

Fig. 2. Western blot analysis for the changes in expressions of CNh1 and actins after *CNh1* transfection. Expressions of CNh1 and three kinds (α -SMA, β , and γ) of actins were compared between AdCNh1 and AdGFP infections to CCL14 peritoneal cells (A and B) and the three ovarian cancer cell lines SKOV3 (C-E), SHIN-3 (E), and MCAS/as (E). In addition to endogenous CNh1 expression (34 kDa), external *CNh1* fused to *GFP* gene (61 kDa) was expressed in AdCNh1-infected peritoneal cells (A) and cancer cells (C and E). Increased α -SMA expression by *CNh1* transfection was confirmed in the peritoneal cells (A). Although all AdGFP-infected cancer cell lines showed an undetectable level of α -SMA expression just like their parental lines, α -SMA expression stably appeared after *CNh1* transfection in each cell line (C and E). Expressions of neither β nor γ actin was unchanged by *CNh1* transfection in both peritoneal cells (B) and ovarian cancer cells (D and E). Expression of rasGAP was confirmed as an internal control.

confirmed by the yellow fibers consisting of merged observation for both proteins (Fig. 3D). Therefore, the actin stress fiber development in AdCNh1-infected cells seemed to be due to the exogenously transfected *CNh1* gene.

Efficacy of *CNh1* gene transfection into ovarian cancer cells

Expression of CNh1 and three kinds of actin proteins in the transfected ovarian cancer cells. Similar with the case of peritoneal cells, internal 34-kDa CNh1 protein was detected

in SKOV3 ovarian cancer cells infected with AdGFP or AdCNh1 (Fig. 2C) as well as noninfected SKOV3 cells. After AdCNh1 infection, the band representing 61-kDa *CNh1*-*GFP* fusion protein appeared along with the induced α -SMA band (Fig. 2C). Expression of both β and γ actins was unchanged by *CNh1* transfection into SKOV3 cells (Fig. 2D and E) as well as other ovarian cancer cell lines of SHIN-3 and MCAS/as (Fig. 2E). In each cell line, AdCNh1 infection induced the high-intensity band of α -SMA compared with the “invisible” band in AdGFP-infected cells (Fig. 2E) as well as noninfected cells.

Changes of actin filaments and cell shapes occurred in CNh1-transfected ovarian cancer cells. Similar to noninfected SKOV3 cell line, AdGFP-infected SKOV3 cells showed weakly and diffusely stained actin filaments (Fig. 3E), the location of which was not identical with that of exogenously transfected GFP (Fig. 3F and G). AdCNh1 infection induced thick and long actin stress fibers and changed the cell shape into a flat and extended phenotype (Fig. 3H). The localization of the developed actin stress fibers was identical with the GFP expression sites, except the nuclear area (Fig. 3I and J), indicating that the exogenously introduced *CNh1-GFP* gene products produced the stable actin fibers. Similar results were observed in other AdCNh1-infected ovarian cancer cell lines (data not shown).

Decreased growth property in CNh1-transfected ovarian cancer cells. We confirmed that *CNh1* transfection changed neither cell growth rate nor colony-forming ability of ovarian cancer cells when growing as a monolayer culture system (data not shown). Therefore, we evaluated anchorage-independent cell growth by soft-agar colony-forming assay and found that all ovarian cancer cell lines infected with AdCNh1 formed markedly fewer colonies compared with the case of AdGFP infection (Fig. 4A).

Effects of *CNh1* transfection on tumor growth were evaluated by i.m. inoculation of parental SKOV3 cells and their subclones transfected with human *CNh1* plasmid (SKOV/CNh1) or mock vector (SKOV/mock). As shown in Fig. 4B, the *CNh1*-transfected SKOV/CNh1 cells showed significantly retarded growth, whereas the SKOV/mock cells showed almost the same growth rate as parental SKOV cells.

Decreased invasiveness and cell locomotion in CNh1-transfected ovarian cancer cells. We evaluated the effect of *CNh1*

transfection on the invasiveness by an *in vitro* assay. Invasion of AdCNh1-infected SKOV-3, SHIN-3, and MCAS/as cells were all significantly decreased by 67.6%, 43.1%, and 27.6%, respectively, in contrast to AdGFP-infected controls (Fig. 5A). Because the change of cell morphology strongly correlates with cell locomotion, we examined the effects of AdCNh1 on cell motility using Matrigel-uncoated Transwell chambers. The cell motility of AdCNh1-infected each cell lines was significantly decreased by 50.5%, 44.3%, and 29.1%, respectively, in contrast to each AdGFP-infected control (Fig. 5B).

Effects of *CNh1* gene transfection into both peritoneal cells and ovarian cancer cells

Bifunctional inhibitory effects of *CNh1* transfection against the invasion of cancer cells through peritoneal cell layer. Figure 5C shows the effect of *CNh1* transfection into cancer cells and/or peritoneal cells on the cancer invasion into peritoneal cell monolayer. When either cancer cells or peritoneal cells were infected by AdCNh1, cancer cell invasion through peritoneal cell monolayer was significantly suppressed. The concomitant AdCNh1 infection into both cells produced additive and marked inhibitory effects on the cancer cell invasion.

Effects of AdCNh1 infection on morphologic changes of peritoneal cell surface induced by ovarian cancer cells. Scanning electron microscope showed that the i.p. inoculation of ovarian cancer cells changed the surface of murine peritoneal cells from a smooth phenotype without spikes (Fig. 6A) into an "edgy" one with numerous small spikes. This microvilli-like cell surface change was unavoidable by i.p. infection of AdGFP following cancer cell inoculation (Fig. 6B). However, i.p. injection of AdCNh1 with cancer inoculation could avoid this change,

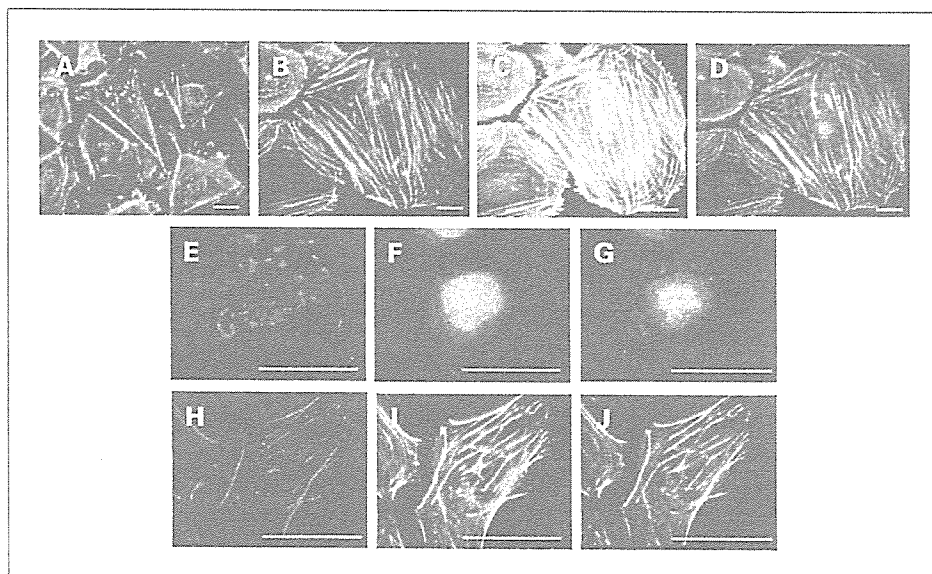


Fig. 3. F-actin staining in peritoneal cells and ovarian cancer cells and its relative localization with *CNh1-GFP* fusion gene products. A to D, human peritoneal FK cells infected with AdGFP (A) and AdCNh1 (B-D) were cultured in the presence of the conditioned medium prepared from SKOV3 ovarian cancer cells. To examine F-actin distribution by confocal laser scanning microscope, cells were fixed and stained with Alexa 568-phalloidin. Although shrunken cell shape and poor development of F-actin were observed in AdGFP-infected cells (A) as well as noninfected parental cells, marked development of actin stress fiber was observed in AdCNh1-infected cells with a stretched cell shape (B). The localization of external *CNh1-GFP* gene products observed through a FITC filter for GFP (C) corresponded to that of actin stress fibers, which was confirmed by the merged observation for F-actin and GFP localization (D). Bar, 5 μ m. E to J, F-actin and GFP localization in SKOV3 ovarian cancer cells infected with AdGFP (E-G) or AdCNh1 (H-J). Although poor development of F-actin was observed mainly in perinuclear area of AdGFP-infected cells (E) as well as noninfected cells, the stable actin stress fibers appeared in AdCNh1-infected cells with a stretched cell shape (H). The localization of external GFP gene product (F) did not correspond to F-actin localization, which was confirmed by the merged observation for F-actin and GFP (G). On the contrary, the localization of external *CNh1-GFP* fusion gene products (I) obviously corresponded to F-actin localization (J). Bar, 5 μ m.

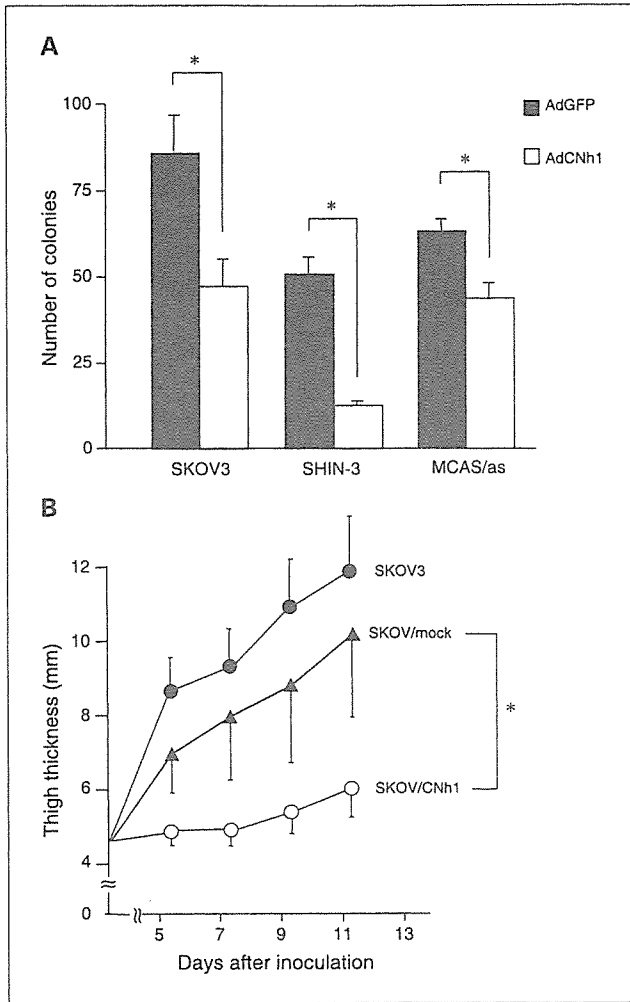


Fig. 4. Changes of growth property after *CNh1* transfection into ovarian cancer cells. **A**, *in vitro* cell growth was evaluated by soft-agar colony-forming assay using three ovarian cancer cell lines infected by AdGFP (black columns) or AdCNh1 (white columns). *CNh1* transfection significantly reduced anchorage-independent growth of all ovarian cancer cell lines. Columns, mean of triplicate determinations; bars, SD. *, $P < 0.05$. **B**, *in vivo* tumor growth was evaluated by monitoring i.m. transplanted tumor size using SKOV3 cells and their plasmid transfectants. *CNh1*-transfected SKOV/CNh1 (○) showed retarded tumor growth compared with parental SKOV3 cells (●) or control plasmid-transfected SKOV/mock (▲). Points, mean ($n = 6$ mice); bars, SD. *, $P < 0.05$, SKOV/CNh1 versus SKOV/mock in each measurement point.

resulting in a flat and smooth surface of peritoneal cells (Fig. 6C) as well as a normal surface observed in the absence of cancer cells (Fig. 6A).

In vivo treatment for i.p. inoculated ovarian cancer cells using i.p. AdCNh1 injection with or without an anticancer drug. Because all of the aforementioned results suggested that CNh1 suppressed ovarian cancer activity and enhanced peritoneal defense mechanisms, the potential for bifunctional therapeutic effects of AdCNh1 was investigated by treating nude mice inoculated i.p. with ovarian cancer cells. A preliminary experiment showed at least 3 days of effectiveness of i.p. injected adenovirus by monitoring the GFP expression on peritoneum (15). Therefore, AdCNh1 or AdGFP was repeatedly injected i.p. every 3 days from the next day of the inoculation with a highly i.p. disseminated cell line of OVAS-21/om, which

resulted in 22 days of the median survival in untreated mice. As shown in the survival curves (Fig. 6D), the median survival of AdCNh1- or AdGFP-treated mice was 91 or 49 days, respectively, and percent increase in life span (median survival of

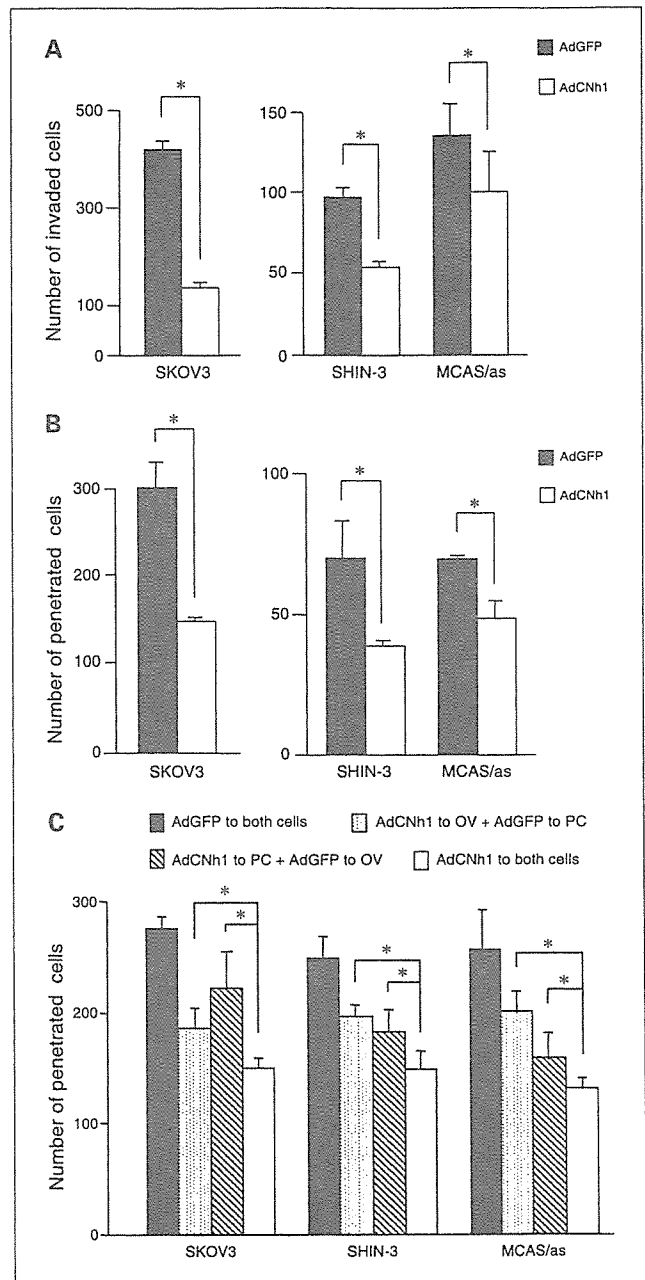


Fig. 5. Changes of invasiveness and cell motility after *CNh1* transfection into ovarian cancer cells and peritoneal cells. Cell invasiveness and motility of ovarian cancer cells were evaluated by *in vitro* invasion assay (**A**) and *in vitro* cell motility assay (**B**), respectively. AdCNh1-infected cells of all cell lines (white columns) showed significantly less invasive or migratory abilities compared with AdGFP-infected cells (black columns). Columns, mean of triplicate determinations; bars, SD. *, $P < 0.05$. **C**, effects of *CNh1* transfection for not only ovarian cancer cells but also peritoneal cells. Cancer invasion was evaluated by number of colonies derived from a cancer cell that penetrated through the monolayer of peritoneal cells. AdCNh1 infection into either ovarian cancer cells (*AdCNh1 to OV*; dotted columns) or peritoneal cells (*AdCNh1 to PC*; striped columns) resulted in significant inhibition against invasion compared with control AdGFP infection into both cells (black columns). Additive inhibitory effects were observed in each case when both cells were infected by AdCNh1 (white columns). Columns, mean of triplicate determinations; bars, SD. *, $P < 0.05$.

treated mice – median survival of untreated mice / median survival of untreated mice \times 100) of AdCNh1-treated mice was 314%. We could obtain the significantly prolonged survival by AdCNh1 injection into the murine abdominal cavity ($P = 0.002$, AdCNh1 versus AdGFP). No body weight loss was observed in either adenoviral administration.

To examine the effects of AdCNh1 combined with the administration of paclitaxel, a highly effective anticancer drug of the present mainstream for ovarian cancer treatment, 100 mg/kg paclitaxel was i.p. injected 3 days after cancer cell inoculation. As shown in Fig. 6E, although AdGFP failed to prolong the survival of paclitaxel-treated mice, additionally

prolonged survival was obtained in the combined therapy by AdCNh1 and paclitaxel ($P = 0.04$, AdCNh1 + paclitaxel versus paclitaxel alone). No aggravation was observed in toxicity by either viral administration to paclitaxel-treated mice, which transiently showed 3% body weight loss on an average.

Autopsy was done as early as possible after each mouse died from peritoneal dissemination. All of dead mice showed the distended abdomen by a massive bloody ascites and the disseminated numerous implants on the surface of i.p. organs and peritoneum (Fig. 6F). In contrast, one of six mice treated by AdCNh1 and three of five mice treated by AdCNh1 plus paclitaxel survived even 147 days after the cancer cell inoculation and showed no i.p. implants confirmed by slaughter (Fig. 6G).

Discussion

When intracellular globular actin is polymerized to form F-actin and the filaments of F-actin are bundled, their configurations are (a) big stress fiber traversing a cell, (b) loose and thin gelatinous filaments, and (c) filaments thickly lining up in microspike and lobopodium of cell periphery. It is thought that short actin filaments forming microspikes increase inversely with a decrease of long actin stress fibers, accompanying the reduction of CNh1 expression (21). We also observed that ovarian cancer-derived inhibition in CNh1 expression resulted in both decrease of actin stress fibers and formation of microspikes in peritoneal cells, both of which could be avoided by exogenous *CNh1* transfection (Figs. 3A-D and 6A-C). *CNh1*-transfected peritoneal cells did not change their diamond-shaped configuration in spite of the presence of ovarian cancer conditioned medium (Fig. 3B). These protective effects of CNh1 against ovarian cancer-derived factors enhanced the "defense" ability (i.e., resistance of peritoneal cells), which was shown by reduced cancer cell invasion through mesothelial cell layer (Fig. 5C) and by our reported data that the fragility against peritoneal dissemination of cancer observed in the *CNh1*-deficient knockout mice was rescued by the exogenous introduction of the *CNh1* gene into mesothelial cells (15).

CNh1 brought about therapeutic effects not only for host cells but also for ovarian cancer cells as well. Forced CNh1 expression in ovarian cancer cells developed actin stress fibers

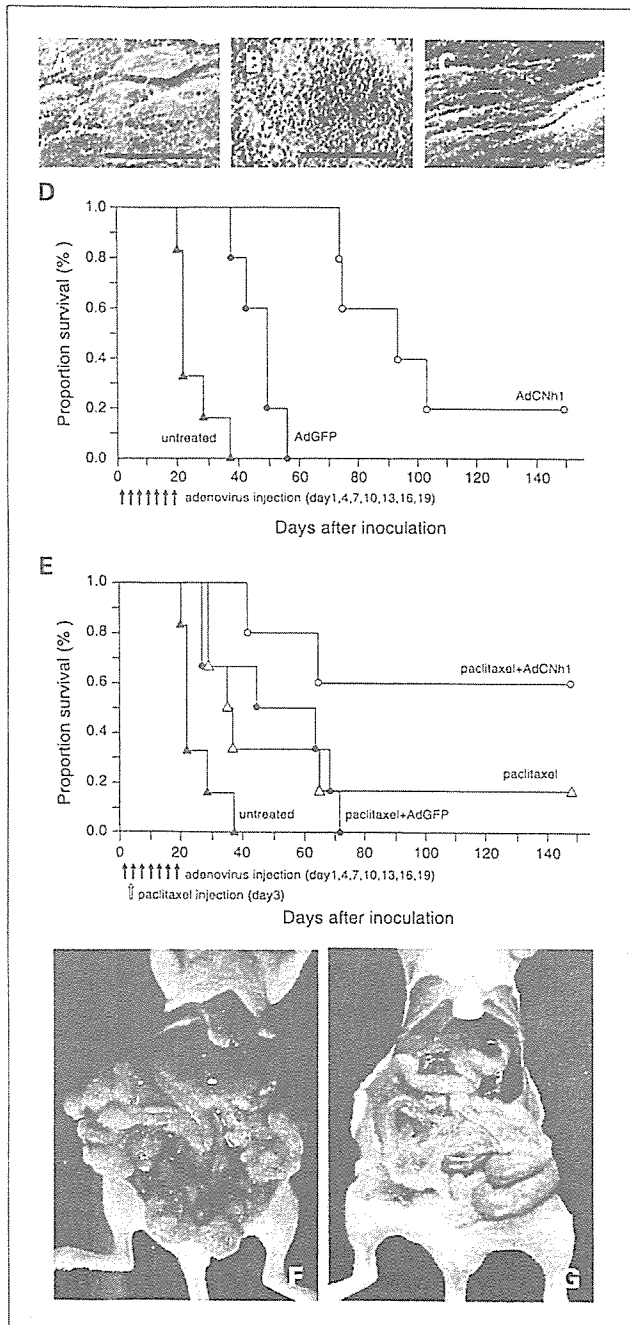


Fig. 6. Effects of AdCNh1 injection into mice inoculated i.p. with ovarian cancer cells. A to C, morphologic changes in the cell surface of peritoneum were observed by scanning electron microscope after the i.p. inoculation of SKOV3i.p.1 cancer cells. The surface of peritoneal cells changed from the ordinary flat and smooth cell surface (A) into a "fluffy" phenotype accompanied by many microspikes, and this change was not avoided by AdGFP (B). However, AdCNh1 could maintain almost normal cell surface against the ovarian cancer-derived influence (C). Bar, 10 μ m. D and E, therapeutic effects of AdCNh1 i.p. injection combined with or without paclitaxel were evaluated by the survival of treated mice. AdCNh1 or AdGFP was repeatedly injected i.p. after the i.p. inoculation of OVAS-21/om cancer cells (D). Significantly prolonged survival was observed in AdCNh1-treated mice (O) compared with AdGFP-treated mice (\bullet ; $P = 0.002$). Paclitaxel was i.p. injected 3 days after tumor inoculation to examine the effects of AdCNh1 combined with anticancer drug (E). Additionally prolonged survival was obtained in the combined therapy by AdCNh1 and paclitaxel (O) compared with the therapy by paclitaxel alone (Δ ; $P = 0.04$). F and G, i.p. appearances after the adenoviral treatment were shown by representative mice. An AdGFP-treated mouse, died 49 days after the inoculation, showed peritonitis carcinomatosa with massive ascites accompanied by numerous disseminated implants on the surface of i.p. organs and peritoneum (F). In contrast, an AdCNh1-treated mouse, which survived even 147 days after the inoculation, showed neither ascites nor i.p. implants (G). As for the side effects of AdCNh1 treatment, neither body weight loss nor intra-abdominal adhesion was observed.

accompanying α -SMA induction (Figs. 2C-E and 3H-J), which resulted in retardation of growth and invasiveness (Figs. 4 and 5A). As for growth-inhibitory effects mediated by CNh1, *in vitro* anchorage-independent cell growth (Fig. 4A) and *in vivo* tumor growth (Fig. 4B) were both suppressed, although *in vitro* growth was not inhibited when cells were cultured as monolayers. As for CNh1-inhibitory effect on invasiveness, cell motility was significantly retarded (Fig. 5B). These results would seem reasonable, considering that CNh1-induced stabilization of actin stress fibers inhibits both three-dimensional cell growth and cell locomotion, for which dynamic state of actin filaments is thought to be essential. *In vivo* efficacy of CNh1 specific to ovarian cancer cells was confirmed by CNh1-plasmid transfectants of SKOV3i.p.1, which survived much longer than the mock transfectant (data not shown).

Cotransfection of CNh1 into both peritoneal cells and ovarian cancer cells resulted in additive inhibition of cancer cell invasion through peritoneal cell layer compared with the inhibitory effect of CNh1 transfection into either cell population alone (Fig. 5C). *In vivo* therapeutic effects of CNh1 were confirmed by the i.p. administration of CNh1 adenoviral vector into nude mice bearing i.p. inoculated ovarian cancer cells (Fig. 6D). We observed that ovarian cancer cells seemed to easily invade through the peritoneal layer, which consisted of retracted and dissociated mesothelial cells with poor actin stress fiber development. This may be due to the down-regulation of CNh1 and α -SMA induced by ovarian cancer cell-derived secretory factor(s), including platelet-derived growth factor.⁵ Effects of AdCNh1 used to infect both mesothelial cells and ovarian cancer cells are summarized as follows: (a) peritoneal cells with developed actin stress fiber had a greater ability to act as a barrier against cancer cells, avoiding ovarian cancer-induced suppression of CNh1 and α -SMA expression, and (b) ovarian cancer cells impaired their growth and invasion properties by induced actin stress fibers.

As such, adenovirus-mediated CNh1 gene therapy against peritoneal dissemination of ovarian cancer may be considered as a potentially novel therapeutic intervention, whereby one and the same gene has two distinctive major effects: one is to control the cancer cells and the other is to bolster a host defense (anti-invasive) mechanism.

Considering clinical application of this therapy, preventive administration of AdCNh1 just after the optimal surgery would be desirable for effective inhibition of peritoneal dissemination. At least, it seems to be difficult for this therapy to eradicate the established and large peritoneal implants. Because AdCNh1 could successfully enhance the therapeutic effect of paclitaxel without increase in side effects (Fig. 6E and G), CNh1 gene therapy may be safely repeatable and hence potentially to improve patient prognosis especially when used in combination with conventional postoperative chemotherapy. Gene therapy using i.v. given adenovirus can be compromised in situations where the injected adenovirus is easily and rapidly washed out from the tumor site by bloodstream (22). However, adenoviral gene therapy using i.p. injection has an advantage in that the adenovirus can stay at the site of target cells (cancer cells and peritoneal cells), owing to the closed space of the "abdominal cavity." With respect to the problem of decreasing efficacy in repeating adenovirus gene therapy by appearance of human antibody against adenovirus, we would like to expect developing more suitable i.p. vector system or finding a nontoxic small molecule that can effectively enhance CNh1 expression after i.p. administration.

Acknowledgments

We thank T. Sonoda, M. Mitsumoto, Y. Kawano, K. Fukushima, S. Miyamoto, T. Kaku, E. Hori, and S. Adachi for technical assistance and critical comments on our study, Drs. S. Minami, Y. Yoshikawa, and M. Noguchi for providing us with ovarian cancer cell lines (MCAS/as and OVAS-21/om), Dr. I.J. Fidler for the SKOV3i.p.1 cell line, and Bristol-Myers Squibb for providing paclitaxel.

References

- Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR. A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. *Nat Genet* 2003;33:49–54.
- Takahashi K, Hiwada K, Kokubu T. Isolation and characterization of a 34,000-dalton calmodulin- and F-actin-binding protein from chicken gizzard smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;141:20–6.
- Strasser P, Gimona M, Moessler H, Herzog M, Small JV. Mammalian calponin. Identification and expression of genetic variants. *FEBS Lett* 1993;330:13–8.
- Applegate D, Feng W, Green RS, Taubman MB. Cloning and expression of a novel acidic calponin isoform from rat aortic vascular smooth muscle. *J Biol Chem* 1994;269:10683–90.
- Trabelsi-Terzidis H, Fattoum A, Represa A, Dessi F, Ben-Ari Y, der Terrossian E. Expression of an acidic isoform of calponin in rat brain: Western blots on one- or two-dimensional gels and immunolocalization in cultured cells. *Biochem J* 1995;306:211–5.
- Childs TJ, Watson MH, Novy RE, Lin JJ, Mak AS. Calponin and tropomyosin interactions. *Biochem Biophys Acta* 1992;1121:41–6.
- Graccetta P. Evidence for interaction between smooth muscle tropomyosin and caldesmon. *FEBS Lett* 1987;218:139–42.
- Winder SJ, Walsh MP. Calponin: thin filament-linked regulation of smooth muscle contraction. *Cell Signal* 1993;5:677–86.
- Shirinsky VP, Biryukov KG, Hettasch JM, Sellers JR. Inhibition of the relative movement of actin and myosin by caldesmon and calponin. *J Biol Chem* 1992;267:15886–92.
- Noda S, Ito M, Watanabe S, Takahashi K, Maruyama K. Conformational changes of actin induced by calponin. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;185:481–7.
- Kobayashi H, Tsuruchi N, Sugihara K, et al. Expression of α -smooth muscle actin in benign or malignant ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1993;48:308–13.
- Okamoto-Inoue M, Nakayama J, Hori Y, Taniguchi S. Human malignant melanoma cells release a factor that inhibits the expression of smooth muscle α -actin. *J Dermatol Sci* 2000;23:170–7.
- Sobue K, Sellers JR. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *J Biol Chem* 1991;266:12115–8.
- Taniguchi S, Takeoka M, Ehara T, et al. Structural fragility of blood vessels and peritoneum in calponin h1-deficient mice, resulting in an increase in hematogenous metastasis and peritoneal dissemination of malignant tumor cells. *Cancer Res* 2001;61:7627–34.
- Hashimoto S, Takeoka M, Taniguchi S. Suppression of peritoneal dissemination through protecting mesothelial cells from retraction by cancer cells. *Int J Cancer* 2003;107:557–63.
- Horiuchi A, Nikaido T, Taniguchi S, Fujii S. Possible role of calponin h1 as a tumor suppressor in human uterine leiomyosarcoma. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:790–6.
- Takeoka M, Ehara T, Sagara J, Hashimoto S, Taniguchi S. Calponin h1 induced a flattened morphology and suppressed the growth of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Eur J Cancer* 2002;38:436–42.
- Xu L, Xie K, Mukaida N, Matsushima K, Fidler IJ. Hypoxia-induced elevation in interleukin-8 expression by human ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 1999;59:5822–9.
- Ueoka Y, Kato K, Wake N. Hepatocyte growth factor modulates motility and invasiveness of ovarian carcinomas via ras mediated pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2003;202:81–8.
- Kobayashi H, Moniwa N, Gotoh J, Sugimura M, Terao T. Role of activated protein C in facilitating basement membrane invasion by tumor cells. *Cancer Res* 1994;54:261–7.
- Gimona M, Kaverina I, Resch GP, Vignat E, Burgstaller G. Calponin repeats regulate actin filament stability and formation of podosomes in smooth muscle cells. *Mol Biol Cell* 2003;14:2482–91.
- Kass-Eisler A, Falck-Pedersen E, Elfenbein DH, Alvira M, Buttrick PM, Leinwand LA. The impact of developmental stage, route of administration and the immune system on adenovirus-mediated gene transfer. *Gene Ther* 1994;1:395–402.

Japan Clinical Oncology Group

婦人科腫瘍グループ

厚生労働科学研究費

「進行卵巣癌の予後改善を目指した集学的治療の研究」班(主任研究者：吉川裕之)

厚生労働省がん研究助成金

指定研究 4(14 指-4) 主任研究者：福田治彦(国立がんセンター研究所)

「多施設共同研究の質の向上のための研究体制確立に関する研究」

計画研究14-12 主任研究者：嘉村敏治(久留米大学産婦人科)

「婦人科悪性腫瘍に対する新たな治療法の開発に関する研究」

JCOG0206-MF

OVCA-NAC-P2

III/IV 期卵巣癌、卵管癌、腹膜癌に対する術前化学療法の Feasibility study

の実施計画書

研究代表者：吉川 裕之(筑波大学臨床医学系産科婦人科)

〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1

筑波大学臨床医学系産科婦人科

TEL：0298-53-3065 or 3210

FAX：0298-53-3072

E-mail：hyoshi@md.tsukuba.ac.jp

研究事務局：恩田 貴志(国立がんセンター中央病院婦人科)

〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1

国立がんセンター中央病院

TEL：03-3542-2511(内線 2429)

FAX：03-3542-3815

E-mail：taonda@ncc.go.jp

2001 年 10 月 13 日： JCOG 運営委員会プロトコールコンセプト(PC108)承認

2002 年 02 月 22 日： 計画書案第 1 版作成

2002 年 07 月 16 日： 計画書案第 2 版作成

2002 年 10 月 15 日： 計画書案第 3 版作成

2002 年 12 月 03 日： 計画書案第 4 版作成

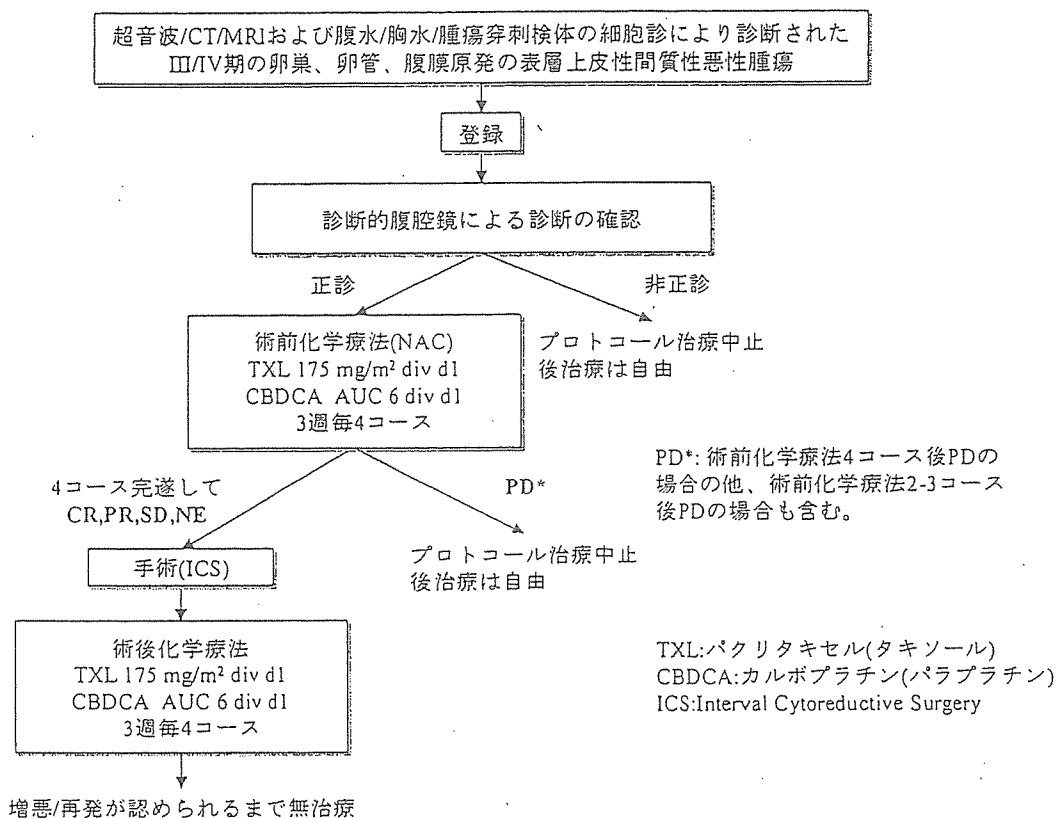
2002 年 12 月 06 日： JCOG 臨床試験審査委員会承認

2002 年 12 月 26 日： 第 1 回改訂婦人科腫瘍グループ代表者承認

2002 年 12 月 27 日： 第 1 回改訂 JCOG 効果・安全性評価委員会承認

0. 概要

0.1. シェーマ



0.2. 目的

卵巣癌、卵管癌、腹膜癌の進行症例の予後改善を目的として、術前化学療法後に手術を行なう治療法の有用性を、従来の標準治療である手術後に術後化学療法を行なう治療法を対照とした、大規模第 III 相比較試験により検証することを予定している。本試験の目的は、術前/術後化学療法と腫瘍縮小手術からなる治療法が、第 III 相の試験治療として適切かどうかを判断し、かつ第 III 相試験を行なう場合、試験治療群において診断的腹腔鏡が必須かどうかを決定することである。

Primary endpoint は完全腫瘍消失割合、secondary endpoints は、腹腔鏡前診断の総合正診割合、細胞診/画像診断による原発臓器/組織診断の正診割合、画像診断による進行期診断の正診割合、術前化学療法の奏効割合、手術(ICS)施行割合、薬物有害反応、手術合併症割合、生存期間、無増悪生存期間とする。

0.3. 対象

0.3.1. 適格規準

- 1) 上腹部～骨盤の画像(超音波、CT、MRI のいずれか)所見により、卵巣、卵管、腹膜いずれかの原発の悪性腫瘍と診断される。
- 2) 腹水、胸水または腫瘍穿刺検体の細胞診所見により、卵巣の表層上皮性間質性の悪性腫瘍に相当する組織型が推定される。
- 3) 上腹部～骨盤の画像(上記のもの)、胸部のXP/CTおよびシンチグラムなどの画像所見により、あるいは細胞診で癌性胸水を証明することにより、進行期 III 期または IV 期と診断し得る。
- 4) 腫瘍縮小手術(Debulking surgery)の対象となりうる。(脳転移、骨髄転移、骨転移、多発性肺実質転移、多発性肝実質転移が存在し、化学療法後に摘出できる見込みがない場合は対象外とするが、腹腔内腫瘍の optimal debulking が可能かどうかは問わない。)
- 5) CA125>200U/ml かつ CEA<20ng/ml
- 6) 測定可能病変を有する
- 7) 初回治療例。(当該疾患に対して、手術、化学療法、放射線療法の既往がなく、他の癌腫、疾患に対しても化学療法、放射線療法の既往のない症例。)
- 8) 年齢：20 才以上 75 才以下
- 9) PS (ECOG) 0-3
- 10) 以下にあげる諸臓器機能が保たれている。(登録前 14 日以内の最新の検査による。)
 - ・ 骨髄機能 WBC \geq 4,000/mm³、ANC(好中球：分節核球+桿状核球) \geq 2,000/mm³
Plt \geq 100,000/mm³
 - ・ 肝機能 AST(GOT) \leq 60IU/L、ALT(GPT) \leq 60IU/L、Total serum bilirubin \leq 1.5mg/dl
 - ・ 腎機能 Serum creatinine \leq 1.5mg/dl、Calculated creatinine clearance \geq 50ml/min
$$\text{Ccr(ml/分)} = 0.85 \times \frac{(140 - \text{Age}) \times \text{Body Weight(Kg)}}{72 \times \text{Serum Cr}}$$
 - ・ 心機能 正常または治療を必要としない程度の心電図変化
 - ・ 呼吸機能 血液ガスにて PaO₂ \geq 70
胸水貯留例では、胸水穿刺を行った上で測定して良い。
- 11) 本人より文書による同意(インフォームド・コンセント)が得られた症例

0.4. 治療

診断的腹腔鏡+術前化学療法(NAC)+腫瘍縮小手術(ICS)+術後化学療法

術前/術後化学療法：以下の TJ 療法を 3 週 1 コースとして術前/術後とも 4 コース行なう。

TXL 175mg/m² div day 1

CBDCA AUC 6 div day 1

0.5. 予定登録数と研究期間

予定登録症例数：56 例

登録期間：1 年、追跡期間：登録終了後 3 年、総研究期間：4 年

0.6. 問い合わせ先

適格規準、治療変更規準等、臨床的判断を要するもの：研究事務局(表紙、6.1.、7.3.6.、17.6.)

登録手順、記録用紙(CRF)記入等：JCOG データセンター(6.1.、10.2.、17.10.)

有害事象報告：JCOG 効果・安全性評価委員会事務局(17.9.)

目次

0.	概要	1
0.1.	シエーマ	1
0.2.	目的	1
0.3.	対象	2
0.4.	治療	2
0.5.	予定登録数と研究期間	2
0.6.	問い合わせ先	2
1.	目的	6
2.	背景	7
2.1.	対象	7
2.2.	対象に対する標準治療	12
2.3.	治療計画設定の根拠	13
2.4.	試験デザイン	17
2.5.	試験参加患者に予想される利益と不利益の要約	19
2.6.	本試験の意義	20
2.7.	付随研究	20
3.	薬剤情報	21
3.1.	PACLITAXEL(TXL)	21
3.2.	CARBOPLATIN(CBDCA)	25
4.	本試験で用いる規準や定義	27
4.1.	病期分類規準	27
4.2.	表層上皮性間質性悪性腫瘍の分類	28
4.3.	外科切除に関する定義	28
4.4.	CALVERT の式	28
4.5.	COCKCROFT-GAULT の式	28
5.	症例選択規準	29
5.1.	適格規準	29
5.2.	除外規準	30
6.	登録・割付	31
6.1.	登録の手順	31
6.2.	ランダム割付と割付調整因子	31
7.	治療計画と治療変更規準	32
7.1.	プロトコール治療	32
7.2.	プロトコール治療中止・完了の規準	35
7.3.	治療変更規準	36
7.4.	併用療法・支持療法	38
7.5.	後治療	38
8.	予期される有害反応	39
8.1.	有害事象/有害反応の評価	39
8.2.	予期される有害反応	39

9.	評価項目・臨床検査・評価スケジュール	41
9.1.	登録前および化学療法開始前検査・観察項目	41
9.2.	術前、術後化学療法中の検査と有害反応の評価	42
9.3.	腫瘍縮小手術(ICS)前後の検査	42
9.4.	プロトコール治療終了後の検査と評価	43
9.5.	スタディカレンダー(1)	44
9.6.	スタディカレンダー(2)	45
10.	データ収集	46
10.1.	記録用紙(CRF)の種類と提出期限	46
10.2.	記録用紙の送付方法	46
11.	有害事象の報告	47
11.1.	報告義務のある有害事象	47
11.2.	施設研究責任者の報告義務と報告手順	48
11.3.	研究代表者/研究事務局の責務	49
11.4.	効果・安全性評価委員会での検討	49
12.	効果判定とエンドポイントの定義	50
12.1.	効果判定(術前化学療法)	50
12.2.	解析対象集団の定義	52
12.3.	エンドポイントの定義	53
13.	統計的事項	55
13.1.	主たる解析における判断規準	55
13.2.	予定登録症例数・登録期間・追跡期間	56
13.3.	中間解析と試験の早期中止	57
13.4.	SECONDARY ENDPOINTS の解析	57
13.5.	最終解析	57
14.	倫理的事項	58
14.1.	患者の保護	58
14.2.	インフォームド・コンセント	58
14.3.	プライバシーの保護と患者識別	59
14.4.	プロトコールの遵守	59
14.5.	施設の倫理審査委員会(機関審査委員会)の承認 IRB	59
14.6.	プロトコールの内容変更について	59
15.	モニタリングと監査	61
15.1.	定期モニタリング	61
15.2.	施設訪問監査	62
16.	特記事項	63
16.1.	中央病理診断	63
16.2.	腫瘍縮小効果の中央判定	63
16.3.	付随研究	63
16.4.	登録状況の確認	63

17. 研究組織.....	64
17.1. JCOG(JAPAN CLINICAL ONCOLOGY GROUP:日本臨床腫瘍研究グループ).....	64
17.2. 指定研究以外の研究班.....	64
17.3. JCOG 代表者.....	64
17.4. 研究グループとグループ代表者.....	65
17.5. 研究代表者.....	65
17.6. 研究事務局.....	65
17.7. 参加施設.....	66
17.8. JCOG 臨床試験審査委員会.....	67
17.9. JCOG 効果・安全性評価委員会.....	68
17.10. データセンター.....	69
18. 研究結果の発表.....	70
19. 参考文献.....	71
20. 付表.....	77
表 1. 卵巣癌進行期と予後.....	10
表 2. 進行卵巣癌における optimal surgery と予後.....	10
表 3. 進行卵巣癌における予後因子.....	11
表 4. 卵巣癌初回治療における TJ 療法の Dose finding study.....	13
表 5. 卵巣癌初回治療における TJ 療法の有効性に関する data.....	14
表 6. 進行卵巣癌に対する、NAC 療法と標準療法の比較.....	16
表 7. 卵巣癌標準的治療における、臨床的 CR(cCR)、病理学的 CR(pCR)達成率.....	19
表 8. 卵巣癌初回治療における TJ 療法の安全性に関する data.....	40
表 9. プロトコール治療終了後の検査スケジュール.....	43
表 10. 検査のスケジュール(ICS 前まで).....	44
表 11. 検査のスケジュール(ICS 後).....	45
表 12. 腹腔鏡前診断の総合正診割合が 90%を下回ると推定される確率.....	56
表 13. NAC 療法および標準治療における治療関連死亡率.....	61

1. 目的

卵巣癌、卵管癌、腹膜癌の進行症例の予後改善を目的として、術前化学療法後に手術を行なう治療法の有用性を、従来の標準治療である手術後に術後化学療法を行なう治療法を対照とした、大規模第 III 相比較試験により検証することを予定している。本試験の目的は、術前/術後化学療法と腫瘍縮小手術からなる治療法が、第 III 相の試験治療として適切かどうかを判断し、かつ第 III 相試験を行なう場合、試験治療群において診断的腹腔鏡が必須かどうかを決定することである。

第一の確認点は、この新治療体系(術前化学療法)が完遂され、高率に完全腫瘍消失を得ることである。第二の確認点は、診断的腹腔鏡を省略した場合でも、原発診断、組織学的診断、進行期診断について、診断的腹腔鏡を行なった場合の診断と比べて、それに近い正確な診断が得られることである。具体的には腹腔鏡前の原発診断、組織学的診断、進行期診断の全てが、診断的腹腔鏡による判断で正診とされる割合(総合正診割合)を検討する。

Primary endpoint は完全腫瘍消失割合、secondary endpoints は、腹腔鏡前診断の総合正診割合、細胞診/画像診断による原発臓器/組織診断の正診割合、画像診断による進行期診断の正診割合、術前化学療法の奏効割合、手術(ICS)施行割合、薬物有害反応、手術合併症割合、生存期間、無増悪生存期間とする。

2. 背景

2.1. 対象

2.1.1. 対象疾患

我が国における卵巣癌は、欧米に比べその頻度は少ないものの、発症頻度は年々増加傾向にあり、年齢調整罹患率は1975年の4.5人から1996年には7.9人に増加し、1996年には6,194人が新たに卵巣癌と診断された。また卵巣癌は婦人科性器癌の中で最も予後不良であり、1999年の統計では、婦人科性器癌の中で最も多く、女性死亡数の3.55%にあたる、4,076人が卵巣癌のため死亡している¹¹⁾。その原因として、卵巣癌は、症状が出にくく、また適当な検診法もないため、診断がついた時点では多くの症例がすでに進行した状態であることが挙げられる(Stage III/IV 症例は全体の約60%¹²⁾)。上皮性卵巣癌の治療成績は cisplatin(CDDP)の登場により、奏効率、生存率ともに向上したものの、進行卵巣癌(III/IV 期)では3年生存率25%、5年生存率で約20%しかない^{13,4)}。

卵管癌は、卵巣癌に比べてまれであり、FIGO(International Federation of Gynecology and Obstetrics)の統計では、1993年から1995年の間に(参加施設で)治療された症例は、卵巣癌の3409例に対して、卵管癌は118例のみであった¹²⁾。卵巣癌同様、60%が進行癌であった¹⁵⁾という報告もあるが、一般には、卵巣癌に比して初期癌の割合が多いと考えられている。ただし、進行卵管癌(III-IV 期)の予後は、5年生存率で約20%で卵巣癌同様、予後不良であるとされている^{12,6)}。

腹膜癌は、卵巣癌の10%程度の頻度であるとする報告¹⁷⁻⁹⁾もあるが、一般には、卵管癌よりも更にまれな疾患であるとされ、FIGOにおいても統計の対象となっていない。報告によれば、ほとんどの症例が、III/IV 期癌であり、進行癌の生存率は、進行卵巣癌と差がないといわれている¹⁷⁾。

2.1.2. 対象集団選択の根拠

卵巣に発生する悪性腫瘍には、大きく分けて、上皮性卵巣癌(厳密には表層上皮性間質性卵巣悪性腫瘍というべきで、最も頻度が高く、単に卵巣癌というと本腫瘍をさす)、胚細胞性卵巣腫瘍(未分化胚細胞腫など、卵子から発生し、20代までの若年者に好発する腫瘍)、性索間質性腫瘍(顆粒膜細胞腫などホルモン産生腫瘍が多い)、その他の4つに分類され¹¹⁰⁾、それぞれに対する標準化学療法は異なる。このなかで、上皮性卵巣癌は、化学療法に対する感受性が高いこと、進行した症例が多いことから、術前化学療法(以下、NAC)の有用性を検討する対象として選択した。

卵管癌、腹膜癌の組織型のほぼすべては、進行上皮性卵巣癌の60%以上¹²⁾を占める漿液性腺癌と同一であり、卵管癌、腹膜癌が卵巣に進展した場合、摘出標本において卵巣癌であることが明らかに否定されないかぎり、卵巣癌に分類する定義となっている。診断的腹腔鏡で、卵巣・卵管を切除しない場合には、卵巣癌、卵管癌、腹膜癌の鑑別診断は不可能であることが予想される。また、卵巣癌、卵管癌、腹膜癌は化学療法の感受性、生存率などに差がないとされており^{19,11)}、近年 müllerian carcinoma として、一つの疾患概念で考えられつつある。以上より、対象として卵管癌、腹膜癌も含めた。これ以降、頻度が少なく、固有のデータが不足している卵管癌・腹膜癌については、卵巣癌と同様と考えられる限りにおいて、特に記述しない。

進行期 I/II 期卵巣癌は、NACを行わなくても、肉眼的残存腫瘍のない、いわゆる完全手術が可能な症例であり、初回手術で腫瘍を摘出する現在の標準治療で、良好な生存率が得られている(5年生存率; I 期 80-90%、II 期 60-70%、2.1.6. 表 1. 参照)。これらの症例に、NAC 療法を行った場合、その benefit よりも NAC が奏効しない場合の完全切除不能となる risk が懸念される。従って、NAC 療法の検討の対象としては、I/II 期は除外し、進行期は III/IV 期に限定した。卵管癌、腹膜癌も同様である。

卵巣癌、特に今回の study の対象となる進行卵巣癌においては、80-90%以上が CA125 が陽性(カットオフ値 35U/ml)となると言われている¹¹²⁾。一方で、CA125 は、卵巣癌のように高値を示すこと

は稀なものの、子宮内膜症や、骨盤内炎症性疾患、肝硬変、腹水・胸水(他臓器原発の癌による場合も含めて)などでも陽性となることが知られている。また、卵巣癌においては、NAC療法に適していると考えられる漿液性腺癌や類内膜腺癌においては陽性率および平均値が高く、200U/ml以上の高値陽性の割合が高いのに対して、NAC療法にはあまり適しているとはいえない明細胞腺癌や粘液性腺癌においては陽性率、平均値とも比較的lowく、200U/ml以上の高値陽性例の割合が少ないことが知られている¹¹²⁻¹¹⁴⁾。CEAについては、消化管原発癌において陽性率が高いことが知られている。卵巣癌においては、粘液性腺癌で比較的陽性(カットオフ値5ng/ml)となる率が高いものの¹¹⁵⁾、高値陽性となることは稀である。下腹部腫瘍を認めた場合、CEA>20ng/mlでは卵巣癌よりもむしろ大腸癌の可能性が高いと考えられている¹¹⁶⁾。今回、画像診断/細胞診に加えて、CA125>200U/ml、CEA<20ng/mlと設定したことにより、より確実に他臓器原発疾患を除外し、卵巣癌においてもNAC療法に適した漿液性腺癌、類内膜癌の割合が高くなるものと考えられる。

ただし、閉経後や卵巣摘出後ではCA125のカットオフ値は、20U/ml程度になることが知られており、完全腫瘍消失の条件としてのCA125値にはこの数値を用いる。

2.1.3. 原発診断および進行期(stage)診断

卵巣癌の診断すなわち、卵巣癌であることの診断、卵巣癌である場合の組織型の診断および病変の拡がり(stage: 婦人科領域では“進行期”と呼ぶ)の診断は、開腹手術による観察と摘出標本による組織診断によって行なわれるのが原則である。IV期であることの診断は、胸水穿刺細胞診やVirchowリンパ節の生検でも可能であるが、その場合にも卵巣癌であることの診断や、正確な病変の広がり(転移)の診断に必要な腹腔内病変の拡がりおよび後腹膜リンパ節(骨盤・大動脈リンパ節)転移の評価には、開腹手術が必要である。卵巣癌の診断および進行期診断を目的としたこの手術はstaging laparotomyと呼ばれ、初回治療として行われる。この手術には、全腹腔内の十分な視診、触診とともに腹腔内貯留液あるいは洗浄液の細胞診、転移が疑われる部位(横隔膜、腹膜など)の生検と子宮、付属器の切除、大網の部分切除、後腹膜リンパ節の生検(郭清)などが含まれる。I/II期の卵巣癌であれば、以上の操作により、病変をほぼ完全に摘出することが可能である。III/IV期の卵巣癌では、治療的には可能な限りの転移巣の切除(maximal debulking)が同時に行われる。

原発臓器が、卵巣、卵管、腹膜であると確認されている場合、進行期がIII/IV期であるといえる条件を列挙すると、

1) III期の条件

- ・ 腹腔内の、小骨盤を越えた部位に、転移を認める場合。
大網などの摘出標本中に肉眼では分からない顕微鏡的転移を認める場合も含む。
- ・ S状結腸や小腸に病変を認める場合、小骨盤内に存在していてもIII期となる。後腹膜リンパ節(傍大動脈、骨盤リンパ節)または単径リンパ節に転移を認める場合。

2) IV期の条件

- ・ 遠隔転移を認める場合(肝実質転移を認める場合を含む)。
肝表面の播種はIII期である。
- ・ 癌性胸水を認める場合。
細胞診にて、胸水中に癌細胞の存在が確認された場合。

2.1.4. 腫瘍関連合併症

卵巣癌の進展様式は、腹腔内進展が主体であり、次いでリンパ行性進展であり、血行性進展は比較的少ない。したがって、進行卵巣癌では腹膜癌腫症(peritoneal carcinomatosis)はほぼ必発である。この症状としては、腹部膨満、腹痛、低タンパク血症、貧血が起りやすい。また、原発腫瘍自体による圧迫症状として、摂食不良、嘔吐などの症状が出現することもある。卵巣癌においては、骨盤リンパ節、傍大動脈リンパ節、峯径リンパ節が所属リンパ節であり、III/IV期癌では70%程度にリンパ節転移を認める^[17,18]。傍大動脈リンパ節転移を介したVirchow節(左鎖骨上リンパ節)転移も進行例や再発例では稀に認められる。但し、これらのリンパ節転移による圧迫症状が出現することは少ない。遠隔転移としては、胸水を伴う胸膜転移が多いのが特徴である。この場合、多量胸水による呼吸困難が起りやすい。稀な血行性転移の中では、脳転移、骨転移は初発例では特に稀であるが、再発例では時として見られ、麻痺や、頭痛、疼痛などの原因となりうる。腸管への転移を介した肝実質転移は、特に再発例では比較的多く見られるが、進行すれば、肝機能障害や黄疸などの症状を起しうる。

2.1.5. 再発/増悪形式

進行卵巣癌の治療中、治療後早期の再発/増悪は、治療開始時に存在した部位におけるものが大部分であり、III/IV期共通して、腹腔内再発が最も多く、IV期では初回治療時に遠隔転移があった部位にも再発しやすい。次いで、進展様式からみて次の転移部位(腸管転移がある場合の肝実質転移、傍大動脈リンパ節転移がある場合のVirchow節転移など)には、もともと病変が認められていなかった場合でも再発が起りやすい。極めてaggressiveな腫瘍の早期再発や、それ以外の腫瘍の後期再発や再々発では、脳転移、骨転移なども起りうる。

2.1.6. 予後因子/予測因子

卵巣癌において、進行期は最も重要な予後因子である。5年生存率は、Stage Iで80-90%、Stage IIで60-70%、Stage IIIで20-30%程度、Stage IVでは20%未満でしかない(表 1.参照)。

進行卵巣癌(III/IV期)においても、進行期(IV期であること)は重要な予後因子であるが、進行期以外の予後因子としては、特に初回の cytoreductive surgery 後の残存腫瘍が重要と考えられている。III/IV期卵巣癌では残存腫瘍のない完全切除は稀で、根治には化学療法の奏効が必要である。ただし、直径1cmを超える腫瘍を化学療法で消滅させることは不可能なことが多く、進行卵巣癌の根治には残存腫瘍が1cm未満の可及的切除と有効な化学療法の両者が必要条件であると考えられている。初回の腫瘍縮小手術において、optimal surgery(残存腫瘍<0.5cm~残存腫瘍<3cmと様々な定義が用いられるが、本試験で使用する残存腫瘍<1cmが最も一般的)が可能であれば、予後の改善が期待されるが、一般には、30~40%程度の症例にしか達成できない(表 2.参照)。進行期、残存腫瘍以外の進行卵巣癌の予後不良因子としては、組織型は明細胞腺癌、粘液性腺癌であること^{19,20)}(漿液性腺癌、類内膜型腺癌に比べて)、高齢であること^{19,21,22)}、PSが不良であること^{22,23)}などが知られている。GOG(Gynecologic Oncology Group)が進行卵巣癌726例の解析から報告した進行卵巣癌の予後因子を表にまとめた(表 3.参照)²⁴⁾。

表 1. 卵巣癌進行期と予後

Stage	5 year survival rate			
	FIGO ¹²⁾ (2000)	US ²⁵⁾ (1993)	Sweden ²⁶⁾ (1993)	Canada ²⁷⁾ (1985)
Stage I	85%	89%	81%	80%
Stage II	66%	57%	63%	61%
Stage III	32%	24%	18%	16%
Stage IIIA	59%	39%	50%	
Stage IIIB	40%	26%	13%	
Stage IIIC	29%	17%	16%	
Stage IV	17%	12%	17%	2%

表 2. 進行卵巣癌における optimal surgery と予後

Author	Year	Optimal debulking		Median Survival(Months)	
		Definition	Rate	Optimal	Suboptimal
Vogl ¹²⁸⁾	1983	<2cm	32%(12/38)	>40	15
Delgado ¹²⁹⁾	1984	<2cm	28%(21/75)	45	16
Conte ¹³⁰⁾	1985	<2cm	27%(7/27)	>24	11
Louie ¹³¹⁾	1986	<2cm	24%(15/62)	24	15
Neijt ¹³²⁾	1987	<1cm	33%(62/191)	40	21
Hainsworth ¹³³⁾	1988	<3cm	36%(20/55)	72	13
Sutton ¹³⁴⁾	1989	<3cm	30%(17/56)	45	23
DACOVA[*1] ¹³⁵⁾	1989	<1cm	26%(89/349)	50	<21
Del Campo ¹³⁶⁾	1994	<2cm	27%(25/91)	47	22

*1 : DACOVA(Danish Ovarian Cancer Group)

表 3. 進行卵巣癌における予後因子

-GOG の報告より¹²⁴⁾

予後因子	Category	Univariate	Multivariate[*1]		
		P value	Relative risk	P value	
PS	0		1.00		
	1	<0.001	1.37	<0.001	
	2		1.76		
	3		2.49		

Age	<50		1.00		
	50-59	<0.001	1.28	<0.001	
	60-69		1.48		
	≥70		1.75		

Cell type	Serous	<0.001	Not assessed		
	Endometrioid				
	Undifferentiated				
	Mixed				
	Mucinous				
Clear cell	-----				
FIGO stage	III	<0.001	1.00	0.036	
	IV		1.20		
測定可能病変	No	0.009	1.00	0.005	
	Yes		1.26		
残存腫瘍	0	<0.001	1.00	0.008	
	<5cm		1.64		
	>5cm		1.73		
Ascites	No	0.015	1.00	0.007	
	Yes		1.46		

*1 : Mucinous、clear cell が、他の組織型に比して明らかに予後不良であるため、Mucinous+clear cell と他の組織型で層別化して多変量解析を行った。

2.2. 対象に対する標準治療

進行卵巣癌に対する現在の標準治療は、初回に可能な限り病巣を取り除く手術(primary cytoreductive surgery : PCS)を行い、術後に化学療法を行なう方法である^{137,38)}。ただし、可及的切除する方針で開腹し、切除不能と判断され、結果として試験開腹かそれに近い状態で終わることが稀にあるが、この場合も術後の化学療法は同様に行い、これも標準治療に含まれる。現時点で卵巣癌に対する標準化学療法は paclitaxel(TXL) + carboplatin(CBDCA) : TJ療法である。その経緯としては、それまでの標準化学療法であった、CP療法(CPA+CDDP)に対して、米国のGOGが行った進行期卵巣癌(suboptimal stage III/IV期)を対象としたCP(CPA 750mg/m²+CDDP 75mg/m²)療法とTP療法(TXL 135mg/m² 24時間投与+CDDP 75mg/m²)との比較試験(GOG111)において、TP療法が complete response(CR)率(31% vs. 51%)、median survival time(MST, 24 mos. vs. 38 mos.)で有意に優れているという結果が報告された¹³⁹⁾。また、1998年のEORTC(European Organization for Research and Treatment of Cancer)とCanadaの共同研究でも、CP療法(CPA 750mg/m²+CDDP 75mg/m²)とTP療法(TXL 175-200mg/m² 3時間投与+CDDP 75mg/m²)の比較試験(OV10)で、response rate(RR, 45% vs. 59%)、progression-free survival(PFS, median; 12 mos. vs. 16 mos.)、MST(26 mos. vs. 36 mos.)と全てにおいてTP療法がCP療法を優っていたという報告がなされた¹⁴⁰⁾。プラチナ製剤と他の薬剤の併用化学療法において、プラチナ製剤としてCBDCAとCDDPの比較では、メタアナリシスの結果から両者はほぼ同等であるとされている^{141,42)}。また、TXLとプラチナ製剤との併用では、GOG158¹⁴³⁾、Danish-Dutch study¹⁴⁴⁾およびAGO(German Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie)のOvar3 study¹⁴⁵⁾のTP療法 vs. TJ療法の比較試験では、長期予後に関する結果は未だ発表されていないが、RRおよびPFSでは両者には差がなく、悪心・嘔吐、神経毒性、腎毒性がTJ療法で少ない傾向にあり、TJ療法が現在の標準化学療法と考えられている。TXLの投与方法では、3時間投与方法と24時間投与方法が検討されたが、responseおよびsurvivalにおいて、両者に差は認められず¹⁴⁶⁾、簡便性の点から、3時間法が好まれている。TJ療法における、TXLおよびCBDCAの至適投与量は、dose finding studyの結果からは、TXL 175-185mg/m² 3h投与 + CBDCA AUC 5-7.5程度と考えられるが(2.3.1. 薬剤の項参照)、TXLのdose-response relationshipは、証明されておらず^{147,48)}、TJ療法における、現時点での至適投与方法はTXL 175mg/m² 3時間投与であると考えられている。またCBDCAに関してもdose-response relationshipは証明されておらず^{149,50)}、TJ療法におけるCBDCAの至適投与量はAUC 5-6とされている。進行卵巣癌に対する化学療法投与コース数に関しては、6-9コース(3週毎)が標準と考えられている¹⁵¹⁾。

2.3. 治療計画設定の根拠

2.3.1. 薬剤

化学療法レジメンとしては、卵巣癌に対する標準化学療法レジメンと考えられている TJ 療法を選択した。この療法は、卵巣癌に対して現在最も高い奏効率が期待でき、また我が国で最も広く用いられているレジメンである。いずれの薬剤も卵巣癌に対する保険適応が承認されている。

本試験では、最低限 1 週間に 1 回の検査・評価(9.2.1. 週 1 回以上行う検査・評価の項参照)が可能であれば、化学療法に際して入院の有無を問わない。

以下に、TJ 療法の至適投与量、および有効性に関する data をまとめた。

1) 卵巣癌初回治療における TJ 療法の至適投与量の検討

TJ 療法の dose finding study としては、種々の報告がなされているが、ここでは卵巣癌初回治療例を対象として、TXL は 3h 投与を行なった study に限定した。

AGO では、TXL、CBDCA とも投与量を増量していく design で試験を行ない、TXL 185mg/m² + CBDCA AUC 6 を最大耐容量(MTD)とし、第 III 相試験への推奨容量(RD)としている。容量制限毒性(DLT)は、好中球減少、血小板減少、神経障害であった。GOG では、まず始めに、24hr 投与の TXL 135mg/m² を固定して、CBDCA を AUC 5 から増量、CBDCA の至適投与量を 7.5 に設定、その後 CBDCA を AUC 7.5 に固定し、3hr 投与の TXL を 175mg/m² から増量していく design で試験を行ない、TXL 175mg/m² + CBDCA AUC 7.5 が、MTD とし、外来投与可能な RD とした。DLT は血液毒性で、主として好中球減少であった。その他、CBDCA の投与量を体表面積で計算した Netherlands の study では、TXL 200mg/m² + CBDCA 550mg/m² を MTD としている。

以上より、dose finding study の結果からは、卵巣癌初回治療例を対象とした 3 週間隔の TJ 療法では CBDCA の投与量を AUC で表現する場合、TXL 175-185mg/m² 3h 投与 + CBDCA AUC 5-7.5 程度が至適投与量と考えられており、以後の AGO^[45] や GOG^[43]、Danish-Dutch group^[44] の TP vs. TJ の第 III 相試験では、TJ 療法として TXL 175-185mg/m² + CBDCA AUC 5-7.5 の投与が行なわれた。今回の試験では、現在本邦において標準投与量として広く用いられており、また近年の GOG の試験(GOG182)^[52] においても標準治療群の投与量として採用されている、TXL 175mg/m² + CBDCA AUC 6 を採用した。

表 4. 卵巣癌初回治療における TJ 療法の Dose finding study

Study Group	No. of Pt.	Evaluated dose and schedule			MTD or Highest Dose [#]	
		TXL (mg/m ²)	CBDCA	Interval	TXL (mg/m ²)	CBDCA
AGO ^[53]	38	135-210	AUC 5-7.5	21 days	185	AUC 6
GOG ^[54]	13	175-225	AUC 7.5	21 days	175	AUC 7.5
UK ^[55]	12	150-225	AUC 7	28 days	225 [#]	AUC 7
Italy ^[56]	27	150-250	300(mg/m ²)	28 days	250 [#]	300(mg/m ²)
France ^[57]	16	175-225	400(mg/m ²)	21 days	225 [#]	400(mg/m ²)
Netherlands ^[58]	11	200	500-550(mg/m ²)	21 days	200	550(mg/m ²)

2) 卵巣癌初回治療における TJ 療法の有効性

TJ療法とTP療法の第III相試験における長期予後に関する最終結果は、未だ報告されていない。ここでは、卵巣癌初回治療における、TJ療法の有効性(Response)に関する data をまとめた。Response rate(RR)は、70-100%で、7つの報告全体では79%(134/169)であった。Complete response(CR)は、24-83%に認められ、全体では57%(97/169)であった。

表 5. 卵巣癌初回治療における TJ 療法の有効性に関する data

Study Group	TXL	CBDCA	RR	CR rate
Austria ^[59] (Phase II)2000	175mg/m ² (3hr)	AUC 6	81%(30/37)	70%(26/37)
AGO ^[53] (Phase I/II)1997	135-210mg/m ² (3hr)	AUC 5-7.5	70%(23/33)	24%(8/33)
GOG ^[54] (Phase I)1996	175-225mg/m ² (3-96hr)	AUC 5-10	75%(18/24)	67%(16/24)
UK ^[55] (Phase I)1997	150-225mg/m ² (3hr)	AUC 7	83%(5/6)	83%(5/6)
Italy ^[56] (Phase I)1997	150-250mg/m ² (3hr)	300mg/m ²	81%(17/21)	67%(14/21)
Netherlands ^[58] (Phase I)1997	125-225mg/m ² (3hr)	300-600mg/m ²	78%(26/33)	61%(20/33)
Netherlands ^[60] (Phase II)1997	200mg/m ² (3hr)	550mg/m ²	100%(15/15)	53%(8/15)

2.3.2. 外科切除術

NAC後に行う外科切除は、Interval cytoreductive surgery (ICS)と一般に称される。Cytoreductionの内容を表す個々の術式名自体は初回手術で行われるものと基本的には同様であるが、腫瘍の縮小・消失に伴い、以下に述べる「可能な限りの病巣切除」に要する切除範囲が縮小されるか、一部の病巣切除が省略されることが予想される。標準術式は、単純子宮全摘+両側付属器切除+部分大網切除術+可能な限りの病巣切除である。可能な限りの病巣切除のために施行される術式は腫瘍の局在によって異なるが、直腸低位前方切除、結腸切除、脾摘、腹膜切除、虫垂切除、全大網切除、骨盤および大動脈リンパ節郭清などから必要なものを選択する^[61-65]。初回手術で行う場合と最も異なるのは次の点である。初回の cytoreduction と比べて期待できる有利な点としては、化学療法が期待通り奏効した場合には、1)腹水が消失しているか、極端に減少していることにより、PSが良好であり、長時間の手術に耐えられること。2)大きな腫瘍の縮小、浸潤の軽減、播種病巣の縮小・消失により、切除範囲(例えば切除する腸管の長さ、腹膜の面積)を小さくできるか、切除を省略できるか、各部位の切除に要する時間を短くできる。3)1)2)の結果として最大残存腫瘍径を小さくできる。初回の cytoreduction と比べて不利な点としては、1)術後行う化学療法の回数が少なくなることに加え、耐性の出現を予想し、より完全な切除が要求される点である。