

多い。そこで、各種薬剤の耐性機構を解明し、婦人科癌患者それぞれに有効な薬剤を選択し併用することができれば、余計な副作用を回避でき、化学療法の奏効率は上昇し、予後を著しく改善しようと考えられる。

抗癌剤感受性試験は、同一の臓器由来で同一の組織型を有する癌においても抗癌剤に対する感受性は異なるという現象から開発されてきた。Hamburger<sup>2)</sup>の報告により抗癌剤感受性試験が広く臨床に紹介され、一時的な世界的普及をみたが、判定可能率の低さが臨床家の足を遠のかせ、一般的検査に至るまでにはならなかった。そこでこの欠点を補い、簡便かつ迅速に結果が得られ、しかも個々の症例に有効(オーダーメイド)な薬剤選択を可能とする感受性試験の確立が強く望まれてきた。

熱可逆性ハイドロゲル(Thermoreversible gelation polymer; TGP)は、転移温度(22°C)の上下でゾル・ゲル状態が可逆的に変化する高分子化合物である。TGPの特徴として、細胞の包埋・回収が酵素処理を必要とせず、温度変化のみで可能であり、細胞や組織に障害を与えない。形態変化を位相差顕微鏡で観察できる。培養日数を必要とする時間依存性薬剤でも感受性試験が可能である。TGP内で固形癌組織は三次元的に増殖するのに対して、線維芽細胞は増殖を認めないなどが挙げられる<sup>3-6)</sup>。

以上の背景をもとに我々は、TGPを培養用基材に用いて、再発した婦人科癌、特に難治性である再発した卵巣癌を中心に感受性試験を行い、結果に基づきオーダーメイドな化学療法を行い、治療効果を解析し、その有用性について評価した。

#### 材料および方法

##### 1. 対象

2004年2月から2006年6月まで聖マリアンナ医科大学病院にて手術あるいは生検をした再発した婦人科癌患者45例(子宮頸癌7例、子宮癌5例、卵巣癌33例)を対象とした(Table 1)。全例、試験前に十分な説明を行い、文書で同意を得た。また、本研究の施行に際し、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会にて承認を得た(承認番号第1071号)。各症例の年齢、感受性試験前の治療の内容、進行期分類をTable 2a, 2b, 2cに示す。

##### 2. TGPと培養液の作成

TGPは吉岡らの方法<sup>7-9)</sup>で作成した。TGPの粉末

にRPMI1640(Life Technologies, NY., USA)を加え4°C下で24時間攪拌溶解し、最終濃度5.5%(wt/wt)に調整した。培養液は、RPMI1640に20% Fetal calf serum (FCS, Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., Sydney, Australia), penicillin (10,000 unit/ml) / streptomycin (100 µg/ml) (Life Technologies, NY., USA), L-glutamine 2 mM (Life Technologies, NY., USA)を加えたものを用い、以下の実験に用いた。

##### 3. 検体採取と組織片の作成

手術より切除された検体(癌組織)を5 mm角に切除し、抗生剤入りHanks'液(Hanks' balanced salt solution; HBSS, Gibco, Gaithersburg, MD, USA)に1時間接触後、壊死組織や血液成分を可能な限り除去し、反復洗浄した。その後組織細切器McIlwain Tissue Chopper(The Mickle Laboratory Engineering Co., Ltd. Surrey, UK)を用いて癌組織を0.5~1.0 mm厚に細切した。24 well 平底プレート(FALCON, BD Bioscience, Franklin Laces, NJ, USA)に冷却によってゾル状態となったTGPを300 µl/well注入した。これに細切した組織を3~5個を包埋して、以下の実験を行った。

また、腹水及び腫瘍内容液に関しては細胞診により癌細胞の存在を確認したのち、患者より採取した腹水及び内容液約100 mlを1000 r.p.m., 6分間遠心分離後、4°Cの低温化下でゾル状態のTGPを用い細胞混濁液(5.0×10<sup>5</sup>個/ml)を作成した。血性腹水の場合は、Ficoll-Paque(Pharmacia Biotech., Uppsala, Sweden)を用いた比重遠沈法により、癌細胞を分離後、同様の操作を行った。

##### 4. 組織の培養法

上記の手順で用意したプレートに培養液650 µl/wellを添加し、37°C, 5%CO<sub>2</sub>大気条件下で培養した。

##### 5. 抗癌剤感受性試験

実際の操作手順をFig. 1に示す。組織片を包埋した状態で、培養液300 µl/mlを添加し、抗癌剤感受性試験用プレートとした。5種の抗癌剤、cisplatin (CDDP) (Bristol-Myers Squibb Company, NY., USA), mitomycin C (MMC) (Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd., Tokyo, JPN), 5-fluorouracil (5FU) (Kyowa Hakko Kogyo), paclitaxel (PTX) (Bristol-Myers Squibb Co. Ltd., NY., USA), and irinotecan (CPT-11) (Daiichi Pharmaceutical Co.

**Table 1.** Types of Tumor and Samples

	Sample	No.
Cervical cancer	Tissue	7
Endometrial cancer	Tissue	5
Ovarian cancer	Tissue	20
	Ascites	9
	Intratumoral fluid	4
Total		45

**Table 2a.** Characteristics of Patients with Cervix Cancer

No.	Age	Stage	Chemotherapy of pre chemosensitivity test	Course	Chemotherapy of post chemosensitivity test	Course
1	45	IIb	-	-	CDDP + 5FU	4
2	53	Ib	PTX + CBDCA	6	CDDP i.a.	4
3	72	Ib	CPT-11 + MMC	5	CDDP + MMC + 5FU i.a.	6
4	51	Ib	NDP	5	CPT-11	5
5	43	IIb	-	-	CDDP + MMC i.a.	4
6	48	IIIb	CDDP + BLM + 5FU i.a.	2	PTX + CBDCA	6
7	57	Ib	CDDP + CPT-11	3	CDDP + MMC i.a.	3

CDDP; cisplatin, MMC; mitomycin C, 5FU; 5-fluorouracil, PTX; paclitaxel, CPT-11; irinotecan, NDP; nedaplatin, BLM; bleomycin, CBDCA; Carboplatin  
 PTX + CBDCA; PTX; 180 mg/m<sup>2</sup>, CBDCA AUC6/every 4w i.v., NDP; 25mg/m<sup>2</sup>/w i.v., CPT-11 + MMC; CPT-11 60mg/m<sup>2</sup>, MMC 7mg/m<sup>2</sup>/every 2-3w i.v., CDDP + CPT-11; CDDP 60mg/m<sup>2</sup>/day1, CPT-11; 60mg/m<sup>2</sup>/day1,8,15 i.v., CPT-11; 60mg/m<sup>2</sup>/w i.v., CDDP + BLM + 5FU i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, BLM 10mg/body, 5FU 700mg/ m<sup>2</sup>/every 2-3w i.a., CDDP i.a.; CDDP 100 mg/body/every 2-3w i.a., CDDP + MMC + 5FU i.a.; CDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, MMC 7mg/m<sup>2</sup>, 5FU 700mg/m<sup>2</sup>/every 2-3w i.a., CDDP + 5FU; CDDP 20mg/body/day1-5, 5FU 500 mg/body/day1-5/every 4w i.v., CDDP + 5FU i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, 5FU 700mg/m<sup>2</sup>/every 4w i.a., CDDP + MMC i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, MMC 7mg/m<sup>2</sup>/every 4w i.a., i.v.; intra-venous chemotherapy, i.a.; intra-arterial chemotherapy

**Table 2b.** Characteristics of Patient with Endometrial Cancer

No.	Age	Stage	Chemotherapy of pre chemosensitivity test	Course	Chemotherapy of post chemosensitivity test	Course
1	62	IV	TXT + CBDCA	6	CPT-11	9
2	37	IIIa	CDDP i.a.	3	CDDP + 5FU	4
3	74	IV	PTX + CBDCA	4	CDDP + 5FU	5
4	64	IIIc	PTX + CBDCA	6	-	
5	73	IIIa	PTX + CBDCA	6	-	

CDDP; cisplatin, 5FU; 5-fluorouracil, PTX; paclitaxel, CPT-11; irinotecan, CBDCA; Carboplatin, TXT; docetaxel  
 PTX + CBDCA; PTX; 180 mg/m<sup>2</sup>, CBDCA AUC6/every 4w i.v., TXT + CBDCA; TXT 70 mg/m<sup>2</sup>, CBDCA AUC 6/every 4w i.v., CDDP i.a.; 100mg/body/every 2-3w i.a., CPT-11; 60mg/m<sup>2</sup>/w i.v., CDDP + 5FU; CDDP 20mg/body/day1-5, 5FU 500 mg/body/day1-5/every 4w i.v., i.v.; intra-venous chemotherapy, i.a.; intra-arterial chemotherapy

Table 2c. Characteristics of Patients with Ovarian Cancer

No.	Age	Stage	Chemotherapy of pre chemosensitivity test	Course	Chemotherapy of post chemosensitivity test	Course
1	62	IIIc	TXT + CBDCA	6	CDDP + 5FU i.a.	3
2	55	IIIb	PTX + CBDCA	6	MMC i.a.	4
3	75	IIIc	PTX + CBDCA	6	w PTX + CBDCA	12
4	62	IV	PTX + CBDCA	6	CDDP + 5FU i.a.	4
5	66	IIIc	PTX + CBDCA	6	MMC i.a.	
			CDDP + CPT-11	3		
6	68	IIIc	PTX + CDDP	6	w PTX + CBDCA	12
7	54	IIIc	PTX + CBDCA	6	CDDP + MMC i.a.	3
			CDDP + CPT-11	3		
8	74	IIc	PTX + CBDCA	6	-	
9	41	IIIc	PTX + CBDCA	6	CDDP i.a.	3
10	54	IIc	CDDP + CPT-11	3	CDDP i.a.	3
11	59	IIc	PTX + CBDCA	2	-	
12	71	IIIc	PTX + CBDCA	6	MMC + 5FU i.a.	3
13	53	IIIb	PTX + CBDCA	8	PTX	12
14	59	IIc	CDDP + CPT-11	6	-	
15	52	IV	CPT-11 + CDDP	6	-	
16	55	IIIc	PTX + CBDCA	6	CPT-11	3
17	62	IV	PTX + CDDP	6	CDDP + MMC i.a.	3
18	84	IIIc	PTX + CBDCA	3	MMC	4
19	55	IV	PTX + CBDCA	6	-	
			CDDP	2		
20	66	IV	CDDP + CPT-11	6	-	
21	21	Ic	CDDP + CPT-11	6	CDDP + 5FU	6
22	54	IIIc	PTX + CBDCA	6	CDDP + 5FU	3
23	67	IIIc	PTX + CBDCA	6	w PTX + CBDCA	12
24	64	IV	PTX + CBDCA	3	CDDP + MMC i.a.	3
25	47	Ic	CDDP	3	CDDP + 5FU	5
26	45	IV	CDDP	3	5FU i.a.	6
27	46	IIIc	PTX + CBDCA	6	CDDP + 5FU	6
28	55	Ic	PTX + CBDCA	3	CDDP + MMC	3
29	53	Ic	PTX + CBDCA	6	w PTX + CBDCA	12
30	64	IIIc	PTX + CBDCA	6	w PTX + CBDCA	16
31	67	Ic	PTX + CBDCA	3	MMC i.a.	3
32	71	IIIc	PTX + CBDCA	6	w PTX + CBDCA	12
33	68	IIIc	PTX + CDDP	6	-	

CDDP; cisplatin, MMC; mitomycin C, 5FU; 5-fluorouracil, PTX; paclitaxel, CPT-11; irinotecan, NDP; nedaplatin, BLM; bleomycin, CBDCA; Carboplatin, TXT; docetaxel  
 PTX + CBDCA; PTX; 180 mg/m<sup>2</sup>, CBDCA AUC6/every 4w i.v., TXT + CBDCA; TXT 70 mg/m<sup>2</sup>,  
 CBDCA AUC 6/every 4w i.v., PTX + CDDP; PTX 180mg/m<sup>2</sup>, CDDP 100mg/body/every 4w i.v.,  
 NDP; 25mg/m<sup>2</sup>/w i.v., CDDP; 100mg/body/every 2-3w i.p. or i.a., CDDP + CPT-11; CDDP  
 60mg/m<sup>2</sup>/day1, CPT-11; 60mg/m<sup>2</sup>/day1,8,15 i.v., CDDP + BLM + 5FU i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, BLM  
 10mg/body, 5FU 700mg/ m<sup>2</sup>/every 2-3w i.a., CDDP + MMC + 5FU i.a.; CDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, MMC  
 7mg/m<sup>2</sup>, 5FU 700mg/m<sup>2</sup>/every 2-3w i.a., CDDP + 5FU; CDDP 20mg/body/day1-5, 5FU 500  
 mg/body/day1-5/every 4w i.v., CDDP + 5FU i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, 5FU 700mg/m<sup>2</sup>/every 4w i.a., w  
 PTX + CBDCA; PTX 80mg/m<sup>2</sup>, CBDCA AUC2/w i.v., CDDP + MMC; CDDP 60mg/m<sup>2</sup>/day1,  
 MMC 7mg/m<sup>2</sup>/day1,8,15 i.v., CDDP + MMC i.a.; CDDP 70mg/m<sup>2</sup>, MMC 7mg/m<sup>2</sup>/every 4w i.a.,  
 5FU i.a.; 5FU 700 mg/m<sup>2</sup>/every 2w i.a, MMC i.a.; MMC 7mg/m<sup>2</sup>/every 2w i.a., MMC; MMC  
 7mg/m<sup>2</sup>/every 2w i.v., i.v.; intra-venous chemotherapy, i.a.; intra-arterial chemotherapy

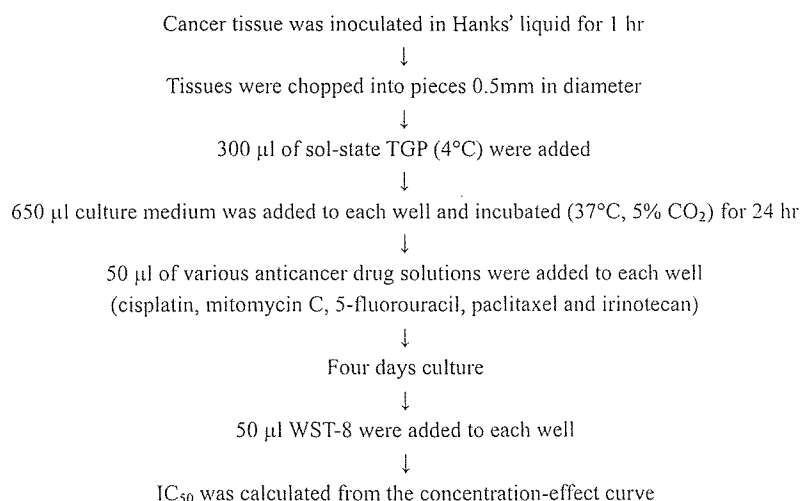


Figure 1. Procedure of chemosensitivity test.

Ltd., Tokyo, JPN) をそれぞれ添加し、4日間接触させた。各抗癌剤は最終濃度が CDDP; 25, 2.5, 0.25, 0.025 µg/ml, MMC; 10, 1.0, 0.1, 0.01 µg/ml, 5FU; 500, 50, 5.0, 0.5 µg/ml, PTX; 100, 10, 1, 0.1 µg/ml, CPT-11; 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 µg/ml となるように調整して用いた。

組織の viability の測定は、水溶性の Formazann を形成する WST-8: (2-(2-methoxyl-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2, 4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt) (Dojindo Laboratories Co. Ltd., Kumamoto, JPN)<sup>(10)(11)</sup> を各 well に 50 µl 添加し、37°C で 24 時間反応させた。その後 4°C に 1 時間保冷し、均一な水溶液の状態にした。マイクロプレート用比色計 (Labsystems Multiscan MS; Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., Osaka, JPN) を用いて 450 nm (参照波長 620 nm) で吸光度を測定した。一方、組織片の蛋白濃度測定は BCA (Bicinchonic acid) 法による BCA Protein Assay Kit (PIERCE : Rockfold, IL, USA) を使用して測定した。すなわち BCA 試薬を各組織に 600 µl 添加して 37°C にて 30 分反応させた後、波長 570 nm で吸光度を測定した。

組織の viability は組織蛋白量当たりの WST-8 の吸光度で表した。組織の生存率を、組織生存率(%) = (抗癌剤処理した単位組織蛋白当たりの OD (optical density) / コントロールの単位組織蛋白当たりの OD) × 100 で求め、各濃度における生存率をプロットし濃度依存曲線を求めた。得られたグラフから各薬剤の IC<sub>50</sub> 値 (inhibition concentration; 50%

抑制濃度) を算出した。各薬剤について得られた IC<sub>50</sub> 値と各抗癌剤の最高血中濃度 (Peak Plasma Concentration; PPC)<sup>(12)(13)</sup> を比較し、IC<sub>50</sub> 値 < PPC (CDDP; 4.98 µg/ml, MMC; 3.0 µg/ml, 5FU; 120.0 µg/ml, PTX; 20.0 µg/ml, CPT-11; 0.05 µg/ml) の場合、感受性ありと判定した。

#### 6. 感受性試験後の治療

患者の全身状態、再発部位を考えながら感受性が認められた抗癌剤を中心に投与計画を決め、オーダーメイドな化学療法 (点滴静脈投与、動注療法) を施行した。(Table 2a, 2b, 2c) また、感受性の認めなかった症例に対しては CDDP および CPT-11 を中心とした投与計画を決め、治療を行った。患者によっては感受性試験後に状態が急変し、治療不可能な例も認めた。

#### 7. 効果判定および統計解析

抗癌剤投与後の効果判定は婦人科癌化学療法の直接効果判定基準に沿って評価した。すべての標的病変が腫瘍による二次的変化を含めて消失した場合を著効; Complete response (CR), ベースライン長径和と比較して標的病変の長径和が 30% 以上減少した場合を有効; Partial response (PR), 標的病変の長径和が、それまでの最も小さい長径和に比して、20% 以上大きくなった場合を進行; Progressive disease (PD), PR に該当する腫瘍縮小や PD に該当する腫瘍増大を認めない場合を安定; Stable disease (SD) とした。各群間の比較はχ<sup>2</sup>検定によって行った。

Table 3a. IC<sub>50</sub> of Each Anticancer Drug in Cervical Cancer Cases

No.	IC <sub>50</sub> (μg/ml)				
	CDDP	MMC	5FU	PTX	CPT-11
1	1.05	1.47	29.3	44.4	1000<
2	3.59	1000<	77.6	127	0.35
3	4.26	0.382	20.9	15.2	3.81
4	7.34	5.90	1000<	1000<	1000<
5	1.20	0.93	239	335.6	1000<
6	0.30	0.50	42.0	0.20	1000<
7	9.90	5.57	967	107	788

Table 3b. IC<sub>50</sub> of Each Anticancer Drug in Endometrial Cancer Cases

No.	IC <sub>50</sub> (μg/ml)				
	CDDP	MMC	5FU	PTX	CPT-11
1	9.39	5.50	1000<	287	1000<
2	2.50	1000<	68.8	1000<	1000<
3	3.50	0.40	90.7	40.1	1000<
4	31.7	1.10	1000<	19.1	0.20
5	19.9	22.8	1000<	137	1000<

Table 3c. IC<sub>50</sub> of Each Anticancer Drug in Ovarian Cancer Cases

No.	IC <sub>50</sub> (μg/ml)				
	CDDP	MMC	5FU	PTX	CPT-11
1	2.48	0.78	1.74	13.9	0.03
2	6.37	1.97	330	224	0.11
3	2.49	3.04	69.8	0.16	39.5
4	0.20	1000<	5.6	1000<	1000<
5	1000<	1.50	398	75.6	2.90
6	2.00	1.30	64.4	10.8	1000<
7	1.00	5.60	1000<	29.4	1000<
8	1000<	1000<	1000<	1000<	1000<
9	0.10	0.30	3.70	3.50	0.10
10	6.00	4.60	157	317	1000<
11	1.30	0.70	0.40	1000<	1000<
12	7.00	0.20	14.6	25.7	1000<
13	0.40	1000<	21.4	0.80	1000<
14*	-	-	-	-	-
15*	-	-	-	-	-
16*	-	-	-	-	-
17	2.30	3.00	548	33.4	1000<
18	0.40	2.60	169	41.6	1000<
19	1.70	7.60	1000<	101	955
20	0.50	1.80	2.60	6.80	0.50
21	0.40	0.90	13.6	15.4	0.20
22	1.10	18.1	36.8	3.50	0.60
23	1.80	0.40	33.6	7.6	1000<
24	1.50	4.10	312	25.0	4.50
25	0.40	0.20	83.8	35.8	1000<
26	7.90	4.00	59.0	62.6	1000<
27	3.67	7.35	1.91	24.1	1000<
28	0.484	0.07	159	11.4	3.70
29	1.50	49.3	18.0	1.33	0.09
30	5.10	1.35	1000<	8.93	1000<
31	7.4	0.435	220	20.7	1000<
32	1000<	45.3	0.14	11.5	0.03
33*	-	-	-	-	-

CDDP; cisplatin, MMC; mitomycin C, 5FU; 5-fluorouracil, PTX; paclitaxel, CPT-11; irinotecan  
\* no evaluable cases

Table 4. Evaluability Rate of the Assay

		Cervical cancer	Endometrial cancer	Ovarian cancer	Total
Total		7	5	33	45
Evaluable cases	Tissue	7	5	20	32
	Ascites			6	6
	Intratumoral fluid			3	3
Evaluability rate <sup>a)</sup>		100	100	87.8	91.1

<sup>a)</sup> Evaluable cases / Total (%)

Table 5. *In vitro* Sensitivity Determined by the TGP Method

	Cervical cancer	Endometrial cancer	Ovarian cancer	Total
CDDP	71.4 <sup>a)</sup>	40.0	69.0	65.9
MMC	57.1	40.0	55.2	53.7
5FU	57.1	40.0	56.8	56.1
PTX	28.6	20.0	44.8	39.0
CPT-11	0	0	6.90	4.90

<sup>a)</sup> Date are shown of as number of sensitive cases / number of evaluable cases (%).

CDDP; cisplatin, MMC; mitomycin C, 5FU; 5-fluorouracil, PTX; paclitaxel, CPT-11; irinotecan

Table 6. Clinical Effects of Chemotherapy for Each Tumor Type

	Cervical cancer	Endometrial cancer	Ovarian cancer	Total
CR	2	1	3	6
PR	2	0	8	10
SD	2	1	10	13
PD	0	1	4	6
Total	6	3	25	35
Response rate <sup>a)</sup>	66.7	33.3	42.3	45.7

<sup>a)</sup> (CR + PR) / Total (%)

CR; complete response, PR; partial response, SD; stable disease, PD; progressive disease

## 結 果

### 1. 判定可能率 (Table 4)

TGP 法で判定可能であった症例数は 45 例中 41 例で、Table 3a, 3b, 3c に各抗癌剤の IC<sub>50</sub> 値を示す。判定可能率は 91.1% であった。腫瘍組織では全例において判定可能であった。卵巣癌症例の腹水 3 例、腫瘍内容液 1 例の合計 4 例が判定できなかった。また、全例にコンタミネーションは認めなかった。

### 2. TGP 法による疾患別の薬剤感受性率 (Table 5)

5 種類の抗癌剤の中で CDDP が最も薬剤感受性

が高く、次いで 5FU, MMC の順であった。また、CPT-11 は最も感受性が低い結果となった。

### 3. 疾患別臨床効果 (Table 6)

TGP 法で判定可能であった 41 例について、実際に感受性試験で得られた抗癌剤を使用し化学療法を施行した。その症例のうち癌病変部において抗癌剤の効果を評価できる症例は 35 例であった。子宮頸癌では CR 2 例・PR 2 例、子宮体癌では CR 1 例、卵巣癌では CR 3 例・PR 8 例の効果が得られ、疾患別の奏効率は子宮頸癌 66.7%、子宮体癌 33.3%、卵巣癌 42.3%、全体の奏効率は 45.7% であった。

### 4. 臨床効果予測率 (Table 7)

Table 7. Correlation of Results of Assay and Clinical Effects of Chemotherapy

Clinical drug response	<i>In vitro</i> drug response	
	Positive	Negative
Positive	16	0*
Negative	19	2*

True-positive rate (TP/TP + FP): 45.7 % (16/35), True-negative rate (TN/TN + FN): 100% (2/2), Sensitivity (TP/TP + FN): 100% (16/16), Specificity (TN/FP + TN): 9.5 % (2/21), Correlation rate (TP + TN/TP + FP + TN + FN): 48.6 % (18/37). TP (true-positive) indicates that drugs which showed positive antitumor effects *in vitro* demonstrated a positive response in patients. FP (false-positive) indicates that drugs which showed positive antitumor effects *in vitro* demonstrated a negative response in patients. TN (true-negative) indicates that drugs which showed negative antitumor effects *in vitro* demonstrated a negative response in patient. FN (false-negative) indicates that drugs which showed negative antitumor effects *in vitro* demonstrated a positive response in patients.

\* $p < 0.05$  ( $\chi^2$ -test), TP vs. TN and FP vs. FN. There was no significant difference between TP and FP.

臨床において抗癌剤の感受性を評価できた35例中16例でPR以上の効果が得られ、感受性が陽性であった薬剤の有効率に相当する真陽性率は45.7% (16/35)であった。これに対して有効薬剤が選択されなかった2症例においてPR以上の効果は得られず、真陰性率は100% (2/2)であり、感受性のない症例に対する薬剤の奏効率は0%であった。アッセイの精度を示す感度は100% (16/16)、特異度は9.5% (2/21)であり、全体の予測率は48.6% (18/37)であった。

#### 5. 卵巣癌の治療効果に対する点滴静注と動注療法の比較 (Table 8)

今回の研究において最大の症例数が得られた卵巣癌について、抗癌剤の投与経路の違いによる治療効果について比較検討した。感受性試験を行った卵巣癌患者33例のうち、化学療法を施行した患者は26例であった。内訳は点滴静注14例(評価可能症例は13例)中CR2例・PR5例・SD5例・PD1例、奏効率は53.8% (7/13)であった。動注療法12例(評価可能所例は12例)ではCR1例・PR3例・SD5例・PD3例、奏効率は33.3% (4/12)であった。腹膜播種などにより腹水貯留を認め再発した卵巣癌9例中TGP法で判定可能であった症例は6例あり、3例が点滴静注、3例が動注療法を施行した。腹水減少を認めたのは、6例中4例(点滴静注施行3例中2例、動注療法では3例中2例)であった。

#### 6. 再発した卵巣癌におけるCDDP, PTXの感受性 (Table 9)

初回治療においてプラチナ系化合物とタキサン系

化合物の併用化学療法を施行している再発卵巣癌例は25例であった(再発期間1ヶ月~7年、平均1年2ヶ月)。その中でCDDPに感受性を認めたのは18例(72.0%)、PTXに感受性を認めたのは12例(48.0%)、CDDPおよびPTX両方に感受性を認めたのは9例(36.0%)であった。両者に耐性であったのは5例(20%)であった。

### 考 察

1986年にHoffmanら<sup>14)15)</sup>がコラーゲンゲルを用いた三次元培養法を確立し、1992年Furukawara<sup>16)</sup>はこの培養法にMTTアッセイを組み合わせた抗癌剤感受性試験(histoculture drug response assay; HDRA)を確立し、Kubotara<sup>17)18)</sup>によってその臨床的有用性が数多く報告されている。Tanigawara<sup>19)</sup>は、三次元培養による感受性の判定が*in vivo*における感受性と一致することを報告し、三次元培養による抗癌剤感受性試験の重要性を提唱している。三次元培養による抗癌剤感受性試験は現在、HDRA法、collagen gel deposit embedded culture drug sensitivity test (CD-DST)法およびTGP法が知られている。

HDRA法は、腫瘍組織から腫瘍細胞を単離することなく約1mm角に細切した組織片をコラーゲンゲル上で培養し、MTTアッセイによりviabilityを測定する方法である。HDRA法では、細切した組織片が必ずしも均一ではないことが欠点として挙げられる。CD-DST法<sup>20,21)</sup>は、必要とする細胞数は少なく、初代培養成功率が高く、細胞本来の増殖形態

Table 8. The Clinical Effects of Chemotherapy in Recurrent Ovarian Cancer Patients

	Intra-venous chemotherapy	Intra-arterial chemotherapy
CR	2	1
PR	5	3
SD	5	5
PD	1	3
Total	13	12
Response rate <sup>a)</sup>	53.8	33.3

<sup>a)</sup> (CR + PR) / Total (%)

CR; complete response, PR; partial response, SD; stable disease, PD; progressive disease

Table 9. Sensitivity of CDDP and PTX for 25 Cases of Recurrent Ovarian Cancer Patients

Anticancer drug	<i>In vitro</i> drug response	
	Positive	Negative
CDDP	18	7*
PTX	12	13
CDDP and PTX	9	5

\* $p < 0.05$  ( $\chi^2$ -test), in CDDP treatment, positive vs. negative.

を維持できるが、腫瘍組織に酵素的処理を行い、単離細胞浮遊液を作成しなければならず、解析に画像処理装置が必要で特定の施設でないと感受性試験を行うことができないという欠点がある。従って、抗癌剤感受性試験の必要条件である定可能率が高いこと、手技・手法が簡便であること、臨床効果を的確に予測できることなどの条件を満たすものは未だ確立されていない。

本研究で培養用基材に用いた TGP は、常温でゾル・ゲル転移し、この転移温度を境にゾル・ゲル状態が可逆的に変化することが最大の特徴である。Mosmann らの基礎的研究<sup>22)</sup>により、①形態的变化を位相差顕微鏡で観察できる、②癌細胞は三次元的に増殖して spheroid を形成する、③ゲル内で線維芽細胞の増殖は認めない、④細胞の包埋・回収が酵素処理を必要とせず、温度変化のみで可能であるなどの利点が明確となり、これまで頻用されていた HDRA 法にない特徴をもつ。TGP 内では細胞間接触を保ったまま三次元的な腫瘍増殖が可能であり、酵素的処理による細胞表面、組織表面の障害をさけ生理的な条件に近い状態での感受性試験を極めて簡便に行うことが可能である。

婦人科癌、特に難治性である卵巣癌に対する標準的治療は、手術療法とそれに続くパクリタキセルとカルボプラチンによる併用化学療法である<sup>23)</sup>。現

在、標準的な治療を行った卵巣癌の 70~80% は奏効するが、それらの半数の患者は 2~3 年以内に再発し、セカンドラインの化学療法を受けることになる。無治療期間が 6 ヶ月以上の再発症例については初回化学療法と同様のプラチナ製剤を含む治療が推奨されている<sup>24)</sup>。一方、再発までの期間が 6 ヶ月未満の症例はプラチナ抵抗性とされ、標準的な治療は確立されていない<sup>25)</sup>。また、再発卵巣癌の化学療法は、セカンドラインの化学療法に対する感受性の問題以外にも蓄積された毒性、栄養状態、全身状態の低下などがあるため、このような状況を十分考慮したうえで、治療の選択肢の一つとしてセカンドライン化学療法を計画する必要がある。そこで、TGP を培養用基材に用いた抗癌剤感受性試験の結果に基づいたオーダーメイドな化学療法を施行することにより、余計な副作用を回避でき、化学療法の奏効率は上昇し、予後を著しく改善しようと考えた。

今回再発した婦人科癌に対しておこなった TGP 法は、91.1% という高い判定可能率であった。組織での判定可能率は 100% であり、腹水は 9 例中 6 例(66.7%)判定可能で、腫瘍内容液は 4 例中 3 例(75.0%)で判定可能であった (Table 4)。4 例の測定できなかった原因としてコントロールの細胞の viability が低かったため、濃度依存曲線を求めることができなかったことが挙げられる。今回組織だけ



でなく、腹水及び腫瘍内容液においても感受性試験を施行することができ感受性試験の幅を拡大することが可能となった。

卵巣癌の薬剤感受性率をみると、CDDP は最も感受性率が高く現在の卵巣癌の化学療法において欠かすことのできない抗癌剤であることが改めて再認識できた。また、5FU, MMC, PTX, CPT-11 の順で感受性を認めたことより、第2 選択あるいは第3 選択として化学療法を施行する際、抗癌剤を選択する有効な情報になりえるものと思われた (Table 5)。

TGP 法による臨床効果予測率は今回 48.6% と必ずしも満足な結果は得られなかった (Table 7)。臨床効果予測は偽陽性が多かったため、低い結果になった。再発した婦人科癌、特に難治性である卵巣癌は、全身状態の悪い患者も多く、quality of life を損なわない程度の化学療法を施行している。卵巣癌治療のセカンドラインの化学療法の奏効率が 30~40%<sup>29)</sup>とされているなかで今回の卵巣癌治療の奏効率が 42.3% は評価できる数字であると思われる (Table 6)。感受性試験の結果が実際の化学療法の効果に反映されない理由として、特に卵巣癌は播種という特異な転移経路で再発することが多く、薬剤分布が必ずしも良好とは言えない点が挙げられる<sup>30)</sup>。また、腹膜播種に伴い腹水の増大なども認められる。当産婦人科の独自の治療法として放射線科の協力のもと、腹膜播種による腹水貯留の患者に対し、腹腔動脈にカテーテルを留置し、抗癌剤をポラス投与することにより、播種病巣の縮小および腹水の減少を認めている。腹膜播種や血流の乏しいところに再発腫瘍を認めたため、薬剤分布の乏しい点滴静注よりも動注療法がより有効と判断し化学療法を施行したが、点滴静注による化学療法が奏効率において上回っていた (Table 8)。動注療法を行った患者の組織ではより抗癌剤に抵抗性がある可能性が考えられた。しかし、動注療法施行例において tumor dormancy、つまり腫瘍の縮小効果はないが腫瘍を増大させない例も認められたことから、無効とは言いきれない。今後の課題として感受性の判断基準に IC<sub>50</sub> 値の Cut off 値を設定し、より厳密な判定をしていきたい。また、抗癌剤の耐性機構として、癌細胞の薬物輸送タンパクの過剰発現、細胞内解毒機構の亢進、癌細胞のアポトーシス誘導機構の不活化などがあげられる<sup>27-32)</sup>。各種抗癌剤の耐性因子を検索し、抗癌剤感受性試験と抗癌剤耐性因子の発現

との相関関係について検討を行う必要があると思われる。

プラチナ系化合物およびタキサン系化合物併用の化学療法後に再発した卵巣癌症例では、TGP 法にて CDDP および PTX の両方に耐性を認めた症例は 5 例認めた (Table 9)。感受性試験後の治療は 5 例とも MMC に感受性を認めたため、MMC を中心とした動注療法を施行し、CR1 例・PR1 例・SD 3 例、奏効率が 40.0% であった。このことより、現在の卵巣癌治療の第一選択となっているパクリタキセルとカルボプラチンの併用化学療法無効症例において MMC が key drug になる可能性が示唆された。

今後の対応として感受性の高い症例には当該抗癌剤を積極的に投与すべきであるが、感受性の低い症例に対して何を投与すべきか、現在の抗癌剤感受性試験の精度から結論づけられていない。今後、抗癌剤感受性試験精度が臨床にどのように反映されるか大規模な prospective study を行う必要がある。

TGP を培養用基材に用いた抗癌剤感受性試験の結果に基づいたオーダーメイドな化学療法を施行することにより、再発した婦人科癌に対し、経験だけに基づいた不要な抗癌剤投与を排除し、患者の副作用軽減による quality of life の向上を図りたい。また、現在の化学療法は抗癌剤を併用させる場合が多く、抗癌剤併用時の感受性試験法を確立することにより、厳密な抗癌剤の選択が可能となり、奏効率の向上につながると考えられる。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に多大なる御協力をいただいた聖マリアンナ医科大学産婦人科研究員の 高橋則行技師、岡村麻未技師に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 杉山 徹. 卵巣癌におけるセカンドライン化学療法の選択とその意義. 癌と化療 2005; 32: 28-32.
- 2) Hamburger AW and Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. Science 1997; 197: 461-463.
- 3) 吉川剛司, 月川賢. 株化癌細胞に対する熱可逆性ハイドロゲル (TGP) を用いた 3 次元培養法

- による抗癌剤感受性試験(単層培養法との比較). 聖マリアンナ医大誌 2000; 28: 477-486.
- 4) 松岡博光. 熱可逆性ハイドロゲル (TGP) を培養用基材に用いた三次元培養による抗癌剤感受性試験. 聖マリアンナ医大誌 1999; 27: 411-418.
  - 5) 陣内祐二. 熱可逆性ハイドロゲル (TGP) を培養用基材に用いた腹水癌細胞の3次元培養と抗癌剤感受性試験. 聖マリアンナ医大誌 2001; 29: 357-366.
  - 6) Tsukikawa S, Matsuoka H, Kurahashi Y, Konno Y, Satoh K, Satoh R, Isogai A, Kimura K, Watanabe Y, Nakano S, Hayashi J and Kubota S. A new method to prepare multicellular spheroids in cancer cell lines using a thermo-reversible gelatin polymer. *Artificial Organs* 2003; 27: 598-604.
  - 7) Yoshioka H, Miami M, Mori Y and Tsuchida E. Preparation of (N-isopropylacrylamide)-b-poly(ethylene glycol) and calorimetric analysis of its aqueous solution. *J Macromol Sci* 1994; A31: 109-112.
  - 8) Yoshioka H, Mikami M, Mori Y and Tsuchida E. A synthetic hydrogel with thermoreversible gelation. I. Preparation and rheological properties. *J Macromol Sci* 1994; A31: 113-120.
  - 9) Yoshioka H, Mori Y, Tsukikawa S and Kubota S. Thermoreversible gelation on cooling and on heating of an aqueous gelation-poly (N-isopropylacrylamide) conjugate. *Polym Adv Technol* 1998; 9: 155-158.
  - 10) Takamatsu N. The new colorimetric assay (WST-1) for cellular growth with normal aging and Alzheimer's disease. *Nippon Ronen Igak-kai Zasshi* 1998; 35: 535-542.
  - 11) Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y and Ueno K. A combined assay of cell viability and in vitro cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. *Biol Pharm Bull* 1996; 19: 1518-1520.
  - 12) Wermer S, Gary MC and Sydney ES. Model for estimation of clinically achievable plasma concentration for investigational anticancer drugs in man. *Cancer Treat Reports* 1996; 70: 1379-1382.
  - 13) Tamura T, Sasaki Y, Nishiwaki Y and Saijo N. Phase I study of paclitaxel by three hour infusion: Hypotension just after infusion is one of the major dose-limiting toxicities. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 1203-1209.
  - 14) Freeman AE and Hoffman RM. In vivo-like growth of human tumors in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2694-2698.
  - 15) Vescio RA, Redfern CH and Nelson TJ. In vivo-like drug responses of human tumors growing in three-dimensional gel-supported primary culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 5029-5033.
  - 16) Furukawa T, Kubota T and Watanabe M. High in vitro-in vivo correlation of drug response using spongegel-supported three-dimensional histoculture and MTT end point. *Int J Cancer* 1992; 51: 489-498.
  - 17) 久保田哲郎, 古川俊治, 北島正樹. 組織培養法を用いた抗癌剤感受性試験. *癌と化療* 1993; 20: 461-466.
  - 18) 久保田哲郎, 笹野信昭, Hoffmann RM. 抗癌剤感受性試験—研究から臨床へ—. *Biotherapy* 1996; 10: 847-853.
  - 19) Tanigawa N, Kitaoka A and Yamakawa M. Potential and limitation of scintillation assay (TIA) for clinical chemotherapy. *Hum Cell* 1995; 8: 173-178.
  - 20) Koezuka M, Kondo N and Kobayashi H. Drug sensitivity test for primary culture of human cancer cells using collagen gel droplet embedded culture and image analysis. *Int J Oncol* 1993; 2: 953-959.
  - 21) Kobayashi H, Tanisaka K, Kondo N, Mito Y, Koezuka M, Yokouchi H, Higashiyama M, Kodama K, Doi O and Yamada M. Development of new in vitro chemosensitivity test using collagen gel droplet embedded culture and its clinical usefulness. *Jpn J Cancer Chemotherapy* 1995; 22: 1933-1939.
  - 22) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. Application to pro-

- liferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1973; 65: 56-63.
- 23) 日本産婦人科腫瘍学会編, 卵巣がん治療ガイドライン, 2004年版, 金原出版株式会社, 東京, 2004: 11-46.
- 24) Parmar MK, Lederman JA, Colombo N, du Bois A, Delalove JF, Kristensen GB, Wheeler S, Swart AM, Qian W, Torri V, Floriani I, Javson G, Lamont A, Trope C: ICON and AGO Collaborators. Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON 4 / AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet* 2003; 361: 2099-2106.
- 25) 蝦名康彦, 櫻木範明. 再発卵巣癌の診断と化学療法. *産婦治療* 2005; 90: 989-995.
- 26) Tannock IF, Lee CM, Tunggal JK, Cowan DS and Egorin MJ. Limited penetration of anti-cancer drugs through tumor tissue: a potential cause of resistance of solid tumors to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 878-884.
- 27) Andrews PA, Velury S, Mann SC and Howell SB. Cis-diamminedichloroplatinum (II) accumulation in sensitive and resistant human ovarian carcinoma cell. *Cancer Res* 1988; 48: 68-73.
- 28) Andrews PA and Howell SB. Cellular pharmacology of cisplatin: Perspectives on mechanisms of acquired resistance. *Cancer Cells* 1990; 2: 35-43.
- 29) Masuda H, Ozols RF and Lai GM. Increased DNA repair as a mechanism of acquired resistance to diamminedichloroplatinum (II) in human ovarian cancer cell lines. *Cancer Res* 1988; 48: 5713-5716.
- 30) Kigawa J, Minagawa Y and Cheng X. Gamma-glutamyl cysteine synthetase up-regulates glutathione and multidrug resistance-associated protein in patients with chemoresistant epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 56: 2178-2184.
- 31) Herod JJ, Eliopoulos AG and Warwick J. The prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 2178-2184.
- 32) Kanton MB, Canman CE and Leonard CJ. P 53, cell cycle control and apoptosis: implication for cancer. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14: 3-15.

## 子宮体癌の細胞診・組織診

木口 一成\*<sup>1</sup> 小野 晃子\*<sup>2</sup> 星川 咲子\*<sup>2</sup>

### はじめに

わが国では近年体癌が急激に増加しつつあり、日本産婦人科学会婦人科学会によると、子宮癌に占める体癌の割合はこの20年ほどの間に15%から45%近くまで上昇している<sup>1)</sup>。体癌の特徴の1つは年齢分布にあり50歳代に大きなピークがあり、60歳代がこれにつぎ、39歳以下の若年症例は10%以下と非常に低い。また、主訴の90%以上が不正性器出血であり、ハイリスク因子も肥満や少ない妊娠回数であることも明らかにされつつある。したがって、検診の効率化をはかるためには、スクリーニングの対象をこれらのグループにある程度限定する必要がある。スクリーニング方法としては、内膜細胞診が普及しているが、頸部の細胞診と異なり構造異型に着目した判定の習熟が必要である。さらに判定が偽陽性または陽性の場合における、正確で患者への侵襲の小さい内膜組織診の技術も要求される。

そこで本稿では、内膜細胞診の採取法や判定のコツ、さらには2次検診としての内膜組織診のコツなどについて概説を試みる。

### 子宮内膜細胞診による子宮内膜増殖症・子宮内膜癌のスクリーニング

#### 1. 細胞採取法

不正出血や膿性帯下が持続するなど、臨床的に子宮内膜癌が疑われる場合には、たとえ初回の細胞診が陰性であっても繰り返し細胞診を行うとともに、組織診も施行し適宜経腔エコーや子宮鏡を併用しつつ、偽陰性を避ける努力をすべきである。現在、本邦で行われている採取法は吸引法と擦過法とに大別されるが、いずれの方法によっても体癌の検出率は85~95%と高い。しかしながら採取法や採取器具により、挿入率や採取細胞量に差異がみられ、一長一短がある(表1)<sup>2)</sup>。したがって、細胞採取時には各々の方法の長所を生かしつつ、症例に応じて選択するのが妥当だと思われる(最近擦過法が多い)。

#### 2. 子宮内膜細胞診

近年、細胞異型に代表される細胞の個々の変化のみでなく、細胞の立体構築の変化、すなわち構造異型にも注目することが内膜細胞診の精度向上に役立つといわれてきている。

われわれも和泉ら<sup>3)</sup>の基準にしたがい、細胞集団の構造に注目し、下記のように診断を行っている(図1)。

##### 1) 単純型子宮内膜増殖症(旧嚢胞性腺増殖症)

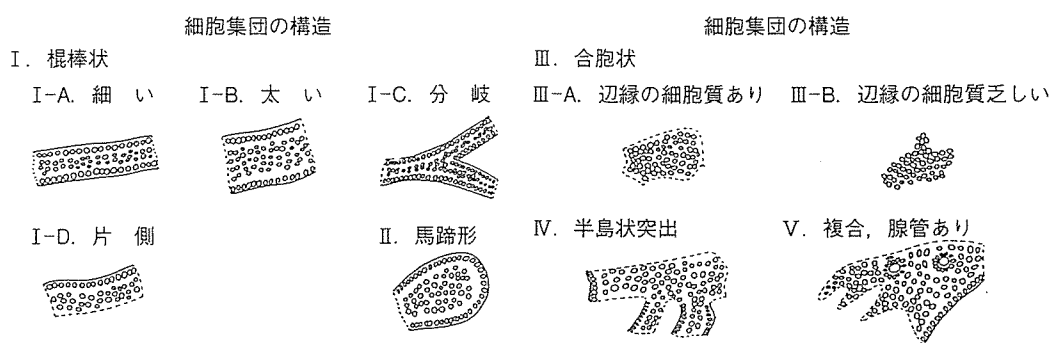
棍棒(導管)状または馬蹄形に出現する細胞集団において、棍棒の形態および棍棒周囲に付着して認められる細胞集塊に特徴があり、棍棒の幅が不

\*1 きくち かずしげ: 聖マリアンナ医科大学産婦人科  
(〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1)

\*2 おの あきこ, ほしかわ さきこ: 聖マリアンナ医科大学病院病理

表1 各種内膜細胞採取法の長所・短所

採取法	採取器具	長所	短所
吸引法	吸引シリンジ付ポリ エチレンチューブ	・挿入率が高い ・疼痛が少ない ・卵巣癌細胞の検出に優れている	・症例によって採取細胞量が少ない ・血液、粘膜で厚く覆われる標本が やや多い
擦過法	エンドサイト エンドサーチ	・採取細胞量が多い ・粘液の混入が少ない ・むらなく細胞集塊を認める	・挿入率がやや低い ・疼痛を訴える例がある ・細胞重積性が著明でときに診断し 難いことがある
	スクリーブラシ	・細胞重積性がさほど著明でなく診 断しやすい ・エンドサイトより挿入率が高い ・扁平上皮の混在率が低い	・採取細胞量がやや少ない



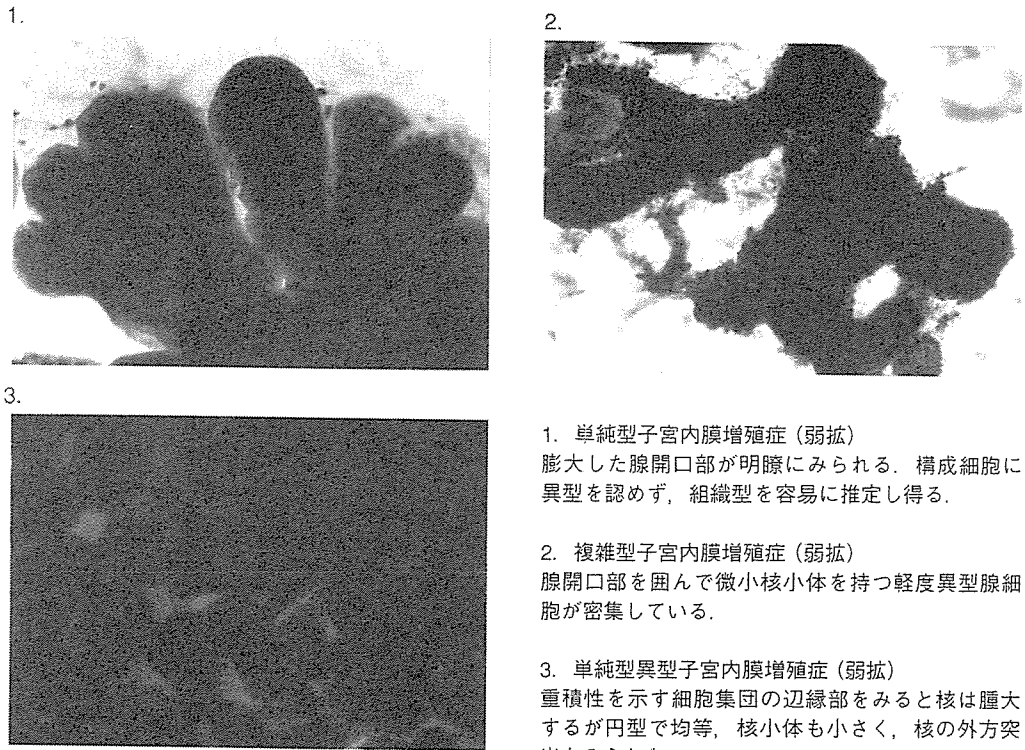
細胞集団の所見

	構造	最外層の核の配列	核の重積性
増殖期内膜	棍棒状(細)	規則	+
嚢胞性腺増殖症	棍棒状(細, 太), 馬蹄形	規則	++
腺腫性増殖症	棍棒状(太, 分岐), 馬蹄形, 半島状突出, 複合	やや不規則	+++
異型増殖症	合胞状(細胞質乏しい), 半島状突出, 複合	不規則, 核の突出	++
内膜型腺癌 高分化型	合胞状(細胞質乏しい), 半島状突出, 複合	不規則, 核の突出	++

核, 核小体の所見

	核						核小体	
	面積 ( $\mu\text{m}^2$ )	大小不同	楕円形	不定形	クロマチン 濃染性	クロマチン 不均一分布	頻度	大型 (直径 $\geq 2.5 \mu\text{m}$ )
増殖期内膜	36	±	14%	0%	±		6%	0%
嚢胞性腺増殖症	35	±	29%	0%	++		6%	0%
腺腫性増殖症	40	+	35%	1%	+++	±	11%	2%
異型増殖症	50	++	34%	2%	++	+	41%	4%
内膜型腺癌 高分化型	59	+++	53%	10%	+~++	++	83%	5%

図1 子宮内膜増殖症～子宮内膜癌の細胞像<sup>3)</sup>



1. 単純型子宮内膜増殖症 (弱拡)  
膨大した腺開口部が明瞭にみられる。構成細胞に異型を認めず、組織型を容易に推定し得る。

2. 複雑型子宮内膜増殖症 (弱拡)  
腺開口部を囲んで微小核小体を持つ軽度異型腺細胞が密集している。

3. 単純型異型子宮内膜増殖症 (弱拡)  
重積性を示す細胞集団の辺縁部をみると核は腫大するが円形で均等、核小体も小さく、核の外方突出もみられない。

図2 内膜増殖症の細胞像

均一である。しかし、核の形状・核の大きさ・核クロマチン構造・細胞質などの所見からは単純型子宮内膜増殖症の特徴的所見を得ることは困難であり、増殖期内膜細胞との鑑別は難しい(図2-1)。

### 2) 複雑型子宮内膜増殖症 (旧腺腫性増殖症)

太い棍棒状の細胞集団が分岐を伴ったり、馬蹄形や半島状に突出する集団が目立つようになる。集団を構成する最外層の核はやや不規則となり、核の重積性も著明となる。核の大小不同やクロマチンの濃染、小型の核小体が見られるようになる(図2-2)。

### 3) 異型子宮内膜増殖症 (単純型/複雑型を含む)

重積性を示す異型腺細胞の集団であり、細胞質の乏しい合胞状の細胞集団の出現や、半島状突出なども目立ってくる。さらに各種の複合したタイプの細胞集団のなかに腺が存在するようなパターンも認められる。細胞集団最外層核の不規則な配列、核の重積性も顕著にみられる。核所見では、大小不同・不整がみられるものの核小体は小型で

ある(図2-3)。

### 4) 子宮類内膜腺癌高分化型

異型子宮内膜増殖症の所見に加え、クラスターにおける最外層核の突出・核形不整・核縁肥厚・クロマチンの不均等分布・複数の核小体・腫瘍壊死性背景などの所見が著しく、かつ辺縁不整樹枝状の細胞集塊が出現する(図3-1)。

### 5) 子宮類内膜腺癌低分化型

核の大型化、高度の大小不同性、核内の白色化(euchromatinの著明な増加)・大型核小体・孤立散在化・ごく少数の正常内膜細胞の混在・顕著な腫瘍壊死性背景・多数の組織球の出現などである(図3-3)。

なお、そのほかの組織型については誌面の都合で他稿に譲る。

## 子宮内膜組織診

### 1. 子宮内膜組織採取法

キュレットを用いて子宮内膜壁を搔爬し組織

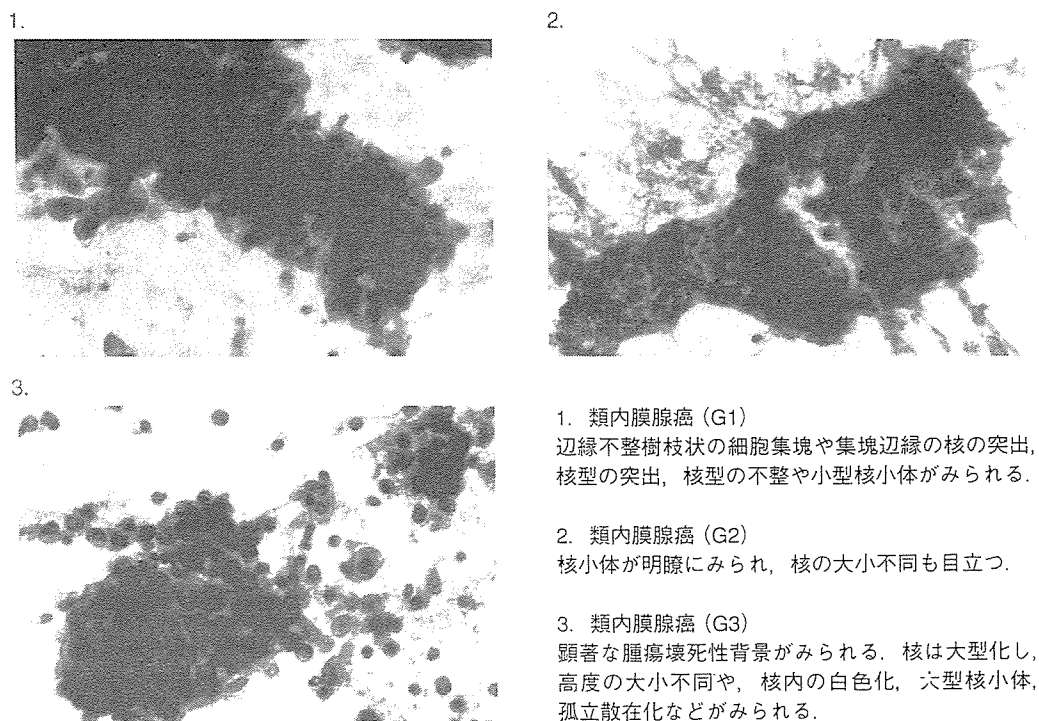


図3 類内膜腺癌の細胞像

1. 類内膜腺癌 (G1)  
辺縁不整樹枝状の細胞集塊や集塊辺縁の核の突出、核型の突出、核型の不整や小型核小体がみられる。
2. 類内膜腺癌 (G2)  
核小体が明瞭にみられ、核の大小不同も目立つ。
3. 類内膜腺癌 (G3)  
顕著な腫瘍壊死性背景がみられる。核は大型化し、高度の大小不同や、核内の白色化、六型核小体、孤立散在化などがみられる。

表2 子宮体癌および上皮性関連病変の組織分類

- 1) 子宮内膜増殖症 endometrial hyperplasia
  - a) 単純型子宮内膜増殖症 endometrial hyperplasia, simple
  - b) 複雑型子宮内膜増殖症 endometrial hyperplasia, complex
- 2) 子宮内膜異型増殖症 atypical endometrial hyperplasia
  - a) 単純型子宮内膜異型増殖症 atypical endometrial hyperplasia, simple
  - b) 複雑型子宮内膜異型増殖症 atypical endometrial hyperplasia, complex
- 3) 子宮内膜ポリープ endometrial polyp
  - a) 類内膜癌 endometrioid carcinoma
    - (1) 類内膜腺癌 endometrioid adenocarcinoma
      - (a) 分泌型類内膜腺癌 endometrioid adenocarcinoma, secretory variant
      - (b) 絨毛細胞型類内膜腫瘍 endometrioid adenocarcinoma, ciliated cell variant
    - (2) 扁平上皮への分化を伴う類内膜腺癌 endometrioid adenocarcinoma with squamous differentiation (腺扁平上皮癌 adenosquamous carcinoma ; 腺棘細胞癌 adenoacanthoma)
  - b) 漿液性腺癌 serous adenocarcinoma
  - c) 明細胞腺癌 clear cell adenocarcinoma
  - d) 粘液性腺癌 mucinous adenocarcinoma
  - e) 扁平上皮癌 squamous cell carcinoma
  - f) 混合癌 mixed carcinoma
  - g) 未分化癌 undifferentiated carcinoma

すべての類内膜癌は腺癌成分の形態によりGrade 1・2・3に分類される

Grade1: 充実性増殖の占める割合が腺癌成分の5%以下であるもの

Grade2: 充実性増殖の占める割合が腺癌成分の6~50%のもの。あるいは充実性増殖の割合が5%以下でも細胞異型の著しく強いもの

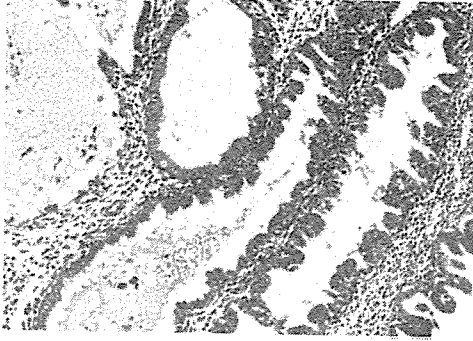
Grade3: 充実性増殖の占める割合が腺癌成分の50%を超えるもの。あるいは充実性増殖の割合が6~50%でも細胞異型の著しく強いもの

【細胞学的分化度に関する注意】

①漿液性腺癌、明細胞腺癌、扁平上皮腺癌は核異型によりGradeを判定する。

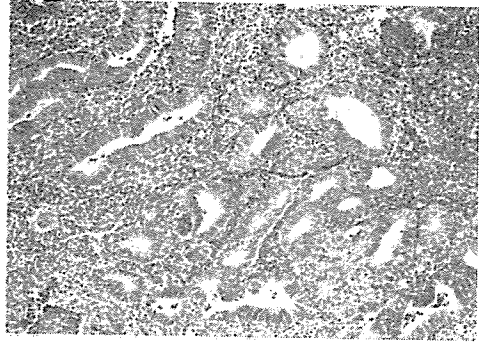
②扁平上皮への分化を伴う腺癌のGradeは腺癌成分によって判定する。

1. 複雑型子宮内膜増殖症



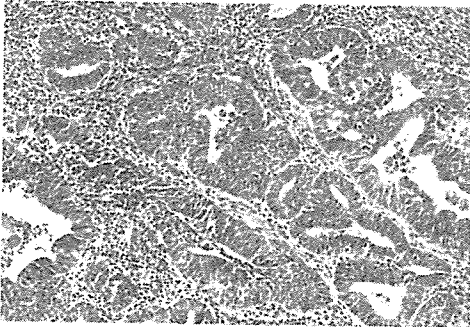
細胞異型を伴わない内膜線の過剰増殖から成り、腺は増殖期内膜に類似する。腺の拡張を伴うことが多い。

2. 複雑型子宮異型内膜増殖症



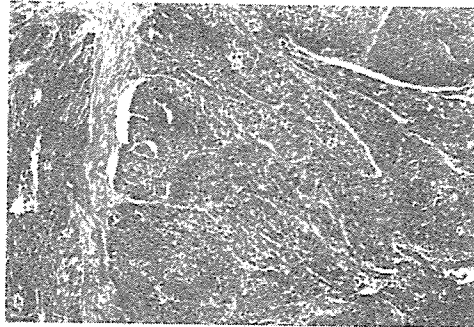
腺構造の異常と細胞異型を伴う内膜腺の過剰増殖がみられる。

3. 子宮類内膜腺癌 (G1)



内膜腺に類似した構造を示す腺癌で、充実性増殖の占める割合が腺癌成分の5%以下。間質への浸潤がみられ、腺の不規則な突出像、癒合した腺構造、乳頭状増生像をみる。

4. 子宮類内膜腺癌 (G3)



腫瘍細胞は充実性増殖を示し、扁平上皮化生部分を含まない充実性部分は50%を占める。

図4 子宮内膜増殖症/子宮類内膜癌の組織像

片を採取する。診断のためのひとかき搔爬では採取された組織片に病変部が含まれず、誤診につながることもある。したがって、最終診断や治療のためには全面搔爬が理想的ではあるが、少なくとも時計回りに0時、3時、6時、9時の4方向から内膜組織を採取する必要がある。子宮内膜搔爬は、頸管拡張を要する場合もあるが、閉経前患者の場合には不要のことが多い。子宮腔部前唇をミューズー鉗子にて把持・索引し、あらかじめ双合診・超音波により子宮腔の方向・長さ・形状を確認後に行う。頸管拡張を必要とする場合は、ヘガール型頸管拡張器を用いたり、術数時間前よりラミセルを1本挿入しておくのも便利である。

2. 子宮鏡を用いた子宮内膜狙い組織診

われわれは子宮鏡を併用した内膜狙い組織診を施行することによる、さらなる正診率の向上を目指している。不正出血を主訴とする症例すべてに対し麻酔下の全面搔爬を施行すれば、もちろん内膜細胞診の正診率を上げることは可能であろう。しかしながら、内膜細胞診を参考にしつつ症例を選択して子宮鏡下の狙い組織診を施行することは、いたずらに患者の侵襲を広げることなく高頻度に予後良好な初期体癌を発見し得る有効な手段と思われる。

3. 子宮内膜組織型

表2にかかげる組織型が存在する。また、子宮内膜増殖症および類内膜腺癌の代表的な像を示す



(図4).

## おわりに

子宮体癌は増加しており、今後もこの傾向は変わらないであろう。臨床医としては細胞診の有用性と限界を理解し、症例を選択しつつ子宮鏡下の狙い組織診が必要となる。また、超音波やそのほかの画像検査も駆使して早期発見に努める必要が

あると思われる。

## 文 献

- 1) 上坊敏子, 川口美和, 海野信也:産婦人科でのスクリーニングの実際. 産婦人科の実際55:1852-1856, 2006
- 2) 宇田川康博, 塚崎克己, 木口一成, 他:子宮癌細胞診における諸問題. KARKINOS 6:429-434, 1993
- 3) 和泉 滋, 木口一成, 野澤志朗, 他:ワークショップ 子宮内膜増殖症の細胞診, 第31回日本臨床細胞学会(長崎), 1990, 5.29~5.31発表



## Status of surgical treatment procedures for endometrial cancer in Japan: Results of a Japanese Gynecologic Oncology Group Survey

Yoh Watanabe <sup>a,\*</sup>, Daisuke Aoki <sup>b</sup>, Ryo Kitagawa <sup>c</sup>, Satoshi Takeuchi <sup>d</sup>, Satoru Sagae <sup>e</sup>,  
Noriaki Sakuragi <sup>f</sup>, Nobuo Yaegashi <sup>g</sup>

Disease Committee of Uterine Endometrial Cancer, Japanese Gynecologic Oncology Group

<sup>a</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Kinki University School of Medicine, 377-2 Ohno-Higashi, Osakasayama, Osaka 589-8511, Japan

<sup>b</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University, Japan

<sup>c</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine, Japan

<sup>d</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, National Hospital Organization Kobe Medical Center, Japan

<sup>e</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Railway Hospital, Japan

<sup>f</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Japan

<sup>g</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Japan

Received 4 October 2006

---

### Abstract

**Objective.** We investigated the current status of surgical procedures for endometrial carcinoma in Japan by surveying members of the Japan Gynecologic Oncology Group (JGOG).

**Methods.** A mail survey focusing on hysterectomy procedures, indications for radical hysterectomy, methods for detecting pelvic (PEN) and para-aortic lymph node (PAN) status, and indications for PAN dissection/biopsy, was sent to all 215 authorized JGOG member institutions.

**Results.** A total of 139 (57.2%) members responded to the survey. Abdominal total hysterectomy (TAH) was utilized by 35.3% of institutions and Piver class II extended hysterectomy by 30.2%. In 35.5% of institutions, hysterectomy procedures were selectively employed based on tumor-related factors. Radical hysterectomy (RH) was utilized by 29.5% of institutions; TAH was used significantly more frequently by specialist hospitals while RH was significantly less commonly utilized by specialist hospitals compared with university hospitals and general hospitals. PEN dissection was routinely utilized by 97.8% of institutions. In 93.5% of institutions, PAN dissection/biopsy was used either routinely (12.2%) or selectively based on tumor-related factors (81.2%). In 6.5% of institutions, PAN dissection/biopsy has never been employed.

**Conclusion.** The status of surgical procedures for the treatment of endometrial cancer is still not standardized. However, TAH, bilateral salpingo-oophorectomy, PEN dissection, and PAN dissection/biopsy in selected cases are recent surgical procedures used for the treatment of endometrial cancer in Japan. Clinical trials to determine the survival benefit of the different surgical procedures should be developed to determine the standard surgical procedures to be used for the treatment of endometrial cancer.

© 2006 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Endometrial cancer; Surgical procedure; JGOG; Survey

### Introduction

Surgical treatment of endometrial cancer has been employed for two major purposes: removal of the tumor burden as far as is

possible and obtaining pathological information to determine International Federation of Obstetrics and Gynecology (FIGO) surgical stage. The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology [1] have recommended the following surgical treatment procedures for endometrial cancer: when disease is limited to the uterus, abdominal total hysterectomy (TAH), bilateral salpingo-

\* Corresponding author. Fax: +81 72368 3745.

E-mail address: [watanabe@med.kindai.ac.jp](mailto:watanabe@med.kindai.ac.jp) (Y. Watanabe).

oophorectomy (BSO), and pelvic/para-aortic lymph node dissection; TAH, BSO, pelvic/para-aortic lymph node dissection and omentectomy are recommended for patients with suspected extra-uterine disease. Furthermore, radical hysterectomy (RH), BSO, and pelvic/para-aortic lymph node dissection are recommended for patients with cervical stromal involvement. However, there is a significant variety in the actual surgical procedures employed in the treatment of patients with endometrial cancer in Japan because although extensive surgical staging is recommended by some investigators, there is some concern regarding possible post-operative morbidity. Furthermore, differences in surgical treatment may influence the results of clinical trials of adjuvant therapy for endometrial cancer. Therefore, to determine the actual status of surgical treatment for endometrial cancer in Japan, we surveyed members of the Japan Gynecologic Oncology Group (JGOG) by mail.

### Materials and methods

A mail survey regarding surgical procedures for endometrial cancer was sent to 243 JGOG authorized institutions. It included questions on standard hysterectomy procedures, performance of pelvic lymph node (PEN) dissection, performance of para-aortic lymph node (PAN) dissection or biopsy, and criteria for PAN dissection or biopsy procedures performed between December 2004 and February 2005. The nomenclature of the retroperitoneal lymph nodes was determined according to the General Rules for Clinical and Pathological Management of Uterine Corpus Cancer edited by the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (1996). PEN dissection was defined as removal of the common iliac, external iliac, internal iliac, obturator, suprainguinal, and the sacral lymph node while PAN was defined as the region inferior to the inferior mesenteric artery and/or up to the renal artery. Although it is not a standard definition, PAN dissection was tentatively defined as the removal of 4 or more nodes, while PAN biopsy was defined as the removal of 3 or fewer nodes (the minimum value of the range of numbers of resected PANs in domestic reports was 2 [2,3]). Member institutions were temporarily classified into the following types in order to determine if there were any differences between them: university hospital, specialist hospital (such as a cancer center or a medical center that only treats gynecologic diseases), and general hospital (such as a public or private hospital that treats both gynecologic and obstetric diseases). All hospitals were JGOG membership committee-authorized as institutions active in the treatment of gynecologic cancer. All replies were returned by FAX. We used the Chi-square Test and a *p*-value of less than 0.05 was considered to be significant.

### Results

A total of 139 institutions (57.2%) responded to the survey; respondents answered all of the questions. Table 1 shows routinely indicated hysterectomy procedures, indications for RH, and treatments for PEN and PAN endometrial cancer in JGOG member institutions.

#### *Status of hysterectomy procedures*

Forty-nine (35.3%) institutions used only TAH, 42 (30.2%) employed only Piver class II [4] extended hysterectomy (Class II), and the remaining 48 (34.5%) selected TAH, Class II, or RH based on tumor-related factors. RH was performed in 41 (29.5%) institutions (one institution routinely used RH and another 40 institutions performed RH based on tumor-related factors). Criteria for indication of RH were cervical involve-

Table 1  
Surgical procedures for endometrial cancer

Total number of responder	139
Hysterectomy procedure	
TAH only (%)	49 (35.3)
Class II only (%)	42 (30.2)
Alternates based on clinicopathologic conditions (%)	48 (34.5)
Radical hysterectomy	
Routinely performed (%)	1 (0.7)
Performed based on clinicopathologic conditions (%)	40 (28.8)
Never performed (%)	98 (70.5)
Pelvic lymph node dissection	
Routinely performed (%)	136 (97.8)
Performed based on clinicopathologic conditions (%)	1 (0.7)
Never performed (%)	2 (1.5)
Para-aortic lymph node treatment	
Routinely performed dissection (%)	12 (8.6)
Routinely performed biopsy (%)	5 (3.6)
Performed dissection based on clinicopathologic conditions (%)	90 (64.7)
Performed biopsy based on clinicopathologic conditions (%)	23 (16.5)
Never performed (%)	9 (6.6)

TAH: abdominal simple total hysterectomy, Class II: extended hysterectomy (Piver), para-aortic lymph node biopsy: removal of 3 or fewer lymph nodes, para-aortic lymph node dissection: removal of 4 or more lymph nodes.

ment, non-endometrioid histologic subtypes, or >1/2 myometrial invasion. Regarding the depth of myometrial invasion, this was comprehensively determined by all members based on preoperative findings from magnetic resonance imaging and macroscopic findings from the resected uterus.

#### *Status of surgical treatment of the pelvic lymph node*

Almost all institutions (136; 97.8%) used PEN dissection for all patients. One institute used PEN dissection based on tumor-related factors (histologic grade 3 or >1/2 myometrial invasion), and two institutions never used PEN dissection. No institution used selective lymph node biopsy as part of the PEN surgical procedure.

#### *Status of surgical treatment of para-aortic lymph node*

Regarding the surgical treatment of PAN, a total of 130 (93.5%) institutions used PAN dissection or biopsy, including 12 (8.6%) institutions that routinely utilized PAN dissection, 5 (3.6%) that routinely utilized PAN biopsy, 90 (64.7%) that utilized PAN dissection based on tumor-related factors, 23 (16.5%) that utilized PAN biopsy based on tumor-related factors, and 9 (6.5%) that never performed any type of surgical procedures to determine PAN status. Moreover, >1/2 myometrial invasion (23.3%), PAN enlargement (22.0%) either by preoperative computer tomography, magnetic resonance imaging, or intraoperative direct palpitation, and histological grade 3 tumor (21.6%) were frequently identified as indication criteria for PAN treatment (Table 2). Furthermore, 62 (47.7%) institutions determined the necessity of PAN treatment by direct palpitation of lymph nodes.

Table 2

Clinicopathologic conditions to perform para-aortic lymph node treatment	
Total number of respondents	130
Total number of valid answers <sup>a</sup>	236
Clinicopathologic condition to perform para-aortic lymph node treatment (%)	
Evidence of para-aortic lymph node(s) swelling	52 (22.0)
Evidence of pelvic lymph node(s) swelling	21 (8.9)
Non-endometrioid histologic subtypes	25 (10.6)
Cervical involvement	7 (3.0)
Myometrial invasion	
Any depth	24 (10.2)
>1/3	2 (0.8)
>1/2	55 (23.3)
Histologic grade	
≥Grade 2	16 (6.8)
Grade 3 only	51 (21.6)

<sup>a</sup> Multiple answers were permitted to the question concerning para-aortic lymph node disposition.

### Differences in surgical treatment procedures by hospital type

Table 3 shows differences in selected surgical treatment procedures by hospital type. TAH was more frequently used in specialist hospitals than in university hospitals and general hospitals ( $p < 0.05$ ) while RH was selected significantly less often in specialist hospitals than in university hospitals ( $p < 0.01$ ). However, there were no significant differences between the types of hospitals and the selection of surgical treatment procedures for PEN and PAN.

### Discussion

The most recent annual report of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology (JSGO) indicated that approximately 4046 cases of endometrial cancer (including 324 cases of stage 0 endometrial cancer) were treated between 1 January 2003 and 31 December 2003 in Japan. Surgery is the treatment of choice for endometrial cancer in Japan as 3575 (96.1%) of 3722 patients with stage I–IV disease underwent surgical treatment in this country [5]. However, although the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) adopted surgical staging in 1988, and NCCN also recommended standard surgical procedures based on clinical stage, the actual status of surgical treatment procedures for patients with endometrial cancer is still not standardized in Japan. Moreover, standard surgical procedures for endometrial cancer also vary in other countries. Crawford et al. [6] retrospectively studied the staging quality of 703 cases of endometrial cancer in Scotland during 1996 and 1997 and reported that FIGO stage was defined in the case record by the surgeon and/or pathologist in only 36.4% of cases, the extent of invasion and tumor grade was noted in 88.6% of cases, and peritoneal cytology was examined only in 46.6% of cases. They concluded that documentation of FIGO stage by proper surgery was one of the independent prognostic factors in endometrial cancer. Maggino et al. [7] also analyzed the management of endometrial cancer by 48 respondents in North America and found that pelvic lymphadenectomy was routinely utilized by 54.2% centers; 43.5% of

the centers utilized the procedure based on the selective clinical–pathological condition of the patient, whereas only one center never performed pelvic lymphadenectomy. Furthermore, according to their study, the standard hysterectomy procedure in North America can be considered to be TAH as they reported that Class II or III extended hysterectomy was routinely utilized by only one center and 29.2% of centers never performed Class II or III extended hysterectomy for the treatment of endometrial cancer. On the other hand, Amadori et al. [8] studied the status of lymphadenectomy for patients with endometrial cancer in Northern Italy and reported that no case of para-aortic lymphadenectomy was observed while pelvic lymphadenectomy was performed in 86 (31.0%) of 276 eligible cases. Compared with these surveys, the present JGOG survey suggests that although TAH has similarly been indicated as a common hysterectomy procedure, PEN or PAN are more aggressively examined and treated in patients with endometrial cancer in Japan. Furthermore, the present survey has also revealed that the type of hysterectomy procedure selected for the treatment of endometrial cancer differs depending on the type of hospital in which the procedure is performed. RH was utilized in 25 (38.4%) university hospitals and 15 (26.8%) general hospitals while only 1 (5.6%) specialist hospital indicated RH for the treatment of endometrial cancer. The utilization rate of RH was significantly higher in the university hospitals and tended to occur more often in the general hospitals

Table 3

Differences of selected surgical procedures between hospital types

	University hospital	Specialist hospital	General hospital
Total number (%)	65 (46.8)	18 (12.9)	56 (40.3)
Hysterectomy procedures			
TAH only (%)	21 (32.3)	11 (61.1)*	17 (30.4)
Class II only (%)	19 (29.2)	3 (16.7)	19 (33.9)
Alternates based on clinicopathologic conditions (%)	24 (36.9)	4 (22.2)	20 (35.7)
Radical hysterectomy			
Routinely performed (%)	1 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
Performed based on clinicopathologic conditions (%)	24 (36.9)**	1 (5.6)	15 (26.8)
Never performed (%)	40 (61.6)	17 (94.4)**	41 (73.2)
Pelvic lymph node dissection			
Routinely performed (%)	65 (100)	17 (94.4)	54 (96.2)
Performed based on clinicopathologic conditions (%)	0 (0.0)	1 (5.6)	0 (0.0)
Never performed (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.8)
Para-aortic lymph node			
Routinely performed dissection (%)	8 (12.3)	1 (5.6)	3 (5.4)
Routinely performed biopsy (%)	3 (4.6)	1 (5.6)	1 (1.8)
Dissection based on clinicopathologic conditions (%)	43 (66.2)	15 (83.2)	33 (58.9)
Biopsy based on clinicopathologic conditions (%)	8 (12.3)	1 (5.6)	13 (23.2)
Never performed (%)	3 (4.6)	0 (0.0)	6 (10.7)

TAH: abdominal simple total hysterectomy, Class II: extended hysterectomy (Piver), para-aortic lymph node biopsy: removal of 3 or fewer lymph nodes, para-aortic lymph node dissection: removal of 4 or more lymph nodes.

\*  $p < 0.05$ .

\*\*  $p < 0.01$ .