

5-Fluorouracil-related Gene Expression in Hepatic Artery Infusion-treated Patients with Hepatic Metastases from Colorectal Carcinomas

SHINICHI SAMESHIMA¹, SHIGERU TOMOZAWA¹, HIROYUKI HORIKOSHI²,
KENTA MOTEGI³, ISAO HIRAYAMA¹, SHINICHIRO KOKETSU¹,
TOSHIYUKI OKADA¹, MASARU KOJIMA⁴, YUICHI KON³ and TOSHIO SAWADA¹

Departments of ¹Surgery, ²Diagnostic Radiology, ³Gastroenterology, and ⁴Pathology,
Gunma Cancer Center, Ota, Gunma, Japan

Abstract. *Aim:* To predict the therapeutic efficacy of hepatic arterial infusion (HAI) with 5-fluorouracil (5FU) for patients with liver metastases from colorectal carcinomas, 5FU-related gene expressions were examined in primary colorectal carcinomas. *Patients and Methods:* Thirty-eight patients with liver metastases from colorectal carcinoma received HAI of 5FU. The expressions of the mRNAs for thymidine synthase (TS), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), thymidine phosphorylase (TP), and oroteta phosphoribosyl transferase (OPRT) in primary colorectal carcinomas were measured by RT-PCR. *Results:* The response rate was 52.6% (20/38). The overall median survival time was 29.1 months. DPD and TP expression was significantly higher in the progressive disease (PD) group than in the complete response (CR) or partial response (PR) group ($p=0.032$, $p=0.014$), respectively. The levels of DPD and TP mRNAs showed a significant correlation ($r=0.76$, $p=0.0001$). *Conclusion:* The expression of DPD and TP mRNAs in primary colorectal carcinomas was significantly predictive of the therapeutic response to 5FU HAI.

Hepatic metastasis is one of the most important factors that determines the prognosis of patients with advanced colorectal carcinoma. Surgical resection alone can result in significant prolongation of survival in patients with favorable prognostic factors (1, 2). Systemic chemotherapy regimens that include 5-fluorouracil (5FU) have been used to treat hepatic metastases in colorectal carcinoma patients when surgical resection cannot be performed (3, 4).

Correspondence to: Shinichi Sameshima, MD, Ph.D., Department of Surgery, Gunma Cancer Center, 617-1 Takabayashi-nishi, Ota, Gunma, Japan 373-8550. Tel: +81 276 38 0771, Fax: +81 276 38 8386, e-mail: shinsame@gunma-cc.jp

Key Words: Thymidine synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidine phosphorylase, oroteta phosphoribosyl transferase.

Hepatic artery infusions (HAIs) have also been performed as regional chemotherapy for liver metastases arising from colorectal carcinomas. Randomized trials evaluating HAI therapy for the treatment of unresectable hepatic metastases have demonstrated higher response rates (31%-50%) than those achieved with systemic chemotherapy (8%-20%), but no survival benefit was reported (5, 6). Recently, Kemeny and associates have reported the results of a randomized trial comparison between HAI using floxuridine and systemic chemotherapy using 5FU and leucovorin (7). The overall survival was significantly longer for HAI than the systemic treatment (median, 24.4 vs. 20 months).

In a previous study, we administered 5FU by HAI to patients with liver metastases from colorectal carcinoma after radiological placement of the infusion lines, and found that HAI significantly improved the median survival time (MST) and response rate (8). We also reported that lymph node metastases in primary carcinoma and the pre-treatment serum CEA level were prognostic factors for MST in HAI-treated patients.

However, the response rate was not influenced by the histological features or lymph node metastases of the primary colorectal carcinomas, nor was it influenced by the synchronous/metachronous status of the liver metastases, the number of hepatic metastases, or the pre-treatment serum CEA levels.

It has been reported that enzymes involved in 5FU metabolism, such as thymidine synthase (TS), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), thymidine phosphorylase (TP) and oroteta phosphoribosyl transferase (OPRT) are important predictors of the therapeutic efficacy of 5FU (9, 10). TP, also known as platelet-derived endothelial cell growth factor, plays an important role in the angiogenesis of carcinomas. It has been reported that the clinical response and survival rates in response to 5FU-based chemotherapy for colorectal carcinomas are related

to the expressions of TS, DPD and TP and that a high level of TP gene expression in colorectal carcinomas is associated with non-responsiveness to 5FU (9, 11, 12). The expression of these enzymes is important for guiding the rational selection of chemotherapeutic regimens. The expression of TS, DPD, TP, and OPRT genes has been examined by a newly developed technique using laser-captured microdissection combined with RNA extraction from paraffin-embedded specimens (13-16).

The expression of enzymes involved in 5FU metabolism has not been examined in patients with liver metastases treated using HAI. The aim of this study was to investigate the correlation between the clinical response to HAI and the expression of TS, DPD, TP and OPRT mRNAs in primary colorectal carcinomas.

Patients and Methods

Patients. Patients with liver metastases originating from colorectal carcinomas were included (n=38). Patients characteristics are described in Table I. Their primary colorectal carcinomas had been resected surgically and were histologically confirmed. Patients with extrahepatic metastases were excluded. The patients received no other chemotherapy prior to HAI. Informed consent was obtained from all patients.

Catheter placement and HAI procedure. Catheter placements in the hepatic artery were performed radiologically by interventional radiologists using the distal fixation method (17). The catheter was inserted via the right femoral artery and connected to the infusion port (Infuse-a-Port, Strato Medical Corp., Beverly, MA, USA). The HAI treatment was performed weekly or every 2 weeks at an outpatient chemotherapy facility. The 5FU (1,000-1,500 mg) was dissolved in 200 ml of physiological saline and loaded into a portable infusion pump (Intermate LV; Baxter Healthcare Corp., Deerfield, IL, USA). HAI was performed continuously for 5 h at an infusion rate of 50 ml/h (8).

Clinical response and survival evaluation. The patients scheduled for HAI received a chest and abdominal computed tomography (CT) scan before the start of treatment. Tumor status was assessed by chest and abdominal CT scans after every 10 infusions. The therapeutic response was evaluated according to the Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) guideline (18) as complete response (CR), partial response (PR), stable disease (SD) and progressive disease (PD). Actuarial survival curves were computed by the Kaplan-Meier method, using GraphPad Prism version 4.0 for Macintosh (San Diego, CA, USA).

Microdissection. Four 10 µm-thick sections of the primary colorectal carcinomas and adjacent normal mucosa were prepared from the paraffin-embedded blocks. One 4 µm-thick section was prepared and stained with hematoxylin and eosin (HE). A representative formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tumor specimen was selected by a pathologist after examination of the HE-stained slides. Sections 10 µm in thickness were stained with neutral fast red to enable visualization of histology for laser

Table I. Patients characteristics.

Characteristics	No. of patients	Characteristics	No. of patients
Gender		pTNM of primary colorectal carcinoma	
Male	25	pT	
Female	13	pT1	0
Age (average)	65.6	pT2	0
Onset of liver metastases		pT3	35
Synchronous	25	pT4	3
Metachronous	13	pN	
Histology of primary colorectal carcinoma		pN0	11
Well	11	pN1	15
Moderate	25	pN2	12
Poor	1	pM	
Mucinous	1	pM0	13
		pM1	25

capture microdissection (PALM Microlaser Technologies AG, Munich, Germany), which was performed to ensure that only tumor cells were studied.

RNA extraction and cDNA synthesis. The RNA was isolated from the FFPE specimens using a novel, proprietary procedure (Response Genetics, Los Angeles, CA, USA) (9). The tissue samples to be extracted were placed in a 0.5 mL thin-walled tube containing 400 µl of 4 M dithiothreitol (DTT)-GITC/sarc (4 M guanidinium isothiocyanate, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 25 mM EDTA) (Invitrogen; No. 15577-018). The samples were homogenized and an additional 60 µl of GITC/sarc solution was added. They were heated at 92°C for 30 min and then transferred to a 2 mL centrifuge tube. Fifty microliters of 2 M sodium acetate was added at pH 4.0, followed by 600 µl of freshly prepared phenol/chloroform/isoamyl alcohol (250:50:1). The tubes were vortexed for 15 sec, placed on ice for 15 min and then centrifuged at 13,000 rpm for 8 min in a chilled (8°C) centrifuge. The upper aqueous phase was carefully removed and placed in a 1.5-mL centrifuge tube. Glycogen (10 µl) and 300-400 µl of isopropanol were added and the samples were vortexed for 10-15 sec. The tubes were chilled at -20°C for 30-45 min to precipitate the RNA. The samples were then centrifuged at 13,000 rpm for 7 min in an 8°C centrifuge. The supernatant was poured off and 500 µl of 75% ethanol was added. The tubes were again centrifuged at 13,000 rpm for 6 min in a chilled (8°C) centrifuge. The supernatant was then carefully poured off, so as not to disturb the RNA pellet, and the samples were quick-spun for another 15 sec at 13,000 rpm. The remaining ethanol was removed and the samples were left to air-dry for 15 min. The pellet was resuspended in 50 µl of 5 mM Tris. After RNA isolation, cDNA was derived from each sample according to a previously described procedure (13).

PCR quantification of mRNA expression. Target cDNA sequences were amplified by quantitative PCR using a fluorescence-based real-time detection method (ABI PRISM 7900 Sequence Detection System, TaqMan®, Perkin-Elmer (PE) Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) as previously described (19, 20). The PCR reaction

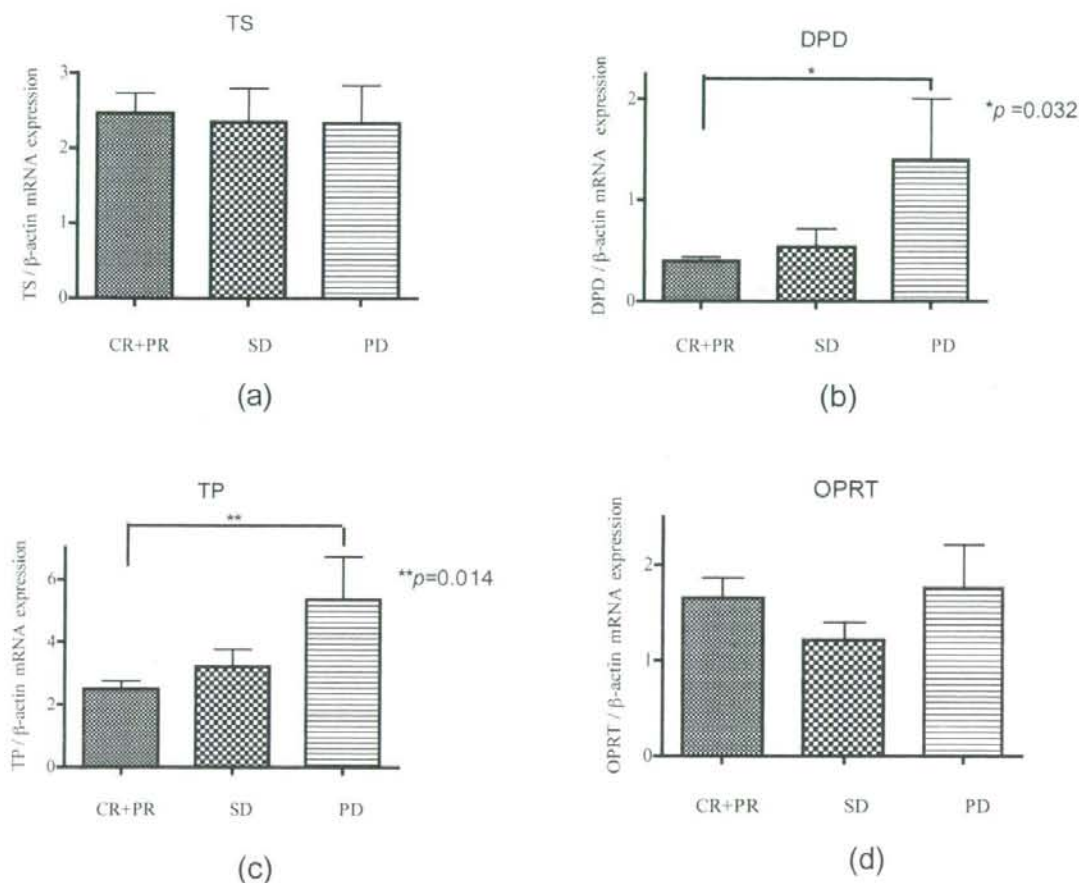


Figure 1. mRNA expression ratio of thymidine synthase (TS) (a), dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) (b), thymidine phosphorylase (TP) (c), and oroteta phosphoribosyl transferase (OPRT) (d) to β -actin in HAI-treated patients. CR=complete response, PR=partial response, SD=stable disease, PD=progressive disease.

mixture (25 μ L) contained 600 μ mol/L of each primer, 200 nmol/L each of dATP, dCTP and dGTP, 400 μ mol/L dUTP, 5.5 mmol/L $MgCl_2$, and 1x TaqMan buffer A containing a reference dye (all reagents were supplied by Applied Biosystems). The primers and probes sequences used were as follows: TS primers: GCCTCGGTGTGCTTTCA and CCCGTGATGTGCGCAAT, probe 6FAM - TCGCCAGCTACGCCCTGCTCA; DPD primer: AGGACGCAAGGAGGGTTTG and GTCCGCGAGTCCCTTA CTGA, probe 6FAM - CAGTGCCTACAGTCTCGAGTCTG CCAGTG; TP primers: CCTGCGGACGGAATCCT and GCTG TGATGAGTGGCAGGCT, probe 6FAM - CAGCCAGAGATG TGACAGCACCGT; OPRT primers: TAGTGTTTTGAAA CTGTTGAGGTT and CTTGCCTCCCTGCTCTCTGT, probe 6FAM - TGGCATCAGTGACCTTCAAGCCCTCT; β -actin primers: TGAGCGGGCTACAGCTT and TCCTTAATGTCA CGCAGGATTT, probe 6FAM - ACCACCACGGCCGAGCGG.

PCR was performed at 50°C for 10 sec and 95°C for 10 min, followed by 42 cycles at 95°C for 15 sec and 60°C for 1 min. Gene expression values (relative mRNA levels) are expressed as ratios (differences between the Ct values) between the gene of TS, DPD, TP or OPRT and an internal reference gene (β -actin). This reference gene provides a baseline measurement for the amount of RNA isolated from a specimen.

Statistical analysis. Differences in the expression of TS, DPD, TP, and OPRT between the CR/PR group, SD and PD groups were determined by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test. Correlations between the mRNA levels of TS, DPD, TP and OPRT were assessed using Spearman's rank correlation. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. GraphPad Prism version 4.0 for Macintosh was used for the analyses.

Results

Therapeutic response and survival of patients treated by HAI. A CR in 5 patients, PR in 15 patients, SD in 9 patients, and PD in 9 patients were found. The overall response rate was 52.6%. The overall MST was 29.1 months.

5FU-related gene expression in HAI-treated patients. DPD and TP expression was significantly higher in the PD than in the CR/PR group ($p=0.032$, $p=0.014$, respectively) (Figure 1). There was no significant difference in the expression of TS or OPRT between the 3 subgroups. MST was not related to the expression of TS, DPD, TP, or OPRT. The mRNA levels of DPD and TP showed a significant correlation ($r=0.76$, $p=0.0001$) (Figure 2).

Discussion

In the present HAI study, the expression of DPD and TP mRNAs were significantly lower in responders than in the PD group. Furthermore, DPD and TP expressions showed a significant correlation. DPD and/or TP were thus predictive factors for the therapeutic efficacy of HAI treatment. It has also previously been reported that DPD and TP expression in liver metastases of colorectal carcinomas correlated (21).

In the present study, TS expression did not vary significantly between the responding and non-responding groups. TS has been described as a key marker for predicting the therapeutic efficacy of 5FU-based systemic chemotherapy (9). The hepatic concentration of 5FU is much higher in patients treated by HAI than by systemic infusion. The mechanism of the antitumor effects of 5FU in HAI may be different from that in systemic chemotherapy and it may be more cytotoxic when administered by HAI than when given systemically. The antitumor effects of 5FU mainly involve two pathways: the inhibition of DNA synthesis and the inhibition of mRNA synthesis (22, 23). TS acts to catalyze the methylation of 2'-deoxyuridine-5'-monophosphate (dUMP) to 2'-deoxythymidine-5'-monophosphate (dTMP), which is an important process for DNA synthesis (22, 24). The 5FU metabolite 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate (FdUMP) forms a complex with TS and folic acid, which inhibits the de novo synthesis of dTMP from dUMP. In contrast, the pathway for inhibition of mRNA synthesis is not associated with TS. The 5-FU metabolite 5-fluorouridine-5'-triphosphate (FUTP) inhibits the synthesis of mRNA (25). The detailed mechanism by which FUTP inhibits mRNA synthesis has not been clearly defined. It is reported that bolus injection can be considered to be more effective with respect to RNA damage in tumor tissue (26, 27). As HAI in our study was

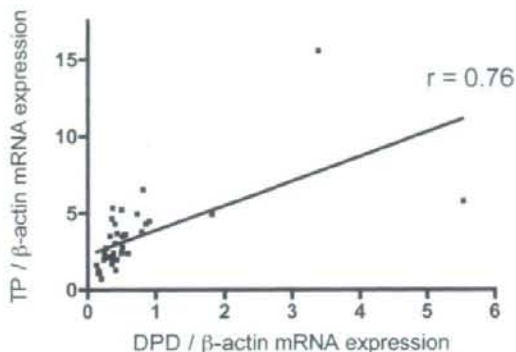


Figure 2. Correlation between mRNA expression ratio of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) and thymidine phosphorylase (TP) to β -actin in HAI-treated patients.

performed with high dose 5FU in 5h, it is close to bolus injection more than continuous injection. The anti-tumor effect of HAI may be mainly due to the inhibition of mRNA. Physicians should consider CPT-11-based treatment for patients who show high TS gene expression levels prior to systemic chemotherapy generally (9, 10). However, according to our data, high TS gene expression would not be a limiting factor with HAI treatment.

DPD or TP, or both but not TS were demonstrated to be predictive factors of response to HAI treatment. No relationship between 5FU-related enzymes and survival time was found. Additional prospective studies will be required to determine whether the expression of these enzymes can be used to predict the prognosis of patients treated by HAI.

Acknowledgements

The authors are indebted to Professor J. Patrick Barron of the International Medical Communications Center of Tokyo Medical University for his review of this manuscript.

References

- Gayowski TJ, Iwatsuki S, Madariaga JR, Selby R, Todo S, Irish W and Starzl TE: Experience in hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of clinical and pathologic risk factors. *Surgery* 116: 703-710, 1994.
- Scheele J, Stang R, Altendorf-Hofmann A and Paul M: Resection of colorectal liver metastases. *World J Surg* 19: 59-71, 1995.
- de Gramont A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, Boni C, Cortes-Funes H, Cervantes A, Freyer G, Papamichael D, Le Bail N, Louvet C, Hendlers D, de Braud F, Wilson C, Morvan F and Bonetti A: Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 18: 2938-2947, 2000.

- 4 Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, Findlay BP, Pitot HC and Alberts SR: A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 22: 23-30, 2004.
- 5 Martin JK Jr, O'Connell MJ, Wieand HS, Fitzgibbons RJ Jr, Mailliard JA, Rubin J, Nagorney DM, Tschetter LK and Krook JE: Intra-arterial floxuridine vs. systemic fluorouracil for hepatic metastases from colorectal cancer. A randomized trial. *Arch Surg* 125: 1022-1027, 1990
- 6 Kelly RJ, Kemeny NE and Leonard GD: Current strategies using hepatic arterial infusion chemotherapy for the treatment of colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 5: 166-174, 2005.
- 7 Kemeny NE, Niedzwiecki D, Hollis DR, Lenz HJ, Warren RS, Naughton MJ, Weeks JC, Sigurdson ER, Herndon JE, 2nd, Zhang C and Mayer RJ: Hepatic arterial infusion versus systemic therapy for hepatic metastases from colorectal cancer: a randomized trial of efficacy, quality of life, and molecular markers (CALGB 9481). *J Clin Oncol* 24: 1395-1403, 2006.
- 8 Sameshima S, Horikoshi H, Motegi K, Tomozawa S, Hirayama I, Saito T and Sawada T: Outcomes of hepatic artery infusion therapy for hepatic metastases from colorectal carcinoma after radiological placement of infusion catheters. *Eur J Surg Oncol* 33: 741-745, 2007.
- 9 Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, Metzger R, Groshen S, Tsao-Wei DD, Lenz HJ, Leichman CG, Leichman L, Diasio RB and Danenberg PV: Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res* 6: 1322-1327, 2000.
- 10 Inoue T, Hibi K, Nakayama G, Komatsu Y, Fukuoka T, Kodera Y, Ito K, Akiyama S and Nakao A: Expression level of thymidylate synthase is a good predictor of chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *J Gastroenterol* 40: 143-147, 2005.
- 11 Meropol NJ, Gold PJ, Diasio RB, Andria M, Dhami M, Godfrey T, Kovatich AJ, Lund KA, Mitchell E and Schwarting R: Thymidine phosphorylase expression is associated with response to capecitabine plus irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 24: 4069-4077, 2006.
- 12 Metzger R, Danenberg K, Leichman CG, Salonga D, Schwartz EL, Wadler S, Lenz HJ, Groshen S, Leichman L and Danenberg PV: High basal level gene expression of thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial cell growth factor) in colorectal tumors is associated with nonresponse to 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 4: 2371-2376, 1998.
- 13 Lord RV, Salonga D, Danenberg KD, Peters JH, DeMeester TR, Park JM, Johansson J, Skinner KA, Chandrasoma P, DeMeester SR, Bremner CG, Tsai PI and Danenberg PV: Telomerase reverse transcriptase expression is increased early in the Barrett's metaplasia, dysplasia, adenocarcinoma sequence. *J Gastrointest Surg* 4: 135-142, 2000.
- 14 Farrugia DC, Ford HE, Cunningham D, Danenberg KD, Danenberg PV, Brabender J, McVicar AD, Aherne GW, Hardcastle A, McCarthy K and Jackman AL: Thymidylate synthase expression in advanced colorectal cancer predicts for response to raltitrexid. *Clin Cancer Res* 9: 792-801, 2003.
- 15 Emmert-Buck MR, Bonner RF, Smith PD, Chuaqui RF, Zhuang Z, Goldstein SR, Weiss RA and Liotta LA: Laser capture microdissection. *Science* 274: 998-1001, 1996.
- 16 Ichikawa W, Takahashi T, Suto K, Nihei Z, Shirota Y, Shimizu M, Sasaki Y and Hirayama R: Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase gene expression in relation to differentiation of gastric cancer. *Int J Cancer* 112: 967-973, 2004.
- 17 Tanaka T, Arai Y, Inaba Y, Matsueda K, Aramaki T, Takeuchi Y and Kichikawa K: Radiologic placement of side-hole catheter with tip fixation for hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Vasc Interv Radiol* 14: 63-68, 2003.
- 18 Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC and Gwyther SG: New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst* 92: 205-216, 2000.
- 19 Heid CA, Stevens J, Livak KJ and Williams PM: Real time quantitative PCR. *Genome Res* 6: 986-994, 1996.
- 20 Gibson UE, Heid CA and Williams PM: A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Res* 6: 995-1001, 1996.
- 21 Kuramochi H, Hayashi K, Uchida K, Miyakura S, Shimizu D, Vallbohmer D, Park S, Danenberg KD, Takasaki K and Danenberg PV: 5-Fluorouracil-related gene expression levels in primary colorectal cancer and corresponding liver metastasis. *Int J Cancer* 119: 522-526, 2006.
- 22 Langenbach RJ, Danenberg PV and Heidelberger C: Thymidylate synthetase: mechanism of inhibition by 5-fluoro-2'-deoxyuridylylate. *Biochem Biophys Res Commun* 48: 1565-1571, 1972.
- 23 Matsuoka H, Ueo H, Sugimachi K and Akiyoshi T: Preliminary evidence that incorporation of 5-fluorouracil into RNA correlates with antitumor response. *Cancer Invest* 10: 265-269, 1992.
- 24 Peters GJ, van der Wilt CL, van Triest B, Codacci-Pisanelli G, Johnston PG, van Groeningen CJ and Pinedo HM: Thymidylate synthase and drug resistance. *Eur J Cancer* 31A: 1299-1305, 1995.
- 25 Roobol C, De Dobbeleer GB and Bernheim JL: 5-Fluorouracil and 5-fluoro-2'-deoxyuridine follow different metabolic pathways in the induction of cell lethality in L1210 leukaemia. *Br J Cancer* 49: 739-744, 1984.
- 26 Aschele C, Sobrero A, Faderan MA and Bertino JR: Novel mechanism(s) of resistance to 5-fluorouracil in human colon cancer (HCT-8) sublines following exposure to two different clinically relevant dose schedules. *Cancer Res* 52: 1855-1864, 1992.
- 27 Hoshino S, Yamashita Y, Maekawa T and Shirakusa T: Effects on DNA and RNA after the administration of two different schedules of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 56: 648-652, 2005.

Received September 25, 2007

Revised December 12, 2007

Accepted December 18, 2007

子宮体がん

子宮体がん検診のエビデンスとこれからの考え方

青木大輔*¹ 齊藤英子*² 片岡史夫*¹

子宮体がんはわが国において罹患率、死亡率ともに増加傾向にあるが、現在までのところわが国においても、諸外国においても有効な子宮体がん検診の手法は存在しない。子宮体がんは早期から不正出血を認めることが多く、しかも早期症例での予後が良好であることから、今後わが国で子宮体がんの死亡率を低下させるためには早期発見、早期治療が肝要であり、不正出血を認めるものを確実に婦人科専門医受診へと結びつけ、病理学的検索を行うことが重要と考えられる。

I. 子宮体がんの特徴

わが国において子宮体がんは罹患率、死亡率ともに年々増加傾向にあり(図1)¹⁾²⁾、その対応が急がれる。

子宮体がんの罹患率のピークは50～60歳代にみられ¹⁾(図2)、閉経後に多い疾患とされている。主たる症状は不正出血で、子宮体がん症例で不正出血を認めたものは90%にも達するとの報告があり³⁾、しかもごく初期からみられることが多いことから、不正出血を認めるものに対して病理学的検索を行うことで子宮体がんは早期発見が可能とされている。実際わが国の子宮体がんではI期症例が全体の約60%を占める⁴⁾。しかも、FIGOが解析した1993～1995年の病期別の5年生存率はI期では80～90%

と⁵⁾比較的良好であり、子宮体がんは早期発見、早期治療によって死亡率の減少が期待できる疾患であるといえる。

II. 子宮体がん早期発見のための手法についての検討

子宮体がんの早期発見のため、わが国では地域住民に対する子宮頸がん検診受診者に対して、「子宮頸がん検診受診者のうち、問診等の結果、最近6カ月以内に不正性器出血を訴えたことのあるもので、①年齢50歳以上の者、②閉経以後の者、③未妊婦であって月経不規則のもの、のいずれかに該当する者を対象とする」として、昭和62年より「子宮体がん検診」を実施してきた。

平成12年度厚生省「がん検診の適正化に関する調査研究」班(班長:久道 茂)⁶⁾では、子宮体がんの早期発見のための検査手法やスクリーニング検査の実情について内外の文献の調査を行っている。子宮体がん早期発見の手法として検討されたものには子宮内膜細胞診、経腔

*¹Daisuke AOKI, Fumio KATAOKA
慶應義塾大学医学部産婦人科

*²Eiko SAITO
東京電力病院産婦人科
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
(慶應義塾大学)

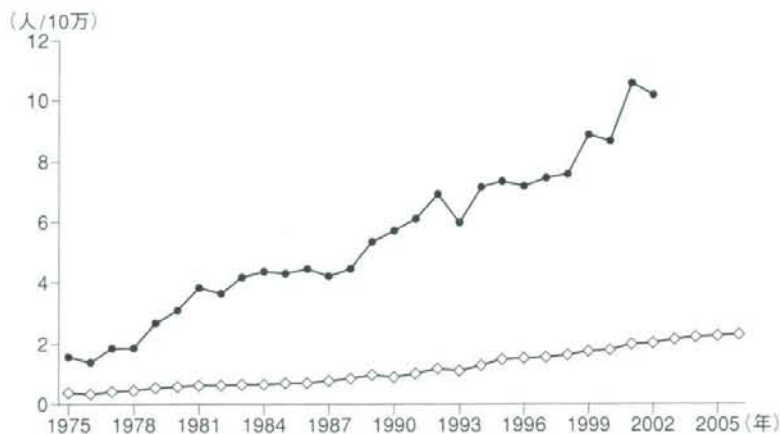


図1 わが国における子宮体がんの罹患率・死亡率の推移
●：罹患率 ◇：死亡率。わが国においては1975年以降子宮体がんの罹患率，死亡率とも漸増している。

(文献1, 2より改変)

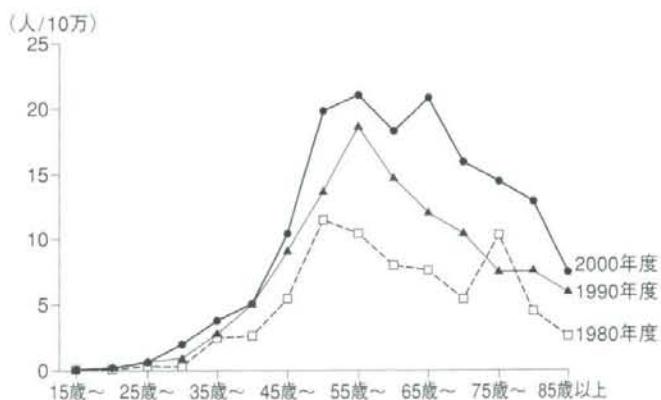


図2 わが国における年齢別子宮体がん罹患率

わが国における子宮体がんの罹患は，1980年度，1990年度，2000年度のいずれにおいても50歳代，60歳以降にピークがみられ，この年代を中心に増加している。

(文献1より改変)

超音波断層法，ヒステロスコープなどがあり，その場合のゴールドスタンダードは子宮内膜組織診であった。わが国の検診で用いられている手法は子宮内膜細胞診であるが，その精度については感度が79～95%，偽陰性率13%と報告されている。諸外国の検討でも子宮内膜組織診との比較で感度97%，97.7%，93.3%，92%，84%，特異度84%，100%，などが報告されてい

るが，いずれも不正出血などの有症状者を対象に含んだ解析である⁶⁾。

経腔超音波断層法による検査では北欧3カ国(スウェーデン，フィンランド，ノルウェー)の共同研究で，閉経後の不正出血を認めるものに対して内膜組織診をゴールドスタンダードとし，子宮内膜の厚さのカット・オフ値を4mmとすると，偽陰性率が5.5%と算定されている⁶⁾。

そのほかにもいくつかの経膈超音波断層法についての検討がなされているが、閉経の有無や閉経後年数、ホルモン補充療法の有無などによって様々なカット・オフ値が提唱され、子宮体がんを検出するための検査法としてコンセンサスが得られていないのが実情である。

この「がん検診の適正化に関する調査研究」班では、これらの検査手法によるスクリーニングが子宮体がん検診として有効かどうかについて検討したエビデンスの収集も行っている。その結果、がん検診の有効性は罹患率や死亡率減少効果の有無を用いて評価するが、子宮体がんに関するスクリーニング検査では子宮体がんの発見率についての報告にとどまり、罹患率や死亡率減少効果について示した報告はなく⁶⁾、またわが国以外に国や自治体の施策として子宮体がん検診を行っている国や地域は見当たらなかった。子宮体がんに関しては「検診による死亡率減少効果を判定する適切な根拠となる研究や報告が、現時点ではみられない」というのが本班研究での判定である。

米国 National Cancer Institute では「経膈超音波断層法や子宮内膜のサンプリングによるスクリーニングが子宮体がんの死亡率を減少させるという十分なエビデンスはない。There is inadequate evidence that screening by ultrasonography (e.g., transvaginal ultrasound [TVU]) or endometrial sampling would reduce the mortality from endometrial cancer.⁷⁾ American Cancer Society (ACS) では、「ASC は 2001 年に子宮体がんに対して平均的なリスクもしくはハイリスクなものの両者に対してスクリーニングを推奨するには十分な証拠がない」という結論に至った。: In 2001, the ACS concluded that there was insufficient evidence to recommend screening women at average risk, or somewhat increased risk (2001 より引用).⁸⁾としており、何らかの検査方法によって子宮体がん検診を推奨する立場は見当たらなかった。

III. 子宮体がん早期発見に向けての今後の展望

このように、子宮体がんのスクリーニング手法でコンセンサスを得られているものはなく、現在までのところ有効な検診手法は見出せない。また、がん検診は無症状者を対象とする検査であることから、「不正性器出血を訴えたことのあるもの」という条件はそもそも「検診」のクライテリアになじまず、その症状だけで十分に精密検査、治療の対象となりうるものである。子宮体がんはわが国において増加傾向にあり、また早期発見・早期治療によって死亡率の改善が見込める疾患であることから、現在検討すべき課題としては次のことが考えられる。

1. 不正出血を認めるものへの積極的な婦人科受診勧奨

不正出血を訴えるものに対して子宮内膜の病理性的・細胞診断学的検索を行うこと以外には子宮体がんを除外診断することはできない。また子宮体がん以外でもホルモン異常や子宮筋腫なども不正出血の原因となり、婦人科的な治療を要する場合がしばしばあることから、不正出血を認めるものに対して婦人科受診を勧奨することは本人にとっても有益と考えられる。このような経緯から、子宮頸がん検診の際に不正出血を訴え、これまで体ががん検診の対象者としてきたものに対して、今後は産婦人科受診勧奨を行い多角的精査、加療へと結びつけることは十分合理的と考えられる。がん検診事業評価のうち、平成 20 年改訂の事業評価のためのチェックリストの【検診実施機関用のチェックリスト】においても、問診・視診の精度管理のなかで「(2) 問診は、妊娠及び分娩歴、月経の状況、不正性器出血等の症状の有無、過去の検診受診状況等を聴取しているか」、「(3) 問診の上、症状(体ががんの症状を含む)のある者には、適切な医療機関への受診勧奨を行なっているか」⁹⁾の項目が明記されている。

しかしながらわが国における子宮頸がん検診受診率は地域保健・老人保健事業報告によれば

10%台¹⁰⁾と低率であり、子宮頸がん検診受診者をターゲットするだけでは子宮体がん発見の機会は極めて少ないといわざるを得ず、様々な機会や種々の媒体を活用して積極的に「不正出血→産婦人科受診」の必要性を国民および医療従事者に啓発し、的確な受診に結びつけるという施策が肝要と考えられる。

米国では不正出血を産婦人科受診に結びつけることがすでに推奨されており、American Cancer Society Recommendations for the Early Detection of Cancer in Average-risk Asymptomatic People. 2008 では「子宮体がんのハイリスク群ではない閉経期の女性には、子宮体がんの症状やリスクについて情報提供を行うべきであり、何らかの不正出血があった場合には掛かりつけ医に申し出ることを強く勧めるべきである：At the time of menopause, women at average risk should be informed about risk and symptoms of endometrial cancer and strongly encouraged to report any unexpected bleeding or spotting to their physicians.」との記載がある⁸⁾。

2. 子宮体がんの危険因子についての情報提供

子宮体がんの危険因子についてはプロゲステロン非併用のエストロゲン補充療法がよく知られているが、このほかにもエストロゲン作用との相関があると思われる多数の危険因子が同定されており、肥満、高脂肪摂取、未産、早発月経、遅発閉経、多嚢胞性卵巣症候群、およびタモキシフェン使用などがこれに含まれる⁷⁾。また、遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (HNPCC) 症候群の女性では、一般集団の女性に比して、子宮体がんのリスクは著明に上昇することが知られ、子宮内膜がんの推定累積発生率は、20～60%^{11)～13)}であるとされていることから、医療従事者、および医療従事者を通じて該当者に子宮体がんのリスクについて十分な情報提供を行うことも早期発見の一助になる可能性がある。

しかしながら、ハイリスクに該当するものであっても無症状のものに子宮内膜組織診による子宮体がん検査を行っても発見率が低く¹⁴⁾¹⁵⁾、

子宮体がん早期発見のスクリーニングとして成立しえないことが述べられている。したがって、子宮内膜生検は穿孔などのリスクや不快感、疼痛を伴うことから、ハイリスク無症状者に対して内膜検査を行う場合にはこれらの不利益についても十分説明し、同意を得た上で施行する必要があるだろう。

3. 子宮体がん内膜検査法の妥当性

諸外国の報告からも子宮内膜検査のゴールドスタンダードは内膜組織診であることにはほぼコンセンサスが得られている。ASC では不正出血に対する検査方法として内膜組織診のみが提唱されている。一方、わが国では推奨基準はなく、実際のところは内膜細胞診がまず施行されている場合が多いと思われる。内膜細胞診については内膜組織診との比較で陽性率 90%前後と優れた数値を示しているものの、偽陰性率 13%⁶⁾の報告があることから、細胞診のみでは子宮体がんを否定するのに十分な検査とはいえない。「子宮体がん取扱い規約 改訂第2版」においても、子宮体がんの診断法として細胞診と組織診とを取り上げ、「子宮体癌の検出には細胞診が適している」としつつも、「子宮留膿腫、不正性器出血あるいは子宮腫大など、体癌が疑われるものには腔内細胞診が陰性であっても、内膜細胞診を行うことが望ましい」としている¹⁶⁾。一方、内膜組織診は細胞診に比較してサンプリングエラー発生率が高いとの報告があり¹⁷⁾¹⁸⁾、子宮体がんを否定するためには内膜組織診の再検を行うなどの的確な臨床的判断が求められる。こういった子宮内膜検査の限界を考慮すると、不正出血に対してはその原因の探求を十分に行うことと、原因が判明しない場合にはフォローアップを行うことが不可欠と考えられ、やはり婦人科診療の一環として慎重に対応することが妥当であろう。

おわりに

米国ではプロゲステロン非併用によるエストロゲン補充療法によって1973年から1978年に

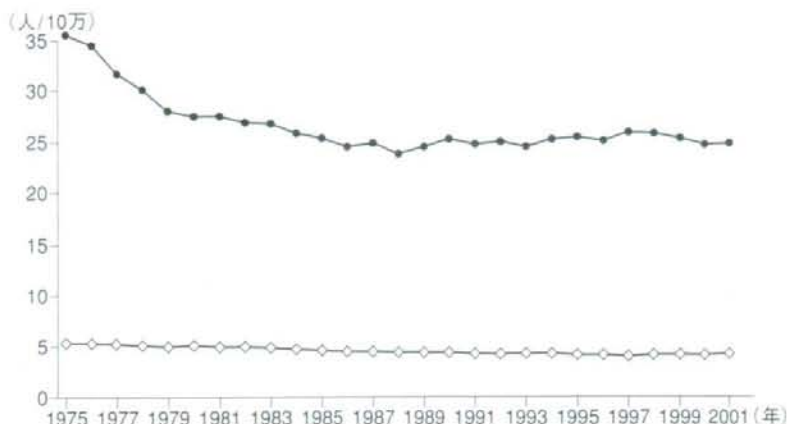


図3 米国における子宮体がんの罹患率・死亡率の推移

●：罹患率 ◇：死亡率。ただし罹患率は Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) の罹患率調査対象の米国9都市のデータであり、死亡率は米国全体のデータである。米国においては近年、子宮体がんの罹患率、死亡率ともに漸減している。

(文献19より改変)

かけて死亡率増加を伴わない罹患率増加があったとされているが、エストロゲン単独投与が中止され、それ以降罹患率、死亡率ともに減少傾向を辿っている。特に1974年から現在に至るまで子宮体がん死亡率は約25%減少しており¹⁹⁾(図3)、わが国とは逆の傾向を示している。

わが国ではエストロゲン単独投与によるホルモン補充療法はほとんど浸透していないので、これほど劇的な罹患率、死亡率の減少を見込める手立てはないと考えられるが現行の子宮体がん検診システムが効果的とはいえない状況にあることから、何らかの対策の方針転換が必要である。その一つとして、特に閉経期の女性を中心に、不正出血を訴えるものを速やかに婦人科受診に結びつけ、内膜細胞診・組織診を含めた原因検索を行うということに対して国民的なコンセンサスを得るべく、できれば行政の施策として組織的に取り組んでいくことが望まれる。

文 献

1) Marugame T, Matsuda T, Kamo K, et al : Japan

Cancer Surveillance Research Group. Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2001 based on the data from 10 population-based cancer registries. *Jap J Clin Oncol*, 37 : 884-891, 2007.

- 2) 厚生労働省大臣官房統計情報部編：人口動態統計；2006.
- 3) 久嶋則行, 上坊敏子, 大河原聡, 他：不正性器出血を認めなかった子宮体癌症例の検討. *産婦の実際*, 43 : 729-734, 1994.
- 4) 日本産科婦人科学会婦人科腫瘍委員会報告. *日産婦誌*, 57 : 1019, 2005.
- 5) Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, et al : Carcinoma of the corpus uteri. *J Epidemiol Biostat*, 6 : 47-86, 2001.
- 6) 青木大輔, 齊藤英子, 進 伸幸, 他：子宮体がん検診, がん検診の適正化に関する調査研究事業 新たながん検診手法の有効性評価報告書, 1版, 財団法人日本公衆衛生協会, 仙台, 177-210, 2001.
- 7) <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/screening/endometrial/HealthProfessional>
- 8) Smith RA, Cokkinides V, von Eschenbach AC, et al : American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer. I : *CA Cancer J Clin*, 52 : 8-22, 2002.
- 9) <http://canscreen.ncc.go.jp/pdf/checklist/shikyuu02.pdf>
- 10) 平成16年度地域保健・老人保健事業報告の概況 <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/c-hoken/04/r8.html>

- 11) Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, et al : The risk of endometrial cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Am J Med*, **96** : 516-520, 1994.
- 12) Aarnio M, Mecklin JP, Aaltonen LA, et al : Lifetime risk of different cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) syndrome. *Int J Cancer*, **64** : 430-433, 1995.
- 13) Aarnio M, Sankila R, Pukkala E, et al : Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int J Cancer*, **81** : 214-218, 1999.
- 14) Gerber B, Krause A, Müller H, et al : Effects of adjuvant tamoxifen on the endometrium in postmenopausal women with breast cancer : a prospective long-term study using transvaginal ultrasound. *J Clin Oncol*, **18** : 3457-3458, 2000.
- 15) Barakat RR, Gilewski TA, Almadrone L, et al : Effect of adjuvant tamoxifen on the endometrium in women with breast cancer : a prospective study using office endometrial biopsy. *J Clin Oncol*, **18** : 3459-3463, 2000.
- 16) 日本産科婦人科学会 日本病理学会 日本医学放射線学会編 : 子宮体癌取扱い規約 (改訂第2版, p18, 金原出版, 東京, 1996.
- 17) Bistoletti P, Hjerpe A, Möllerström G : Cytological diagnosis of endometrial cancer and preinvasive endometrial lesions. A comparison of the Endo-Pap sampler with fractional curettage. *Acta Obstet Gynecol Scand*, **67** : 343-345, 1988.
- 18) 篠原道興 : 子宮体癌検診の精度管理に関する研究—細胞診と組織診併用の成績から—, *日臨細誌*, **33** : 489-494, 1994.
- 19) Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, et al : SEER Cancer Statistics Review, 1975-2001. Bethesda, Md : National Cancer Institute, 2004. (<http://www.cancer.org/downloads/STT/2008CAFFfinalsecured.pdf>)

学会案内

第29回婦人科病理研究会

主 題 : 子宮の肉腫・癌肉腫
 世話人 : 片瀨秀隆 (熊本大学産婦人科学教室)

プログラム

第1日 : 平成20年12月20日(土) 会場 : 熊本県民交流館バレー
 レクチャー 16:30~17:30 司会 森谷卓也先生 (川崎医科大学)
 三上芳喜先生 (京都大学)

1. 平滑筋系腫瘍 大石善丈先生 (九州大学病院・病理部)
2. 内膜間質系腫瘍 柳井広之先生 (岡山大学病院・病理部)
3. 癌肉腫・腺肉腫 寺本典弘先生 (四国がんセンター・病理科)

オーバービュー 17:30~18:30

「子宮内膜症の病理と臨床」 片瀨秀隆

第2日 : 12月21日(日) 会場 : 熊本大学病院山崎記念館
 検討会

検鏡 8:00~10:00

検討会 10:00~12:30

お問い合わせ先 : 熊本大学医学部附属病院婦人科
 (担当 : 本田律生)
 TEL : 096-373-5269
 e-mail : ritz@kumamoto-u.ac.jp

クリニカルレクチャー

4) 知っておきたい子宮頸部細胞診の報告様式—ベセスダシステム2001—

慶應義塾大学
青木 大輔座長：産業医科大学
柏村 正道

緒言

近年、子宮頸がん検診を取り巻く環境は急激に変わりつつあり、その中には細胞診の報告様式も含まれる。細胞診判定には Papanicolaou によって提唱されたクラス分類が長きにわたって用いられてきたが、世界的な趨勢をみるとクラス分類は使用されなくなり、代わりにベセスダシステムによる細胞診報告様式が用いられるようになってきている。わが国では子宮頸部細胞診の判定にクラス分類の1つである日母分類を用いることが主であったが、いくつかの理由からベセスダシステム2001が導入されつつある。そこで、産婦人科臨床に携わるうえで知っておきたいベセスダシステム2001の導入検討の経緯やその仕組みの実際、特徴について概説したい。

ベセスダシステム2001誕生に至る経緯

ベセスダシステムとは The Bethesda system for reporting the results of cervical cytology で、子宮頸部細胞診の報告様式の1つである¹⁾。

ベセスダシステムそのものの誕生は1988年に遡る。当時、クラス分類を用いていた米国では子宮頸部細胞診の精度が社会的問題となり新聞紙面を賑わすまでの事態を招いていた。そこで当時の米国政府がこの問題の解決を専門委員会へ要請した結果、「子宮頸部細胞診精度管理のための解決策」として、細胞診判定を行う専門家の合意のもとに「ベセスダシステム1988」という子宮頸部細胞診報告様式が生み出された。このベセスダシステム1988はマイナーチェンジによってベセスダシステム1991へと改変され、全米に定着し諸外国にも浸透していった。その後、20カ国以上から400名以上の参加者による討議を経て再度改変が行われ、ベセスダシステム2001が誕生した。ベセスダシステム2001では以前から欧米で浸透していた液状検体法に加え、ヒトパピローマウイルス(HPV)検査、細胞診自動解析装置の実用化などへの対応も考慮されたものになっている。また、ベセスダシステム2001の特徴は細胞診判定を行う立場の専門家と報告を受け取る立場の臨床医の両者の合意によって形成されたことである(図1)。境界領域の曖昧な判定をできるだけ残しておきたい細胞診判定者と臨床的な方針立案に直接結びつくクリアカットな判定を望

An Overview and Recent Topics Regarding the 2001 Bethesda System for Reporting Cervical Cytology

Daisuke Aoki

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University, Tokyo

Key words: The Bethesda system · Cervical cytology · Specimen adequacy · Atypical squamous cells(ASC) · Squamous intraepithelial lesion(SIL)



(図1) ベセスダシステム誕生の経緯と変遷。ベセスダシステムはもともと米国政府の要請によって作られ、現在では世界中に浸透している。ベセスダシステム2001は細胞診判定者と臨床医との合意に基づいて形成されたものである。

む臨床医の間で合意がなされた意義は大きい。

なぜベセスダシステムなのか？ クラス分類における問題点

・クラス分類におけるターミノロジーの限界

細胞診判定の歴史を紐解いてみると、Papanicolauによって1941年に提唱されたクラス分類は1954年の本人による改変を経て世界各地で用いられてきた。ところが、クラス分類はさまざまな臓器の細胞診に対して共通して用いられる分類であり、子宮頸部固有の細胞所見をよりの確に示そうとした結果、使用される場所や施設ごとに独自の決め事や表記が用いられるようになっていった。わが国でも1983年からクラス分類のパリエーションの1つである日母分類が地域住民検診の場を中心に用いられてきたが、判定者によってはクラスⅡa、Ⅱb、Ⅱx、Ⅱ^o、Ⅲcなど独自の表記を用いることがあり、国内においてすらその意味することの認識に齟齬が生じるようになった。こういった状態をベセスダシステム1988では、“As a result of numerous idiosyncratic modifications, the specific Papanicolau classes no longer reflect diagnostic interpretations uniformly (Papanicolau 分類に対して、あちらこちらで独自に変更を加えてしまった結果、それらの分類の解釈にもはや統一性がなくなってしまった)”としてクラス分類をベセスダシステムの中で使用しない理由の1つに挙げている。この独自表記の背景にはクラス分類のターミノロジーでは対応できない子宮頸部の細胞所見の存在がある。非腫瘍性病変や異形成には分類しえない異型扁平上皮細胞などがそれであり、また日母分類によるクラス分類では扁平上皮細胞の異常を分類することを中心に作成されているので、腺系病変についての判定を日母分類で表現すると正確な情報を伝えることが困難になってしまう。

このように、クラス分類の記号のみの表記では判定者の意図するところと報告書を受け取る側の解釈に食い違いが生じる恐れがあり、その結果子宮頸部細胞診の精度の低下や医療過誤へと結びつくことが憂慮されるが、わが国の医療環境もそういった事態を見逃せない状況になってきている。

(表1) 不適正標本発生率についての報告(従来法)
(文献2より改編)

報告者	年度	対象	不適正標本発生率 (%)
Bolick 等	1998	Screening	1.0
Dupree 等	1998	Screening	2.0
Diaz-Rosario 等	1999	Screening	0.2
Carpenter 等	1999	High-risk	0.6
Guidos 等	1999	Screening	1.2
Vassilakos 等	1999	Screening	1.5
Tench	2000	Screening	2.9
Weintraub 等	2000	Screening	0.3
Obwegeser 等	2001	Screening	0.0
Baker	2002	Screening	0.7
Cheung 等	2003	Screening	0.5
Moss 等	2003	Screening	9.7
		Screening	9.1

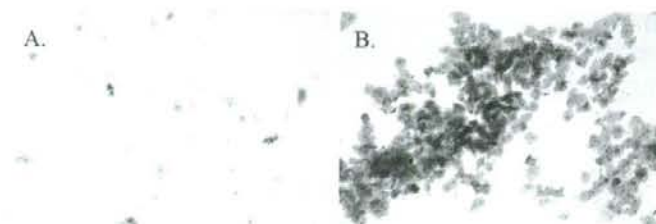
・検査技術等の発展への対応

クラス分類が作成された1941年、日母分類が使用されはじめた1983年当時と比較すると、今日に至るまでの細胞診分野においていくつかの技術革新が行われてきた。液状検体法に加え、子宮頸がんや異形成の発症に深く関与するHPVを検出する技術の実用化、さらに細胞診自動解析装置の実用化もすすめられており、細胞診の判定結果を記す際、判読する際にはこれらについても言及したり考慮したりすることが求められるようになってきている。わが国でも液状検体法、HPV検出は日常診療に導入されつつあり、これらの検査に対する記載方法についても対応しているベセスダシステム2001は有用と考えられる。

・標本状態の適正・不適正の分類(記載)が実効されていない

子宮頸部細胞診の工程は①産婦人科の診療や検診部門での細胞採取、スライドガラスへの細胞塗布と、②細胞診判定部門での染色、スクリーニング、報告書作成の2つに大別される。このうち①では採取された細胞数が少ない、あるいはスライドガラスに十分塗布されなかったといったサンプリング・エラー発生の問題がある。たとえ子宮頸部病変が存在してもスライドガラス上の細胞数が不十分で、そこに腫瘍細胞や異型細胞が存在しなければ陰性と判定されてしまうなど「偽陰性」の発生に結びつくことから、こういった標本は細胞診判定を行うべきでなく、したがってサンプリング・エラーを減らすことは子宮頸部細胞診の精度管理上、非常に重要な課題である。表1に示すように諸外国では細胞診判定に不適切な標本の発生率を把握し²⁾、原因を追究し対策を講じている。

わが国でも平成9年11月に当時の日本母性保護産婦人科医会から発刊された「子宮がん検診の手引き」に、細胞診判定の記載項目として「標本の適否」という項目が掲げられている³⁾が、定義が曖昧であったことや、細胞採取者のサンプリング・エラーが必ずしも正確に認識されていなかった現状から記載の実施がほとんど行われていないのが実情であり、したがって、わが国では不適正な標本の発生率の把握が行われているとはいえない。一方で「細胞診報告書ガイドライン」であるベセスダシステムでは、その記載項目に「標本の適・不適」という項目を設けるだけでなく、判定を可能とする必要細胞数など、客観



(図2) 標本の適正・不適正，細胞数の基準，保存状態がよく，鮮明に見える扁平上皮細胞が従来法では8,000～12,000個以上，液状検体法では5,000個以上存在することが細胞数に関するベセスダシステム2001の適正の基準である．A，Bともに従来法による検体で，Aは細胞数が明らかに5,000個未満と推定される不適正標本，Bは基準細胞数を満たす適正標本．

的な指標を設定することによってその定義を明確化しており，諸外国の統計もこのシステムを利用したものである．

・諸外国ではもはやクラス分類は使われていない

今日，諸外国ではクラス分類は廃止されており，ベセスダシステム2001が事実上の国際標準となっているためわが国のクラス分類によるデータとは互換性がなくなってしまっている．医療にエビデンスが求められる今日では，海外のデータを参照したり，わが国のものと比較することが容易であることが望ましい．

ベセスダシステム2001の実際

上記の理由から，クラス分類で対応しきれない部分が少なからず存在し，わが国でもベセスダシステム2001を活用することが検討されているので，その実際について述べることにする．まずはその構造を理解することが肝要であり，大別するとベセスダシステム2001は，

- ①採取方法
- ②検体の適・不適の記載
- ③細胞診の結果
- ④補助的検査(ancillary testing)
- ⑤提案やコメント

からなる．これらの項目についての記載を省略することは認めておらず，可能な限り記述式を用いることを求めている．

採取方法は上述の従来法，液状検体法，その他から選択する．

検体の適・不適は細胞診判定が可能かどうか，標本の状態を評価するものであり，不適の場合は下記のA，Bの場合があり，理由を明記して採取現場でのサンプリング・エラー等の改善に役立てる道筋が作られている．

A. reject specimen：不合格検体(受け取り拒否検体)

- ・氏名のラベルがない
- ・スライドガラスが割れてしまっている，等

B. fully evaluated, unsatisfactory specimen：検鏡検査まで行ったが以下の理由で上

(表2) ベセスダシステム 2001 における細胞診結果の分類と記述(上皮細胞異常 Epithelial cell abnormalities のみ)(文献1より引用)

扁平上皮系	腺系
<input type="checkbox"/> Atypical squamous cells (ASC) ・ of undetermined significance (ASC-US) ・ cannot exclude HSIL (ASC-H)	<input type="checkbox"/> Atypical ・ endocervical cells (NOS or specify in comments) ・ endometrial cells (NOS or specify in comments) ・ glandular cells (NOS or specify in comments)
<input type="checkbox"/> Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)	<input type="checkbox"/> Atypical ・ endocervical cells, favor neoplastic ・ glandular cells, favor neoplastic
<input type="checkbox"/> High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) ・ with features suspicious for invasion (if invasion is suspected)	<input type="checkbox"/> Endocervical adenocarcinoma <i>in situ</i>
<input type="checkbox"/> Squamous cell carcinoma	<input type="checkbox"/> Adenocarcinoma ・ endocervical ・ endometrial ・ extrauterine ・ not otherwise specified (NOS)



- ・ 検体種: 通常処理検体 (従来法)
- ・ 標本の状態: 適正
頭管および移行帯の細胞が採取されています。
- ・ 判断: LSIL
- ・ コメント: コルポ診、狙い組織診を提案します。

(図3) LSILの報告書の例。ベセスダシステム2001では記載項目が規定されており、そのなかには次に行うべき検査の提案などを含めることができる。

皮の異常を評価するには不十分な検体。

- ・ 細胞数が不十分
- ・ 炎症細胞に覆われてしまっている
- ・ 血液で覆われてしまっている, 等

ただし、「不適正」な状態の標本でも、異常な細胞の存在が確認されれば「適正」に分類するが「さらに高度な異常を否定できない」と付記すべき、とされており、現実に即した対応がなされている。図2には「細胞数が十分」とされる基準を示した。

また、ベセスダシステム2001では頭管腺細胞、移行帯細胞の有無は適否の条件に含まないとしている。その理由として頭管腺細胞、移行帯細胞の有無の意義については諸家の

報告が一貫していないことを挙げている⁴⁾。

次に細胞診判定についての記載である。ベセスダシステム2001で用いられる上皮細胞異常に対する細胞診分類を表2に示す。まずベセスダシステム2001では扁平上皮系と腺系とで用語を明確に区分して対応している。クラス分類では対応困難であった異形成には分類しえない異型扁平上皮細胞に対して atypical squamous cells of undetermined significance(ASC-US；意義不明な異型扁平上皮細胞)、atypical squamous cells cannot exclude HSIL(ASC-H；HSILを除外できない異型扁平上皮細胞)というクライテリアを設定している点はベセスダシステムの「細胞診はスクリーニングである」というスタンスに合致したものである。また squamous intraepithelial lesion(SIL；扁平上皮内病変)を low grade-SIL(LSIL；軽度扁平上皮内病変)と high-grade SIL(HSIL；高度扁平上皮内病変)の2分類とし、軽度異形成(CIN1)相当を LSIL、中等度異形成(CIN2)あるいは高度異形成/上皮内がん(CIN3)相当を HSIL とした区分も、複数の判定者間での判定再現性を高めるという点¹⁾でより現実的に即した対応といえ、その後の検討でも再現性の高さが確認されている²⁾。また、LSILでは結果的に経過観察される場合が多いのに対して、HSILではコルポスコピー診や生検の結果、病巣の切除を含む治療が考慮されることから、LSIL/HSILの境界は臨床的にも妥当であると考えられている。

腺系の異型についての記載が非常に具体的であることも、ベセスダシステムの特徴である。異型腺細胞の由来が頸管腺(atypical endocervical cells)であるか、内膜腺(atypical endometrial cells)であるか、それ以外であるかを明確に区分していることも判定者のメッセージを受け取る側の確に伝えるのに役立つと考えられる。さらに両者の鑑別が困難な場合も容易に判定が下せるように工夫してある(atypical glandular cells；AGC)。

図3にLSILを例にとり報告書のサンプルを示した。ここではコメントとしたが、次に行うべき検査について細胞診判定者からの提案を記載することや、エビデンスに基づく取り扱いなどについて記載することも可能である。またHPV検査が行われたり、将来新たな検査法が導入された場合には、補助的検査(ancillary testing)という項目を設けて、これらの検査成績を追記することも許容している。

ベセスダシステム2001では「細胞診報告書は医学的コンサルテーションである」としているが、これは臨床的な最終判断・対応は報告書を受け取った臨床側に委ねるという意味でもあり、臨床医が報告書の記載内容に目を通して理解し十分に活用することを容認していることに他ならない。

ベセスダシステム2001をどう活用するか

細胞診報告書を受け取る立場からはベセスダシステム2001を「子宮頸部細胞診報告書の解説、活用マニュアル」と解して活用することが望まれる。具体的には、

①細胞が的確に採取されているか否か確認できる。

不適正な場合には採取器具や方法の検討を行うことが精度管理の第1歩として不可欠であり、これは臨床医でなければ実行できないことでもある。

②次に何をすべきか、「細胞診判定医のコメント」やエビデンスを活用することができる。

コルポ診、HPV検査など、次に行うべきことについての情報が得られ、方針を立てるうえで参考にできる。

③統一された判定基準によって広域から大規模なデータの集積が可能になる。

わが国でこのシステムが導入されることにより、大規模なデータの集積が可能となり、ベセスダシステムを導入している諸外国のデータとの比較が可能になる。また新たな検査

法導入の可否決定のエビデンスの構築にも活用できるであろう。

こういったことを念頭に報告書を見ることによって、必要な項目がベセスダシステム2001に則って記載されているか否かが報告書の質を評価することも可能であり、正確に記載されている報告書であれば、それを受け取った臨床側に益する部分がたとえ大と考えられる。

おわりに

今わが国でベセスダシステム2001がなぜ注目されているか、ベセスダシステムの実際の構造について述べた。最大の特徴はベセスダシステム2001が細胞診判定者とその報告書を受け取る臨床医との合意によって作られたということである。このシステムでは記述式が採用されていることから、誤解を与えうる曖昧な表記を避けて判定者が十分に説明責任を果たせるように工夫されている。一方、報告書を受け取った側は必ずその内容に目を通すことが肝要であり、これはとりもなおさず、ベセスダシステム2001が両者の間を取り持つコミュニケーションツールであることに他ならない。細胞診報告書を通じて細胞診判定者と臨床側との意思疎通が行われることがベセスダシステム2001の目指すところであり、ひいては子宮頸がんやその関連疾患に関する医療の質の向上に結びつくものと考えている。

《参考文献》

1. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287: 2114—2119
2. The International Agency for Research on Cancer. Screening tests. Cervical cytology. In: IARC Handbook of Cancer Prevention Volume 10 Cervix Cancer Screening. Oxford: IARC Press, 2005: 59—76
3. 長谷川壽彦. V細胞診 B細胞診の実際. 日本母性保護産婦人科医会編. 子宮がん検診の手引き. 東京: 日本母性保護産婦人科医会, 1997: 56—57
4. Birdsong GG, Davey D, Darragh TM, Elgert PA, Henry M. Specimen Adequacy. In: Solomon D, Ritu Nayar, eds. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology Second edition. New York: Springer, 2004: 1—20
5. Sherman ME, Dasgupta A, Schiffman M, Nayar R, Solomon D. The Bethesda Interobserver Reproducibility Study (BIRST): a web-based assessment of the Bethesda 2001 System for classifying cervical cytology. *Cancer* 2007; 111: 15—25

限局性前立腺癌における grading と staging 上の問題点

山本 順啓 颯川 晋

東京慈恵会医科大学泌尿器科*

要旨: 本邦においても血清前立腺特異抗原 (以下 PSA と略す) による早期診断法が導入され限局性前立腺癌の頻度も増加してきた。一方, 限局癌に対する有効な治療法も多々開発され多岐にわたっている。正確な grading と staging は, 適切な治療方針を決定していく上でますます重要性を増しているが, 現状では診断精度に限界があることも明らかである。診断技術の一層の改良や信頼性の高いバイオマーカーなどの開発が期待される。

key words 前立腺癌, 画像診断, Gleason grading

はじめに

Gleason 分類が考案された 1960 年代には PSA 検査やスクリーニングは行われていなかった。当時の前立腺癌は 86% の症例が進行性前立腺癌であった。さらに, 触知不能で TUR により診断されるものが 6%, 限局性癌と診断される症例は 8% 程度という時代であった¹⁾。しかし, PSA によるスクリーニング法が導入され, 系統的な 6 箇所生検により前立腺癌の検出率が格段に向上した。このため近年では, 限局性癌は 64.5%, 局所浸潤癌は 24.2%, 転移癌は 11.0% と限局癌の占める割合が高くなっている²⁾。

このように, PSA の導入により前立腺癌が多く早期発見されるようになり, T1c という新たな臨床病期分類が設けられた。T1c は直腸診や経直腸超音波検査においては正常であるが, PSA が

高値のため行った生検で発見された前立腺癌を指している。しかし, この早期に発見された T1c 癌においても 18 ~ 49% が病理学的に局所浸潤癌であったという。

限局性前立腺癌が増加すると同時に治療方法も変化しつつある。進行癌が多い時代は内分泌療法による治療がゴールドスタンダードとして広く行われてきた。しかし, 限局癌が増加するにつれ, 前立腺摘除術が多く施行されるようになってきた。また近年では, 外照射や永久挿入密封小線源治療法等の放射線治療, PSA のモニタリングにより治療が必要になるまで治療を延期する待機療法なども行われるようになってきた。

米国においては, 前立腺摘除術後の病理診断を元に, PSA と生検組織における Gleason score (以下 GS と略す), 術前の臨床病期 (T 分類) を組み合わせることにより, それぞれ単独を独立したパラメーターとして扱うよりも正確に病理学的病期を予測しようとしてノモグラムが作成された。

現在, 前立腺摘除術は限局癌に対する最も有効な治療法とされているが, 実際に限局癌であったのは 77% であり, 22% が T3 癌であったと報告されている³⁾。限局性癌である T1c 癌と T2 癌においては, 臨床的にも病理学的にも有意な差がない

Localized prostate cancer : concerns in its grading and staging

Toshihiro Yamamoto and Shin Egawa
Department of Urology, Jikei University School of Medicine

key words : prostate cancer, grading, staging

* 港区西新橋 3-25-8 (03-3433-1111) 〒 105-8461

とされている。T2とT3との間では、臨床的に有意差がありその鑑別は重要である。このように実際の臨床の現場においては、生検組織におけるGSと臨床病期の正確な判定は、予後を予測するという意味あいのみならず、治療法を選択根拠という点において重要な要素となっている。

本稿では、限局性前立腺癌のgradingとstagingの問題点について述べる。

I. Grading における問題点

前立腺癌のgrading systemとして汎用されているものにWHO分類とGleason分類がある。WHO分類は組織異型度(Score)と核異型度(Nuclear Grade)との組み合わせにより、最終的に病変を1~7までの7段階に分類する方法である。本邦においては、癌取り扱い規約に当初より掲載されていた。一方、Gleason分類は、前立腺癌の組織構築と浸潤様式により分類し、それをスコア化(GS)するという他臓器癌の評価と比較しても類を見ないユニークな分類法である。1980年代より米国中心にこの分類が推奨され、今日では国際的にも普及している。本邦でも、規約第3版より掲載され、現在においてはGrading systemの標準となっている。

GSと病理学的病期には相関があり、GS2~6, 7, 8~10で限局癌である確率はそれぞれ74%, 47%, 49%であった⁴⁾。GSと予後の間には相関関係があるとされ、治療方針を決定する際の重要なパラメーターとなっている。しかし、前立腺癌はしばしばmultifocalであり、生検組織と全摘組織間にGSのくいちがひも認められている。その差を少なくできるかどうかにつき、Saturation biopsy(以下SBと略す)での評価も行われている。Epsteinらの報告によれば、平均44個のSBを行い、GSが7以下であった前立腺癌103個に対し、前立腺摘除術を施行したところ、GSが7以下のものは84%であったという⁵⁾。このように、前立腺癌が早期に発見され、一般に腫瘍体積が小さいものが多いとされる米国においても、生検と手術標本での一致率はこの程度であり、本邦での一致率はさらに低いのではないかとされている。

また、Gleason分類の最後の改定より約20年が経過し、現在の前立腺病理診断・診療にそぐわない面も認めるようになった。このような背景よ

り2005年にGleason分類のコンセンサス・カンファレンス(ISUP2005)が開催された。ここで討論された内容についてもさらなるエビデンスの集積がなされ、それに基づく改定がされていくと思われる。

II. Staging についての問題点

一般的に前立腺癌の病期診断は直腸診とPSA、超音波、MRI、CT、骨シンチグラムなどによって行われる。前立腺癌が限局しているか否か、すなわちT2以下であるかどうかは治療の上で大変重要となる。癌が限局したものであるかどうか評価するために、直腸診、経直腸的超音波検査(以下TRUSと略す)とMRIが施行されている。直腸診やTRUSは診察時や生検時に施行される通常検査であるが、MRIは必ずしも施行されるものではない。この3つの検査についてそれぞれの有用性・問題点について触れてみたい。

まず、直腸診所見は主観的であり、再現性が低いため、病理学的診断と比較した報告では、しばしば過小評価されることが多いとされている。そしてその一致率も50%以下とされている⁶⁾。しかし、Partin nomogramでは、最終的な病期を予測する際に独立したパラメーターと扱われ、現在においても必須の検査と考えられる。

次に、TRUSは、癌を検出するためだけでなく生検を行う際にも使用されるので、重要な役割を果たしている。超音波検査を用いて低エコー病変を検出することにより前立腺癌を同定する試みがなされている。しかし、TRUSにおいて低エコーを認めた病変がほとんど癌ではなく、最大径1cmを超える触知不能な癌の50%は描出されない⁷⁾。

また、超音波において、前立腺外への浸潤が疑わしいとされる所見は様々であるが、その感度、特異度ともに50%程度であった。精嚢浸潤に関しても同様に、感度は30%程度にとどまり、TRUSにおける病期診断には限界があるとされる⁸⁾。

最近では、カラードップラーを使用し、前立腺の形態変化に加え、血流の分布や強度によりhypoechoic領域が非特異的なものか、癌によるものなのか鑑別する試みもなされている。