

初回再発の退形成性星細胞腫患者に対する Temozolomide 単剤投与の有効性および安全性の検討

—多施設共同第II相試験—

西川 亮*¹ 渋井壮一郎*² 丸野 元彦*³ 杉山 一彦*⁴ 佐藤 慎哉*⁵
 藤巻 高光*⁶ 高橋 英明*⁷ 若林 俊彦*⁸ 高橋 潤*⁹ 河内 正人*¹⁰
 中村 英夫*¹¹ 澤村 豊*¹² 池田 潤*¹³ 堀 智勝*¹⁴ 青木 友和*¹⁵
 松谷 雅生*¹

[*Jpn J Cancer Chemother* 33(9):1279-1285, September, 2006]

Efficacy and Safety of Monotherapy with Temozolomide in Patients with Anaplastic Astrocytoma at First Relapse—A Phase II Clinical Study: Ryo Nishikawa*¹, Soichiro Shibui*², Motohiko Maruno*³, Kazuhiko Sugiyama*⁴, Shinya Sato*⁵, Takamitsu Fujimaki*⁶, Hideaki Takahashi*⁷, Toshihiko Wakabayashi*⁸, Jun Takahashi*⁹, Masato Kochi*¹⁰, Hideo Nakamura*¹¹, Yutaka Sawamura*¹², Jun Ikeda*¹³, Tomokatsu Hori*¹⁴, Tomokazu Aoki*¹⁵ and Masao Matsutani*¹ (*¹Dept. of Neurosurgery, Saitama Medical University, *²Neurosurgery Division, National Cancer Center Hospital, *³Dept. of Neurosurgery, Osaka University Graduate School of Medicine, *⁴Dept. of Neurosurgery, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, *⁵Dept. of Neurosurgery, Yamagata University Faculty of Medicine, *⁶Dept. of Neurosurgery, Teikyo University School of Medicine, *⁷Dept. of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University, *⁸Center for Genetic and Regenerative Medicine, Nagoya University Hospital, *⁹Dept. of Neurosurgery, Kyoto University Graduate School of Medicine, *¹⁰Dept. of Neurosurgery, Faculty of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University (currently with San-ai Hospital), *¹¹Dept. of Neurosurgery, Faculty of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, *¹²Dept. of Neurosurgery, Hokkaido University Faculty of Medicine, *¹³Dept. of Neurosurgery, Hokkaido University Faculty of Medicine (currently with Hokkaido Cancer Center Hospital), *¹⁴Dept. of Neurosurgery, Neurological Institute, Tokyo Women's Medical University, *¹⁵Dept. of Neurosurgery, Brain Tumor Center, Kitano Hospital)

Summary

The efficacy and safety of temozolomide were evaluated in 32 patients with anaplastic astrocytoma at first relapse. Temozolomide was administered orally once daily for the first five days of a 28-day cycle, at a dose of 150 or 200 mg/m²/day. The response rate determined by independent central review of MRI was 34% (95% confidence interval: 18.6%-53.2%), with 3 complete response and 8 partial response. The rate of "no change or better" was 91% (95% confidence interval: 75.0%-98.0%). Progression-free survival (PFS) at 6 months was 40.6%, and the median PFS was 4.1 months.

The incidence of constipation (50%) and nausea (25%) was high, but these events were all mild or moderate in severity except in one subject with constipation, and could be managed with standard laxatives and antiemetics. The main laboratory test abnormalities (total incidence and incidence of grade 3/4 change) were lymphocytopenia (50%, 25%), neutropenia (47%, 6%), leukopenia (38%, 3%), thrombocytopenia (31%, 9%), and increased GPT.

*² 国立がんセンター中央病院・脳神経外科
 *³ 大阪大学大学院医学系研究科・脳神経外科
 *⁴ 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・脳神経外科
 *⁵ 山形大学医学部・脳神経外科
 *⁶ 帝京大学医学部・脳神経外科
 *⁷ 新潟大学脳研究所・脳神経外科
 *⁸ 名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センター
 *⁹ 京都大学大学院医学研究科・脳神経外科

*¹⁰ 熊本大学大学院医学薬学研究部・脳神経外科学分野
 (現 医療法人社団三愛会三愛病院・脳神経外科)
 *¹¹ 熊本大学大学院医学薬学研究部・脳神経外科学分野
 *¹² 北海道大学医学部・脳神経外科
 *¹³ 北海道大学医学部・脳神経外科
 (現 北海道がんセンター・脳神経外科)
 *¹⁴ 東京女子医科大学脳神経センター・脳神経外科
 *¹⁵ 財団法人田附興風会北野病院・脳神経外科脳腫瘍センター

(25%, 3%).

Temozolomide was shown to have good efficacy and tolerability in patients with anaplastic astrocytoma at first relapse. Key words: Anaplastic astrocytoma, Temozolomide, Phase II study (Received May 26, 2006/Accepted Jul. 18, 2006)

要旨 初回再発の退形成性星細胞腫患者 32 名を対象とした temozolomide の多施設共同第 II 相試験を行い、有効性と安全性を評価した。temozolomide は 28 日間を 1 クールとし、各クルールの初めの 5 日間に 150 または 200 mg/m²/日を 1 日 1 回連日経口投与した。全登録例における奏効率は 34% (11/32) (95%信頼区間 18.6%~53.2%) で、奏効例の内訳は著効 3 例、有効 8 例であった。不変以上であった症例の割合は 91% (29/32) (95%信頼区間 75.0%~98.0%) であった。また、6 か月無増悪生存率は 40.6%、無増悪生存期間の中央値は 4.1 か月であった。

自覚症状の有害事象においては便秘 (50%)、悪心 (25%) の発現頻度が高かったが、これらは便秘の 1 例を除いてすべて中等度以下の重症度で、標準的な緩下剤あるいは制吐剤でコントロール可能であった。主たる臨床検査値異常変動は、リンパ球数減少 (50%, grade 3 以上 25%)、好中球数減少 (47%, grade 3 以上 6%)、白血球数減少 (38%, grade 3 以上 3%)、血小板数減少 (31%, grade 3 以上 9%)、GPT 増加 (25%, grade 3 以上 3%) であった。temozolomide は初回再発の退形成性星細胞腫に対して優れた奏効率と忍容性を示した。

はじめに

神経膠腫は脳腫瘍の 25% を占める¹⁾。神経膠腫に対する治療方法は確立されているとはいえず、治療成績も 1980 年代からほとんど進歩していない。特に退形成性星細胞腫 (anaplastic astrocytoma: AA) や膠芽腫 (glioblastoma: GBM) といった WHO 脳腫瘍悪性度 grade III/IV に相当するいわゆる悪性神経膠腫の治療成績は不良で、それぞれの 5 年生存率は 24% と 7% でしかない²⁾。temozolomide は初発膠芽腫患者における生存期間延長効果が、第 III 相試験によって確認されている唯一の薬剤である³⁾。2005 年に発表されたこの第 III 相試験の結果、世界的には悪性神経膠腫の標準治療薬となりすでに 77 か国で承認されている (2005 年 8 月現在) が、本邦では未承認である。

temozolomide はアルキル化剤に分類される抗腫瘍薬で、血漿中など生理的条件下で容易に加水分解され、5-[1*Z*]-3-methyltriazene-1-yl]-1*H*-imidazole-4-carboxamide (MTIC) に変換される⁴⁻⁷⁾。MTIC は速やかに分解され、活性本体であるメチルジアゾニウムイオンを生成し、DNA のアルキル化分子として作用する^{5,7)}。temozolomide は未変化体のまま血液脳関門を通過することが確認されている⁸⁾。temozolomide の脳腫瘍に対する効果は、血中で生成され循環する MTIC による抗腫瘍作用に加えて、未変化体の temozolomide が血液脳関門を通過し、標的部位に移行した後に局所で生成される MTIC による抗腫瘍作用の両者の寄与が考えられている。

今回、本邦における初回再発 AA の患者を対象として、temozolomide の有効性および安全性を検討するための多施設共同第 II 相試験を 2003~2005 年に、各実施医療機関の治療審査委員会での承認を経た上で実施した。薬剤投与後 6 か月時点における結果を報告する。本試験

実施医療機関、中央病理診断医および効果安全性評価委員会は表 1 のとおりである。

I. 対象と方法

1. 対象

初回手術時に組織学的に AA と確認されている患者で、MRI によって腫瘍の再発または再増大が確認され、登録時の Karnofsky performance status (KPS) が 70% 以上、年齢 18 歳以上の患者を対象とした。組織学的診断は中央病理診断医 (表 1) によって再検討を行った。また、初発時に放射線治療および nitrosourea 系薬剤を含む治療レジメンによる化学療法が施行されていることを必要条件とした。

2. 評価項目

1) 有効性

MRI 画像で腫瘍径が最大であるスライスを用いて 2 方向測定法により腫瘍縮小効果を判定した⁹⁾。MRI 画像上すべての腫瘍が消失したものを著効、測定可能病変の径の積の総和が 50% 以上減少し、新病変の出現が認められないものを有効、測定可能病変の径の積の総和が 25% 以上増大するか新病変が出現したものを進行、これらのいずれにも該当しないものを不変とした。また、ステロイドの使用状況と神経学的改善度を加味して総合的腫瘍縮小効果を判定した (表 2)。腫瘍縮小効果と総合的腫瘍縮小効果は効果安全性評価委員会 (表 1) が判定した。さらに、薬剤投与開始 6 か月後までの無増悪生存 (progression free survival: PFS) を評価した。

2) 安全性

体重、体温、血圧、脈拍数の測定および臨床検査 (血液学的検査、血液生化学検査、尿検査) を施行し有害事象と副作用を調査した。有害事象は可能な限り National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-

表 1 試験実施医療機関，中央病理診断医および効果安全性評価委員会

試験実施医療機関	国立大学法人北海道大学病院 国立大学法人山形大学医学部附属病院 東京女子医科大学病院 帝京大学医学部附属病院 国立がんセンター中央病院 埼玉医科大学病院 国立大学法人新潟大学医学部総合病院 名古屋大学医学部附属病院 京都大学医学部附属病院 財団法人田附興風会北野病院 大阪大学医学部附属病院 兵庫医科大学病院 広島大学病院 国立大学法人愛媛大学 愛媛大学医学部附属病院 国立大学法人熊本大学 熊本大学医学部附属病院 国立大学法人鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 医療法人医仁会中村記念病院	
中央病理診断医	群馬大学大学院医学系研究科病態病理学	中里 洋一
効果安全性評価委員会	国家公務員共済組合連合会大手前病院 佐賀大学医学部 (現在の所属: 医療法人社団博文会小柳記念病院) 名古屋市立大学大学院医学研究科量子放射線医学分野	生塩 之敬 田淵 和雄 芝本 雄太

表 2 総合的腫瘍縮小効果の判定基準

判定	判定基準
著効	1 か月以上の間隔をおいた連続する MRI で、すべての腫瘍が消失し、長期治療により必要とされた生理学的用量のステロイド投与を除いてステロイド投与を中止し、かつ神経学的に安定しているか、または改善している
有効	1 か月以上の間隔をおいて実施された連続する MRI で、2 方向測定可能病変の積の総和が 50%以上 (100%未満) 減少する、かつステロイド使用量が前回の MRI 検査時に投与した用量と同用量または、それより低用量で各 MRI 検査前 7 日間におけるステロイド使用量の安定がみられ、さらに神経学的安定または改善がみられる。新病変の出現が認められないもの
進行	MRI で評価可能な病変について、2 方向測定可能病変の積の総和が 25%以上増大するか、新病変が出現したもの、ステロイド使用量が前回の MRI 検査時に投与した用量と同用量または、それより高用量で各 MRI 検査前 7 日間におけるステロイド使用量の安定がみられる。さらに神経学的増悪を伴うかまたは伴わないもの
不変	その他の状況すべて

CTC) Version 2.0¹⁰⁾に従って判定し、NCI-CTC に規定されていない事象に関しては、症状が認められるが日常的活動が妨げられず処置を要さないものを軽度 (grade 1)、不快感のために日常的活動が妨げられる、または臨床状態に影響が認められるもので、処置を要するものを中等度 (grade 2)、日常的活動が不能となる、または臨床状態に重大な影響が認められるものを重度 (grade 3) と分類した。

3. 試験方法

temozolomide は 5 日間連続で 1 日 1 回空腹時に経口投与し、その後 23 日間休薬する 28 日間を 1 クールとした。第 1 クールでは temozolomide 150 mg/m²/日を投与

し、第 2 クール以降は用量調節判定基準 (表 3) に従い 100, 150 または 200 mg/m²/日から選択した用量を投与した。また、各クールの開始に際して開始を延期する基準を設定した。すなわち、好中球数が 1,500/mm³未満あるいは血小板数が 100,000/mm³未満であった場合、それぞれが 1,500/mm³あるいは 100,000/mm³以上に回復するまで次クールの投与を開始しないこと、grade 2 で temozolomide との因果関係が否定できない有害事象 (悪心・嘔吐, 脱毛, 血液学的検査値を除く) が出現した場合は投与前の状態に戻るまで、また grade 3/4 で temozolomide との因果関係が否定できない有害事象 (悪心・嘔吐, 脱毛, 血液学的検査値を除く) が出現した場

表 3 好中球数および血小板数ならびに有害事象の発現に基づく用量調節判定基準

		好中球数または血小板数		
		grade 1	grade 2	grade 3
		好中球数の最低値 ≥1,500/mm ³	好中球数の最低値 1,000~1,500/mm ³	好中球数の最低値 <1,000/mm ³
		血小板数の最低値 ≥100,000/mm ³	血小板数の最低値 50,000~100,000/mm ³	血小板数の最低値 <50,000/mm ³
好中球数と血小板数以外の有害事象		grade 0~2 1日50 mg/m ² 増量 あるいは用量変更なし	用量変更なし	1日50 mg/m ² 減量
		grade 3, 4 1日50 mg/m ² 減量 あるいは用量変更なし (減量しない理由のコメントが必要)	1日50 mg/m ² 減量 あるいは用量変更なし (減量しない理由のコメントが必要)	1日50 mg/m ² 減量 あるいは投与中止

合は grade 2 以下に回復するまで次クールの投与を開始しないこととした。

II. 結果

1. 患者背景

登録症例数は32例であった。年齢中央値は52.5歳(31~71歳)で、18例(56%)が男性、薬剤投与開始前のKPSの中央値は90%であった。中央病理診断によってAAと診断された症例は22例(69%)、AA以外は10例(31%)で、その内訳は退形成性乏突起星細胞腫(anaplastic oligoastrocytoma: AOA)6例、乏突起星細胞腫(oligoastrocytoma: OA)1例、GBM 1例、GBM疑い1例、rosetted glioneuronal tumor 1例であった(表4)。

2. 有効性

効果安全性評価委員会によって判定された第6クール終了時点までの腫瘍縮小効果は著効3例、有効8例、不変18例、進行2例、判定不能1例で、奏効率(著効+有効)34%(95%信頼区間18.6~53.2%)であった。中央病理診断によってAAと確認された症例に限ってみると著効2例、有効5例、不変12例、進行2例、判定不能1例で、奏効率は32%(95%信頼区間13.9~54.9%)であった。判定不能症例とは神経症状の悪化により状態が悪く効果判定のためのMRIが施行できなかった1例である。

ステロイド剤の使用状況と神経学的改善度を加味した総合的腫瘍縮小効果(表2)では、著効1例、有効9例、不変19例、進行2例、判定不能1例で、奏効率は31%(95%信頼区間16.1~50.0%)であった。中央病理診断でAAと確認された22症例においては、総合的腫瘍縮小効果における著効はなく、有効6例、不変13例、進行2例、判定不能1例で、奏効率は27%(95%信頼区間10.7~50.2%)であった。腫瘍縮小効果あるいは総合的腫瘍縮小効果が不変以上であった症例はいずれも29例

(91%, 95%信頼区間75.0~98.0%)で、中央病理診断によってAAと確認された22例においては、腫瘍縮小効果あるいは総合的腫瘍縮小効果が不変以上であった症例はいずれも19例(86%, 95%信頼区間65.1~97.1%)であった。

中央病理診断においてAA以外と判定された症例においては、AOA 6例の奏効率33%(有効2例)、OA 1例は不変、GBM 1例は有効、GBMの疑い1例が著効、rosetted glioneuronal tumor 1例は不変であった。

32症例のPFSのKaplan-Meier曲線を図1に示した。PFSの中央値は4.1か月、6か月無増悪生存率は40.6%(95%信頼区間23.6~57.6%)であった。これも中央病理診断においてAAと確認された22例に限ってみると、PFS中央値3.9か月、6か月無増悪生存率は31.8%(95%信頼区間12.4~51.3%)であった。6か月間に死亡した症例は原疾患の悪化による1例のみであった。

3. 安全性

32症例のうち25例で第2クール以降のいずれかの時点で200 mg/m²/日に増量し、第6クール終了または治療中止時まで減量しなかった。1例では第2クールから200 mg/m²/日に増量したが、第4クールからは150 mg/m²/日に減量した。100 mg/m²/日に減量した症例はなかった。第5クール終了までに試験中止となった症例は9例で、原疾患の悪化6例、敗血症1例、脳室内出血1例、転居による転院1例であった。

32症例すべてにおいて何らかの有害事象を認めたが、56%の症例では軽度または中等度であった(表5)。生命を脅かすか活動不能に至る重症度(grade 4)の有害事象は3例(9%)に発現したが、その内容は汎血球減少症に伴う敗血症から播種性血管内凝固症候群、呼吸不全ならびに急性腎不全に至った症例1例、脳室内出血1例、低血糖と低カリウム血症1例であった。発現頻度が20%以

表4 主要な被験者背景

年齢 (歳), n=32	平均値±標準偏差	51.5±13.3
	中央値	52.5
	最小値～最大値	31～71
年齢区分, n=32	40歳未満	9 (28%)
	40歳以上 50歳未満	5 (16%)
	50歳以上 65歳未満	11 (34%)
	65歳以上	7 (22%)
性別, n=32	男性	18 (56%)
	女性	14 (44%)
体重 (kg), n=32	平均値±標準偏差	56.23±9.83
	中央値	57.05
	最小値～最大値	35.6～79.8
中央病理判定結果, n=32	退形成性星細胞腫	22 (69%)
	退形成性乏突起星細胞腫	6 (19%)
	乏突起星細胞腫	1 (3%)
	膠芽腫	1 (3%)
	膠芽腫疑い	1 (3%)
	rosetted glioneuronal tumor	1 (3%)
前治療での nitrosourea 系薬剤の使用, n=32	なし	0
	あり	32 (100%)
ステロイド使用, n=32	なし	21 (66%)
	あり	11 (34%)
直近のステロイド使用量* (mg/日), n=11	平均値±標準偏差	19.63±11.76
	中央値	16.7
	最小値～最大値	4.2～50
直近のステロイド使用量*区分, n=11	10 mg/日未満	1 (9%)
	10 mg/日以上 20 mg/日未満	5 (45%)
	20 mg/日以上	5 (45%)
治験薬投与開始前の KPS n=32	平均値±標準偏差	87.5±11.1
	中央値	90
	最小値～最大値	70～100
治験薬投与開始前の KPS 区分, n=32	70	6 (19%)
	80	6 (19%)
	90	10 (31%)
	100	10 (31%)
初発時の手術内容, n=32	全摘出	8 (25%)
	部分摘出	15 (47%)
	生検	9 (28%)
放射線療法の種類, n=32	標準線量	32 (100%)
	過分割照射	0
	加速分割照射	0
初回診断から初回再発までの期間 (か月), n=32	平均値±標準偏差	27.36±30.60
	中央値	17
	最小値～最大値	3.1～128.1
初回診断から初回再発までの期間区分 (か月), n=32	3か月未満	0
	3か月以上 6か月未満	8 (25%)
	6か月以上 9か月未満	1 (3%)
	9か月以上 12か月未満	3 (9%)
	12か月以上	20 (63%)
初回再発時の手術施行の有無, n=32	なし	27 (84%)
	全摘出	0
	部分摘出	4 (13%)
	生検	1 (3%)

*: prednisolone 換算値 (外用剤を除く)

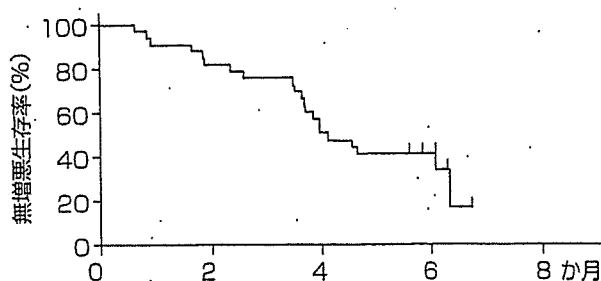


図1 全登録症例32例における無増悪生存期間のKaplan-Meier 曲線
横軸は治療開始からの期間

表5 発現頻度が10%以上の有害事象

	軽度	中等度	重度	生命 ^{*1}	合計
有害事象発現症例数 ^{*2}	1 (3%)	18 (56%)	10 (31%)	3 (9%)	32 (100%)
臨床検査 ^{*3}	4 (13%)	13 (41%)	9 (28%)	2 (6%)	28 (88%)
リンパ球数減少 ^{*4}	0	8 (25%)	8 (25%)	0	16 (50%)
好中球数減少	5 (16%)	8 (25%)	1 (3%)	1 (3%) ^{*5}	15 (47%)
白血球数減少	2 (6%)	9 (28%)	0	1 (3%) ^{*5}	12 (38%)
血小板数減少	5 (16%)	2 (6%)	3 (9%) ^{*5}	0	10 (31%)
GPT 増加	4 (13%)	3 (9%)	1 (3%)	0	8 (25%)
GOT 増加	4 (13%)	0	1 (3%)	0	5 (16%)
ヘモグロビン減少	2 (6%)	3 (9%)	0	0	5 (16%)
血中ブドウ糖増加	1 (3%)	2 (6%)	1 (3%)	0	4 (13%)
胃腸障害 ^{*3}	10 (31%)	16 (50%)	1 (3%)	0	27 (84%)
便秘	2 (6%)	13 (41%)	1 (3%)	0	16 (50%)
悪心	6 (19%)	2 (6%)	0	0	8 (25%)
上腹部痛	2 (6%)	2 (6%)	0	0	4 (13%)
下痢	4 (13%)	0	0	0	4 (13%)
嘔吐	3 (9%)	1 (3%)	0	0	4 (13%)
感染症および寄生虫症 ^{*3}	6 (19%)	9 (28%)	2 (6%)	1 (3%)	18 (56%)
鼻咽頭炎	5 (16%)	6 (19%)	0	0	11 (34%)
神経系障害 ^{*3}	4 (13%)	8 (25%)	2 (6%)	1 (3%)	15 (47%)
痙攣	0	6 (19%)	0	0	6 (19%)
頭痛	5 (16%)	1 (3%)	0	0	6 (19%)
全身障害および投与局所様態 ^{*3}	11 (34%)	0	2 (6%)	0	13 (41%)
倦怠感	5 (16%)	0	0	0	5 (16%)
疲労	4 (13%)	0	0	0	4 (13%)
代謝および栄養障害 ^{*3}	8 (25%)	1 (3%)	0	0	9 (28%)
食欲不振	8 (25%)	1 (3%)	0	0	9 (28%)

*1: 生命を脅かすか、または活動不能に至る重症度

*2: 発現した有害事象の最高 grade による症例数

*3: 各分類の有害事象発現数は、複数の事象を発現した症例があるために示された個別の有害事象数の計とは一致しない

*4: 日和見感染によるものではない

*5: 好中球数減少1件、白血球数減少1件、血小板数減少1件は同一の症例で認められ、これらの異常を含めた播種性血管内凝固症候群および汎血球減少症の有害事象名で報告されたが、ここでは個々の臨床検査値異常を有害事象として記載した

上であった有害事象は便秘 (16例: 50%), 鼻咽頭炎 (11例: 34%), 食欲不振 (9例: 28%), 悪心 (8例: 25%), リンパ球数減少 (16例: 50%), 好中球数減少 (15例: 47%), 白血球数減少 (12例: 38%), 血小板数減少 (10例: 31%), アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT) 増加 (8例:

25%) であった。血液学的検査において grade 3/4 の有害事象の頻度は、好中球数減少 2例 (6%), 血小板数減少 3例 (9%), リンパ球数減少 8例 (25%), 白血球数減少 1例 (3%) であった (表5)。死亡に至った有害事象は発現しなかった。

III. 考 察

米国において temozolomide の有効性と安全性が最初に示された再発 AA¹¹⁾を治療対象とし、本邦における有効性と安全性を確認することを目的として本試験を行った。再発 AA において報告されている PFS 中央値は 3~5 か月であるので¹¹⁻¹³⁾、本試験においては 6 か月時点での総合的腫瘍縮小効果と安全性の評価を主要評価項目とし PFS は副次評価項目として解析を行った。

米国の第II相試験は再発 AA および再発 AOA を対象とし、本試験とほぼ同じデザインで 1995 年から実施された。腫瘍縮小効果による奏効率は 35%、CR 症例は 8%と報告されているが、これは本試験における奏効率 34%、CR 症例 9%とほぼ同等である。また、PFS 中央値と 6 か月無増悪生存率も米国第II相試験ではそれぞれ 5.4 か月 (46%)、本試験では 4.1 か月 (40.6%) で、これもほぼ同等の成績であった¹¹⁾。

本試験では再発 AA として 32 症例が登録されたが、中央病理診断によって AA と確認された症例は 22 例であった。AA 以外と診断された 10 例のうち 6 例は AOA であった。米国のデータは再発 AA と再発 AOA を対象としたものであるから、結果として米国の試験とほぼ同様の腫瘍型を対象とした試験となり、結果も同等であった。中央病理診断によって AA と確認された 22 例における腫瘍縮小効果と総合的腫瘍縮小効果ならびに無増悪生存期間は、全登録症例 32 例における結果と比べていずれもわずかに劣っていた。しかしこれは、全登録症例に含まれていた AOA 6 例の腫瘍縮小効果が優れていたからではなく、GBM の 1 例と GBM 疑いの 1 例がそれぞれ有効と著効を示したことによる差と解釈された。したがって、中央病理診断によって確認された AA の 22 症例と全登録症例 32 例における結果の差は、temozolomide の有効性において意味のあるものとは判断されなかった。

本試験において発現した有害事象も、すでに報告されているものであった。自覚症状においては便秘 (50%) および悪心 (25%) の発現頻度が高かったが、標準的な緩下剤あるいは制吐剤でコントロール可能であった。また、発現頻度が高かった臨床検査値異常の主たる項目は骨髄抑制に関係するものであったが、骨髄抑制は蓄積性ではなく、投与の延期や投与量の減量を要した症例は 17 例 (53%) であったが、投与量を調節することによって投与継続が可能であった。また遅発性の有害事象は認められなかった。

本試験によって、初回再発の退形成性星細胞腫における temozolomide の有効性および忍容性が日本人においても確認され、temozolomide は再発退形成性星細胞腫に対する有効な薬剤となり得ることが示された。本邦においても他の神経膠腫を対象とした臨床試験が積極的に行われ、あるいは海外の臨床試験成績が外挿されていくことが期待される。

文 献

- 1) The Committee of Brain Tumor Registry of Japan: Report of brain tumor registry of Japan (1969-1996), 11th edition. *Neurologia Medico-Chirurgica* 43(Suppl):1-111, 2003.
- 2) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al: Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352(10):987-996, 2005.
- 3) Slack JA, Goddard C, Stevens MFG, et al: The analysis and murine pharmacokinetics of a new antitumor agent: CCRG 81045. *J Pharm Pharmacol* 38: 63, 1986.
- 4) Wheelhouse RT and Stevens MFG: Decomposition of the antitumor drug temozolomide in deuterated phosphate buffer: methyl group transfer is accompanied by deuterium exchange. *J Chem Soc Chem Commun* 15: 1177-1178, 1993.
- 5) Denny BJ, Wheelhouse RT, Stevens MFG, et al: NMR and molecular modeling investigation of the mechanism of activation of the antitumor drug temozolomide and its interaction with DNA. *Biochemistry* 33: 9045-9051, 1994.
- 6) Stevens MFG, Hickman JA, Langdon SP, et al: Antitumor activity and pharmacokinetics in mice of 8-carbomoyl-3-methyl-imidazo [5,1-d]-1,2,3,5-tetrazin-4 (3H)-one (CCRG 81045: M & B 39831), a novel drug with potential as alternative to dacarbazine. *Cancer Res* 47: 5846-5852, 1987.
- 7) Newlands ES, Stevens MFG, Wedge SR, et al: Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, pre-clinical development and clinical trials. *Cancer Treat Rev* 23: 35-61, 1997.
- 8) Ostermann S, Csajka C, Buclin T, et al: Plasma and cerebrospinal fluid population pharmacokinetics of temozolomide in malignant glioma patients. *Clin Cancer Res* 10: 3728-3736, 2004.
- 9) 脳腫瘍全国統計委員会, 日本病理学会: 臨床・病理脳腫瘍取扱い規約. 第2版, 金原出版, 東京, 2002, pp 61-64.
- 10) 日本臨床腫瘍研究グループ: National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-CTC Version 2.0, April 30, 1999) 日本語訳 JCOG 版-第2版. http://www.jcog.jp/SHIRYOU/CTCJ_v20revised2001_09.pdf
- 11) Yung WK, Prados MD, Yaya-Tur R, et al: Multicenter phase II trial of temozolomide in patients with anaplastic astrocytoma or anaplastic oligoastrocytoma at first relapse. *J Clin Oncol* 17: 2762-2771, 1999.
- 12) Prados MD, Warnick RE, Mack EE, et al: Intravenous carboplatin for recurrent gliomas. A dose-escalating phase II trial. *Am J Clin Oncol* 19: 609-612, 1996.
- 13) Yung WK, Mechtler L and Gleason MJ: Intravenous carboplatin for recurrent malignant glioma: a phase II study. *J Clin Oncol* 9: 860-864, 1991.

中枢神経胚細胞腫瘍治療の基本方針

西川 亮

Some Principles for the Treatment of Central Nervous System Germ Cell Tumors

by

Ryo Nishikawa, M.D.

from

Department of Neurosurgery, Saitama Medical School

Although the optimum treatment of intracranial germ cell tumors remains controversial, there are some basic underlying principles. 1) It is important to confirm the histological type of the tumors by biopsy or extirpation. 2) The appropriate extent of surgery for germinoma still remains to be discussed. The reliability of endoscopic biopsy should be compared with the results of the definite pathology after open biopsy or extirpation of the lesion. 3) In germinoma, it is not necessary to irradiate the whole spine. A reduced-volume radiotherapy such as whole-ventricular irradiation, plus chemotherapy should replace craniospinal radiotherapy to avoid the late sequelae of large-volume radiotherapy, such as impairment of endocrinological function or neurocognitive development. Focal irradiation would lead to an increased risk of recurrence. 4) Chemotherapy alone without irradiation is not sufficient to cure germinoma patients. 5) Neoadjuvant chemo-radiotherapy followed by complete excision of the residual tumors should be considered in patients with non-germinomatous germ cell tumors.

(Received September 16, 2005; accepted October 31, 2005)

Key words : germinoma, germ cell tumors, chemotherapy, radiotherapy

Jpn J Neurosurg (Tokyo) 15 : 171-176, 2006

はじめに

中枢神経胚細胞腫瘍には多彩な組織型が含まれているが、これを3群に分ける分類が提唱されている (Table 1)¹¹⁾。この分類は、多数の症例の生存期間解析を基にした日本独自の成果である。欧米では germinoma/non-germinomatous germ cell tumor, あるいは secreting/non-secreting germ cell tumor という2群への分類が一般的であるが、これらの分類ではきめ細かな治療法の選択ができない¹²⁾。中枢神経胚細胞腫瘍の治療は、1980年以前は放射線照射が主体であったが、1980年代に化学療法が導入され治療成績が向上した。1990年代前半の治療成績

としては、5年生存率が germinoma 95%、予後中間群約70%、予後不良群約20%あるいはそれ以下と報告されている¹¹⁾。したがって1990年代後半からの課題は、すでに放射線照射単独によってもおよそ90%の症例が治療可能となっている germinoma においては、治療率を維持しつつ、治療による障害、特に放射線照射による障害を軽減すること、また予後中間群と不良群においては生存期間のさらなる延長を図ることと総括された。この課題の達成を目的として、1995年から厚生労働省がん研究助成金による研究班が組織された。2005年の時点における成果は、5年生存率において germinoma 98%、予後中間群94%、予後不良群64%である (松谷雅生, unpublished

埼玉医科大学脳神経外科 / 〒350-0495 入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 [連絡先: 西川 亮]

Address reprint requests to: Ryo Nishikawa, M.D., Department of Neurosurgery, Saitama Medical School, 38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan

Table 1 Therapeutic classification of intracranial germ cell tumors

Group w/good prognosis
germinoma, pure
mature teratoma
Group w/intermediate prognosis
germinoma w/STGCs
immature teratoma
teratoma w/malignant transformation
mixed tumors composed mainly of
germinoma or teratoma
Group w/poor prognosis
choriocarcinoma
yolk sac tumor
embryonal carcinoma
mixed tumors composed mainly of choriocarcinoma,
yolk sac tumor, or embryonal carcinoma

data). 本稿では、この研究班の成果を踏まえたうえで、中枢神経胚細胞腫瘍治療において押さえておかなければならないポイントの幾つかについて、現時点での考え方を概説する。

中枢神経胚細胞腫瘍においては手術が必要である

いわゆる診断的照射は、組織型によってきめ細かな治療方針を選択する必要があることが認識され、また手術が十分に安全に行われるようになった現在においては、すでに過去のものである。日本脳腫瘍学会による調査によれば、日本脳神経外科学会専門医認定制度 A 項病院において、1997~2001 年までの 5 年間に行われた松果体部腫瘍手術 455 例のうちの手術死亡は 3 例 (0.7%) である (日本脳腫瘍学会による未発表データ)。これは、集計された全開頭脳腫瘍摘出手術 26,495 例における手術死亡率 0.5% とほぼ変わりがない。また、手術による組織確認を行わなかった場合、non-germinomatous germ cell tumor を germinoma と誤る率は 20~30% であり、組織診断未確認のまま治療した germinoma は、組織確認のうえ治療した germinoma よりも 10 年生存率が悪い傾向にあることも知られている¹⁰⁾。腫瘍マーカーの測定は、診断や治療方針の選択や、治療経過の判定にも重要な役割を果たす。しかし、 α -fetoprotein や human chorionic gonadotropin- β (HCG- β) が陰性でも germinoma とは限らず、immature teratoma や embryonal carcinoma, あるいはそれらを含む mixed tumor である可能性がある。Placental alkaline phosphatase¹⁹⁾ や c-Kit¹³⁾ が有意に高値である腫瘍は germinoma 成分を含んでいると考えられるが、これ

Table 2 Relapse in patients with germinomas with reducing irradiation volume (adapted from Rogers SJ, et al. 2005)

Irradiated volume	Patients	Relapse	%
Craniospinal + boost	343	13	4
Whole brain of whole ventricle + boost	278	21	8
Focal	133	31	23

らは non-germinomatous な成分の混入に関して情報をもたらすものではない。画像所見についても然りである⁷⁾。

Germinoma の手術は生検で十分か、あるいはあくまで全摘を目指すべきか

これは摘出量が予後と相関しているかどうかにかかっている。生検だけにした場合も全摘の場合も、治療成績は同様であるとの報告がある¹⁷⁾。しかし、germinoma を含む mixed tumor に対して少量の生検を行った場合に、例えば immature teratoma 成分の混入等を見逃す可能性があるが、これが実際に治療成績にどの位影響するのかについて結論を出すためには多数例の蓄積が必要であろう。最近進歩著しい神経内視鏡による生検に対しても同様の検討が必要である。中枢神経胚細胞腫瘍に対しての内視鏡生検の診断率、すなわち何箇所から生検を行ったならば十分に許容できるエラーの下に診断が下しえるか、内視鏡生検手技の危険率、また最終的には内視鏡生検で診断した症例の生存期間の評価等について、多数症例を集めた科学的なエビデンスの集積が急務である。

Germinoma に対する放射線治療の照射範囲について

—全脳照射か全脳室照射か、あるいは局所照射か—

Germinoma は放射線感受性が高いことはよく知られている。一方、放射線照射には障害の危険性があることも知られている。では、治療成績を落とさない範囲で放射線照射の範囲と線量をどこまで低減できるかという問題である。

照射方法別の治療成績について過去の文献を渉猟し解析した結果が報告されている¹⁵⁾ (Table 2)。この表をみると、まず局所照射では 23% の再発率が報告され、germinoma は局所照射では制御されないことがわかる。一般に局所照射の場合の再発は照射野外にみられることが知られていて、この腫瘍の播種を起こしやすい性格を反映しているものと考えられる。前述の厚生労働省研究班の

経験においても、腫瘍辺縁から 1 cm の安全域を持たせた範囲に照射した場合の germinoma の再発率が 33.3%、腫瘍辺縁から 2 cm の安全域を持たせた範囲に照射した場合の再発率は 18.8%で、やはり局所照射では、たとえ多少のマージンを取って照射したとしても、照射野外に残存する germinoma からの再発が少なくないことが示されている（松谷雅生, unpublished data). これは、MRI 上では腫瘍の存在が検出されていなくても、内視鏡で観察すると第三脳室底などに小さな播種巣が存在することからもうなずける²⁰⁾.

一方、全脳全脊髄照射症例の再発率は 4%とわけて少なく優れた治療効果を示している (Table 2). Germinoma に対する全脳全脊髄照射による治療成績の報告としては、例えばドイツにおける前向き多施設共同研究 MAKEI 83/86/89 を挙げることができる⁴⁾. 全脳全脊髄 30 Gy に加えて局所 15 Gy を照射した結果、5 年間 relapse-free survival は 88.8%、5 年間 overall survival は 92.0%と報告されている。ほぼ満足すべき治療成績であろう。しかし、germinoma においては脊髄照射が必ずしも予後改善に寄与していないことは、多数例の統計学的解析によって証明されている¹⁸⁾. 脊髄照射を行わない場合、全脳照射に局所照射を追加照射した症例も、全脳室照射に局所照射を追加照射した症例も再発率に相違はなく 8%である¹⁵⁾ (Table 2). したがって、治療成績の観点からは全脳照射ではなく、大脳皮質を外して全脳室照射にまでは照射野を絞れるようである。では、全脳照射ではなく全脳室照射でとどめた場合、放射線照射による障害はどの程度低減されるのであろうか。

全脳照射による障害としては、内分泌学的障害と高次機能障害が代表的なものである。放射線照射による内分泌学的障害の発生は古くから知られている。小児白血病における予防全脳照射の場合の解析であるが、障害は線量に依存し、24 Gy であれば成長ホルモンの分泌障害は軽度であり、24 Gy を超えるとその障害は重くなるという報告がある⁶⁾. 全脳室照射においては、第三脳室底の漏斗陥凹等を十分に照射野に含めることが重要であるから、視床下部脳下垂体系も照射野に含まれる。したがって、内分泌学的障害を考える際には、照射野よりも線量の多寡が問題となる。24 Gy の全脳室照射によって治療した germinoma において、治療前から存在した内分泌学的異常は改善しなかったようだが、治療によって新たに出現、あるいは悪化した障害はなかったと報告されている²⁾. ただし、この報告は全脳室照射で治療した症例数が 6 例と少なく、厚生労働省研究班による多数例の報告が俟たれる。

全脳照射による高次機能障害は、18~24 Gy の線量でも mild で遅発性ではあるが障害が出る可能性があることが報告されている。障害は年少児ほど顕著であり、線量が少ない場合は注意力散漫と記憶力障害が主体で、高線量では認知障害を生じるとされている¹⁶⁾. 高度の認知障害であれば発見は比較的容易であるが、注意力散漫や記憶力障害を呈している場合は、それを見落とさないことが必要である。先の MAKEI 研究では、52/56 (92.8%) が学校在学中、あるいは卒業し、35/56 (62.5%) が degree を得たので、高次機能の面でも全脳照射には問題は少ないと報告されている（ここでいう degree が大学卒業を意味するとすると相当に高い数字である）が、具体的な高次機能の検査は行われていない。一方、全脳室照射例の報告では、WAIS 知能検査を行っても治療後の低下は認められていない²⁾¹⁴⁾. ただし高次機能については、どのような検査を行えば鋭敏に障害を検出できるか十分な検討が必要であり、また長期間にわたる追跡も重要である。

Germinoma であっても化学療法のみでは制御できない

Germinoma は化学療法にも感受性がよいことが知られている。そこで放射線照射による障害を避けるために、化学療法のみで治療を行った場合の成績はどうであろうか。米国を中心とした国際共同研究において、bleomycin + etoposide + carboplatin による BEP 療法を 6 コース、CR を達成しない場合は途中から cyclophosphamide を加えるという方法で治療した成績が報告されている。7/71 (9.9%) の患者が治療死したという強力な治療であったが、germinoma 症例の 82% が CR を達成している。しかし、31 カ月の追跡で 49% の症例が再発を呈している³⁾. 日本からも同様に germinoma の 7 例を化学療法 (BEP 療法、または cisplatin + etoposide) のみで治療した結果、全例が CR を達成したが、5/7 例 (71%) が再発したと報告されている⁹⁾. 以上のように、現在の化学療法レジメンでは、放射線照射なしで germinoma を治癒させることはできない。

欧米の動向

欧米の最近の動向について紹介する。French Society for Pediatric Oncology (SFOP) と International Society of Pediatric Hematology and Oncology (SIOP) による臨床試験は、germinoma に対しては carboplatin, ifosfamide, etoposide による化学療法に局所照射 40 Gy を併用する方法

Table 3 Treatment protocol for intracranial germ cell tumors proposed by the Japanese Pediatric Brain Tumor Study Group supported by the Research Grants for Cancer (12-15) from the Ministry of Health and Welfare*

Group w/good prognosis
Chemotherapy
Day 1, carboplatin 450 mg/m ²
Day 1-3, etoposide 150 mg/m ²
three courses every four weeks
Radiotherapy
starts after two courses of chemotherapy
2 Gy, 12 times, whole ventricular
Group w/intermediate prognosis
Chemotherapy
Day 1, carboplatin 450 mg/m ²
Day 1-3, etoposide 150 mg/m ²
three courses every four weeks
Radiotherapy
starts after two courses of chemotherapy
2 Gy, 15 times, whole ventricular+2 Gy, 10 times, focal boost
Salvage surgery if residual tumors are present
Additional five courses of chemotherapy every three to four months
Group w/poor prognosis
Chemotherapy
Day 1-5, ifosfamide 900 mg/m ²
Day 1-5, cisplatin 20 mg/m ²
Day 1-5, etoposide 60 mg/m ²
three courses every four weeks**
Radiotherapy
starts simultaneously with chemotherapy
2Gy, 15 times, whole brain+2Gy, 15 times, whole spine+2Gy, 15 times, focal boost (Whole brain and whole spine should be irradiated simultaneously)
Salvage surgery if residual tumors are present
Additional five courses of chemotherapy every three to four months

*, ** : refer to the supplemental note

で行われた⁵⁾。中間解析において5年生存率98% (SFOP) ないし98% (SIOP) と報告されているが¹⁾、再発症例のほとんどは脳室内播種であったために、次のプロトコルでは全脳室照射を考慮すべきであろうと考察されている。米国では Children's Oncology Group による放射線照射単独 (全脳室 24 Gy+局所 21 Gy) と放射線照射 (局所 30 Gy)+化学療法 (carboplatin, etoposide, cisplatin, cyclophosphamide) を比較するランダム化比較試験 (ACNS0232) が計画されているが、本稿脱稿の時点ではまだ実現していないようである (<http://www.cancer.gov/clinicaltrials/COG-ACNS0232> に概略が記載されて

いる)。いずれにせよ欧米においても germinoma に対する治療は全脳室照射+化学療法が主流となりつつある。

予後中間群・不良群に対する治療

厚生労働省研究班のプロトコルでは、予後中間群に対しては全脳全脊髄照射は必要としないが、全脳室照射に加えて腫瘍局所への追加照射が必要であり、さらに維持化学療法も必要であると規定し、予後不良群においては全脳全脊髄照射が必要で、かつ化学療法と同時に行うことと規定している (Table 3)。この治療方針は、始めに述べたような優れた治療成績の向上をもたらしたが、さらに最近の変更点として salvage surgery の導入が提案された。これは熊本大学のグループが、化学療法と放射線照射による初期治療を行った後に残存腫瘍を摘出する必要性を指摘した報告に基づいている⁸⁾。11例の悪性胚細胞腫瘍 (予後中間群を1例含む) をこの方法で治療した結果、5年生存率90.9%という驚異的な数字が報告され、以降厚生労働省プロトコルにも取り入れられた。

課題

今後の課題を列挙する。

- 1) Germinoma においては内視鏡手術が急速に導入されているが、その方針と役割を確立することが急務である。
- 2) 本稿では触れなかったが、HCG-β産生 germinoma について、本当に予後中間群として扱うべきなのかどうか検討を必要とする。
- 3) 予後中間群および予後不良群においては、厚生労働省研究によって治療成績が大きく改善したが、しかし治療成績のより一層の改善が依然として課題である。照射方法や化学療法の改良、また残存腫瘍に対する salvage surgery の成績の評価が必要である。
- 4) 以上のような治療を行ったにもかかわらず、再発した腫瘍に対する治療方針については、新しい化学療法の導入も含めた検討が必要である。

Table 3 付記

* 本プロトコルは、厚生労働省研究班開始後、治療成績をフィードバックすることにより徐々に修正が加えられてきた。例えば、初期には germinoma の放射線照射を局所照射のみで行った症例があったが、照射野外の再発が少なからず発生したため全脳室に統一された。予後不良群においても、初期には予後中間群のように化学療

法を先行させる方法を採用したが、化学療法期間中に再発する症例がみられたため、放射線照射を同時に開始する方法に変更された。また、germinomaと予後中間群においては一時期、術後残存腫瘍が径2 cm以上、あるいは照射終了時点で腫瘍が消失していない場合はcarboplatin+etoposideではなくifosfamide+cisplatin+etoposideによる化学療法を行うこととしていた時期もあるが、2つの化学療法レジメンの間に治療成績に差がないことが示された結果、この規定は削除された。

** 放射線照射、特に全脊髄照射を同時に行うために強い骨髄抑制が出現することが多く、実際には4週間ごとに3回の化学療法を繰り返すことができない症例も少なくない。その他、播種がある場合や年少者の場合など、放射線照射方法の変更が必要な場合もある。化学療法や放射線照射には細かいノウハウもあるので、治療の実際にあたっては経験のある施設に相談することが望ましい。

本稿の要旨は、第25回日本脳神経外科コンgres総会において発表した。

文 献

- 1) Alapetite C, Patte C, Ricardi U, Garre ML, Frappaz D, Brisse H, Kortmann R, Saran F, Nicholson J, Gaboriaud G, Calaminus G: Primary chemotherapy followed by focal irradiation for intracranial germinoma (ICG): Up-dated results of SFOP (CNS GCT-90) and SIOP (CNS GCT-96). *The First International Symposium on CNS Germ Cell Tumors*. Kyoto, September 16-19, 2003 (abstract).
- 2) Aoyama H, Shirato H, Ikeda J, Fujieda K, Miyasaka K, Sawamura Y: Induction chemotherapy followed by low-dose involved-field radiotherapy for intracranial germ cell tumors. *J Clin Oncol* 20: 857-865, 2002.
- 3) Balmaceda C, Heller G, Rosenblum M, Diez B, Villablanca JG, Kellie S, Maher P, Vlamis V, Walker RW, Leibel S, Finlay JL: Chemotherapy without irradiation - A novel approach for newly diagnosed CNS germ cell tumors: Results of an international cooperative trial. *J Clin Oncol* 14: 2908-2915, 1996.
- 4) Bamberg M, Kortmann RD, Calaminus G, Becker G, Meisner C, Harms D, Göbel U: Radiation therapy for intracranial germinoma: Results of the German Cooperative Prospective Trials MAKEI 83/86/89. *J Clin Oncol* 17: 2585-2592, 1999.
- 5) Bouffet E, Baranzelli MC, Patte C, Portas M, Edan C, Chastagner P, Mechinaud-Lacroix F, Kalifa C: Combined treatment modality for intracranial germinomas: Results of a multicentre SFOP experience. *Br J Cancer* 79: 1199-1204, 1999.
- 6) Duffner PK, Cohen ME, Thomas PR, Lansky SB: The long-term effects of cranial irradiation on the central nervous system. *Cancer* 56: 1841-1846, 1985.
- 7) Fujimaki T, Matsutani M, Funada N, Kirino T, Takakura K, Nakamura O, Tamura A, Sano K: CT and MRI features of intracranial germ cell tumors. *J Neurooncol* 19: 217-226, 1994.
- 8) Kochi M, Itoyama Y, Shiraishi S, Kitamura I, Marubayashi T, Ushio Y: Successful treatment of intracranial nongerminomatous malignant germ cell tumors by administering neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy before excision of residual tumors. *J Neurosurg* 99: 106-114, 2003.
- 9) 隈部俊宏, 日下康子, 城倉英史, 池田秀敏, 白根礼造, 吉本高志: 化学療法単独で治療した頭蓋内胚腫の再発. *No Shinkei Geka* 30: 935-942, 2002.
- 10) 松谷雅生: 脳腫瘍. 東京, 篠原出版新社, 1996, pp.281-304.
- 11) Matsutani M, Sano K, Takakura K, Fujimaki T, Nakamura O, Funata N, Seto T: Primary intracranial germ cell tumors: A clinical analysis of 153 histologically verified cases. *J Neurosurg* 86: 446-455, 1997.
- 12) 松谷雅生: 胚細胞腫瘍. 山浦 晶編: 脳神経外科学大系, 13. 小児脳神経外科. 東京, 中山書店, 2004, pp.368-375.
- 13) Miyahara O, Takeshima H, Kaji M, Hirano H, Sawamura Y, Kochi M, Kuratsu J: Diagnostic significance of soluble c-Kit in the cerebrospinal fluid of patients with germ cell tumors. *J Neurosurg* 97: 177-183, 2002.
- 14) 西川 亮, 松谷雅生: 松果体胚細胞腫瘍患者の高次機能. *認知神経科学* 5: 165-169, 2003.
- 15) Rogers SJ, Moseleh-Shirazi MA, Saran FH: Radiotherapy of localized intracranial germinoma: Time to sever historical ties? *Lancet Oncol* 6: 509-519, 2005.
- 16) Roman DD, Sperduto PW: Neuropsychological effects of cranial radiation: Current knowledge and future directions. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 31: 983-998, 1995.
- 17) Sawamura Y, de Tribolet N, Ishii N, Abe H: Management of primary intracranial germinomas: Diagnostic surgery or radical resection? *J Neurosurg* 87: 262-266, 1997.
- 18) Shikama N, Ogawa K, Tanaka S, Toita T, Nakamura K, Uno T, Ohnishi H, Itami J, Tada T, Saeki N: Lack of benefit of spinal irradiation in the primary treatment of intracranial germinoma: A multiinstitutional retrospective review of 180 patients. *Cancer* 104: 126-134, 2005.
- 19) Shinoda J, Yamada H, Sakai N, Ando T, Hirata T, Miwa Y: Placental alkaline phosphatase as a tumor marker for primary intracranial germinoma. *J Neurosurg* 68: 710-720, 1988.
- 20) Wellons JC 3rd, Reddy AT, Tubbs RS, Abdullatif H, Oakes WJ, Blount JP, Grabb PA: Neuroendoscopic findings in patients with intracranial germinomas correlating with diabetes insipidus. *J Neurosurg* 100: 430-436, 2004.

悪性神経膠腫の治療戦略 2006

西川 亮

Treatment Strategies for Malignant Gliomas—2006

by

Ryo Nishikawa, M.D.

from

Department of Neurosurgery, Saitama Medical University

In the treatment of glioblastoma (GBM), postoperative radiotherapy has been recognized as standard therapy, whereas the addition of chemotherapy has been a controversial issue. A meta-analysis based on 12 randomized trials suggested only a small benefit. The recent trial by the European Organisation for Research and Therapy of Cancer (EORTC) and National Cancer Institute of Canada Clinical Trial Group was the first study to demonstrate unequivocally that the addition of temozolomide to radiotherapy provides a statistically significant survival benefit in GBM. For anaplastic oligodendroglioma and oligoastrocytoma, two separate trials by EORTC and the Radiation Therapy Oncology Group clearly demonstrated that chemotherapy by procarbazine, lomustine, and vincristine, plus radiotherapy does not prolong survival but does increase the incidence of progression-free survival. The combined loss of 1p/19q identifies a favorable subgroup of oligodendroglial tumors, and no genetic subgroup could be identified that benefited with respect to survival from adjuvant PCV. In low-grade gliomas, older age, astrocytoma histology, presence of neurologic deficits, largest tumor diameter, and tumor crossing the midline were important prognostic factors for survival, and these factors can be used to identify low-risk and high-risk patients. Taken together, these evidences reported recently provide the most up-to-date treatment strategies for malignant gliomas.

(Received July 8, 2006; accepted July 14, 2006)

Key words : glioma, temozolomide, radiotherapy, chemotherapy, clinical study

Jpn J Neurosurg (Tokyo) 15 : 694-699, 2006

転換期を迎えた膠芽腫・退形成性星細胞腫の
化学療法

膠芽腫・退形成性星細胞腫に対する化学療法は、1970年代に米国で行われた大規模臨床試験から始まるという過言ではない。まず、手術後に放射線照射も化学療法も行わない群を対照としたランダム化比較試験が行われ、放射線照射あるいは化学療法単独治療による、統計学的に有意の生存期間延長効果が証明された¹⁵⁾。そして

さらに放射線照射に化学療法 (BCNUあるいはMeCCNU) を併用する方法が検証されたが、放射線照射単独群との間には統計学的に有意の生存期間延長効果は認められなかった¹⁵⁾¹⁶⁾。有意の生存期間延長効果は認められなかったわけであるが、実際の生存曲線をみると放射線照射にBCNUを併用した群の生存期間が最も優れていたことから、膠芽腫・退形成性星細胞腫においては、放射線照射にBCNUを併用する方法が手術後の治療として推奨されることになった。わが国においても、術後

埼玉医科大学脳神経外科 / 〒350-0495 入間郡毛呂山町毛呂本郷 38 [連絡先: 西川 亮]

Address reprint requests to: Ryo Nishikawa, M.D., Department of Neurosurgery, Saitama Medical University, 38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama 350-0495, Japan

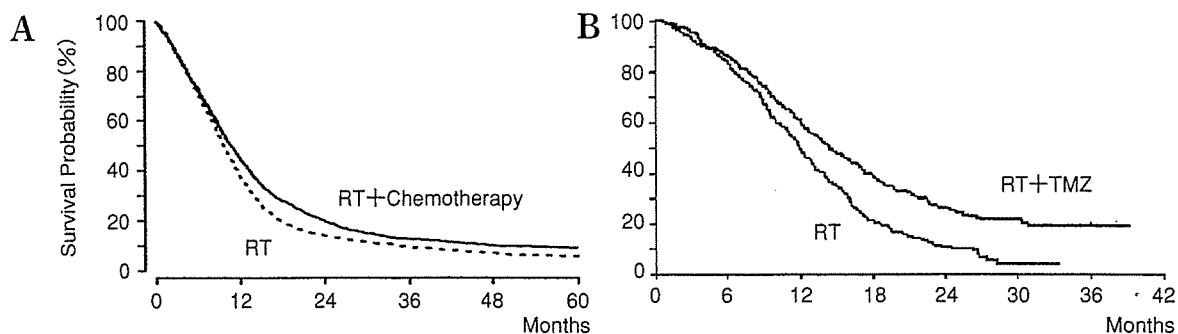


Fig. 1 Kaplan-Meier estimates of overall survival by treatment

A: A meta-analysis comparing radiotherapy (RT) and RT+chemotherapy (nitrosoureas) (modified from Stewart LA, et al).

B: Statistically significant survival advantage of patients treated by RT+temozolomide (TMZ) (modified from Stupp R, et al).

放射線照射に ACNU を併用する方法が、少数例であるがランダム化比較試験によって検証された¹²⁾。やはり有意の生存期間延長効果は認められなかったが、腫瘍縮小率が放射線照射単独群に比べて優れていたことから、膠芽腫・退形成性星細胞腫の術後治療には放射線照射と ACNU を併用する方法が、いわば community standard として広く行われることとなった。

これらの臨床試験を後追する形で、いわゆる meta-analysis が行われた。膠芽腫・退形成性星細胞腫における術後放射線照射に化学療法を併用する治療法を検証した meta-analysis は 2 篇発表されているが⁵⁾¹⁰⁾、特に Glioma Meta-analysis Trialists Group の報告によると、12 のランダム化比較試験、3,004 例の症例を集めて解析した結果、化学療法併用による有意の生存期間延長効果が示された。この解析において *p* 値は 0.0001 以下であり hazard ratio (HR) は 0.85 (95%信頼区間 0.78~0.92) であった (Fig. 1)¹⁰⁾。以上のようにして、これまでアメリカあるいはわが国では、膠芽腫・退形成性星細胞腫に対しては、術後放射線照射にニトロソウレアを併用する治療が広く行われてきた。

一般に第Ⅲ相試験における対照アームとなる治療法としては、その時点において最も生存期間の優れている「標準的治療」が用いられる。ヨーロッパでは、上述のように個々の臨床試験で放射線照射に化学療法を併用することによる生存期間延長効果が証明されていなかったことから、膠芽腫・退形成性星細胞腫に対する「標準的治療」は、術後放射線照射単独と考えられていた。したがって temozolomide と放射線照射併用に関する第Ⅲ相試験の対照アームとしては、放射線照射単独が採用された。

Temozolomide はアルキル化剤に分類される抗腫瘍薬で、血漿中など生理的条件下で容易に加水分解され、5-

[(1Z)-3-methyltriazen-1-yl]-1H-imidazole-4-carboxamide (MTIC) に変換される⁶⁾。この反応は酵素反応ではないために人種差がないと考えられているが、事実わが国において行われた薬物動態試験においても、血中濃度の動態は欧米における報告と同様であった¹⁾。MTIC は速やかに分解され、活性本体であるメチルジアゾニウムイオンを生成し、DNA のアルキル化分子として作用する。Temozolomide は未変化体のまま血液脳関門を通過することが確認されている⁷⁾。そのため、temozolomide の脳腫瘍に対する効果は、血中で生成され循環する MTIC による抗腫瘍作用に加えて、未変化体の temozolomide が血液脳関門を通過し標的部位に移行した後に局所で生成される MTIC による抗腫瘍作用の両者の寄与が考えられている。

The European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) と The National Cancer Institute of Canada は、共同で膠芽腫を対象とし術後放射線照射に temozolomide を併用する治療法を、術後放射線照射単独と比較する第Ⅲ相試験を行った¹¹⁾。Temozolomide は、照射中は 75 mg/m² を連日内服、照射後は 150~200 mg/m² を 28 日ごとに連続 5 日間で服するサイクルを 6 サイクル行う方法で投与された。結果、放射線照射単独群と比較して、統計学的に有意の生存期間延長効果が示され、*p* 値は 0.001 未満、HR は 0.63 (95%信頼区間 0.52~0.75) であった。生存期間中央値は、放射線照射単独群 12.1 カ月に対して、temozolomide 併用群 14.6 カ月であった (Fig. 1)。Grade 3/4 の血液毒性は、放射線照射との併用時期に 7%、temozolomide 単独投与時期に 14%、またその他の有害事象のほとんどは放射線照射群と発生頻度に大きな差はなかったと報告されている。

この報告によって膠芽腫における標準的治療は、術後

退形成性乏突起膠腫に対する化学療法 (PCV) の評価

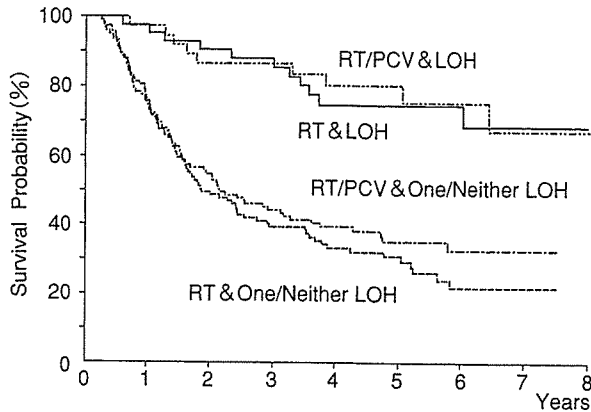


Fig. 2 Overall survival in radiotherapy (RT) and RT+PCV groups with and without combined 1p/19q loss of heterozygosity (LOH).

RT; radiotherapy, PCV; procarbazine, CCNU, and vincristine. (modified from van den Bent MJ, et al)

放射線照射と照射中ならびに照射後の temozolomide 併用となった。ただし対象アームは放射線照射単独であるので、アメリカおよびわが国で、これまで事実上の標準的治療として行われてきた放射線照射+ニトロソウレア併用治療との比較を行うべきかどうかという問題が残った。これまでの標準的治療が放射線照射とニトロソウレアの併用治療であるという立場に立つのであれば、temozolomide との第Ⅲ相試験を行うべきである。これまでニトロソウレアを使用してきたのは、いわば実際的な臨床現場からの要請によるものであり、科学的には放射線照射単独が標準的治療であったという立場に立つのであれば、また前述のように meta-analysis においてもニトロソウレア併用による HR の差が 15% であるのに対して、temozolomide 併用による HR の差は 37% であり、すでにニトロソウレアとの比較は意味がないという立場に立つのであれば、次に行うべきは、temozolomide 併用放射線照射を標準的治療として、別の新規治療と比較する第Ⅲ相試験であるとも考えられる。また temozolomide と ACNU を比較する第Ⅲ相試験を行うとしても、現在、Japan Clinical Oncology Group (JCOG) の脳腫瘍研究グループが行っている放射線照射+ACNU と放射線照射+ACNU+procarbazine を比較する第Ⅲ相試験終了後に開始するのは、およそ 5 年後のことになってしまう。これらの点については、JCOG 脳腫瘍研究グループを中心に議論が行われている最中であり、今後の動向を注目していただきたい。

退形成性乏突起膠腫が procarbazine+CCNU+vincristine (PCV) による化学療法に高い感受性を示すこと、さらにその感受性が染色体 1p と 19q の欠失の有無と相関していることは、20 世紀末の大きなトピックであった²⁾。EORTC と Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) は、別個の方法で第Ⅲ相試験を行ったが、その結果が発表された³⁾¹⁴⁾。両者の結果はほぼ同様であるが、RTOG のプロトコールは、放射線照射前に PCV を行う方法で行われ、PCV の dose もやや多くなっているため、ここでは放射線照射後に通常量の PCV を行っている EORTC の結果を中心に紹介し考察する。

まず、予想に反して、放射線照射に PCV を加えることによる生存期間延長効果は、いずれの試験によっても証明されなかった。しかし、再発までの期間においては、PCV を加えた群が有意に延長していた。再発後の治療は、PCV あるいは temozolomide を中心に行われていた。すなわち PCV には一定の効果が認められたが、初回治療は放射線照射単独で行い再発後に化学療法を行っても、初回から化学療法を併用しても、最終的な生存期間の観点からは同等であったということである。PCV を併用した群においては grade 3/4 の有害事象が 65% の症例でみられているので³⁾、PCV が初回から行うべき治療であるかどうかは慎重な検討を要するものと考えられる。染色体 1p と 19q の欠失の有無で解析すると、確かに染色体欠失のある群の生存期間は有意に優れていたが、これは PCV を行っても行わなくても違いがなかった (Fig. 2)。つまり、染色体欠失のある退形成性乏突起膠腫の予後が良いのは PCV が有効だからではなく、腫瘍本来の特徴であるという可能性が指摘された。

Fig. 2 には染色体欠失のない群の生存曲線も描かれているが、その生存期間中央値はおよそ 2 年と読み取れる。これは、退形成性星細胞腫における生存期間中央値とほぼ同等である。病理組織学的にも、退形成性星細胞腫と退形成性乏突起膠腫あるいは退形成性乏突起星細胞腫の区別は、神経病理学者の間においても確定していないといわれている⁴⁾⁹⁾。したがって、むしろこれらを「退形成性神経膠腫」として一括して扱い、「染色体欠失のある退形成性神経膠腫」と「染色体欠失のない退形成性神経膠腫」と分類したほうが臨床的には有用であるのではないかと考え方が成り立つ可能性がある。

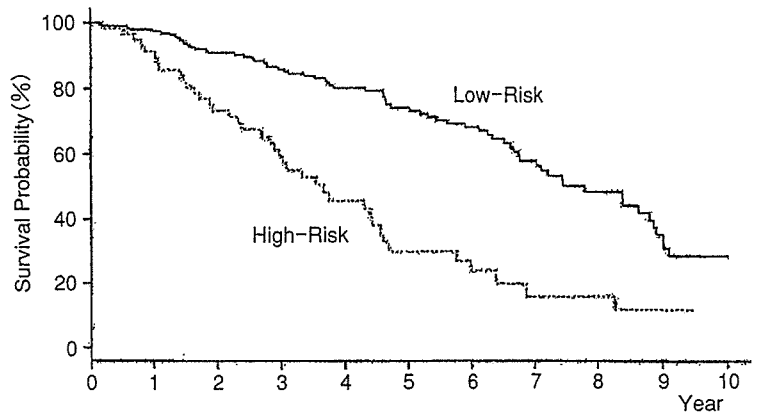


Fig. 3 Overall survival of low-grade glioma in risk groups (modified from Pignotti F, et al).

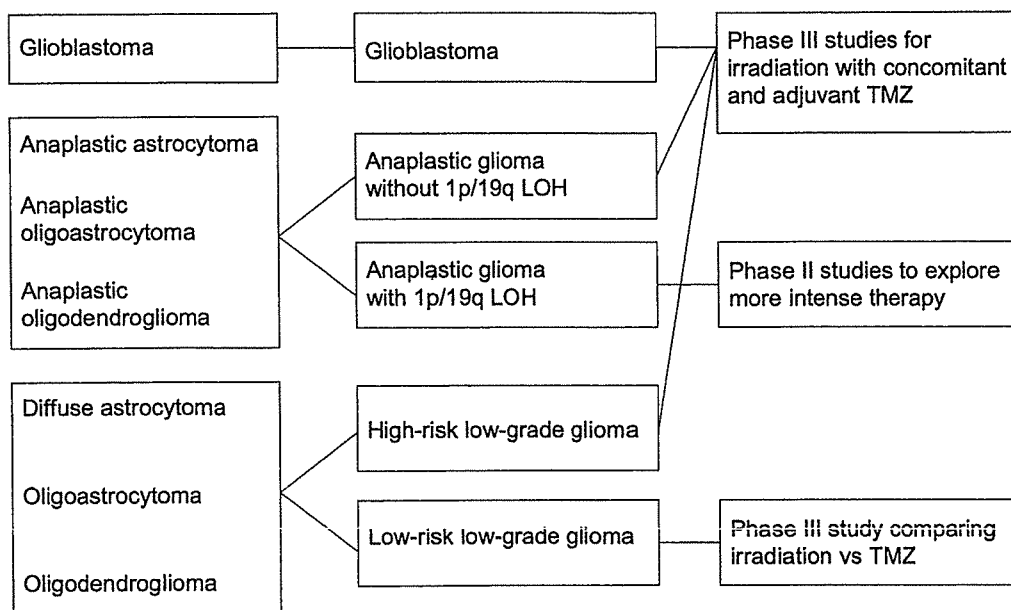


Fig. 4 Proposed treatment strategies for malignant gliomas

星細胞腫の治療をどう考えたらよいか

星細胞腫に対して放射線照射や化学療法をすべきかどうかという議論が古くから行われてきた。悪性度が低く、生存期間が長い腫瘍であるから、放射線照射はともかくとしても、化学療法は必要がないのではないかという主張がある。放射線照射については、やはり EORTC が第Ⅲ相試験を行い、放射線照射を行ったほうが再発までの期間は短い、再発後に放射線照射を行えば最終的な生存期間では変わらないと報告している¹³⁾。実地医療における実感として、比較的小さいうちに発見されれば全摘されたような腫瘍であれば、かなり長い生存期間が期待されよう。一方、いわゆる eloquent area に発生した大きな腫瘍などでは、比較的早期に悪性転化していく症例を

経験する。前者のような状況であれば、照射をしないで経過をみるという選択もありえるであろうし、後者のような状況であれば、むしろ初期治療の段階から積極的に放射線照射と化学療法を行ったほうが長い生存期間を得ることができるような症例も存在するであろう。これをどのようにして判別したらよいかという疑問があった。前述の EORTC の試験のデータを用いて星細胞腫の予後因子を解析し、この疑問への解答を示唆した論文が発表されている⁸⁾。

まず予後因子の解析から、① 40 歳以上、② 腫瘍径 6 cm 以上、③ 腫瘍が正中を越える、④ 組織学的に乏突起膠腫成分を含まない、⑤ 神経学的症状を呈する、という 5 つの予後不良因子が抽出された。次に、それぞれの因子に 1 点ずつを与え、0~2 点の腫瘍を low-risk 群、3~

5点の腫瘍を high-risk 群と分類し、それぞれの生存曲線を描くと、両群はきれいに分離され、low-risk 群の生存期間中央値は 7.8 年、high-risk 群の生存期間中央値は 3.67 年、HR=1.83 (95%信頼区間 1.48~2.26) であった。すなわちこの high-risk 群の生存期間は退形成神経膠腫に匹敵する (Fig. 3)。したがって、high-risk の星細胞腫・乏突起膠腫・乏突起星細胞腫は、「染色体欠失のない退形成性神経膠腫」と同様に扱って放射線照射と化学療法を行うべきであるという仮説が提唱され、これは現在欧米で検証中である。また low-risk の星細胞腫・乏突起膠腫・乏突起星細胞腫においては、放射線照射を行う群と照射せずに temozolomide で治療する群を比較する第Ⅲ相試験が EORTC によって進行中である。

まとめ

以上に述べたようなエビデンスに基づき、臨床的見地に立った悪性神経膠腫の再分類と治療方針を図に示した (Fig. 4)。膠芽腫は放射線照射と temozolomide の併用治療が標準的治療となり、今後はこの治療法に対して新しい治療法を比較していく方向に進むものと考えられる。退形成性乏突起膠腫に対する PCV 療法は、再発までの期間を延長する効果は認められるが副作用が強く、また初期治療は放射線照射単独で行ってにおいて再発後に化学療法を行っても生存期間は変わらないことが示された。退形成性星細胞腫・退形成性乏突起膠腫・退形成性乏突起星細胞腫はあえて区別せずに、染色体 1p と 19q の欠失の有無によって、欠失のある退形成神経膠腫と染色体欠失のない退形成性神経膠腫の 2 群に分けて方針を立てることが提唱されつつある。前者については膠芽腫と同様の放射線照射と temozolomide 併用治療の有効性が検証中であり、後者は予後の良い疾患単位と考え、より適切で強力な治療方法が第Ⅱ相試験のレベルで検証される必要があると考える。星細胞腫は、予後因子の解析から high-risk 群と low-risk 群に分けて扱うべきであるとの考え方があり、前者はやはり膠芽腫と同様の放射線照射と temozolomide 併用治療の有効性が検証されつつあり、後者については放射線照射単独と放射線照射はせずに temozolomide 単独で治療する方法を比較する第Ⅲ相試験が進行中である。

最後に、ここに示した治療方針は、あくまで確立した治療方針ではなく、今後の臨床試験の方向性を示したものであること強調しておきたい。わが国の臨床試験が、このような最先端の動向に寄与できるようにエビデンスを作ることができるようになる日を切に希望している。

文献

- 1) Aoki T, Nishikawa T, Mizutani T, Nojima K, Ishikawa M, Mishima K, Adachi J, Matsutani M: Pharmacokinetics of temozolomide in the Japanese patients with relapsed glioma. (in preparation)
- 2) Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, Lisle DK, Finkelstein DM, Hammond RR, Silver JS, Satrk PC, Macdonald DR, Ino Y, Ramsay DA, Louis DN: Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst* 90: 1473-1479, 1998.
- 3) Cairncross G, Berkey B, Shaw E, Jenkins R, Scheithauer B, Brachman D, Buckner J, Fink K, Souhami L, Laperierre N, Mehta M, Curran W: Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group trial 9402. *J Clin Oncol* 24: 2707-2714, 2006.
- 4) Coons SW, Johnson PC, Scheithauer BW, Yates AJ, Pearl DK: Improving diagnostic accuracy and interobserver concordance in the classification and grading of primary gliomas. *Cancer* 79: 1381-1393, 1997.
- 5) Fine HA, Dear KBG, Loeffler JS, Black PM, Canellos GP: Meta-analysis of radiation therapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults. *Cancer* 71: 2585-2597, 1993.
- 6) Newlands ES, Stevens MF, Wedge SR, Wheelhouse RT, Brock C: Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, pre-clinical development and clinical trials. *Cancer Treat Rev* 23: 35-61, 1997.
- 7) Ostermann S, Csajka C, Buclin T, Leyvraz S, Lejeune F, Decosterd LA, Stupp R: Plasma and cerebrospinal fluid population pharmacokinetics of temozolomide in malignant glioma patients. *Clin Cancer Res* 10: 3728-3736, 2004.
- 8) Pignatti B, van den Bent M, Curran D, Debruyne C, Sylvester R, Therasse P, Afra D, Cornu P, Bolla M, Vecht C, Karim ABMF: Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. *J Clin Oncol* 20: 2076-2084, 2002.
- 9) Smith JS, Alderete B, Minn Y, Borell TJ, Perry A, Mohapatra G, Hosek SM, Kimmel D, O'Fallon J, Yates A, Feuerstein BG, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB: Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene* 18: 4144-4152, 1999.
- 10) Stewart LA, Glioma meta-analysis Trialists Group: Chemotherapy in adult high-grade glioma: A systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *Lancet* 359: 1011-1018, 2002.
- 11) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer R, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross G, Eisenhauer E, Mirimanoff RO: Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352: 987-996, 2005.
- 12) Takakura K, Abe H, Tanaka R, Kitamura K, Miwa T, Takeuchi K, Yamamoto S, Kageyama N, Handa H, Mogami H, Nishimoto A, Uozumi T, Matsutani M, Nomura K: Effects of ACNU and radiotherapy on malignant glioma. *J Neurosurg* 64: 53-57, 1986.
- 13) van den Bent MJ, Afra D, de Witte O, Ben-Hassel M,

- Schraub S, Hoang-Xuan K, Malmstrom PO, Collette L, Pierart M, Mirimanoff R, Karim ABM: Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: The EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* 366: 985-990, 2005.
- 14) van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJB, Bernsen HJJA, Frenay M, Tijssen CC, Grisold W, Sipos L, Haaxma-Reiche H, Kros JM, von Kouwenhoven MCM, Vecht CJ, Allgeier A, Lacombe D, Gorlia T: Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: A randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol* 24: 2715-2722, 2006.
- 15) Walker MD, Alexander E Jr, Hunt WE, MacCarty CS, Mahaley Ms Jr, Mealey J Jr, Norrell HA, Owens G, Ransohoff J, Wilson CB, Gehan EA, Strike TA: Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas. A cooperative clinical trial. *J Neurosurg* 49: 333-343, 1978.
- 16) Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander E Jr, Batzdorf U, Brooks WH, Hunt WE, MacCarty CS, Mahaley MS Jr, Mealey J Jr, Owens G, Ransohoff II, Robertson JT, Shapiro WR, Smith KR Jr, Wilson CB, Strike TA: Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 303: 1323-1329, 1980.

要 旨

悪性神経膠腫の治療戦略 2006

西川 亮

放射線照射に temozolomide を併用する方法を検証した第Ⅲ相試験により、初めて膠芽腫における化学療法による有意の生存期間延長効果が示された。退形成性乏突起膠腫においては、放射線照射に PCV 療法を併用する治療法は、有意の生存期間延長効果を示さなかった。また染色体 1p と 19q の欠失を有する場合は、別個の腫瘍群として扱うべきであることが示唆された。Low-grade の神経膠腫では、年齢、組織型、腫瘍径、神経学的症候などが予後因子として抽出され、これらの組み合わせにより low-risk 群と high-risk 群に大別できることが示された。これらのエビデンスに基づいて、現時点における悪性神経膠腫の治療方針を考察した。

脳外誌 15 : 694-699, 2006

RESEARCH ARTICLE

Protein clusters associated with carcinogenesis, histological differentiation and nodal metastasis in esophageal cancer

Hiromitsu Hatakeyama^{1, 4}, Tadashi Kondo¹, Kiyonaga Fujii¹, Yukihiro Nakanishi², Hoichi Kato³, Satoshi Fukuda⁴ and Setsuo Hirohashi¹

¹ Proteome Bioinformatics Project, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

² Pathology Division, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

³ Esophageal Surgery Division, Department of Surgery, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan

⁴ Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Hokkaido, Japan

We examined the proteomic background of esophageal cancer. We used laser microdissection to obtain tumor tissues from 72 esophageal squamous cell carcinoma cases and adjacent normal tissues in 57 of these cases. The 2D-DIGE generated quantitative expression profiles with 1730 protein spots. Based on the intensity of the protein spots, unsupervised classification distinguished the tumor tissues from their normal counterparts, and subdivided the tumor tissues according to their histological differentiation. We identified 498 protein spots with altered intensity in the tumor tissues, which protein identification by LC-MS/MS showed to correspond to 217 gene products. We also found 41 protein spots that were associated with nodal metastasis, and identified 33 proteins corresponding to the spots, including cancer-associated proteins such as alpha-actinin 4, hnRNP K, periplakin, squamous cell carcinoma antigen 1 and NudC. The identified cancer-associated proteins have been previously reported to be individually involved in a range of cancer types, and our study observed them collectively in a single type of malignancy, esophageal cancer. As the identified proteins are involved in important biological processes such as cytoskeletal/structural organization, transportation, chaperon, oxidoreduction, transcription and signal transduction, they may function in a coordinate manner in carcinogenesis and tumor progression of esophageal cancer.

Received: July 6, 2006
Accepted: August 12, 2006

**Keywords:**

2D-DIGE / Bioinformatics / Carcinogenesis / Esophageal cancer / Lymph node metastasis

Correspondence: Dr. Tadashi Kondo, Proteome Bioinformatics Project, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan
Fax: +81-3-3547-5298
E-mail: takondo@gan2.res.ncc.go.jp

Abbreviation: SCCA, squamous cell carcinoma antigen

1 Introduction

Esophageal cancer is the eighth most common cancer [1] and the sixth leading cause of cancer death worldwide [2]. Despite the use of modern surgical techniques in combination with radio- and chemotherapy, early recurrence is common and the overall 5-year survival rate remains below approximately 40% [3–5]. Poor prognosis of esophageal cancer is attributed

to extensive local invasion and frequent regional lymph node metastasis even at initial diagnosis, however, the mechanisms of esophageal cancer progression remain largely obscure. Previous investigations reported that aberrant regulation of PGP9.5 [6], epidermal growth factor receptor [7], p21 [8] and stromelysin [9] is associated with short postoperative survival. However, as multiple genetic and epigenetic events have been observed in cancer progression, the development of complex malignant phenotypes is unlikely to be solely attributable to any single gene. Thus, comprehensive and integrative studies that will link the individual molecular aberrations observed is required to broaden our understanding of esophageal carcinogenesis and subsequently lead to the development of better treatment options for esophageal cancer patients.

Global mRNA expression studies conducted using array-based methodologies identified the gene clusters responsible for the carcinogenesis and progression of esophageal cancer [10–12]. However, practical biomarkers for novel therapeutic strategies and genes to act as molecular targets have not been identified yet, indicating some of the limitations of this approach. The proteins contained in the cells are the functional translations of the genome and directly control the malignant phenotypes of tumor cells. However, studying DNA sequences and measuring the amount of RNA do not predict post-translational aberrations resulting from phosphorylation, glycosylation or proteolysis that occur in cancer progression. In addition, global comparison between transcriptome and proteome revealed that the expression level of mRNAs is not always parallel with that of corresponding proteins [13–15]. Previous studies using proteomic approaches detected proteins that were aberrantly regulated in esophageal cancer tissues [16–18]. In this study, we were able to detect candidate biomarkers for early diagnosis and monitoring cancer progression by improving the existing proteomics strategies.

In this report, we used laser microdissection to recover tumor cells and the matched neighboring normal epithelial cells from the surgical specimens of 72 esophageal cancer cases, and subjected the recovered cells to proteomic analysis using 2D-DIGE. The 2D-DIGE has previously been applied to laser-microdissected esophageal tumor tissues [19, 20]. However, the fluorescent dyes used to label the proteins had low sensitivity, equivalent to that of silver staining, and the number of samples examined in these studies was not sufficient to allow meaningful bioinformatics analyses. Here, we used highly sensitive fluorescent dyes for 2D-DIGE, integrated proteomic and clinico-pathological information using bioinformatics methods on a large clinical sample set, and found protein clusters associated with carcinogenesis, histological differentiation and lymph node metastasis of esophageal cancer. We identified the proteins included in the clusters by MS, and validated the proteomic results using specific antibodies. The functional classification and chromosomal localization of the identified proteins were also examined. This is the first detailed, comprehensive and quantitative proteomic study on esophageal cancer using a large clinical sample set.

2 Materials and methods

2.1 Patients

Tumor cells and their adjacent normal mucosal cells were collected from 72 of 185 cases of esophageal squamous cell carcinoma, which were surgically resected in 1998 and 1999 at the National Cancer Center Hospital. Two or three tissue fragments, less than 10 mm³ in volume, were grossly obtained from the 72 cases. Matched normal mucosal tissues were also obtained from 57 of these cases. The resected tissues were snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until use. All 72 enrolled cases were newly diagnosed as squamous cell carcinoma of the esophagus. The patients did not receive anticancer treatment prior to surgery and the cases were followed up for at least five years after surgery. The summary of the clinicopathological data of the cases analyzed is shown in Table 1, while individual case informa-

Table 1. Clinicopathological data of 72 esophageal cancer cases analyzed

Gender	
Male	62
Female	10
Age (mean ± SD)	61.9 ± 7.2
Location	
Cervical	4
Upper thoracic	8
Middle thoracic	40
Lower thoracic	18
Abdominal	2
Histological differentiation	
Well differentiated	16
Moderately differentiated	29
Poorly differentiated	27
Prognosis (5-year survival)	
No evidence of disease	30
Dead of disease	39
Dead of another disease	3

Table 2. TNM classification of 72 esophageal tumors analyzed^{a)}

	Lymph node metastasis		
	Positive	Negative	Total
Depth of invasion			
pT1	2	0	2
pT2	6	1	7
pT3	41	12	53
pT4	6	4	10
	55	17	72
	Stage II A : 13	Stage II B : 8	Stage III : 51

a) Tumors were staged according to the WHO Tumor-Node-Metastasis classification scheme [21].