

20082406PA

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

子宮体がんに対する標準的化学療法の
確立に関する研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 青木大輔

平成 21 (2009) 年 3 月

目 次

I. 構成員名簿	2
II. 総括研究報告 子宮体がんに対する標準的化学療法確立に関する研究 青木大輔, 野村弘行	3
III. 分担研究報告	
1. 子宮頸癌の広汎子宮全摘出術後の補助放射線療法と補助化学療法 櫻木範明	9
2. 子宮体癌に対する標準的化学療法確立に関する研究 八重樫伸生, 田辺康次郎	11
3. 子宮体がんに対する標準的化学療法確立に関する研究 深澤一雄	17
4. TGPを用いた感受性試験に基づく婦人科癌化学療法の個別化の試み(子宮体癌と他の婦人科癌の比較を含めて) 木口一成	19
5. 子宮体癌I, II期に対する術後化学療法適応症例の検討 青木陽一	23
6. 全生存期間の予測因子としての無増悪生存期間の検討 竹内正弘, 道前洋史	26
7. 子宮体癌における術後療法の有用性の検討 寒河江 悟	29
8. 再発子宮癌に対する新規化学療法の検討 渡部 洋	32
9. 子宮癌肉腫の検討 中西 透	34
10. 再発卵巣癌でsecond-line chemotherapyを受けた患者に対するplatinum-taxane free intervalの及ぼす影響の検討 勝俣範之	39
11. 子宮体がん症例における腹腔細胞診の臨床的意義 進 伸幸, 富永英一郎	42
IV. 資料 モニタリングレポート(試験概要を含む)	45
V. 研究成果の刊行に関する一覧表	59
VI. 研究成果の刊行物・別刷	63

構 成 員 名 簿

主任研究者

青木 大輔 慶應義塾大学医学部産婦人科 教授

分担研究者

櫻木 範明 北海道大学大学院医学研究科婦人科学分野 教授
八重樫伸生 東北大学大学院医学系研究科婦人科学分野 教授
深澤 一雄 獨協医科大学産婦人科 教授
木口 一成 聖マリアンナ医科大学産婦人科 教授
青木 陽一 琉球大学医学部器官病態医科学講座女性・生殖医学分野 教授
竹内 正弘 北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 教授
寒河江 悟 札幌鉄道病院産婦人科 副院長
渡部 洋 近畿大学医学部産婦人科 准教授
中西 透 愛知県がんセンター中央病院婦人科 部長
勝俣 範之 国立がんセンター中央病院臨床試験・治療開発部薬物療法室 医長
進 伸幸 慶應義塾大学医学部産婦人科 専任講師

研究協力者

田辺康次郎 東北大学病院婦人科
道前 洋史 北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 助教
野中 美和 北里研究所・臨床薬理研究所・臨床試験コーディネーティング部門
富永英一郎 慶應義塾大学医学部産婦人科 助教
野村 弘行 慶應義塾大学医学部産婦人科 助教

子宮体がんに対する標準的化学療法の確立に関する研究

研究代表者 青木大輔 慶應義塾大学医学部産婦人科 教授
研究協力者 野村弘行 慶應義塾大学医学部産婦人科 助教

研究要旨

子宮体がん 高再発危険群の予後改善を目指し、標準的化学療法である Doxorubicin + Cisplatin (AP 療法) と Taxane 製剤と Platinum 製剤の組み合わせのうち DP 療法 (Docetaxel + Cisplatin) および TC 療法 (Paclitaxel + Carboplatin) を比較するランダム化比較臨床第Ⅲ相試験を開始した。本試験の Primary endpoint は無増悪生存期間、Secondary endpoint は全生存期間、有害事象発生率、投与状況、リンパ節郭清状況とした。

研究分担者

櫻木範明

北海道大学大学院医学研究科

婦人科学分野 教授

八重樫伸生

東北大学大学院医学系研究科

婦人科学分野 教授

深澤一雄

獨協医科大学産科婦人科 教授

木口一成

聖マリアンナ医科大学産婦人科

教授

青木陽一

琉球大学医学部器官病態医科学講

座女性・生殖医学分野 教授

竹内正弘

北里大学薬学部臨床医学（臨床統計

学） 教授

寒河江 悟

札幌鉄道病院産婦人科 副院長

渡部 洋

近畿大学医学部産科婦人科 准教授

中西 透

愛知県がんセンター中央病院

婦人科 部長

勝俣範之

国立がんセンター中央病院

臨床試験・治療開発部薬物療法室

医長

進 伸幸

慶應義塾大学医学部産婦人科

専任講師

研究協力者

田辺康次郎

東北大学病院婦人科

道前洋史

北里大学薬学部臨床医学(臨床統計学) 助教

野中美和

北里研究所・臨床薬理研究所 臨床試験コーディネーティング部門

富永英一郎

慶應義塾大学医学部産婦人科 助教

野村弘行

慶應義塾大学医学部産婦人科 助教

A. 研究目的

子宮体がん 高再発危険群の予後改善を目指し、従来から標準的化学療法とされてきた Doxorubicin + Cisplatin 併用療法 (AP 療法) と Taxane + Platinum 製剤併用療法とによるランダム化比較臨床第Ⅲ相試験を実施し、それぞれの治療法の無増悪生存期間 (PFS) 等を比較することにより、子宮体がん 高再発危険群に対するより有効な新しい標準的化学療法を確立することを目的とした。

B. 研究方法

1) 既に実施された Taxane + Platinum 併用療法の第Ⅱ相試験 (進行・再発子宮体癌に対する DP (Docetaxel+Cisplatin) , DC (Docetaxel+Carboplatin) , TC (Paclitaxel+Carboplatin) のランダム化第Ⅱ相試験) の中から DP 療法 (Docetaxel 70 mg/m² + Cisplatin 60 mg/m² day 1 q3 weeks) と TC 療法 (Paclitaxel 180 mg/m² + Carboplatin AUC 6 day 1 q3 weeks)

を選択し、これらの臨床的有効性を、従来から標準的化学療法とされてきた Doxorubicin + Cisplatin (AP 療法: Doxorubicin 60mg/m² + Cisplatin 50mg/m²) とのランダム化比較第Ⅲ相試験によって比較検証する。本試験の Primary endpoint は無増悪生存期間 (Progression Free Survival: PFS)、Secondary endpoint は全生存期間 (overall survival: OS)、有害事象発生率、投与状況 (tolerability)、リンパ節郭清状況とした。なお、本試験の遂行に際しては、ヘルシンキ宣言に規定された倫理的原則を遵守し、実施計画書 (プロトコル)、同意説明文書等はすべての参加施設の倫理委員会または臨床試験審査委員会 (IRB) の承認を得るなど「医薬品の臨床試験の実施の基準」等が尊重された。

2) 本試験に引き続くべき将来の臨床試験を考案するために役立つ以下の情報収集や付随的研究を実施した。

- ・海外における子宮体がんを対象とした臨床試験の動向の調査。
- ・放射線療法と化学療法の効果や有害事象の比較検討。
- ・種々の悪性腫瘍の臨床試験を計画する場合、その endpoint としての PFS の妥当性に関する検討。
- ・遠隔転移を伴う進行子宮体がんの同時化学放射線療法の効果と安全性に関する検討。
- ・早期子宮体がんに対する術後化学療法適応例の検討。
- ・再発がんに対する second line 化学

療法の検討。

- ・子宮体がん治療の個別化に役立つ新たな指標や biomarker の検討。

C. 研究結果

1) 本第Ⅲ相試験に先立って行われた進行・再発子宮体癌に対する DP (Docetaxel + Cisplatin), DC (Docetaxel + Carboplatin), TC (Paclitaxel + Carboplatin) のランダム化第Ⅱ相試験の最終解析結果では、奏効率は DP 療法 51.7% (15/29, 95%CI: 32.5 ~ 70.6%), DC 療法 48.3% (14/29, 95%CI: 29.4 ~ 67.5%), TC 療法 60.0% (18/30, 95%CI: 40.6 ~ 77.3%) であった。そこで、本第Ⅲ相試験では、期待奏効率 50%を超えた上位 2 つの DP 療法と TC 療法を試験治療として、標準治療である AP 療法と比較するデザインとした。

対象としては、原発巣が子宮体がん(肉腫、がん肉腫を除く)であることが組織学的に確認されている患者で、筋層浸潤 1/2 を超える G2, G3 の I-II 期症例 (high-intermediate risk) または残存腫瘍 2 cm 以下の III-IV 期の症例 (腹腔を超えた部位への遠隔転移を認める症例を除く)、すなわち高再発危険群とし、さらに子宮全摘出術と両側付属器切除術に加えて少なくとも骨盤リンパ節郭清を施行した症例とした。

目標症例数は、過去の試験結果より本試験における AP 療法の 5 年無増悪生存率を 60%程度と推測し、臨床的に意義のある療法と判断するための AP 療

法に対する DP 療法もしくは TC 療法のハザード比を 63%として、各群 200 例、計 600 例とした。

本試験の登録期間については、参加施設への子宮体がん治療実態調査の結果をふまえ、3 年間、登録終了後の追跡期間を 5 年間とした。

primary endpoint は PFS、secondary endpoint は全生存期間、有害事象発生率、投与状況 (tolerability)、リンパ節郭清状況とした。

本第Ⅲ相試験のプロトコルは、2006 年 9 月に特定非営利活動法人婦人科悪性腫瘍化学療法研究機構 (JGOG) の臨床試験審査委員会の承認が得られ、各施設の IRB の承認のもと、同年 12 月より登録が開始された。2009 年 1 月末現在、IRB 承認施設 119 施設、84 施設から 357 例が登録されている。この間、2007 年 7 月に第 1 回モニタリング、2008 年 1 月に第 2 回モニタリング、2008 年 6 月に第 3 回モニタリング、2008 年 11 月に第 4 回モニタリング (別添資料を参照) を実施し、安全性の確認をした。

第 4 回モニタリングを行った時点での登録症例の治療前背景因子は以下の通りである。年齢中央値は AP 群 58.0 (30-74) 歳、DP 群 58.5 (29-73) 歳、TC 群 60.0 (31-74) 歳であった。進行期 I-II 期は AP 群 33 例、DP 群 33 例、TC 群 32 例、進行期 III-IV 期は AP 群 68 例、DP 群 69 例、TC 群 69 例であった。組織学的分化度 G1/G2 は AP 群 65 例、DP 群 66 例、TC 群 66 例、組織学的分化度 G3/予後不良型

は AP 群 36 例、DP 群 36 例、TC 群 35 例であった。

初回手術として骨盤リンパ節郭清に加え、傍大動脈リンパ節郭清を施行された症例は 53% (168 例中 89 例) であった。

Grade3 (CTCAE ver.3) 以上の有害事象発生状況 (神経毒性については Grade2 以上) のうち 10% を超える頻度のものは、AP 群で Hb 低下 36.5%、白血球減少 80.8%、好中球減少 80.8%、血小板減少 13.5%、DP 群で Hb 低下 18.4%、白血球減少 79.68%、好中球減少 87.8%、食欲不振 10.2%、神経障害・知覚性 16.3%、TC 群で Hb 低下 30.2%、白血球減少 77.4%、好中球減少 92.5%、血小板減少 20.8%、好中球減少 grade1-2 を伴う感染 13.2%、神経障害・知覚性 30.2%、神経障害・運動性 15.1% であった。

2) 子宮体がんの治療に関する調査研究の結果、海外における子宮体がん治療では放射線療法と化学療法の優劣が論じられるだけでなく、併用療法の有効性が検討されていることが判明した。特に北欧を中心としたグループでは全骨盤照射と化学療法 (化学療法のレジメが厳密に規定されていない) を併用すると照射単独より予後が良好であることを示していることから、その際にどのような化学療法のレジメンがもっとも有効かという課題が注目されている。こうした試験結果の考察としては、術後療法として放射線療法から化学療法へのパラダイムシ

フトの可能性について言及されるようになってきている。一方で、遠隔転移を伴う進行がんの治療に際しては、同時化学放射線療法も視野に入れた集学的治療が有効である可能性が示唆されている。また、たとえ I, II 期であっても筋層浸潤の程度やより低分化型などの複数のリスク因子を有する症例では術後の化学療法が適応になることが示され、さらに、将来子宮体がんへの応用を志向して Taxane と Platinum による新規の併用療法 (Docetaxel+Nedaplatin) の推奨用量が決定された。次いで、分泌型ヘパリン結合性成長因子であるミッドカインや thermoreversible gelation polymer を用いた抗がん剤感受性試験の結果は予後を反映するバイオマーカーとなる可能性が示され、今後の治療の個別化に役立つことが示唆された。抗がん剤の臨床試験の endpoint としては PFS が用いられる癌腫と、依然 OS まで観察を要する癌腫があることが明らかにされ、PFS を用いる場合は慎重に検討されるべきであることが提唱された。

D. 考察

臨床第Ⅲ相試験である本試験が開始され、データセンターおよび試験事務局を中心とした組織が順調に機能し、実際の運用が行われている。2009 年 1 月末の時点で 84 施設から症例登録がなされ、多数の施設が参加する本試験の運営にあたっては今後もデータマネージメント機能を強化し試験

の質を維持することが重要である。また、モニタリングによる品質管理もさらに進めていく必要がある。

E. 結論

子宮体がん 高再発危険群の術後化学療法として国際的に標準治療と考えられている AP 療法と、試験治療として Taxane 製剤+Platinum 製剤併用療法のうち DP 療法および TC 療法を選択し、これらを比較するランダム化比較第Ⅲ相試験を開始した。現在、順調に症例の集積が行われている。

F. 健康危険情報

本第Ⅲ相試験では目下のところ急送報告を要する重篤な有害事象は報告されていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ezawa S, Suzuki N, Ohie S, Higashiguchi A, Hosoi F, Kitazato K, Susumu N, Aoki D: A synthetic retinoid, TAC-101 (4-[3,5-bis(trimethylsilyl) benzamido] benzoic acid), plus cisplatin: potential new therapy for ovarian clear cell adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*, 108: 627-631, 2008
- 2) Kuwabara Y, Yamada T, Yamazaki K, Du WL, Banno K, Aoki D, Sakamoto M: Establishment of an ovarian metastasis model and possible involvement of E-cadherin

down-regulation in the metastasis. *Cancer Sci*, 99: 1933-1939, 2008

- 3) 小林佑介, 阪埜浩司, 青木大輔: 再発に対するレジメンとその有効性. *臨床婦人科産科*, 62: 706-711, 2008
 - 4) 平沢 晃, 牧田和也, 堀場裕子, 弟子丸亮太, 柳木茂久, 野村弘行, 片岡史夫, 岩田 卓, 富永英一郎, 阪埜浩司, 進 伸幸, 堀口 文, 青木大輔: 子宮体がん術後患者における骨密度の特徴に関する検討. *Osteoporosis Japan*, 16: 57-59, 2008
 - 5) 進 伸幸, 平沢 晃, 阪埜浩司, 藤井多久磨, 青木大輔: 子宮がん患者へのインフォームドコンセント(IC). *臨床腫瘍プラクティス*, 4: 313-319, 2008
- ### 2. 学会発表
- 1) Nomura H, Aoki D, Takahashi F, Katsumata N, Watanabe Y, Konishi I, Jobo T, Hatae M, Hiura M, Yaegashi N: Japanese Gynecologic Oncology Group: Randomized phase II study comparing docetaxel plus cisplatin, docetaxel plus carboplatin, and paclitaxel plus carboplatin in patients with advanced or recurrent endometrial carcinoma: Japanese Gynecologic Oncology Group trial (JGOG2041). *American Society of*

Clinical Oncology 44th Annual Meeting(ASCO), Chicago U.S.A, May 30-June 3, 2008

Korea-Japan Gynecologic Cancer Joint Meeting. Seoul Korea, Nov 27, 2008

- 2) 富永英一郎, 進 伸幸, 長島義男, 照井仁美, 平沢 晃, 阪埜浩司, 青木大輔: シンポジウム 子宮体癌における腹腔細胞診の意義. 第49回日本臨床細胞学会(春期大会)(東京), 2008年6月

- 3) Aoki D: Interactive Session: Tumor Board: Endometrial I (Uterine-Confined). 12th Biennial Meeting International Gynecologic Cancer Society (IGCS 2008), Bangkok Thailand, Oct 25-28, 2008

- 4) 市川義一, 進 伸幸, 末盛友浩, 野村弘行, 片岡史夫, 平沢 晃, 富永英一郎, 津田浩史, 阪埜浩司, 青木大輔: 再発子宮体癌治療における白金製剤反復投与の意義と platinum free interval に関する検討. 第46回日本癌治療学会総会(名古屋), 2008年10月

- 5) Aoki D: Workshop JGOG2043: A randomized phase III trial of AP(Doxorubicin plus Cisplatin) versus DP(Docetaxel plus Cisplatin) or TC(Paclitaxel plus Carboplatin) as post operative chemotherapy in patients with high and high intermediate risk group of endometrial carcinoma. 7th

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

子宮頸癌の広汎子宮全摘出術後の補助放射線療法と補助化学療法

研究分担者 櫻木範明 北海道大学大学院医学研究科婦人科学分野 教授

研究要旨

広汎子宮全摘出術の後障害の観点から術後補助放射線療法 (RT) と補助化学療法 (CT) を比較した。

1991 年～2002 年の期間に北海道大学病院婦人科で広汎子宮全摘出術を受けた子宮頸癌患者 125 例について後方視的に検討した。術後再発リスク因子：深い間質浸潤、脈管侵襲、子宮傍組織浸潤、リンパ節転移、bulky 腫瘍を有する 75 例が RT (42 例) あるいは CT (28 例) による補助療法を受けた。複数のリンパ節転移を有する患者について subgroup 解析を行った。

RT 群に多発リンパ節転移例が多く含まれていたため、多発リンパ節転移例を除く 50 例で比較した。3 年無病生存率は RT で 82.6%、CT で 96.3% ($p=0.16$) であった。術後イレウスは RT 群に有意に多かった ($p=0.007$ vs CT, $p=0.0026$ vs 無治療)。排尿障害も RT 群に有意に多く認められた ($p=0.0016$ vs CT, $p=0.089$ vs 無治療)。

CT は RT と同等の治療効果を有し、術後合併症は RT よりも少なく、今後広汎子宮全摘術+化学療法と根治的放射線療法あるいは同時併用化学放射線療法とのランダム化比較試験を行い、より優れた治療法を明らかにすることが望まれる。

A. 研究目的

子宮頸癌患者に対する広汎子宮全摘術後の補助療法としての放射線療法と化学療法について、合併症の面から見た有用性を比較検討する。

B. 研究方法

1991 年から 2002 年の期間に広汎子宮全摘術により治療された子宮頸癌

患者 125 名を対象とした。そのうち 70 名は術後補助療法を受けた。その適応となった再発リスクは深い頸部間質浸潤、脈管侵襲、子宮傍組織浸潤、リンパ節転移、大きな腫瘍 (>4 cm)、断端陽性である。42 名が放射線療法、28 名が化学療法を受けた。ほとんど全ての多発リンパ節転移例で放射線治療が行われた。複数のリンパ

節転移を有する高度の再発リスク群患者を除いた 50 名についての解析も行った。

C. 研究結果

放射線治療例にはより多くの多発リンパ節転移例が含まれていたため、複数のリンパ節転移を有する患者を除いた 50 名で無病生存率の解析を行った。3 年無病生存率は放射線治療群で 82.6%、化学療法群で 96.3%であったが有意差は認められなかった。術後イレウスは放射線治療群で有意に多く認められた(対化学療法: $p=0.007$ 、対無治療: $p=0.0026$)。尿路合併症も放射線治療群で多く認められた(対化学療法: $p=0.0016$ 、対無治療: $p=0.089$)。

D. 考察・結論

中等度の再発リスクを有する子宮頸癌に対する術後補助療法として化学療法は放射線療法と同等の治療効果を有し、かつ合併症は放射線療法よりも少なかった。今後広汎子宮全摘術+化学療法と根治的放射線療法あるいは同時併用化学放射線療法とのランダム化比較試験を行い、より優れた治療法を明らかにすることが望まれる。

E. 健康危険情報

特記すべきことなし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hosaka M, Watari H, Takeda M,

Moriwaki M, Hara Y, Todo Y, Ebina Y, Sakuragi N.: Treatment of cervical cancer with adjuvant chemotherapy versus adjuvant radiotherapy after radical hysterectomy and systematic lymphadenectomy. J Obstet Gynecol Res, 34: 552-556, 2008

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし

2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

子宮体癌に対する標準的化学療法の確立に関する研究

研究分担者 八重樫伸生 東北大学大学院医学系研究科婦人科学分野 教授
研究協力者 田辺康次郎 東北大学病院婦人科

研究要旨

ミッドカイン（MK）は分泌型ヘパリン結合性成長因子であり、ヒトのいくつかの癌種で、血清中の MK 濃度が上昇することが知られている。本研究の目的は、子宮体癌細胞における MK 発現の有無の決定および子宮体癌罹患患者における血清中 MK の臨床病理学的意義を評価することである。まず、我々は子宮体癌 85 検体とその対象として正常子宮内膜 33 検体の MK の発現を免疫染色組織化学法によって評価した。MK の発現は正常子宮内膜より腫瘍部において有意に高かった ($p < 0.001$)。興味深いことに、MK は腫瘍検体の浸潤境界部でもっとも高発現しており、表層部では低発現であった。次に我々は ELISA 法を用いて子宮体癌罹患患者の血清 120 検体と良性婦人科疾患患者の血清 46 検体の血清中 MK 濃度を比較した。子宮体癌罹患患者の血清 MK 価は良性疾患患者のものより有意に高かった ($p = 0.01$)。また、リンパ節転移・再発もしくは癌死となった患者の血清 MK 価が高いことが判明した ($p = 0.008$, $p = 0.009$)。以上より、子宮体癌における MK の免疫活性は正常子宮内膜と比較して有意に高い。加えて、術前患者血清の MK 価は予後やリンパ節転移と有意に関連する。従って、MK は子宮体癌罹患患者の高リスク群を同定するための血清マーカーとしての有用性が期待される。

A. 研究目的

この研究は、子宮体癌細胞における MK 発現の有無の決定および子宮体癌罹患患者における血清中 MK の臨床病理学的意義を検討することを目的とした。

B. 研究方法

組織検体は、東北大学病院で 1996 年から 2004 年にかけて手術を施行した子宮体癌の患者のうち、計 85 検体（高分化型 37 検体、中分化型 25

検体、低分化型 23 検体、I 期 55 検体、II 期 16 検体、III 期 11 検体、IV 期 3 検体)、またその対象として、同病院にて同時期に手術を施行した、良性婦人科疾患患者のうち、計 33 検体を用いた。

血清検体は東北大学病院の 2002 年から 2007 年の子宮体癌患者もの計 120 検体 (高分化型 66 検体、中分化型 16 検体、低分化型 12 検体、その他組織型 26 検体、I 期 80 検体、II 期 11 検体、III 期 17 検体、IV 期 12 検体) と非悪性婦人科疾患患者のもの 45 検体を用いた。なお、放射線治療、ホルモン療法、化学療法を施す前のものである。また、本研究は東北大学医学部の倫理委員会によって認められたものである。

Total RNA は腫瘍および正常組織検体を液体窒素で凍結させ、 -80°C で保存したものから、RNeasy キット (キアゲン) を用いて抽出した。cDNA は SuperScript III RT (インビトロジェン) を用いて合成した。

MK の mRNA の定量は real-time PCR 法にてライトサイクラーシステム (ロシュ) を用いて行った。内部標準にはハウスキーピング遺伝子であるリボソーマルタンパク質 L13a (RPL13a) を用いた。MK の PCR 条件は 95°C 、10 秒間で鋳型 cDNA を変性させた後、 68°C 、10 秒間でアニーリングを行い、次いで 72°C で 12 秒間加温することで伸長し、これを 32 回行った。RPL13a の PCR 条件は 95°C 、10 秒間で鋳型 cDNA を変性させた後、

68°C 、10 秒間でアニーリングを行い、次いで 72°C で 12 秒間加温することで伸長し、これを 30 回行った。このとき用いたプライマー配列は下記とおりである。MK ; 5'-CCAAGACCAAAGCAAAGG-3' と 5'-GGCAGGGCATGATTGATT-3'、RPL13a ; 5'-CCT GGA GGA GAA GAG GAA AGAGA-3' と 5'-TTG AGG ACC TCT GTG TAT TTG TCA A-3'

免疫染色組織化学法はパラフィン包埋した組織検体について行った。薄切した組織片のパラフィンを除去し、エタノールで固定した後、賦活化のため 10 mM クエン酸 3 ナトリウム緩衝液 (pH7.0) 中で 600W のマイクロ波に 20 分間暴露した。次いで、ブロッキングのため正常ヤギ血清を室温で 30 分間反応させた後、ウサギ抗 MK 抗体を 4°C で一晩反応させた。内因性のペルオキシダーゼを不活化させるために 0.3% 過酸化水素を含む 99.7% のメタノールによって室温で 30 分間処理をした。ヒストファインキット (ニチレイ) を用いてビオチン融合ニワトリ抗ウサギ IgG を室温で 30 分間反応させ、ペルオキシダーゼ融合ストレプトアビジンを室温で 30 分間反応させた。抗原抗体複合体はジアミノベンジジン液で処理することで視覚化した。なお、核を視覚化するためにヘマトキシリンで共染色した。染色強度は非染色を 0 点、5% 以下を 1 点、5-25% を 2 点、25-50% を 3 点、50% 以上を 4 点とした。

ELISAは酵母によって作製したヒトMKタンパク質をウサギとニワトリに免疫して得られた抗MK抗体を用いて行った。ウサギ抗MK抗体をマイクロプレート(polysorpplate; ヌンク)に添加後、室温で20時間静置したのちに0.05% Tween含有PBSで洗うことで抗MK抗体をプレート底に固着し、ブロッキングのため0.1%カゼインと0.01% Microcide I含有PBSで37°C、30時間反応させた。血漿検体はペルオキシダーゼ標識ニワトリ抗MK抗体と混合した後、ウサギ抗MK抗体固着マイクロプレートに添加・反応後、基質であるテトラメチルベンジジンを反応させ、吸光度450nmで検出することで血清中MKを定量した。

統計解析はMKのmRNA量および血清濃度に関してはMann-Whitneyテストによって分析し、免疫活性に関してはStudent's tテストを用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

C. 研究結果

子宮体癌低分化型10検体、高分化型10検体、計20検体、正常子宮内膜検体10検体についてreal-time PCRを用いてMKのmRNAの発現を調べたところ、MKは正常検体と比較して癌検体において有意に高発現していた。しかし、低分化型と高分化型の間に発現差はなかった。

また、MKはmRNA量だけでなく、免疫組織化学染色の結果、タンパク質量においても子宮体癌検体において

正常子宮内膜と比べ高発現していることが判明した。MKは主に上皮系の細胞質に発現しており、核での発現はわずかであり、間質細胞にはほとんど発現していなかった。また分泌期および増殖期子宮内膜検体両者で、MKは機能層もしくは子宮内膜間質と比較し基底層で有意に高発現していた($p < 0.001$)。分泌期もしくは増殖期それぞれにおける子宮内膜間質と機能層のMKタンパク質発現には有意差は無かった。基底層のMKタンパク質は増殖期より分泌期でより高発現している傾向にあった($p = 0.09$)。興味深いことに、MK発現は浸潤境界部で最も強く、腫瘍検体表層部で低かった。MKの発現は正常子宮内膜の基底層より、腫瘍で有意に高かった($p < 0.001$)。子宮体癌の高分化および低分化の間でMK発現の差は無かった。MKの免疫活性は組織学的分類、子宮筋層浸潤、リンパ節転移の存在もしくは予後といった臨床病理学的特徴とも関係しなかった。

さらに、子宮体癌患者と良性婦人科疾患患者の血清MK価をELISA法によって測定し、比較したところ、子宮体癌患者で良性婦人科疾患患者よりもMK価は高かった($p = 0.01$)。これはMKタンパク質が癌組織のみで発現しているのではなく、子宮体癌患者で高次に血清中へと分泌されていることを示唆する。我々は血清MK量が良性疾患から子宮体癌を識別するのに用いることができるか調べるために、様々なカットオフ値を設定し、MK価

を基に分類した。血清 MK 値は高値に偽陰性を設定することで、臨床適応可能かもしれない。

我々は臨床病理学的特徴によって分類した癌患者の血清 MK 濃度の平均値を算出した。その結果、血清 MK 濃度は年齢、組織学的分化度、リンパ管浸潤とは関係無かった。MK 濃度は I から II 期もしくは非筋層浸潤で低い傾向があった(それぞれ $p = 0.054$, $p = 0.074$)。興味深いことに、リンパ節転移のある群において血清 MK 値は有意に高かった ($p = 0.008$)。再発および癌死に至った患者は再発していない患者群と比較し、有意に MK タンパク質の血清量が高かった ($p = 0.009$)。

D. 考察

これは子宮体癌において MK の発現が正常子宮内膜と比較し、mRNA 量およびタンパク質量の両者で有意に高いことを示す初めての報告である。加えて、子宮体癌患者の血清 MK 量は良性婦人科疾患のそれより有意に高かった。

MK は様々なヒトの悪性腫瘍で高発現しているが、腫瘍の増殖や進展における MK の効果はまだよく解っていない。マウス結腸直腸癌細胞の増殖は MK のアンチセンスオリゴ DNA で阻害され、MK を導入した乳癌樹立化細胞 MCF-7 はヌードマウスに移植すると腫瘍増殖の促進と腫瘍血管分布の増大が確認されることが報告されている。MK はまたシスプラチン誘導アポトーシスからウィルムス腫瘍細

胞を救出する。これらの効果はおそらくフォスファチジルイノシトール 3 キナーゼやマイトジェン賦活化キナーゼを介したシグナル伝達によって仲介される。すなわち、これらの生物学的資料は発癌や腫瘍増殖に MK が重要な役割を担っていることを支持している。

子宮体癌において MK 免疫活性は上昇していたにもかかわらず、臨床病理学的因子と MK 免疫活性との間には関連性がみられなかった。MK 免疫活性は神経芽細胞腫、膀胱癌、消化管間質腫瘍、口頭扁平上皮癌および膀胱癌の臨床成績と有意に関連していることから、これは驚くべきことであった。興味深いことに、食道癌において MK は低分化腫瘍より高分化腫瘍でより強力に発現している。この研究における注目すべき免疫組織学的発見は MK タンパク質発現の強度が単一の組織検体内においても同じでは無かったことである。正常子宮内膜において MK の発現は機能層より基底層でより高かった。子宮体癌検体では MK は表層部でなく、浸潤境界部で高発現していた。また、これらの結果が抗体の不均等な局在性のためでないことを確認するために子宮体癌患者由来子宮内膜生検検体を免疫染色し、これらの表層検体ではすべて弱発現であったことを確認した。正常子宮内膜における MK 免疫組織化学染色の知見は既知の MK の病態生理学的な効果と一致しなかった。MK は発癌や抗アポトーシスに関与する。しかしながら、

正常子宮内膜における微小血管密度は機能層と基底層で有意な違いは無く、アポトーシス細胞はそれぞれの層に等しく分布する。リンパ管密度 (LVD) は月経周期で機能層より基底層でより高いことが報告されている。この研究においてリンパ管の分布は月経周期で、MK の免疫活性の多様性と一致した。また機能層と基底層の間で、血管内皮増殖因子 (VEGF) -C もしくは VEGF-D の免疫染色強度に違いがないことから、未知のリンパ脈管新生増殖因子が正常子宮内膜に存在する可能性が考えられており、我々は MK が正常子宮内膜においてリンパ脈管新生の候補分子であろうと推測する。子宮内膜腺癌において、腫瘍周辺の LVD は腫瘍内部および正常子宮内膜の LVD と比較してより高い。これは MK の免疫活性と一致する。これらの知見は子宮内膜腺癌におけるリンパ脈管新生に MK が関与していることを示唆する。

MK は分泌タンパク質なので、卵巣癌の癌抗原-125 と同様の方法で子宮体癌の進行を監視、選別する可能性を持っている。血清 MK 量の上昇はヒト成人細胞腫の 80% 以上で検出され、その量は癌の摘出で減少する。高い血清 MK 量は胃癌において高進行期と病状悪化に、食道癌において腫瘍の大きさに、神経芽細胞腫において進行に関わる。血清 MK 値は子宮体癌患者において非悪性婦人科疾患患者と比較して有意に上昇していた ($p = 0.014$)。子宮体癌患者における血清 MK 濃度

と臨床病理学的特徴の関連性として、リンパ節転移と予後に統計的有意差が観察された。我々の知見は食道癌での他の最近の研究と一致する。扁平上皮癌において、血清 MK は VEGF-C の血清量と相関してリンパ節転移の良いマーカーとなる。リンパ節転移は子宮体癌において極めて重要な予後因子であり、子宮筋層浸潤、組織学的分化段階はリンパ節転移と密に関係する。従って、術前血清 MK 量は高リスクな患者の選別や予後予測に有用かもしれない。

E. 結論

子宮体癌組織の MK 免疫活性は正常子宮内膜組織と比べ有意に高い。加えて、術前の血清 MK 量は予後やリンパ節転移の存在と有意に関係している。従って、MK は子宮体癌罹患者の高リスク群を同定するための血清マーカーとしての有用性が期待される。今後、さらに子宮体癌発癌における MK の役割を詳細に知るためには長期追跡調査期間を有する前方視的研究が必要であろう。

F. 健康危険情報

特記すべきこと無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanabe K, Matsumoto M, Ikematsu S, Nagase S, Hatakeyama A, Takano T, Niikura H, Ito K, Kadomatsu K,

Hayashi S, Yaegashi N: Midkine and its clinical significance in endometrial carcinoma. Cancer Sci, 99: 1125-1130, 2008

2. 学会発表

- 1) 田辺康次郎, 松本光代, 池松真也, 永瀬 智, 高野忠夫, 新倉 仁, 伊藤 潔, 林 慎一, 八重樫伸生: 子宮体癌におけるミッドカインの発現と臨床的意義. 第60回日本産科婦人科学会総会 (横浜), 2008年4月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

厚生労働省科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

子宮体がんに対する標準的化学療法の確立に関する研究

研究分担者 深澤一雄 獨協医科大学産婦人科 教授

研究要旨

進行子宮体がんに対しては有効な治療法がないためにその予後は極めて悪いが、同時化学放射線療法の有効性が示唆された。

A. 研究目的

本邦ではまだ子宮頸がんの方が多
いが、体がんは年々増加傾向にあり、
生活習慣の欧米化を考慮すると、近い
将来その比率が逆転する可能性がある。
子宮体がんの中でも早期がんは治
癒が望める一方、進行がんは有効な治
療法がないためにその予後は極めて
悪い。そこで今回昨年度に引き続き、
進行子宮体がんに対する同時化学放
射線療法の有効性について検討した。

B. 研究方法

子宮体がんIV期症例に対して、
DP(Docetaxel + Cisplatin)、
TC(Paclitaxel + Carboplatin)いづれ
かの化学療法を行い、同時に放射線照
射(全骨盤)を開始した。効果判定お
よび有害事象等の出現により、薬剤や
照射の変更、中止を行った。

(倫理面への配慮)人権擁護上の配慮、
不利益や危険性の排除等、研究対象者
より十分なインフォームドコンセン
トを得て行い、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

5例すべてIVb期(肺転移3例、上
縦隔リンパ節転移1例、鎖骨下リンパ
節転移1例)で、上記治療によりPR
4例、PD1例であった。PR4例中1
例の上縦隔リンパ節転移部位、1例の
肺転移部位ではCRが得られた。PD
の1例は、多発肺転移に部分的縮小を
認めたが、肺に新病変が1カ所出現し
たことによるもので、その後抗癌剤
を変更したが効果なく、治療開始から
10ヶ月で永眠された。PR4例のう
ち3例に対しては子宮摘出術および
リンパ節郭清術が施行された。手術が
行われなかった1例は現在3年経過
し担癌生存中で、手術が行われた3例
のうち1例が2年2カ月経過し、担癌
生存中である。その他1例は1年半後
に原病死され、1例は1年後に他因に
て永眠された。

D. 考察

子宮体部局所に関しては5例とも

PRであったが、肺に新病変が出現した PD 1 例は前述のように永眠された。上縦隔リンパ節転移部位 CR の 1 例は他のリンパ節の縮小も著しく、化学療法 4 コース後に手術施行し（両側付属器転移あり）、その後 Virchow リンパ節転移に対して放射線治療を行ったが、治療開始から 1 年半後に永眠された。化学療法 6 コース後に手術を施行できた肺転移の 1 例は、治療開始から 1 年経過した時点で化学療法継続中であったが、他因（自殺）にて永眠された。肺転移部位で CR が得られた 1 例に対しては、手術は施行できなかったが治療開始から 3 年経過し、現在も化学療法継続中で比較的良好である。鎖骨下リンパ節転移の 1 例は、化学療法 5 コース後に手術を施行し、治療開始から 2 年 2 カ月経過し、現在も化学療法継続中で比較的良好である。すべての症例において重篤な有害事象は出現せず、QOL は維持された。

E. 結論

進行子宮体がんに対する DP、TC を用いた同時化学放射線療法は、重篤な有害事象の出現もなく、有用な治療法となり得る可能性が示唆された。まだ症例数および経過年数も少ないため、今後も検討を重ねたい。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書

TGP を用いた感受性試験に基づく婦人科癌化学療法の個別化の試み
（子宮体癌と他の婦人科癌の比較を含めて）

研究分担者 木口一成 聖マリアンナ医科大学産婦人科 教授

研究要旨

再発婦人科癌患者に対して、TGP（Themoreversible gelation polymer）を用いた抗癌剤感受性試験を施行し、その結果に基づいて化学療法の個別化を試み、子宮体癌を中心に再発婦人科癌症例を 45 症例において抗癌剤感受性試験を施行した結果、抗癌剤感受性の判定可能率は 91.1%であった。判定可能であった 41 症例について感受性のある抗癌剤による化学療法を施行した結果、評価可能病変を有する症例 35 例の奏効率は 48.6%であった。本感受性試験は、再発した婦人科癌患者の化学療法の個別化を目指す上で有効な手段であると考えられた。

A. 研究目的

婦人科癌再発・再燃時に対する多剤併用化学療法の投与計画は、十分なエビデンスを伴わないまま初回治療と異なった投与計画が試行されているに過ぎず、特に短期間で再発した癌においては感受性が低く、有効な化学療法が確立されていない。

当院では、独自の温度感応性ポリマー-TGP を培養用基材に用いて再発子宮体癌を中心に抗癌剤感受性試験を施行してきた。今回は子宮体癌以外の症例も加え、総合的に検討を加えたので報告する。

B. 研究方法

2004年2月から2007年12月において、主に婦人科悪性腫瘍再発症例 45 例（子宮体癌 5 例、子宮頸癌 7 例、卵巣癌 33 例）に対して検討した。

生検及び手術により得られた細胞または組織を処理後、TGP ゲル内に包埋し、各種抗癌剤を添加し 4 日間培養ののち MTT assay にて吸光度を測定し、各濃度における生存率をプロットし濃度依存曲線を求め各薬剤の IC₅₀ 値を算出した。得られた IC₅₀ 値と最高血中濃度（Peak Plasma Concentration ; PPC）を比較し、IC₅₀ 値 < PPC の場合、感受性ありと判定した。

感受性試験の結果を元に、レジメン