

▲図2 下大静脈の狭窄に対するメタリック・ステントによる治療

左：肝腫瘍により下大静脈が圧迫された状態。下大静脈は描出されず多数の側副血行路が描出されている。この状態では腹水の貯留や下肢の浮腫が必発である。しばしば利尿剤やアルブミン製剤の投与が行われるが、患者は口渇を訴えるものの症状は改善しない。

中：下大静脈の狭窄部に留置されたメタリック・ステント。

右：側副血行路は消失し、下大静脈を介して右房への良好な還流が描出されている。腹水、下肢の浮腫などの症状は速やかに改善し、数日後には消失する場合が多い。

▶図3 気道狭窄に対するメタリック・ステントによる治療

左：右主気管支はかろうじて開存しているが強い狭窄を示しており、患者は呼吸困難感が強い。

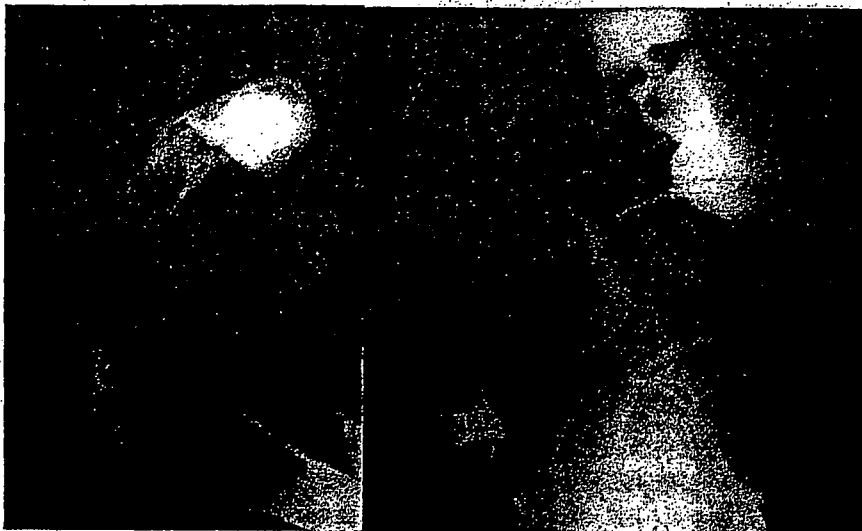
右：狭窄部へのメタリック・ステントの留置により右主気管支径は増大し、喀痰の排出とともに呼吸困難感はほぼ消失した。



### ◎気道の狭窄に対する治療(図3)

メタリック・ステントの挿入により気道狭窄に伴う呼吸困難を改善するもので、気管あるいは左右主気管支レベルの狭窄で末梢肺の機能が温存されている症例が対象とされる。共同研究では、技術的成功率100%、臨床症状の改善が83%にみられている。うち治療前人工呼吸器が使用さ

れていた7例では全例が人工呼吸器管理から離脱、また術前酸素吸入を要した29例中17例が術後酸素不要となっている。呼吸困難は患者のQOLを著しく低下させる要因であるが、気道狭窄に対するメタリック・ステント留置は安全性、有効性が高く、末期呼吸困難症例の管理を行っていく上で忘れてはならない治療法のひとつとして認識さ



◀図4 直腸狭窄に対するメタリック・ステントによる治療

広範な転移を有し予後きわめて不良であるため、人工肛門造設が躊躇された症例。

左：直腸は強度の狭窄を示し、容易にイレウス状態となるため、かろうじて液体摂取のみが許容される状態であった。

右：メタリック・ステントの留置によりほぼ正常の直腸内腔が得られ、低残渣食の摂取が可能となった。



▲図5 椎骨転移に対する経皮的骨セメント注入術

疼痛の著しい乳がんの椎骨転移に対し、転移巣にセメント注入が施行されている。これにより疼痛は劇的に改善した。(金沢大学小林健先生のご好意による)

れるべきである。

### ◎胆道の狭窄に対する治療

胆道の狭窄に対する治療は、現在最も多くメタリック・ステントが使用されている領域であり、PTCDルートを介して挿入する方法と内視鏡的に逆行性に挿入する方法がある。チューブ・ステントと異なりメタリック・ステントはワイヤー間隙があるため、側枝を閉塞することなく、複数の胆管枝狭窄に対しても完全な内瘻化のできる点が大きな利点である。共同研究では、技術的成功率100%、90%の症例で外瘻チューブが抜去されている。ただし、後日外

科手術が行われる場合にはメタリック・ステントの存在がきわめて重大な障害となるため、適応決定についてはあらかじめ外科医との十分なディスカッションが必要である。

### ◎消化管の狭窄に対する治療

消化管は蠕動運動があるためメタリック・ステントが移動しやすく、また圧排により粘膜面のびらんや潰瘍形成、穿孔などが生じるため、他の領域に比べ合併症が問題となる頻度が高い。現在、最も汎用されているのは食道あるいは食道-胃・空腸吻合部の狭窄で、このほかに直腸(図4)、左半結腸、十二指腸などにも試みられている。食道狭窄の場合にはメタリック・ステントの周りを膜で覆ったカバード・ステントを用いる場合が多い。共同研究では、技術的成功率97%、臨床症状の改善が84%に得られているが、反面、縦隔炎などの重篤な合併症も見られ、8%の症例の死因がメタリック・ステント留置と関連したものであった。このように、消化管狭窄に対するメタリック・ステント留置はがん末期患者の経口摂取を可能にする点で有用である反面、重篤な合併症の危険性が少なくないため、十分なインフォームド・コンセントが必要である。

### ❖その他

#### ◎骨転移による疼痛に対する治療(図5)

溶骨性骨転移による疼痛や骨変形の進行を阻止する目的で、経皮的に骨転移巣へ針を刺入して骨セメントを注入する方法であり、主に椎骨転移が対象とされる。欧米ではすでに多数の報告があるが、本邦における施行はまだ少なく、現在臨床試験が進行中である。疼痛緩和の機序については不明な点が多いが、疼痛の軽減には即効かつ高い除痛効果を示すことが知られている。このほかにラジオ波凝固を用いた骨転移の疼痛に対する治療も行われているが、いまだ臨床試験の段階である。

### ●難治性腹水に対する内シャント術

腹水を中心静脈に還流するチューブを留置することにより、腹水の減少と循環血液量の維持をはかるものがある。腹腔内に留置したチューブを皮下トンネルを介して鎖骨下静脈あるいは頸静脈から中心静脈まで挿入留置する方法(デーパー・シャント)が一般的であるが、最近では頸静脈から肝静脈を介し、肝末梢を穿破して腹腔内にいたるルートにカテーテルを留置する方法も開発され臨床試験が行われている。

### ●臓器破綻に対する IVR

血管の破綻による出血や瘻孔などが対象である。動脈出血に対する塞栓術はすでに一般的な治療法となっており、手術後の出血や緊急手術を回避するための止血については一定の効果が期待できる。しかし、がん病巣自体からの出血については肝細胞がんの破裂などの場合を除き十分な効果は期待できない。他方、管理の困難な瘻孔などに対する閉鎖術については、病態が特殊であるため十分なデータは得られていないが、共同研究では気管支胸膜瘻8例、尿管破綻5例において全例重篤な合併症なく閉鎖に成功している。未開拓な領域ではあるが、少ない侵襲で劇的な治療効果が得られる可能性をもつ領域である。

## 経皮的針生検

少ない侵襲で短時間のうちに診断を確定する手段として、すでに一般化されている。最も汎用されているのは肺腫瘍性病変であるが、このほかにもCTガイドを用いることによりほとんどの部位に対し施行可能である。共同研究では、肺野腫瘍性病変における検体採取成功率は概ね90%、組織が採取された場合の診断率も90%を上回っており、さらに、平均穿刺回数1.9回、平均所要時間39分、平均入院日数1.6日と短時間で診断を確定する上で優れた方法であることが示されている。また腹部・骨盤部腫瘍性病変に対しても平均所要時間47分、特異的診断率92%であった。経皮的針生検は少ない侵襲で短時間に、きわめて高い頻度で診断を確定しうる優れた診断手段であり、画像的に腫瘍が認識でき、かつほかの方法で診断の確定できない症例においては、直ちに考えるべき診断法となっている。

## その他のがん診療に関連する IVR

脾機能亢進による血小板減少に対する部分的脾塞栓術、肝切除術前処置としての残存肝の肥大を目的とした門脈塞栓術、門脈圧亢進症による難治性腹水や出血に対する経頸静脈肝内門脈-静脈シャント造設術(TIPSS)などがある。

がん看護 10巻3号(2005 May/June)



▲図6 頭部食道から挿入された胃管

上部消化管の閉塞により経鼻胃管が挿入されていた症例。改善の見込みは全くなく、抜去不可能な状態であったため頭部食道からの胃管挿入留置が行われた。これにより、経鼻チューブは不要となり、胃からチューブへの排出はあるものの飲水も可能となった。柔軟なチューブを使用するため留置後の違和感もほとんどない。

また、本邦で開発された頭部食道を経皮的に穿刺して胃管やイレウスチューブを挿入留置する方法(PTEG)(図6)は、末期症例を「抜去する見込みのない経鼻チューブ」の苦痛から解放するものであり、今後普及すべきIVRのひとつと考えられる。

さらに、本来画像誘導なしでも可能な領域に画像誘導を導入することにより、手技に伴う侵襲を少なくしてQOL向上に貢献しようとする試みもなされている。たとえば、鎖骨下静脈からの中心静脈カテーテルの挿入は通常ベッドサイドで行われるが、これを肘静脈から少量の造影剤を注入しながら透視下に行えば、きわめて容易かつ確実に行うことができ、このようなQOL向上へのIVRの応用も身近ではあるがきわめて重要な領域である。

## 看護師への要望

以上紹介したように、IVRはがん患者のケア、とくに症状の緩和においてきわめて有力な手段となりうるものである。もちろん、そのために必要な画像装置や器具の導入や手技の標準化、臨床試験による科学的評価、あるいは保険診療における扱いの問題などクリアすべき問題は多い。しかし、最も重大な問題は、「がん患者の症状緩和にIVRがこのように役立つこと」が広く知られていない点である。

これは、その多くが放射線科というこれまであまり患者

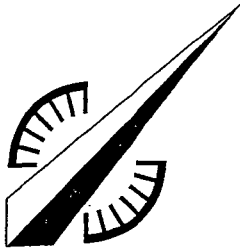
を受け持つことのなかった部署が担当していることにもよるが、がん患者を担当する医師の多くもいまだ十分な認識をもっていないのが現状である。すでに問い合わせさえあれば、この領域を専門とする相当数の放射線科医が対応可能な状況にあり、このような患者がIVRの恩恵を被ることができるか否かは、まさに患者に接している医師あるいは看護師がIVRを思いつくか否かにかかっている。

どんなにIVRが優れているとしても、その応用が臨床現場で思いつかれなければ宝の持ち腐れである。看護師の方々には決してIVRに精通していただく必要はない。しかし、いつも頭の隅に置いておいていただき、目の前の患者が窮した状況になったとき、IVRで何かできないかを思い出し、また医師に相談していただきたいと思う。

本稿が、がん患者にIVRがより広く活用される契機となれば幸いである。

#### 文 献

- 1) Margulis AR: Interventional Diagnostic radiology—A subspecialty. Am J Roentgenol 99: 761-762, 1967
  - 2) Wallace S: Interventional radiology. Cancer 37: 517-531, 1976
  - 3) 荒井保明：6-30 Interventional Radiologyの手技を用いた治療の有効性に関する研究。厚生省がん研究助成金による研究報告集 平成6年度、国立がんセンター、東京、459-463頁、1994
  - 4) 荒井保明：6-30 Interventional Radiologyの手技を用いた治療の有効性に関する研究。厚生省がん研究助成金による研究報告集 平成7年度、国立がんセンター、東京、242-247頁、1995
  - 5) 荒井保明：8-26 Interventional radiologyの手技を用いた治療の有効性についての研究。厚生省がん研究助成金による研究報告書 平成8年度、国立がんセンター、東京、422-426頁、1996
  - 6) 荒井保明：8-26 Interventional radiologyの手技を用いた治療の有効性についての研究。厚生省がん研究助成金による研究報告書 平成9年度、国立がんセンター、東京、1996
- 1) Margulis AR: Interventional Diagnostic radiology—A subspe-



診断の指針  
治療の指針

## 大腸癌・肝動注化学療法

*Hepatic arterial infusion chemotherapy for liver metastases from colorectal cancer*

荒井 保明  
ARAI Yasuaki

はじめに

大腸癌の化学療法は、固形癌に対する薬物療法の中でも現在最もダイナミックに進歩している領域であり、すでに米国では分子標的治療薬も標準的治療に導入されている。本邦でも今春I-OHP(オキサリプラチン)が承認され、国際的標準治療に必要な5-FU、ロイコボリン、CPT-11, I-OHPのすべてが使用可能となり、これらの薬剤を用いたFOLFOX, FOLFIRIによる全身化学療法の治療成績は、概ね奏効率50%前後、生存期間中央値20ヵ月超である。一方、本稿で述べる肝動注化学療法は、本邦ではInterventional radiology (IVR)が深く関与したため独自の進化を遂げたが、欧米における全身化学療法とのランダム化比較試験では、フッ化ピリミジン系薬剤のみによる全身化学療法との比較においてさえ生存期間延長への寄与は証明されなかった。よって、このような全身化学療法の劇的な進歩の中で、肝動注化学療法をどのように扱うかはきわめて慎重に判断される必要がある。本稿では、エビデンスに基づく肝動注化学療法の考え方、実臨床におけるこ

の治療法の扱いについて述べる。

### 1. エビデンスに基づく肝動注化学療法の考え方(表1)

#### 1) 欧米における臨床試験

1980年代から2003年に至るまで、実に10本の全身化学療法とのランダム化比較試験が報告されている。ここでの全身化学療法はフッ化ピリミジン系薬剤のみによるものであり、近年の進歩の大きな原動力となったCPT-11, I-OHPは用いられていない。これらの試験についてはメタアナリシスも行われたが、その結果は、奏効率は高いが、生存期間には明らかな差がないというものであった。ちなみに、これらの試験における奏効率、生存期間中央値は、全身化学療法10~49%, 11~17.6ヵ月、肝動注化学療法42~62%, 12.6~18.7ヵ月である。ただし、肝動注化学療法の技術については、カテーテルが開腹下に留置され、また薬剤分布も評価されておらず、後述する本邦の技術レベルから見ると質は悪い。2003年に報告されたKerrらの試験では、

表 1

海外における肝動注(ia)対全身化学療法(iv)の比較試験結果概要

	報告年	症例数(ia/iv)	薬剤(ia/iv)	奏効率(%) (ia/iv)	生存期間中央値(月) (ia/iv)
City of Hope	1990	9/6	FUDR/5-FU	55/20(0.2)	13.8/11.6(NS)
NCCTG	1990	39/35	FUDR/5-FU	48/21(0.02)	12.6/12.5(0.53)
MSKCC	1987	46/49	FUDR/FUDR	62/20(0.001)	17/12(0.4)
NCI	1987	32/32	FUDR/FUDR	62/17(<0.003)	17/12(0.27)
NCOG	1989	67/76	FUDR/FUDR	42/10(0.0001)	16.7/16.1(NS)
France	1992	81/82	FUDR/5-FU	49/49	15/11:2年生存率23/13%(<0.02)
UK-HAPT	1994	51/49	FUDR/- (control)		405日/226日(0.03)
Germany	2000	57/57	FU-LV/FU-LV		18.7/17.6(NS)
UK	2000	41/43	FUDR + FU-LV/FU-LV		390/340日(0.79)
UK	2003	145/145	deGramont		14.7/14.8(NS)

本邦における第II相試験概要

	報告年	症例数	薬剤(ia)	奏効率(%)	生存期間中央値(月)
JHAISG	1993	114(肝外病変あり症例を含む)	5-FU	52%	16.3
Arai	1997	32(肝外病変あり11例を含む)	5-FU	75%	22
Arai	1998	30(肝外病変なし)	5-FU	83%	26

国立がんセンター中央病院放射線診断部 部長  
Key words 大腸癌 肝転移 肝動注化学療法

肝動注化学療法群において治療が開始できなかった頻度37%, 予定された治療が完遂できなかった頻度29%であり, 本邦の技術レベルからは想像できない劣悪な技術で試験が行われたことが判る。しかし, 肝動注化学療法は全身化学療法に比べればカテーテル留置などの侵襲的処置を必要とする治療であり, これが正当化されるためには治療の true endpoint, すなわち生存期間で, 明らかな優位性が証明される必要がある。よって, フッ化ピリミジン系薬剤のみの当時に比べ明らかに全身化学療法がパワーを増した現在, 「欧米の技術で行われる限り, FOLFOX, FOLFIRI といった標準的全身化学療法に替わって使用される根拠はない」と言える。

## 2) 本邦の臨床試験

大量5-FU の5時間持続投与(毎週)については第I相試験, 第II相試験が報告されており, 奏効率, 生存期間中央値として52~83%, 16.3~26ヵ月が報告されている。この数値自体は前述の欧米における比較試験に比べ優れているが, 全身化学療法との比較試験はなく, よって欧米で示されたエビデンスを覆すことはできない。本邦の特色として, IVR 技術を用いたカテーテル留置やCTA(CT-angiography)による薬剤分布評価など, 高い技術を用いている点があげられる。これらの技術は特殊と言っても, その feasibility については複数の報告がなされており, 本邦では十分に可能な技術になっている。

## 3) エビデンスに基づく肝動注化学療法の考え方

①本邦で可能であるとはいえ, 全身化学療法に比べれば侵襲的な治療である, ②技術的に問題があるにせよ欧米の試験で全身化学療法に勝る結果が示されなかった, ③本邦での成績も現在の世界標準であるFOLFOX, FOLFIRI の治療成績とは大きな差がない, 以上の3点より「1st-line として肝動注化学療法を採用することは適切ではない」と言える。

## 2. 実臨床における取り扱い

肝動注化学療法の特徴は, ①適格な技術を要す, ②肝転移に対する腫瘍縮小効果は全身化学療法に比べ高い, ③肝外病変には効果がない, の3点につきる。すなわち, 肝動注化学療法が妥当とされるのは, これらの特徴を考慮しても, 当該症例に対して全身化学療法を行うよりも妥当性が高いと判断される場合に限られる。具体的には, 以下の状況があげられる。

### 1) 技術が可能であること

本邦では経皮的なカテーテル留置が標準的となっているが, 単にカテーテルの留置経路に限らず, 側孔型カテーテル先端固定留置法と呼ばれるカテーテル移動や血管閉塞を防止するための手技, 至適薬剤分布を得るための血行改変術までが必要な技術である。また, 留置システムからの造影CTによる定期的な薬剤分布のチェックも必須である。技術が不完全なままで肝動

注化学療法が施行された場合に重篤な合併症が発現することは周知であり, これらの手技を適切に行うことができない状況下では肝動注化学療法は絶対に施行するべきではない。

### 2) 肝外病変がない場合

上記②, ③の点からは肝動注化学療法の施行が許容される可能性がある。しかし, 全身化学療法でも50%前後の奏効率が期待できる点, 潜在的な肝外病変存在の可能性が常にある点を考慮すれば, 肝動注化学療法を行う条件として十分なものではない。異時性肝転移など, 肝外病変併存の可能性が低い場合で, かつ以下の3), 4)などの条件が満たされる場合には適応があると考えられる。

### 3) 肝転移が切迫した予後規定因子となっている場合

肝外病変の有無にかかわらず, 肝転移が切迫した予後規定因子となっている場合には上記②を根拠に肝動注化学療法を施行することが許容される。ただし, 「切迫した予後規定因子になっている」との判断には明確な基準がなく, 事実上臨床医の判断に頼らざるを得ない。

### 4) 全身化学療法の適応がない場合, あるいは効果が得られない場合

肝動注化学療法による5-FU と全身化学療法におけるCPT-11, 1-OHP の毒性の profile は異なっており, かつ一般に肝動注化学療法による副作用は全身化学療法に比べ軽微である。よって, FOLFOX, FOLFIRI などの標準的全身化学療法が毒性の点で困難, かつ肝転移が問題となっている症例は肝動注化学療法の良い適応と考えられる。また, これらの標準的全身化学療法で効果が得られなかった場合には, 事実上他に治療法がなく, 肝動注化学療法の適応となる。

## 3. 肝動注化学療法の実際

数多くの論文, 成書があり, 詳細はこれらを参照して頂きたい。

### さいごに

肝動注化学療法発展における本邦の貢献は素晴らしいものであり, その治療効果も決して卑下する類のものではない。しかし, 近年の大腸癌薬物療法の劇的な進歩は事実であり, この古典的な治療法に固執すべきではない。全身化学療法が進歩したとはいえ, 所詮効果が得られるのは約半数であり, その効果も永続する訳ではなく, かつ毒性も軽い訳ではない。よって現時点では, 「一步退いて」全身化学療法で対処困難な場面でのみ肝動注化学療法を活用する姿勢が重要である。いずれ, 全身化学療法の限界が明確になれば, この古く特殊な治療である肝動注化学療法に新たな役割が見出されるかもしれない。現在, 本邦の高い技術による肝動注化学療法を全身化学療法との併用する治療法について臨床試験(JCOG0208-DI)が行われている。

## 1. 臨床研究に必要な統計「以前」の知識

国立がんセンター中央病院 放射線診断部, 同検診研究センター<sup>1)</sup>  
荒井保明, 山本精一郎<sup>1)</sup>

Department of Diagnostic Radiology, National Cancer Center  
Yasuaki Arai

Statistics and Cancer Control Division, Research Center for Cancer Prevention and Screening, National Cancer Center  
Seichiro Yamamoto

### Abstract

#### *Critical Knowledge before Needed Statistics to Conduct Clinical Research*

Statistics is one of the most important tools needed to solve out clinical questions and to evaluate the correlation of various clinical phenomena. However, statistics cannot answer clinically valuable questions by itself. Only when statistics is applied with the scientifically appropriate methods and procedures does it help us to clarify new thoughts and knowledge. This is called clinical epidemiology or clinical research methodology. Therefore, clinical researchers are strongly advised to learn them in addition to statistics. Such knowledge also helps clinical researchers to collaborate with statisticians.

### はじめに

臨床で経験される種々の事象が他の事象とどのように関連しているかを知りたいというのは、自他を問わず、それまでの臨床経験を利用して少しでも無駄のない良い臨床を行おうとする上で、当然の要望である。言うまでもなく、統計はその関連性を科学的に評価するための手段であり、事象どうしの関連性を科学的に評価する上でなくてはならないツールと言える。ところが、われわれは案外数字に弱く、いくつかの統計用語と数字を羅列されてしまうと、その本質から目を奪われ結果だけを妄信してしまう傾向がある。自分のデータであっても、いくつかの処理をして数字にしてしまうと、妙に信頼性が高まったような気になってしまうのも事実である。そして悲しいことに、この傾向はわれわれの周囲に留まらず、IVR領域のメジャーな学術誌にもしばしば見られる。しかし、われわれが知りたいのは、ある事象に関して臨床的に本当に役立つ「本質」である。氾濫する多くの情報に翻弄されず「本質」を知るためには、少なくとも統計がツールとして用いられる以前の事象を処理する際の本物と偽物を区別する識別眼だけは養っておく必要がある。

本稿は、このような観点から、最近のIVRのメジャー

な英文誌の論文に見られた「とんでもない」非常識をヒントにして、これを若手Interventional radiologistの太郎君の質問にかえ、この領域の専門家である山本精一郎先生にコメントして頂くこととした。なお、本稿は山本先生との共著であるが対話的な内容であり、文中でも「山本先生」という表現を用いて荒井がまとめさせて頂いた。ご了承頂きたい。

### 太郎君の模索 (その1)

地方会も迫り、過去1年間80例の肝細胞がんに対するRFAの治療成績をまとめている。太郎君の施設でRFAを行うのは放射線科部長でIVR指導医のA先生、太郎君の直接指導者でIVR指導医のB先生、消化器内科のC先生、そして太郎君の4名である。A先生は速いがちょっと乱暴、B先生は上手だし太郎君によく症例を回してくれるいい先生、C先生は時間がかかるし下手だと太郎君は思っている。太郎君自身もRFAは好きで、丁寧にやるので時間はかかるが、もう30例以上もやっていて結構自信もある。本当は、一番上手いのはB先生か自分だろうと内心思っている。

さて、上の4人がそれぞれ20例ずつやっているのだが、術後合併症頻度が80例中18例というところで妙なことに気がついた。A先生8例、B先生7例、C先生2例、太郎君1例なのである。これは、どう見ても特殊な傾向があるように見える。C先生と太郎君の共通点は所要時間かもしれないと思い、調べてみたらA先生は平均12分、B先生16分、C先生25分、太郎君25分だった。要するに、所要時間の20分あたりで線を引けば、「時間を

### Key words

- Statistics
- Clinical epidemiology
- Clinical research methodology

かけて丁寧にやった方が合併症は少ない」と見えそうに見える。そこで、症例をA先生+B先生施行群とC先生+太郎君施行群に分けて有意差検定してみたら、所用時間も合併症発生頻度も明らかに差があることが判明した。あまりに思うツボなので、意気揚々と山本先生に報告に行った。

〔山本先生のコメント〕

太郎君の解析には二つの大きな問題があります。ひとつは、所要時間と合併症頻度を直接関連付けて見ないで、間に担当医を介在させたことです。A先生とB先生を合わせた成績と、C先生と太郎先生を合わせた成績を比較してそれぞれ所要時間と合併症頻度が違うと結論付けていますが、これではA先生とB先生の組とC先生と太郎君の組で所要時間と合併症頻度が違うことを言っているだけです。所要時間や合併症頻度が違う理由は指導医でないC先生と太郎君に易しい症例をまわしただけかもしれないし、逆に二人がA先生とB先生より本当にIVRが上手なために合併症が少なかったのかもしれない。いずれにしろ、所要時間が短いから合併症頻度が少ないという因果関係を直接見ていることになりません。

この場合、すべての先生のデータを合わせて所要時間と合併症発生との関係を見るべきです。物事の因果関係を調べたい場合には、可能な限り因果関係の起こる順（つまり原因から結果）にデータを取って解析することが大切です。この場合には、まず患者さんの要因や腫瘍のデータを取り、次に治療に関するデータ（誰がやったか、どんな治療をしようとしたか）、治療自体のデータ（実際どんな治療をやったか、何分かったか）、短期的な治療結果のデータ（合併症のデータ）、長期予後のデータ（死亡や再発までの期間など）を時間を追ってその時点でデータを取ることが重要です。あとから思い出したりカルテを起こしたりすると必要なデータがなかったり、自分の都合のよい症例だけを使ったりできるので、データがまったく信用できなくなります。

この方法に則ってデータが取られていたとすると、所要時間をいくつかのカテゴリに分けて、その中での合併症の頻度を比べるのがよいでしょう。カテゴリはデータで所要時間の分布を見て人数が同じになるように二つに分けること（＝中央値で二分割）をよくおこないますが、それよりもより臨床的に意味のあるカテゴリわけのほうが解釈に直結します。たとえば、太郎君のいう20分に何らかの意味があるならそこでわけるともひとつの方法です。所要時間の分布がふた山になっているのであればその間で分けるのもよいでしょう。ただ、通常は分布がひと山のことが多いので、その場合に真ん中で分けると一番人が多く分布しているところで無理やり分けてしまうことになるので、解釈しづらくなります。何も情報がないなら、分布から3つに分けると所要時間と合併症頻度の「用量反応関係」（所要時間が長いほど合併症が増えるという直線モデルか、所要時間がある程度以上なら合併症頻度が増えるという閾値モデル）

の検討もできるのでお勧めです。

しかし、これで所要時間が長いグループで合併症頻度が少なかったとしても、所要時間が長いことが合併症が少ない理由かどうかはわかりません。関連はあっても因果関係かどうかかわからないからです。本当は①IVRが易しい症例かどうかは合併症頻度に影響しているとしましょう。さらに、「②易しい症例が指導医でないC先生と太郎君にまわされ、彼らのIVR所要時間が総じて長い」のであれば、見かけ上、所要時間が長い方が合併症頻度が低いように見えるでしょう（図1参照）。この場合、易しい症例かどうかは①合併症の頻度と②所要時間の両方に関係しているため、真の関係を観察されるのをゆがめています。この現象を交絡（confounding）といい、ゆがめている因子を交絡因子（confounding factor）といいます。この場合の交絡因子は、易しい症例かどうか（＝担当医が誰であるか）です。交絡の影響を取り除くには、易しい症例と難しい症例で分けて（あるいは担当医ごとに分けて）所要時間と合併症頻度の関係を見ることです（サブグループ解析）。担当医ごとにみると、所要時間が短いほうが合併症頻度が低いという逆の関連が見られるかもしれません。ただし、交絡因子が多い場合は分けて見るのに限界があるので、いわゆる回帰モデル（この場合はlogistic regression）などを用いて調整することがよく行われます。

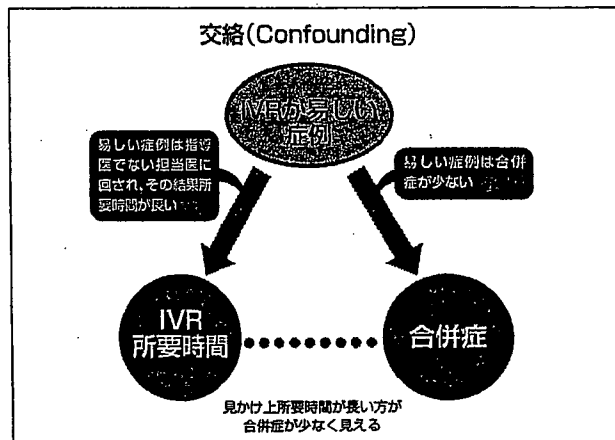


図1

太郎君の模索（その2）

「ランダム化比較試験なんてそんな簡単にできないよなあ」と同僚の次郎君と話しながらCVIRを読んでいた太郎君。米国からの3種類の透析カテーテルを比較している論文に目がとまった。ランダム化とは書いていないが明らかに比較していて、症例の背景に差がないことを示す表も載っている。やり方は症例の来た順番に1例目はAカテーテル、2例目はBカテーテル、3番目はCカテーテル、4番目は一周してまたAカテーテルとしている。「これならウチでもできる」と次郎君と意気投合。最近やたらと多い、下大静脈フィルターでやってみることにした。2種類のフィルターを交互に使って、留置の成功率、所要時間、合併症を比較することにした。臨床試験とかというややこしいので、一応部長のA先生に



確認したが、「どちらも保険適用となっている市販のステントだし、いずれにしてもどちらかを使う訳だから、別に倫理委員会とかにも出す必要はないでしょう」との返答だった。フィルターを入れるのは次郎君と太郎君の二人だから、一方の術者が偏らないよう、表を作って二人が入れるフィルターが均等になるように工夫した。一応、この研究専用の次郎君と共用のノートも準備した。2年間で50例くらいまとまれば、CIRSEにでも行って発表しようと思う。立派な prospective study だし、順次データを入力しておこうと思うので、その辺のコツを山本先生に聞きに行った。

#### [山本先生のコメント]

ランダム化するには二つの理由があります。もっとも大きな理由は、比べたいグループ間の比較可能性を高めることです。比較可能性を高めるとは、この場合でいうと、同じフィルターであれば同じ留置の成功率、平均所要時間、合併症頻度がグループ間で出ることが期待される、ということです。本来、比較可能性が最も高いのは、同じ個人に両方の治療をおこなうことです。しかし、同じ個人に両方のフィルターを使うわけにはいきません。次善の策として、その人にとっても似た人を探し出してその人にもうひとつの治療をして比較することが考えられますが、測定不可能なすべての要因が同じ人を探し出すのは不可能です。グループとして考えた場合、あるグループに対して背景因子が同じグループを作っても、個人個人の因子は異なるでしょうし、測定不可能な要因についても同じ分布を持たせることは不可能です。これを解決する唯一の方法がランダム化です。ランダム化する目的は、背景因子の分布を合わせることでなく、同じ治療をした場合に平均として同じ結果が出るグループを作ることです。ある程度の対象者数があれば、ある背景因子の分布が異なっている、別の因子で逆のことが起こって、トータルで見れば両グループで同じ結果が出ることを期待されます。太郎君の例のようにランダム化していない場合には、患者の順番を恣意的に変えたり、恣意的でなくても患者の来る順番にある傾向があれば（ある曜日にはある先生を訪ねて予後の悪い患者がくることが多い、など）、比較可能性が保たれる保障はありません。いくら研究者が恣意性がないと主張しても、それを証明することはできないのです。

もうひとつのランダム化の理由は、統計的推測の基礎を作ることです。ランダム化することによって、帰無仮説の下での統計量（＝見たいエンドポイント）の分布がどのようになるかを理論的に導き出すことができます。たとえば、二つのフィルターに差がない場合の留置の成功率は超幾何分布に従うことが証明でき、それに基づいて Fisher の正確な検定をおこなうことができます。しかし、この例のように順番に割り振った場合には、この検定を用いる直接的な根拠がなくなってしまい、何らかの数学的な仮定に基づいて別の検定をしなくてはなりません。このようにランダム化は統計的推測の基礎を作る大変強力な方法なのです。統計的

には、ランダム化するかしないかで証拠としての価値は天と地ほどの差が開いてしまいます。

しかし、最初の例に比べて、前向きにデータを取っていかうという太郎君の姿勢は評価できます。最初の例で述べたような、後で振り返って自分の都合のよい症例だけを使う、必要なデータが取られていない、定義が症例によって異なる、というようなことが防げるからです。ただし、これは、研究の計画と手順をしっかり記載した研究計画書（プロトコル）が研究開始前に作成され、それに基づいてデータマネジメントを行い、解析され、さらにはその研究内容と方法が妥当で正しくおこなわれていることが第三者によって保障されて初めて実現されます。そうでないとちゃんと行われているか論文読者には判断できません。施設倫理委員会（Institutional Review Board, IRB）はこの第三者的判断のために設置されています。なぜ倫理委員会が、と思うかもしれませんが、科学的でない研究は正しい結果を出すことができず、倫理的とはいえないため、倫理性を保障するためには科学的であることが必須です。したがって施設倫理委員会は倫理性だけでなく、研究が科学的に計画され、実施されていることを調べ、監視する責任があります。市販のものしか使わないから倫理委員会に出さなくていい、というのは勘違いもはなはだしく、これでは前向き研究どころか、研究ともいえません。

#### 太郎君の模索（その3）

太郎君の直属の上司である B 先生は動注リザーバーをよくやっているし、結構上手い。消化器内科の D 先生と組んで、この10年間に200例の結腸・直腸がん肝転移に対する動注をやっているそうである。たまたま、CTにきた肝動注開始5年後という患者さんに遭遇して、「FOLFOX, FOLFIRI で MST 20 ヶ月超とかいったって、やっぱり肝動注だよな」と思った太郎君。D 先生から長期生存例を教えてもらって調べてみた。一応、肝動注開始から3年以上生存例を長期生存と定義して調べてみると、案外いるもので、3年が5例、4年が3例、5年が2例、最長の7年が1例と合計11例もいた。これは発表のネタになると考えて、その背景を調べてみると、「直腸癌でなく結腸癌」、「原発巣手術がD2」、「異時性肝転移」、「治療開始時肝外病変なし」、「5FUの総投与量が15g以上」が全部の症例に共通していた。同じような発表は前にも聞いた覚えがあるし、エビデンスといえる程のデータではないかもしれないが、患者さんの治療方針を決める上での参考には十分になるデータだと思ったので、急いでまとめてリザーバー研究会に出そうと思った。「参考になるデータ」というくらいの軽い発表なら山本先生もOKしてくれるだろうと思い、行ってみた。

#### [山本先生のコメント]

まず第一に、長期生存例だけを集めて特徴を見ても、本当にそれが長期生存例に固有のものか、そうでないかがわかりません。これでは、「交通事故死の90%はシートベルトをしていない」といっているのと変わりま

せん。これは言外に「交通事故に遭ったのに死んでいない人は100%シートベルトをしていた」ことを周知の事実としているのですが、そんなこと調べて見ないとわかりません。因果関係を議論するには、常に比較対照するもの（コントロール）が必要です。

しかし、交通事故の例も、肝動注長期生存の例も推測の方向と因果の方向が逆（結果から原因）になっています。最初の例で述べたように、より正しく因果推論するには、シートベルトしている場合としていない場合でどちらが事故死が多いか調べるべきです。仮説を作る（hypothesis generating）のためには、長期生存例とそうでない対照を比べて、もともとどのような因子を持っている人が多かったかを探索的に（exploratory）比較することは重要ですが、いったん仮説ができあがると、前向きに検証することが必要です。肝動注の例では、肝動注をやる前、そしてやった後の因子を前向きに記録し、その後の予後を追跡して、どのような因子を持った集団の予後が長いかを調べる必要があります。「直腸癌が結腸癌か」、「肝転移が異時性が同時性か」、「治療開始時肝外病変の有無」でその後の予後を観察して比較すればいい、ということになります。「原発巣手術がD2かそうでないか」と「5FUの総投与量が15g以上」は別です。これは前述の因子と異なり、治療者がコントロールできることです。ランダム化比較試験をするべきです。あるいは、D2手術ができなかったとか、5FUを15g以上投与できなかったというのが、全身状態が悪いか肝動脈閉塞や副作用などの患者側の理由である場合には、ほかの因子の場合と同じように予後との関係を前向きに観察して比較する必要があります。しかしこの場合、手術の隔清の程度は患者側の要因であり、また5FU総投与量は患者が生存していて治療ができる期間にも影響されます。このため、このような因子は因果関係というよりも単に予後を反映、あるいは予後と相関しているだけである可能性もあります。このような因子を疫学では中間因子（intermediate factor）と呼んでいます。

## 太郎君の模索（その4）

オンボロの血管撮影装置の更新で、ついに太郎君の施設にもIVR-CTが入ることになった。これでいろいろ便利になるんだし、最近山本先生のお陰で臨床試験や統計の勉強も始めたから、是非この機会にIVR-CTの有用性を評価するprospective studyを組んでみようと思った太郎君。ところが、「何を指標にすれば有用性を言えるか」というこの試験の最も重要な評価項目（primary endpoint）でしょっぱなからひっかかってしまった。確かに、血管撮影装置とCTが合体した装置だから、患者さんを移動させずにあれこれできるので「楽」なのだが、この「利便性」というのをどうやって測ればいいのか判らない。所要時間とかは移動がない分だけ短くなるし、患者さんの移動に伴う危険性や事故も少ないかもしれないが、どうも本質とは違う気がする。CTも血管撮影も簡単にできると言たって、もともと患者さんさえ運べば、CT、血管撮影装置それぞれでやっていたこ

とだから、特別新しいことができる訳でもない。肺生検でも肝細胞がんのTACEでも治療成績はいろんな要因が絡むのでそう簡単には言えないし。それに、日本が開発したIVR-CTだけど、その有用性を述べた論文もない。これは相当に難問なのかもしれない、と今回ばかりはお手上げで、山本先生にアドバイスをもらいに訪問することにした。

## 【山本先生のコメント】

これは難しい問題です。もちろん統計の問題ではありません。いい解答はありませんが、参考になるのは「リスク・ベネフィットバランス」という考え方です。新しいものを導入する際には、それが治療であれ、医療機器であれ、そのリスクとベネフィットを定量し、それを比較考量することによって導入を判断することが必要となります。リスクとベネフィットを「定量する」ことが大事ですが、リスクとベネフィットは同じ尺度ではないので、いくら定量してもリスクとベネフィットのどちらが大きいかを簡単に決めることはできません。この場合比較すべきはむしろ、これまでにおこなわれてきた「標準」治療であり、「標準」医療機器です。新治療がこれまでの治療に取って代わるためには、副作用や合併症が変わらなくて治療効果の上昇があるか、副作用や合併症が増えてもそれに見合う以上の治療効果の増加があるか、治療効果が等しくて副作用や合併症が減ることを（新治療と標準治療を比較して）証明すればよいのです。この場合大事なのは「治療効果」を軸に考え、新治療の治療効果が劣る場合には副作用が減っても新しい標準治療とはしないことです。医療機器の場合は、たとえば診断機器であれば感度や特異度などの診断能を治療効果と置き換えて考えてください。リスクやベネフィットには利便さやお金を考慮してもよいでしょう。しかし、治療や医療機器である以上、外してはいけない治療効果を軸にして、ランダム化比較試験によって標準のもの新しいものを比較し、リスクとベネフィットを定量し、リスク・ベネフィットバランスの高いほうを選ぶ、というのが基本的な考え方です。

## 太郎君の模索（その5）

消化器内科のE先生。太郎君は知らなかったけど、肝細胞がんに対するTACEについて生存期間をprimary endpointにしたランダム化比較試験をやっていた。症例毎に「この症例はリピオドールとファルモルピシン」とか「この症例はリピオドールとマイトマイシンC」とかうるさく注文してくると思っていたが、実はこのためだと判った。当初各群100例ずつ合計200例の予定で4年前から始めたそうで、この度めでたく予定症例が登録されたのだが、どうも「もう少し延長したい」と部長のA先生に相談があったらしい。理由は、これまでの結果を解析してみたら、ファルモルピシン群が少し勝っているのだけれど、このままでは有意差が出ず、130例ずつ合計260例まで頑張れば有意差が出るからという。結構メジャーな雑誌に載る論文だろうし、太郎君も当然

co-authorで名前を載せてもらえる筈なので、この際協力しようかと思う。という訳で、何も考えずに雑談のつもりで山本先生に話してみた。

#### 〔山本先生のコメント〕

この試験にはいくつか大きな問題があります。ひとつは必要対象者数(サンプルサイズ)の設計方法です。サンプルサイズは、有意差が出るようにではなく、臨床的に意味のある差があるかを証明するために設計すべきです。つまり、新たな標準的治療となる可能性のある治療があったとして、その新治療が既存の標準的治療に取って代わるのに必要な「臨床的に意味のある差」に基づいて、サンプルサイズを設計すべきです。例えば、MSTを3ヵ月延ばすことが臨床的にも大きな意味のある対象(例えば進行肺がん)に対する新治療なら、これを証明できるようなサンプルサイズを設定すれば良いわけです。逆に、臨床的に意味のないような差なら標準治療にはなり得なく、それを証明するために莫大な人数の試験をすることは倫理的ではありません。

また、この試験では結果を見てから、勝てそうだから、という理由でサンプルサイズの再設計をして試験を続けようとしています。試験の途中で検出力を増やすためにサンプルサイズを増やすことは別に構わないのですが、何度も結果を見ることには問題があります。何度も見れば見るほど本当は差がなくても偶然有意になる確率( $\alpha$ エラー)が増えます。これを多重性の問題と呼びます。一回あたりの $\alpha$ エラーを5%とすると2回見るとどちらかで偶然有意になる $\alpha$ エラーは $1 - (1 - 0.05)(1 - 0.05) = 0.0975$ 、つまり10%近くにまで増大してしまいます(簡便のために独立性を仮定)。これは何回も覗くとたまたま差が出たときに見つけやすいからです。真に勝っている時は検出力を上げるだけだから構わないような感じがしますが、真に勝っているかどうかはわからないので、結局 $\alpha$ エラーを増やしているだけかも知れず、統計的な妥当性が保てません。 $\alpha$ エラーを宣言した

水準通りに守ることはランダム化比較試験が検証的であるための最も重要な要素のひとつですから、せっかくしっかり実施しても $\alpha$ エラーが増えてしまうと試験の価値が大幅に減ってしまいます。試験の計画段階から、途中で何度か見ることを計画して、統計的な方法で $\alpha$ エラーを調整する方法は一般的によく用いられており、問題はありません。ただし、途中で結果を見るのは試験実施者とは独立なモニタリング委員会であり、差があることが証明されるまで研究者には結果はマスクされます。中身を見てからサンプルサイズを増やす方法も統計的には提案されていますが、まだ一般的に使われるにはいたっていません。いずれにしろランダム化比較試験をするには試験にあわせて統計的にしっかりデザインすることが必須です。

#### おわりに

いささか人を喰ったような例題で恐縮だが、この辺が統計以前のわれわれの知識の標準的なところと考え、自分自身の反省も込めて書かせて頂いた。これらは疫学、あるいは臨床研究方法論として整理されている分野である。批判を受けるための例題であるため、厳しい印象をもたれたかもしれないが、山本先生の「これはいけない」という言葉の行間から滲み出た「どうせやるなら、こうしなさい」という部分を素直に受け入れるべきであると思う。統計以前の正しい考え方を理解し、その上で統計というツールを活用し、臨床的に本当に役立つ「本質」を科学的に示すIVRの研究が行われることに、本稿が役立てば幸いである。

#### 【文献】

- 『米国SWOGに学ぶがん臨床試験の実践—臨床医と統計家の協調をめざして』訳：福田治彦／新美三由紀／石塚直樹 医学書院 2004年08月発行。  
原著：『Clinical trials in oncology』2nd edition. Green S, Benedetti J, Crowley J, editors.

## Late Phase II Clinical Study of Vinorelbine Monotherapy in Advanced or Recurrent Breast Cancer Previously Treated with Anthracyclines and Taxanes

Masakazu Toi<sup>1</sup>, Toshiaki Saeki<sup>2,3</sup>, Kenjiro Aogi<sup>2</sup>, Muneaki Sano<sup>4</sup>, Kiyohiko Hatake<sup>5</sup>, Taro Asaga<sup>6</sup>, Yutaka Tokuda<sup>7</sup>, Shoshu Mitsuyama<sup>8</sup>, Morihiko Kimura<sup>9</sup>, Tadashi Kobayashi<sup>10</sup>, Motoshi Tamura<sup>11</sup>, Toshio Tabei<sup>12</sup>, Eisei Shin<sup>13,14</sup>, Reiki Nishimura<sup>15</sup>, Shinji Ohno<sup>16</sup> and Shigemitsu Takashima<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Trials and Research, Tokyo Metropolitan Komagome Hospital, Tokyo, <sup>2</sup>Department of Surgery, National Hospital Organization Shikoku Cancer Center, Matsuyama, <sup>3</sup>Department of Breast Oncology, Saitama Medical School Hospital, Iruma, Saitama, <sup>4</sup>Department of Surgery, Niigata Cancer Center Hospital, Niigata, <sup>5</sup>Division of Medical Oncology, Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo, <sup>6</sup>Department of Breast and Thyroid Surgery, Kanagawa Cancer Center Hospital, Yokohama, <sup>7</sup>Department of Surgery, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, <sup>8</sup>Department of Surgery, Kitakyushu Municipal Medical Center, Kitakyushu, Fukuoka, <sup>9</sup>Department of Surgery, Gunma Cancer Center, Ota, Gunma, <sup>10</sup>Department of Clinical Oncology, Jikei University School of Medicine, Tokyo, <sup>11</sup>Department of Breast Surgery, National Hospital Organization Hokkaido Cancer Center, Sapporo, <sup>12</sup>Department of Endocrinology, Saitama Cancer Center, Kitaadachi, Saitama, <sup>13</sup>Department of Surgery, National Osaka Hospital, Osaka, <sup>14</sup>Clinical Science Department, AstraZeneca K.K., Osaka, <sup>15</sup>Department of Surgery, Kumamoto City Hospital, Kumamoto and <sup>16</sup>Department of Breast Oncology, National Hospital Organization Kyushu Cancer Center, Fukuoka, Japan

Received February 10, 2005; accepted April 27, 2005; published online June 1, 2005

**Background:** At present, it is one of the most important issues for the treatment of breast cancer to develop the standard therapy for patients previously treated with anthracyclines and taxanes. With the objective of determining the usefulness of vinorelbine monotherapy in patients with advanced or recurrent breast cancer after standard therapy, we evaluated the efficacy and safety of vinorelbine in patients previously treated with anthracyclines and taxanes.

**Methods:** Vinorelbine was administered at a dose level of 25 mg/m<sup>2</sup> intravenously on days 1 and 8 of a 3 week cycle. Patients were given three or more cycles in the absence of tumor progression. A maximum of nine cycles were administered.

**Results:** The response rate in 50 evaluable patients was 20.0% (10 out of 50; 95% confidence interval, 10.0–33.7%). Responders plus those who had minor response (MR) or no change (NC) accounted for 58.0% [10 partial responses (PRs) + one MR + 18 NCs out of 50]. The Kaplan–Meier estimate (50% point) of time to progression (TTP) was 115.0 days. The response rate in the visceral organs was 17.3% (nine PRs out of 52). The major toxicity was myelosuppression, which was reversible and did not require discontinuation of treatment.

**Conclusion:** The results of this study show that vinorelbine monotherapy is useful in patients with advanced or recurrent breast cancer previously exposed to both anthracyclines and taxanes.

*Key words: breast cancer – vinorelbine – chemotherapy – phase II clinical trials*

### INTRODUCTION

The treatment of advanced or recurrent breast cancer is aimed at prolonging survival time rather than cure, with a focus on the relief of symptoms. At present, anthracycline-containing regimens are used as a first choice of

chemotherapy for breast cancer, whereas taxanes are considered to play a leading role for patients previously treated with anthracyclines. However, there are no standard drugs or regimens that have been shown to provide a survival benefit for patients who have received both anthracyclines and taxanes.

Vinorelbine is a novel vinca alkaloid derivative developed in France (1). It exerts its antitumor activity by inhibiting microtubule polymerization (2), as opposed to taxanes' mechanism of action, i.e. the inhibition of depolymerization. As a single

For reprints and all correspondence: Masakazu Toi, Department of Clinical Trials and Research, Tokyo Metropolitan Komagome Hospital, 3-18-22 Honkomagome, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8687 Japan.  
E-mail: makttoi77@wa2.so-net.ne.jp

agent for first-line chemotherapy for advanced or recurrent breast cancer, vinorelbine yielded response rates of  $\geq 35\%$  (3–11), and it is classified as an active chemotherapeutic agent for breast cancer (12).

Up to now, several studies have been conducted to evaluate the efficacy of vinorelbine monotherapy in patients with advanced or recurrent breast cancer after standard therapy. Livingstone *et al.* (13) reported that 25% of patients resistant to anthracyclines and paclitaxel responded to high-dose vinorelbine with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) support (13). In the study performed by Zelek *et al.*, patients who had previously received anthracyclines and taxanes were given vinorelbine intravenously once a week; the dose level was 30 mg/m<sup>2</sup> in the first six patients and then reduced to 25 mg/m<sup>2</sup> in the subsequent patients; vinorelbine yielded a response rate of 25% [10 partial responses (PRs) out of 40] (14).

With the objective of determining the usefulness of vinorelbine monotherapy in the aforesaid setting in Japan, we evaluated the efficacy and safety of vinorelbine in patients with advanced or recurrent breast cancer previously exposed to both anthracyclines and taxanes.

## PATIENTS AND METHODS

### PATIENTS

Inclusion criteria were: women with histologically diagnosed unresectable advanced breast cancer or recurrent breast cancer with distant metastasis; at least one evaluable disease (patients with bone metastasis only were not allowed); prior exposure to both anthracyclines and taxanes; an interval of at least 2 weeks (trastuzumab: 8 weeks) between the last dose of previous chemotherapy or radiotherapy and study start; Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) PS (performance status) of 0–2; estimated life expectancy >3 months; ages 20–75; adequate hepatic, renal and bone marrow function [NEU  $\geq 2000/\text{mm}^3$  or white blood cells  $\geq 4000/\text{mm}^3$ ; platelets  $\geq 100\,000/\text{mm}^3$ ; total bilirubin  $\leq 2.0$  mg/dl; GOT, GPT  $\leq 2.5\times$  the upper limit of normal (ULN) in each institution; serum creatinine  $\leq 1.5$  mg/dl; PaO<sub>2</sub>  $\geq 60$  mmHg or SaO<sub>2</sub>  $\geq 90\%$ ]; adequate cardiac function [cardiovascular (arrhythmia)  $\leq$  grade 2 and cardiac-ischaemia/infarction  $\leq$  grade 1 as defined by the National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria (NCI-CTC)]; no prior experience or suspicious symptoms of cardiac diseases; and no history of acute cardiac infarction within 12 months of enrollment. Written informed consent was obtained from all patients. Exclusion criteria were: past or current interstitial pneumonia or lung fibrosis; constipation  $\geq$  grade 3; neuropathy  $\geq$  grade 2 (excluding dysfunction resulting from local nerve pressure due to disease progression); symptomatic cerebral metastasis; pregnancy; dose intensive chemotherapy using hematopoietic stem cell transplantation; active double cancer; and enrollment in other clinical trials. This study was supported by Kyowa Hakko Kogyo Company in Tokyo.

### TREATMENT

Vinorelbine was administered intravenously on days 1 and 8 of a 3 week cycle. The dose of vinorelbine was 25 mg/m<sup>2</sup>, administered by slow intravenous injection over 6–10 min after dilution in about 50 ml of normal saline solution, followed by about 200 ml of normal saline infusion to flush the vein. Patients were given at least three cycles unless progressive disease was observed. All the data were cut off after nine cycles of treatment. Before each administration, patients were required to have NEU  $\geq 1000/\text{mm}^3$ . G-CSF support prior to administration was not allowed except in cases where NEU was  $<1000/\text{mm}^3$ . The dose level of vinorelbine will be reduced to 20 mg/m<sup>2</sup> when the day 1 administration is delayed more than 1 week or the day 8 administration is omitted in two consecutive cycles because of NEU  $<1000/\text{mm}^3$ .

### EVALUATION

The primary end-points were objective response rate [complete response (CR) plus PR] and safety, and the secondary end-point was TTP.

The efficacy of treatment was evaluated using the General Rules for Clinical and Pathological Recording of Breast Cancer (The Japanese Breast Cancer Society 14th edition), and extra-mural review for all patients was also carried out. Disease responses for patients with measurable and non-measurable but assessable disease were classified as follows: CR was defined as the complete disappearance of all clinical and radiological evidence of tumor. PR was defined as a decrease of at least 50% from baseline in the sum of bidimensionally measurable disease, or obvious improvement in non-measurable disease. CR and PR required confirmation by a second evaluation at least 4 weeks later. A response of lesser duration was considered a minor response (MR). Progressive disease (PD) was defined as an increase of  $\geq 25\%$  from baseline in the sum of bidimensionally measurable disease, obvious increase in non-measurable disease or the appearance of any new disease. No change (NC) was defined as an evaluation that failed to qualify for any of these responses. All adverse events were graded according to NCI-CTC version 2.

## RESULTS

### PATIENT CHARACTERISTICS

Fifty patients were enrolled in this study between October 19, 2001 and February 3, 2003. The patient characteristics are shown in Table 1.

Six patients (12.0%) had advanced breast cancer, and 44 (88.0%) had recurrent disease. Five patients (10.0%) had a PS of 2. The number of prior chemotherapy regimens for metastatic disease was two in 22 patients (44.0%), three in 13 patients (26.0%) and five or more in three patients (6.0%). Hormone receptor status of the primary site was estrogen receptor positive in 22 patients (44.0%) and progesterone receptor positive in 16 patients (32.0%). Hormone receptor

Vinorelbine for pre-treated MBC

Table 1. Patient characteristics

No. of patients	50	-
Age (years)		
Median (range)	55 (37-71)	
<50		16 (32.0%)
≥50		34 (68.0%)
Performance status (ECOG)		
0		38 (76.0%)
1		7 (14.0%)
2		5 (10.0%)
Diagnosis		
Advanced		6 (12.0%)
Recurrent		44 (88.0%)
Disease-free interval of recurrent cases (months)		
Median (range)	22.0 (2-97)	
<1 year		10 (22.7%)
1-5 years		28 (63.6%)
≥5 years		6 (13.6%)
No. of disease sites		
1		13 (26.0%)
2		16 (32.0%)
3		11 (22.0%)
4		7 (14.0%)
≥5		3 (6.0%)
Estrogen receptor status		
+		22 (44.0%)
-		25 (50.0%)
Unknown		3 (6.0%)
Progesterone receptor status		
+		16 (32.0%)
-		30 (60.0%)
Unknown		4 (8.0%)
No. of prior chemotherapy regimens for metastatic disease		
0		3 (6.0%)
1		3 (6.0%)
2		22 (44.0%)
3		13 (26.0%)
4		6 (12.0%)
≥5		3 (6.0%)
Total dose of prior anthracyclines (mg/m <sup>2</sup> )		
Median (range)	240.0 (30-1125)	
≤240		32 (64.0%)
>240		18 (36.0%)
Prior exposure to taxanes		
Paclitaxel only		10
Docetaxel only		24
Both		16

status was examined according to the method used at each institution. The information on Her2 status was not collected, because it was not included in the general evaluation items when this study started. None of the patients had previously been treated with trastuzumab.

Table 2. Tumor response

Disease site	n	Efficacy						Overall response (%) (95% CI)
		CR	PR	MR	NC	PD	NE	
Breast	3	0	0	0	3	0	0	0.0
Skin	9	0	1	1	5	2	0	11.1
Lymph node	23	1	3	6	7	5	1	17.4
Mediastinum	1	0	0	0	1	0	0	0.0
Subtotal (soft tissues)	36	1	4	7	16	7	1	13.9
Bone	13	0	0	1	7	2	3	0.0
Lung	24	0	5	4	12	2	1	20.8
Pleura	13	0	2	0	6	2	3	15.4
Liver	13	0	2	0	8	3	0	15.4
CNS	2	0	0	0	0	2	0	0.0
Subtotal (visceral organs)	52	0	9	4	26	9	4	17.3
Other	1	0	0	0	0	0	1	0.0
Total	50	0	10	1	18	18	3	20.0 (10.0-33.7)

CR, complete response; PR, partial response; MR, minor response; NC, no change; PD, progressive disease; NE, not evaluable; CNS, central nervous system.

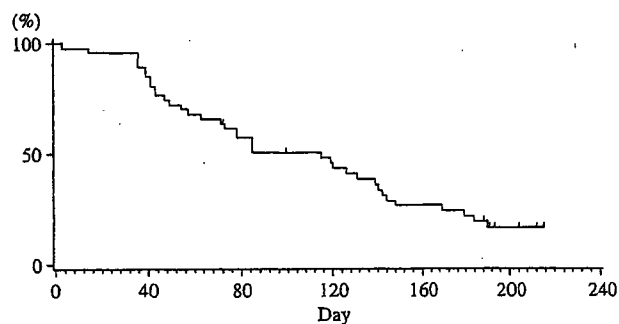


Figure 1. Time to progression.

EFFICACY

The response rate as the primary end-point was 20.0% (10 PRs out of 50; 95% confidence interval, 10.0-33.7%) (Table 2). The response rate in the visceral organs was 17.3% (nine PRs out of 52). The Kaplan-Meier estimate (50% point) of TTP was 115.0 days (Fig. 1).

The response rates by type of prior taxane exposure were as follows: all of the 16 patients previously treated with both paclitaxel and docetaxel failed to respond to vinorelbine, whereas responses were observed in 37.5% of the patients who had received docetaxel only (nine PRs out of 24) and 10.0% of the patients previously treated with paclitaxel only (one out of 10). Therefore, the response rate of the patients with prior exposure to only one taxane was 29.4% (10 PRs out of 34).

Table 3. The incidence and severity of adverse drug reactions

	Total		Grade (no.)				Grade 3-4	
	n	%	1	2	3	4	n	%
<b>Hematological</b>								
Leukocytes	46	92	0	15	24	7	31	62
Neutrophils	47	94	1	9	17	20	37	74
Hemoglobin	38	76	13	20	3	2	5	10
Platelets	7	14	5	1	0	1	1	2
Febrile neutropenia	6	12	0	0	6	0	6	12
Transfusion:pRBCs	2	4	0	0	2	0	2	4
<b>Non-hematological</b>								
Nausea	32	64	25	6	1	0	1	2
Vomiting	20	40	13	6	1	0	1	2
Diarrhea	15	30	13	2	0	0	0	0
Anorexia	31	62	22	5	4	0	4	8
Stomatitis/pharyngitis	21	42	14	7	0	0	0	0
Fatigue (lethargy, malaise and asthenia)	36	72	26	8	2	0	2	4
Infection with grade 3-4 neutropenia	6	12	0	0	6	0	6	12
Phlebitis (superficial)	30	60	0	30	0	0	0	0
Injection site reaction	29	58	17	12	0	0	0	0
SGOT (AST)	17	34	11	4	1	1	2	4
SGPT (ALT)	18	36	10	5	2	1	3	6
Neuropathy-sensory	15	30	11	4	0	0	0	0
Headache	20	40	17	3	0	0	0	0

**SAFETY**

The incidence and severity of adverse drug reactions are shown in Table 3. The major toxicity was myelosuppression; neutropenia (94%), leukopenia (92%), erythrocytopenia (78%) and decreased hemoglobin (76%) were observed frequently. Grade 3 or 4 neutropenia and leukopenia affected 74 and 62% of the patients, respectively. Other grade 3 or 4 toxicities included febrile neutropenia (12%), infection with grade 3 or 4 neutropenia (12%), decreased hemoglobin (10%), anorexia (8%), SGPT (ALT) increased (6%), fatigue (lethargy, malaise and asthenia) (4%), SGOT (AST) increased (4%), and transfusion:pRBCs (4%).

Phlebitis was seen more frequently than in the previous study (3). In this study, all patients had previously been treated with anthracyclines and taxanes, and had experienced more prior chemotherapy regimens than in the previous study. We thus suspect that phlebitis might be due to heavy prior chemotherapy regimens. Other events were clinically tolerable, and were not frequent.

Forty-eight patients (96%) received more than three cycles of treatment that was provided by the protocol. The median number of cycles was five (range, 1-9). The dose was reduced in one patient due to neutropenia, and none of the patients

discontinued treatment due to adverse drug reactions. Neither interstitial pneumonia nor ileus was observed. There were no treatment-related deaths.

**DISCUSSION**

Several drugs or regimens have been evaluated for the treatment of patients with metastatic breast cancer previously treated with anthracyclines and taxanes. Capecitabine, when used as a single agent, yielded response rates of 20.0-24.6% in taxane-resistant patients (15,16). Two studies were conducted to evaluate the efficacy of vinorelbine monotherapy in a similar setting, both of which reported a response rate of 25.0% (13,14). At present, however, there are no standard drugs or regimens which have been shown to provide a survival benefit.

In patients previously treated with anthracyclines and taxanes, therefore, evidence of the drug being at least effective would justify its existence. In the present study, vinorelbine achieved a response rate of 20.0% (10 PRs out of 50) with a lower 95% confidence limit of 10.0%. These results show that vinorelbine is also effective for this setting in Japan.

However, this response rate was lower than the results reported for vinorelbine monotherapy in patients with similar characteristics. To compare these data, the differences in prior taxane exposure should be taken into consideration. The study by Livingstone *et al.* involved paclitaxel-resistant patients (13), and the study by Zelek *et al.* involved patients previously exposed to taxanes (14); in both of the studies, prior taxane exposure was limited to only one regimen. On the other hand, the protocol of this study did not specify the number of prior taxane regimens; 16 of the 50 patients had previously received two different taxanes, all of whom failed to respond to vinorelbine. Patients receiving a taxane followed by another taxane are at risk of experiencing overlapping toxicities. Drugs which have different mechanisms of action and toxicity profile, such as vinorelbine, should thus be considered for use in the patients who have received only a single taxane. It should also be noted that the response rate in the subset of patients previously treated with only one taxane was as high as 29.4% (10 PRs out of 34).

In this study, one patient showed MR, and 18 showed NC. Responders plus those achieving MR or NC accounted for 58.0% (10 PRs + one MR + 18 NCs out of 50). In three of the NC cases, disease remained stable for as long as 24 weeks or more. The Kaplan-Meier estimate (50% point) of TTP was 115.0 days. In situations where there are few treatment options left because of the prior exposure to standard therapy, it is important at least to prevent disease progression. From this viewpoint, those results strongly support the usefulness of vinorelbine.

The major toxicity was myelosuppression, with grade 3 or 4 neutropenia and leukopenia affecting 74.0 and 62.0% of patients, respectively. However, none of these events led to discontinuation of treatment, with G-CSF support, if needed, resulting in rapid recovery. It should be noted that no patient experienced interstitial pneumonia or ileus which we had sometimes experienced as the toxicities of vinorelbine. These

findings show that the vinorelbine monotherapy regimen used in this study is well tolerated and feasible. However, in this study, we paid a lot of attention to pulmonary toxicity using the observation of pulmonary function as part of the inclusion and exclusion criteria. Precautions against pulmonary toxicity of vinorelbine will still be needed in clinical practice.

At present, it is generally agreed that patients who have had disease recurrence or progression during or after standard therapy should be given another regimen using drugs with different mechanisms of action. However, the main treatment options now available for these patients refractory to standard therapy are prodrugs of 5-fluorouracil, which is often used in combination with anthracyclines, and another taxane. The results of this study indicate that single-agent vinorelbine with a mechanism of action different from drugs used as standard therapy may offer an important new option in these clinical settings.

In addition, there have been a lot of studies showing the synergistic effect of vinorelbine and other chemotherapeutic (17–27) or molecular targeting agents including trastuzumab (28,29) *in vitro* or *in vivo*. In fact, favorable results have been achieved in some clinical studies of combination therapy using vinorelbine and trastuzumab (30–33). Furthermore, the toxicity profile of vinorelbine suggests its potential to be used in combination with other chemotherapeutic drugs. Therefore, vinorelbine also appears to be a promising candidate for combination therapy in breast cancer, warranting further evaluation.

### Acknowledgments

The authors wish to thank collaborators Dr Hiroshi Sonoo as medical adviser, Dr Tadaoki Morimoto, Dr Kazuhiro Kanda and Dr Izo Kimijima as Judgment Committee, and Dr Kazuo Tamura, Dr Tadashi Ikeda, and Dr Shigeru Tsukagoshi for the committee of efficacy and safety evaluation.

### References

1. Potier P. The synthesis of navelbine prototype of a new series of vinblastine derivatives. *Semin Oncol* 1989;16(2 Suppl.4):2–4.
2. Fellous A, Ohayon R, Vacassin T, Binet S, Lataste H, Krikorian A, et al. Biochemical effect of navelbine on tubulin and associated proteins. *Semin Oncol* 1989;16(2 Suppl.4):9–14.
3. Kimura M, Ogita M, Morishita Y, Tabei T, Horikoshi N, Nishi T, et al. Late phase II clinical trial of KW-2307 in advanced or recurrent breast cancer. *J Jpn Soc Cancer Ther* 2001;36:OP-1016 (in Japanese).
4. Fumoleau P, Delgado FM, Delozier T, Monnier A, Gil Delgado MA, Kerbrat P, et al. Phase II trial of weekly intravenous vinorelbine in first-line advanced breast cancer chemotherapy. *J Clin Oncol* 1993;11:1245–52.
5. Garcia-Conde J, Lluch A, Martin M, Casado A, Gervasio H, De Oliveira C, et al. Phase II trial of weekly vinorelbine in first-line advanced breast cancer chemotherapy. *Ann Oncol* 1994;5:854–7.
6. Romero A, Rabinovich MG, Vallejo CT, Perez JE, Rodriguez R, Cuevas MA, et al. Vinorelbine as first-line chemotherapy for metastatic breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1994;12:336–41.
7. Weber BL, Vogel C, Jones S, Harvey H, Hutchins L, Bigley J, et al. Intravenous vinorelbine as first-line and second-line therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:2722–30.
8. Bruno S, Puerto VL, Mickiewicz E, Hegg R, Texeira LC, Gaitan L, et al. Phase II trial of weekly IV vinorelbine as a single agent in first-line advanced breast cancer chemotherapy. *Am J Clin Oncol* 1995;18:392–6.

9. Twelves CJ, Dobbs NA, Curnow A, Coleman RE, Stewart AL, Tyrrell CJ, et al. A phase II, multicentre, UK study of vinorelbine in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1994;70:990–3.
10. Terenziani M, Demicheli R, Brambilla C, Ferrari L, Moliterni A, Zambetti M, et al. Vinorelbine: an active, non cross-resistant drug in advanced breast cancer. Results from a phase II study. *Breast Cancer Res Treat* 1996;39:285–91.
11. Vogel C, O'Rourke M, Winer E, Hochster H, Chang A, Adamkiewicz B, et al. Vinorelbine as first-line chemotherapy for advanced breast cancer in women 60 years of age or older. *Ann Oncol* 1999;10:397–402.
12. Winer EP, Morrow M, Osborne CK, Harris JR. Malignant tumors of the breast. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *CANCER. Principles and Practice of Oncology*, 6th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001;1699–717.
13. Livingston RB, Ellis GK, Gralow JR, Williams MA, White R, McGuirt C, et al. Dose-intensive vinorelbine with concurrent granulocyte colony-stimulating factor support in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:1395–400.
14. Zelek L, Barthier S, Riofrio M, Fizazi K, Rixe O, Delord JP, et al. Weekly vinorelbine is an effective palliative regimen after failure with anthracyclines and taxanes in metastatic breast carcinoma. *Cancer* 2001;92:2267–72.
15. Blum JL, Jones SE, Buzdar AU, LoRusso PM, Kuter I, Vogel C, et al. Multicenter phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:485–93.
16. Blum JL, Dieras V, Lo Russo PM, Horton J, Rutman O, Buzdar A, et al. Multicenter, phase II study of capecitabine in taxane-pretreated metastatic breast carcinoma patients. *Cancer* 2001;92:1759–68.
17. Sawada N, Fujimoto-Ouchi K, Ishikawa T, Tanaka Y, Ishitsuka H. Antitumor activity of combination therapy with capecitabine plus vinorelbine, and capecitabine plus gemcitabine in human tumor xenograft models. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2002;43:5388.
18. Budman DR, Calabro A. In vitro search for synergy and antagonism: evaluation of docetaxel combinations in breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat* 2002;74:41–6.
19. Koruek GV, Ulrich-Pur H, Penz M, Haider K, Kwasny W, Depisch D, et al. Treatment of advanced breast cancer with vinorelbine and docetaxel with or without human granulocyte colony-stimulating factor. *J Clin Oncol* 2001;19:621–7.
20. Budman DR, Calabro A, Wang LG, Liu XM, Stiel L, Adams LM, et al. Synergism of cytotoxic effects of vinorelbine and paclitaxel *in vitro*. *Cancer Invest* 2000;18:695–701.
21. Romero Acuna L, Langhi M, Perez J, Romero Acuna J, Machiavelli M, Lacava J, et al. Vinorelbine and paclitaxel as first-line chemotherapy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:74–81.
22. Ellis GK, Gralow JR, Irving Pierce H, Williams MA, Livingston RB. Infusional paclitaxel and weekly vinorelbine chemotherapy with concurrent filgrastim for metastatic breast cancer: high complete response rate in a phase I–II study of doxorubicin-treated patients. *J Clin Oncol* 1999;17:1407–12.
23. Cohen RB, Mueller SC, Haden K, Souza P. Phase I study on weekly vinorelbine in combination with weekly paclitaxel in adult patients with advanced refractory cancer. *Cancer Invest* 2000;18:422–8.
24. Spano JP, Bouillet T, Boaziz C, Piperno-Neumann S, Brunel P, Hennebelle F, et al. Phase II study of paclitaxel combined with vinorelbine in patients with advanced breast cancer. *Am J Clin Oncol* 2004;27:317–21.
25. Leone BA, Vallejo CT, Romero AO, Perez JE, Cuevas MA, Lacava JA, et al. Ifosfamide and vinorelbine as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1996;14: 2993–9.
26. Pronzato P, Queirolo P, Landucci M, Vaira F, Vigani A, Gipponi M, et al. Phase II study of vinorelbine and ifosfamide in anthracycline resistant metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1997;42:183–6.
27. Campisi C, Fabi A, Papaldo P, Tomao S, Massidda B, Zappala A, et al. Ifosfamide given by continuous-intravenous infusion in association with vinorelbine in patients with anthracycline-resistant metastatic breast cancer: a phase I–II clinical trial. *Ann Oncol* 1998;9:565–7.
28. Pegram M, Hsu S, Lewis G, Pietras R, Beryt M, Sliwkowski M, et al. Inhibitory effects of combinations of HER2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers. *Oncogene* 1999;18:2241–51.
29. Pegram MD, Lopez A, Konecny G, Slamon DJ. Trastuzumab and chemotherapeutics: drug interactions and synergies. *Semin Oncol* 2000;27(6 Suppl 11):21–25.



30. Burstein HJ, Kuter I, Campos SM, Gelman RS, Tribou L, Parker LM, et al. Clinical activity of trastuzumab and vinorelbine in women with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:2722-30.
31. Jahanzeb M, Mortimer JE, Yunus F, Irwin DH, Speyer J, Koletsky AJ, et al. Phase II trial of weekly vinorelbine and trastuzumab as first-line therapy in patients with HER2<sup>+</sup> metastatic breast cancer. *Oncologist* 2002;7:410-7.
32. Burstein HJ, Harris LN, Marcom PK, Lambert-Falls R, Havlin K, Overmoyer B, et al. Trastuzumab and vinorelbine as first-line therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. *J Clin Oncol* 2003;21:2889-95.
33. Suzuki Y, Tokuda Y, Saito Y, Ohta M, Tajima T. Combination of trastuzumab and vinorelbine in metastatic breast cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2003;33:514-7.

# Circadian Variability of Pharmacokinetics of 5-Fluorouracil and *CLOCK T3111C* Genetic Polymorphism in Patients With Esophageal Carcinoma

*Ikuya Miki,\* Takao Tamura,\* Tsutomu Nakamura,† Hiroo Makimoto,† Noriko Hamana,† Hitoshi Uchiyama,† Daisuke Shirasaka,\* Yoshinori Morita,\* Hiroyuki Yamada,\* Nobuo Aoyama,† Toshiyuki Sakaeda,† Katsuhiko Okumura,† and Masato Kasuga\**

**Abstract:** The variations of plasma concentrations of 5-fluorouracil (5-FU) were investigated in 30 esophageal cancer patients treated with repetitive protracted venous infusion (PVI) of 5-FU-based chemoradiotherapy, and in an attempt to find a new possible candidate that explains their variations, *CLOCK T3111C* genetic polymorphism was examined. The patients have received 2 courses of chemoradiotherapy consisting of 2 cycles of 5-day PVI of 5-FU (400 mg/m<sup>2</sup>/d) with cisplatin and concurrent radiation. The plasma concentrations of 5-FU were determined at 5 PM on day 3 and 5 AM on day 4 after the beginning of each 5-FU infusion. The *CLOCK T3111C* genotype was determined by polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and by direct sequencing. Plasma concentrations were measured in 239 samples. In the first course, the plasma concentrations of 5-FU at 5 AM were significantly lower than those at 5 PM in the first cycle, whereas a similar tendency was observed in the second cycle, although not significantly (Wilcoxon signed-rank test). The plasma concentrations of 5-FU at 5 PM and 5 AM in the second cycle were both significantly higher than those in the first cycle, and their coefficient of variation in the former was also significantly smaller than that in the latter. These phenomena in the first course were also observed in the second one. These results revealed the elevation of plasma drug concentration and its reduced circadian variation during repetitive PVI of 5-FU. In 5-FU-based chemotherapy, its administration schedule should be made in consideration of these phenomena. The *CLOCK T3111C* genotype did not have a significant impact on the variation of the plasma concentrations of 5-FU in this study population. Further studies are needed to clarify the mechanism of these phenomena and to identify an easy-to-assess marker of circadian rhythms for use in individualizing delivery of 5-FU.

**Key Words:** esophageal cancer, 5-fluorouracil, circadian variation, *CLOCK*

(*Ther Drug Monit* 2005;27:369–374)

**5-F**luorouracil (5-FU) is widely used for the treatment of cancer in various tissues such as head and neck, gastrointestinal tract, pancreas, and cervix.<sup>1–5</sup> This drug is administered orally or intravenously as a rapid bolus injection or as a protracted infusion. 5-FU is a time-dependent drug whose cytotoxicity is increased by prolonging exposure in vitro,<sup>6,7</sup> and clinical evidence has confirmed that the size of its therapeutic window between effectiveness and toxicity is increased by the infusional method compared with the bolus method.<sup>8,9</sup> Based on this knowledge, among different delivery methods, protracted venous infusion (PVI) of 5-FU is frequently chosen in combination with other anticancer drugs and/or with radiation for synergistic effects.<sup>10,11</sup> In Japan, the infusional 5-FU-based chemoradiation regimen has been used for nonsurgical treatment of esophageal cancer, in which a course of treatment consisting of 2 successive 5-day cycles of PVI of 5-FU (400 mg/m<sup>2</sup>/d), cisplatin (CDDP), and concurrent radiation, separated by an interval of 2 days.<sup>3,12,13</sup> This regimen, established by Ohtsu and co-workers, is characteristic across the world and has been accepted by Japanese medical oncologists to give more effective response and less toxicity. In other countries, 5-FU is often administered at high dosage (800–1000 mg/m<sup>2</sup>/d) in a monthly repeated PVI regimen with CDDP and concurrent radiation for esophageal cancer, which is the recommended regimen of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG).<sup>14–17</sup> By using repetition of 5-day PVI with low-dose 5-FU, the Ohtsu regimen has the advantage of a high completion rate of planned courses without dose modification<sup>3,12,13</sup>; however, this regimen may have room for discussion on 5-FU dosage to improve treatment outcome. A higher dosage of 5-FU leads to more effective treatment response in vitro.<sup>7</sup> However, its dose escalation in clinical practice may bring severe adverse effects, and therefore, to provide 5-FU-based chemoradiotherapy safety and effectiveness, the information about its plasma concentrations in the Ohtsu regimen should be investigated before its dose escalation.

On the other hand, 5-FU is a typical drug showing a circadian variation of its plasma concentration during

Received for publication September 22, 2004; accepted March 2, 2005.

From the \*Division of Diabetes, Digestive, and Kidney Diseases, Department of Clinical Molecular Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe 650-0017, Japan; †Department of Hospital Pharmacy, Kobe University School of Medicine, Kobe 650-0017, Japan; and ‡Department of Endoscopy, Kobe University School of Medicine, Kobe 650-0017, Japan.

This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research from Japan Society for the Promotion of Science.

Reprints: Assistant Prof. Takao Tamura, MD, Division of Diabetes, Digestive, and Kidney Diseases, Department of Clinical Molecular Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-2 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan (e-mail: ttamura@med.kobe-u.ac.jp).

Copyright © 2005 by Lippincott Williams & Wilkins

PVI,<sup>18,19</sup> which results in the intra- and interpatient variability of plasma concentrations of this drug despite PVI administration at a constant rate.<sup>20,21</sup>

Circadian variations in physiological and behavioral processes are influenced by several endogenous and exogenous factors. Among these, *CLOCK* gene is considered one of the most important genetic factors, which plays a pivotal role in the generation and control of circadian rhythms.<sup>22</sup> The association of a single nucleotide polymorphism *T3111C* in the 3' flanking region of the human *CLOCK* gene with diurnal preference has been reported.<sup>23</sup> To the authors' knowledge, no previous reports were available about the relationship between *CLOCK T3111C* polymorphism and 5-FU pharmacokinetics.

In the present study, blood sampling was performed at 2 intervals, 5 PM and 5 AM on days 3 and 4, respectively, of each cycle, which should reflect daily active and inactive phases, respectively, to measure plasma concentrations of 5-FU in Japanese esophageal cancer patients treated with the Ohtsu regimen, and the variations of its plasma concentrations between times, cycles, and courses were evaluated. In addition, we also examined whether *CLOCK T3111C* polymorphism would influence the circadian variation of plasma concentrations of 5-FU.

## PATIENTS, MATERIALS, AND METHODS

### Patients and Treatment

The protocol for this study was approved by the Institutional Review Board of Kobe University Hospital, Japan. Written informed consent was obtained from all patients at the beginning of this study.

Thirty male patients with surgically untreated or recurrent esophageal squamous cell carcinoma diagnosed at Kobe University Hospital participated in this study. Diagnosis of esophageal carcinoma was based on clinical, endoscopic, radiologic, and histopathological findings. The following criteria were used for enrollment for this study: age <80 years, performance status (Eastern Cooperative Oncology Group) 0 to 2, clinical stage (International Union Against Cancer tumor-node-metastasis system, 1997) I to IV or recurrent cases

at lymph nodes after surgery, adequate organ function, and no other site of carcinoma except for early stage I. All clinical data were collected from the medical record, questionnaires, and interview at the time of enrollment. All patients hospitalized were treated with 5-FU-based chemoradiotherapy. Chemotherapy consisted of 2 successive cycles of 5-day PVI of 5-FU 400 mg/m<sup>2</sup>/d (5 days/wk) and 3-hour drip infusion of cisplatin (CDDP) 40 mg/m<sup>2</sup> on the first day (once/wk). External beam radiotherapy using megavoltage equipment was administered for 3 weeks (5 days/wk) at 2 Gy/d, concomitantly with chemotherapy. This schedule was repeated twice at an interval of 2 weeks (Fig. 1). An additional chemotherapy was administered after this study case by case. No attempt was made to impose a uniform sleep/awake cycle on each patient's activity.

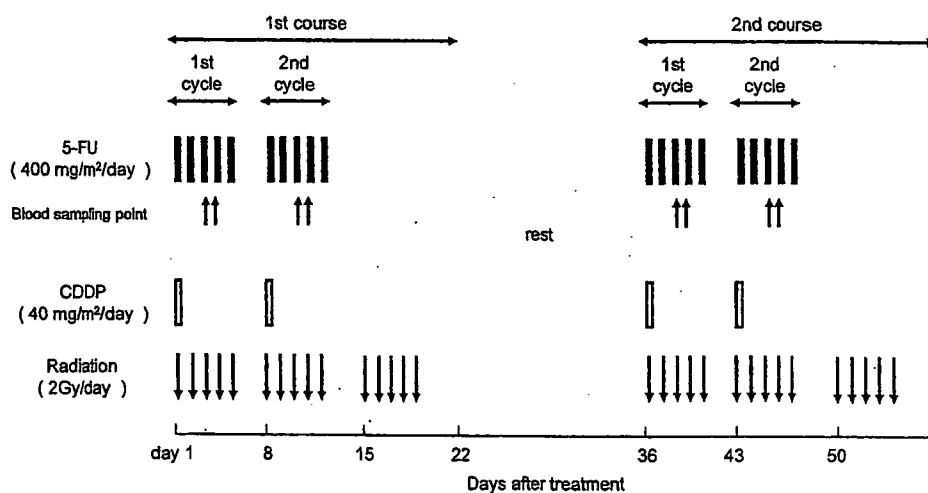
### Blood Sampling

Peripheral venous blood (5 mL) was drawn into 2 sampling tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) at 8 time points from each subject as follows: 5 PM on days 3 and 5 AM on days 4 after the beginning of the 5-FU infusion in each cycle (Fig. 1). Each of the 8 peripheral venous blood (5 mL) samples drawn from each patient was split into 2 aliquots. One was immediately centrifuged (10 minutes at 2500 rpm) in the hospital ward, giving a plasma sample for the determination of plasma concentration of 5-FU. The other was used for the *CLOCK* genotyping. These whole-blood and plasma samples were stored at -20°C until assay.

### Determination of Plasma Concentration of 5-FU

5-Fluorouracil injection was purchased from Kyowa Hakko Kogyo Co. (Tokyo, Japan). 5-Bromouracil as the internal standard was purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO). Other chemicals used were of the highest purity available.

The plasma concentrations of 5-FU were determined by a high-performance liquid chromatography (HPLC) assay as described previously.<sup>24</sup> A high-performance liquid chromatograph, LC-10A (Shimadzu, Kyoto, Japan), was equipped with a variable-wavelength UV detector, SPD-6AV (Shimadzu), adjusted to 266 nm and an analytic C<sub>18</sub> reverse-phase column



**FIGURE 1.** Treatment schedule of 5-FU-based chemoradiotherapy. 5-FU, 5-fluorouracil; CDDP, cisplatin. Blood sampling points were 5 PM on days 3 and 5 AM on days 4 after the beginning of the 5-FU infusion in each cycle.

(Chemcosorb 5-ODS-H, 25 cm × 4.6 cm, Chemco Co, Osaka, Japan). The mobile phase consisted of 10 mmol/L sodium acetate buffer (pH 4.0):methanol (99:1). The flow rate was 1.5 mL/min, and the column temperature was maintained at 40°C. The plasma concentration of 5-FU was calculated using a calibration curve that was constructed for each assay with standard samples with concentrations from 0.02 to 0.5 µg/mL and based on the peak height ratios to internal standard, 5-bromouracil. The elution time of 5-FU and 5-bromouracil was 3.3–3.5 minutes and 7.6–7.8 minutes, respectively. The calibration curve usually gave a correlation coefficient ( $r^2$ ) of more than 0.999, with an intercept corresponding to the concentration from -0.01 to 0.01 µg/mL. All assays were performed in duplicate for a plasma sample, and mean values were calculated. The limit of quantification was 0.01 µg/mL. The determination was routinely validated to confirm the precision and accuracy within 10% at all concentrations.

### Genotyping of *CLOCK T3111C* Polymorphism

Genomic DNA was extracted by the method described previously.<sup>25</sup> The genotype at positions 3111 of the *CLOCK* gene was determined by polymerase chain-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis and direct sequencing.<sup>26</sup> The following PCR primers synthesized by Hokkaido System Science Co., Ltd (Hokkaido, Japan) were used in this study<sup>23,26</sup>: forward primer 5'-TCC AGC AGT TTC ATG AGA TGC-3'; reverse primer 5'-GAG GTC ATT TCA TAG CTG AGC-3'. PCR consisted of an initial denaturation step at 94°C for 3 minutes, 29 cycles of 94°C for 20 seconds, 58°C for 20 seconds, and 72°C for 30 seconds, followed by 1 cycle of 72°C for 5 minutes. The temperature was controlled by a programmable heat block (DNA Engine PTC-200, MJ Japan Ltd, Tokyo, Japan). After amplification, PCR products were digested with restriction enzymes (Bsp 1286I, TaKaRa Bio Inc., Shiga, Japan). DNA fragments digested with appropriate restriction enzymes were separated on 3% agarose gels. The genotype determined by PCR-RFLP was confirmed by direct sequencing on an ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) using BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems). The sense primers for PCR amplification were used as sequencing primers.

### Data Analysis and Statistics

Data are expressed as means ± SD. Comparisons between plasma concentrations of 5-FU at 5 PM and 5 AM were performed by means of Wilcoxon signed-rank test. The coefficients of variation (CV) were calculated as the ratio of SD to the mean value ( $CV\% = 100 \times SD/\text{mean}$ ). The CV values of all subjects in the first and second cycles were calculated, and those of each *CLOCK* genotype were also calculated. Multiple comparisons between CV values in the first and second cycles and *CLOCK* genotypes were performed by means of analysis of variance (ANOVA). *P* values of less than 0.05 (2-tailed) were considered to be significant.

### RESULTS

Thirty male patients were enrolled in this study. The median age was  $63.7 \pm 7.7$  years (range 48–78). Most patients had a good performance status (performance status 0/1/2: 17/11/2, respectively). The median body surface area was  $19.3 \pm 4.9$  m<sup>2</sup>. The clinical staging was classified as follows: stage I in 6 patients, stage II in 5, stage III in 11, stage IV in 4, and lymph nodal recurrence after surgery in 4. *CLOCK T3111T* genotype was classified as follows: C/C in 4, C/T in 9, and T/T in 17 patients. Treatment compliance was very satisfactory in 27 patients. Chemoradiotherapy was performed as initially scheduled except for in 3 cases. One patient interrupted his treatment on day 50 (Fig. 1) because of depression not seen before treatment. He did not complete planned radiotherapy (interruption at 52 Gy), but he completed chemotherapy as initially planned. The other 2 patients respectively needed additional intervals of 2 and 5 more days between initially planned chemotherapy cycles because of fever. No dose reductions of 5-FU and CDDP were found.

Plasma concentrations of 5-FU were measured on 239 samples obtained from the 30 patients, except for 1 missing data point. No consistent plasma concentrations were achieved at either sampling point, and large intra- and interpatient variations were observed. Therefore, analyses were performed by Wilcoxon signed-rank test to highlight the fluctuating patterns. In the first course, the plasma concentrations of 5-FU at 5 AM were significantly lower than those at 5 PM in the first cycle [ $0.08 \pm 0.05$  µg/mL and  $0.10 \pm 0.06$  µg/mL, respectively (mean ± SD);  $P = 0.034$ ]. A similar tendency was observed in the second cycle, but not significantly ( $0.13 \pm 0.04$  µg/mL and  $0.14 \pm 0.07$  µg/mL, respectively;  $P = 0.280$ ) (Fig. 2). These phenomena were also found in the second course ( $0.09 \pm 0.04$  µg/mL at 5 AM and  $0.11 \pm 0.05$  µg/mL at 5 PM;  $P = 0.003$  in the first cycle,  $0.12 \pm 0.05$  µg/mL 5 AM and  $0.14 \pm 0.06$  µg/mL at 5 PM;  $P = 0.393$  in the second cycle, respectively) (Fig. 2). In the first course, the plasma concentrations of 5-FU at both 5 PM and 5 AM in the second cycle were also significantly higher than the respective concentrations in the first cycle (5 PM,  $P = 0.004$ ; 5 AM,  $P < 0.001$ ) (Fig. 2). The variation of the plasma concentrations of 5-FU in the second course showed the same tendency observed in the first one (Fig. 2).

The CV value in the plasma concentrations of 5-FU in the first cycles of the first and second courses was  $43.6 \pm 22.5\%$ , ranging from 13.0% to 90.8%, and became significantly lower in the second cycles ( $30.3 \pm 16.0\%$ , ranging from 6.1% to 57.4%).

Figure 3 shows the relationship between the CV values in the plasma concentration of 5-FU in the first and second cycles and *CLOCK T3111C* genotype. The CV values of the plasma concentrations of 5-FU in the first cycles were  $47.0 \pm 23.3\%$ ,  $37.9 \pm 23.9\%$ , and  $42.0 \pm 17.6\%$  in the patients with homozygotes of the wild-type allele (T/T), compound heterozygotes with the mutant C-allele (T/C), and homozygotes of the mutant allele (C/C), respectively. Those in the second cycles were  $34.8 \pm 17.6\%$ ,  $23.2 \pm 14.1\%$ , and  $27.6 \pm 5.4\%$ , respectively. These results showed that the CV values were not significantly different between genotypes, although the patients