority of developed countries⁽¹⁾. Treatment for this disease has improved over the past 30 years with advances in surgery and in platinum (PLT)-based chemotherapy. However, most women with ovarian cancer still develop recurrent disease and die within 5 years. This high mortality is considered to be, in large part, due to the high frequency of advanced-stage disease at time of diagnosis. However, many clinical studies have reported that there are other prognostic factors such as histologic type, degree of primary surgical cytoreduction, and response to chemotherapy^(1–3).

Standard chemotherapy for ovarian cancer has been a combination of cyclophosphamide and a PLT agent, with or without doxorubicin⁽⁴⁾. Recently, the therapeutic effect of a combination of cisplatin (CDDP) and paclitaxel (PTX) was shown to be superior to that of a combination of cyclophosphamide and CDDP, with a clinical response rate (RR) for the PTX-CDDP combination of roughly 70%⁽⁵⁾. An increasing amount of evidence shows that this general combination of PTX-PLT chemotherapy seems to improve overall and disease-free survival not only for primary ovarian cancer patients but also for patients with relapsed disease^(6–8).

Ovarian clear cell adenocarcinoma (CC) has been recognized as a distinct histologic entity in the World Health Organization classification of ovarian tumors since 1973⁽⁹⁾. The incidence of CC among epithelial ovarian carcinomas is cited as 3.7–12.1%, with approximately 60% of CC patients presenting with

Address correspondence and reprint requests to: Hitoshi Niikura, MD, Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University Graduate School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan. Email: niikura@mail.tains.tohoku.ac.jp

early-stage disease^(3,10-14). Recently, CC has increased in prevalence. It now accounts for 18.5–20% of all epithelial ovarian cancers in Japan^(15,16). It has become obvious that chemosensitivity of ovarian cancers is closely related with histologic type. Several reports indicate that CC has a poor response to conventional therapies such as chemotherapy and irradiation and has a significantly worse prognosis than other histologic types of ovarian carcinoma⁽¹⁷⁻²¹⁾. However, those previous studies were conducted mainly for general ovarian cancer patients and with combination chemotherapy that did not include PTX. Moreover, prognosis for CC patients is considered to be influenced not only by chemotherapeutic factors but also by operative procedure⁽²²⁾. In this study, we conducted a multicenter, retrospective analysis to evaluate true chemosensitivity for PTX-PLT (with either CDDP or carboplatin [CBDCA]) combination chemotherapy for CC patients who had measurable target lesions.

Materials and methods

In April 2003, ten Japanese institutions received questionnaires regarding CC cases treated with chemotherapy between 1998 and 2003: Tohoku University Hospital, Kinki University Hospital, Tsuboi Hospital, Miyagi Municipal Cancer Center, National Sendai Hospital, Takeda Hospital, Yamagata Municipal Central Hospital, Yuri-kumiai Hospital, Ichinoseki Hospital, and Hachinohe Municipal Hospital. All the selected institutions from which patients were enrolled in this study are considered highly specialized in gynecologic oncology. Patient data were collected from patient chart review by a responsible person at each institution.

Eligible patients included those with primary advanced disease (eg, stage II/III/IV) and those with recurrent or persistent CC disease. Both patient groups had to have measurable disease before chemotherapy. Tumors were diagnosed as CC if the following appeared in >50% of all histologic specimens: small to large sheets of polyhedral clear cells with delicate fibrovascular septa; tubules and papillae; clear, hobnail, or eosinophilic cells of organoid appearance; or clear cells with coalescent vacuoles containing "targetoid" eosinophilic, periodic acid-Schiff stain-positive globules. Histologic evaluation was performed under central pathologic review by one of the authors (T.M. or J.A.). All patients underwent complete surgical staging including intraperitoneal cytology, bilateral salpingo-oophorectomy, hysterectomy, omentectomy, pelvic and/or para-aortic lymphade-

nectomy, and aggressive cytoreductive surgery as initial treatment. Each chemotherapy cycle consisted of PTX 175 mg/m² and CBDCA with an area under the curve equal to five or PTX 175 mg/m² and CDDP 50 mg/m² after initial suboptimal surgery (residual tumor >1 cm) in cases of primary CC disease. The same therapy was administered for patients with persistent or recurrent measurable disease. For patients with recurrent or persistent CC disease, the number and regimens of previous chemotherapy were not used as exclusion criteria. Patients received more than three cycles of PTX-PLT combination chemotherapy every 3 weeks. In addition, to evaluate the specific response to PTX-PLT, patients who received only this regimen were enrolled in the study.

Clinical response to chemotherapy was evaluated by two of the authors (K.I. and H.N.) according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors⁽²³⁾ with use of computed tomography after three cycles of planned chemotherapy and/or when all planned chemotherapy was finished. Toxicity of chemotherapy was not evaluated in this study. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan. Each survival curve was obtained by the Kaplan-Meier method.

Results

A total of 28 patients were identified who met all the study eligibility criteria described above. Patient characteristics are summarized in Table 1. Of the 28 patients included in the study, 15 women with primary disease (53.6%) received PTX-PLT as first-line chemotherapy and 13 women with recurrent or refractory disease (46.4%) received PTX-PLT as second- or third-line chemotherapy. The details of previous

Table 1. Patient characteristics

	Clear cell	
	Primary (n = 15)	Recurrence (n = 13)
Age (years)		
Median (range)	52 (43-74)	54 (48-68)
Performance status		
0	12	11
1	3	1
2	0	1
Stage at primary treatment		
1	0	7
2	1	4
3	12	1
4	2	1

chemotherapy and other elements of recurrence status for the 13 recurrent or refractory cases are summarized in Table 2.

Response to PTX-PLT chemotherapy among all patients is shown in Table 3. Of the 28 patients, 11 women (39.3%) responded to the combination. The RR for primary disease cases was 53.3% (8/15) in contrast to 23.1% (3/13) for recurrent disease cases. Progressive disease was documented in six cases of primary disease (40%) and nine cases of recurrent disease (69.2%). The RR for cases of late recurrent disease (>12 months) was 20% (1/5), whereas RR for cases of early recurrent (<12 months) or refractory disease was 25% (2/8).

Median survival time in patients with primary CC and recurrent CC was 20 and 28 months, respectively.

Discussion

A number of previous studies support the concept that CC demonstrates clinical behavior that is distinct from that of other epithelial ovarian carcinomas, particularly in terms of its chemoresistance and poor prognosis with advanced disease^(11,17,19,20). However, this fact has not been regarded as a serious issue clinically because CC is relatively rare among epithelial ovarian cancer and approximately 60% of CC cases are diagnosed as stage I disease^(17,21), which means that only a small percentage of patients with this specific neoplasm require chemotherapy for residual disease. These characteristic features of CC make it difficult to evaluate real response to chemotherapy, and there have been no large prospective studies targeted exclusively at CC patients. In the present study, we retrospectively analyzed response to PTX-PLT

Table 3. Clinical Response to chemotherapy

Status	Total	CR	PR	SD	PD	RR (95% CI)
Primary	15	5	3	1	6	53.3% (26.6–78.7)
Recurrence	13	0	3	1	9	23.1% (5–53.8)
Early (<12 months)	8	0	2	0	6	25% (3.2–65.1)
Late (>12 months)	5	0	1	1	3	20% (0.5–71.6)

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

chemotherapy among CC patients who had measurable residual disease. Also, to exclude interobserver differences between institutions, histologic types of all surgical specimens were confirmed by central pathologic review and residual disease was reevaluated by Response Evaluation Criteria in Solid Tumors criteria.

To our knowledge, few clinical studies have evaluated response to PLT-based chemotherapy in patients with measurable residual CC. Goff *et al.*⁽¹⁹⁾ reported a higher rate of progressive disease with PLT-based chemotherapy in CC patients with measurable or nonmeasurable disease (16/23; 70%) compared with patients with serous adenocarcinoma (10/34; 29%). Sugiyama *et al.*⁽¹⁷⁾ compared CC patients with stage III disease with serous adenocarcinoma patients with stage III disease using cyclophosphamide–PLT combination chemotherapy with or without doxorubicin. The RR to PLT-based chemotherapy in patients with CC was significantly lower than that in patients with serous adenocarcinoma (RR in CC patients, 11.1%). Although the two reports analyzed CC patients with measurable disease, the combination chemotherapy used for their patients did not include PTX. Recently, Enomoto *et al.* presented the results of a study on PTX-CBDCA combination chemotherapy for epithelial

Table 2. Summary of data for cases of recurrent or refractory disease

Case	Stage	Recurrence site	Previous regimen	Time to recurrence	Therapy effect
1	IC	Lung	CDDP, CPM, ADR	>12 months	SD
2	IC	Para-aortic LN	CDDP, CPM, ADR	<12 months	PR
3	IC	PC	CDDP, CPT-11	<12 months	PD
4	IIIC	Pelvic cavity	PTX, CBDCA	<12 months	PR
5	IC	Lung	MMC, VP-16, CDDP	<12 months	PD
6	IA	Para-aortic LN	CDDP, CPM, ADR	<12 months	PD
7	IIC	Abdominal cavity	PTX, CBDCA	<12 months	PD
8	IIC	Abdominal cavity	CDDP, CPM	>12 months	PR
9	IV	Lung	CDDP, CPM, ADR	>12 months	PD
10	IC	Abdominal cavity	CDDP	<12 months	PD
11	IIC	PC	PTX, CBDCA	<12 months	PD
12	IC	Para-aortic LN	PTX, CBDCA	>12 months	PD
13	IIC	Abdominal cavity	PTX, CBDCA	>12 months	PD

LN, lymph nodes; PC, peritonitis carcinomatosa; CPM, cyclophosphamide; ADR, adriamycin; MMC, mitomycin C; VP-16, etoposide; SD, stable disease; PR, partial response; PD, progressive disease.

ovarian cancer at the 2003 ASCO meeting⁽²⁴⁾. This group concluded that CC (RR, 22%) was not as sensitive to the chemotherapy combination as serous adenocarcinoma (RR, 81%). This appeared to be especially true for women with measurable disease, although the authors analyzed only nine such CC cases. On the other hand, Behbakht *et al.* reported on six stage III/IV CC patients with measurable residual tumor, 67% (4/6) of whom partially responded to PTX-PLT⁽²⁰⁾. In contrast to previous studies on conventional PLT-based chemotherapy without PTX, the RR for primary residual CC in our study was relatively high (53.3%), although this rate was lower than the 73% RR found in suboptimal patients with advanced ovarian cancer including serous adenocarcinoma⁽⁵⁾. RR for PLT-refractory disease or early (<12 months) recurrent disease and late (>12 months) recurrent disease was 25% and 20%, respectively, in our study. Guastalla *et al.* reported RRs for PLT-refractory patients and those with early (≥ 3 and <12 months) and late (>12 months) relapsing disease as 24%, 33%, and 70%, respectively. The RR in our study on limited CC patients was lower than those given in previous reports on patients with previously treated advanced ovarian cancer, especially in cases of late recurrent disease⁽²⁵⁾.

In the present study, median survival time in patients with primary CC disease was 20 months. Sugiyama *et al.* reported that median survival time in primary stage III CC patients treated with PLT-based chemotherapy was 12.7 months. In previous reports for total primary advanced epithelial ovarian cancers including serous adenocarcinoma treated with PTX-PLT, median survival time was 38 months⁽⁵⁾. Our study suggests that RR for primary residual CC was relatively high and median survival time was slightly longer than that reported for stage III CC patients treated with PLT-based chemotherapy, but not as long as survival times given in reports including other histologic types such as serous adenocarcinoma. We conclude that chemosensitivity of CC may not contribute too much to survival. However, it is noteworthy that a significant proportion of CC patients with primary disease responded to PTX-PLT combination chemotherapy. Guastalla *et al.* reported that in recurrent ovarian cancer treated with PTX-PLT, median survival time was 14 months⁽²⁶⁾. In the present study, median survival time in patients with recurrent disease was longer (28 months) than in patients with primary disease in spite of a lower RR (23.1% for recurrent disease vs 53.3% for primary disease). We speculate that most patients with recurrent disease in our study were stage I or II and may have had slow-growing

carcinoma. This characteristic may be related to the chemoresistance (RR 20%) seen in late recurrent serous adenocarcinoma, a tumor that is generally chemosensitive.

In *in vitro* studies, Ohta *et al.*⁽²⁶⁾ reported that cyclophosphamide was more effective against serous adenocarcinoma cells than CC cells, whereas PTX was effective against CC cells and ineffective against serous adenocarcinoma cells. Cloven *et al.*⁽²⁷⁾ reported clear cell tumors had the lower rates of the Extreme Drug Resistance assay to PTX and cyclophosphamide than papillary serous tumors. In addition, Itamochi *et al.*⁽²⁸⁾ demonstrated that PTX and camptothecin (CPT-11) were effective against three of five CC cell lines while only one CC cell line was sensitive to CDDP. Thus, they concluded that PTX and CPT-11 may be effective agents against CC. In a clinical trial, Shimizu *et al.*⁽¹⁶⁾ reported that chemotherapy including CPT-11 demonstrated significant activity (RR, 52%) in PLT-refractory CC patients, and they advocated that CPT-11 should be given as front-line chemotherapy for CC patients. Our present clinical data also support the *in vitro* studies; the relatively high RR observed in our study seems to be accounted for by the addition of PTX to the chemotherapy regimen. Together with our clinical data, PTX may have the potential to play a key role in the treatment of CC even though chemosensitivity may be lower than that of serous adenocarcinoma. The main limitation of the current study was that the number of cases was too small and the follow-up period too short to form definite conclusions about the contribution of PTX-PLT combination chemotherapy to survival. We speculate that therapy with only PTX may be not sufficient to get better response and prognosis, so new combinations such as PTX and CPT-11 with or without PLT may be considered for future clinical trials.

However, our results with CC patients do indicate that the combination of PTX and PLT has some efficacy compared with conventional PLT-based chemotherapy for this population, and there seem to be some candidates for alternative regimens to improve treatment. A large-scale, prospective trial may be necessary in order to confirm our observation.

Acknowledgments

This work was supported in part by a grant-in-aid for Scientific Research from the Ministry of Health and Welfare, a grant-in-aid from the Ministry of Education, Science and Culture, a grant-in-aid from Kurokawa Cancer Research Foundation, and a grant-in-aid from Japan Society of Gynecologic Oncology (JSGO). We

appreciate the collaborators of this Tohoku GOG multicenter study: Dr Toru Tase (Miyagi Municipal Cancer Center, Miyagi), Dr Yuichi Wada (National Sendai Hospital, Miyagi), Dr Masafumi Ami (Takeda Hospital, Fukushima), Dr Yuya Abe (Yamagata Municipal Central Hospital, Yamagata), Dr Morishige Shibuya (Yuri-kumiai Hospital, Akita), Dr Keiko Watanabe (Ichinoseki Hospital, Iwate), and Dr Masaki Kuramoto (Hachinohe Municipal Hospital, Aomori).

References

- Akahira J, Yoshikawa H, Shimizu Y *et al.* Prognostic factors of stage IV epithelial ovarian cancer: a multicenter retrospective study. *Gynecol Oncol* 2001;81:398-403.
- Del Campo JM, Felip E, Rubio D *et al.* Long-term survival in advanced ovarian cancer after cytoreduction and chemotherapy treatment. *Gynecol Oncol* 1994;53:27-32.
- Omura GA, Brady MF, Homesley HD *et al.* Long-term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: the Gynecologic Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1991;9:1138-50.
- Fanning J, Bennett TZ, Hilgers RD. Meta-analysis of cisplatin, doxorubicin, and cyclophosphamide versus cisplatin and cyclophosphamide chemotherapy of ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 1992;80:954-60.
- 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* 1996;334:1-6.
- The ICON and AGO Collaborators. Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet* 2003;361:2099-106.
- Dizon DS, Hensley ML, Poyner EA *et al.* Retrospective analysis of carboplatin and paclitaxel as initial second-line therapy for recurrent epithelial ovarian carcinoma: application toward a dynamic disease state model of ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:1238-47.
- 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* 1998;16:1494-7.
- Serov SF, Scully RE, Sobin LH. *International histologic classification of tumors. No. 9. Histologic typing of ovarian tumors.* Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1973.
- Aure JC, Hoeg K, Kolstad P. Mesonephroid tumors of the ovary: clinical and histopathologic studies. *Obstet Gynecol* 1971;37:860-7.
- Kennedy AW, Biscotti CV, Hart WR, Webster KD. Ovarian clear cell adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 1989;32:342-9.
- Crozier MA, Copeland LJ, Silva EG *et al.* Clear cell carcinoma of the ovary: a study of 59 cases. *Gynecol Oncol* 1989;35:199-203.
- O'Brien ME, Schofield JB, Tan S *et al.* Clear cell epithelial ovarian cancer (mesonephroid): bad prognosis only in early stages. *Gynecol Oncol* 1993;49:250-4.
- Sugawa T, Umesaki N, Yajima A *et al.* A group study on prognosis of ovarian cancer. *Acta Obstet Gynecol Jpn* 1992;44:827-32.
- Ueki M. Report of gynecologic cancer in Japan. *Acta Obstet Gynecol Jpn* 2001;53:1038-48.
- Shimizu Y, Umezawa A, Hasumi K. A phase II study of combined CPT-11 and mitomycin C in platinum refractory clear cell and mucinous ovarian carcinoma. *Ann Acad Med Singapore* 1998;27:650-6.
- Sugiyama T, Kamura T, Kigawa J *et al.* Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy. *Cancer* 2000;88:2584-9.
- Recio FO, Piver MS, Hempling RE, Driscoll DL. Lack of improved survival plus increase in thromboembolic complications in patients with clear cell carcinoma of the ovary treated with platinum versus nonplatinum-based chemotherapy. *Cancer* 1996;78:2157-63.
- Goff BA, Sainz dela Cuesta R, Muntz HG *et al.* Clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic type with poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy in stage III disease. *Gynecol Oncol* 1996;60:412-7.
- Behbakht K, Randall TC, Benjamin I *et al.* Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 1998;70:255-8.
- Jenison EL, Montag AG, Griffiths CT *et al.* Clear cell adenocarcinoma of the ovary: a clinical analysis and comparison with serous carcinoma. *Gynecol Oncol* 1989;32:65-71.
- Ho CM, Chien T-Y, Shih B-Y, Huang S-H. Evaluation of complete surgical staging with pelvic and para-aortic lymphadenectomy and paclitaxel plus carboplatin chemotherapy for improvement of survival in stage I ovarian clear cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 2003;88:394-9.
- Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA *et al.* New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:205-16.
- Enomoto T, Kuragaki C, Yamasaki M *et al.* Is clear cell carcinoma and mucinous carcinoma of the ovary sensitive to combination chemotherapy with paclitaxel and carboplatin? *Proc ASCO* 2003;20:447.
- Guastalla JP, Pujade-Lauraine E, Weber B *et al.* Efficacy and safety of the paclitaxel and carboplatin combination in patients with previously treated advanced ovarian carcinoma. A multicenter GINECO (Group d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens) phase II study. *Ann Oncol* 1998;9:37-43.
- Ohta I, Gorai I, Miyamoto Y *et al.* Cyclophosphamide and 5-fluorouracil act synergistically in ovarian clear cell adenocarcinoma cells. *Cancer Lett* 2001;162:39-48.
- Cloven NG, Kyshtoobayeva A, Burger RA, Yu IR, Fruehauf JP. In vitro chemoresistance and biomarker profiles are unique for histologic subtypes of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2004;92:160-6.
- Itamochi H, Kigawa J, Sultana H *et al.* Sensitivity to anticancer agents and resistance mechanisms in clear cell carcinoma of the ovary. *Jpn J Cancer Res* 2002;93:723-8.

Accepted for publication September 17, 2004