

izumab 併用で2万ドル, cetuximab 併用で3万ドルという事実³⁰⁾は, 個々の症例のみならず, 社会全体としてこのような不治の癌患者に対する高額医療をどのように受け入れるかのコンセンサスが必要である。

最先端医学の進歩が果たして対象患者の治療成績全体の底上げに貢献できるかどうか, 今医療界が判断を問われている。

III stage III 大腸癌に対する術後補助療法

大腸癌に対する標準治療は外科切除であることは言うまでもないが, リンパ節転移を有する stage III 症例では, 再発予防を目的とした術後補助化学療法を追加することが国際的標準治療である。5年生存率が70%前後とされ, 5-FU+LV (国内では Isovorin[®]) の週1回, 6週投与, 2週休薬を1サイクルとして, 3サイクル18回投与, 6カ月間という抗癌剤投与である。

1. 国内での臨床試験成績

国内においては, おもに経口抗癌剤と mitomycin C (MMC) の併用療法や, 門脈注, 術野散布などのいろいろな方法が検討されてきた。しかしながら, 対象病期に stage I~III まで含んだり, 治療群の割付方法, 治療コンプライアンスが担保されない, 必要症例数が不十分などのいくつかの問題があり, 大規模試験結果が一般臨床へ十分に feed back されていない。最近では直腸癌において, 経口抗癌剤が手術単独群に比較して生存期間を延長する結果も報告されるようになり, 国内の優れた手術成績に補助化学療法を併用する意義が徐々に明らかになってきている。また, 1999年に国内承認された 5-FU+Isovorin 療法の術後補助療法としての臨床導入が積極的に行われ, 海外から10年以上遅れているが国際的標準治療が急速に広が

ってきている。

2. 海外での臨床試験成績—5-FU+LV 療法

海外において術後補助療法については NSABP (National Surgical Adjuvant for Breast and Bowel Project), Intergroup, IMPACT (International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials) などから継続的な臨床試験成績が報告されている。当初は手術単独が対照群であるが, その後 5-FU+levamisole (LEV), 5-FU+LV, 5-FU+interferon などが臨床評価をされ, 現時点では 5-FU+LV の6カ月間投与が標準治療となっている。術後補助化学療法により5年生存率が7~8%改善すると報告されている。

現在, この治療法を対照群として新規薬剤や新規併用療法が試験治療群として検討されている。投与スケジュールは当初 Mayo Clinic 法が採用されていたが, 最近では血液毒性の点で, 週1回の RPMI 法を使用することが多い。さらに転移性大腸癌での試験成績を受けて, de Gramont 法などの持続静注も補助療法として評価されている。

3. 最近の臨床試験成績 (表 I-6-2)

転移性大腸癌での第 III 相試験の結果を受け, 生存期間の延長が検証された併用療法が次々と術後補助療法としての意義を検証する第 III 相試験の試験治療群として採用された。術後補助療法の臨床試験は, 数百例から1,000例を超える症例数が必要であり, 長期の試験期間を要する。しかし, 海外では第 III 相試験が早期に開始され, 術後補助療法としての意義が確認されている。

1) IFL 療法 (C 89803 試験)

転移性大腸癌で, 5-FU+LV より優れた生存期間を示した IFL (irinotecan+5-FU+LV) 療法を stage III 結腸癌の術後補助療法として評価した臨床試験であり, 2004年 ASCO にて

表 I-6-2 最近の術後補助化学療法の第 III 相試験

レジメン	症例数	生存期間 OS	無病生存期間 DFS	無再発生存期間 RF
C 89803				
5-FU/LV (RPMI)	629			
IFL	635			
Stage III		p=0.88		p=0.84
NSABP C-06				
		5年	5年	5年
5-FU/LV (RPMI)	803	78.7%	68.3%	76.4%
UFT/LV	805	78.7%	66.9%	74.5%
Stage II/III		p=0.88	p=0.79	p=0.62
N-SAS-CC-01 (直腸)				
		3年		3年
Surgery alone	136	81%		60%
UFT	140	91%		78%
Stage III		p=0.0048		p=0.0014
X-ACT				
		3年	3年	3年
5-FU/LV (Mayo)	983	77.6%	60.6%	61.9%
Capecitabine	1004	81.3%	64.2%	65.5%
Stage III		p=0.0706	p=0.0528	p=0.0407
MOSAIC				
		3年	3年	
FL (De Gramont)	1123	86.6%	72.9%	
FL+Oxaliplatin (FOLFOX 4)	1123	87.7%	78.2%	
Stage II/III			p=0.002	

最終報告が行われた。1,264例の stage III 結腸癌症例が IFL と FL (RPMI) の 2 群に割り付けられ、2.6 年の追跡期間で生存期間および治療成功期間ではともに有意差を認めることはできなかった。しかし、治療関連死亡例は 18 例と 6 例で有意 ($p=0.008$) に IFL に多く、grade 3~4 の好中球減少、発熱性好中球減少で有意に高頻度であった。この結果から、IFL を stage III の結腸癌術後補助療法に使用するべきでないと結論されている³¹⁾。

2) NSABP C-06 試験

本試験は、米国において経口抗癌剤の臨床評価が進み、術後補助療法における意義を検証する目的で実施されたものである。RPMI の 5-FU+LV 療法を対照群として、試験群は UFT+LV 療法である。UFT+LV 療法は、本試験実施中に転移性大腸癌に対する第 III 相試験成績が報告されたが、米国 FDA では非劣

性が検証されないと判定されている。

経口抗癌剤はその利便性から、臨床的有用性が確認されれば、静注療法と比較して利点があることは事実である。しかしながら、術後補助療法において無再発生存期間や生存期間が、標準治療である静注療法と同じか、優れているという臨床成績はない。このため、本試験が NSABP により実施された。2004 年 ASCO において、その最終成績が報告された。1,608 例の stage II/III を対象として UFT/LV 療法は 5-FU+LV 療法と比較して無再発生存期間 ($p=0.62$, 5年 UFT/LV : 74.5 対 5-FU/LV : 76.4), 無病生存期間 ($p=0.79$, 5年 UFT/LV : 66.9 対 5FU/LV : 68.3) および生存期間 ($p=0.88$, 5年 UFT/LV : 78.7 対 5-FU/LV : 78.7) において非劣性が検証された。また有害事象では下痢、嘔吐では有意差はなかったが、治療中の QOL で経口群がよいとされ

ている。ただし、本試験成績の解釈において留意を要する点は、試験の対象が stage II/III であることである³²⁾。現在、JCOG 0205 MF として国内において stage III のみを対象として検討されている。

3) NSAS-CC-01 試験

UFT は 1981 年に国内にて開発された DPD 阻害薬である uracil を含む経口抗癌剤である。国内では、以前から術後補助療法に汎用されていたが、その臨床的意義は明確ではなかった。1997 年に TAC-CR 試験成績が報告され、直腸癌において手術単独群よりも UFT 単独が無再発生存期間や生存期間を延長することが示された。しかしながら、症例数が少なく、追試の必要性があった。

1996 年より厚生省の経口抗癌剤再評価を目的とした臨床試験 NSAS-CC-01 において、再度 stage III の結腸・直腸癌を対象として UFT 単独 12 カ月内服対手術単独の比較試験が開始された。当時は国内では 5-FU+Isovorin 療法は未承認であり、また手術単独群との優越性試験で経口抗癌剤の臨床的意義を明確にする目的で計画された。2004 年 ASCO において直腸癌に関する中間解析成績が報告され、予想以上の経口抗癌剤の再発予防効果が検証された³³⁾。276 例の直腸癌を対象とした 2 群比較試験であり、3 年での無再発生存率は UFT: 78%, 手術単独: 60% (HR: 0.52, $p=0.0014$), 生存率は UFT: 91%, 手術単独: 81% (HR: 0.42, $p=0.0048$) であった。有害事象でも T. Bil, AST/ALT の上昇以外は問題となるものはなかった。海外において毒性の高い放射線化学療法が主流であることを考慮すると、優れた手術と経口抗癌剤単剤のみという負担の少ない治療法で、きわめて優れた治療成績が得られることが示されたことはきわめて意義深いことである。

4) X-ACT 試験

本試験も 2004 年、ASCO において最終結果

が報告された³⁴⁾。Dukes C を対象として、capecitabine 対 Mayo 法の 5-FU/LV の比較試験である。1,987 例を対象として無病生存期間を主評価項目、無再発生存期間、生存期間、耐用性、医療経済、QOL が副評価項目である。3 年での無病生存期間は capecitabine: 64.2%, 5FU/LV: 60.6% (HR=0.87, $p=0.0528$), 無再発生存期間は 65.5% 対 61.9% (HR=0.86, $p=0.0407$), 生存期間は 81.3% 対 77.6% (HR=0.84, $p=0.0706$) であった。有害事象では、hand-foot 症候群が capecitabine 群で多く、下痢、口内炎、好中球減少、悪心・嘔吐、脱毛が 5-FU/LV 群で多い結果であった。

結論としては、capecitabine は Mayo 法の 5-FU/LV と比較して、無病生存期間と生存期間では非劣性、無再発生存期間と安全性で優れ、静注治療に置き換えることができるとしている。しかしながら、特有の皮膚症状は患者にとって苦痛であり、今後、末梢神経障害を有する oxaliplatin との併用での意義は慎重に検討する必要がある。

5) MOSAIC 試験

2003 年 ASCO において報告され、2004 年に NEJM に発表された oxaliplatin の術後補助療法としての意義を検証した臨床試験である³⁵⁾。stage II/III の結腸癌 2,246 例を FL (de Gramont 法) と FL+oxaliplatin (de Gramont+oxaliplatin 85 mg/m² day 1) の比較試験である。無病生存期間を主評価項目とし、3 年での無病生存期間は FL: 72.9% 対 FL+oxaliplatin: 78.2% ($p=0.002$) であった。有害事象では、発熱性好中球減少は、FL+oxaliplatin で 1.8%, grade 3 の知覚性神経障害は治療中 12.4%, 1 年後 1.1% であり、消化器毒性は低いとされている。治療中の死亡は両群ともに 6 例 (0.5%) に認められている。この試験成績により、欧州では oxaliplatin の術後補助療法の適応が承認されるとのことである。

術後補助療法としての irinotecan, UFT/LV, capecitabine, oxaliplatin はすべて転移性大腸癌での素晴らしい臨床試験成績を進展させたものであり、重要な治療成績向上といえる。しかしながら、これら新規治療は新たな有害事象や医療費の高騰をもたらしていることも事実である。とくに末梢神経障害はより長期的な視点での評価が必要であり、現在進行中の試験成績も含めた総合的判断が必要と考えられる。

IV stage IV 臓器転移治療切除例に対する補助療法

肝転移は大腸癌の再発部位としてもっとも多く、かつ転移巣の切除により長期延命を得ることができるという臨床的特徴がある。最近では肝切除が安全に実施できるようになり、肝転移の治療切除後の補助療法を検討する必要性が出てきた。従来はリンパ節転移のある stage III の術後補助療法である 5-FU/LV 療法や肝動注が行われているが、手術単独と比較して明らかな再発抑制は証明されていない。今後、臨床試験により、これら治療対象に対しても科学的評価が必要である。

まとめ

大腸癌に対する抗癌剤治療は、1990年代後半から10年足らずの間に大きな変貌を遂げた。科学的に計画された臨床試験の積み重ねにより、最短時間で新規治療法の評価と一般化を進め、転移性大腸癌の生存期間は今や無治療の8カ月から20カ月を超える時代となった。かつて抗癌剤がもっとも効かない癌腫として教科書に書かれていた大腸癌は、もっとも抗癌剤治療が有効な癌腫として評価されているのである。国内においても海外標準治療を早期に導入する努力が必要である。

文献

- 1) Colorectal cancer collaborative group: Palliative chemotherapy for advanced colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2000; 321: 531-535
- 2) Poon MA, et al: Biochemical modulation of fluorouracil: evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced carcinoma. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1407-1418
- 3) Petrelli N, et al: The modulation of fluorouracil with leucovorin in metastatic colorectal carcinoma: a prospective randomized phase III trial. Gastrointestinal Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1419-1426
- 4) de Gramont A, et al: Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol* 1997; 15: 808-815
- 5) Kohne CH, Wils J, Lorenz M, et al: Randomized phase III study of high-dose fluorouracil given as a weekly 24-hour infusion with or without leucovorin versus bolus fluorouracil plus leucovorin in advanced colorectal cancer: European Organization of Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40952. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3721-3728
- 6) Shimada Y, Yoshino M, Wakui A, et al: Phase II study of CPT-11, a new camptothecin derivative, in metastatic colorectal cancer. CPT-11 Gastrointestinal Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1993; 11: 909-913
- 7) Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, et al: Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1998; 352: 1413-1418
- 8) Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al: Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000; 355: 1041-1047
- 9) Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al: Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 905-914
- 10) Rothenberg ML, et al: Mortality associated with irinotecan plus bolus fluorouracil/leucovorin

- in: summary findings of an independent panel. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3801-3807
- 11) Tournigand C, Andre T, Achille E, et al: FOLFIRI followed by FOLFOX 6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer?: A randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 2004; 22: 229-237
 - 12) Kidani Y, Noji M, Tashiro T: Antitumor activity of platinum(II) complexes of 1,2-diaminocyclohexane isomers. *Gann* 1980; 71: 637-643
 - 13) de Gramont A, et al: Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2938-2947
 - 14) Maindrault-Goebel F, et al: Oxaliplatin added to the simplified bimonthly leucovorin and 5-fluorouracil regimen as second-line therapy for metastatic colorectal cancer (FOLFOX 6). *Eur J Cancer* 1999; 35: 1338-1342
 - 15) Maindrault-Goebel F, et al: High-dose intensity oxaliplatin added to the simplified bimonthly leucovorin and 5-fluorouracil regimen as second-line therapy for metastatic colorectal cancer (FOLFOX 7). *Eur J Cancer* 2001; 37: 1000-1005
 - 16) de Gramont A, et al: FOLFOX 7 compared to FOLFOX 4. Preliminary results of the randomized optimox study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23: 251 (abstr 3525)
 - 17) Rothenberg ML, Oza AM, Bigelow RH, et al: Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2059-2069
 - 18) Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, et al: A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 23-30
 - 19) Cassidy J, Taberero J, Twelves C, et al: XELOX (capecitabine plus oxaliplatin): Active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2084-2091
 - 20) Hoff PM, Ansari R, Batist G, et al: Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: Results of a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2282-2292
 - 21) Van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, et al: Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: Results of a large phase III study. *J Clin Oncol* 2001; 19: 4097-4106
 - 22) Mayer RJ: Oral versus intravenous fluoropyrimidines for advanced colorectal cancer: By either route, it's all the same. *J Clin Oncol* 2001; 19: 4093-4096
 - 23) Douillard JY, Hoff PM, Skillings JR, et al: Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3605-3616
 - 24) Carmichael J, Popiela T, Radstone D, et al: Randomized comparative study of tegafur/uracil and oral leucovorin versus parenteral fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3617-3627
 - 25) Shirao K, Hoff PM, Ohtsu A, et al: Comparison of the efficacy, toxicity, and pharmacokinetics of a uracil/tegafur (UFT) plus oral leucovorin (LV) regimen between Japanese and American patients with advanced colorectal cancer: joint United States and Japan study of UFT/LV. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3466-3474
 - 26) Ohtsu A, Baba H, Sakata Y, et al: Phase II study of S-I, a novel oral fluoropyrimidine derivative, in patients with metastatic colorectal carcinoma. S-I Cooperative Colorectal Carcinoma Study Group. *Br J Cancer* 2000; 83: 141-145
 - 27) Shirao K, Ohtsu A, Takada H, et al: Phase II study of oral S-I for treatment of metastatic colorectal carcinoma. *Cancer* 2004; 100: 2355-2361
 - 28) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Cartwright T, et al: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2342
 - 29) Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al: Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 337-345

- 30) Schrag D: The price tag on progress-chemotherapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 317-319
- 31) Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, et al: Irinotecan plus fluorouracil/leucovorin (IFL) versus fluorouracil/leucovorin alone (FL) in stage III colon cancer (Intergroup trial CALGB C 89803). *Proc ASCO* 2004 ; 22 : 245 s (abst # 3500)
- 32) Wolmark N, Wieand S, Lembersky B, et al: A phase III trial comparing oral UFT to FULV in stage II and III carcinoma of the colon: Results of NSABP protocol C-06. *Proc ASCO* 2004 ; 22 : 247 s (abst # 3508)
- 33) Akasu T, Mōriya Y, Yoshida S, et al: Adjuvant oral uracil and tegafur (UFT) improves survival after complete mesorectal excision (ME) for pathological TNM stage III rectal cancer (RC): Results of the National Surgical Adjuvant Study (NSAS) Colorectal Cancer (CC)-01 randomized trial. *Proc ASCO* 2004 ; 22 : 251 s (abst # 3524)
- 34) Capecitabine (X) vs bolus 5-FU/leucovorin (LV) as adjuvant therapy for colon cancer (the X-ACT study): positive efficacy results of a phase III trial. *Proc ASCO* 2004 ; 22 : 247 s (abst # 3509)
- 35) Andre T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al: Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2343-2351

b 大腸がん

はじめに

大腸がんは、欧米諸国のがんによる死亡の主要な原因の1つであり¹⁾、本邦においても年々罹患率が上昇しており重要性は一段と増している²⁾。現在に至るまで大腸がん治療における手術の重要性は変わらないが、一方で術後の再発は大きな問題点として残っている。結腸がんの5年生存率はDukes Bで79.6%、Dukes Cで65.8%、直腸がんの5年生存率はDukes Bで74.6%、Dukes Cで52.9%であり、特にDukes C症例の予後は不良である³⁾。

再発予防のための術後補助療法に大きな関心が集まり、欧米では盛んに large study が試行され、本邦でも臨床試験が行われている。欧米では、結腸がんの術後補助療法と直腸がんのそれでは、明確に治療戦略が異なっており、結腸がんに対しては全身化学療法を用いるが、直腸がん、特にRbにかかるがんでは局所再発が多いことから全身化学療法に放射線照射を加えることが多い。一方、本邦では、直腸がんの手術成績が欧米と比較し良好であり、局所再発率が低いことから、直腸がんであっても放射線照射を用いることは少ない。

1990年代に欧米で施行された臨床試験の結果から、現在、大腸がん(Rb症例を除く)stage III術後補助療法の国際的標準治療は fluorouracil (5-FU) + leucovorin (LV) の6カ月間投与と考えられている。

今までの欧米、日本における大腸がん(特に結腸がんを中心として)術後補助療法臨床試験の結果を review し、今後の展開について検討する。

1. stage III 結腸がんに対する欧米での臨床試験(5-FU-based regimen)

stage III 結腸がん術後補助療法の国際標準は 5-FU/LV の6カ月間投与と考えられているが、この結論はいくつかの重要な臨床試験の結果からもたらされている。

1989年に報告された米国 North Central Cancer Therapy Group (NCCTG) の study では、結腸がん根治切除症例を 5-FU/levamisole (5-FU 初回 450 mg/m²/day × 5 日/28 日、その後 1 年間 450 mg/m² weekly, levamisole 150 mg/day × 3 日/2 週間、1 年間) 1 年間投与群、levamisole (LEV) 単独 1 年間投与群、手術単独群の 3 群にランダムイズし検討されており、stage III において 5-FU/LEV 群が手術単独群と比較し無再発生存率 (p=0.02)、術後生存率 (p=0.03) を有意に改善した⁴⁾。この結果は、大腸がん術後補助療法の可能性を示し、それまで術後補助療法としては疑問視されていた 5-FU-based regimen に注目を集めることとなった。LEV はリウマチ治療用の薬剤であり、術後の免疫機能を高める目的で用いられたが、LEV 単独では生存期間に有意な延長は認めない。

NCCTG study は登録症例が 401 例と統計的に十分な数ではなかったため、NCCTG に加え Southwest Oncology Group (SWOG)、Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) が参加し予定登録症例数を 1300 例とした Intergroup (INT)-0035 により NCCTG study の追試が行われた⁵⁾。結果は、stage

IIIにおいて5-FU/LEV群が手術単独群と比し有意に生存を延長し(5年生存率60%, 47%), 5-FU/LEVの有効性が再確認された。このstudyではstage IIの症例も検討されているが、5-FU/LEV群と手術単独群の間で再発率、無再発生存率とも有意な差を認めていない。

5-FU/LEVの副作用は比較的穏やかであり長期連用に適していることから、米国では結腸がんstage IIIの標準的術後補助療法として広く受け入れられた。1990年以降、手術単独群は標準治療となりえず5-FU/LEV 12カ月投与が標準治療として考えられることとなった。

一方、1980年代に5-FU/LV療法の5-FU単独に対する優位性が示されると、5-FU/LVを用いた大腸がん術後補助療法臨床試験が多数行われるようになった。5-FU, LVの用量、スケジュールは試験により様々であった。

NCCTGによるINT-0085 studyでは、予後不良stage II, stage IIIを対象に5-FU/LV(5-FU 425 mg/m², leucovorin 20 mg/m²×5日間, 28~35日毎投与6サイクル)と手術単独の比較試験を行っているが、5-FU/LV群の無再発生存期間および生存期間は手術単独群よりも有意に良好であった。

The International Multicenter Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) studyは、stage II・III大腸がんを対象に5-FU/LV術後補助療法群(5-FU 370~400 mg/m², leucovorin 200 mg/m²×5日間, 28日毎投与6サイクル)と手術単独群の比較を行った3つの臨床試験(GIVIO, NCIC-CTG, FFCD)をpooled analysisしたstudyである⁷⁾。試験には総数1526例が登録され、5-FU/LV群は手術単独群と比較し3年生存率(83%, 78%), 3年無再発生存率(71%, 62%)を有意に改善し、5-FU/LV 6カ月投与の有効性が十分な統計学的根拠をもって証明される結果となった。

以上の結果は、「5-FU/LEV, 様々な5-FU/LV療法の中で最も効果的な補助療法は何か」という疑問を生ずることとなる。この疑問に答えるために、標準治療である5-FU/LEV 12カ月投与を対照に5-FU/LVの様々なregimenを比較する大規模試験が多数行われることとなった。

INT-0089はstage II~III結腸がん3759例(4/5はstage III症例)を5-FU/LEV(12カ月), 5-FU/low dose LV(6カ月), 5-FU/low dose LV/LEV(6カ月), weekly 5-FU/high-dose LV(8カ月)の4群にランダム化している⁸⁾。1998年ASCOでの報告では、標準治療である5-FU/LEVと他の3つの5-FU/LVを用いたregimen間で有意な差を認めず、5-FU/LVを用いた6カ月間の補助療法は5-FU/LEVによる12カ月の補助療法とほぼ同等の効果をもつことを示した。また、5-FU/LVにLEVを付加しても治療効果に改善を認めなかった。

NCCTG894651は、予後不良stage II, stage III 891例を対象にして、術後補助療法を施行するべき期間を検討した重要なstudyである⁹⁾。5-FU/LV/LEV, 5-FU/LEVのそれぞれについて6カ月, 12カ月間投与群を設定し計4群にランダム化して比較検討を行っている。それぞれのregimenについて6カ月投与群と12カ月間投与群を比較すると明らかな差はないが、6カ月投与に限ってみると、5-FU/LEVは5-FU/LV/LEVと比較し有意にsurvivalが不良であった。よって、5-FU/LEVの6カ月間投与は補助療法として適当ではないと結論している。

NSABP C-04では、stage II, stage III 2151例を登録し、weekly 5-FU/high-dose LV(5-FU 500 mg/m², LV 500 mg/m² weekly×6週, 2週休, 計6コース), 5-FU/LEV(12カ月), 5-FU/LV/LEV(12カ月)の3群にランダム化し比較検討を行っている¹⁰⁾。weekly 5-FU/high-dose LV群は標準治療である5-FU/LEV群と比較し、有意に無再発生存を延長した(5年無再発生存率65%, 60% p=0.04)。また、weekly 5-FU/high-dose LVにLEVを加えるmeritは証明されなかった。以上より、NSABP C-04では5-FU/LVを標準治療とするべきであるとしている。

以上に述べた臨床試験および他のlarge studyの結果から、現在stage III結腸がん術後補助療法の国際的標準治療は5-FU/LVと目されており、米国では、5-FU 425 mg/m², leucovorin 20 mg/m²×5日間, 28~35日毎投与6サイクルのregimenと、5-FU 500 mg/m², LV 500 mg/m² weekly×6週, 2週間休薬を4~6コース行うregimenがstandardな補助

療法とされている^{11,12)}

2. stage III結腸がんに対する本邦での臨床試験

本邦では梶谷班以来、経口フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍剤、mitomycin Cなどを用いた結腸がん術後補助療法の臨床試験が、手術単独を対照群として行われてきた¹³⁻¹⁵⁾。meta-analysisでは5-FU-based regimenが手術単独と比較し survivalを改善すると報告されているが¹⁶⁾、それぞれの studyでは補助療法による survival benefitは認められていない。

NSAS CC-01は、結腸・直腸がん Dukes C症例を対象としてUFT投与群と手術単独群を比較検討した large studyである。症例集積は終了しており、直腸がんについては2004年 ASCOにて、UFT術後補助化学療法が有意に無再発生存期間および生存期間を延長することが報告された¹⁷⁾。結腸がんの結果については今後報告の予定であり、その結果が待たれるところである。

また、現在施行されている JCOG-0205-MFでは stage III大腸がん術後補助療法として5-FU/LV v.s. UFT/LVの第III相試験が行われている。国際的標準治療である5-FU/LVを対照としてUFT/LVの臨床的有用性を評価する非劣勢試験であり、この試験の結果が本邦における stage III大腸がん術後補助療法の標準治療を確立することになるであろう。

3. stage II結腸がんに対する術後補助療法

有効性が明らかな stage III結腸がん術後補助療法に対し、stage II結腸がんに対する術後補助療法の有用性は未だ明らかではない。

IMPACT B2は stage II結腸がん術後補助療法の有効性を明らかにするため、5-FU/LVと手術単独の比較検討をした過去の5つのRCTから1016例の stage II症例が pooled analysisされた studyである¹⁸⁾。両群間で無再発生存率(76%, 73%)、生存率(82%, 80%)ともに有意差を認めず術後補助療法の有効性は証明されなかった。

また、Cancer Care Ontario Program in Evidence-Based Care's Gastrointestinal Cancer Disease Site Groupは、英文で検索可能な stage IIを含む結腸がん術後補助療法 RCT(5-FU/LV v.s. 手術単独)を検討し、4187症例の stage II症例を meta-analysisしているが、stage II症例では術後補助療法による survival benefitは認めていない¹⁹⁾。ASCOの stage II結腸がん術後補助療法のガイドラインでは、明らかな survival benefitが証明されていないことから stage IIに対する routineの術後補助療法は奨めていない²⁰⁾。高危険群(T4、穿孔、低分化腺がん例など)に限ってもその有効性は証明されていないが、stage IIIの間接的な evidenceに基づいて高危険群に対し術後補助療法を行う場合は、stage II結腸がん手術単独の成績が良好なこと、再発のリスク、stage II結腸がん術後補助療法の効果は限られていること、化学療法に伴うリスクが存在することなどを十分に患者側に説明する必要があり、医療者側も腫瘍の特性、合併症、life expectancyを充分考慮する必要があるとしている。

現在までに、大腸がん術後の様々な予後因子、予測因子が検討されているが^{21,22)}、今後は、これらの因子を用いて補助療法が有効な症例を選択することが一つの方向性であろう。

4. 新規抗がん剤(oxaliplatin, irinotecan)を用いた補助療法

欧州で施行された「stage II～III結腸がんに対する infusional 5-FU/LVと FOLFOX (infusional 5-FU/LV+oxaliplatin)を比較した第III相試験」(MOSAIC trial)の結果が2004年に報告された²³⁾。片群1123例の大規模試験の結果、FOLFOXは infusional 5-FU/LVに比し再発リスクを23%減らし、3年無再発生存率が有意に良好であった(78.2%, 72.9%, p=0.002)。FOLFOX群では oxaliplatinに由来する末梢神経障害が92%(grade 3は12.4%)認められ、骨髄抑制、消化器症状(下痢、嘔吐)が5-FU/LV群と比較し有意に多く、臨床的に注意を要する点もあるが、今後、FOLFOXは結腸がん術後補助療法の重要な選択肢となると考える。2005年 ASCOにおいても

stage II～III結腸がん術後 5-FU/LV (weekly, bolus) と 5-FU/LV+oxaliplatin を比較した第III相試験 (NSABP C-07)の結果が報告されたが, MOSAIC trial とほぼ同等の結果であり, 5-FU/LV に oxaliplatin を加える有用性が再び示されている²⁴⁾.

irinotecan については, 2004年 ASCO において, stage III結腸がん切除症例で 5-FU/LV (5-FU 500 mg/m², LV 500 mg/m² weekly) と IFL (irinotecan/bolus 5-FU/LV)の比較検討を行った CALGB Inter-group Trial C89803の結果が報告されている²⁵⁾. IFL群と 5-FU/LV群の survival はほぼ同等であり, IFL群で重篤な副作用, 早期死亡が多かったことから IFLは stage III結腸がん術後補助療法として推奨されない, という結果に至っている. さらに, 2005年 ASCO において stage II～III結腸がん術後 FOLFIRI (irinotecan/infusional 5-FU/LV) v.s. infusional 5-FU/LV を検討した PETACC 3の結果が報告されたが, FOLFIRIは 5-FU/LV に対して明らかな有用性を示すに至らなかった²⁶⁾. 現在のところ irinotecan を用いた大腸がん術後補助療法は promising といえない.

5. 今後の展望

大腸がんに対する化学療法は最近5年間で急速な進歩を遂げており, 大腸がん術後補助療法も今後の展開が期待される. 現在, 新規抗がん剤, 分子標的薬を用いた regimen (oxaliplatin+capecitabine, irinotecan+5-FU+LV+cetuximab, oxaliplatin+5-FU+LV+cetuximab, 5-FU+LV+celecoxib, oxaliplatin+5-FU+LV+bevacizumab)による臨床試験が欧米で進行中でありこれらの結果が今後の結腸がん術後の治療方針に大きく関与すると思われる. 分子標的薬など非常に高価な薬剤を含んだ regimen もあり, 治療効果, 有害事象の評価だけでなく, コストを含む医療経済的な視点で評価を行う必要があると思われる.

文献

- 1) Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 1999; 49: 33-64.
- 2) がんの統計 '01. 財団法人 がん研究振興財団; 2001年.
- 3) 大腸癌全国登録; 1985年
- 4) Laurie JA, Moertel CG, Fleming TR, et al. Surgical adjuvant therapy of large-bowel carcinoma: an evaluation of levamisole and the combination of levamisole and fluorouracil. The North Central Cancer Treatment Group and the Mayo Clinic. *J Clin Oncol.* 1989; 7(10): 1447-56.
- 5) Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. Fluorouracil plus levamisole as effective adjuvant therapy after resection of stage III colon carcinoma: a final report. *Ann Intern Med.* 1995; 122(5): 321-6.
- 6) O'Connell MJ, Mailliard JA, Kahn MJ, et al. Controlled trial of fluorouracil and low-dose leucovorin given for 6 months as postoperative adjuvant therapy for colon cancer. *J Clin Oncol.* 1997; 15(1): 246-50.
- 7) Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet.* 1995; 345(8955): 939-44.
- 8) Haller DG, Catalano PJ, MacDonald JS. Fluorouracil (FU), leucovorin (LV) and levamisole (LEV) adjuvant therapy for colon cancer: Five year report of INT-0089 (ABS). *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1998 (abstr); 17: 256a.
- 9) O'Connell MJ, Laurie JA, Kahn M, et al. Prospectively randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy in patients with high-risk colon cancer. *J Clin Oncol.* 1998; 16(1): 295-300.
- 10) Wolmark N, Rockette H, Mamounas E, et al. Clinical trial to assess the relative efficacy of fluorouracil and leucovorin, fluorouracil and levamisole, and fluorouracil, leucovorin, and levamisole in patients with Dukes' B and C carcinoma of the colon: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project C-04. *J Clin Oncol.* 1999; 17(11): 3553-9.
- 11) Cascinu S, Georgoulas V, Kerr D, et al. Colorectal cancer in the adjuvant setting: perspectives on treatment and the role of prognostic factors. *Ann Oncol.* 2003; 14 (Suppl 2): ii25-9.
- 12) MacDonald JS, Astrow AB. Adjuvant therapy of colon cancer. *Semin Oncol.* 2001; 28(1): 30-40.
- 13) 北條慶一, 梶谷 環. 大腸癌の補助化学療法(梶谷班一次方式)の成績—厚生省がん研究助成金による大腸癌各種治療法に関する総合的研究班(班長 梶谷 環)の第一次共同研究の報告—. *癌と化学療法.* 1986; 13:

- 3063-73.
- 14) The Colorectal Cancer Chemotherapy Study Group of Japan. Five-year results of a randomized controlled trial of adjuvant chemotherapy for curatively resected colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 1995; 25 (3): 91-103.
 - 15) 小平 進, 菊地金男, 井口 潔, 他. 共同研究による大腸癌の術後補助化学療法の検討—第2次研究(第1報) 治癒切除例の背景因子, 副作用ならびに3年生存割合の検討—. *癌と化学療法.* 1989; 16: 3099-408.
 - 16) Sakamoto J, Hamada C, Kodaira S, et al. Adjuvant therapy with oral fluoropyrimidines as main chemotherapeutic agents after curative resection for colorectal cancer: individual patient data meta-analysis of randomized trials. *Jpn J Clin Oncol.* 1999; 29(2): 78-86.
 - 17) Akasu T, Moriya Y, Yoshida S, et al. Adjuvant oral uracil and tegafur (UFT) improves survival after complete mesorectal excision for pathologic TNM stage III rectal cancer: Results of the National Surgical Adjuvant Study-Colorectal Cancer 01 randomized trial. *Journal of Clinical Oncology, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting edition).* 2004; 22(14S): 3524.
 - 18) Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. *J Clin Oncol.* 1999; 17(5): 1356-63.
 - 19) Figueredo A, Charette ML, Maroun J, et al. Adjuvant therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. *J Clin Oncol.* 2004; 22(16): 3395-407. Epub 2004.
 - 20) Benson AB 3rd, Schrag D, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol.* 2004; 22(16): 3408-19.
 - 21) Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2003; 349(3): 247-57.
 - 22) Garrity MM, Burgart LJ, Mahoney MR, et al. North Central Cancer Treatment Group. Prognostic value of proliferation, apoptosis, defective DNA mismatch repair, and p53 overexpression in patients with resected Dukes' B2 or C colon cancer: a North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol.* 2004; 22 (9): 1572-82.
 - 23) Andre T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Multicenter International Study of Oxaliplatin/5-Fluorouracil/Leucovorin in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer (MOSAIC) Investigators. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004; 350(23): 2343-51.
 - 24) Wolmark N, Wieand NHS, Kuebler JP, et al. A phase III trial comparing FULV to FULV+oxaliplatin in stage II or III carcinoma of the colon: Results of NSABP Protocol C-07. 2005 ASCO Annual Meeting. Abstract No: LBA 3500.
 - 25) Saltz LB, Niedzwiecki D, Hollis D, et al. Irinotecan plus fluorouracil/leucovorin (IFL) versus fluorouracil/leucovorin alone (FL) in stage III colon cancer (intergroup trial CALGB C89803). *Journal of Clinical Oncology, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting edition).* 2004; 22(14S): 3500.
 - 26) Van Cutsem E, Labianca R, Hossfeld D, et al. Randomized phase III trial comparing infused irinotecan/5-fluorouracil (5-FU) /folinic acid (IF) versus 5-FU/FA (F) in stage III colon cancer patients (pts). (PETACC 3). 2005 ASCO Annual Meeting. Abstract No: LBA 8.

〈高橋進一郎〉

2. 微小遠隔転移の病理と診断*

中西速夫
金光幸秀
久保田啓介

小寺泰弘
平井孝
加藤知行

伊藤誠二
大橋紀文
立松正衛

望月能成
横山裕之
山村義孝**

〔要旨〕微小転移は術後の遠隔転移による再発の主たる原因と考えられ、その診断は治療法とならんで術後再発の予防にとってきわめて重要である。近年、リアルタイムRT-PCR法を中心とした遺伝子診断法を用いて、この微小遠隔転移を高感度かつ定量的に検出することができるようになり、一部では再発予測因子としての評価がほぼ確立され、治療法選択のための有用なツールとなりつつある。本稿では、腹膜転移、リンパ節転移および血行性転移のそれぞれについて微小転移診断の最近の進歩と治療適応への応用について述べる。

はじめに

癌患者の生存率の改善を図るためには、早期癌の発見率をさらに向上させることとならんで癌の術後の再発を予防することが重要である。根治手術後の再発の主たる原因は、手術時にすでに散布されている遊離癌細胞あるいは目にみえない微小転移によると考えられることから、この微小転移

を検出し、効果的に治療することができればこれまで困難とされてきた再発の予防は可能である。微小転移の生物学的特性として、進行した転移に比べ化学療法に対して感受性が高いことが知られている¹⁾。このことは遺伝子診断などを用いて高感度に微小転移を検出し、これを標的として早期から化学療法を行うことにより再発の予防、すなわち単に生存期間の延長にとどまらず、“治癒”が期待できる可能性を示唆している。微小転移を検出することの大きな意義はまさにこの点にあるといえる。現在、再発予防を目的とした術後補助化学療法は患者に対して一律に行われており、再発の客観的なリスク評価に基づいていない。個々の患者の再発リスクを正確に評価し、これに基づいたテーラーメイド医療を実現するためには、微小転移の診断に基づいた補助化学療法の適応決定は抗癌薬の感受性評価とならんで必須と考えられる。

2003年に改訂されたUICCのTNM分類によれ

キーワード：微小転移、遺伝子診断、免疫染色

* Pathology and molecular diagnosis of micrometastases

** H. Nakanishi(室長)：愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部(〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿1-1)；Y. Kodera(講師)：名古屋大学病態制御外科；S. Ito, Y. Mochizuki, Y. Kanemitsu, T. Hirai：愛知県がんセンター病院消化器外科；N. Ohashi, H. Yokoyama：名古屋大学病態制御外科；K. Kubota：東京大学消化管外科；T. Kato(院長)：愛知県がんセンター病院；M. Tatematsu(部長)：愛知県がんセンター研究所腫瘍病理学部；Y. Yamamura(部長)：愛知県がんセンター病院消化器外科。

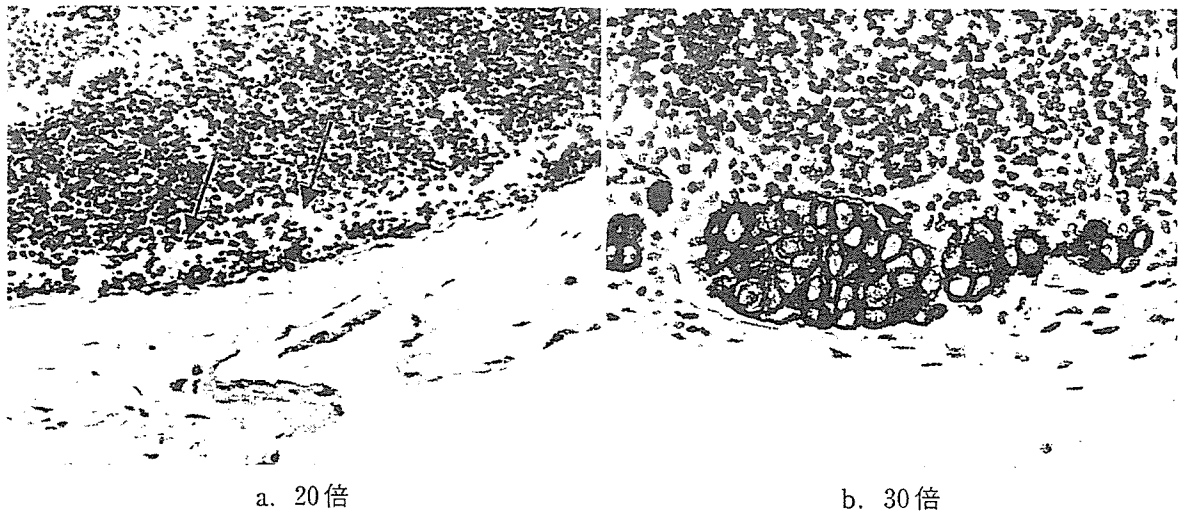


図1. リンパ節におけるITC(a)とmicrometastasis(b)のケラチン免疫組織染色像

ば、微小転移は径が0.2 mm以下の遊離癌細胞“isolated tumor cells(ITC)”と0.2 mm以上、2 mm以下の狭義の微小転移“micrometastasis”に区別することが推奨されている。ITCは転移臓器の血管やリンパ管あるいはリンパ節の類洞内に単一細胞としてあるいは小細胞塊を形成して存在するが、明らかな増殖や脈管浸潤あるいは周囲の間質反応を伴わないものと定義される³⁾。通常のHE染色標本では検出できず、ケラチンなどの免疫染色によりはじめて診断されるいわゆる“微小転移”とはこのITCを指している。多くのITCはいわゆるdormant state(休眠状態)、すなわち増殖とアポトーシスが均衡し総体として腫瘍が発育できない状態を経て、腫瘍自身あるいは宿主の間質細胞や炎症細胞からの増殖刺激、および腫瘍血管新生を介して腫瘍増殖の引き金が引かれ、増殖を開始する。UICCでいう狭義の微小転移とはこのように潜伏期から対数増殖期への移行期にある転移と考えられる(図1)。ITCの一部は自らあるいは免疫監視機構によりアポトーシスに陥り死滅していくものと考えられる。微小転移の存在が必ずしも予後不良の指標とはならないのは、微小転移のこのような増殖能に関する不均一性がその一因と考えられる。

微小転移の検出の歴史は古いが、サイトケラチン抗体を用いた免疫染色により骨髄中の癌細胞の

存在がはじめて証明されたのは1980年代後半である。それ以来、免疫染色法により骨髄、リンパ節を中心に種々の癌腫において微小転移の存在が広く知られるようになった。1990年代にはいると分子生物学的手法を用いたより感度の高い検出法が行われるようになり、末梢血液、骨髄、リンパ節、腹腔洗浄液などに検索対象も拡大した。分子生物学的手法はゲノムDNAの変異を検出する方法と組織特異的遺伝子のmRNAの発現をみるRT-PCR法に大別されるが、前者は変異を有する症例にしか適応できないため感度がRT-PCR法に比べて低く、近年ではRT-PCR法、なかでも定量的リアルタイムRT-PCR法による微小転移の検出が免疫染色とならんで標準的手法となりつつある。

本稿では、微小遠隔転移の診断が実際の臨床へ応用されつつある例として胃癌の腹膜微小転移、大腸癌のリンパ節微小転移および乳癌の末梢血液中癌細胞の診断法について具体的に解説し、微小転移の検出法の最近の進歩とその臨床的意義について、文献的考察をまじえながら自験例について述べる。

1. 胃癌の腹膜微小転移—腹腔洗浄液中の遊離癌細胞

胃癌では腹膜再発が術後再発の50%以上を占

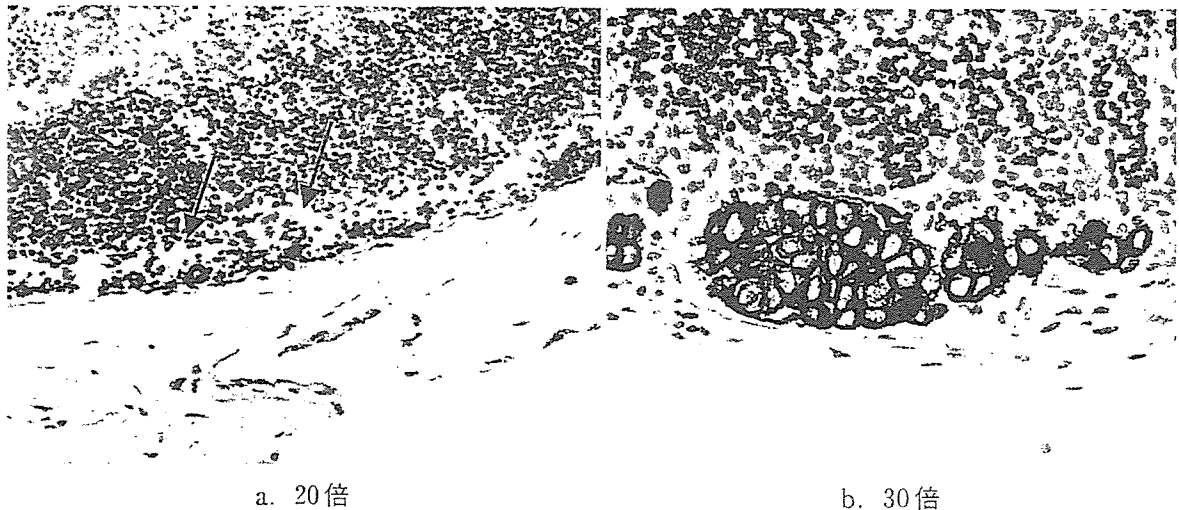


図1. リンパ節におけるITC(a)とmicrometastasis(b)のケラチン免疫組織染色像

ば、微小転移は径が0.2 mm以下の遊離癌細胞“isolated tumor cells(ITC)”と0.2 mm以上、2 mm以下の狭義の微小転移“micrometastasis”に区別することが推奨されている。ITCは転移臓器の血管やリンパ管あるいはリンパ節の類洞内に単一細胞としてあるいは小細胞塊を形成して存在するが、明らかな増殖や脈管浸潤あるいは周囲の間質反応を伴わないものと定義される²⁾。通常のHE染色標本では検出できず、ケラチンなどの免疫染色によりはじめて診断されるいわゆる“微小転移”とはこのITCを指している。多くのITCはいわゆるdormant state(休眠状態)、すなわち増殖とアポトーシスが均衡し総体として腫瘍が発育できない状態を経て、腫瘍自身あるいは宿主の間質細胞や炎症細胞からの増殖刺激、および腫瘍血管新生を介して腫瘍増殖の引き金が引かれ、増殖を開始する。UICCでいう狭義の微小転移とはこのように潜伏期から対数増殖期への移行期にある転移と考えられる(図1)。ITCの一部は自らあるいは免疫監視機構によりアポトーシスに陥り死滅していくものと考えられる。微小転移の存在が必ずしも予後不良の指標とはならないのは、微小転移のこのような増殖能に関する不均一性が一因と考えられる。

微小転移の検出の歴史は古いですが、サイトケラチン抗体を用いた免疫染色により骨髄中の癌細胞の

存在がはじめて証明されたのは1980年代後半である。それ以来、免疫染色法により骨髄、リンパ節を中心に種々の癌腫において微小転移の存在が広く知られるようになった。1990年代にはいると分子生物学的手法を用いたより感度の高い検出法が行われるようになり、末梢血液、骨髄、リンパ節、腹腔洗浄液などに検索対象も拡大した。分子生物学的手法はゲノムDNAの変異を検出する方法と組織特異的遺伝子のmRNAの発現をみるRT-PCR法に大別されるが、前者は変異を有する症例にしか適応できないため感度がRT-PCR法に比べて低く、近年ではRT-PCR法、なかでも定量的リアルタイムRT-PCR法による微小転移の検出が免疫染色とならんで標準的手法となつつある。

本稿では、微小遠隔転移の診断が実際の臨床へ応用されつつある例として胃癌の腹膜微小転移、大腸癌のリンパ節微小転移および乳癌の末梢血液中癌細胞の診断法について具体的に解説し、微小転移の検出法の最近の進歩とその臨床的意義について、文献的考察をまじえながら自験例について述べる。

I. 胃癌の腹膜微小転移—腹腔洗浄液中の遊離癌細胞

胃癌では腹膜再発が術後再発の50%以上を占

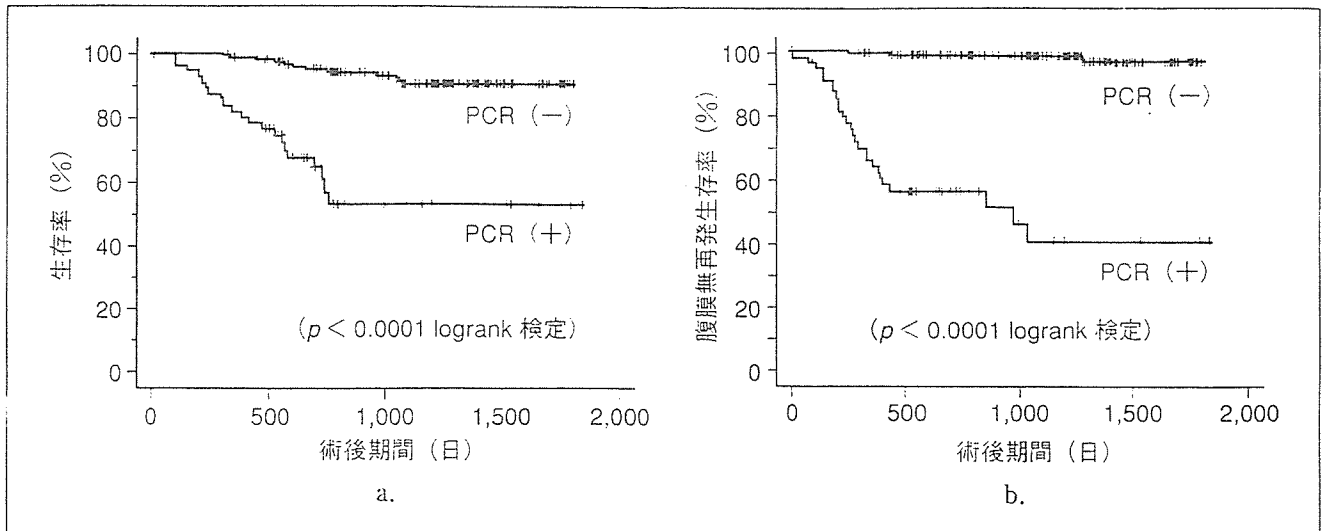


図3. リアルタイムCEA RT-PCR法陽性、陰性患者の累積生存率(a)および腹膜無再発生存率(b)

し、一方、T4症例のリアルタイムRT-PCR法陽性率は細胞診の36%に比べ73%と有意に高かった。またリアルタイムRT-PCR法と洗浄細胞診の結果を比較してみると細胞診class IIIのほとんどはRT-PCR法が陽性であり、細胞数が少ないため疑診にとどまるものの、class III症例で見られる異形細胞は実際には癌細胞を観察しているものと考えられる(図2)。

腹膜再発をエンドポイントとする生存曲線を図3に示す。リアルタイムRT-PCR法陰性例では、腹膜再発はほとんど認められないのに対し、陽性例では2~3年以内に約55%に腹膜再発がみられ有意に予後不良であった。腹腔洗浄液中のCEA mRNA値は、多変量解析でもstageなどとは独立した予後因子であった。筆者らの施設では、2000年度から厚生労働省の認可のもとに本法を胃癌患者に対して適用し、高度先進医療として実用化に向けた研究(前向き研究)を行い、これまでの結果を確認している。また共通プロトコルに基づく多施設共同の研究も行い、同様にこれまでの結果を確認している。以上のことから、本法は腹膜再発に対するリスク評価法としてほぼ確立されたものと考えられる。このように腹膜再発のハイリスク患者の抽出が可能になったことから、現在、筆者らの施設では再発ハイリスク群に対して化学療法を施行する臨床試験をすすめている。今後、測定

法の標準化、キット化などをすすめ、より大規模な臨床試験を行っていく必要があるものと思われる。

3. 今後の課題

腹腔洗浄液中の遊離癌細胞の検出法は実用化の域に達していると考えられるが、今後さらに改善すべき課題として以下の点があげられる。

a) マーカー遺伝子

現状ではリアルタイムRT-PCR法のためのマーカーとしてはCEAがもっとも優れたマーカーと考えられるが、CEA mRNAは分化型胃癌では高い発現率を示すものの、低分化型胃癌ではその発現率は比較的低いことが知られており、少数ながら見落とし(偽陰性)が存在する。サイトケラチン20(CK20)などいくつかの遺伝子がCEAの補助マーカーとして用いられる場合があるが、胃癌では感度は低く、満足すべきものではない。近年、マイクロアレイを用いた新規マーカー遺伝子の探索が精力的に行われ、いくつかの遺伝子が候補としてあげられており⁷⁻⁹⁾、今後それらの遺伝子の予後因子としての意義の解明が待たれる。

b) 測定法の迅速化

胃癌の腹膜転移に対する腹腔内化学療法のためにリザーバーを設置するか否かの判定には、手術開始後1時間程度で結果を報告する必要がある。しかし現在のリアルタイムRT-PCR法では、原

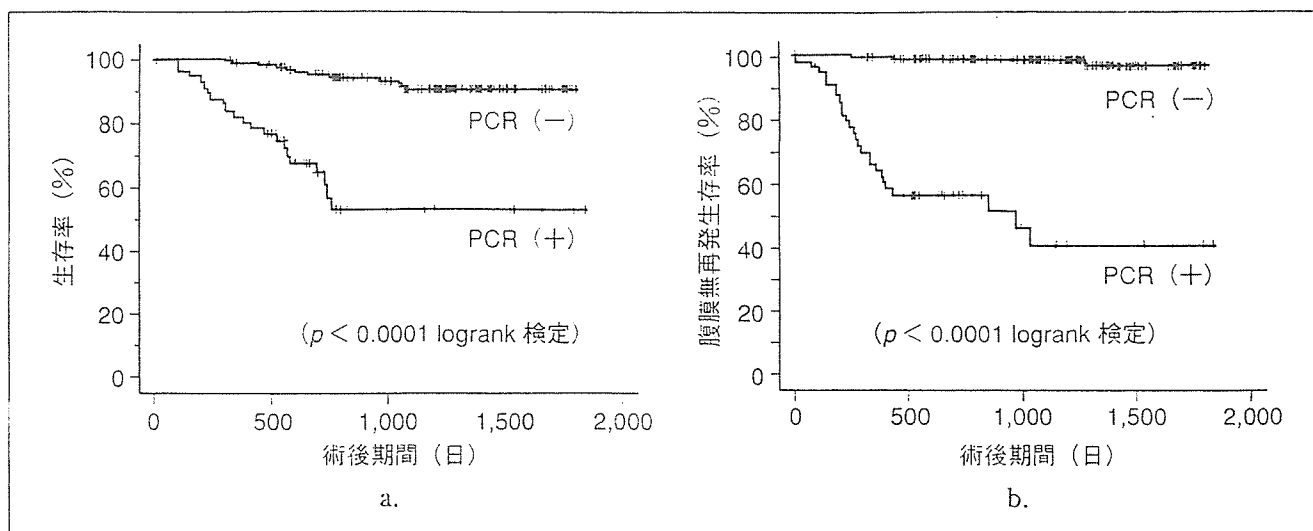


図3. リアルタイムCEA RT-PCR法陽性、陰性患者の累積生存率(a)および腹膜無再発生存率(b)

し、一方、T4症例のリアルタイムRT-PCR法陽性率は細胞診の36%に比べ73%と有意に高かった。またリアルタイムRT-PCR法と洗浄細胞診の結果を比較してみると細胞診class IIIのほとんどはRT-PCR法が陽性であり、細胞数が少ないため疑診にとどまるものの、class III症例でみられる異形細胞は実際には癌細胞を観察しているものと考えられる(図2)。

腹膜再発をエンドポイントとする生存曲線を図3に示す。リアルタイムRT-PCR法陰性例では、腹膜再発はほとんど認められないのに対し、陽性例では2~3年以内に約55%に腹膜再発がみられ有意に予後不良であった。腹腔洗浄液中のCEA mRNA値は、多変量解析でもstageなどとは独立した予後因子であった。筆者らの施設では、2000年度から厚生労働省の認可のもとに本法を胃癌患者に対して適用し、高度先進医療として実用化に向けた研究(前向き研究)を行い、これまでの結果を確認している。また共通プロトコルに基づく多施設共同の研究も行い、同様にこれまでの結果を確認している。以上のことから、本法は腹膜再発に対するリスク評価法としてほぼ確立されたものと考えられる。このように腹膜再発のハイリスク患者の抽出が可能になったことから、現在、筆者らの施設では再発ハイリスク群に対して化学療法を施行する臨床試験をすすめている。今後、測定

法の標準化、キット化などをすすめ、より大規模な臨床試験を行っていく必要があるものと思われる。

3. 今後の課題

腹腔洗浄液中の遊離癌細胞の検出法は実用化の域に達していると考えられるが、今後さらに改善すべき課題として以下の点があげられる。

a) マーカー遺伝子

現状ではリアルタイムRT-PCR法のためのマーカーとしてはCEAがもっとも優れたマーカーと考えられるが、CEA mRNAは分化型胃癌では高い発現率を示すものの、低分化型胃癌ではその発現率は比較的低いことが知られており、少数ながら見落とし(偽陰性)が存在する。サイトケラチン20(CK20)などいくつかの遺伝子がCEAの補助マーカーとして用いられる場合があるが、胃癌では感度は低く、満足すべきものではない。近年、マイクロアレイを用いた新規マーカー遺伝子の探索が精力的に行われ、いくつかの遺伝子が候補としてあげられており⁷⁻⁹⁾、今後それらの遺伝子の予後因子としての意義の解明が待たれる。

b) 測定法の迅速化

胃癌の腹膜転移に対する腹腔内化学療法のためにリザーバーを設置するか否かの判定には、手術開始後1時間程度で結果を報告する必要がある。しかし現在のリアルタイムRT-PCR法では、原

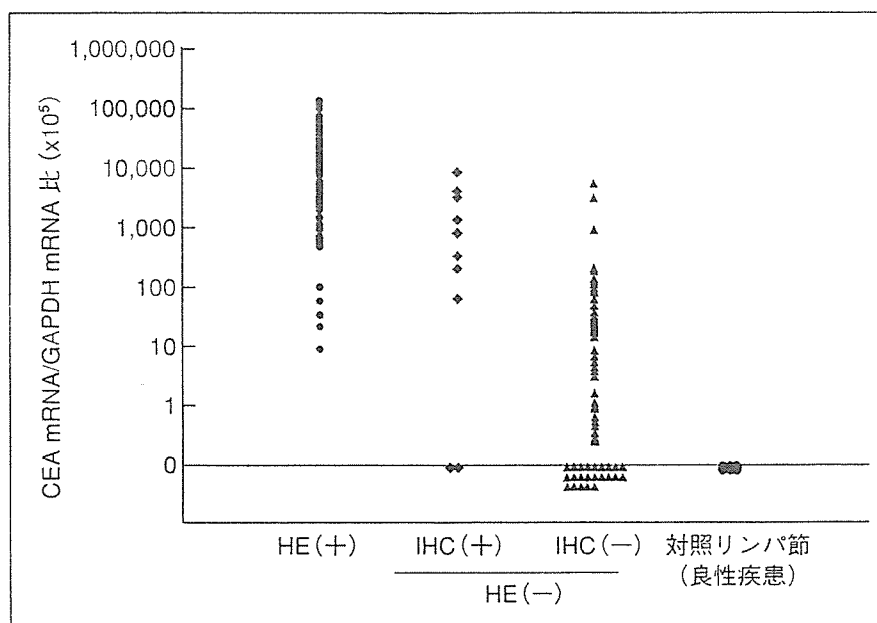


図5. リアルタイムCEA RT-PCR法による胃癌のリンパ節微小転移の検出—ケラチン免疫組織染色法(IHC)との比較

の上皮性癌細胞を検出できるのに対し、リアルタイムRT-PCR法では指標とするマーカー遺伝子をほとんど発現しない癌が少なくとも10~20%存在し、このような場合には偽陰性を生じる危険性が残るため複数のマーカーが必要になる¹³⁾。また原発巣の癌細胞のクロスコンタミネーションなどによる偽陽性の危険性やサンプリングや抽出・測定の手続きが煩雑であることなどが短所として指摘されている。このようにリンパ節微小転移の診断に関しては免疫染色法とリアルタイムRT-PCR法はそれぞれ長所と短所があり、これらの点を考慮したうえで癌の種類、機器の設備状況やコストなどを考慮してもっとも適切な方法を選択することが必要である。

不必要な広範囲のリンパ節郭清を防ぎ、術後合併症の軽減を目的とするセンチネルリンパ節の転移診断では迅速診断が必須である。現在は凍結切片のHE染色により迅速診断が行われているが、微小転移の検出のためには必ずしも十分とはいえない。上述したTRC法やLAMP法などの等温反応による遺伝子増幅法は1時間程度で測定することができることから、リンパ節の迅速遺伝子診断が可能となってきた¹⁰⁾。

2. 臨床的意義

免疫染色によるリンパ節微小転移(ITC)の検出の生存予後への影響の検討では胃癌・大腸癌のn0症例の場合、微小転移陽性例の予後は陰性例とかわらないとする報告が優勢である。また乳癌ではセンチネルリンパ節生検で免疫染色法で検出された微小転移(UICCの微小転移、ITCは含まない)陽性例と陰性例のあいだで術後(リンパ節郭清なし)の腋窩リンパ節転移再発率に差がないことが報告されている¹⁴⁾。一方、大腸癌のリンパ節転移では、リアルタイムRT-PCR法で陽性例の予後は陰性例に比べ有意に不良であるとする報告もなされており¹⁵⁾、一部で免疫染色法とのあいだに結果の不一致がみられている状況である。この原因として数切片の検索にとどまる免疫染色法では、①サンプリングエラーによる偽陰性が出やすいこと、②RT-PCR法でも検出できないリンパ節中にたった1~数個程度しか存在しない“junkな癌細胞”をも検出してしまうことが一因と考えられる。

現時点ではリンパ節微小転移の診断法として免疫染色と遺伝子診断法の優劣はいまだ定まっていないが、免疫染色を用いる場合にもすでに欧米の

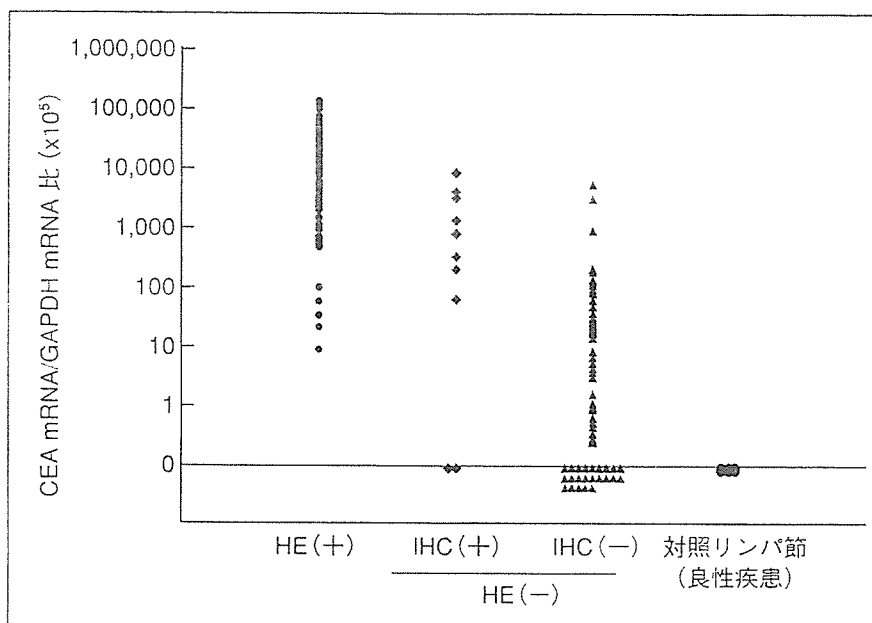


図5. リアルタイムCEA RT-PCR法による胃癌のリンパ節微小転移の検出—ケラチン免疫組織染色法(IHC)との比較

の上皮性癌細胞を検出できるのに対し、リアルタイムRT-PCR法では指標とするマーカー遺伝子をほとんど発現しない癌が少なくとも10～20%存在し、このような場合には偽陰性を生じる危険性が残るため複数のマーカーが必要になる¹³⁾。また原発巣の癌細胞のクロスコンタミネーションなどによる偽陽性の危険性やサンプリングや抽出・測定の手続きが煩雑であることなどが短所として指摘されている。このようにリンパ節微小転移の診断に関しては免疫染色法とリアルタイムRT-PCR法はそれぞれ長所と短所があり、これらの点を考慮したうえで癌の種類、機器の設備状況やコストなどを考慮してもっとも適切な方法を選択することが必要である。

不必要な広範囲のリンパ節郭清を防ぎ、術後合併症の軽減を目的とするセンチネルリンパ節の転移診断では迅速診断が必須である。現在は凍結切片のHE染色により迅速診断が行われているが、微小転移の検出のためには必ずしも十分とはいえない。上述したTRC法やLAMP法などの等温反応による遺伝子増幅法は1時間程度で測定することができることから、リンパ節の迅速遺伝子診断が可能となってきた¹⁰⁾。

2. 臨床的意義

免疫染色によるリンパ節微小転移(ITC)の検出の生存予後への影響の検討では胃癌・大腸癌のn0症例の場合、微小転移陽性例の予後は陰性例とかわらないとする報告が優勢である。また乳癌ではセンチネルリンパ節生検で免疫染色法で検出された微小転移(UICCの微小転移、ITCは含まない)陽性例と陰性例のあいだで術後(リンパ節郭清なし)の腋窩リンパ節転移再発率に差がないことが報告されている¹⁴⁾。一方、大腸癌のリンパ節転移では、リアルタイムRT-PCR法で陽性例の予後は陰性例に比べ有意に不良であるとする報告もなされており¹⁵⁾、一部で免疫染色法とのあいだに結果の不一致がみられている状況である。この原因として数切片の検索にとどまる免疫染色法では、①サンプリングエラーによる偽陰性が出やすいこと、②RT-PCR法でも検出できないリンパ節中にたった1～数個程度しか存在しない“junkな癌細胞”をも検出してしまうことが一因と考えられる。

現時点ではリンパ節微小転移の診断法として免疫染色と遺伝子診断法の優劣はいまだ定まっていないが、免疫染色を用いる場合にもすでに欧米の

された。

大腸癌などの他臓器の癌では、本法を用いた末梢血液中のCTCの臨床的意義に関する報告はまだなされていない。また転移のない乳癌患者の再発リスクの評価に使えるか否か、また従来のリアルタイムRT-PCR法などの遺伝子診断法の結果とのあいだに整合性があるかなど未解決の課題も多く残されている。しかし、これまで必ずしも評価が定まっていなかった末梢血液中のCTCの臨床的意義の解明に一石を投じるものであることは確かで、今後の研究の進展が期待される。

おわりに

微小転移の検出法はいずれの検体も後ろ向き研究の結果がほぼ出そろい、現在、前向き研究でその意義の検証がなされている段階である。再発のリスク評価の観点からいえば、現状ではリンパ節や血液に比べ腹腔洗浄液など通常細胞診が行われる体腔液検体で有効性が高いように思われる。これは、これらの検体では相対的に癌細胞数が多いと考えられること、リンパ節や血液に比べ癌細胞を効率的に回収でき、しかも簡便に濃縮できるためサンプリングエラーが少ないこと、血液細胞や組織の間質細胞の混入が少ないため偽陽性が出にくいことが原因と考えられる。リンパ節や血液などこれまでは必ずしも臨床的意義が定まっていなかった検体も、免疫磁性ビーズ技術などの応用により、診断精度が改善されるつつある。さらに、1時間で測定可能な迅速遺伝子診断も開発されるなど微小転移の検出法は日進月歩であり、近い将来、再発のリスク評価法として化学療法の適応決定やリンパ節郭清範囲の決定にルーチンに利用されるようになるものと予想される。

◆ ◆ ◆ 文献 ◆ ◆ ◆

- 1) Nakanishi H, Mochizuki Y, Kodera Y et al : Chemosensitivity of peritoneal micrometastases as evaluated using a green fluorescence protein(GFP)-tagged human gastric cancer cell line. *Cancer Sci* 94 : 112-118, 2003
- 2) Leslie H, Sobin MD : TNM, sixth edition ; new developments in general concepts and rules. *Semin Surg Oncol* 21 : 19-22, 2003
- 3) Nakanishi H, Kodera Y, Tatematsu M et al : Detection of carcinoembryonic antigen-expressing free tumor cells in peritoneal washes from patients with gastric carcinoma by the polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res* 88 : 687-692, 1997
- 4) Kodera Y, Nakanishi H, Torii A et al : Prognostic value and clinical implications of disseminated free cancer cells in the peritoneal cavity detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction and cytology. *Int J Cancer* 79 : 429-433, 1998
- 5) Nakanishi H, Kodera Y, Tatematsu M et al : A rapid quantitative detection of CEA expressing free tumor cells in the peritoneal cavity of the patients with gastric cancer using the LightCycler. *Int J Cancer* 89 : 411-417, 2000
- 6) Kodera Y, Nakanishi H, Yamamura Y et al : Quantitative detection of disseminated free cancer cells in peritoneal washes with real-time RT-PCR ; a sensitive predictor of outcome for gastric carcinoma patients. *Ann Surg* 235 : 499-506, 2002
- 7) Sakakura C, Hagiwara A, Nakanishi M et al : Differential gene expression profiles of gastric cancer cells established from primary tumour and malignant ascites. *Br J Cancer* 87 : 1153-1161, 2002
- 8) Shimomura K, Sakakura C, Takemura M et al : Combination of L-3-phosphoserine phosphatase and CEA using real-time RT-PCR improves accuracy in detection of peritoneal micrometastasis of gastric cancer. *Anticancer Res* 24 : 1113-1120, 2004
- 9) Mori K, Aoyagi K, Ueda T et al : Highly specific marker genes for detecting minimal gastric cancer cells in cytology negative peritoneal washings. *Biochem Biophys Res Commun* 313 : 931-937, 2004
- 10) Ishii T, Fujiwara Y, Ohnaka S et al : Rapid genetic diagnosis with the transcription-reverse transcription concerted reaction system for cancer micrometastasis. *Ann Surg Oncol* 11 : 778-785, 2004
- 11) Notomi T, Okayama H, Masubuchi H : Loop-mediated isothermal amplification of DNA.

された。

大腸癌などの他臓器の癌では、本法を用いた末梢血液中のCTCの臨床的意義に関する報告はまだなされていない。また転移のない乳癌患者の再発リスクの評価に使えるか否か、また従来のリアルタイムRT-PCR法などの遺伝子診断法の結果とのあいだに整合性があるかなど未解決の課題も多く残されている。しかし、これまで必ずしも評価が定まっていなかった末梢血液中のCTCの臨床的意義の解明に一石を投じるものであることは確かで、今後の研究の進展が期待される。

おわりに

微小転移の検出法はいずれの検体も後ろ向き研究の結果がほぼ出そろい、現在、前向き研究での意義の検証がなされている段階である。再発のリスク評価の観点からいえば、現状ではリンパ節や血液に比べ腹腔洗浄液など通常細胞診が行われる体腔液検体で有効性が高いように思われる。これは、これらの検体では相対的に癌細胞数が多いと考えられること、リンパ節や血液に比べ癌細胞を効率的に回収でき、しかも簡便に濃縮できるためサンプリングエラーが少ないこと、血液細胞や組織の間質細胞の混入が少ないため偽陽性が出にくいことが原因と考えられる。リンパ節や血液などこれまでは必ずしも臨床的意義が定まっていなかった検体も、免疫磁性ビーズ技術などの応用により、診断精度が改善されるつつある。さらに、1時間で測定可能な迅速遺伝子診断も開発されるなど微小転移の検出法は日進月歩であり、近い将来、再発のリスク評価法として化学療法の適応決定やリンパ節郭清範囲の決定にルーチンに利用されるようになるものと予想される。

◆ ◆ ◆ 文献 ◆ ◆ ◆

- 1) Nakanishi H, Mochizuki Y, Kodera Y et al : Chemosensitivity of peritoneal micrometastases as evaluated using a green fluorescence protein(GFP)-tagged human gastric cancer cell line. *Cancer Sci* 94 : 112-118, 2003
- 2) Leslie H, Sobin MD : TNM, sixth edition ; new developments in general concepts and

- rules. *Semin Surg Oncol* 21 : 19-22, 2003
- 3) Nakanishi H, Kodera Y, Tatematsu M et al : Detection of carcinoembryonic antigen-expressing free tumor cells in peritoneal washes from patients with gastric carcinoma by the polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res* 88 : 687-692, 1997
- 4) Kodera Y, Nakanishi H, Torii A et al : Prognostic value and clinical implications of disseminated free cancer cells in the peritoneal cavity detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction and cytology. *Int J Cancer* 79 : 429-433, 1998
- 5) Nakanishi H, Kodera Y, Tatematsu M et al : A rapid quantitative detection of CEA expressing free tumor cells in the peritoneal cavity of the patients with gastric cancer using the LightCycler. *Int J Cancer* 89 : 411-417, 2000
- 6) Kodera Y, Nakanishi H, Yamamura Y et al : Quantitative detection of disseminated free cancer cells in peritoneal washes with real-time RT-PCR ; a sensitive predictor of outcome for gastric carcinoma patients. *Ann Surg* 235 : 499-506, 2002
- 7) Sakakura C, Hagiwara A, Nakanishi M et al : Differential gene expression profiles of gastric cancer cells established from primary tumour and malignant ascites. *Br J Cancer* 87 : 1153-1161, 2002
- 8) Shimomura K, Sakakura C, Takemura M et al : Combination of L-3-phosphoserine phosphatase and CEA using real-time RT-PCR improves accuracy in detection of peritoneal micrometastasis of gastric cancer. *Anticancer Res* 24 : 1113-1120, 2004
- 9) Mori K, Aoyagi K, Ueda T et al : Highly specific marker genes for detecting minimal gastric cancer cells in cytology negative peritoneal washings. *Biochem Biophys Res Commun* 313 : 931-937, 2004
- 10) Ishii T, Fujiwara Y, Ohnaka S et al : Rapid genetic diagnosis with the transcription-reverse transcription concerted reaction system for cancer micrometastasis. *Ann Surg Oncol* 11 : 778-785, 2004
- 11) Notomi T, Okayama H, Masubuchi H : Loop-mediated isothermal amplification of DNA.