

# 10

## 膵・胆管合流異常における胆道発癌の予防

土田 明彦\* 長江 逸郎\* 齋藤 準\*  
池田 隆久\* 田辺 好英\* 高橋 総司\*  
青木 達哉\* 糸井 隆夫\*\*

Key words : 膵・胆管合流異常, 胆道癌, 予防的手術, 化学予防

### 要旨

膵・胆管合流異常は先天奇形である。膵液と胆汁が相互混入することにより、活性化膵酵素や二次胆汁酸などの癌原物質が産生される。これによって胆道粘膜は長期にわたって傷害され、過形成、化生、異形成などの上皮変化をもたらし、最終的に高率に癌化する。癌を合併しない合流異常の治療は、胆嚢摘出術と肝外胆管切除術による予防的手術が行われている。しかし、肝外胆管非拡張の症例の大部分は胆嚢に発癌するため、胆嚢摘出術のみを行う施設が約半数ある。合流異常における化学予防の可能性を検討するために、われわれは、ハムスター合流異常発癌モデルを用い、COX-2 選択的阻害剤とビタミン K<sub>2</sub> に発癌予防効果があることを確認した。

防的な胆嚢摘出術や肝外胆管切除術が行われている。一方、さまざまな化学物質によって、癌の発生や再発を予防する化学予防が注目されており、合流異常においても臨床応用の可能性が期待される。

### I. 合流異常の病態

この項のポイント

- 合流異常は先天異常であり、活性化膵酵素や二次胆汁酸などによって胆道粘膜が長期にわたって傷害され、さまざまな上皮の変化をもたらし、最終的に癌化する。
- 肝外胆管形態により拡張型と非拡張型に分けられるが、両者とも胆管よりも胆嚢に多く発癌する。

### はじめに

膵・胆管合流異常(以下、合流異常)は膵管と胆管が十二指腸壁外で合流する先天異常であり、わが国における胆道癌のハイリスクファクターの一つである。このため、癌を合併しなくても、合流異常と診断された時点で、通常は予

合流異常は、解剖学的に膵管と胆管が十二指腸壁外で合流する先天異常であり、十二指腸乳頭 Oddi 括約筋の作用が合流部に及ばず、胆汁と膵液が相互に混ざり合う。通常、膵管内圧のほうが胆道内圧よりも高いため、膵液と胆汁が胆管内で混入し、これに細菌感染、エンテロキナーゼなどの作用が加わって膵酵素が活性化される。これによって生成された活性化膵酵素や二次胆汁酸などは強い組織傷害作用をもち、長

\*東京医科大学外科学第三講座 \*\*同 内科学第四講座  
(〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1)

期にわたって胆道粘膜を傷害する。胆道粘膜は破壊と修復が繰り返され、細胞回転が亢進し、過形成、化生、異形成などのさまざまな上皮の変化をもたらす、最終的に癌化する。合流異常を合併しない通常の胆嚢癌の発生母地は、化生上皮や腺腫であるが、合流異常では過形成が主体であり、hyperplasia-dysplasia-carcinoma sequence によることで一定のコンセンサスが得られている。この癌化過程には、K-ras, p 53, microsattelite instability などの遺伝子異常が関与することがわかっているが、詳細なメカニズムは未だ明らかでない<sup>1)</sup>。

合流異常は肝外胆管の形態により、肝外胆管の拡張を伴うもの(拡張型)と伴わないもの(非拡張型)に分類される。拡張型は先天性胆道拡張症あるいは総胆管嚢腫とも呼ばれ、戸谷分類のI型、IV型がこれに該当する。拡張型は胆管内に胆汁のうっ滞をきたしやすく、腹痛、発熱、黄疸などの臨床症状を呈して幼小児期に発見されることが多い。一方、非拡張型は、胆汁うっ滞がほとんどないか軽度であるため、臨床症状を呈さずに、胆石症や胆嚢ポリープなどの精査の際に偶然発見されることが多い<sup>1)</sup>。

合流異常の胆道癌発生率はきわめて高く、一般の胆道癌に比べて数倍～30倍高い。日本膵管胆道合流異常研究会が行った過去10年間(1990年1月～1999年12月)の症例登録集計によると<sup>2)</sup>、全体では1,627例中278例(17.1%)、このうち拡張型1,239例中131例(10.6%)、非拡張型388例中147例(37.9%)に胆道癌を合併していた。部位別には、拡張型では胆嚢85例(64.9%)、胆管44例(33.6%)、不明2例(1.5%)であり、非拡張型では胆嚢137例(93.2%)、胆管10例(6.8%)であった。いずれの型でも胆嚢癌が多く、とくに非拡張型では大部分が胆嚢に発癌することが明らかとなった。

## II. 合流異常の外科治療

この項のポイント

- 癌を合併しない合流異常の外科治療は、発癌予防のための手術である。
- 予防的手術の基本は分流手術であるが、非拡張型では、大部分が胆嚢に発癌するため、胆嚢摘出術のみを行う施設が半数ある。

癌を合併しない合流異常の予防的手術は、膵液と胆汁が混ざらないようにする分流手術(胆嚢摘出術+肝外胆管切除術)が基本であるが、非拡張型では胆管癌の頻度が少ないため、胆嚢摘出術のみを行っている施設も多い。前述の日本膵管胆道合流異常研究会の症例登録集計では<sup>2)</sup>、癌を合併しない拡張型の手術術式は、胆嚢摘出術+肝外胆管切除術834例(77.8%)、胆嚢摘出術+嚢腫空腸吻合術238例(22.2%)であり、胆嚢摘出術のみは1例もなかった。このなかで、1997～1999年の3年間に限っては、胆嚢摘出術+肝外胆管切除術252例(96.6%)、胆嚢摘出術+嚢腫空腸吻合術9例(3.4%)で、ほとんどの症例で根治的手術が行われるようになってきた。一方、非拡張型の手術術式は、胆嚢摘出術のみ110例(55%)、胆嚢摘出術+肝外胆管切除術90例(45%)とほぼ半々に分かれ、肝外胆管を切除すべきかどうか未だコンセンサスが得られていない。

以上のように、拡張型では胆嚢摘出術+肝外胆管切除術が分流手術の標準術式として定着してきた。このなかで、戸谷IV-A型のように肝内胆管の拡張がある症例で、総肝管や肝内胆管の相対的狭窄を伴う場合には、これを温存すると、狭窄部より末梢の胆管に結石や胆管炎を伴うことがあるため、肝外胆管切除のみならず狭窄部を含めた肝切除を考慮する必要がある<sup>3)</sup>。

肝外胆管切除後の胆管・消化管吻合は、胆管・空腸吻合と胆管・十二指腸吻合が行われて

きた。胆管・十二指腸吻合は、吻合部狭窄や肝内結石を合併した際に、内視鏡的アプローチによって治療することが可能である等の利点があるが、本邦で術後の遺残胆管に癌が発生した症例の報告があつて以来、ほとんどの施設で行われなくなった。この理由として、胆管・空腸吻合に比べ、胆管・十二指腸吻合は、十二指腸液・膵液の影響(肝内胆管への逆流)が強いことが挙げられる。しかし、われわれが検索したかぎり、拡張型の胆管・消化管吻合の術後に、総肝管や肝内胆管に発癌した報告が20例(自験1例を含む)あり、その内訳は胆管・空腸吻合18例、胆管・十二指腸吻合2例であった。これらは、術前より存在した遺伝子異常の蓄積によるものか、あるいは、術後の吻合部狭窄、肝内結石、胆管炎などの影響によって発癌したのか明らかでない<sup>4)</sup>。

### Ⅲ. 合流異常の化学予防

この項のポイント

- 古くより、種々の化学物質を用いた癌の化学予防が検討されており、欧米では一部の大腸疾患で臨床応用されている。
- われわれは、ハムスター合流異常発癌モデルを用いてCOX-2選択的阻害薬やビタミンK<sub>2</sub>を用いた化学予防の可能性を検証した。

癌の化学予防物質には、DNAに変異を引き起こす化学物質が産生されるのを阻害するもの、およびDNAに変異が起こる段階を阻害する blocking agents と、DNAに変異が起こってしまった後、細胞が癌としての特性を獲得するに至るまでの過程において、いずれかの段階でその進行を阻害する suppressing agents があり、種類によっては、その両者の作用を有するものがある<sup>5)</sup>。大腸癌には家族性大腸腺腫症や遺伝性非ポリポーシス性大腸癌などのハイリスクグループが存在するため、欧米を中心に多

くの臨床試験が行われており、アスピリンやスリダクなどのNSAIDs、セレコキシブなどのCOX-2選択的阻害薬、ビタミンD、カルシウム、葉酸などの有効性が報告されている。また、わが国では、白血病、骨髄異形成症候群、肝癌などに対して、ビタミンK<sub>2</sub>が用いられ、細胞レベルのみならず臨床例においても、その有効性が確認されている。

#### 1. COX-2 選択的阻害薬

COX(cyclooxygenase)は、アラキドン酸から種々のプロスタグランدينを合成するアラキドン酸カスケードの律速酵素であり、恒常的に発現しているCOX-1、種々の増殖因子やサイトカインによって誘導されるCOX-2、脳で発現し、痛みに関係するCOX-3の三つのisozymeが同定されている。種々の癌組織では、正常組織よりCOX-2の発現が増強しており、主としてプロスタグランدينE<sub>2</sub>を介して、癌の増殖、浸潤、転移を促進するとともに、血管新生やアポトーシス抵抗性を獲得することが明らかになってきた<sup>6)</sup>。

#### 2. ビタミンK<sub>2</sub>

ビタミンKは、主として凝固系で必須な微量栄養素である。1980年代に、人工的に合成されたビタミンK<sub>3</sub>が細胞増殖阻害作用やアポトーシス誘導作用があることが報告されたが、細胞毒性のため臨床応用は断念された。最近になって、ビタミンK<sub>2</sub>(menaquinone-4; MK-4)にも同様の作用があることが確認され、有望な化学予防物質として注目されている。ビタミンK<sub>2</sub>の抗腫瘍効果に関しては、未だ不明な点が多いが、白血病細胞や骨髄異形成症候群の細胞では、MK-4によってBcl-2発現の低下、BAX発現の増強およびミトコンドリア膜電位の脱分極とcaspase-3の活性化が認められ、

caspase inhibitor によってアポトーシス誘導が有意に抑制されることが報告されている<sup>7,8)</sup>。また、肝癌細胞を用いた検討では、MK-4 の曝露により Cyclin D 1 と Cdk 4 が有意に低下して、細胞周期の G 1 arrest が誘導されるとの報告があり、MK-4 も細胞増殖阻害作用やアポトーシス誘導作用を介して抗腫瘍効果を有することが明らかとなった<sup>9)</sup>。

### 3. 検討結果

われわれは、ハムスター合流異常発癌モデルを用いて、COX-2 選択的阻害薬とビタミン K<sub>2</sub> による化学予防について検討した<sup>10)</sup>。7 週齢・雌のシリアンゴールドン・ハムスターを開腹して肝外胆管遠位端を結紮し、胆嚢十二指腸吻合を行った(I 群)。同様の手術に加え、術後 4 週目より、10 mg/kg の発癌物質 N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine(BOP)を週 1 回隔週で皮下注射した(II 群)。II 群に加え、術後 4 週目より、毎週 5 回(平日 1 回/day)、5 mg/kg/day の COX-2 選択的阻害薬であるメロキシカムを投与した(III 群)。II 群に加えて、術後 4 週目より、毎週 5 回(平日 1 回/day)、50 mg/kg の MK-4 を経口摂取させた(IV 群)。各群とも術後 20 週に犠牲死させ、胆嚢の病理組織学的検討を行った。HE 染色では、I 群では、固有上皮が主体で、癌の発生はなかった。II 群では、固有上皮のみならず過形成が主体であり、異形成を約 7 割の症例で認めたが、その範囲は I 群よりも広範囲であった。また、約 4 割の症例で上皮内癌を認めた。III 群は、I 群と同様な病理組織所見を示しており、II 群に比べて異形成の出現頻度は低下したが、上皮内癌を認めなかった。IV 群も、III 群とほぼ同様の所見であり、上皮内癌の発生を認めなかった。各群の PCNA labeling index は、III 群・IV 群とも II 群に比べて統計学的有意に低値を示した。また、

各群の apoptosis labeling index は、IV 群は II 群に比べて統計学的有意に低値を示したが、III 群は有意差を認めなかった(論文投稿中)。

以上の結果は、ハムスター合流異常発癌モデルにおいて、COX-2 選択的阻害薬、ビタミン K<sub>2</sub> が細胞増殖抑制あるいはアポトーシス誘導を介して発癌を抑制したことを示しており、合流異常の発癌あるいは癌手術後の発癌予防に向けて臨床応用の可能性が期待される。

### おわりに

合流異常は胆道癌のハイリスクファクターであり、発癌予防のための外科手術が行われているが、非拡張型では肝外胆管切除の是非が議論となっている。今後、胆管を温存した症例や癌術後の二次予防を含め、COX-2 選択的阻害薬やビタミン K<sub>2</sub> などの化学物質による発癌予防が期待される。

### 文 献

- 1) Tsuchida, A., Itoi, T., Aoki, T., et al. : Carcinogenetic process in gallbladder mucosa with pancreaticobiliary maljunction (Review). *Oncol. Rep.* 10 ; 1693-1700, 2003
- 2) Tashiro, S., Imaizumi, T., Ohkawa, H., et al. : Pancreaticobiliary maljunction : retrospective and nationwide survey in Japan. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 10 ; 345-351, 2003
- 3) 川原田嘉文, 田岡大樹, 吉峯修時, 他 : IV-A 型先天性胆管拡張症の治療—成人例. *胆と膵* 20 ; 569-576, 1999
- 4) Tsuchida, A., Kasuya, K., Endo, M., et al. : High risk of bile duct carcinogenesis after primary resection of a congenital biliary dilatation. *Oncol. Rep.* 10 ; 1183-1187, 2003
- 5) 西野輔翼 : 癌の化学予防の概念. *G. I. Research* 12 ; 3-9, 2004
- 6) 入江孝延, 辻井正彦, 辻 晋吾 : 癌の増殖・進展におよぼす COX の影響. *癌治療と宿主* 16 ;

17-21, 2004

- 7) Nishimaki, J., Miyazawa, K., Yaguchi, M., et al. : Vitamin K 2 induces apoptosis of a novel cell line established from a patient with myelodysplastic syndrome in blastic transformation. *Leukemia* 13 ; 1399-1405, 1999
- 8) Miyazawa, K., Yaguchi, M., Funato, K., et al. : Apoptosis/differentiation-inducing effects of vitamin K 2 on HL-60 cells : dichotomous nature of vitamin K 2 in leukemia cells. *Leukemia* 15 ; 1111-1117, 2001
- 9) Hitomi, M., Yokoyama, F., Kita, Y., et al. : Antitumor effects of vitamins K 1, K 2 and K 3 on hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol.* 26 ; 713-720, 2005
- 10) Tsuchida, A., Itoi, T., Kasuya, K., et al. : Inhibitory effect of meloxicam, a cyclooxygenase-2 inhibitor, on N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine induced biliary carcinogenesis in Syrian hamsters. *Carcinogenesis* 26 ; 1922-1928, 2005

## Summary

### Prevention of Biliary Tract Carcinogenesis in Pancreaticobiliary Maljunction

Akihiko Tsuchida\*, Itsuro Nagae\*,  
Hitoshi Saito\*, Takahisa Ikeda\*,  
Yoshihide Tanabe\*, Soshi Takahashi\*,  
Tatsuya Aoki\* and Takao Itoi\*\*

Pancreaticobiliary maljunction (PBM) is a congenital anomaly. Due to the reciprocal reflux of pancreatic juice and bile, carcinogenic substances including activated pancreatic enzymes, secondary bile acid etc. are produced. Since the biliary tract mucosa may be damaged over long period, several epithelial changes including hyperplasia, metaplasia or dysplasia may occur, resulting in high carcinogenesis rates. The primary treatment for PBM without cancer is preventive cholecystectomy and resection of the extrahepatic bile duct. However, cholecystectomy alone is performed for cases without dilatation of the extrahepatic bile duct in about fifty percent of hospitals. To evaluate the possibility of chemoprevention for PBM, we performed animal experiments using hamster PBM models and confirmed the anticancer effects of a COX-2 selective inhibitor and vitamin K<sub>2</sub>.

**Key words** : pancreaticobiliary maljunction, biliary tract cancer, preventive operation, chemoprevention

\*Third Department of Surgery, \*\*Fourth Department of Internal Medicine, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan

## Combination chemotherapy with docetaxel and nedaplatin for recurrent esophageal cancer in an outpatient setting

Y. Osaka, Y. Takagi, S. Hoshino, S. Tachibana, A. Tsuchida, T. Aoki

*Third Department of Surgery, Tokyo Medical University, Tokyo, Japan*

**SUMMARY.** The purpose of this study was to address the feasibility of combination chemotherapy of docetaxel and nedaplatin for recurrent esophageal cancer patients in an outpatient setting. Patients received docetaxel (30 mg/m<sup>2</sup> intravenously) on day 1 and nedaplatin (40 mg/m<sup>2</sup> intravenously) on day 1 every 2 weeks. In total, 28 patients with recurrent esophageal cancer after the initial treatment (esophagectomy, chemotherapy and/or chemoradiotherapy) were enrolled. Each patient received six cycles of treatment and was evaluated with a computed tomography scan. The percentage of patients who completed this therapy was 60.7%. Complete response and partial response were achieved by 3.6% and 35.7% of patients, respectively. The most frequent toxicities were leukopenia and anemia; non-hematological toxicities were generally mild. There was no treatment-related death. The median survival time and 1-year survival rate were 8.5 months and 15.9%, respectively. This outpatient combination chemotherapy was useful as second-line chemotherapy for recurrent esophageal cancer.

**KEY WORDS:** chemotherapy, docetaxel, nedaplatin, outpatient setting, recurrent esophageal cancer.

### INTRODUCTION

Esophageal cancer is one of the most aggressive cancers and is well known for aggressive invasiveness and metastasis to regional lymph nodes and distant organs. Although esophageal cancer is relatively sensitive to chemotherapy and radiotherapy, its prognosis is usually poor due to a rapid clinical progression with a high frequency of lymph node metastasis and recurrence. Therefore, the combined modality therapy such as preoperative chemotherapy and chemoradiotherapy is more frequently undertaken.

As for chemotherapy, the combination therapy with cisplatin and 5-fluorouracil has been confirmed as the standard. However, the second line chemotherapy is not yet established, and there is an urgent need for its development. The purpose of this study was to address the feasibility of combination chemotherapy of docetaxel and nedaplatin for recurrent esophageal cancer in the outpatient setting. We will report our recent results of this therapy, with emphasis on the evaluation of its efficacy and safety.

### PATIENTS AND METHODS

#### Eligibility criteria

Between January 2001 and December 2004, 28 outpatients with recurrent esophageal cancer were enrolled for this study. The patients had previously received chemotherapy, chemoradiotherapy and/or surgery for esophageal cancer; at least one lesion of which could be evaluated. Other eligibility criteria were: aged 20–80 years; Eastern Cooperative Oncology Group performance status (PS) of 0–2; and free of severe complications. Written informed consent was obtained from all patients. This study was approved by the institutional review board.

#### Treatment

Patients received 30 mg/m<sup>2</sup> of docetaxel over a 1-h infusion on day 1, followed by 40 mg/m<sup>2</sup> of nedaplatin over a 2-h infusion on day 1 every 2 weeks for six cycles. Patients were excluded if they had unacceptable toxicity, progression of the disease, or consent was withdrawn. After six cycles of treatment, efficacy was evaluated by esophagography, computed tomography scan, and/or magnetic resonance imaging. All patients who achieved complete response (CR) or

Address correspondence to: Yoshiaki Osaka, 6-7-1, Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan.  
Email: yosaka@tokyo-med.ac.jp

partial response (PR), if applicable, continued this chemotherapy every 3–4 weeks as far as was possible.

### Evaluation of chemotherapy

Clinicopathological factors were defined according to the TNM Union of International Congress against Cancer classification method.<sup>1</sup> The effect of treatment in solid tumors was evaluated according to the Response to Treatment in Solid Tumors (RECIST).<sup>2</sup> Toxicities were graded according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria Version 2 (NCI-CTC V.2).<sup>3</sup> Overall survival rate curve was obtained with the Kaplan-Meier method.

## RESULTS

### Patients' characteristics

Patients' characteristics are listed in Table 1. Twenty-eight patients were enrolled in this study. Eighteen received six or more cycles of treatment, five received 4–5 cycles, five received 2–3 cycles (mean: 5.75). Eighteen patients (64.3%) completed six cycles of treatment; 17 of them were in the outpatient setting. Ten patients dropped out before receiving six cycles of chemotherapy: seven due to progressive disease (PD), one with leukopenia, and two refused to continue the treatment.

### Clinical outcome

Response rates are listed in Table 2. One patient achieved CR, 10 patients PR, 15 patients stable disease and two patients PD; the overall response rate was 39.3%. The median survival time and 1-year survival rate were 256 days, and 15.9%, respectively (Fig. 1).

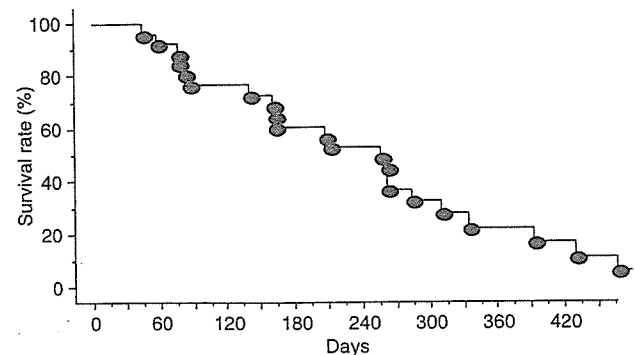
### Toxicity profile

Toxicities were graded according to NCI-CTC V.2, and are listed in Table 3. Two patients had grade 3

**Table 2** Response to treatment (*n* = 28)

Complete response	1 (3.6%)
Partial response	10 (35.7%)
Stable disease	15 (53.6%)
Progressive disease	2 (7.1%)
Overall response rate†	39.3%

†(complete response + partial response)/total case number.



**Fig. 1** Overall survival time.

**Table 3** Toxicity profile (*n* = 28)

	Number of patients (%)	
	Grade 2 (%)	Grade 3/4 (%)
Leukopenia	9 (32.1)	2/0 (7.1)
Anemia	6 (21.4)	1/0 (3.6)
Thrombocytopenia	2 (7.1)	0/0 (0)
Anorexia	7 (25.0)	0/0 (0)
Alopecia	4 (14.3)	0/0 (0)
Nausea, vomiting	2 (7.1)	0/0 (0)

leukopenia (7.1%) and one had grade 3 anemia (3.6%). No grade 3 or 4 nausea/vomiting and renal failure were observed. There was no treatment-related death.

## DISCUSSION

In the present study, we addressed the feasibility of biweekly administration of docetaxel and nedaplatin for recurrent esophageal cancer in the outpatient setting. We designed this study in the outpatient setting because this combination chemotherapy appeared to be not only active but also favorable in keeping the quality of life high.

In the phase III studies, single-agent docetaxel 100 or 75 mg/m<sup>2</sup> administered by a 1-h intravenous infusion has showed efficacy in metastatic breast cancer<sup>4</sup> and platinum-refractory non-small-cell lung cancer.<sup>5</sup> Whereas the phase II study in France of single-agent docetaxel, 100 mg/m<sup>2</sup> every 3 weeks, as a second-line chemotherapy for metastatic esophageal cancer has demonstrated a response rate of 28%,<sup>6</sup> the phase II study in Japan of single-agent docetaxel

**Table 1** Patients' characteristics

Number of patients	28
Sex: male/female	27/1
Age, year (range)	62 (48–80)
Performance status: 0/1	17/11
Stage group: I/II/III/IV	2/4/12/10
Prior therapy:	
Surgery and chemotherapy	8
Chemoradiotherapy	10
Preoperative chemoradiotherapy and surgery	9
Chemotherapy	1
Histology: squamous/adenocarcinoma	27/1
Sites of measurable disease:	
Lymph nodes (LN): cervical/mediastinal/abdominal	6/1/3
Organ: lung/bone/liver/brain/skin/peritonium	3/2/1/1/1/1
Local-regional	2
LN and organ: LN and lung/lung and liver/local and lung	5/1/1

(70 mg/m<sup>2</sup>) demonstrated a response rate of 20.4%.<sup>7</sup> Docetaxel was less neurotoxic than paclitaxel,<sup>8</sup> and dose not require regularly scheduled premedications such as antihistamic agents. Therefore, docetaxel is more suitable to administer in the outpatient setting.

Nedaplatin is a second-generation platinum complex with lower renal and gastrointestinal toxicities than cisplatin, was developed in Japan, and has demonstrated potent antitumor activities against head and neck, lung, testicular, gynecologic and esophageal cancers. Some *in vitro* studies have shown that nedaplatin had equivalent antitumor activities to cisplatin in lung,<sup>9</sup> head and neck,<sup>10</sup> and ovarian cancers.<sup>11</sup> On the other hand, kidney accumulation of nedaplatin was lower than that of cisplatin, and nedaplatin showed lower nephrotoxicities than cisplatin.<sup>12</sup> In contrast to cisplatin, nedaplatin dose not require a large amount of fluid infusion. In a phase II clinical study of single-agent nedaplatin for esophageal cancer, the overall response rate was 51.7%; the response rate for patients with prior chemotherapy was 55.6%.<sup>13</sup> In a phase II clinical study of nedaplatin and 5-fluorouracil for metastatic esophageal cancer, the response rate was 39.5%.<sup>14</sup> Collectively, it appeared that nedaplatin was more suitable to administer in the outpatient setting than cisplatin.

There is no report of a combination antitumor activity with nedaplatin and docetaxel in a preclinical study. However, the efficacy of nedaplatin plus paclitaxel was most potent with lowest toxicity compared with cisplatin plus paclitaxel or carboplatin plus paclitaxel in a murine lung carcinoma model.<sup>15</sup> Based on these findings, we selected docetaxel and nedaplatin for the outpatient chemotherapy of esophageal cancer.

In this study, patients received 30 mg/m<sup>2</sup> of docetaxel over a 1-h infusion on day 1, followed by 40 mg/m<sup>2</sup> of nedaplatin over a 2-h infusion on day 1 every 2 weeks. We decided the dose of these drugs should be based on the phase I/II study of combination chemotherapy with docetaxel and nedaplatin for unresectable non-small-cell lung cancer by Saito *et al.*<sup>16</sup> The recommended doses of their combination therapy were 60 mg/m<sup>2</sup> of docetaxel, and 80 mg/m<sup>2</sup> of nedaplatin repeated every 4 weeks. In order to keep the dose intensity and prevent the risk of hematological toxicities, these dosages were divided into halves and administered every 2 weeks.

In this study, grade 3/4 leukopenia and anemia occurred in only two patients (7.1%) and one patient (3.6%), respectively, but no patient had grade 3/4 thrombocytopenia, anorexia and nausea/vomiting. Only one patient (3.6%) was hospitalized because of treatment-related complications. In contrast, hospitalization rates of other outpatient regimens for esophageal cancer were reported to be much higher; the rates of biweekly administration with

180 mg/m<sup>2</sup> of paclitaxel and 60 mg/m<sup>2</sup> of cisplatin, and the weekly administration with 65 mg/m<sup>2</sup> of irinotecan and 30 mg/m<sup>2</sup> of cisplatin were 10%<sup>17</sup> and 17%,<sup>18</sup> respectively, because of toxicities. Grade 2 leukopenia, anemia, thrombocytopenia, anorexia and nausea/vomiting were observed in 32.1%, 21.4%, 7.1%, 25.0% and 7.1% of patients, respectively. These toxicities were well-tolerated. There was no treatment-related death. Treatment without hospitalization due to toxicities is important in keeping quality of life. Therefore, our combination chemotherapy appears to be useful.

The overall response rate and median survival time were 39% and 8.5 month, respectively. This study included 10 patients with recurrent esophageal cancer after definitive chemoradiation (60–70 Gy); the response rate of these patients was 30% including one complete response (data not shown). The patient with relapsed esophageal cancer after definitive chemoradiotherapy often has salvage esophagectomy. However, patients who underwent salvage esophagectomy are reported to have increased morbidity, mortality and hospitalisation.<sup>19</sup> Therefore, our regimen seems to be useful even for the patient who has received definitive chemoradiotherapy for esophageal cancer.

In conclusion, this combination chemotherapy of docetaxel and nedaplatin in the outpatient setting is well-tolerated and useful as a second-line chemotherapy for recurrent esophageal cancer.

## References

- Sobin L H, Wittekind C, eds. International Union Against Cancer(UICC) TNM Classification of Malignant Tumors, 5th edn. New York: Wiley-Liss, Inc 1997.
- Therasse P, Arbuuck S G, Eisenhauer E A *et al.* New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 205–16.
- National Cancer Institute. Common Toxicity Criteria (CTC) version 2.0. Available at: [http://ctep.cancer.gov/forms/CTCv20\\_4-3-992.pdf](http://ctep.cancer.gov/forms/CTCv20_4-3-992.pdf) (Accessed 7 December, 2004).
- Jones S E, Erban J, Overmoyer B *et al.* Randomized phase III study of docetaxel compared with paclitaxel in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5542–51.
- Fossella F V, DeVore R, Kerr R N *et al.* Randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-containing chemotherapy regimens. The TAX 320 Non-Small Cell Lung Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2354–62.
- Metges J, Hennequin C, Yehou M *et al.* Docetaxel as a second-line chemotherapy in metastatic esophageal cancer: a French study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20: A635.
- Muro K, Hamaguchi T, Ohtsu A *et al.* A phase II study of single-agent docetaxel in patients with metastatic esophageal cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 955–9.
- Vasey S A, Jayson G C, Gordon A *et al.* Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as firstline chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1682–91.
- Sasaki Y, Shinkai T, Eguchi K *et al.* Prediction of the anti-tumor activity of new platinum analogs based on their ex vivo pharmacodynamics as determined by bio assay. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991; 27: 263–70.
- Tsukuda M, Yoshida T, Kubota A *et al.* Experimental study on the anti-tumor effects of CDDP derivatives against the



- head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Jpn J Cancer Chemother* 1988; 15: 2811-14.
- 11 Alberts D S, Fanta P T, Ruuing K L *et al*. In vitro phase II comparison of the cytotoxicity of a novel platinum analog, nedaplatin (254-S), with that of cisplatin and carboplatin against fresh, human ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; 39: 493-7.
  - 12 Kawai Y, Taniuchi S, Okahara S, Nakamura Y, Gemba M. Relationship between cisplatin or nedaplatin-induced nephrotoxicity and renal accumulation. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 1385-8.
  - 13 Taguchi T, Wakui A, Nabeya K *et al*. A phase II clinical study of cis-diammine glycolato platinum, 254-S, for gastrointestinal cancers. 254-S Gastrointestinal Cancer Group. *Jpn J Cancer Chemother* 1992; 19: 483-8.
  - 14 Muro K, Ando N, Nishimaki A. A phase II study of nedaplatin and 5-fluorouracil in metastatic squamous cell carcinoma of the esophagus: The Japan Clinical Oncology Group (JCOG) trial (JCOG9905). *Proc ASCO* 2003; 22: 1112.
  - 15 Yamada H, Uchida N, Maekawa R, Yoshioka T. Sequence-dependent antitumor efficacy of combination chemotherapy with nedaplatin, a newly developed platinum, and paclitaxel. *Cancer Lett* 2001; 22: 17-25.
  - 16 Saito J, Sugawara S, Nakai Y *et al*. Phase I/II study of combination chemotherapy with docetaxel and nedaplatin for unresectable non-small-cell lung cancer. *Jap J Lung Cancer* 2000; 40: 513 (in Japanese).
  - 17 Polee M B, Eskens F A, van der Burg M E *et al*. Phase II study of bi-weekly administration of paclitaxel and cisplatin in patients with advanced oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2002; 86: 669-73.
  - 18 Ilson D H, Saltz L, Enzinger P *et al*. Phase II trial of weekly irinotecan plus cisplatin in advanced esophageal cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3270-5.
  - 19 Shisher S G, Wynn P, Putnam JB *et al*. Salvage Esophagectomy for recurrent tumors after definitive chemotherapy and radiotherapy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 175-83.

別刷

# 癌と化学療法

VOL.33(2006)

癌と化学療法社

Printed in Japan © 禁無断転載・複写複製

## 胃がん骨転移

須藤日出男 高木 融 片柳 創 星野 澄人 須田 健  
日比 康太 伊藤 一成 土田 明彦 青木 達哉\*

[*Jpn J Cancer Chemother* 33(8):1058-1060, August, 2006]

Bone Metastasis of Gastric Cancer: Hideo Sudo, Yu Takagi, So Katayanagi, Sumito Hoshino, Takeshi Suda, Yasuhiro Hibi, Kazushige Ito, Akihiko Tsutida and Tatsuya Aoki (3rd Dept. of Surgery, Tokyo Medical University)  
**Summary**

We evaluated 19 patients with bone metastasis after surgery for gastric cancer. In a number of cases, the located in the tumor was U and M region, of macroscopic 3, and the histological type was poorly-differentiated adenocarcinoma with high-grade of lymphatic invasion. The major symptom was lumbago and back pain. The serum AFP level was high in 73.7% of the cases, and LDH was high in 47.7%. The metastatic lesion was predominantly seen in the bone with red pulp such as lumbar and thoracic vertebra and rib. The median survival time was 189 days (range: 24-509) with a poor prognosis. However, newly developed anticancer drugs were very effective for some cases, indicating that such chemotherapy should be tried for cases with bone metastasis. Key words: Bone metastasis, Gastric cancer, Corresponding author: Hideo Sudo, 3rd Department of Surgery, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishi-shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan

**要旨** 胃癌術後骨転移症例 19 例を検討した。占居部位は U 領域から M 領域に、肉眼型は 3 型で、組織型は低分化腺癌でリンパ管侵襲の高度な症例が多かった。症状は腰背部痛が多く、ALP は 73.7% の症例で、LDH は 47.7% の症例が高値であった。骨転移部位は腰椎、胸椎、肋骨などの赤色髄をもつ骨に多く認められた。転移発見から死亡までの中央値は 189 日 (24~509) と予後は不良であるが、新規抗がん剤使用による化学療法の奏効例もみられるため、骨転移に対しても積極的な化学療法が望ましいと考えられる。

## はじめに

胃癌の骨転移は、腹膜転移や肝転移に比べその頻度が低いと臨床的に注目されることは少ない。しかし、骨転移部の疼痛や骨髄横断症状などの症状が出現することで QOL を損なうばかりか、骨髄転移を併発した場合、DIC (disseminated intravascular coagulation) を合併する頻度が高く、急激な経過をたどるため、この疾患の病態を把握しておくことは临床上重要である。

今回、胃癌骨転移症例の臨床病理学的特徴を明らかにする目的で過去 12 年間に当教室で経験した胃癌骨転移症例について検討し、若干の知見を得たので報告する。

## I. 対象と方法

1991 年から 2002 年までの 12 年間に当教室にて胃癌切除術を施行し、術後に骨転移を認めた症例中、経過を

追うことが可能であった 19 例を対象とした。

1. 年齢、性別、2. 胃癌手術時における各要因として、胃癌の占居部位、肉眼型、深達度、組織型、脈管侵襲の有無、リンパ節転移の有無、3. 骨転移発症後の臨床経過として、初発症状、LDH、ALP の検査値、診断方法、転移確認までの期間、転移部位、骨転移以外の転移部位、治療方法、転移確認からの生存期間、について検討を行った。なお、用語は「胃癌取扱い規約(第 13 版)」<sup>1)</sup>に従った。

## II. 結 果

## 1. 年齢、性別

骨転移発見時の年齢は 39~79 歳までで、平均年齢 59.9±10.7 歳であった。男女比は 2.2:1 (男性 13 例、女性 6 例) で男性に多かったが、胃全体の男女比 (約 2:1) と同等と考えられる。

表1 胃癌手術時における各要因

占居部位	肉眼型	深達度
U 6	Type 0 I 1	SM 3
M 5	Type 0 IIc 6	MP 2
L 4	Type 1 1	SS 7
MU 2	Type 2 1	SE 6
ML 1	Type 3 8	SI 1
UML 1	Type 4 2	

組織型	脈管侵襲
pap 1	ly 0 3
tub 1 2	ly 1 7
tub 2 5	ly 2 5
muc 1	ly 3 4
por 10	v 0 9
	v 1 6
	v 2 4

2. 胃癌手術時における各要因 (表1)

1) 胃癌の占居部位: 胃上部 (U 領域) 6 例, 胃中部 (M 領域) 5 例, 胃下部 (L 領域) 4 例, MU 領域 2 例, ML 領域 1 例, UML 領域 1 例で, U から M 領域に多く認められた。

2) 肉眼型: 3 型が 8 例 (42.1%) と最も多く, 次いで IIc 型が 6 例 (31.6%) であった。6 例の内訳は粘膜下層 (SM) が 2 例, 固有筋層 (MP) が 2 例, 漿膜下層 (SS) が 2 例であった。他, I 型 1 例, 1 型 1 例, 2 型 1 例, 4 型 2 例であった。

3) 深達度: SM 3 例, MP 2 例, SS 7 例, SE 6 例, SI 1 例であった。

4) 組織型: 分化型が 8 例で内訳は乳頭状腺癌 (pap) 1 例, 高分化腺癌 (tub 1) 2 例, 中分化腺癌 (tub 2) 5 例であった。また未分化型は 11 例で, 膠様腺癌 (muc) 1 例, 低分化腺癌 (por) が 10 例であった。低分化型腺癌が全体の 53.6% と最も多かった。

5) 脈管侵襲: リンパ管侵襲 (ly) は 16 例 (84.2%) に陽性であり, そのうち ly 25 例, ly 3 が 4 例と高度侵襲症例が多かった。それに対し静脈侵襲 (v) は 10 例 (53.6%) で陽性であったが, v 2 が 4 例で v 3 症例はなかった。

6) リンパ節転移: 陰性 (N0) 症例は 5 例 (26.3%) であったのに対し, 陽性症例は 14 例 (73.2%) で N1 7 例 (36.9%), N2 5 例 (26.3%), そして N3 が 2 例 (10.5%) であった。

3. 骨転移発症後の臨床経過

1) 初発症状: 腰背部痛が 14 例と最も多く, 次いで大腿部痛が 6 例, DIC による出血傾向が 3 例, 脊髄横断症状を 1 例認めた。

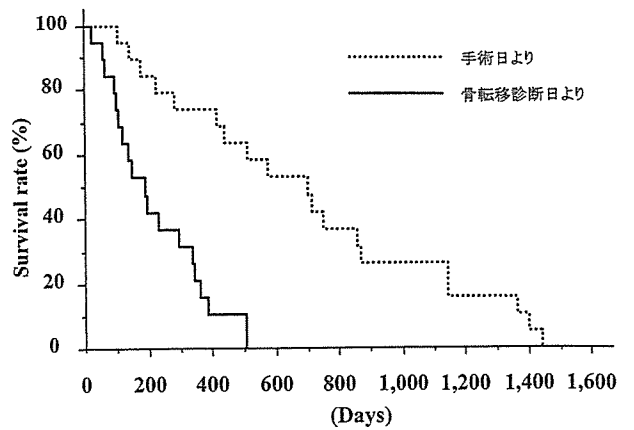


図1 胃癌骨転移例の生存率

2) 手術から発症までの期間: 中央値 703 日 (106~1,443)

3) 転移診断時の臨床検査値

ALP (正常値 231 U/l 以下): 14 例 (73.7%) の症例が高値を示し, 中央値は 598 U/l (169~3,112) であった。

LDH (正常値 451 U/l 以下): 9 例 (47.7%) の症例が高値を示し, 中央値は 406 U/l (249~3,554) であった。

4) 診断方法

全例骨シンチグラフィまたは MRI 検査 (magnetic resonance imaging) に診断したが, 単純 X 線検査でも 6 例に骨硬化像や椎弓根消失像 (pedicle sign) などの骨転移を示唆する異常所見を認めた。

5) 骨転移部位: 腰椎 15 例, 胸椎 11 例, 肋骨 11 例, 大腿骨 10 例, 腸骨 9 例, 頭蓋骨・頸椎・上肢に 6 例ずつで赤色髄に多く認められた。

6) 骨以外への転移: 腹膜転移 9 例, 傍大動脈リンパ節転移 7 例, 肝転移 5 例, 肺転移 2 例, 脳と心内膜に 1 例ずつ転移を認めた。

7) 転移確認後の治療

13 例に抗腫瘍療法が行われた。そのうち化学療法は 12 例に行われた。5-FU 単独 3 例, 5-FU+CDDP が 7 例, TS-1 が 1 例, taxane 系薬剤が 2 例であった。骨髄転移による DIC を併発した症例に対し, 抗 DIC 治療を行いながら TS-1 内服による化学療法を併用することで, DIC の改善と PR (partial response) の奏効を得, 転移確認後 509 日間の生存期間を得られた症例を経験した。

5 例に放射線照射治療を行い, 全例有効な除瘤効果が得られた。また, 10 例でモルヒネ製剤と NSAID's の併用により QOL の向上が得られた。

8) 予後 (図1)

手術から死亡日までの中央値は 939 日 (165~1,911) で, 骨転移確認日から死亡日までの中央値は 189 日 (24~509) と予後不良であった。

### III. 考 察

胃癌の骨転移は臨床的に注目されることが少なく、頻度は各研究者により、また対象とする母集団が剖検例か臨床例かによってもかなりの相違がある。臨床例では山村ら<sup>2)</sup>は1.4%、西土井ら<sup>3)</sup>は1.5%と報告している。

剖検例では西土井ら<sup>3)</sup>の13.4%、北城ら<sup>4)</sup>は12.7%、森脇ら<sup>5)</sup>は19.5%と報告している。また、日本病理剖検輯報<sup>6)</sup>における骨転移は胃癌では12.7%と、乳腺(44.3%)、肺・気管支(30.7%)、腎(24.6%)、前立腺(23.6%)、膀胱(20.6%)、子宮(18.7%)、食道(13.7%)に次いで8番目であり、剖検例でみると決して少ない頻度ではない。

診断方法は多くの場合、骨シンチグラフィやMRI検査で行われるが、転移性骨腫瘍は椎体椎弓根、椎弓が侵されやすく、単純X線写真の正面像でも椎弓根の不明瞭化や消失(pedicle sign)といった骨転移を示唆する所見がしばしばみられる<sup>7)</sup>。自験例においても3例のpedicle sign陽性例があり、骨転移発見のきっかけとなった。

近年、骨代謝を鋭敏に反映するマーカーの開発が目覚ましい。臨床応用されている代表的なマーカーは、骨形成マーカーである血中I型プロコラーゲンC端プロペプチド(PICP)と骨吸収マーカーである血中I型コラーゲンC端テロペプチド(ICTP)、尿中デオキシピリジノリン、尿中I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTx)がある<sup>8)</sup>。

骨転移の好発部位は腰椎、胸椎、肋骨、大腿骨、腸骨などに多く認められたが、この傾向はほぼ諸家の報告と一致している<sup>2,3)</sup>。成人では四肢の骨髄は次第に脂肪髄となり、造血機能を行う赤色髄は脊椎、骨盤、肋骨、肩甲骨、頭蓋骨、上腕骨および大腿骨の中枢部に残存する。したがって、骨転移は造血機能をもつ赤色髄に好発していることになる。この理由として、阿部<sup>9)</sup>は赤色髄を有する骨は他の臓器の血管系と比較し、1) 栄養動脈は終動脈であること、2) 静脈洞の存在、3) ultrastructuralに開放系であること、4) 血流速度の多様性、5) 内皮細胞が細網内皮系の性質を有することなどの相違点をあげている。骨転移経路は骨髄にリンパ管が発見されないことから、主として血行性転移と考えられている。西土井ら<sup>3)</sup>は転移形式と骨転移部位の検討から骨転移の経路として、1) 肝・肺転移→大循環系→頭蓋骨、肋骨、胸骨等、2) 腹膜転移→椎骨静脈叢→脊椎(胸・腰骨)の2大経路を報告している。

胃癌の骨転移症例に対する治療は困難であり、自験例でも転移確認から死亡までの生存期間の中央値は189日と極めて予後不良であった。その理由として骨転移は早

期発見が難しく、また単独で発見されることは少なく、他の腹膜転移や肝転移など致命的な因子と合併することが多いことなどが考えられる。しかし、近年新規抗癌剤の登場に伴い奏効例も報告されている<sup>10-12)</sup>。自験例においてTS-1の内服化学療法による長期生存例を経験した。

疼痛の軽減には主にモルヒネ製剤やNSAID'sを用いられるが、放射線療法が有効であったという報告も散見され<sup>13,14)</sup>、自験例でも放射線療法で徐痛効果が得られ、QOLの改善で精神面でも積極的に化学療法が行えた症例を経験した。疼痛のため精神的に消極的となり治療の継続が困難になりがちであるが、早期に骨転移を診断し、除痛を得られれば、QOLの改善と精神面でも積極的に化学療法を行うことができ、強い延命につながると考えられる。

### おわりに

胃癌術後骨転移症例19例を検討した。占居部位はU領域からM領域に、肉眼型は3型で、組織型は低分化腺管癌でリンパ管侵襲の高度な症例が多かった。症状は腰背部痛が、またALPおよびLDHが高値の症例が多かった。予後は不良であったが化学療法の奏効例もみられ、骨転移といえども積極的な化学療法が望まれる。

### 文 献

- 1) 日本胃癌学会・編: 胃癌取扱い規約. 第13版, 金原出版, 東京, 1999.
- 2) 山村義孝, 紀藤 毅, 山田栄吉・他: 胃癌の骨および骨髄転移に関する臨床的検討. 日消外会誌 18(11): 2288-2293, 1985.
- 3) 西土井英昭: 胃癌の骨転移. 整形外科MOOK 62: 198-203, 1992.
- 4) 北城文男, 中島雅典, 辻 羊作・他: 当教室剖検例における転移性骨腫瘍の検討. 整形外科 31: 578-584, 1980.
- 5) 森脇昭介, 山本洋介, 高嶋成光・他: 転移性骨腫瘍一とくに造骨・溶骨機序について. 病理と臨床 3: 895-904, 1985.
- 6) 日本病理学会・編: 日本病理剖検輯報1980-1999.
- 7) 高島 力, 佐々木康人: 標準放射線医学. 第6版, 医学書院, 東京, 2001.
- 8) 筑紫 聡, 片桐浩久: 転移性骨腫瘍における腫瘍マーカー. 日本臨牀 61(増刊号8): 215-218, 2003.
- 9) 阿部光俊: 骨転移癌. 外科 34(10): 999-1010, 1972.
- 10) 田邊和照, 吉田和弘, 浜井洋一・他: Docetaxel+TS-1併用療法が奏効した多発性骨転移, 腹膜播種を伴う残胃癌の1例. 癌と化学療法 32(7): 1037-1040, 2005.
- 11) 広瀬和郎, 玉木雅人, 千田勝紀・他: 術後化学放射線療法により長期生存した多発性骨転移を伴う胃癌の1例. 日消外会誌 34(12): 1732-1736, 2001.
- 12) 竹村雅至, 大杉治司, 李 榮作・他: TS-1療法が著効した早期胃癌切除8年後の多発性骨転移の1例. 癌と化学療法 32(4): 515-517, 2005.
- 13) 御厨修一, 間宮敏雄, 織田敏次・他: 放射線治療が奏効した脊椎転移による歩行不能の2症例. J Jpn Soc Cancer Ther 21: 752-759, 1986.
- 14) 和田崎晃一, 金田玲子, 木村智樹・他: 放射線療法とalendronateの併用療法が有効であった転移性骨腫瘍の1例. 広島医 51: 723-725, 1998.

抗体エンジニアリング  
Antibody engineering

粕谷和彦 土田明彦 青木達哉  
Kazuhiko KASUYA, Akihiko TSUCHIDA, Tatsuya AOKI

東京医科大学外科学第三講座  
Third Department of Surgery, Tokyo Medical University

総 説

抗体エンジニアリング  
Antibody engineering

粕谷和彦 土田明彦 青木達哉

Kazuhiko KASUYA, Akihiko TSUCHIDA, Tatsuya AOKI

東京医科大学外科学第三講座  
Third Department of Surgery, Tokyo Medical University

はじめに

1975年 Köhler と Milstein は、英国の科学雑誌 Nature に、細胞融合の技術を用いてモノクローナル抗体を *in vitro* で産生する方法を報告した<sup>1)</sup>。今日の抗体療法が飛躍的に発展したのは、彼らの画期的な方法の開発に端を発しており、その功績に対しノーベル賞が授与された。細胞融合法とは、細胞をポリエチレングリコールで処理することで細胞同士の膜を融合させ雑種細胞 (ハイブリッド) にすることである。融合細胞では同時に核も融合して4倍体になり、染色体数は徐々に減少し安定化しハイブリドーマと呼ばれる細胞になる。マウスのBリンパ球と骨髄腫細胞を融合させると抗体を産生し続けるハイブリドーマができ、大量のモノクローナル抗体 (Fig. 1A) を *in vitro* で産生することができる。モノクローナル抗体は、特定の抗原決定基 (epitope) に対する特異的な抗体であり、血液細胞をはじめとする細胞抗原診断、種々の微量分子定量や精製などを可能にし、この方法は医学に膨大な恩恵をもたらした。

このマウスモノクローナル抗体は、開発当初より抗体療法としての期待を担ってきた。しかし、マウスで作成された抗体はヒトにとって異物であり、生体内に投与された抗体は速やかに体内から排除される。その

最大の理由は、投与された患者の約半数に抗マウスモノクローナル抗体 (human anti-mouse antibody: HAMA) が出現したためである。また、アナフィラキシー誘発の危険性もあり、同一固体内への複数回投与は困難であった。このように、ヒトへの抗原性のためにマウスモノクローナル抗体の臨床応用はきわめて限られたものとなった。その後の研究は HAMA による障害を乗り越えるべく、ヒト型のアミノ酸配列をもつヒトモノクローナル抗体作成に向けて膨大な研究が行われたが、研究開発は難渋し臨床医薬への実用化は停滞した。その後30年を経て、抗体作成の技術革新により新たな抗体医薬が臨床の場に出る姿を見せ始めた。臨床試験段階にある新薬も多く、その方法や用途も多様性に富む。本稿ではヒト化を中心とした抗体エンジニアリングとその応用を紹介する。

ヒト化抗体のエンジニアリング

1980年代後半からの抗体工学は HAMA の克服であった。まず、マウスのモノクローナル抗体の可変領域とヒトの定常領域を融合させた抗体 (ヒト・マウスキメラ抗体) が作成された (Fig. 1B)。キメラ抗体では全領域の70%がヒト由来となるため、マウスモノクローナル抗体に比して抗原性を著しく減弱できるため、HAMA の出現を5%以下に減少させることができ

2006年2月16日受付、2006年2月27日受理

キーワード: 抗体エンジニアリング、抗体医薬、能動免疫、融合抗体

(別冊請求先: 〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-7-1 東京医科大学外科学第三講座 粕谷和彦)

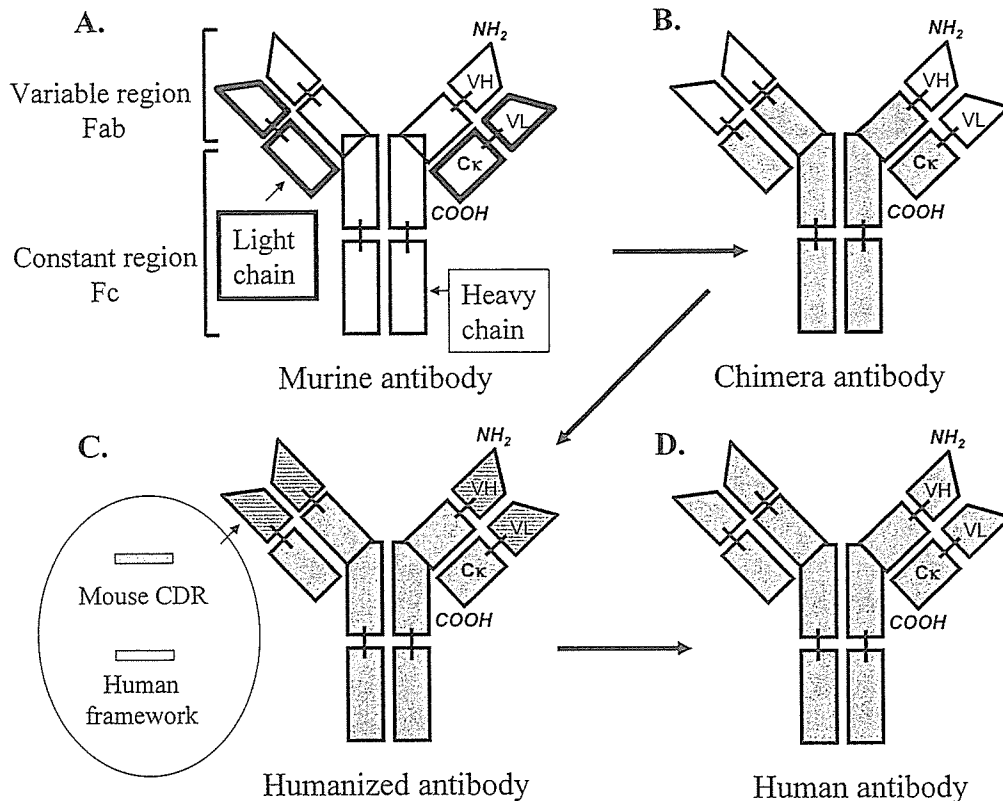


Fig. 1 Illustrations of various modifications to monoclonal antibodies: Murine monoclonal antibodies (A). Chimera antibody with human Fv fragments containing some human constant region sequences along with the mouse V region (B). Humanized antibodies with mouse CDR and human FWR based on chimera antibodies (C). Human antibodies (D).

た。同時に、ヒト型定常領域は補体依存性細胞障害活性 (complement dependent cytotoxicity: CDC) や抗体依存性細胞障害活性 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) を誘導できるため、殺腫瘍効果を期待できる。その先陣をきいたのがキメラ抗体抗 CD20 抗体である rituximab (商品名: リツキサン。対象疾患: 低悪性度または濾胞性非ホジキン・マンツル細胞リンパ腫。1997 年に本邦認可) である。rituximab は、ヒト IgG1 $\kappa$  の定常部と IgG1 型マウス抗 CD20 抗体の重鎖と軽鎖の遺伝子 construct を Chinese hamster ovary cell に導入することで量産された<sup>2)</sup>。異種抗体が産生されにくいことがキメラ抗体の第一の利点であるが、血中半減期が長いという利点もある。定常部をヒト化することによって、ヒト CDC や ADCC effector cell の活性化効率が約 1,000 倍に増強される。米国での第 I 相試験では<sup>2)</sup>、15 例の再発・再燃 B 細胞リンパ腫患者に段階的増量 (10, 50, 100, 250, 500 mg/m<sup>2</sup>) による単回投与を行い、6 例で腫瘍縮小効果を認めた。また、発熱・悪心・起立性低血圧などの薬物有害反応 (adverse drug reaction: ADR) が認められたが、いずれも grade 2 以下で血液毒性は軽微で

あった。その後、第 I 相試験にて安全性が確認された 375 mg/m<sup>2</sup>、週 1 回、4 週投与による第 II 相試験が行われ<sup>3)</sup>、37 例中 3 例 (9%) で完全奏効 (complete response: CR) 14 例 (41%) で部分奏効 (partial response: PR) が得られた。さらに、未治療例を主体とした低悪性度 B 細胞リンパ腫に対して、CHOP 療法と rituximab の併用による第 II 相試験が行われ、CHOP 療法単独に対し優れた治療成績が得られるとともに、毒性の有意な増強は認められなかった<sup>4)</sup>。本邦でも第 I 相、第 II 相試験が施行され、一定の治療効果が報告された<sup>5)6)</sup>。これらの結果より、rituximab は血液毒性が低く、他の抗癌剤との併用が可能ながその利点として挙げられる。

一方、キメラ抗体においてもマウス可変領域の抗原性は残るため、抗原との結合領域に対して抗イデオタイプ抗体が出現し、キメラ抗体の活性を阻害する可能性が指摘された。そこで、ヒト化抗体が開発された (Fig. 1C)。つまり、マウス抗体の可変領域の抗原相補性決定領域 (complementarity-determining region: CDR) と呼ばれる抗原と直接結合する領域のみを残し、可変領域のフレームワーク領域 (Framework



region: FWR) と定常部をヒト化した抗体である (CDR グラフト技術)。このようにして作成された抗 HER2 抗体 trastuzumab (商品名: ハーセプチン。対象疾患: HER2 過剰発現が確認された転移性乳癌。1998 年に本邦認可<sup>7)</sup>) は、構成アミノ酸の 95% がヒト IgG 由来、5% のみがマウス抗体 4D5 由来であるため、ヒトへの抗原性が極めて低い。また抗原親和性と特異性は親抗体である 4D5 と同等であり、ADCC 誘導能を保持していた。Trastuzumab の有用性が決定的になったのは、再発後の初回治療としての細胞毒性化学療法に trastuzumab 併用あり・なしのランダム化比較試験 (第 III 相試験) で有益な結果がもたらされたことによる<sup>8)</sup>。その中で初回投与時に trastuzumab を併用しなかった化学療法群では、病期進行後 (progressive disease: PD) に trastuzumab を投与しても生存期間の延長を得なかった。つまり、HER2 過剰発現の再発性乳癌では trastuzumab 投与は必須であるということが明らかになった。その後、結腸癌・直腸癌を対象として、抗 VEGF 抗体 (bevacizumab, 商品名: Avastin) や抗 EGF-R 抗体である cetuximab (商品名: Erbitux) などが開発され、現在臨床試験の段階にある。

### ファージディスプレイライブラリー法

1985 年に Smith らが<sup>9)</sup>、ファージディスプレイライブラリーの作成を、また、1991 年と 1994 年に Winter らが<sup>10)11)</sup>、ファージディスプレイ法によるヒト化抗体を開発したことによって、全くマウスのアミノ酸配列をなくした抗体の作成が可能となった。ファージディスプレイ技術の特徴は、任意のタンパク質やペプチドを、他の分子と相互作用しうような状態でファージの表面に提示できること、しかも、その提示された分子のシーケンス情報がそのファージクロンの DNA の中に組み込まれているということである。また、ファージ自身、一度に大量のクローンを扱うことが可能なため、種々のタンパク質やペプチドをコードしている遺伝子を組み込むことで、 $10^8 \sim 10^{12}$  程度のタンパク質・ペプチドライブラリーを構築することができる。具体的には、正常なヒト B リンパ球よりヒト抗体重鎖、軽鎖 mRNA を RT-PCR で増幅するとともに、CDR3 領域に人工的配列を加えたもの (ファージライブラリー) から、高親和性のヒト可変領域を発現するクローンを選択する (ファージディスプレイ法) ものである (Fig. 2)。これにより、ファージディスプレイヒト抗体ライブラリーは、試験管内で生体内の抗体

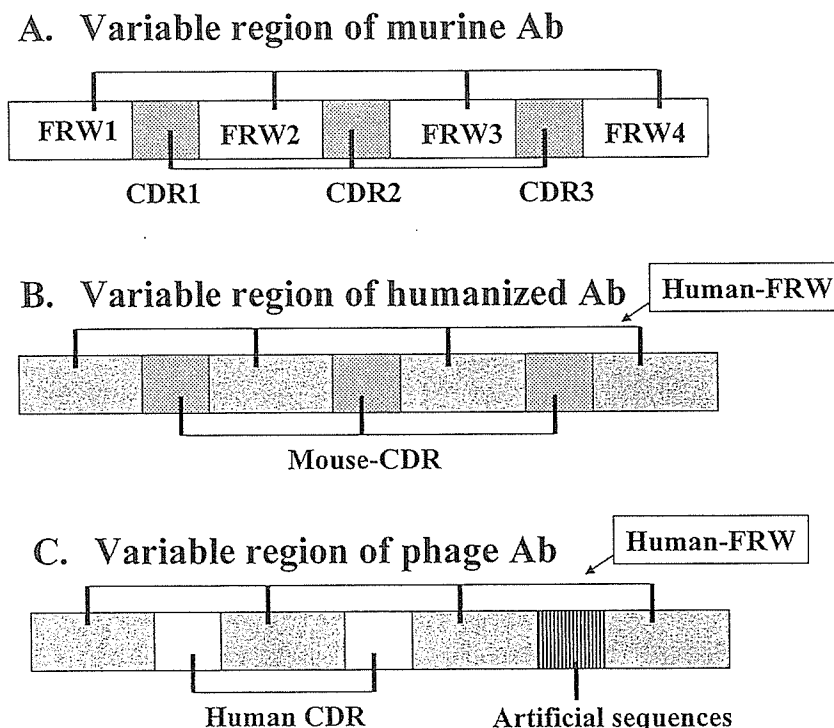


Fig. 2 Various modifications of variable regions of antibodies: Mouse monoclonal antibodies have three CDRs and four frame works (FRWs) (A). Variable regions of humanized antibodies have mouse CDRs and human FRWs (B). Variable regions of phage antibodies contain full human CDR1 and 2 with some mutations and artificial sequences in CDR3 (C).

産生系を模倣し、かつ抗原の種類を選ばない優れたシステムとして、ヒト自己成分を含む多種類の抗原に対する完全ヒト型抗体作成への新たな道を開き、抗体医薬開発に大きな影響を与えている。

TNF- $\alpha$  は多くの炎症反応に関与するサイトカインカスケードであり、慢性関節リウマチ (RA) を引き起こす炎症性サイトカインの上流に位置すると考えられている。そこで、過剰に産生されている TNF- $\alpha$  を中和することにより炎症組織を正常化する試みが行われている。なかでも、tumor necrosis factor (TNF) - $\alpha$  に対する抗体 infliximab (cA2) (商品名：レミケード) は、2001年に米国で RA 患者への臨床試験が行われ一定の効果が得られたが<sup>12)</sup>、キメラ抗体であるためヒト化抗体に対するヒト抗体 (human anti-human antibody: HAHA) が出現している。delete 抗体の特異性は可変領域遺伝子の再構成と突然変異によって生み出されるため、常に非自己として認識される可能性を秘めている (Jerne, NK の Network Theory<sup>13)</sup>)。つまり、「ヒト抗体だから、それに対する抗体は産生されない」とはならない。ヒト抗体は他の抗体に比し、極めて免疫原性 (抗原性) が低いものと理解する必要がある。これを克服するために、現在では、ファージディスプレイ法により得られた完全ヒト化抗体 (single chain fragment variant: scFv) である D2E7 が作成され、RA に対する臨床試験が行われている。

#### 治療効果をあげるエンジニアリング

近年、抗体医療はようやく一つの医薬分野としての地位を築きつつある。現在は他のテクノロジーと組み

合わせることで、抗体の新たな使用法を模索している段階である。医薬品としての焦点は「いかにして治療効果を上げるか。」ということに尽きる。

2001年の秋、米国で起きた炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) テロ事件で、肺炭疽により5人の犠牲者が出た。彼らは抗生物質による集中治療にも関わらず死亡した。炭疽菌は浮腫因子、致死因子、防御抗原の3種類の毒素を産生し、感染者を死に至らしめる。まず、防御因子が標的細胞に結合し、致死因子と浮腫因子を細胞内に入れるためのゲートを作り出す。細胞内に入り込んだ浮腫因子は細胞の機能低下を起こさせ、致死因子は細胞を死に至らしめる。防御抗原はいうなれば細胞膜を貫通させる強力なドリルと注射筒のようなものである。現在の米軍の使用ワクチンは炭疽菌の菌体を含まない防御抗原のみをワクチンとして用いている。しかしながら、ワクチン投与は18ヶ月、6回に及び、急激な感染に対応できない<sup>14)</sup>。

筆者らは防御抗原に対する抗体の可変領域 (重鎖と軽鎖をGSリンカー (GGGS) 3のペプチドでつないだものとヒト Ig $\kappa$  の定常領域を結合したもの (単鎖抗体: single-chain antibody: scab) を5型ヒトアデノウイルス (E1-, E3-) に組み込んだベクターを構築した (Fig. 3)。可変領域はファージディスプレイの技術により最も抗原との結合性が高く、また血中での安定性が高く、かつ防御抗原の中和活性が高いものを用いた<sup>15)</sup>。可変領域は分子量が小さく (約45 kDa) 組織浸透性は高いが、反面血中での半減期が短い。しかしながら、アデノウイルスによる高発現が半減期の短さを短縮するものと考えた。その結果、ベクターにより

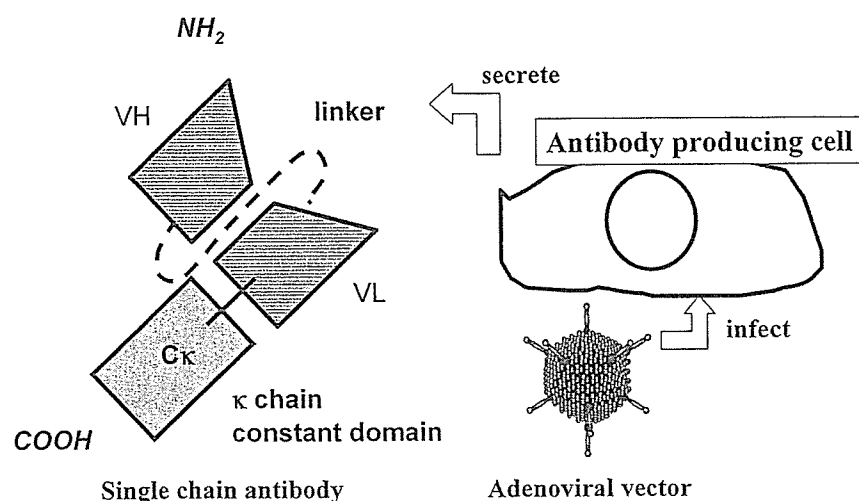


Fig. 3 Single chain antibodies produced by recombinant technology. They were secreted from cells infected by adenovirus vector.

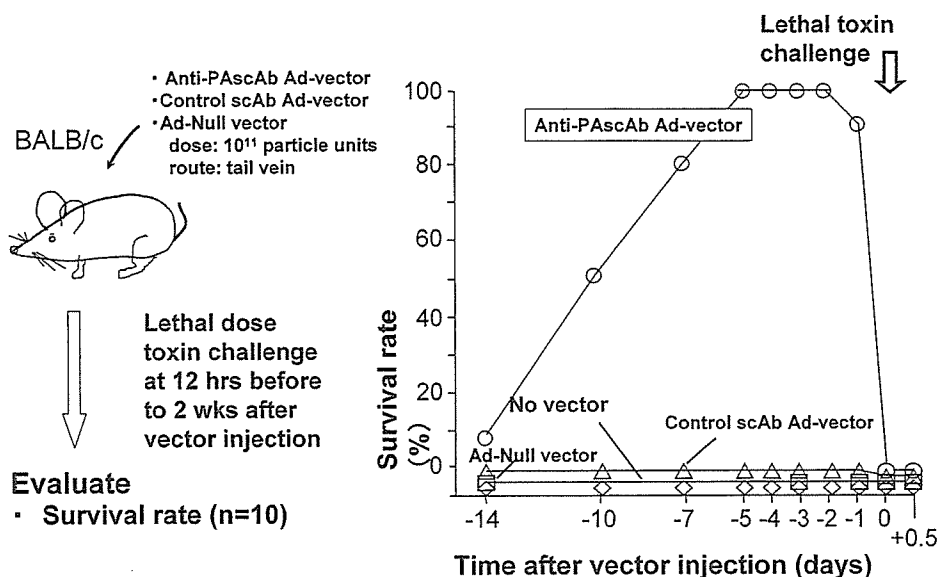


Fig. 4 Following adenovirus anti-PAscAb administration to mice, anti-PA single chain antibody and anti-PA neutralizing activity were detected in serum over a 2-week period. Substantial survival advantage from anthrax lethal toxin was conferred by the Ad-anti-PAscAb (open circle) following administration from 1 to 14 days prior toxin challenge.

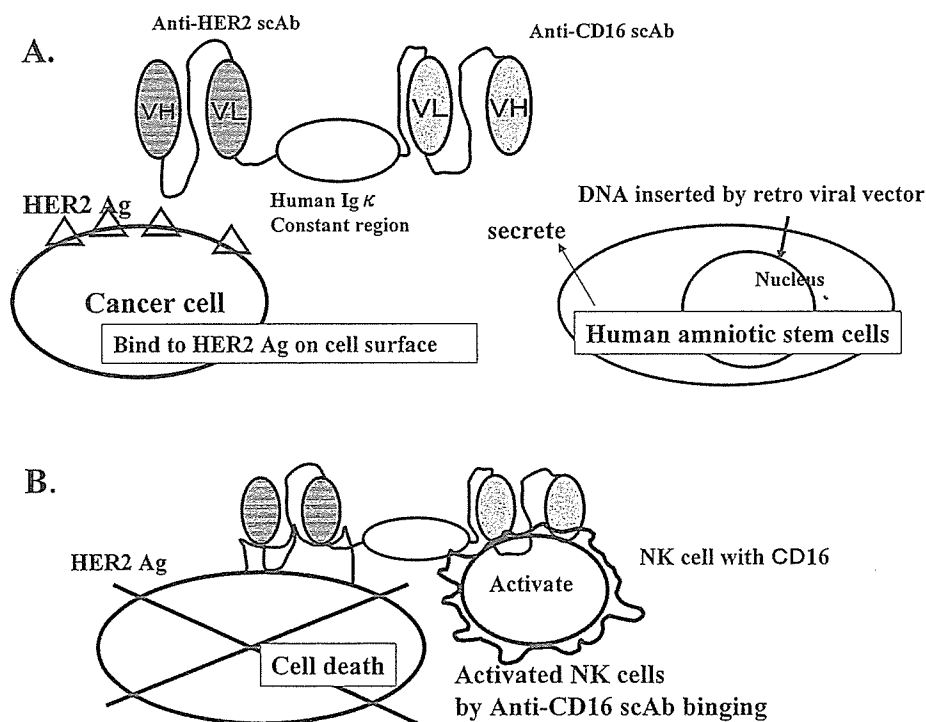


Fig. 5 Bispecific antibodies using the human anti-HER2 scFv (C6.5) and the human CD16 scFv component (NM3E2). The NM3E2 scFv retains binding CD16 in the presence of plasma IgG. The human origin of C6.5×NM3E2 bs-scFv avoids the HAMA responses that were one of the obstacles encountered in the clinical trials performed with the 2B1 bsAb(A). The bsAb induced NK cell activation and highly selective HER2 expressing tumor targeting (B).

産生された単鎖抗体は、投与1日目から14日目まで、マウスの致死試験においてマウスを生存させた (Fig. 4)。このように多量の中和抗体を投与する方法として、特別な担体、carrier (この場合はアデノウイルス) を用いることも抗体の効果を上げる方法である<sup>16)</sup>。

抗体医療において抗体が機能するためには、エフェクター機能 (ADCCとCDC) が重要である。エフェクター機能とは、抗体のFc領域が担い、抗体のクラスに依存する。抗腫瘍効果においては、特にADCCがキーとなる。delete IgGクラス抗体がT細胞、NK細胞

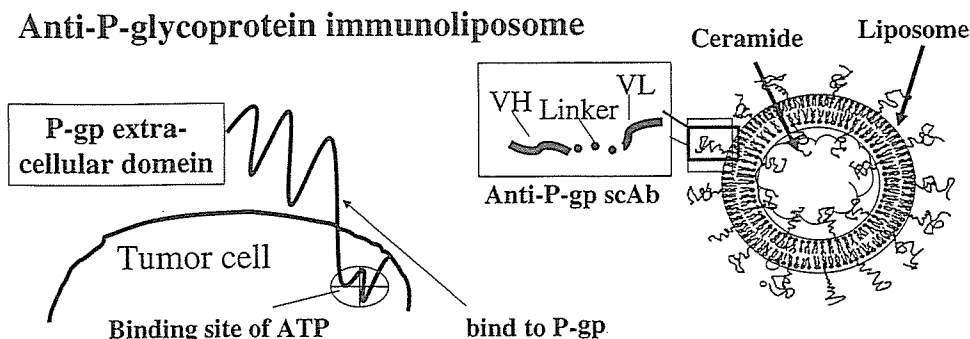


Fig. 6 Schematic illustrations of a selective transfer model proposed for ceramide from anti-P-gp immunoliposome to the P-gp expressing membrane of the tumor cells. The immunoliposome binds to the extradomain of P-gp and internalized by constitutive endocytic processes.

胞、好中球、マクロファージ上の Fc 受容体を介して、これらのエフェクター細胞を活性化し、抗体の結合した標的細胞（腫瘍細胞）を殺す効果を持つ（特に NK 細胞）。日本でも販売されているハーセプチンやリツキサンも ADCC を介して機能していると考えられている<sup>9)</sup>。また抗体自身に修飾を加え、治療効果を高めようとする試みも始まっている。抗体のもつエフェクター機能を高めるため、T 細胞、NK 細胞、好中球、マクロファージを活性化するサイトカイン (IL-2, IL-12, GM-CSF, TNF, RANTES) との融合抗体が研究され、一部で臨床試験が始まっている<sup>17)</sup>。

現在、筆者らは抗 HER2 抗体と抗 CD16 活性化抗体の可変領域の融合抗体を用いた細胞療法を進めている。ヒト抗体遺伝子の大きさは 1-2 Mb と巨大であり、ヒト IgG 抗体の定常領域を遺伝子クローニングすることが困難であることから、Fc 機能の代用として抗 CD16 活性化抗体の可変領域を採用した<sup>18)19)</sup>。レトロウイルスベクターとして同遺伝子を治療用細胞に導入しており、抗体を発現する細胞移植療法への応用を目指している (Fig. 5)。

1990 年代初頭、Vietta E らによりすすめられた癌のミサイル療法にも抗体が用いられた<sup>20)21)</sup>。モノクローナル抗体に抗癌剤や毒素などを結合させ、抗癌効果を癌に限局する drug delivery system (DDS) の方法である。その一つとして、Torchilin らは、標的細胞 (分子) に対する抗体をリポゾームに結合して標的指向性をもたせたイムノリポゾームを提唱した<sup>22)</sup>。Hosokawa, Tagawa らは、胃癌、大腸癌に特異性の高い L-glutamic acid gamma-monohydroxamate (GAH) をリポゾームの表面に配し、リポゾームの中にドキソルビシンを封入したリポゾーム MCC-465 を作成し、世界初の臨床開発にむけて製剤化を検討している<sup>21)</sup>。1999

年から 2001 年に行われた第 I 相試験では、ヒト化抗体の臨床試験においてしばしば観察される HAHA 反応は全く検出されおらず、さらにドキソルビシン封入リポゾームで報告されている心血管系の副作用や手掌・足底発赤症候群の発現も認めなかった<sup>23)24)</sup>。現在、筆者らもアポトーシス誘導作用のあるスフィンゴ脂質であるセラミドを封入したりポゾームの表面に、抗 P 糖タンパクの細胞膜外ドメインに対する単鎖抗体である抗 P 糖タンパク-イムノリポゾームを作成し、その組織特異性を検討中である (Fig. 6)。

#### おわりに

抗体エンジニアリングは抗体医薬を視野に入れ、バイオチップや細胞ディスプレイ系による変異体抗体、ヒト抗体生産トランスジェニックマウス、アプタマーなど話題に尽きない。現在承認されている分子標的薬 (治療用抗体) はすべて抗体エンジニアリングの成果である。今後も新規の薬剤の承認は続くであろう。臨床の医師・医療研究者としては、目的に応じた抗体を見つけて臨床への応用を考えることが大切である。また、安全性や経済性の高い開発法や投与法を模索することも抗体エンジニアリングの一つとして重要と考えられる。

#### 文 献

- 1) Köhler G, Milstein C: Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256: 495-497, 1975
- 2) Maloney DG, Lines TM, Czerwinski DK, Waldichuk C, Rosenberg J, Grillo-Lopez A, Levy R: Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell