

2009 25028A

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

進行卵巣がんにおける化学療法先行治療の
確立に関する研究
(H19 - がん臨床 - 一般 - 028)

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 吉川 裕之

筑波大学・大学院人間総合科学研究科
婦人周産期医学 教授

平成22(2010)年 3月

目 次

I. 総括研究報告書	
1. 進行卵巣がんにおける化学療法先行治療の確立に関する研究	1
吉川 裕之	
II. 分担研究報告書	
2. 上皮性卵巣癌に対して、化学療法のみを行った症例の検討	5
勝俣 範之	
3. 進行卵巣癌に対する NAC 後の IDS における理想的な手術目標の検討	7
恩田 貴志	
4. 再発卵巣がんに対する化学療法の開発に関する研究	9
嘉村 敏治	
5. 卵巣癌の腹膜播種モデルを用いた抗がん剤効果判定法開発	12
八重樫 伸生	
6. 進行卵巣癌の腹水を用いた化学療法効果予測の試み	16
高野 政志	
7. 卵巣癌に合併する乳腺悪性腫瘍に関する考察	25
中西 透	
8. 卵巣癌患者の臨床経過に及ぼす腫瘍局所免疫の影響の検討	28
小西 郁生	
9. 進行上皮性卵巣癌に対する新規 cisplatin-based chemotherapy の有効性	30
星合 昊	
10. 卵巣癌を含む婦人科悪性腫瘍手術における周術期の呼吸器系合併症の検討	31
齋藤 俊章	
11. 卵巣癌治療の個別化に関する基礎的・臨床的研究	
卵巣封入嚢胞上皮の形態と形質変化—卵巣癌の組織発生に関する考察	37
落合 和徳	
12. 卵巣明細胞腺癌における Glypican-3 発現に関わる研究	40
中川 俊介	
13. 進行・再発卵巣がん治療における腹水濾過濃縮再静注法の有用性に関する研究	42
横田 治重	
14. 進行卵巣癌に対する Neoadjuvant Chemotherapy (NAC) の後方視的研究	44
日浦 昌道	
15. 卵巣癌腹膜播種に対するアクチン結合蛋白質カルポニン h1 に着目した 遺伝子治療に関する研究	51
小林 裕明	
16. I 期卵巣がん症例および I 期卵巣境界悪性症例における臨床病理学的研究	55
竹島 信宏	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
IV. 研究成果の刊行物・別刷	58

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

総括研究報告書

進行卵巣がんにおける化学療法先行治療の
確立に関する研究

研究代表者 吉川 裕之 筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授

研究要旨

進行卵巣がんにおいて化学療法先行治療を確立するために、第 III 相試験（JCOG 0602）が進行中である。この直前に施行された第 II 相試験（JCOG 0206）の論文発表を行った。目標症例数 300 名に対し、平成 22 年 2 月 28 日現在 230 名の登録となっている。登録期間は 3 年を経過したため、延長を決定した。モニタリングでは特に問題なく進行している。平成 22 年 9 月に中間解析を実施し、続行が決定された。

研究分担者

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
恩田 貴志
国立がんセンター中央病院
婦人科・医員
嘉村 敏治
久留米大学医学研究科
婦人科学教室・教授
八重樫 伸生
東北大学医学系研究科
婦人科学分野・教授
高野 政志
防衛医科大学校病院
産科婦人科・指定講師
中西 透
愛知県がんセンター中央病院
婦人科・部長
小西 郁生
京都大学大学院医学研究科
婦人科学産科学・教授
星合 昊
近畿大学医学部
産婦人科・教授

齋藤 俊章
国立病院機構九州がんセンター
婦人科・部長
落合 和徳
東京慈恵会医科大学
産婦人科・教授
中川 俊介
東京大学医学部附属病院
女性外科・助教
横田 治重
埼玉県立がんセンター
産婦人科・科長兼部長
日浦 昌道
国立病院機構四国がんセンター
手術部・部長
小林 裕明
九州大学大学院医学研究院
産科婦人科・准教授
竹島 信宏
癌有明病院
婦人科・副部長

A. 研究目的

III、IV期の卵巣がん、卵管がん、腹膜がんに対して、手術の前後に4コースずつ計8コースの化学療法を行う「化学療法先行治療」が、現在の標準治療である、手術後に計8コースの化学療法を行う「手術先行治療」よりも有用であるかどうかをランダム化比較試験にて検証する。Primary endpoint: 全生存期間。Secondary endpoints: 完全腫瘍消失割合、無増悪生存期間、奏効割合(B群のみ)、有害事象、手術侵襲指標(開腹手術回数、総開腹手術時間、出血量、総輸血量、総血漿製剤使用量)。

B. 研究方法

研究形式は多施設共同の第III相ランダム化比較試験(非劣性試験)。対象症例は、開腹以外の手段で組織学的または細胞学的に診断され、CT/MRIで進行期分類された上皮性卵巣がん、卵管がん・腹膜がんIII/IV期の初回治療例で、20-75才、CA125>200 IU/ml、CEA<20 ng/ml、ECOG PS 0-3、適当な骨髄・肝・腎機能が保持され、初回腫瘍縮小手術の対象となりうる症例とする。

症例登録とランダム割付は、データセンターでの中央登録方式をとる。電話またはFAXにて症例登録を行い、適格性の確認後、治療群の割付を受ける。ランダム化割付には、調整因子として施設、PS、臨床進行期、年齢を用いる。

解析方法としては、予定症例数の半数の登録時点と症例集積終了後にログランク検定にて両群の生存期間を比較する。予定登録数: 各群150例、両群計300例。症例数算定の根拠は次のとおりである。NAC療法が標準治療に劣るかどうかは関心事項ではないため、有意水準 $\alpha=0.05$ の片側検定とする。PCSの真の3年生存率を25%と想定し、NACがそれを下回る許容限界を5%とする。NAC療法の真の3年生存率が30.3%であれば、80%の検出力で非

劣性を検証することができる。

実施施設は、本研究の研究者の所属施設を中心に、全国の卵巣がん治療の基幹施設34施設(2施設増加、全施設でIRB承認済)。

(倫理面への配慮)

参加患者の安全性確保については、正確な診断、有用性の高い治療等に配慮がなされており、試験参加による不利益は最小化される。また、「臨床研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言等の国際的倫理原則に従い以下を遵守する。1) 研究実施計画書(プロトコール)のIRB承認が得られた施設からしか患者登録を行わない。2) すべての患者について登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人より文書で得る。3) データの取扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保し、個人情報(プライバシー)保護を厳守する。研究の第三者的監視: 本研究班により、もしくは賛同の得られた他の主任研究者と協力して、臨床試験審査委員会、効果・安全性評価委員会、監査委員会を組織し、研究開始前および研究実施中の第三者的監視を行う。)。

C. 研究結果

III/IV期卵巣がん、卵管がん、腹膜がんの化学療法先行治療の第III相ランダム化比較試験の開始に先立ち行ったfeasibility study(第II相試験; JCOG 0206)の最終解析結果を論文発表した。対象は第III相試験と同じで、primary endpointである完全腫瘍消失割合は41.5%、major secondary endpointである腹腔鏡前の正診率は53/56で診断的腹腔鏡を省略した第III相試験に進むことが決定されたのであるが、他のデータは以下のとおりである。

登録数は56例。平均年齢は55歳、登

録時の病期は III 期 38 名、IV 期 18 名であった。PS は 0-1 が 46 名、2 が 7 名、3 が 3 名であった。奏効率は 77.4%(41/53) で PD は 4 例であった。IDS は 88.7%(47/53) に施行された。残存腫瘍は 0 が 29 名、< 1 cm が 9 名、> 1 cm が 9 名であった。適格 53 名の 3 年生存率は 60.1%、3 年無増悪生存率は 18.9%であった。IDS で残存腫瘍が 0, < 1 cm, > 1 cm では、3 年生存率は 72.1%、77.8%、22.2%で、3 年無増悪生存率は 34.5%、0%、0%であった。IDS での完全切除（残存腫瘍なし）の重要性 a が確認された。

最新のモニタリングレポートは平成 21 年 8 月 12 日に提出された。モニタリングにおいて早期に診断が判明する化学療法先行治療では、I/II 期例や他臓器原発がんが多く含まれることが危惧されるが、手術先行治療群において第 II 相試験で示した高い正診率を上回っていることが確認されている。また、プロトコル改訂を要するような有害事象も出ていない。登録時の画像による進行期は A 群；III 期 65 名、IV 期 28 名、B 群；III 期 64 名、IV 期 32 名であった。

登録数が半数にあたる 150 例に達し、データが揃ったところで、実施計画書に従い中間解析を行った。平成 21 年 9 月に中間解析を行い、継続が決定された。また、この試験の継続に関わるような問題点は指摘されていない。

D. 考察

卵巣がん III/IV 期に対する治療成績は 3 年生存率 25%、5 年生存率 20%であり、現在の標準治療は、診断優先で治療の負担も大きく、難しい治療体系のため均てん化も遅れている。治療成績の向上、治療の低浸襲化、均てん化には新たな治療体系の確立が必要であり、化学療法先行

治療の標準化を目指す本試験の実施が必要である。本研究では非劣性試験を行うが、これを立証するには 3 年生存率を 5% 以上向上させる必要がある。第 II 相試験での 3 年生存率は 60.1%で予測を大きく上回った。3 年無増悪生存率は 18.9%であるが、化学療法先行治療が現在の標準治療である手術先行治療を上回ることが期待できる結果と考える。

E. 結論

第 III 相試験の登録は概ね順調に進行している。第 II 相試験の成果により、化学療法先行治療の特性（抵侵襲、早期治療開始）を最大限に生かし、現在登録を終了した EORTC 試験（結果はごく一部学会発表のみ）の欠点を克服した厳密な臨床試験となっている。第 II 相試験で予想以上の高い生存率が確認され、大きな成果が期待できる。

F. 健康危険情報

プロトコル治療との因果関係が否定できない重篤な有害事象として、腫瘍融解症候群 G3、消化管穿孔 G3、消化管瘻-腹部、直腸 G3、アレルギー反応 G4 が各 1 例に認められた。各症例は、プロトコル治療中止となったが、これら有害事象は、予期されるあるいは想定される範囲内の有害事象であり、試験は継続中である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Onda T, Kobayashi H, Nakanishi T, Konishi I, Kamura T, Yoshikawa H, et al. Feasibility study of neoadjuvant chemotherapy followed by interval debulking surgery for stage III/IV ovarian, tubal, and peritoneal cancers: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0206, *Gynecol Oncol*, 113(1):57-62, 2009.

2. Konno R, Yoshikawa H, et al. Immunogenicity, reactogenicity and safety of human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in Japanese women: interim analysis of a phase II double-blind, randomized controlled trial at Month 7. *Int J Gynecol Cancer*, 19(5): 905-911, 2009.
 3. Abe K, Yoshikawa H, et al. Stem cells of GATA1-related leukemia undergo pernicious changes after 5-fluorouracil treatment. *Experimental Hematology*, 37(4): 435-445. e1, 2009.
 4. Tanaka YO, Yoshikawa H, et al. MR and CT findings of leiomyomatosis peritonealis disseminata with emphasis on assisted reproductive technology as a risk factor. *Br J Radiol*, 82(975): e44-47, 2009.
 5. Onuki M, Yoshikawa H, et al. Human papillomavirus infections among Japanese women: age-related prevalence and type-specific risk for cervical cancer. *Cancer Sciences*, 100(7): 1312-1316, 2009.
 6. Onda T, Yoshikawa H. A phase III randomized trial comparing neoadjuvant chemotherapy and upfront debulking surgery is indispensable as a basis for changing the standard treatment of advanced Müllerian cancer. *Gynecol Oncol*. in press
 7. Onda T, Yoshikawa H, et al. The Optimal Debulking After Neoadjuvant Chemotherapy in Ovarian Cancer; Proposal Based on Interval Look During Upfront Surgery Setting Treatment. *Jpn J Clin Oncol*. 40(1): 36-41, 2010.
 8. Kondo K, Yoshikawa H, et al. Nuclear location of minor capsid protein L2 is required for expression of a reporter plasmid packaged in HPV51 pseudovirions. *Virology*, 394(2):259-265. 2009.
 9. Saito I, Katsumata N, Konishi I, Yoshikawa H, Kamura T, et al. A Phase III Trial of Paclitaxel plus Carboplatin Versus Paclitaxel plus Cisplatin in Stage IVB, Persistent or Recurrent Cervical Cancer: Gynecologic Cancer Study Group/Japan Clinical Oncology Group Study (JCOG0505). *Jpn J Clin Oncol*, 40(1): 90-93, 2010.
 10. Satoh T, Yaegashi N, Ochiai K, Takano M, Nakagawa S, Kobayashi H, Nakanishi T, Kamura T, Konishi I, and Yoshikawa H, et al. Outcomes of Fertility-Sparing Surgery for Stage I Epithelial Ovarian Cancer: A Proposal for Patient Selection. *JCO*, in press
2. 学会発表
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）
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）

総括研究報告書

上皮性卵巣癌に対して、化学療法のみを行った症例の検討

研究分担者 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

研究要旨

1997年-2008年の当院で治療を受けた Stage III-IV 期の上皮性卵巣がん患者で、何らかの理由で手術をしなかった症例、及び、化学療法 TC 療法を 1 サイクル以上受けた症例を対象とした。40名の患者が対象となり、手術を受けなかった理由は、PS 不良、手術不能、手術拒否が主な理由であった。無増悪生存期間中央値は 6 ヶ月、全生存期間中央値は 14 ヶ月であった。8名の患者は 3 年以上の生存が認められた。PS 不良例が多変量解析にて全生存期間に対して予後不良な因子であった。Stage III-IV 期卵巣がん、化学療法のみ行った患者は全般的に予後不良であるが、一部の患者では、長期生存例を認められた。

A. 研究目的

Stage III-IV 期の卵巣がんの標準治療は、減量手術に引き続く、TC 療法 (paclitaxel:T+carboplatin:C) であるが、何らかの理由で手術が不能であった患者さんも多く認められる。今回は、手術不施行例の患者さんでの予後を調べることにより、何らかの臨床的特徴があるかどうか検討した。

B. 研究方法

対象：1997年-2008年の当院における卵巣癌患者 324 人のうち、何らかの理由にて、手術（初回、中間、セカンドルックを含む）を施行しなかった、及び、化学療法 TC 療法を 1 サイクル以上受けた患者 40 例を対象に、その臨床的特徴を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、後方視的なカルテ調査による研究であり、患者の個人情報マスクされ調査されているため、個人情報保護や患者の安全性確保には十分に配慮がなされている。

C. 結果

手術を受けなかった理由は、PS 不良 (7 名)、手術不能 (17 名)、手術拒否 (10 名)

が主な理由であった。無増悪生存期間中央値は 6 ヶ月 (95% confidence interval (CI): 4.5-7.6)、全生存期間中央値は 14 ヶ月 (95% CI: 10.3-17.7) であった。8名の患者は 3 年以上の生存が認められた。PS 不良例が多変量解析にて全生存期間に対して予後不良な因子であった。

D. 考察

上皮性卵巣癌は、早期発見ができにくく、発見された時には、進行癌であり、手術が不能な場合も多い。多くの文献によると、手術不能な卵巣癌は予後不良である。今回、当院で、何らかの理由にて手術を施行しなかった患者の予後について検討したが、PS 不良が最も悪い予後不良因子であった。

E. 結論

Stage III-IV 期卵巣がん、化学療法のみ行った患者は全般的に予後不良であるが、一部の患者では、長期生存例を認められた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 小谷凡子、勝俣範之：「第三相試験」がん薬物療法学、日本臨床 67(950):408-413, 2009.
2. 本多和典、勝俣範之：「卵巣癌」がん薬物療法学、日本臨床 67(950) : 695-699, 2009.
3. 山口智宏、勝俣範之：「がん薬物療法専門医のための模擬テスト1」腫瘍内科 3(1):132-134, 2009.
4. 平田泰三、勝俣範之：「乳がん術後化学療法としてAC療法に引き続く毎週投与のパクリタキセル」critical eyes no.30, 3-4, 2009.
5. 東光久、勝俣範之：「子宮頸がん」Pharma Tribune 1(7)22-29, 2009
6. 橋本淳、勝俣範之：「第47回日本癌治療学会関連特集 婦人科癌」Medicament News 1992.11-13, 2009.
7. 原野謙一、勝俣範之：「婦人科癌化学療法クリニカルパス」婦人科癌化学療法ポケットマニュアル メディカルビュー社 2009.
8. Yonemura M, Katsumata N, et al. Randomized Controlled Study Comparing Two Doses of Intravenous Granisetron (1 and 3 mg) for Acute Chemotherapy-induced Nausea and Vomiting in Cancer Patients: A Non-inferiority Trial. Jpn J Clin Oncol. 39(7):443-448, 2009.
9. Iwasa S, Katsumata N, et al. Relapse with Malignant Transformation After Chemotherapy for Primary Mediastinal Seminoma: Case Report. Jpn J Clin Oncol. 39(7):456-459, 2009.
10. Shimozuma K, Katsumata N, et al. Feasibility and validity of the Patient Neurotoxicity Questionnaire during taxane chemotherapy in a phase III randomized trial in patients with breast cancer: N-SAS BC 02. Support Care Cancer. 17(12): 1483-1491, 2009.
11. Katsumata N, et al. Phase III trial of doxorubicin plus cyclophosphamide (AC), docetaxel, and alternating AC and docetaxel as front-line chemotherapy for metastatic breast cancer: Japan Clinical Oncology Group trial (JCOG9802). Ann Oncol, 20(7):1210-1215, 2009.
12. Iura A, Katsumata N, et al. Outpatient management of low-risk febrile patients on paclitaxel and carboplatin for ovarian cancer. Int J Gynaecol Obstet, 105(3):261-262, 2009.
13. Ono M, Katsumata N, et al. Brain metastases in patients who receive trastuzumab-containing chemotherapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer. Int J Clin Oncol, 14(1):48-52, 2009.
14. Matsumoto K, Katsumata N, et al. Identification of predictive biomarkers for response to trastuzumab using plasma FUCA activity and N-glycan identified by MALDI-TOF-MS. J Proteome Res, 8(2):457-462, 2009.
15. Katsumata K, Ochiai K, for the Japanese Gynecologic Oncology Group, et al. A Randomised Phase III Trial of "Dose-dense" Weekly Paclitaxel in Combination with Carboplatin for Advanced Ovarian Cancer. Lancet 374 : 1331-1338, 2009.
16. Katsumata K, Ochiai K, for the Japanese Gynecologic Oncology Group, et al. Japanese Gynecologic Oncology Group. Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. Lancet, 374(9698):1303-1305, 2009.

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

進行卵巣癌に対する NAC 後の IDS における
理想的な手術目標の検討

研究分担者 恩田貴志 国立がんセンター中央病院婦人科・医員

研究要旨

中間期腫瘍縮小手術(IDS: interval debulking surgery)あるいは中間期試験開腹 or 試験腹腔鏡(ILS: interval look surgery)終了時点の残存腫瘍径と予後との関連から、術前化学療法(NAC)後の IDS における理想的な手術の目標(optimal surgery)について検討を行った。

1986年1月から2000年12月の間に、東京大学産婦人科にて治療を開始した III/IV 期卵巣癌 128 例のうち、初回腫瘍縮小手術(PDS)後残存腫瘍を認め、化学療法 2-6 コース施行後 IDS あるいは ILS を行った 66 例を対象として解析を行った。

2 コース後に IDS が行われた 4 例のうち、残存腫瘍径 <2cm は 3 例、 ≥ 2 cm は 1 例で、5 年生存率は、それぞれ 67%と 0%であった。3-6 コース後に IDS あるいは ILS が行われた 62 例のうち、残存腫瘍 0 は 42 例、<2cm は 18 例、 ≥ 2 cm は 2 例で、5 年生存率はそれぞれ 47%、0%、0%であった。5 年以上の長期予後が得られたのは残存腫瘍 0 症例のみで、残存腫瘍 0 と残存腫瘍 <2cm の間で大きな予後の差を認めた($p=0.0001$)。

3 コース以上の化学療法後の手術で残存腫瘍を認めた場合、追加の化学療法での消失は困難であり、進行卵巣癌、卵管癌、腹膜癌の NAC 後の IDS において、良好な長期予後を得るための理想的な手術の目標(optimal surgery)は残存腫瘍なしであると考えられた。

A. 研究目的

進行卵巣癌の中間期腫瘍縮小手術(IDS: interval debulking surgery)あるいは中間期試験開腹 or 試験腹腔鏡(ILS: interval look surgery)における、残存腫瘍径と予後の関連から、IDS における理想的な手術目標(optimal surgery)を検討する。

B. 研究方法

1986年1月から2000年12月の間に、東京大学産婦人科にて治療を行った III/IV 期卵巣癌 128 例のうち、PDS で残存腫瘍を認めたため、2-6 コースの化学療法後、IDS あるいは ILS を行った 66 例を

対象として解析を行った。4 例には 2 コース後に IDS、62 例には 3-6 コース後に IDS あるいは ILS が行われた。これら 66 例の IDS あるいは ILS における残存腫瘍径と予後の関連を 2 コース後に IDS が行われた 4 例と 3-6 コース後に IDS あるいは ILS が行われた 62 例に分けて、Kaplan-Meier 法および Log-rank 法を用いて解析した。(倫理面の配慮)

手術に際しては、手術の危険性および期待する効果につき十分な説明を行ない、患者および家族の同意を得て行なった。

C. 研究結果

2コース後にIDSが行われた4例のうち、残存腫瘍径<2cmは3例、≥2cmは1例で、5年生存率は、それぞれ67%と0%であった。3-6コース後にIDSあるいはILSが行われた62例のうち、残存腫瘍0は42例、<2cmは18例、≥2cmは2例で、5年生存率はそれぞれ47%、0%、0%であった。すなわち、3-6コース後にIDSあるいはILSが行われた場合、手術終了時に残存腫瘍を有する症例では、5年以上の長期延命例は認めなかった。また、3群の生存率にはLog-rank testで有意な差を認めた(p=0.0001)。特に、残存腫瘍0と残存腫瘍<2cmの間で大きな予後の差を認めた(p=0.0001)。

D. 考察

進行卵巣癌、卵管癌、腹膜癌のNAC後のIDSにおける理想的な手術の目標(optimal surgery)は、未だ明らかではない。PDS後に残存腫瘍を有し、2-6コースの化学療法後にIDSあるいはILSを受けた症例の、残存腫瘍と予後の関連から、NAC後のIDSにおけるoptimal surgeryを検討した。2コース後にIDSが行われた場合、残存腫瘍<2cmで5年以上の長期予後も期待できるが、3-6コース後にIDSあるいはILSが行われた場合、5年以上の長期予後が得られたのは残存腫瘍0の症例のみであった。3-6コースの化学療法後にも残存する摘出困難な腫瘍を有する場合、追加の化学療法でも完全な消失は困難なものと考えられた。

E. 結論

進行卵巣癌、のNAC後のIDSにおいて、良好な長期予後を得るための理想的な手術の目標(optimal surgery)は残存腫瘍なしであると考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 加藤友康、恩田貴志、他：【産婦人科における治療範囲の広がりとは他科との連携 産婦人科の魅力と今後の展望】 婦人科悪性腫瘍(卵巣癌・子宮体癌など)骨盤内浸潤を認める子宮癌、58(10)：1485-1490、2009.
2. Onda T, Kobayashi H, Nakanishi T, Konishi I, Kamura T, Yoshikawa Y, et al. Feasibility study of neoadjuvant chemotherapy followed by interval debulking surgery for stage III/IV ovarian, tubal, and peritoneal cancers: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0206., Gynecol Oncol 113(1): 57-62, 2009
3. Onda T, Yoshikawa Y, A phase III randomized trial comparing neoadjuvant chemotherapy and upfront debulking surgery is indispensable as a basis for changing the standard treatment of advanced Müllerian cancer., Gynecol Oncol 114(2): 371-372, 2009.
4. Onda T, Yoshikawa Y, et al. The Optimal Debulking after Neoadjuvant Chemotherapy in Ovarian Cancer: Proposal based on Interval Look During Upfront Surgery Setting Treatment. Jpn J Clin Oncol 40(1): 36-41, 2010.

2. 学会発表

1. 戸上真一、恩田貴志、他：卵巣未分化癌の一例、第46回日本婦人科腫瘍学会、2009年7月、新潟。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

再発卵巣がんに対する化学療法の開発に関する研究

研究分担者 嘉村 敏治 久留米大学医学部産科婦人科学教室・教授

研究要旨

再発上皮性卵巣がん、卵管がん、原発性腹膜がんに対して再発形式により症例を二群に分け、異なる化学療法レジメンの効果を検討した。Sensitive Relapse 症例には Bi-weekly DC 療法が従来の方法より有害事象を軽減できる可能性があり、Refractory Relapse 症例には CPT/CBDCA 療法がより高い奏効率をもたらす可能性が示された。

A. 研究目的

上皮性卵巣がん、卵管がん、原発性腹膜がんに対しては、手術および化学療法の進歩により初回治療後の寛解率が向上している。しかしながら、進行がんの約70%は再発し、再発がんに対して確立された治療法はない。初回治療終了後6ヶ月以上経過して再発した症例は初回治療と同様の化学療法剤に奏効する 경우가多く Sensitive Relapse 症例とされ、一方初回治療終了後6ヶ月未満に再発、もしくは、初回治療中に増悪した症例は Refractory Relapse 症例とされ、系統の異なる薬剤を用いるべきと報告されている。このように同じ再発がんにおいても、両者は区別して取り扱うことが望ましい。今年度は再発上皮性卵巣がん、卵管がん、原発性腹膜がんに対する新たな化学療法剤レジメンの探索に際し、再発の形式により区別した二つの試験を計画した。

B. 研究方法

1) Sensitive Relapse 症例に対する検討
プラチナ系薬剤や Paclitaxel を含む Regimen による治療に奏効し、6ヶ月以上経過してから再発または増悪した上皮性卵巣がん、卵管がん、原発性腹膜がん症例のうち、測定可能病変を有する症例を

対象とし、Bi-weekly DC 療法 (Docetaxel 35 mg / m² iv day1, 15, Carboplatin AUC 5 iv, day1, 4週毎投与) による治療の有効性、安全性を検討する。目標症例数を30例とし、プロトコール作成後倫理委員会の承認を受けて、試験を開始した。予定症例の半数に到達した時点で中間解析を行い、その後の試験継続を検討することとした。

2) Refractory Relapse 症例に対する検討
プラチナ系またはタキサン系薬剤を投与終了後6ヶ月未満の再発および投与中に増悪した上皮性卵巣がん、卵管がん、原発性腹膜がん症例のうち、測定可能病変を有する症例を対象とし、CPT/CBDCA 療法 (塩酸 irinotecan 60 mg/m² iv day 1, 8, carboplatin AUC 5 iv, day1, 3週毎投与) による治療の有効性、安全性を検討する。目標症例数を45例とし、プロトコール作成後倫理委員会の承認を受けて、試験を開始した。予定症例の半数に到達した時点で中間解析を行い、その後の試験継続を検討することとした。
(倫理面への配慮)

プロトコールを作成し、IRB で承認を受けて行った。十分なインフォームドコンセントをいただいて本研究を行った。

C. 研究結果

1) Sensitive Relapse 症例に対する検討

17 例集積した時点での効果判定において CR3 例、PR9 例（奏効率 70.5%）が確認された。有害事象は重篤なものは認められず、従来の 3 週毎の一括投与による TC 療法、DC 療法より骨髄抑制が軽微であった。このまま試験継続とし、予定症例 30 例に達したため新規登録を終了し、結果を解析中である。

2) Refractory Relapse 症例に対する検討

現在登録症例は 7 症例であり、中間解析に至っておらず、登録期間を延長してさらに症例集積中である。2 例に PR が確認されている。副障害として、骨髄抑制は強度であるが、それ以外には重篤なものは認められていない。

D. 考察

Sensitive Relapse 症例に対する Bi-weekly DC 療法は、現在行われている First-line 治療(TC 療法、DC 療法)の再試行において問題となる重篤な骨髄抑制を回避し、同等な効果が期待できる有望な化学療法レジメとして期待できる。

また、現在有効な治療法がないといわれる Refractory Relapse 症例に対する CPT/CBDCA 療法は検討に値すると思われる。

E. 結論

再発卵巣がん、卵管がん、腹膜がんにおいて、化学療法剤のはたす役割は大きく、前方視的研究による有望なレジメの探索は今後も必要である。その際は、病状の特徴を理解した症例選択基準を設けて行うことが特に重要である。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Onda T, Kobayashi H, Nakanishi T, Konishi I, Kamura T, Yoshikawa H, et al. Feasibility study of neoadjuvant chemotherapy followed by interval debulking surgery for stage III/IV ovarian, tubal, and peritoneal cancers: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG 0206, Gynecol Oncol, 113(1):57-62, 2009.
2. Nishio S, Katsumata N, Kamura T, et al. Usefulness of third - line chemotherapy for women with recurrent ovarian , fallopian tube, and primary peritoneal cancer who receive platinum /taxane regimens as first -line therapy, J Cancer Res Clin Oncol, 135(4):551-557, 2009.
3. Nishio S , Kamura T, et al. Clinicopathological significance of cervical adenocarcinoma associated with lobular endocervical glandular hyperplasia. Pathology - Research and Practice, 205(5):331-337, 2009.
4. Takemoto S, Kamura T, et al. Primary adenocarcinoma of the vagina successfully treated with neoadjuvant chemotherapy consisting of paclitaxel and carboplatin. J Obstet Gynecol Res, 35(3):579-83, 2009.
5. Takemoto S, Kamura T, et al. Expression of activated signal transducer and activator of transcription-3 predicts poor prognosis in cervical squamous - cell carcinoma. Br J Cancer, 101(6): 967-972, 2009.

2. 学会発表

1. Tsuda N, Kamura T, et al. Synthetic Micro RNA Designed to target Glioma - Associated Antigen - 1 Transcription Factor (Gli-1) inhibits proliferation in Ovaian cancer cells. 第61回日本産科婦人科学会学術講演会、4月3日～5日 2009. 京都.
2. Nishio S, Katsumata N, Kamura T, et al. Usefulness of third-line chemotherapy for women with recurrent ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer who receive platinum / taxane regimens as first -line therapy. 第61回日本産科婦人科学会学術講演会、4月3日～5日, 2009, 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

卵巣癌の腹膜播種モデルを用いた抗がん剤効果判定法開発

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

研究要旨

進行卵巣癌に対する抗がん薬物療法学の発展に向け、マウスを用いた生理的条件下での CDDP 抗がん効果の判定を試みた。マウス卵巣癌 HM-1 細胞は同系 B6C3F1 マウスに移植すると重篤な癌性腹膜炎を生じるが、異系 C57BL6 マウスでは生じない細胞である。本細胞を用いて、ルシフェラーゼを安定に発現するマウス卵巣癌細胞 (HM-1/luc 細胞) を構築した。HM-1/luc 細胞は親 HM-1 細胞と病理学的に同様の所見を示した。我々は HM-1/luc 細胞を B6C3F1 マウスの腹腔に移植し、非 CDDP 投与群 (コントロール)、CDDP 投与群 (0.2 および 0.4mg) の 3 群に分けた。毎週、腹腔内の腫瘍細胞の増殖を化学発光画像として *in vivo* Imaging System (IVIS) 2000 を用いて観察した。その結果、CDDP 投与群でマウスの生存は有意に遷延され (コントロール 23±1.9 日、0.2mg CDDP 29.6±2.9 日; $p < 0.05$)、総光子量および発光領域は減少した。

蛍光 *in vivo* イメージングは生体内発光を通して非侵襲的に腹腔内腫瘍の監視および半定量解析が効率よくできる。本マウスモデルは卵巣癌の臨床的特徴有しており、卵巣癌治療の進展のために有益なモデルとなる。

A. 研究目的

卵巣癌は罹患早期に患者自身がその病候に気が付き難く、進行してから診察を受けることが多いことから、婦人科領域癌において最も死亡率の高い癌である。

また、卵巣上皮癌は化学療法に対して治療初期は良く奏効するが、再発癌は化学療法に耐性を示すことが多い。従って、化学療法の益々の発展のためには、特徴のはっきりとした代表的な動物モデルが早急に必要である。現在、ヒト癌細胞の免疫欠損マウスへの異種移植モデルが、細胞の腫瘍形成能および生体内での薬剤治療効果を調べるため、広く使用されている。

しかし、現法では癌細胞と宿主マウスの免疫系との関連性は理解できない。その詳細は未だ不明なものの、免疫系は腫瘍の増殖や転移にとって重要であることが分かってきている。従って本研究は、非侵襲的に腫瘍増殖や薬剤効果を観察できる、同系、すなわちマウス卵巣癌細胞を用いた移植マウスモデルの確立を目的とした。

B. 研究方法

C57BL/6×C3H/HeNF1 (B6C3F1) マウス由来 OV2944-HM-1 細胞 (HM-1) にルシフェラーゼ遺伝子を安定導入した細胞を構築した (HM-1/luc)。簡単に説明すると、プラスミド pGEM-luc から BamH1 および Xho1 制限酵素切断部位を利用してルシフェラーゼ遺伝子を得た。次に同じ制限酵素切断部位を利用して pCXN2-へとルシフェラーゼ遺伝子を導入した (pCXN2-luc)。pCXN2-luc はネオマイシン耐性遺伝子を持っているので、本プラスミドをリポフェクトアミン 2000 にて HM-1 細胞に形質導入後、細胞を 600 μ g/ml ネオマイシン添加培地にて培養することで、HM-1/luc を選択した。なお、HM-1 は C57BL/6 マウスではゆっくりとしか成長ができないが、B6C3F1 マウスでは高転移する特徴を持つ。マウスはクレアジャパンから B6C3F1 (雌、8-12 週令) と C57BL/6 (雌、8-12 週令) 購入し、C57BL/6 を背景に持つ RAG2 ノックアウトマウス (RAG2-KO) は実験動物中央研究所から得た。これらのマウスは特定病原体除去下で飼育した。

マウスへの HM-1 もしくは HM-1/luc 細胞移植のため、*in vitro* での培養によってサブコンフルエントになった細胞を、トリプシン処理、それに続く、1,000×g、5分間の遠心分離によって回収し、PBSに懸濁した。癌性腹膜炎を誘発するために、回収した細胞を 1×10^6 細胞/1 ml マウスの腹腔へと注入した。腫瘍着床後、マウスにシスプラチン (CDDP) を投与し、いくつかの時点で生物発光画像として腫瘍状態を観察した。

生物発光画像は IVIS システム 2000 シリーズ (Xenogen Corp., CA) を用いて取得した。生物発光画像を得るため、イソフルラン吸入麻酔下でマウスに 15 mg/ml D-ルシフェリンを 0.2 ml 腹腔内投与し、IVIS2000 の高感受性冷却 CCD カメラで撮影した。取得画像は Living Image software (Xenogen Corp., CA) を用いて解析され、得られる総生物発光シグナルの積分値から、毎秒あたりの光子量を求めた。

組織切片とスライド標本はマウス屠殺後回収した器官を 10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋し、薄切することで作製し、ヘマトキシリン染色およびエオジン染色を行った。

生存期間は自然死もしくは腫瘍の潰瘍形成、体重の 15%減少、5g 増加および食欲不振を人道的エンドポイントとして評価した。また、動物実験を行うに当たり、事前に研究プロトコルを東北大学医学部動物実験倫理委員会の審査にかけ承認を受けた。全ての結果は独立した測定値 n の平均±標準偏差として得た。生存曲線の作成には Kaplan-Meier 法を使用した。CDDP の 0、0.2 および 0.4mg の各群間解析には two-tailed Student's t-test を使用した。P 値が 0.05 未満の場合に有意差ありと判定し、統計解析は Stat View 5.0 software (SAS Institute) を使用した。

(倫理面への配慮)

研究を行うに当たり、事前に研究プロトコルを東北大学医学系研究科倫理委員会の審査にかけ承認を受けた。

C. 研究結果

マウス種間によるマウス卵巣癌 HM-1 細胞の腫瘍形成能を比較するため、10-12 週齢の免疫適格 B6C3F1 マウスと C57BL6 マウス、および免疫欠損 RAG2-KO マウスの腹腔に HM-1 細胞を移入した。B6C3F1 および RAG2-KO マウスにおいて多発性腫瘍根粒および大量の HM-1 細胞の腹水へ含有が観察された。さらに病理組織学的手法によって腹壁、膵臓、腸間膜、横隔膜および腸のようないくつかの組織に腫瘍が散在していることを確認した。これらの所見は進行型ヒト卵巣癌と非常に類似していた。比較において、C57BL6 マウスでは HM-1 細胞移入 28 日後においても腫瘍形成は認められなかった。

ルシフェラーゼ安定発現 HM-1 細胞 (HM-1/luc) の構築およびその成体内外での可視化の確立を目指し、ルシフェラーゼ遺伝子を導入した HM-1 細胞のいくつかのサブクローンを選択した。生体外でのルシフェラーゼの発現量は細胞可溶化溶液のルシフェラーゼの酵素活性をルミノメーターによって測定し、Living image software によって定量化することで評価した。その結果、生物発光シグナルは HM-1/luc 細胞数と相関し、生体外では約 1,250 個の HM-1/luc 細胞があれば検出が可能であることが判明した。生体内でのルシフェラーゼの発現量は B6C3F1 マウス腹腔内に HM-1/luc 細胞を播種し、基質となる D-luciferin を腹腔内投与後、IVIS2000 によって生物発光画像を取得し、Living image software によって光子量を定量化することで評価した。HM-1/luc 細胞を腹腔内投与しなかったコントロール B6C3F1 マウスでは D-luciferin 投与後もバックグラウンドとなる生物発光シグナルを全く示さなかった。

また、HM-1/luc 細胞は HM-1 細胞同様に播種 14 日後、癌性腹膜炎を生じ、その腫瘍は巨視的にも病理組織学的にも HM-1 細胞と同じであることが分かった。

生体内での腫瘍形成研究のため、 1×10^6 HM-1/luc 細胞を B6C3F1 マウス ($n=18$) の腹腔に播種した。7 日後、全マウスの HM-1/luc 細胞を IVIS2000 によって可視

化し、それぞれの生物発光シグナルを定量化した。18匹中、15匹のマウスは7日目、ほぼ同じ生物発光シグナルを示したが、2匹のマウスは極端に高い値（平均値との比較において2.89倍と1.68倍）を示し、1匹は極端に低い値（0.43倍）を示した。おそらく、わずかな状態の違いや、実験誤差によるものと思われた。実験誤差を最小化するためにこれら（n=3）の異常値を示したマウスはその後の実験系から除外した。残ったマウス（n=15）を3群に分け、PBS（コントロール）、CDDP 0.2mg および0.4 mg を腹腔内投与した。CDDP 投与7日後、IVIS2000によって測定された生物発光シグナルは3群とも平均値および標準偏差共に、ほぼ同じシグナル強度を示した。

次に我々は、HM-1/luc 細胞移植マウスでのCDDP処理有無における生物化学発光の変化を経時的に評価した。マウス腹腔内へのHM-1/luc 細胞の播種、8日後および15日後の2回、PBS（コントロール）、CDDP 0.1 mg もしくは0.2 mg を腹腔内投与した（総投与量はそれぞれ0.2mg と0.4mg）。またこの時、7、14、21 および28日目（コントロール群は人道的エンドポイントに達し安楽死させたので、CDDP 投与2群のみ計測）の計4回、全光子量と発光域を測定した。全体的にCDDP 投与マウスはコントロールと比較して全光子量、発光域ともに減弱していた。しかしながら、CDDP 0.2mg とコントロールの間の有意な差は14日目の測定でのみしか得られなかった。我々は非侵襲的に生体内の生物発光を監視することで、同一の個体内の疾病の進行を経時観測することに成功した。

移植後マウスの寿命はHM-1/luc 細胞の腫瘍形成能の指標になる。そこで、HM-1/luc 細胞移植マウスのCDDP処理の有無による Kaplan-Meier 生存曲線の比較を行った。その結果、CDDP 処理マウスでは病状悪化が抑制される傾向が示された。CDDP 未処理マウスの生存期間中央値は 23 ± 1.9 日、CDDP 総投与量0.2 および0.4mg ではそれぞれ 29.6 ± 2.9 日、 26.8 ± 5.6 日であった。

D. 考察

卵巣癌の新規治療法の発展は卵巣癌細胞の生物学的挙動を模倣する適切な動物モデルの存在に依存する。我々は本研究において、HM-1/luc 卵巣癌細胞を用いた同系マウスモデルにおける癌性腹膜炎の非侵襲法による生体内の可視化および半定量に成功したことを報告する。マウス卵巣上皮由来 HM-1 細胞は上皮卵巣癌細胞の特徴を持った細胞である。我々のモデルにおいて、本細胞は、腹部周辺広範に腫瘍根粒を散在させたり、腫瘍細胞を含む悪性腹水を産生したり、進行型ヒト卵巣癌と極めてよく似た特徴を示した。加えて、ヒト上皮性卵巣癌の場合と同様に、HM-1/luc 腫瘍は CDDP に対して感受性であった。

現在行われているマウスモデルを用いた研究のほとんどは、免疫欠損マウスへのヒト癌細胞の異種移植を駆使したものである。腫瘍形成における免疫システムの役割はまだ十分には理解されていない。しかし、免疫不全は卵巣や他の器官において腫瘍の進行を促進させる。遺伝子工学はげっ歯類での自然発症卵巣癌モデルの発達の可視化を可能にするかもしれない。これによって無傷の免疫システムと癌細胞の間の相互作用が研究できるかもしれない。

また、移植癌細胞と同系の免疫適格マウスの使用は、ヒトの生体内の状態に非常に近い環境を再現し、腫瘍形成のさらなる研究を可能にするだろう。加えて、このようなモデルは様々ながんの新規治療法の発展のために不可欠である。実際、多くの研究で、C57BL6 マウスへの ID8 MOSE 細胞移植による腫瘍形成を使用した同系卵巣癌マウスモデルは利用され、成果を導いている。しかしながら、 5×10^6 ID8 MOSE 細胞は、移植後ほぼ3ヶ月で生存の人道的エンドポイントを迎えるのに対して、我々の系では、 1×10^6 HM-1/luc 細胞の B6C3F1 マウスへの移植によって、重篤な癌性腹膜炎の発症を含めた生存の人道的エンドポイントは1ヶ月に満たなかった。しかしながら、我々は親 HM-1 細胞でも同様に人道的エンドポイントが 1

ヶ月に満たないことから、これがルシフェラーゼの形質移入のためではないことを確認した。加えて、生体外における細胞培養において、親 HM-1 細胞および HM-1/luc 細胞の増殖には差が無いことも確認した。上皮性卵巣癌細胞にはサブタイプが存在し、それらは、発達経路、分子的な特徴および治療戦略に対する応答性といった様々な面で異なる。したがって、卵巣癌のそれぞれのサブタイプのための同系モデルの確立が今後、特異的な治療法を設計するために必要である。本モデルを用いることによって得られる更なる利点は、IVIS2000 システムによる生体内生物発光画像の取得を利用した腫瘍細胞の可視化にある。生物発光は動物での計測器による腫瘍測定や癌性の体重変化の様な定法より感受性および再現性が高く、しかも非侵襲的であり、経時的、半定量的観察を可能にする。

また、従来の疾患進行マーカーは腹膜炎や重篤な貧血および致死である。CA125 は病状の進行を臨床的に監視するためのマーカーとして頻用されるが、異種移植モデルに関しては、細胞株において発現しているものが少なく、利用は困難である。生物発光画像の取得が可能な、我々の上皮性卵巣癌同系マウスモデルはその様な以前のモデルの欠点を克服するものである。加えて、同系移植は癌細胞と宿主マウス間の免疫相互作用の保持が保証される。これらの特色は我々のマウスモデルが上皮性卵巣癌のための新しい治療法を試験するのに理想的なモデルであることを示す。

CDDP は臨床での癌管理においてもっとも重要な第一選択化学療法剤の1つである。我々は、HM-1/luc 細胞を播種したマウスの腹腔内に CDDP を投与し、生物発光と生存期間の両視点から治療効果を確認した。総投与量 0.2 mg の CDDP で処理したマウスは投与しなかったマウスと比較して有意に生存期間が延長した。総投与量 0.4mg マウスでは生存期間の延長は確認できなかった。しかし、生物発光シグナル量は 0.2mg 投与マウスとほぼ同等であった。従って、0.4mg 投与における生存

期間の延長がみられなかったのは、CDDP の抗腫瘍効果が無かったためではなく、重篤な貧血や腎不全といった本薬剤の副作用によるものであることが考えられた。

E. 結論

我々は同系マウス卵巣癌モデルを確立した。本マウスモデルはルシフェラーゼ遺伝子を導入した卵巣癌細胞を同系マウスの腹腔内に移植することによって構築した。これによって IVIS2000 を用いて生物発光画像を取得することが可能となり、腹腔内腫瘍の進展を非侵襲的に可視化し、半定量することができるシステムである。我々のモデルは、生体腹腔内での腫瘍進行メカニズムを研究するのに用いることが可能である。加えて、本系を用いた生体内分析は免疫療法の評価も可能な免疫適格マウスにおいて行うことができる。最後に、本モデルは新規治療計画の設計や化学療法メカニズムの研究の発展に利用できるものである。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Toyoshima M, Yaegashi N, et al. : Generation of syngenic mouse model to study the intraperitoneal dissemination of ovarian cancer with in vivo luciferase imaging. *Luminescence*, 24(5): 324-331, 2009.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

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

進行卵巣癌の腹水を用いた化学療法効果予測の試み

研究分担者	高野政志	防衛医科大学校病院	産科婦人科・講師
研究協力者	後藤友子	防衛医科大学校	産科婦人科学・助教
	平田純子	防衛医科大学校	産科婦人科学・助教
	渡邊昭夫	防衛医科大学校	産科婦人科学・専門研修医
	宮本守員	防衛医科大学校	産科婦人科学・専門研修医
	加藤雅史	防衛医科大学校	産科婦人科学・専門研修医
	吉川智之	防衛医科大学校	産科婦人科学・専門研修医
	佐々木直樹	防衛医科大学校	産科婦人科学・通修医

研究要旨

進行卵巣癌は著明な腹水、胸水の貯留をきたし全身状態不良となつてから発見されることが多く、初回手術が困難なことも少なくない。

しかしながら抗癌剤の効果を実証する確立した手法はなく、術前化学療法が躊躇されることも事実である。今回、我々は化学療法前に得られた腹水の癌細胞を免疫染色することで効果予測が可能かを検討した。Stage III/IV 症例で腹水の細胞診で癌細胞陽性症例、効果判定可能な病変を有する症例、TC 療法 (Paclitaxel 175mg/m², carboplatin AUC=6) を予定する症例、文書で同意を得た症例を対象とした。全 37 例中、奏効例 21 例では全例 (100%)、非奏効例 16 例では 6 例 (44%) において腹水中の癌細胞が p16 蛋白陽性であった。特に p16 蛋白が核に強発現する症例は化学療法が奏効し予後も良好であった。卵巣漿液性腺癌由来の Paclitaxel 感受性株の KF28 細胞と Paclitaxel 抵抗性株の KFr13Tx 株の比較においても p16 蛋白は KF 細胞の核に強発現していた。進行卵巣癌の腹水細胞の免疫染色で TC 療法の効果予測、さらには予後予測が可能であることが示唆された。

A. 研究目的

進行卵巣癌症例の腹水細胞を免疫染色することで TC 療法 (Paclitaxel 175mg/m², carboplatin AUC=6) の効果予測が可能かを検討することを目的とした。

B. 研究方法

当院産科婦人科および埼玉医大国際医療センター婦人科腫瘍科において初回治療を行った卵巣癌 Stage III, IV 症例のうち、①治療前の腹水細胞診において腺癌細胞陽性と診断された症例、②初回手術後、あるいは術前化学療法前の画像診断で効

果判定が可能な病変を有する症例、③文書による同意が可能な症例、④TC 療法 (Paclitaxel 175mg/m², carboplatin AUC=6) を予定する症例を選択した。化学療法を行う前に腹水を採取し、通常の細胞診処理を行う他に、CytoRich RED (TriPath Imaging, Burlington, NC) 処理を行い Cytic Thin-Prep processor (Cytic Corporation, Boxborough, MA) で細胞診スライドを作成した。免疫染色は p16INK4a Research Kit (Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) を用いて行った。TC 療法後、2-3 サイクル後に CT あるいは MRI による画像

診断で TC 療法の効果を判定した。その効果判定の結果で Partial Response (PR) 群、Stable disease (SD) 群、Progressive disease (PD) 群の 3 群に分けた。腫瘍の組織が得られた症例においては組織切片も p16 蛋白の免疫染色を行った。

卵巣漿液性腺癌由来の Paclitaxel 感受性株 KF 細胞と Paclitaxel 耐性株 KFr13Tx 細胞の免疫染色も行い細胞内の局在については Western blotting でも確認した。

患者の予後解析には Kaplan-Meier 法を用いて、各群間の差異は Log-rank test により判定した。臨床病理学的因子の比較にはカイ二乗検定を用い、P 値が 0.05 未満で有意と判定した。解析は Stat View version 5.0 (SAS Institutional Inc., Cary, NC) を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究の計画書、説明同意文書を各施設の倫理委員会で承認された後に研究を開始し、承認された説明同意文書を用いて説明・同意を頂いた。全ての研究者は、ヘルシンキ宣言に従い研究をすすめた。患者のデータファイルは連結不可能匿名化されて入力され、予後因子を解析するコンピューターは外部と接続されていないものを使用した。全ての予後解析は防衛医大産科婦人科において行なわれたが、個人情報保護に努め外部への漏洩はない。病理判定を行なう際には連結可能匿名化された上で病理スライドが防衛医大に集積され、連結可能匿名化の対応表は各施設の個人情報管理者が管理し病理判定する者には知らされていない。

C. 研究結果

解析対象となった 37 例の概要を表 1 に示す。年齢の中央値は 60 歳、PS は 0 が 17 例、1 が 13 例、2 が 7 例であった。Stage III が 27 例、IV が 10 例であった。また、組織型は漿液性腺癌 18 例、粘液性腺癌 2 例、類内膜腺癌 3 例、明細胞腺癌 3 例、腺癌の判定しかなかった症例が 11 例であっ

た。初回手術が行われた症例が 26 例で術前化学療法が行われた症例が 11 例であった。

表 1 症例の背景

		症例数
Median age (range)	60 (36-80)	
PS (ECOG ¹)	0	17
	1	13
	2	7
Stage	III	27
	IV	10
Histology	Serous	18
	Mucinous	2
	Endometrioid	3
	Clear cell	3
Primary therapy	Adenocarcinoma, NOS ²	11
	Suboptimal surgery	26
	Neoadjuvant chemotherapy	11

¹ ECOG, European Cooperative Oncology Group

² NOS, Not Otherwise Specified

代表的な p16 蛋白免疫染色結果を図 1、図 2 に示す。図 1 では p16 蛋白陽性と判定した症例、図 2 に陰性と判定した症例である。

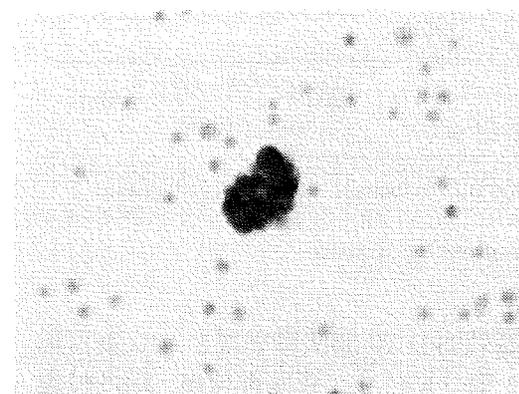


図 1 p16 蛋白陽性症例

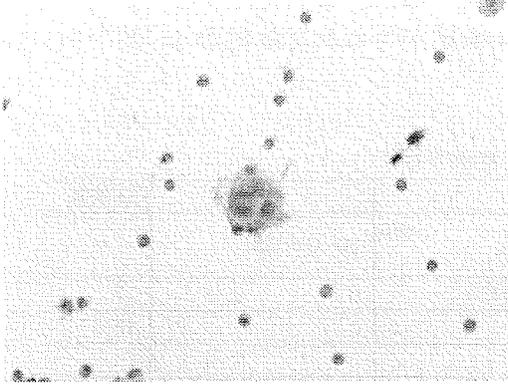


図2 p16 蛋白陰性症例

p16 蛋白の免疫染色の結果、TC 療法の効果がPRであった21例は全例(100%)において p16 蛋白発現が認められた。SD 症例 6 例中 3 例(50%)、PD 症例では 10 例中 3 例(30%)に p16 蛋白発現が認められた。3 群間で有意差が認められたうえに、PR+SD 群と PD 群、あるいは PR 群と SD+PD 群に分けても有意差を認めた(表2)。

表2 TC 療法奏効度と腹水腺癌細胞の p16 発現

	TC 療法の効果			p-value
	PR	SD	PD	
p16	21 / 21	3 / 6	3 / 10	<0.001
陽性症例数	(100%)	(50%)	(30%)	
	21 / 21	6 / 16 (44%)		<0.001
		24 / 27 (89%)	3 / 10 (30%)	0.001

PR, partial response; SD, stable disease;

PD, progressive disease

組織型別の TC 療法奏効度と p16 蛋白陽性率を表3に示す。漿液性腺癌、類内膜腺癌において高い TC 療法の奏効率と p16 蛋白陽性率を示す一方、粘液性腺癌と明細胞腺癌においては両者ともに低いことが判明した。

表3 組織型と TC 療法奏効度と p16 蛋白陽性率

組織型	TC 療法奏効率	p16 蛋白発現陽性数
Serous	13 / 18 (72%)	17 / 18 (94%)
Mucinous	0 / 2 (0%)	1 / 2 (50%)
Endometrioid	2 / 3 (67%)	2 / 3 (67%)
Clear	1 / 3 (33%)	1 / 3 (33%)
Adenocarcinoma NOS	5 / 11 (45%)	6 / 11 (55%)

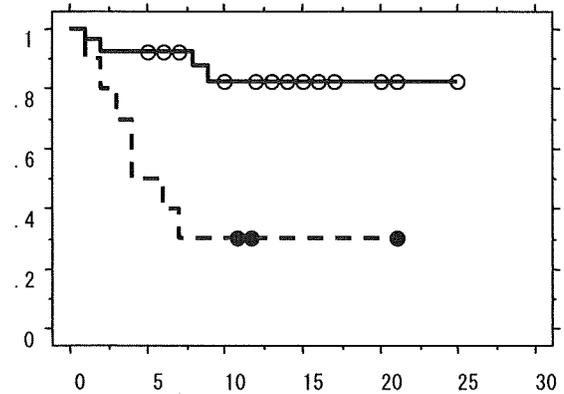


図3 p16 蛋白免疫染色別の全生存期間

実線は p16 蛋白免疫染色陽性、波線は p16 蛋白免疫染色陰性症例をしめす (p=0.00006)。

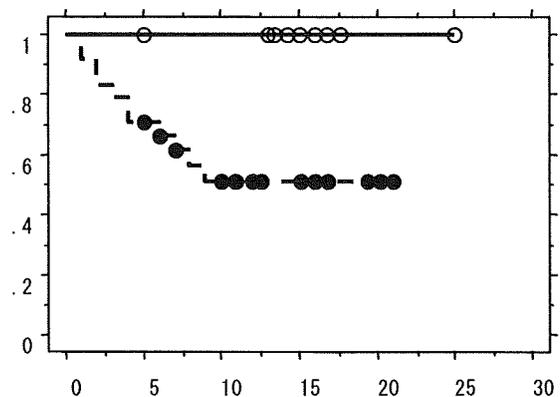


図4 核における p16 蛋白免疫染色別の全生存期間
実線は p16 蛋白免疫染色陽性、波線は p16 蛋白免疫染色陰性症例をしめす。核における p16 蛋白免疫染色陽性例では死亡例を認めていない。