

Fig. 2 H&E staining $\times 100$ of the (a) nephrectomised primary lesion, (b) lung metastatic lesions and (c) right lung hilar metastasis. (d) Immunohistochemical staining with anti-CD8 antibody of the right hilar mass ($\times 100$). The largest part of the primary site consisted of clear cell carcinoma (a), whereas most metastatic sites consisted of granular cell carcinoma (b). The right lung hilar metastasis (the nodule that responded after IL-2 therapy) showed diffuse necrotic change (c). Immunohistochemistry revealed CD8 positive T-lymphocyte dominant infiltration of the right lung hilar metastasis (d).

for a total IL-2 dose of 20×10^6 JRU. However, the patient's condition deteriorated due to progression of metastases. The patient died of multiple RCC metastases 9 months after nephrectomy and 7 months after the start of GM-CSF gene therapy.

Autopsy and histological findings

With permission from the family, an autopsy was performed 5 h after the patient's death. Grossly massive RCC metastases were found in both lungs and the liver. Widespread metastases were also found in the pancreas, duodenum, left kidney, pleura and retroperitoneal lymph nodes. Histological examination of the metastasis sites showed that almost all examined nodules consisted of granular cell carcinoma, which was in sharp contrast to the histology of the primary site where clear cell carcinoma

was dominant (Figs 2a,b). In addition, sarcomatoid changes were observed in the kidney metastasis. These findings indicate the apparent histological divergence of metastatic sites. While scattered necrotic foci were seen, RCC cells were morphologically viable in most of the metastatic sites. In contrast, histology of the right lung hilar metastasis, the lesion that shrank after IL-2 therapy, showed diffuse necrotic changes (Fig. 2c). Viable cells were barely seen in pseudocapsule of this lesion as bizarre foci of granular cell carcinoma. No significant differences were found in the degree of lymphocyte infiltration and dendritic cell infiltration; however, the shrank lesion was infiltrated with proportionately more CD8 positive T lymphocytes, compared to other non-responding metastatic lesions, as shown in Fig. 2d. The similar CD8 positive T-lymphocyte accumulation was seen in one necrotic deposit in the liver. Careful histological examination did not reveal vasculitis or

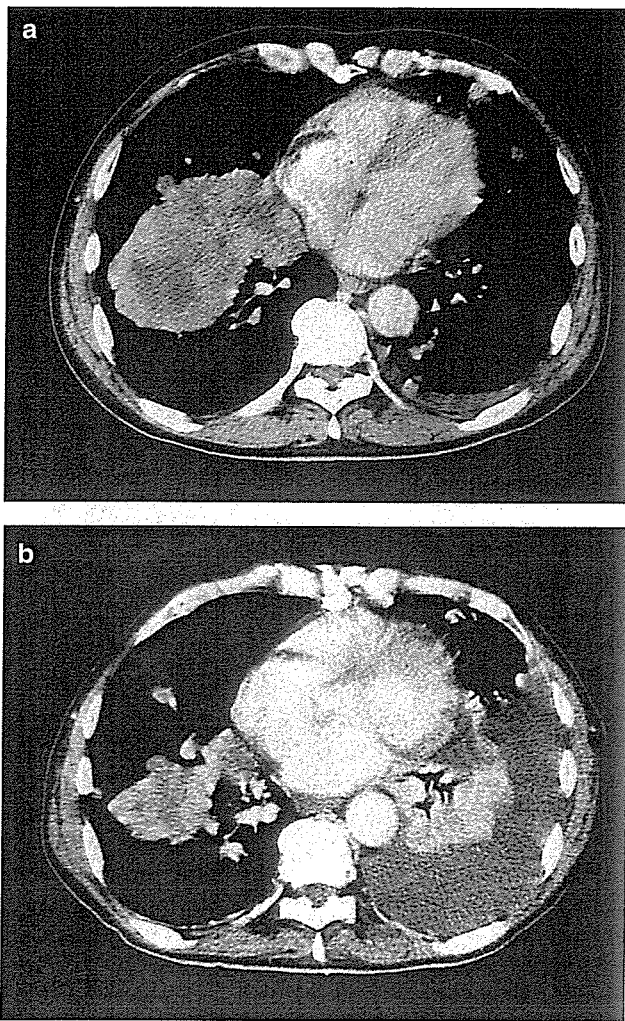


Fig. 3 Chest CT scan (a) before and (b) 1 month after the initiation of IL-2 treatment. Note the marked regression of a right lung hilar mass despite progression of the other metastatic nodules and pleural effusion.

any other changes associated with active autoimmune disease.

Discussion

Since RCC is thought to be an immunogenic cancer, gene immunotherapy is considered to be one of the challenging gene therapy strategies. In 1997, Simons *et al.* reported a phase I study of autologous RCC vaccination in the USA.³ An objective partial response was observed in one of seven patients treated with GM-CSF gene-transduced tumor vaccine.³ In Japan, a phase I study of a GM-CSF gene-transduced tumor vaccine for metastatic RCC patients (the first cancer gene therapy in the

country) is currently being conducted as a multi-institutional study organized by IMSUT. The procedure for producing autologous vaccine cells is conducted at IMSUT under Good Manufacturing Practices. Although the treatment protocol is essentially the same as the one reported by Simons *et al.*,³ the vaccination schedule is longer in the current study than in the previous clinical trial conducted in the USA.

The objectives of the current study are to test the safety of the gene therapy and evaluate immunological anti-tumor effects. In the present paper we reported the clinical course of the first patient enrolled in the study. During and after gene therapy, no remarkable side-effects were observed by physical examination or laboratory tests. In addition, no pathological findings specific to gene immunotherapy, such as autoimmune disease, were found by autopsy. To our knowledge, this is the first detailed report of an autopsy of a patient treated with GM-CSF gene therapy.

Despite the strong positive DTH conversion against autologous RCC cells after vaccination, the clinical response of the GM-CSF gene therapy resulted in progressive disease. However, the subsequent low-dose IL-2 therapy showed rapid and remarkable regression in a large lung hilar metastatic mass. The most striking histological finding in the responding mass was CD8 positive T-cell infiltration. It suggests the CD8 positive T-cell might be an important effector cell in regression of the mass. Since the mass regressed after IL-2 therapy, it is not certain that the GM-CSF gene therapy plays a role in this immune response. Further clinical and immunological evaluation of the other patients enrolled in the study is required.

Finally, there was a difference in RCC histology between the nephrectomised primary site and the metastatic sites. This may have been the result of natural selection of metastatic phenotype, because it is well known that metastases from clear cell at the primary site are not always clear cell and may be considerably less differentiated than cells at the primary site. Another possibility is the selective escape of non-clear cell populations from immunity induced by vaccine prepared from clear cell carcinoma, which was dominant at the primary site. Although it is not clear whether selective escape might be involved in the present case, the genetic instability and heterogeneous features of RCC may require additional treatment combined with immune gene therapy. At the time of this report, the trial is in progress, and an additional three patients have been successfully treated with no significant side-effects. Further clinical and immunological evaluation including these patients is required to ascertain the clinical benefits of GM-CSF gene therapy in metastatic RCC.

References

- 1 Dranoff G, Jaffee E, Lazenry A *et al.* Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1993; **90**: 3539–43.
- 2 Tani K, Nakazaki Y, Hase H *et al.* Progress reports on immune gene therapy for stage IV renal cell cancer using lethally irradiated granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced autologous renal cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2000; **46** (Suppl.): S73–6.
- 3 Simons JW, Jaffee EM, Weber CE *et al.* Bioactivity of autologous irradiated renal cell carcinoma vaccines generated by ex vivo granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene transfer. *Cancer Res.* 1997; **57**: 1537–46.
- 4 Jaffee EM, Dranoff G, Cohen LK *et al.* High efficiency gene transfer into primary human tumor explants without cell selection. *Cancer Res.* 1993; **53** (Suppl. 10): 2221–6.

Incorporation of the Anticancer Agent KRN5500 into Polymeric Micelles Diminishes the Pulmonary Toxicity

Yasuo Mizumura,^{1,6} Yasuhiro Matsumura,^{3,7} Masayuki Yokoyama,⁴ Teruo Okano,⁴ Takanori Kawaguchi,⁵ Fuminori Moriyasu⁶ and Tadao Kakizoe²

¹Department of Medicine, ²President, National Cancer Center, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, ³Investigative Treatment Division, National Cancer Center Research Institute East, 6-5-1 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8577, ⁴Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, ⁵2nd Department of Pathology, Fukushima Medical University School of Medicine, 1 Hikarigaoka, Fukushima-shi, Fukushima 960-1247 and ⁶4th Department of Medicine, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023

KRN5500 is a highly active new semi-synthetic water-insoluble anticancer agent. The only mechanism of anticancer activity of KRN5500 described so far is an inhibitory effect on protein synthesis. At the time of writing, a phase I clinical trial is under way at the National Cancer Center Hospital, Tokyo, and at the National Cancer Institute in the USA. Although preclinical data did not indicate lung toxicity, some cases of severe pulmonary disorder were reported in the phase I clinical trials. This study has been conducted to examine whether incorporation of KRN5500 into polymeric micelles (KRN/m) could reduce the toxic effects caused by the current formulation of KRN5500. The *in vitro* and *in vivo* antitumor activities of KRN5500 and KRN/m were compared. Pulmonary toxicity of KRN5500 and KRN/m was studied using a bleomycin (BLM)-induced lung injury rat model. In BLM-rats, extensive pulmonary hemorrhage with diapedesis was observed with KRN5500 i.v. bolus injection at the dose of 3 mg/kg, which is equivalent to 21.0 mg/m² (level 5) of the Japanese phase I trial. However, toxicity was not observed when rats were administered KRN/m at the equivalent dose to KRN5500 in potency. Electron microscopy of the lung treated with KRN5500 showed disruption of the alveolar type II membrane with release of lamellar debris. Furthermore, *in vivo*, KRN/m showed similar antitumor activity to KRN5500. These results indicate that KRN/m may be useful for reducing the pulmonary toxicity associated with the current formulation of KRN5500, while fully maintaining its antitumor activity.

Key words: Drug delivery system — Polymer micelles — KRN5500 — Pulmonary toxicity — Tumor targeting

KRN5500, 6-[4-deoxy-4(2E,4E)-tetradecadienoylglycyl]amino-L-glycero- β -L-mannoheptopyranosyl]amino-9H-purine, is a spicamycin analogue derived from *Streptomyces alanosinicus*. KRN5500 was demonstrated to be highly active in a number of experimental solid tumors, including stomach, esophageal and colon cancer.¹⁾ KRN5500 itself has, however, only minor effects on protein synthesis in reticulocyte lysates. A metabolite, 4-N-glycylspicamycin aminonucleoside (SAN-Gly), which has no fatty acid chain and is thought to be generated through metabolism of KRN5500 by a cytosomal enzyme, exhibited a marked inhibitory effect on protein synthesis in a cell-free system. On the other hand, SAN-Gly showed 1000-fold weaker cytotoxicity than KRN5500 *in vitro* because it does not cross cellular membranes as easily as KRN5500. These findings indicate that the intracellular conversion of KRN5500 to SAN-Gly may be responsible for the potent antitumor activity.^{2,3)} Because of the fatty

acid chain, KRN5500 is water-insoluble and must be dissolved in organic solvents and chemicals for intravenous injection.

Currently, phase I clinical trials of KRN5500 are ongoing at the National Cancer Center Hospital in Tokyo and the National Cancer Institute in the USA. Their protocols define that the drug must be injected into a central vein in order to minimize vasculitis, probably caused by the organic solvents and chemicals essential for its dissolution. The toxicity profile of the drug has been partially disclosed at scientific meetings.^{4,5)} In addition to nausea, vomiting, diarrhea, fatigue, transaminitis, hyperbilirubinemia and prolongation of coagulation time, grade 4 pulmonary disorder and interstitial pneumonitis, including one death, were reported.^{4,5)} Meanwhile, we have successfully developed KRN5500-containing polymeric micelles (KRN/m).⁶⁾ Although KRN/m possesses similar antitumor activity to KRN5500 *in vitro*, as well as *in vivo*, the vascular damage with fibrin clot observed after KRN5500 i.v. injection was not seen when KRN/m was administered i.v.⁷⁾ Therefore, we expect that KRN/m would be superior

⁷To whom correspondence should be addressed.
E-mail: yhmatsum@east.ncc.go.jp

to KRN5500 for clinical use in the future. In the present study, we examined the antitumor activity and the toxic effects of KRN/m *in vitro* and *in vivo* in a rat model in comparison with KRN5500. We paid particular attention to the pulmonary toxicity of KRN/m compared with that of KRN5500 in both bleomycin (BLM)-rat models.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals KRN5500 (KRN5500; its chemical structure is shown in Fig. 1A) was kindly supplied by Kirin Brewery Co., Ltd. Also, several organic solutions and chemicals used to dissolve KRN5500 were a gift from the company. Organic solvents used for dissolving KRN5500 consisted of 3.3% *N,N*-dimethylacetamide, 3% Polysorbate 80, and 0.45% ethanolamine in 0.9% saline for *in vivo* tests. Bleomycin (BLM) hydrochloride was purchased from Nihon Kayaku Co., Ltd. Other chemicals were of reagent grade and were used as purchased.

Incorporation of KRN5500 into micelles As shown in Fig. 1B, KRN5500 was incorporated into polymeric micelles formed from poly(ethylene glycol)-poly(β -benzyl L-aspartate-co- β -centyl L-aspartate) block copolymer (PEG-P(BLA, C16)) by physical entrapment utilizing hydrophobic interactions between the drug and the poly(amino acid) chain of the block copolymers, as reported previously by Yokoyama *et al.*⁶ (Fig. 1B).

***In vitro* cytotoxicity** Colonic cancer cell lines (Colon 26, Widr), gastric cancer cell lines (MKN-45, MKN-74), breast cancer cell line (MCF-7), bladder cancer cell line (RT-112) and lung cancer cell lines (A549, EBC-1, PC-14, SBC-3) were used in this study. All the cell lines were maintained in monolayer cultures in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% fetal bovine serum in a humidified atmosphere containing 5% CO₂ at 37°C. For cytotoxicity analysis, the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was used. Ten thousand cells of each cell line in 198 μ l of culture medium were plated in 96-well plates 24 h prior to drug treatment. Then 2 μ l of various doses of free KRN5500 or KRN/m was added. Cells were exposed to the indicated drug concentration in triplicate for 24 h, 48 h or 72 h. Three measurements were taken at every point, and the mean of these was taken to be the value for that measurement time.

Mouse experiments

***In vivo* antitumor activity:** Antitumor activity was evaluated against the human gastric cancer cell line MKN-45 grown in nude mice. BALB/c *nu/nu* female mice (6 weeks old) were inoculated subcutaneously (s.c.) on the abdominal skin with a half million MKN-45 tumor cells. Four days later, when the tumor length reached approximately 3 mm, the tumor-bearing mice were allocated randomly to drug treatment groups of 5 animals each.

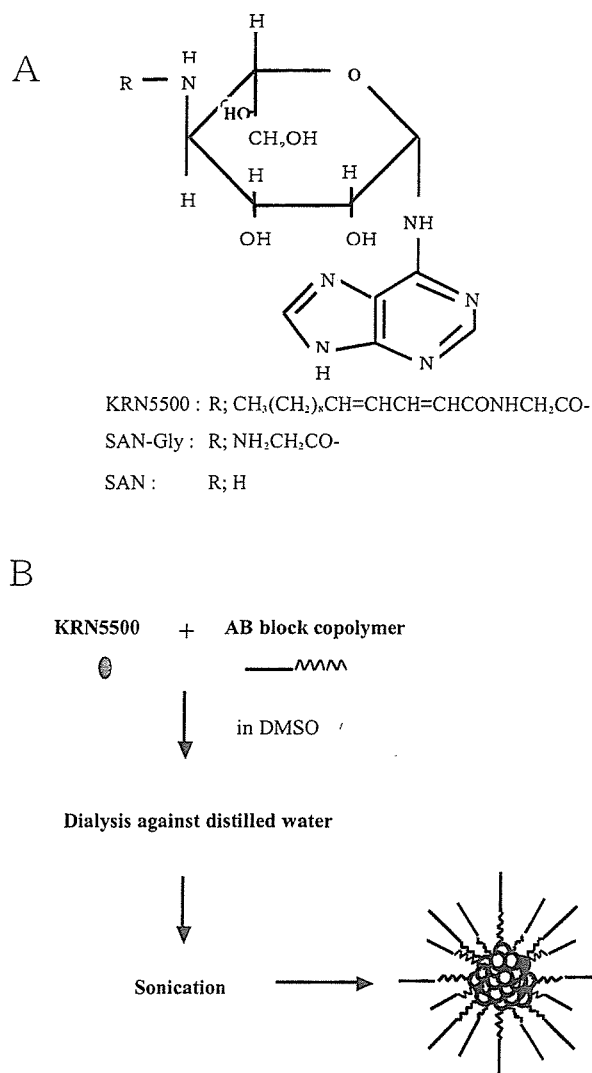


Fig. 1. Chemical structure of spicamycin analogue KRN5500, 6-[4-deoxy-4(2*E*,4*E*)-tetradecadienylglycyl]amino-L-glycero- β -L-mannoheptopyranosyl]amino-9*H*-purine, and the method of incorporating KRN5500 into polymeric micelles are shown. A. The fatty acid chain of KRN5500 is pivotal for drug internalization into cancer cells. 4-*N*-Glycylspicamycin (SAN-Gly), which has no fatty acid and is obtained after metabolism of KRN5500 by a cytosomal enzyme, exhibited a marked inhibitory effect on protein synthesis in the cell-free system. Nevertheless, SAN-Gly showed 1000-fold weaker cytotoxicity than KRN5500 *in vitro* because of poor intracellular incorporation of SAN-Gly. Since KRN5500 is highly water-insoluble, a mixture of organic solvents and chemicals must be used to dissolve the drug for injection. B. An AB-block copolymer, PEG-P (BLA, C-16), was dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and mixed with KRN5500 in DMSO. The mixture was stirred at room temperature for 10 min, and then dialyzed against distilled water for at least 5 h using a cellulose membrane. Sonication was then carried out to obtain uniformly sized micelle particles (approximate size, 70 nm). \odot drug, — hydrophilic segment, W hydrophobic segment.

Treatment groups were as follows: free KRN5500 at a dosage level of 5 mg/kg; KRN/m at an equivalent dose of KRN5500; saline as a control. Drugs in a volume of 0.1 ml were injected as a single dose into a tail vein on day 6 after tumor inoculation. The antitumor effect was evaluated by measuring 2 orthogonal diameters of the tumor ($a \times b$: a , long diameter; b , short diameter) at various times. Relative tumor growth rates were compared across these 3 treatments, including the control and across time, as represented by these 6 measurements (days 2, 6, 9, 13, 16, 20), using repeated measure two-way ANOVA.

Evaluation of systemic side effects by measurement of body weight changes in mice: Adverse effects were also determined by measurement of body weight changes in nude mice after drug treatment. Animals and methods are described above. Body weight was measured when tumor size was measured.

Rat experiment: Lung toxicity in rats with BLM-induced lung injury We designed a model for pulmonary fibrosis in rats by intratracheal instillation of BLM. The model has been shown to be similar histopathologically to the pulmonary fibrotic changes in humans.^{8,9)}

Male Sprague-Dawley rats (8 weeks old, 250 g) were used in this study. Animals were intratracheally instilled with 1 mg of BLM hydrochloride diluted in a volume of 0.1 ml of sterile saline under ether anesthesia. On day 7 after BLM instillation, rats were allocated randomly to drug injection groups of 3 animals each, and rats were given each drug as a single dose into a tail vein by bolus

injection. Injection groups were as follows: KRN5500 3 mg/kg (0.1 mg/ml at a volume of 7.5 ml); KRN5500 1 mg/kg (0.1 mg/ml at a volume of 2.5 ml); KRN/m 3 mg/kg (at equivalent dose of KRN5500); KRN/m 1 mg/kg (the equivalent dose to that of KRN5500); saline as a control. The 3 mg/kg injection of KRN5500 was compatible with that of 21.0 mg/m² (level 5) of the Japanese clinical trials.

Two toxic deaths out of 3 animals occurred immediately after the drug injection in the KRN5500 treatment group at 3 mg/kg. The surviving rats received the designated dose daily for another 2 days.

One day after the last i.v. injection of each drug, the surviving rats were sacrificed under ether anesthesia and the lungs were collected. Resected lungs were immersed in 10% formalin solution. Paraffin-embedded sections were stained with hematoxylin and eosin and examined by microscopy. The morphologic changes after KRN5500 treatment were examined by electron microscopy.

Statistical methods *In vivo* data from the mouse experiment were compared across groups by using ANOVA. *P* values of 0.05 or less were considered statistically significant.

RESULTS

***In vitro* cytotoxicity** IC₅₀ values for KRN5500 and KRN/m against various cancer cell lines exposed at the indicated drug concentrations in triplicate for 24 h, 48 h, or 72

Table I. IC₅₀ Value (μ M) of KRN5500 and KRN/m in Various Cell Lines

	Exposure time					
	24 h		48 h		72 h	
	KRN5500	KRN/m	KRN5500	KRN/m	KRN5500	KRN/m
Lung cancer						
A549	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.061	0.084
EBC-1	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.082	0.11
PC-14	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.23	0.367
SBC-3	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.079	0.087
Gastric cancer						
MKN-45	>3.0	>3.0	0.037	0.042	0.019	0.018
MKN-74	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	1.67	1.95
Colonic cancer						
Colon 26	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.47	0.60
Widr	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	0.11	0.13
Breast cancer						
MCF-7	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	1.67	1.07
Bladder cancer						
RT-112	4.4	1.8	0.38	0.44	0.047	0.064

Each cell line was treated in triplicate for 24 h, 48 h, and 72 h. MTT assay was used for obtaining IC₅₀ value.

h are shown in Table I. There was no remarkable difference between the IC_{50} values of KRN5500 and KRN/m at any exposure time.

Mouse experiments

In vivo antitumor activity: The relative tumor growth rate in each treatment group after injection of each drug is shown in Fig. 2A. Both KRN5500 and KRN/m exerted significant anticancer activity *in vivo* ($F=6.4$, $P=0.013$). Comparison of relative tumor growth rates after KRN5500 and KRN/m revealed no significant difference ($F=0.12$, $P=0.74$). Comparison of relative tumor growth rates after KRN/m injection and in the control revealed potent inhibition of tumor growth by KRN/m ($F=16.1$, $P=0.004$). Overall, these results show that KRN5500 maintains sufficient antitumor activity after the incorporation of the drug into micelles.

Adverse effects in terms of body weight changes in mice: Fig. 2B shows the body weight changes in tumor-bearing mice after i.v. injection of each drug. Mean body weight in the KRN5500 treatment group decreased significantly compared to the KRN/m ($F=7.0$, $P=0.03$) and control groups ($F=6.4$, $P=0.03$). The body weight loss of mice treated with KRN/m was no greater than that of mice treated with saline ($F=0.01$, $P=0.92$). Overall, these results show that KRN/m had far less toxicity than KRN5500.

Rat experiments: Pulmonary toxicity of each drug in rats with BLM-induced lung injury KRN5500-injected rats at a dosage level of 3 mg/kg demonstrated extensive pulmonary pathological changes with widespread hemorrhage (Fig. 3A). At a KRN5500 dosage level of 1 mg/kg, focal hemorrhage was observed (Fig. 3B). On the other hand, no such pulmonary pathological changes occurred

with KRN/m (Fig. 3C) at either dosage level, and the lungs resembled those in the control group (Fig. 3D). Electron microscopy (EM) showed that alveolar type II cells, which help prevent the development of pulmonary fibrosis, were swollen and contained extensive "lamellar" inclusions within the cytoplasm 7 days following BLM instillation. On the day after KRN5500 injection at the dosage level of 1 mg/kg, EM exhibited more extensive swelling and disruption of the alveolar type II cell membrane with release of lamellar debris (Fig. 3, E and F).

DISCUSSION

Following the development of liposomes, it was proposed by Ringsdorf *et al.*¹⁰ that AB block copolymer-drug conjugates, composed of hydrophilic and hydrophobic components, might form micelle structures in aqueous media owing to this amphiphilic characteristic. Then the utility of polymeric micelles in cancer chemotherapy was demonstrated in the form of adriamycin (ADR)-incorporated polymeric micelles (ADR/m) by Yokoyama *et al.*^{11,12} ADR/m decreased the toxicity of ADR significantly in terms of body weight change and still expressed superior *in vivo* antitumor activity against several solid tumors, due to the EPR effect, in comparison with free ADR. Cisplatin (CDDP)-incorporating polymeric micelles (CDDP/m) have also been developed, in which platinum atoms of CDDP are linked to aspartic acid residues of copolymers by means of a ligand substitution reaction.^{13,14}

KRN5500, which was examined in this study, possesses a unique chemical structure and cytotoxic mechanism.¹⁵ Lee *et al.* reported that CDDP-resistant human lung cancer

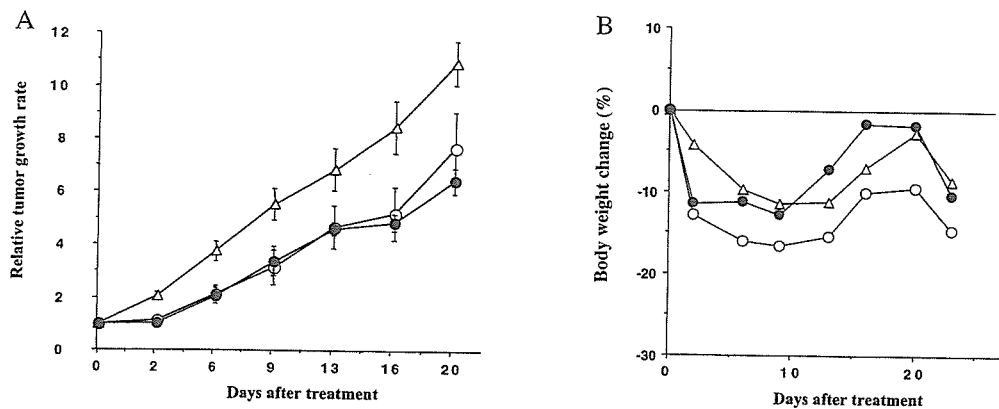


Fig. 2. A. Changes in relative tumor (MKN-45) size on the abdominal skin in nude mice after treatment with KRN5500 or KRN/m. Relative tumor growth rate of each treatment group, KRN5500 at 5 mg/kg (○), KRN/m (●) in an amount equivalent to that of KRN5500, or saline (Δ) was given by a single i.v. injection starting on day 4 after tumor inoculation. Points, mean values; bars, ±SE. B. Toxicities of KRN5500 (5 mg/kg) (○), KRN/m (5 mg/kg) (●), and saline (Δ) were evaluated by measuring body weight changes. The data were from the same mice used in the treatment experiment. Mice were weighed on days 2, 6, 9, 13, 16, 20, and 21 after treatment.

cells showed higher sensitivity to KRN5500 as compared with sensitive cells.¹⁶⁾ To explain this, Takara *et al.* demonstrated that KRN5500 was hardly transported via P-gly-

coprotein (P-gp). Therefore, KRN5500 may be useful even for the treatment of tumor cells exhibiting P-gp-associated MDR.¹⁷⁾

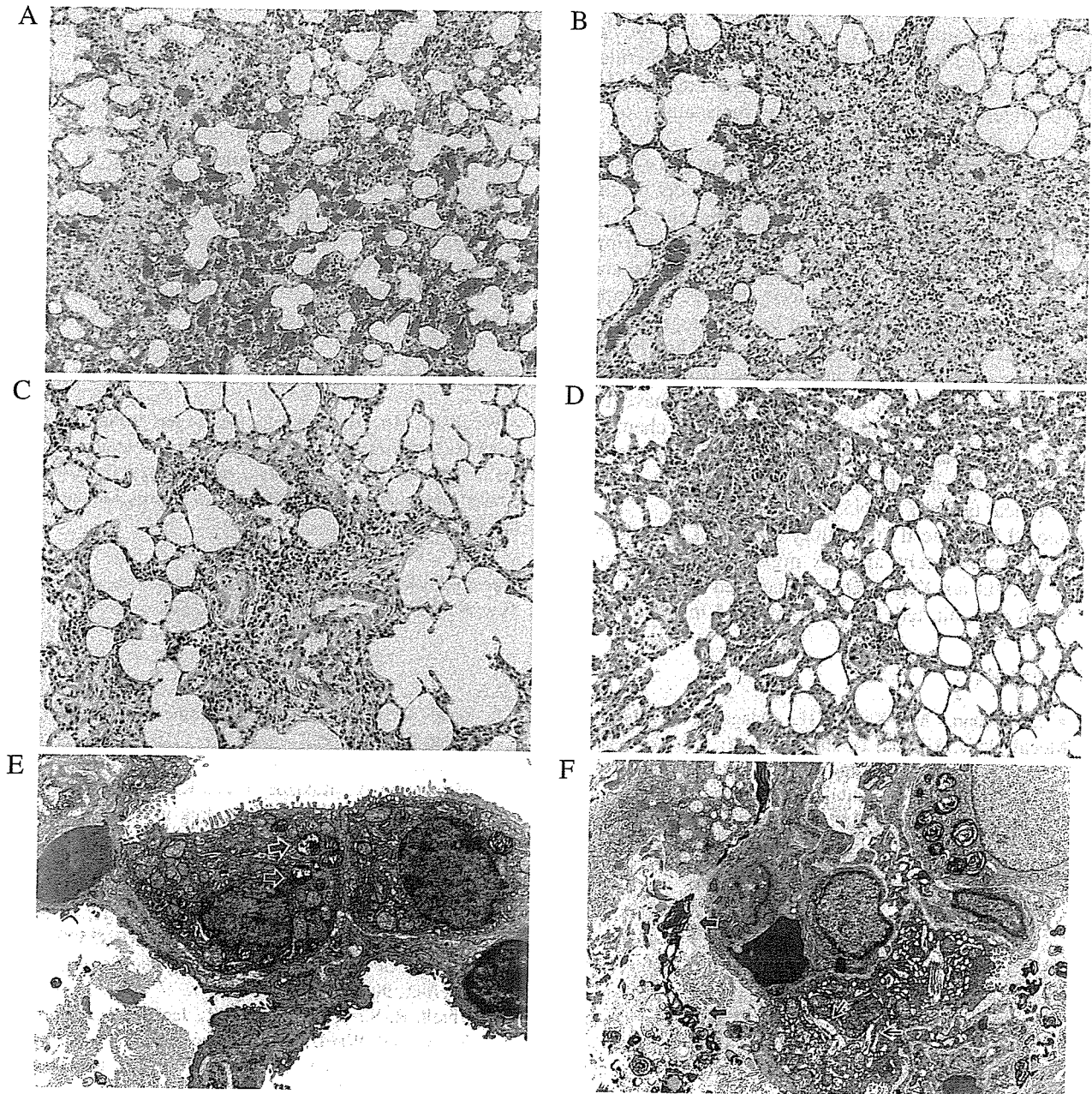


Fig. 3. On day 7 after BLM instillation, rats were allocated randomly to drug injection groups of 3 animals each, and rats were given each drug daily 3 times by bolus injection into a tail vein. The histological appearance of lungs in rats was evaluated by hematoxylin and eosin (HE) staining. The histological appearance was as follows: (A) KRN5500 at 3 mg/kg ($\times 100$), extensive and widespread intra-alveolar hemorrhage was found. (B) KRN5500 1 mg/kg ($\times 100$), focal hemorrhage was observed. (C) KRN/m 3 mg/kg ($\times 100$), little hemorrhage was seen. (D) Saline as a control ($\times 100$). Electron microscopy showed morphologic alveolar type II cell changes after i.v. administration of KRN5500 at 3 mg/kg or saline as a control. (E) Control, alveolar type II cells contained more lamellar structure (thin arrow). (F) KRN5500 at 3 mg/kg, alveolar type II cells showed much vacuolar degeneration (thin arrow) and several disruptions of the alveolar type II cell membrane with release of lamellar debris (thick arrow).

Very recently, we have successfully developed KRN/m and reported that KRN/m has several advantages compared with KRN5500.⁷⁾ For example, the vascular damage at the injection site and liver focal necrosis in mice observed following KRN5500 i.v. injection were not seen when KRN/m was administered i.v., and KRN/m retained the potent antitumor activity of KRN5500. The previous findings indicated that the organic solvents and chemicals used to solubilize KRN5500 were implicated in these adverse effects, although the precise mechanism of the vascular damage is not clear at the moment.

The present comparative study of pulmonary toxicity of KRN5500 and KRN/m using the BLM-rat model revealed that KRN5500 induced pulmonary hemorrhage, but KRN/m did not. The KRN5500 dose used in this experiment was comparable with the maximum level of the Japanese phase I trial. The pulmonary fibrotic damage in humans with chronic lung disease seems to be pathologically very similar to BLM-induced lung injury in rats. Therefore, we would suggest that the lethal lung toxicity that occurred in patients with insufficient lung function could have been caused by KRN5500 and its organic solvents or chemicals, and that extreme caution must be taken in the administration of KRN5500 in patients with abnormal lung function in the clinical trials of KRN5500.

In the BLM-induced lung injury rat model, two of three rats died immediately after 3 mg/kg i.v. injection of KRN5500, but not KRN/m. This occurred when 3 mg/kg KRN5500 was injected 7 days after BLM instillation. No

rat died when 3 mg/kg KRN5500 was administered i.v. one day after BLM instillation (data not shown). Namely death had occurred at the time when fibrosis was established in the rat lung, suggesting that acute bleeding in the rat lung was a cause. It is not clear whether KRN5500 itself, or one of the organic solvents and chemicals used to dissolve the drug, was responsible. Further studies are in progress.

Analysis of relative body weight change in the mice treated with KRN5500 or KRN/m indicated that the toxic effect of KRN5500 may be overcome by incorporating KRN5500 into polymeric micelles.

In conclusion, the present study demonstrates that KRN/m is superior to KRN5500 because the toxicity was reduced and the potent antitumor activity of KRN5500 was retained after the incorporation of KRN5500 into micelles. We think that these results justify a clinical phase I trial of KRN/m.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mrs. H. Koike for her expert technical assistance and Miss H. Orita and Miss M. Okano for their secretarial assistance. This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Cancer Research from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

(Received June 12, 2002/Revised August 12, 2002/Accepted August 16, 2002)

REFERENCES

- 1) Kamishouhara, M., Kawai, H., Odagawa, A., Isoe, T., Mochizuki, J., Uchida, T., Hayakawa, Y., Seto, H., Tsuruo, T. and Otake, N. Antitumor activity of SPM VIII, derivative of the nucleoside antibiotic spicamycin, against human tumor xenografts. *J. Antibiot. (Tokyo)*, **47**, 1305–1311 (1994).
- 2) Kamishouhara, M., Kawai, H., Sakai, T., Isoe, H., Hasegawa, K., Mochizuki, J., Uchida, T., Kataoka, S., Yamaki, H., Tsuruo, T. and Otake, N. Antitumor activity of a spicamycin derivative, KRN5500, and its activity metabolite in tumor cells. *Oncol. Res.*, **6**, 383–390 (1994).
- 3) Sakai, T., Kawai, H., Kamishouhara, M., Odagawa, A., Suzuki, A., Uchida, T., Kawasaki, T., Tsuruo, T. and Otake, N. Structure-antitumor activity relationship of semi-synthetic spicamycin derivatives. *J. Antibiot. (Tokyo)*, **48**, 1467–1480 (1995).
- 4) Matsumura, Y., Kamiya, Y., Yamamoto, N., Ono, H., Shirao, K., Kondo, H., Tamura, T. and Shimada, Y. A phase I study of KRN5500 in patients with refractory solid tumors (stomach, colon, lung). *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **18**, 219 (abstr. 841) (1999).
- 5) Eder, J. P., Supko, J. G., Ryan, K., Roper, N., Kinchla, D. P. and Kufe, D. W. A. Phase I trial of the spicamycin analogue KRN5500. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **40**, 91 (abstr. 604) (1999).
- 6) Yokoyama, M., Satoh, A., Sakurai, Y., Okano, T., Matsumura, Y., Kakizoe, T. and Kataoka, K. Incorporation of water-insoluble anticancer drug into polymeric micelles and control of their particle size. *J. Controlled Release*, **55**, 219–229 (1998).
- 7) Matsumura, Y., Yokoyama, M., Kataoka, K., Okano, T., Sakurai, Y., Kawaguchi, T. and Kakizoe, T. Reduction of the side effects of an antitumor agent, KRN5500, by incorporation of the drug into polymeric micelles. *Jpn. J. Cancer Res.*, **90**, 122–128 (1999).
- 8) Thrall, R. S., McCormick, J. R., Jack, R. M., McReynolds, R. A. and Ward, P. A. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat: inhibition by indomethacin. *Am. J. Pathol.*, **95**, 117–130 (1979).
- 9) Adamsom, I. Y. R. and Bowden, D. H. The pathogenesis of bleomycin-inducing pulmonary fibrosis in mice. *Am. J. Pathol.*, **77**, 185–198 (1974).
- 10) Bader, H., Ringsdorf, H. and Schmidt, B. Water-soluble polymers in medicine. *Angew. Makromol. Chem.*, **123/124**, 457–485 (1984).
- 11) Yokoyama, M., Miyauchi, M., Yamada, N., Okano, T.,

- Sakurai, Y., Kataoka, K. and Inoue, S. Characterization and anticancer activity of micelle-forming polymeric antitumor drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res.*, **50**, 1693–1700 (1990).
- 12) Yokoyama, M., Okano, T., Sakurai, Y., Ekimoto, H., Shibasaki, C. and Kataoka, K. Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric antitumor drug and its extremely long circulation in blood. *Cancer Res.*, **51**, 3229–3236 (1991).
- 13) Yokoyama, M., Okano, T., Sakurai, Y., Suwa, S. and Kataoka, K. Introduction of cisplatin into micelle. *J. Controlled Release*, **39**, 351–356 (1996).
- 14) Nishiyama, N., Yokoyama, M., Aoyagi, T., Okano, T., Sakurai, Y. and Kataoka, K. Preparation and characterization of self-assembled polymer-metal complex micelle from *cis*-dichlorodiammineplatinum (II) and poly(ethylene glycol)-poly(α,β -aspartic acid) block copolymer in an aqueous medium. *Langmuir*, **15**, 377–383 (1999).
- 15) Burger, A. M., Kaur, G., Hollingshead, M., Fischer, R. T., Nagashima, K., Malspeis, L., Duncan, K. L. K. and Sausville, E. A. Antiproliferative activity *in vitro* and *in vivo* of the spicamycin analogue KRN5500 with altered glycoprotein expression *in vitro*. *Clin. Cancer Res.*, **3**, 455–463 (1997).
- 16) Lee, Y. S., Nishio, K., Ogasawana, H., Funayama, Y., Ohira, T. and Saijo, N. *In vitro* cytotoxicity of a novel antitumor antibiotic, spicamycin derivative, in human lung cancer cell lines. *Cancer Res.*, **55**, 1075–1079 (1995).
- 17) Takara, K., Tanigawara, Y., Komada, F., Nishiguchi, K., Sakaeda, T. and Okamura, K. The novel anticancer drug KRN5500 interacts with, but is hardly transported by, human P-glycoprotein. *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**, 248–254 (2000).

4. 前立腺癌に対する重粒子線治療

赤倉功一郎 赤座 英之 秋 元 晋 五十嵐辰男 井坂 茂夫 伊藤 晴夫
垣添 忠生 兼平 千裕 河合 恒雄 香村 衡一 直居 豊 嶋 亮
原田 昌興 藤 目 真 丸岡 正幸 柳下 次雄 森田 新六 辻 比呂志
辻井 博彦 島 崎 淳

放射線医学総合研究所, 重粒子線がん治療臨床研究班, 泌尿器腫瘍臨床研究班

東京厚生年金病院泌尿器科*

要旨: 重イオン線(狭義の重粒子線)治療は, 高精度の線量分布と高い照射効果という二つの特徴を併せ持っている。未治療前立腺癌を対象として, 重イオン線治療の第I/II相臨床試験を行った。T1b/T1c/T2aNOM0に対する重イオン線単独療法20例, T2b/T3pNOM0に対する内分泌療法先行重イオン線療法8例, T2b/T3N0/pN1M0に対する重イオン線・内分泌併用療法68例, 総計96例が重イオン線治療を受けた。総線量を54GyEから72GyEまで漸増した。高線量照射例において有害事象が認められたため, その後は総線量を66GyEに減少し, また照射途中で照射野を縮小した。それ以降重篤な有害事象の発現は減少した。最終観察日(観察期間中央値:31.5ヵ月)における転帰は, 生存92例, 他因死2例, 癌死2例であった。PSA再発は8例で認められた。局所再発は54GyE照射例の1例のみであった。前立腺癌の局所制御に至適な炭素イオン線照射線量は66GyE/20回/5週であることが示された。以上により, 重イオン線治療の照射技術や至適線量が確立された。

key words 前立腺癌, 重粒子線治療, 内分泌療法

はじめに

前立腺癌に対する放射線療法として, 欧米では古くからリニアックを用いた外部照射が広く行われ比較的良好的な治療成績が報告されてきた^{1, 2)}。しかし, この治療法には限界もあり, 成績向上や合併症の軽

減のためにさまざまな工夫が試みられている。重イオン線治療は, 物理学的特性に基づく高精度の線量分布と放射線生物学的特性による高い照射効果という二つの特徴を併せ持っている³⁻⁵⁾。千葉市稲毛区の放射線医学総合研究所に重イオン線治療の臨床試験を目的とした複合加速器HIMAC (Heavy Ion Medical Accelerator in Chiba) が建設され, 1994年6月に炭素イオン線による治療が開始された^{6, 7)}。前立腺癌に関しては, 1995年よりプロトコールに基づいた臨床試行が始まった。

I. 対象と方法

1. プロトコール (1) (9402)

局所進展未治療前立腺癌を対象として, ネオアジュバントおよびアジュバント内分泌療法を併用した重イオン線(炭素イオン線)治療の臨床試行を行った。この研究は, 正常組織の有害反応の検討による安全性の確認および抗腫瘍効果の評価を目的とする

Heavy particle therapy for prostate cancer

Koichiro Akakura, Hideyuki Akaza, Susumu Akimoto, Tatsuo Igarashi, Shigeo Isaka, Haruo Ito, Tadao Kakizoe, Chihiro Kanehira, Tsuneo Kawai, Koichi Kamura, Yutaka Naoi, Makoto Hata, Masaoki Harada, Makoto Fujime, Masayuki Maruoka, Tsuguo Yagishita, Shinroku Morita, Hiroshi Tsuji, Hirohiko Tsujii and Jun Shimazaki

Working Group for Genitourinary Tumors, National Institute of Radiological Science

key words : prostate cancer, heavy particle therapy, endocrine therapy

* 新宿区津久戸町5-1 (03-3269-8111) 〒162-8543

第 I / II 相臨床試験であった。T2b/T3N0/pN0/pN1M0前立腺癌患者を対象とした。2~4ヵ月の内分泌療法後に前立腺および精嚢に局限して5週間20回分割の炭素イオン線照射を行った。総線量は54GyEから72GyEまで漸増した。高線量照射例において有害事象が認められたため、その後は総線量を66GyEに減少し、また照射途中で照射野を縮小した。重イオン線治療終了後もアジュバント内分泌療法を継続した。

2. プロトコール (2) (9703) *

先の臨床試行(プロトコール9402)により前立腺癌に対する重イオン線治療の方法や耐容線量がほぼ確立したため、適応を拡げて早期癌も加えた第 I / II 相臨床試験を1998年1月より開始した。T1b/T1c/T2aN0M0例に対しては重イオン線単独治療を行い、総線量を60から66GyEまで増加した。T2b/T3N0/pN1M0例に対しては総線量を66GyEに固定し、前のプロトコールと同様にネオアジュバントおよびアジュバント内分泌療法を併用した。ただし、局所進展癌で骨盤リンパ節郭清により病理学的に微小転移のないことを確認したT2b/T3pN0M0例では、QOL重視の観点から内分泌療法はネオアジュバントのみとしてアジュバント内分泌療法を行わないことを可能にした。

生化学的再発は血清前立腺特異抗原(PSA)の3連続上昇と定義した⁹⁾。放射線治療の早期および晩期有害事象を重症度によって評価した⁹⁾。

II. 結果

プロトコール (1) (9402) においては1995年6月から1997年12月の期間に35例が登録され、内分泌療法併用重イオン線治療をうけた。プロトコール (2) (9703) においては、1998年1月より2000年2月に62例が登録され、登録後に患者が治療を拒否した1例を除く61例が重イオン線治療をうけた。総計96例が

重イオン線治療を施行され、そのうちわけは重イオン線単独療法20例、内分泌療法先行重イオン線療法8例、重イオン線・内分泌併用療法68例であった。患者年齢は51~87歳、平均69歳であった。病期は、T1b:3例、T1c:6例、T2a:11例、T2b:38例、T3:38例で、N0(画像による):71例、pN0:23例、pN1:2例であった。Gleason scoreは、5-6:26例、7:25例、8-10:24例であった。治療前PSA値は、1.1~81.0 ng/ml、中央値19.9 ng/mlであった。

観察期間は2~69ヵ月、中央値31.5ヵ月であった。最終観察日における転帰は、生存92例、他因死2例、癌死2例であった。PSA再発は8例(3~32ヵ月)で認められた。局所再発は54GyE照射例の1例(38ヵ月)のみであった。

Grade 3以上の重篤な早期有害事象をみた例はなかった。プロトコール (1) (9402) において、直腸、膀胱尿道あるいはその両方のGrade 3晩期有害事象を66GyE照射例で1例、72GyE照射例で5例認めた。このような有害事象が明らかになった後は、総線量を66GyEに設定した直腸前壁への線量を軽減するために照射途中で照射野を縮小することとした。それ以降重篤な有害事象の発現は減少した。糖尿病合併患者において有害事象の頻度が高かったため、プロトコール (2) (9703) においては重症糖尿病患者では線量を5%減量した(表1)。

III. 考察

前立腺癌に対する放射線療法の有効性を高めるためには前立腺に高線量を照射することが求められる。周囲臓器への照射線量を抑えて前立腺へ高線量を照射するために、3次元原体照射¹⁰⁾、intensity modulated radiation therapy (IMRT)¹¹⁾、brachytherapy¹²⁾などが試みられている。(広義の)重粒子線治療は物理学および生物学的特性に基づいた優れた治療効果が期待されている(表2)。速中性子線は高い

表1 晩期有害反応

RTOG/EORTC 線量 (GyE)	grade (消化管)					grade (膀胱尿道)				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
54	3					2	1			
60	14					12	2			
66	3		3	1		3	2	1	1	
72		5	3	3		2	3	1	5	
72縮小	1	2				1	2			
66縮小	52	5				36	18	3		
計	73	12	6	4*		56	28	5	6*	

*: 4例は直腸と膀胱尿道の有害反応を合併, 6例中5例で糖尿病を合併

表2 医療用放射線

標準放射線	光子線	X線 γ線
	電子線	
重粒子線	非荷電粒子線	熱中性子線 速中性子線 陽子線 π中間子線 重イオン線 (He, C, Neなど)
	荷電粒子線	

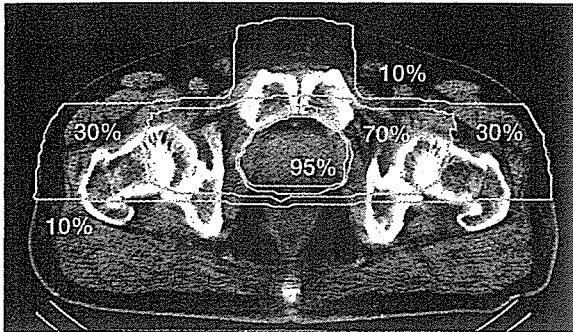


図1 炭素イオン線治療例における線量分布

relative biological effectiveness (RBE)による高い抗腫瘍効果が得られる^{13, 14)}。陽子線は体内にBragg peakを形成し線量分布を改善することが可能である^{15, 16)}。重イオン線(狭義の重粒子線)は高いRBEと良好な線量分布(図1)の両者を達成できるため、放射線感受性の比較的低い腺癌に対しても治療効果が期待される³⁻⁵⁾。重イオン線の照射線量はリニアックとの単純な比較が困難であり、リニアックで通常用いられるGy単位ではなくGyEとしてあらわされる¹⁷⁾。今回の研究により、前立腺癌の局所制御に至適な炭素イオン線照射線量は66GyE/20回/5週であることが示された。また、この照射方法により優れた局所制御効果を得ることが可能であった。

局所進展癌においては微小リンパ節転移の確率が高く、病理学的にリンパ節の病期診断を行えば治療成績は向上する¹⁸⁾。しかし、それでも局所進展癌に対する放射線単独療法の成績は不満足なものであり¹⁹⁾、近年放射線外部照射と内分泌療法の併用治療の有効性が報告されている²⁰⁻²²⁾。今回の研究においても、T2b-T3患者に対して内分泌療法を併用した重イオン線治療を施行して、良好な成績を得ることができた。

このように重イオン線治療の照射技術や至適線量が確立されたため、現在はプロトコル(3)(9904)に基づいた第II相臨床試験が継続中である。T因子、Gleason score, PSA値によって低または高危険群に層別化して、おのおの重イオン線単独または重イオン線内分泌併用療法を行っている。

重イオン線治療には大型の加速器が必要であり、高額の建設費用の点からみて一般にひろく普及することは考えにくい。したがって、重イオン線治療の適応を明らかにして遠隔地からも適応症例を集めて運用することが必要と考えられる。今後の臨床研究によって照射技術の向上とともに適応を確立して、施設の効率的な利用が進むことが期待される。

文 献

- 1) Bagshaw, MA., Cox, RS., Hancock, SL.: Control of prostate cancer with radiotherapy: long-term results. *J Urol*, **152**, 1781-1785, 1994.
- 2) Perez, CA., Michalski, J.: Outcome of external-beam radiation therapy for localized carcinoma of the prostate (stages T1b, T2, and T3). In: Greco C, Zelefsky MJ, eds. *Radiotherapy of Prostate Cancer*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 155-184, 2000.
- 3) Leith, JT.: Heavy-ion radiotherapy: Normal tissue studies. *Adv Rad Biol*, **10**, 191-236, 1983.
- 4) Blakely, EA., Ngo, FQH., Curtis, SB., et al.: Cellular studies. *Adv Rad Biol*, **11**, 295-389, 1984.
- 5) Linstadt, DE., Castro, JR., Phillips, TL.: Neon ion radiotherapy: results of the phase I/II clinical trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **20**, 761-769, 1991.
- 6) Tsujii, H., Morita, S., Miyamoto, T., et al.: Preliminary results of phase I/II carbon-ion therapy at the National Institute of Radiological Sciences. *J Brachytherapy Int*, **13**, 1-8, 1997.
- 7) Tsujii, H., Morita, S., Miyamoto, T., et al.: The current status and perspective of heavy-ion therapy. In: Kogelnik HD, Sedlmayer F, eds. *Progress in Radio-Oncology VI*. Bologna: Monduzzi Editore, 709-721, 1998.
- 8) American Society for Therapeutic Radiology and Oncology Consensus Panel. Consensus statement: guidelines for PSA following radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **37**, 1035-1041, 1997.
- 9) Cox, JD., Stetz, BS., Pajak, TF.: Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **31**, 1341-1346, 1995.
- 10) Zelefsky, MJ., Leibel, SA., Gaudin, PB., et al.: Dose escalation with three-dimensional conformal radiation therapy affects the outcome in prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **41**, 491-500, 1998.
- 11) Reinstein, LE., Wang, XH., Burman, CM., et al.: A feasibility study of automated inverse treatment planning for cancer of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **40**, 207-214, 1998.

- 2) Prestidge, BR., Prete, JJ., Buchholz, TA., et al.: A survey of current clinical practice of permanent prostate brachytherapy in the United States. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **40**, 461-465, 1998.
- 3) Laramore, GE., Krall, JM., Thomas, FJ., et al.: Fast neutron radiotherapy for locally advanced prostate cancer: final report of a Radiation Therapy Oncology Group randomized clinical trial. *Am J Clin Oncol*, **16**, 164-167, 1993.
- 4) Tsunemoto, H., Morita, S., Satoh, S., et al.: Present status of fast neutron therapy in Asian country. *Strahlentherap Onkol*, **165**, 330-336, 1989.
- 5) Shipley, WU., Verhey, LJ., Munzenrider, JE., et al.: Advanced prostate cancer: the results of a randomized comparative trial of high dose irradiation boosting with conformal protons compared with conventional dose irradiation using photons alone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **32**, 3-12, 1995.
- 6) Yonemoto, LT., Slater, JD., Rossi, CJJr., et al.: Combined proton and photon conformal radiation therapy for locally advanced carcinoma of the prostate: preliminary results of a phase I/II study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **37**, 21-29, 1997.
- 7) Kanai, T., Endo, M., Minohara, S., et al.: Biophysical characteristics of HIMAC clinical irradiation system for heavy-ion radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **44**, 201-210, 1999.
- 18) Akakura, K., Akimoto, S., Ohki, T., et al.: Radiation therapy for prostate cancer confined to pelvis. *Int J Urol*, **1**, 268-272, 1994.
- 19) Akakura, K., Furuya, Y., Suzuki, H., et al.: External beam radiation monotherapy for prostate cancer. *Int J Urol*, **6**, 408-413, 1999.
- 20) Bolla, M., Gonzalez, D., Warde, P., et al.: Improved survival in patients with locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy and goserelin. *N Engl J Med*, **337**, 295-300, 1997.
- 21) Pilepich, MV., Sause, WT., Shipley, WU., et al.: Androgen deprivation with radiation therapy compared with radiation therapy alone for locally advanced prostatic carcinoma: a randomized comparative trial of the Radiation Therapy Oncology Group. *Urology*, **45**, 616-623, 1995.
- 22) Roach, MIII., Lu, J., Pilepich, MV., et al.: Predicting long-term survival, and the need for hormonal therapy: a meta-analysis of RTOG prostate cancer trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, **47**, 617-627, 2000.

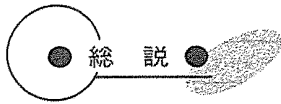
別刷

癌と化学療法

VOL.29(2002)

癌と化学療法社

Printed in Japan © 禁無断転載・複写複製



がん予防

垣添 忠生*

[*Jpn J Cancer Chemother* 29(11):1877-1882, November, 2002]

要旨 わが国では、がん罹患率、死亡率とも増加を続けている。がんの一次予防、二次予防にバランスよい戦略的取り組みが必要である。一次予防として、喫煙対策、食生活について、二次予防として、新しい検診の在り方、それを具体化するためのがん予防・検診研究センターの重要性を述べた。

Prevention of Cancer: Tadao Kakizoe (National Cancer Center)

Summary

Both the cancer incident rate and mortality rate are increasing in Japan. Well-balanced and strategic measures effectively combining primary and secondary preventions are required. In this article, primary prevention measures, such as smoking control and improvement of dietary habits, and secondary prevention measures, such as new methods of cancer screening are discussed. The importance of establishing a Center for Cancer Prevention and Screening is also discussed. **Key words:** Primary prevention, Secondary prevention, Early detection, Address request for reprints to: Dr. Tadao Kakizoe, National Cancer Center, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan

はじめに

がんは本来、予防可能な疾患である。それは、移民におけるがん罹患率の研究や、双子にみられるがん罹患率の研究から、遺伝的要因よりも環境要因、とりわけ個人の生活習慣ががんの発生により強く関与していることが明らかにされてきたことによる¹⁾。このことはがん対策上、あるいはがん予防を進める上で、がんにならない、すなわちがんの一次予防の重要性を明確に示している。

がんになっても死なない、いわゆるがんの二次予防はもう一つの重要ながん予防策である。がん予防は一次予防と二次予防がバランスよく進められて、初めて大きな成果が得られるものと考えられる。

以下、がんの一次、二次予防を中心に、がん予防について述べることとする。

I. がんの一次予防

1981年、Dollらは²⁾それまでの科学的知見を基にアメリカにおける各がんリスク要因の寄与の割合を推計した。それによると、たばこが31% (25~40%)、食事が35% (10~70%)、感染が10% (1~15%)、飲酒が3% (2~4%) などとなっている。1996年にHarvard Center for Cancer Preventionが再集計したもの³⁾でも、Dollらの推計と大きくは異ならず、たばこ30%、成人期の食事/肥満30%、運動不足5%、飲酒3%とされ、個人の生活習慣に関連する要因だけで70%を占める。

わが国では、各がんリスク要因の寄与割合を示

表 1 がん予防におけるリスク要因, 予防要因の相関図⁵⁾

がん	リスク↓					リスク↑					
	野菜	カロテノイド	果物	ビタミンC	身体活動	食塩	肉	卵	肥満	アルコール	喫煙
口腔・咽頭	-3	-3		-1						+3	+3
喉頭	-2	-2								+3	+3
食道	-3	-3	-1	-1						+3	+3
肺	-3	-3	-2	-1						+1	+3
胃	-3	-3	-1	-2		+2					
膵	-2	-2		-1							+3
結腸・直腸	-3		-1		-3	+2	+1			+2	+1
乳房	-2	-2	-1			+1		+2		+2	
子宮頸部	-1	-1	-1	-1							+3
前立腺	-1					+1					
膀胱	-2	-2									+3

すデータは必ずしも十分ではないが, Tominaga の推測によれば, 全がん罹患数を禁煙率を半減することにより 8.8%, 食生活を改善することにより 10.3%, 感染症を予防根絶することにより 7.0% 予防できるとしている⁴⁾。

こうした食品, 栄養素, 喫煙も含めたがん予防の関係をまとめたものが表 1 である。これは世界中の 4,500 にも及ぶ研究成果を一つの表にまとめたもので, 具体的でわかりやすい。表では「確定的である」, 「ほぼ確実である」, 「可能性あり」, を正に働くものを +3, +2, +1 と, 負に働くものを -3, -2, -1 で整理した⁵⁾。

禁煙をすると発がんリスクはどのように変わっていくかについては, 肺がんを中心にいくつかの報告があり, 1990 年に出版された米国の Surgeon General の報告のなかで総括がなされている⁶⁾。それによると, ① 肺がんは, 禁煙することにより喫煙継続者に比べてリスクが減少する, ② 禁煙後 10 年で, 喫煙継続者のリスクに比して 30~50% のレベルにまで減少する, ③ 禁煙をさらに続けるとリスクは減少し続ける, とまとめられている。

喫煙の本質はニコチン依存症であるため, 喫煙者にとって禁煙は容易なことではない。したがって, 禁煙をサポートするため, 行動科学に基づい

て開発された禁煙指導プログラム・教材やニコチン代替療法を用いると, 禁煙成功率が高まるといわれている^{7,8)}。

がんと食事の関連のなかで, 最も影響が大きいと判断されるのが予防要因としての野菜・果物の摂取である。文献 6) にあげた 1997 年の世界がん研究基金とアメリカがん研究財団とによる「食物, 栄養とがん予防: 世界的見地から」(以下 W&A 報告) によると, がん発生臓器の 18 部位中 10 部位で, 「確実」あるいは「ほぼ確実」な予防要因と評価されている。この報告は, 委員がレビューした 37 のコホート研究, 196 の症例対象研究, 14 の地域相関研究のうち, 80% の研究で統計学的に有意な予防効果が観察された事実によっている。野菜や果物のがん予防上の意義は, 含まれているビタミン, ミネラル, 食物繊維, 微量栄養素と関連すると考えられている。このうち, 抗酸化作用を有するビタミン C, ビタミン E, カロテノイド, セレニウムなどに加えて, 葉酸, イソチオシアネート, インドール類, アリル化合物, クマリン, フラボノイドなどにがん予防作用があると考えられている。

アルコールは, 口腔・咽頭, 喉頭, 食道, 肝臓で確実, 大腸, 乳房でほぼ確実なリスク要因と考

表2 健康日本21におけるがん予防対策にかかわる基準値と目標値(健康日本21, 2000)¹⁴⁾

○喫煙対策の充実

- ・喫煙が及ぼす健康影響についての知識の普及
(基準値: 喫煙で以下の疾患にかかりやすくなると思う人の割合 肺がん 84.5%, ぜんそく 59.9%, 気管支炎 65.5%, 心臓病 40.5%, 脳卒中 35.1%, 胃潰瘍 34.1%, 妊娠への影響 79.6%, 歯周病 27.3% → 目標値 100%)
- ・未成年の喫煙をなくす
(基準値: 中学1年男子 7.5%, 女子 3.8%, 高校3年男子 36.9%, 女子 15.6% → 目標値 0%)
- ・公共の場や職場での分煙の徹底および効果の高い分煙についての知識の普及
(基準値: 平成12年度に調査 → 目標値 100%)
- ・禁煙, 節煙を希望する者に対する禁煙支援プログラムをすべての市町村で受けられるようにする
(基準値: 平成12年度に調査 → 目標値 100%)

○食生活の改善

- ・成人の1日当たりの平均食塩摂取量の減少(基準値: 13.5g → 目標値: 10g未満)
- ・成人の1日当たりの野菜の平均摂取量の増加(基準値: 292g → 目標値: 350g以上)
- ・1日の食事において, 果物類を摂取している者の増加(基準値: 29.3% → 目標値 60%以上)
- ・20~40歳代の1日当たりの脂肪エネルギー比率を減少
(基準値 27.1% → 目標値 25%以下)

○飲酒対策の充実

- ・1日に平均純アルコールで約60gを超え多量に飲酒する人の減少
(目標値: 2割以上の減少)
- ・未成年の飲酒をなくす
- ・「節度ある適度な飲酒」としては, 1日平均純アルコールで約20g程度である旨の知識を普及する

えられている。エタノールは発がん物質の粘膜透過性を高める作用があり, またその代謝物であるアセトアルデヒドがDNA障害性を有することも関連するのであろう。

塩は, W&A 報告書では上咽頭がんに対して確実, 胃がんに対してほぼ確実なリスク要因と評価されている。食塩にはそれ自体には発がん性はないものの, 胃壁の粘膜層を破壊し, 炎症を引き起こすことにより, 用量相関性をもったプロモーター作用があるとする多数の動物実験データがある。これに *Helicobacter pylori* 感染が加わると相加的な発がん促進作用があるとされ, 日本人の生活習慣と胃がんの関連を考える上で重要である⁹⁾。

脂肪・肉類は W&A 報告書では, 総脂肪, 飽和動物脂肪あるいはコレステロールの摂取は, 確実あるいはほぼ確実なリスク要因とはされていない。一方, 肉の摂取は大腸がんに対してほぼ確実

なりリスク要因とされている。

焼肉・焼魚は W&A 報告書のなかでは調理法としてまとめられている。高温で蛋白質を調理する過程で生成されるヘテロサイクリックアミンは日本人の胃がん, 大腸がんのリスク要因となる可能性が想定されている。

食物繊維は, 大腸がん, 膵がん, 乳がんに対して予防要因の可能性ありとされてきたが, 最近の介入試験の結果では, 大腸ポリープの再発を抑制しないと報告されている^{10,11)}。

緑茶のがん予防効果が報告されてきたが, 最近のコホート研究では胃がん発生について否定的な報告がなされている¹²⁾。

運動不足や肥満についても W&A 報告書にある。運動は大腸がんの確実な予防要因とされ, 肥満は子宮体がん, 乳がん, 腎がんに対して確実〜ほぼ確実なリスク要因とされている。これら喫煙と食事のがん予防とのかかわりについては祖父江¹³⁾

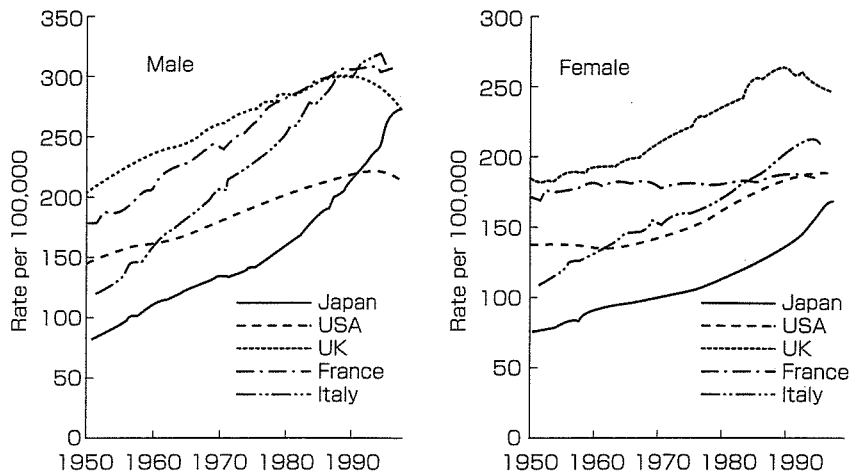


図1 主要各国におけるがん死亡率の年次推移 (租率) WHO Mortality Database

のよいレビューがある。

21世紀における国民健康づくり運動、いわゆる「健康日本21」のがん分科会も、生活習慣の改善によるがん予防の重要性を指摘し、喫煙対策、食生活の改善、飲酒対策が数値目標とともにあげられている(表2)¹⁴⁾。

II. がんの二次予防

がんの早期発見、早期治療によって、がんになっても死なない、という二次予防が一次予防と同等に大切である。がんは早期には無症状なので、その時期に介入して発見し、治してしまおうとする戦略である。わが国はこれに国をあげて取り組み、現在、胃がん、子宮がん、肺がん、乳がん、大腸がんの五つのがんについて実施されている。胃がんは胃部 X 線検査によって、子宮頸がんは子宮頸部の細胞診により、肺がんは胸部 X 線検査と喀痰細胞診により、乳がんは視診と触診により、大腸がんは便潜血反応によっている。がんの発見率はおおよそ受診者の 0.1%、検診受診者は対象人口の約 10~15%とされている。

がん検診にも不利益がある。まず、検診の際に使用する放射線被曝があるが、これは利益の大きさに比して不利益は微々たるものと考えられている。見逃し、過剰診断・治療の問題があるし、検診に伴う種々の偶発症や合併症がある。がん検診

は万能ではないが、現行で直ちに役に立つ具体的な方法といえる。現在、日本中で1年間に約44万人の人々ががんになっている。そのうち、おおよそ半数の人が治り、半数が亡くなっている。亡くなる人の約半数は、もし発見がもう少し早かったら救命できたのではないかと、つまり進行がんで発見された人たちで、ここに検診が関与する意味がある。亡くなった残りの半数がいわゆる難治がん、たとえば膀胱がん、スキルス胃がん、肺がんといったがんが原因と考えられる。これら難治がん対策は発見と治療の両面において基礎研究者との協力、企業との共同研究などが強く求められている。こうして、複数年にまたがって治療を受ける人もいるため、年間に約30万人の人々ががんで亡くなるという事態が生じている。

がんが一般に高齢者の疾患で、わが国は急速に高齢社会に移行しつつあり、高齢者の母数が大きくなるためがんになる人も増加する、という事態がまだ続くと思われている。ところが、図1に示したように米国を筆頭として、先進国では1990年代半ばころより、がん死亡率が平坦となり低下を始めている。わが国が突出して増加傾向をたどっていることとの違いは、がん一次予防の取り組み、特に喫煙対策と二次予防、すなわち有効と証明されたがん検診法に対する積極的取り組みである。米国では、乳がん検診にマンモグラフィを

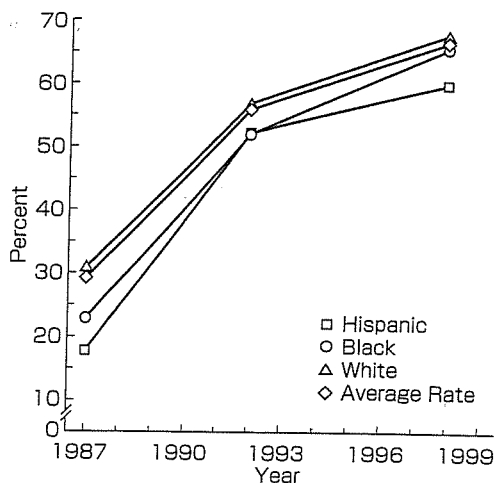


図2 米国における40歳以上の女性で過去2年間にマンモグラフィを受けた人の割合 (Cancer Progress Report 2001 <http://progressreport.cancer.gov/>)

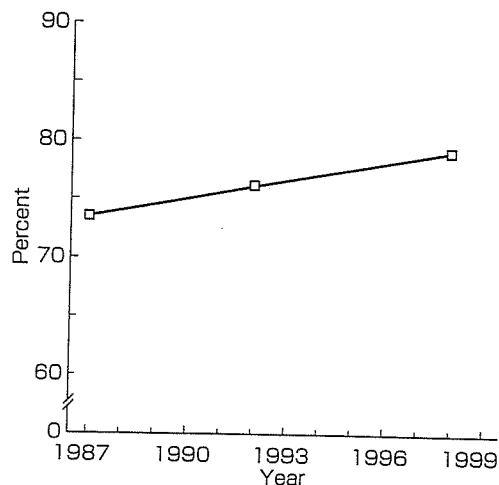


図3 米国における18歳以上の女性で過去3年間に子宮頸部細胞診を受けた人の割合 (Cancer Progress Report, 2001 <http://progressreport.cancer.gov/>)

導入し、40歳以上で過去2年間にそれを受診した人が実に65%に達している(図2)。子宮頸がんの細胞診を過去3年以内に受けた人は、図3に示したとおり実に80%に近い。便潜血反応検査を50歳以上で過去2年以内に受けた人は35%に近い。わが国が検診大国と思っているうちに、米国では有効と証明された方法に極めて積極的に対応している。この一次・二次予防の努力の総和として、米国でのがん死亡率の低下という成果として現れているのだと思われる。

III. がん予防・検診研究センターの重要性

上に述べたがんの一次・二次予防から、わが国が取り組むべきがん戦略上の重要な問題が読み取れる。

一つは、わが国のがんの実態の正確な把握で、これがすべての出発点である。国のがん予防の拠点にこの情報が集約されるシステムを作る必要がある。この情報が行政や医療従事者、国民に自由に使われることがすべての出発点となる。次に、がんの一次予防について、許可を得て生活習慣情報とゲノム情報を得た集団、あるいはハイリスクの人たちを対象とした化学予防の取り組み、行動科学的研究が想定される。二次予防については、

5,000~6,000人規模の集団を対象として、最新の手法を使ったがん検診の研究的実施が必要である。食道・胃がんは内視鏡で、肝胆膵は腹部エコーで、肺がんはヘリカルCTで、乳がんはマンモグラフィと乳房超音波検査の組み合わせで、大腸は注腸または内視鏡で、子宮頸がんは細胞診で、体がん、卵巣がんはMRIで検診することを考えている。これら全コースを受診した人に、オプションとしてPETを組み込んで検診におけるPETの意味の評価も行う。これらの集団は前述したようにあらかじめ同意を得て生活習慣を分析し、ゲノム解析し、その後のフォローアップで発見されるがんとの関係を対比することにより、理想的ながん検診の研究を進める。また、検診技術をより苦痛が少なく、精度の高いものにするべく新しい技術開発が必要で、これは企業と共同研究を進めることになる。以上の業務を進めるには、がん検診実施部門、検診技術開発部門、がん情報部門、がん予防部門の4部門が必要である。すでに国立がんセンター内にこのような目的で、がん予防・検診研究センターを設ける必要があることを検討会の答申としていただいている。また、この答申に沿って、平成14年度補正予算にて建物整備の予算化が行われている。このセンターが首尾よく動