

表 1 患者背景

Variables	CCC (n=111)	SAC (n=199)	p-value
<b>Age, median (range)</b>	52 (32-75)	55 (29-81)	0.03
<b>Stage</b>			<0.001
Stage I	60 (55%)	27 (13%)	
Stage II	12 (11%)	17 (9%)	
Stage III	34 (30%)	110 (55%)	
Stage IV	5 (4%)	45 (23%)	
<b>Residual tumor at initial surgery</b>			0.0001
None	79 (71%)	92 (46%)	
<1cm	10 (9%)	34 (17%)	
>1cm	22 (20%)	73 (37%)	
<b>Primary chemotherapy</b>			<0.001
Conventional platinum-based therapy*	46 (41%)	83 (42%)	
Taxane + platinum	12 (11%)	91 (46%)	
Irinotecan + platinum	42 (38%)	0 (0%)	
Not done	11 (10%)	25 (12%)	
<b>Response rate**</b>			<0.001
CR/PR	12 (32%)	108 (78%)	
SD/PD	25 (68%)	31 (22%)	

\*cyclophosphamide and platinum (CP) or cyclophosphamide, adriamycin, and platinum (CAP), or epirubicin and platinum (EP).

\*\* response was evaluated in the patients with measurable disease.

進行期別割合では、I 期症例は CCC で 55%、SAC で 13%と有意に CCC に I 期症例が多かった (p<0.001)。初回手術後に完全摘出術が可能であったのは CCC で 71%、SAC で 46%と CCC で有意に多かった (p=0.0001)。化学療法の効果が検討できた症例における奏効率は CCC 32%、SAC 78%と CCC は有意に低かった (p<0.001)。

表 2 進行期別の予後

FIGO stage	Five-year progression-free survival (%)		
	CCC	SAC	p-value
I	75	88	0.22
II	53	35	0.45
III	8	31	<0.01
IV	5	16	0.66
FIGO stage	Five-year overall survival (%)		
	CCC	SAC	p-value
I	86	92	0.30
II	59	58	0.60
III	22	48	<0.01
IV	20	39	0.18

I 期症例として CCC 60 例、SAC 27 例を多変量解析で解析したところ、癌性腹水/洗浄細胞診陽性は PFS ならびに OS に対する独立予後因子であった。組織型は予後因子とはならなかった (表 3)。

表 3 I 期症例における多変量解析

variables	Progression-free survival		
	Hazard ratio	95% confidence interval	p-value
Age (<60 vs. >60)	1.18	0.39-3.22	0.84
Peritoneal cytology (positive vs. negative)	2.82	1.05-7.58	0.04
Surgery (complete vs. incomplete)	0.42	0.16-1.08	0.07
Histology* (CCC vs. SAC)	2.10	0.60-7.40	0.25
variables	Overall survival		
	Hazard ratio	95% confidence interval	p-value
Age (<60 vs. >60)	0.93	0.56-3.37	0.91
Peritoneal cytology (positive vs. negative)	3.57	1.01-12.7	0.049
Surgery (complete vs. incomplete)	0.30	0.09-1.06	0.06
Histology* (CCC vs. SAC)	0.94	0.41-9.20	0.40

\*CCC, clear cell carcinoma; SAC, serous adenocarcinoma.

続いて CCC 51 例、SAC 172 例の II-IV 期症例を対象として予後因子を検討した。年齢、化学療法レジメンは PFS、OS ともに予後因子とはならなかったが、進行期と残存腫瘍の他に組織型 (CCC) も予後因子として抽出された (表 4)。

表 4 II-IV期症例に対する多変量解析

variables	Progression-free survival		
	Hazard ratio	95% confidence interval	p-value
Age (<60 vs. >60)	1.20	0.85-1.71	0.30
Stage (III/IV vs. II)	2.27	1.28-4.00	<0.01
Residual tumor (present vs. none)	2.04	1.44-2.89	<0.01
Chemotherapy* (non-conventional vs. conventional)	0.92	0.65-1.25	0.54
Histology** (CCC vs. SAC)	2.04	1.40-2.98	<0.01

\*Conventional chemotherapy, cyclophosphamide

variables	Overall survival		
	Hazard ratio	95% confidence interval	p-value
Age (<60 vs. >60)	1.16	0.77-1.75	0.48
Stage (III/IV vs. II)	2.04	1.08-3.70	0.03
Residual tumor (present vs. none)	2.50	1.64-3.82	<0.01
Chemotherapy* (non-conventional vs. conventional)	1.40	0.95-2.01	0.09
Histology** (CCC vs. SAC)	2.43	1.61-3.82	<0.01

and platinum (CP) or cyclophosphamide, doxorubicin, and platinum (CAP) or epirubicin and platinum (EP); non-conventional chemotherapy, paclitaxel/docetaxel plus carboplatin, or irinotecan plus cisplatin/carboplatin;

\*\*CCC, clear cell carcinoma; SAC, serous adenocarcinoma

II-IV 期症例の組織型別の Progression-free survival curve (図 1)、Overall survival curve (図 2) 示す。ともに有意に CCC の方が予後不良である。

Cumulative Percent (%)

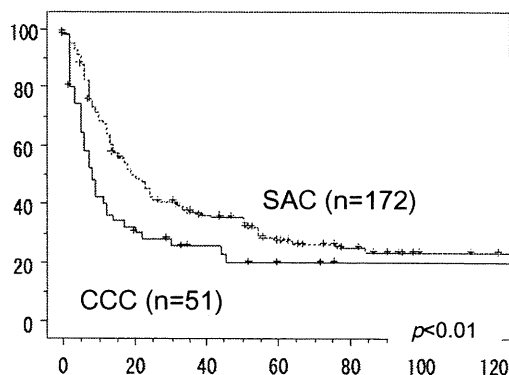


図 1 Progression-free survival (months)

Cumulative Percent (%)

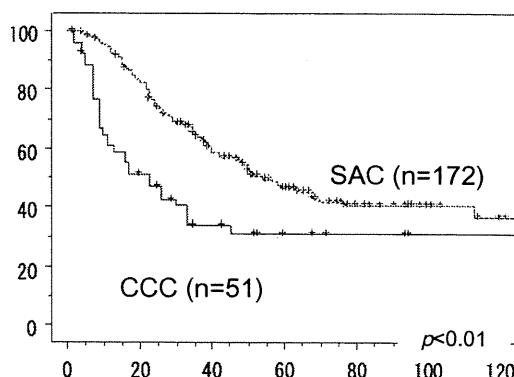


図 2 Overall survival (months)

#### D. 考察

I / II 期において CCC は SAC に比べても予後が同等であるという報告例が多数ある。その一方で、Chan et al は米国における癌登録制度 Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) のデータを解析し CCC 1411 例を含む多数例で組織型別の予後解析を行った (Chan et al. Gynecol Oncol 109: 370-376, 2008)。その検討では I 期、II 期共に CCC は SAC に比べて有意に OS が悪かったと報告している。前方視的に多数の症例を集積した臨床試験の結果から組織型の関与を解析しようとした ACTION trial のサブセット解析においては、CCC と SAC の予後は PFS、OS ともに同等と報告されている (Timmers et al. Int J Gynecol cancer 19: 88-93, 2009)。特筆すべきものとして、Sugiyama et al は統計学的有意差がないものの Ic 期においては CCC の予後が悪い傾向

にあるとした(Sugiyama et al. *Cancer* 88: 2584-2587, 2000)。今回の我々の解析でも統計学的有意差はなかったが、開腹時腹水細胞診陽性のIc期症例においてPFSが悪い傾向にあった。単施設での少ない症例数によるバイアスも否定できないのでさらに多数例での検討が必要であろう。本邦から多数のCCCを集積した解析結果からI期CCCの最も強い予後因子は腹水細胞診陽性であると報告があり(Takano et al. *British J Cancer* 94: 1369-1374, 2006; Takano et al. *Int J Gynecol cancer* 19: 1351-1357, 2009)、CCCにおける腹水細胞診陽性の意義はSACとも比較しつつ、今後さらなる検討が必要であろう。

III/IV期の進行例における報告のなかで、Sugiyama et alはIII期においてCCCはSACに比べて有意にOS不良とし(Sugiyama et al. *Cancer* 88: 2584-2587, 2000)<sup>1</sup>、Chan et alの検討でもIII、IV期ともにCCCはSACに比べて有意に予後不良としている(Chan et al. *Gynecol Oncol* 109: 370-376, 2008)。Bamias et alは手術後の後療法としてタキサン系と白金製剤で治療するとIII期症例でもCCCはSACと同等の予後を得るとしているが(Bamias et al. *Cancer* 116: 1462-1468, 2010)、CCCの症例数が少ないこと、術後の残存腫瘍の検討がしっかりされていないことを考慮すると注意が必要であろう。当院の検討でもIII/IV期全体ではCCCはSACに比べてPFS、OS共に不良であったが、optimalまたは完全手術施行例の予後は同等であり、suboptimal症例の予後の差がそのままIII/IV期症例全体の予後の差へ繋がったことが示唆される。

術後の化学療法について、当院ではCCCに対してTaxane+Ptでは効果が不十分と考え、Kita et alの報告に基づいて積極的にCPT+Ptを用いてきたが(Kita et al. *Oncol Rep* 7: 327-331, 2000)、Taxane+Ptに対する優位性まで提示できなかった。塩酸イリノテカンとシスプラチンの効果に関しては国際的前方視的検討であるGCIG/JGOG3017の結果が待たれるところである。

今回の検討結果からSACに比較してCCCであることは、残存腫瘍の大きな進行症例において予後不良因子になるうることが判明した。抗癌剤に対する低感受性が直接予後と関連したものと考えるが、OSだけでなくPFSに対してもCCCであることが独立予後因子となったことから腫瘍の大きさが耐性分子の早期出現などを介して奏効期間にも関与することが示唆される。卵巣癌の治療方針としてoptimal手術の重要性はいつも強調されているが、CCCの場合は残存腫瘍を有する進行症例は明らかに予後が不良であったことから、合併切除も念頭に入れ、完全摘出手術を目指す事が重要な治療戦略として挙げられよう。

また、CCCはHNF-1 $\beta$ (Tsuchiya et al. *Am J Pathol* 163: 2503-2512, 2003; Kato et al. *Mod Pathol* 19: 83-89, 2006)やHIF-1 $\alpha$ (Miyazawa et al. *Arch Gynecol Obstet* 279: 789-796, 2009; Miyazawa et al. *Pathol Int* 59: 19-27, 2009; Lee et al. *Gynecol Oncol* 106: 311-7, 2007)などの分子マーカーが高発現しており、これらをターゲットにした分子標的薬の開発も期待される。

## E. 結論

CCCはI期例ではSACと同等の予後であったが、進行例においてはPFS、OSともに有意に予後不良であった。CCCの予後改善のために初回手術療法において残存腫瘍のない完全摘出が重要であることが再確認された。

## 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. Goto T, Takano M, et al. Potential survival benefit of secondary cytoreductive surgery for recurrent epithelial ovarian, tubal, and peritoneal cancers. *Int J Gynecol Cancer* 2011, 21(2):263-268.

2. Yamamoto S, Takano M, Yaegashi N, et al. Validation of the histologic grading for ovarian clear cell adenocarcinoma: a retrospective multi-institutional study by the Japan Clear Cell Carcinoma Study Group. *Int J Gynecol Pathol* 30(2): 129-138, 2011.
3. Takano M, et al. Weekly administration of temsirolimus for heavily pretreated patients with clear cell carcinoma of the ovary: a report of six cases. *Int J Clin Oncol* 2011; 16(5):605-609.
4. Kudoh K, Takano M, et al. Effects of bevacizumab and pegylated liposomal doxorubicin for the patients with recurrent or refractory ovarian cancers. *Gynecol Oncol* 2011, 122(2):233-237.
5. Yamamoto S, Takano M, et al. Clear cell adenocarcinoma with a component of poorly differentiated histology: a poor prognostic subgroup of ovarian clear cell adenocarcinoma. *Int J Gynecol Pathol*, 2011, 30(5): 431-441.
6. Yamamoto S, Takano M, et al. Gene amplification and protein overexpression of MET are common events in ovarian clear-cell adenocarcinoma: their roles in tumor progression and prognostication of the patient. *Mod Pathol* 2011, 24(8): 1146-1155.
7. Yamamoto S, Takano M, et al. PIK3CA mutation is an early event in the development of endometriosis-associated ovarian clear cell adenocarcinoma. *J Pathol* 2011, 225(2): 189-194.
8. Yamamoto S, Takano M, et al. ACTN4 gene amplification and actinin-4 protein overexpression drive tumour development and histological progression in a high-grade subset of ovarian clear-cell adenocarcinomas. *Histopathology*, in press.
9. Yoshikawa T, Takano M, et al. Normal serum CA125 half-life and normal serum nadir CA125 level in patients with ovarian cancers. *Eur J Gynaecol Oncol*, in press.
10. Kato M, Takano M, et al. The mTOR-HIF-1 $\alpha$ -Glut1 signaling is highly associated with ovarian clear-cell adenocarcinoma development. *Int J Gynecol Pathol*, in press.
11. Yamamoto S, Takano M, et al. Accumulative copy number increase of MET drives tumor development and histological progression in a subset of ovarian clear-cell adenocarcinomas. *Mod Pathol* 2012, 25(1): 122-130.
12. Yamamoto S, Takano M, et al. PIK3CA mutations and loss of ARID1A protein expression are early events in the development of cystic ovarian clear cell adenocarcinoma. *Virchows Arch*, 2012, 460(1):77-87
13. Yamamoto S, Takano M, et al. Loss of ARID1A protein expression occurs as an early event in ovarian clear-cell carcinoma development and frequently coexists with PIK3CA mutations. *Mod Pathol*, in press.
14. Yoshihara K, Takano M, et al. High-risk ovarian cancer based on 126-gene expression signature is uniquely characterized by down-regulation of antigen presentation pathway. *Clin Cancer Res*, in press.
15. Takano M, et al. Complete remission of recurrent and refractory uterine epithelioid leiomyosarcoma using weekly administration of bevacizumab and temozolomide. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, in press.
16. Miyamoto M, Takano M, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma arising in mature cystic teratoma: a case report and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol*, in press.
17. 宮本守員、高野政志、他：「胸水貯留を

- 初発症状とし、子宮体癌と鑑別を要した卵管癌の一例」日本臨床細胞学会埼玉支部会誌 29:12-15、2011年
18. 宮本守員、高野政志、他:「早期の卵巣癌に対する系統的リンパ節郭清の治療的意義」癌と化学療法 2011, 38(11):1837-1840.
  19. 古谷健一、高野政志、他:「子宮筋腫に対する子宮動脈塞栓術(UAE):適応と治療成績」産婦人科治療, 2011, 103(6):604-608.
  20. 宮本守員、高野政志、他:「子宮体癌臨床進行期 I/II 期に対する子宮摘出の術式の検討」日本婦人科腫瘍学会雑誌 2011, 29(4):845-851.
  21. 精きぐな、高野政志、他:「画像診断と針生検-針生検で治療方針を決定した atypical polypoid adenomyoma」子宮筋層病変生検研究会誌 011, 11(1):10-11.
  22. 今井瑞葉、高野政志、他:「子宮筋腫分娩の治療法に関する検討」埼玉県医学会雑誌 2011, 46(1):261-265.
  23. 三上幹男、高野政志、他:「第4章 IB期とII期の術後補助療法、第5章III期とIV期の主治療」日本婦人科腫瘍学会編「子宮頸がん治療ガイドライン2011年版」金原出版株式会社 2011.11月
  24. 高野政志、他:「分子標的薬をいかに卵巣がん治療に導入するか?」日本婦人科腫瘍学会雑誌, 2011, 29:1-5.
  25. 高野政志、他:「卵巣がんの薬物療法-その現状と将来展望 2. 卵巣がん薬物療法の実例 1)上皮性癌に対する治療 ②組織型別卵巣がんの治療 a)明細胞腺癌に対する薬物療法」臨床腫瘍プラクティス 2011, 7(2):155-158.
  26. 高野政志. 「早期卵巣がんに対する化学療法の効果~ECO trial 提言の背景~」第9回婦人科悪性腫瘍研究機構年次会議(総会)記録集 120-124 2011.
2. 学会発表  
(特別講演、ワークショップ等)
1. 高野政志:特別講演「ASCO2011を振り返って」ヤンセンファーマWEBカンファレンス(2011、東京都)
  2. 高野政志:ASCO2011 review 婦人科腫瘍編. 宮城県婦人科腫瘍講演会(2011、仙台市)
  3. 高野政志:特別セミナー「がん診療における婦人科腫瘍の位置づけ-その特殊性と将来展望-」若手産科婦人科医師の夏期セミナー(2011、新潟市)
  4. 高野政志:特別講演「婦人科がん治療におけるトポテシンの位置づけ」学術セミナー~トポテシンの適正使用と個別化治療を探る~(2011、京都市)
  5. 高野政志:ランチョンセミナー31「再発婦人科がん治療-本邦からエビデンスを発信するために-」第63回日本産科婦人科学界学術講演会 8月29-31日,2011.大阪
  6. 高野政志、他:「卵巣明細胞腺癌の臨床像」第50回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7月22日-24日,2011.札幌.
  7. 宮本守員、高野政志、他:「子宮体癌に対する骨盤及び傍大動脈リンパ節郭清の検討」第50回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7月22日-24日,2011.札幌.
  8. 高野政志、他. 卵巣明細胞腺癌に対する分子標的療法の展望-臨床試験実施の可能性を探る-「前治療抵抗性卵巣明細胞腺癌に対する temsirolimus の使用経験」第8回婦人科がん会議 11月11日,2011.沖縄.  
(一般講演等)
  9. Kikuchi Y, Takano M, et al. Effects of weekly bevacizumab and paclitaxel/carboplatin with or without sorafenib on heavily pretreated patients with recurrent or persistent cervical cancer. The 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, June 3-7, 2011, Chicago, USA
  10. Kouta H, Takano M, et al. Bevacizumab can enhance therapeutic effects of pegylated liposomal doxorubicin in patients with platinum-resistant recurrent or refractory ovarian cancers. The 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, June

- 3-7, 2011, Chicago, USA
11. Goto T, Takano M, et al. International Session Oral Presentation "Retrospective analyses on prognosis high grade endometrial cancer:A comparison of serous type and clear cell type to Grade 3 endometrioid type." The 63rd annual meeting of Japan Society of Obstetrics and Gynecology, August 29-31, Osaka.
  12. Takano M, et al. Patients with stage IIIc ovarian clear cell carcinoma upstaged by lymph node metastasis have similar survival to other stage III clear cell carcinoma patients. The 63rd annual meeting of Japan Society of Obstetrics and Gynecology, August 29-31, Osaka.
  13. Takano M, et al. Lymph node status as a strong indicator of poor survival for advanced ovarian clear cell carcinoma. The 17th international meeting of European society of Gynaecological Oncology (ESGO) (2011, Milan, Italy)
  14. Goto T, Takano M, et al. Prognosis of high grade endometrial cancer: a comparison of serous type and clear cell type to grade 3 endometrioid type. The 17th international meeting of European society of Gynaecological Oncology (ESGO) September 11-14, 2011, Milan, Italy.
  15. 渡邊昭夫、高野政志、他. 再発卵巣がんの治療戦略—再発後長期生存者から学ぶ—. 第21回埼玉県産婦人科医会・婦人科腫瘍研究会 (2011、さいたま市)
  16. 笹 秀典、高野政志、他. 卵管間質部妊娠を子宮動脈塞栓術で保存療法した2例. 第56回防衛衛生学会 2月2-3日, 2011. 東京.
  17. 今井瑞葉、高野政志、他. 子宮筋腫分娩の治療法に関する一考察. 第56回防衛衛生学会 2月2-3日, 2011. 東京.
  18. 伊藤 希、高野政志、他. 婦人科腫瘍診断における針生検の有用性について—
  - 針生検により診断に至った卵巣未分化漿液性腺癌の一例. 第11回子宮筋層病変生検研究会 (2011、岡山市)
  19. 今井瑞葉、高野政志、他. 画像診断と針生検—針生検により治療方針を決定した Atypical polypoid adenomyoma の一例. 第11回子宮筋層病変生検研究会 (2011、岡山市)
  20. 藤田裕彰、高野政志、他. 診断困難であった子宮頸部腺癌症例の検討. 第48回埼玉県医学会 (2011、さいたま市)
  21. 邊 昭夫、高野政志、他. 放射線治療後異形成の細胞像を呈して12年後に頸部リンパ節に再発した子宮頸癌の1例. 第52回日本臨床細胞学会総会 5月20-22日. 2011. 福岡.
  22. 伊藤 希、高野政志、他. 子宮筋腫分娩に併存した子宮癌肉腫の1例—子宮癌肉腫例の検討. 第121回日本産科婦人科学会関東連合地方部会学術集会 6月12日. 2011. 東京
  23. 秋元太志、高野政志、他. Bevacizumab、temozolomide 併用療法により完全寛解を得た多剤耐性子宮平滑筋肉腫の一例. 第10回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会 7月2日. 2011. 島根.
  24. 曾山浩明、高野政志、他. 前治療抵抗性卵巣明細胞腺癌に対するtemsirolimusの使用経験. 第10回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会 7月2日. 2011. 島根.
  25. 本田一文、高野政志、他. 抗体ライブラリーを用いた進行卵巣がんの化学療法奏効性、予後予測マーカーの開発. 第10回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会 7月2日. 2011. 島根.
  26. 秋元太志、高野政志、他. Bevacizumab、temozolomide 併用療法により完全寛解を得た多剤耐性子宮平滑筋肉腫の1例. 第50回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7月22日-24日, 2011. 札幌.
  27. 後藤友子、高野政志、他. High grade子宮体癌における治療成績と予後についての検討. 第50回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7月22日-24日, 2011. 札幌.
  28. 渡邊昭夫、高野政志、他. 再発後長期

- 生存者から学ぶ再発卵巣がんの治療戦略. 第 50 回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7 月 22 日-24 日, 2011. 札幌.
29. 山本宗平、高野政志、他. 卵巣明細胞癌における MET 遺伝子増幅と MET 過剰発現: その臨床病理学的意義と治療標的としての可能性. 第 50 回日本婦人科腫瘍学会学術集会 7 月 22 日-24 日, 2011. 札幌.
30. 喜多恒和、高野政志、他. HIV 感染妊娠に特化したエイズ拠点病院の再整備に関する提案. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪.
31. 宮本守員、高野政志、他. 子宮体癌臨床進行期 I / II 期の子宮摘出の術式の検討. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
32. 今井瑞葉、高野政志、他. 子宮筋腫に対する子宮動脈塞栓術の適応と限界. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
33. 藤田裕彰、高野政志、他. 子宮頸部腺癌の診断における細胞診と狙い組織診の限界. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
34. 渡邊昭夫、高野政志、他. 当院における最近の子宮肉腫に対する検討. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
35. 曾山浩明、高野政志、他. 急速な転帰をとり病理解剖にて診断された undifferentiated endometrial sarcoma の一例. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
36. 秋元太志、高野政志、他. 神経内分泌分化を示した悪性転化を伴う成熟のう胞性奇形腫の一例. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
37. 松浦寛子、高野政志、他. 血管閉塞用バルーンカテーテル併用により腫瘍摘出を行った深部静脈血栓合併卵巣明細胞腺癌の一例. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 8 月 29-31 日, 2011. 大阪
38. 小宮慎之介、高野政志、竹島信宏、他. Bevacizumab, Gemcitabine, Oxaliplatin 併用療法が著効をしめした多剤耐性卵巣漿液性癌の一例. 第 122 回関東連合産科婦人科学総会・学術集会 (2011、横浜市) 大久保和樹、高野政志、他. 優秀演題候補」当院における卵黄嚢腫瘍 14 症例の検討. 第 122 回関東連合産科婦人科学総会・学術集会 10 月 30 日, 2011. 横浜
39. Yamamoto S, Takano M, et al. PIK3CA mutation is an early event in the development of endometriosis-associated ovarian clear cell adenocarcinoma. 第 70 回日本癌学会学術総会. 10 月 3-5 日, 2011. 名古屋.
40. 喜多恒和、高野政志、他. わが国の HIV 感染妊娠と母子感染予防対策の現状. 第 25 回日本エイズ学会学術集会 2011 年 11 月 30 日 -12 月 2 日. 東京.
41. 後藤友子、高野政志、他. 子宮体癌症例における治療成績と予後について組織型別の比較検討. 第 49 回日本癌治療学会学術集会 10 月 27-29 日, 2011. 名古屋.
42. 笹秀典、高野政志、他. 子宮頸部上皮内腫瘍合併妊娠の管理とピットホール. 第 50 回日本臨床細胞学会秋期大会 10 月 22 -23 日, 2011. 東京
43. 太枝美帆、高野政志、他. 産科出血の対応と限界. 第 15 回産婦人科臨床フォーラム 12 月 9 日, 2011. 東京.
- 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

卵巣 Microcystic stromal tumor に関わる病理学的因子の同定に関する研究

研究分担者 中川俊介 帝京大学医学部 産婦人科・講師

研究要旨

Microcystic stromal tumor(以下 MCST)は微小な嚢胞状の組織学的所見を特徴とする特殊な卵巣腫瘍である。免疫染色法では CD10, Vimentin の染色陽性を特徴とするとされてきた。我々は MCST の症例を経験し、新規の免疫組織学的検索と腫瘍の発生に関わる遺伝子である b-catenin の遺伝子変異の有無を解析し、b-catenin の核内での異常発現が MCST 症例に共通して認められること、そして b-catenin 遺伝子の 33 番アミノ酸のセリンをコードするヌクレオチドがシステインをコードするヌクレオチドに変異をしていることを見いだした。このことは MCST の発生に b-catenin 遺伝子の機能異常が関与している可能性を示唆する。

A. 研究目的

Microcystic stromal tumor(以下 MCST)は微小な嚢胞状の組織学的所見を特徴とする特殊な卵巣腫瘍である。免疫染色法では CD10, Vimentin の染色陽性を特徴とするとされてきた。

MCST は Irving と Young により 2009 年に提唱された新規卵巣腫瘍の概念であり、その明確な診断基準は現在のところ、確立されていない。現在までに言われている CD10, Vimentin の染色陽性以外の免疫組織学的検索による本腫瘍に特異的なマーカーの存在を検索し、本腫瘍の診断の一助とすべく、いくつかの候補蛋白の免疫染色、また発癌に関わる b-catenin 遺伝子異常の有無を検索した。

B. 研究方法

我々が今回経験した 2 例の MCST 症例の病理ブロックを用いて、新規候補蛋白の免疫組織学的検索を行った。

また、発癌に関わる遺伝子異常の有無を検索するべく、b-catenin 遺伝子の変

異の有無を腫瘍から抽出した組織の遺伝子を用いて検討した。鑑別すべき卵巣腫瘍として、顆粒膜細胞腫、莢膜繊維腫、性索間質腫瘍等を挙げ、これらとの免疫組織学的検索による鑑別を試みた。

(倫理面への配慮)

特になし。

C. 研究結果

現在まで報告されてきた vimentin と CD10 は今回の検討でもやはり免疫染色陽性であった。我々はこれに加えて、b-catenin の核内強発現を今回の症例に共通に認めた。更に Wilms tumor-1(WT-1)の核内発現も同様な特徴として、新規に同定した。また b-catenin の 33 番アミノ酸をコードする領域にセリンからシステインにアミノ酸が置換される変異を同定した。

D. 考察

MCST 症例に共通して b-catenin の 33 番アミノ酸をコードする領域にセリンか



らシステインにアミノ酸が置換される変異を同定したことより、本腫瘍の発生に Wnt/  $\beta$ -catenin 経路の異常が関与している可能性を明らかにした。

#### E. 結論

$\beta$ -catenin の 33 番アミノ酸変異とそれによる核内への発現の移行が MCST 発症に関与する可能性が示された。

#### 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. Maeda D, Nakagawa S, et al.  $\beta$ -catenin (CTNNB1) S33C mutation in ovarian microcystic stromal tumors. Am J Surg Pathol. 2011, 35(10):1429-1440.

##### 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

進行卵巣癌に対する腹腔鏡適用に関する検討

研究分担者 星合 昊 近畿大学産婦人科・教授

研究要旨

一次手術による optimal 化が不可能と判断された進行卵巣癌に対して腹腔鏡下に病変の進展診断と組織生検を行った症例について後方視的に解析を行った。この結果、全例ともに腹腔鏡による組織診断が可能であり、合併症による再開腹例は 1 例も認められなかった。以上の結果から、進行卵巣癌に対する腹腔鏡は術前化学療法の実施を前提とした症例においても、有用な情報が得られる安全な手技であると考えられた。

A. 研究目的

一次手術による腫瘍完全摘出が困難と判断される進行卵巣癌に対する腹腔鏡の安全性と有用性について検討する。

B. 研究方法

腹腔鏡が適用された進行卵巣癌について後方視的に検討する。  
(倫理面への配慮)

臨床試験の実施に合わせて近畿大学倫理委員会にて承認を得た。

C. 研究結果

17 例において観察期間中央値 1060 日の検討が可能であった。進行期分布は 3 期 10 例、4 期 7 例であり、転移性卵巣癌 2 例が含まれた。化学療法後 2 次手術施行可能例は 11 例 (64.7%) であり、予後は無病生存 2 例、担癌生存 4 例、原病死 11 例であった。腹腔鏡施行後合併症による再開腹例は認められず、血液検査上は腹腔鏡施行後 2 日以内の化学療法の適用が可能と判断された。

D. 考察

進行卵巣癌に対する腹腔鏡は術前化学療法の実施を前提とした症例においても、有用な情報が得られる安全な手技である

と考えられた。

E. 結論

進行卵巣癌においても積極的な腹腔鏡適用による臨床情報採取が有用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. Watanabe Y, Hoshiai H, Ochiai K, et al. Evaluation of oral etoposide in combination with cisplatin for patients with recurrent cervical cancer: long-term follow-up results of a Japanese multicenter study. Anticancer Res. 2011, 31(9):3063-3067.

2. Hata K, Hoshiai H, et al. Expression of the vascular endothelial cell growth factor (VEGF) gene in epithelial ovarian cancer: an approach to anti-VEGF therapy. Anticancer Res. 2011, 31(2):731-737.

2. 学会発表

星合 晃:「産婦人科領域における内視鏡の普及と発展」第24回日本内視鏡外科学会 2011年12月8日. 大阪市.

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

再発卵巣癌に対する Cisplatin, Gemcitabine 併用療法に関する研究

研究分担者 齋藤 俊章 九州がんセンター 婦人科・部長

研究要旨

再発卵巣癌に対する治療は化学療法が主体であり、現在では有害事象のプロファイルの異なる薬剤を使用して化学療法を継続して行うことにより、多くの症例で病勢の維持が可能である。プラチナ感受性卵巣癌の標準化学療法は Carboplatin+Paclitaxel 療法 (TC 療法) であるが、その後の治療は確立していない。我々は新しく卵巣癌治療薬として承認された Gemcitabine (Gem) を早くから Cisplatin と併用して使用してきた (CisGem 療法)。欧米ではプラチナ製剤としては Carboplatin が一般的に使用されている (CarboGem 療法) が、多くの場合 Carboplatin は既に頻回使用されている場合が多いからである。本研究でパイロット的に行った 3rd line 以降の CisGem 療法は、非血液毒性が軽く、Carboplatin が多用された症例に対して使用する候補治療となると考えられた。

A. 研究目的

欧米においては再発卵巣癌に対する Gem を含めた併用療法として CarboGem 療法が一般化しつつある。しかし、膵・胆道癌や非小細胞癌では CisGem 療法も広く行われている。我々は CisGem 療法を Carboplatin が多用された 3rd line 以降の一部の症例にパイロット的に行ってきたので、その有害事象及び効果について検討した。

B. 研究方法

2006年1月から2011年10月までに再発卵巣癌計18例(卵管癌1例、腹膜癌3例含む)に対してCisGem療法 (CDDP30mg/m<sup>2</sup>, GEM750mg/m<sup>2</sup>, day1.8)を行った。その効果及び有害事象について評価、検討を行った。

(倫理面への配慮)

いずれの症例も前の化学療法に耐性であり、有害事象から Carboplatin を使用することが困難な症例であった。なおか

つ、継続して化学療法を行うことを強く希望する症例に限定した。治療前に他の単剤療法を含む化学療法の説明も行われ、本治療の同意が書面にて得られた症例のみを対象とした。

C. 研究結果

CisGem 療法が施行された症例は 18 例で治療前に行われた化学療法のレジメン数は、2-4 で 3 レジメンが最も多かった。全てのレジメンに Carboplatin が使用され、Cisplatin が使用されているものはなかった。PS はいずれも 0 または 1 であった。治療前の問題として、血液毒性の遷延、末梢神経障害の増強、カルボプラチンアレルギー、消化器症状などを認めた。平均施行回数は 3.9 回、PFS の中央値は 3.5 ヶ月で、生存期間中央値は 11 ヶ月であった。

血液毒性では好中球減少は G3 が 8 例 (44.4%)、G4 は 2 例 (11.1%)。血小板減少は G3 が 9 例 (50.0%)、G4 が 3 例 (16.7%)。血小

板輸血は3例で施行された。非血液毒性は嘔気が7例(38.9%)、嘔吐が2例(11.1%)、食欲低下が5例(27.8%)にみられ、いずれもG1だった。腎毒性は1例にG2のCr値上昇があった。

#### D. 考察

現在における再発卵巣癌に対する治療は対象をプラチナ感受性癌とプラチナ抵抗性癌に分けて治療方針が決定されている。すなわち、プラチナ感受性癌に対しては白金製剤を含む併用療法が、プラチナ抵抗性癌に対してはQOLを重視し、単剤による治療が推奨されている。実際にはプラチナ抵抗性癌においても初回治療には併用療法を試みることも多い。併用療法においては治療の簡便性や有害事象のプロファイルから Carboplatin が使用されることが多い。しかし、多くの例で前治療に Carboplatin が多用されていることが多く、耐性という観点や有害事象のプロファイルを変えろという視点から、Cisplatin の使用も考慮されるべきである。

再発卵巣癌の併用療法の代表的なものは白金製剤とタキサン系製剤の併用である。特にプラチナ感受性卵巣癌では、TC療法が、標準療法として初回治療と同様に多く使用されている。その後の治療法としてはそれと異なる作用機序や異なる有害事象のプロファイルを持つ薬剤を併用することが試みられており、Carboplatin とリポソーム化ドキシソルピシン(PLD)の併用療法や CarboGem 療法の併用療法などがある。いずれもTC療法とほぼ同等の効果が得られると考えられている。

このうち CarboGem 療法は非血液毒性のプロファイルがTC療法と大きく異なり、また消化器症状が少ないことから、有望視されている。但し、欧米のデータからは血液毒性はTC療法や Carboplatin, PLD 併用療法と比較すると強い傾向がある。これらの治療をそのまま日本人に応用し

た場合、かなり強い骨髄抑制が発生することが懸念される。

我々は Gemcitabine が膵癌等で Cisplatin と併用され、その使用の compliance が良好であることから、有害事象の蓄積から他に使用できる治療法のない一部の再発卵巣癌に対して、CisGem 療法を試みてきた。本研究はこのパイロット的使用の検討を行ったものである。

結果として、血小板輸血を必要とする血小板減少を含めG3以上の血小板減少が66.7%と高いことが分かったが、G4は16.7%で注意して使用すれば安全に行える範囲であると考えた。一方で非血液毒性は発生するもののいずれもG1で、患者にとって苦痛の少ない治療であることが分かった。

#### E. 結論

CisGem療法は毒性として、血小板減少に注意する必要があるが、予想に反し消化器症状等の非血液毒性は少なく、日本人にも使用し易い治療法である可能性があると考えられた。今後本邦で使用が増えるCarboGem療法とCisGem療法をその効果、有害事象について臨床試験によって比較検討する価値があると考えられる。

#### 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. Yanazume S, Saito T, et al. Reassessment of the utility of frozen sections in endometrial cancer surgery using tumor diameter as an additional factor. *Am J Obstet Gynecol.* 2011, 204(6):531.e1-e7.
2. Yasunaga M, Saito T, et al. Dedifferentiated chondrosarcoma arising in a mature cystic teratoma of the ovary: a case report and

- review of the literature. Int J Gynecol Pathol. 2011, 30(4): 391-394.
3. Yamada Y, Saitou T, et al. Sclerosing variant of perivascular epithelioid cell tumor in the female genital organs. Pathology International. 2011, 61(12): 768-772.
  4. 齋藤俊章:「再発子宮頸癌の治療 -治療をめざすには-」日本婦人科腫瘍学会雑誌 2011, 29(2): 278-285.
  5. 有吉和也、齋藤俊章:「卵巣がん 最新の治療戦略【再発卵巣がん治療】TC療法の適応と限界」臨床婦人科産科 2011, 65(7): 924-930.
  6. 齋藤俊章:「子宮頸癌 I b2 期とその治療」産婦人科治療 2011, 102(6): 967-974.
  7. 齋藤俊章:「稀な婦人科がんの診療ストラテジー, 外陰癌, 悪性黒色腫(メラノーマ)」産婦人科の実際 2011, 60(8): 1123-1132.
  8. 齋藤俊章:「クリニカルディベート 1)腫瘍、3)子宮頸癌 I b2 期に対する治療、5)広汎子宮全摘術適用の立場に立って」日本産科婦人科学会雑誌 2011, 63(12): N-140-N-145.
  9. 有吉和也、齋藤俊章:「外陰癌の手術療法」産婦人科治療 2011, 103(6):637-642.
2. 学会発表
    1. 安永昌史、齋藤俊章、他:「右広間膜内に発育した Sclerosing perivascular epithelioid cell tumor (PEComa) の一例」第 50 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会. 2011年7月22-24日. 札幌
    2. 齋藤俊章. 生涯研修プログラム、1.クリニカルディベート 1) 腫瘍、③子宮頸癌1b2期に対する治療、5) 広汎子宮全摘術適用の立場に立って. 第63回日本産科婦人科学会学術講演会、2011年8月29-31日、大阪
    3. 有吉和也、齋藤俊章、小林裕明、他:「外陰癌の手術療法の後方視的検討(特に術式と予後、合併症の観点から)」第63回日本産科婦人科学会学術講演会、2011年8月29-31日、大阪
    4. 今村紘子、齋藤俊章、他:「子宮由来 Ewing sarcoma/primitive neuroectodermal tumor (PNET) の1例」第63回日本産科婦人科学会学術講演会、2011年8月29-31日、大阪.
    5. 安永昌史、齋藤俊章、他:「稀な肉腫への悪性転化を伴う成熟嚢胞性奇形腫の一症例」第63回日本産科婦人科学会学術講演会、2011年8月29-31日、大阪.
    6. 中西透、齋藤俊章、他:「白金製剤感受性再発卵巣がんに対するリポソーム化ドキシソルビシン (PLD) とカルボプラチン (CBDCA) 併用療法に関する第Ⅱ相臨床試験」第63回日本産科婦人科学会学術講演会、2011年8月29日-31日、大阪.
  - 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

上皮性卵巣癌における免疫関連遺伝子の発現解析

研究分担者 落合 和徳 東京慈恵医科大学 産婦人科・教授

#### 研究要旨

腫瘍局所免疫は多くの癌種において、その発生・進展に大きく関わる。本研究では、上皮性卵巣癌におけるサイトカインを中心とした免疫関連遺伝子の発現を網羅的に解析し、腫瘍局所免疫と臨床病理学的因子との関与を明らかにすることを目的とした。免疫関連遺伝子の網羅的発現解析により、上皮性卵巣癌の病理組織型を特徴づける発現プロファイルを見いだした。特に明細胞腺癌では IL-6 を含む、Th2 サイトカイン優位の発現パターンを呈した。この研究成果は、化学療法抵抗性を示す明細胞腺癌に対する新たな治療戦略として、卵巣癌患者の個別化治療の一つの指標となることが想定され、術前化学療法患者選択の可能性を広げるものと思われる。

#### A. 研究目的

腫瘍局所免疫は癌の発生及び進展に大きく関わるということが知られており、上皮性卵巣癌においても各種サイトカイン遺伝子の発現異常と発癌及び予後との関連が報告されている。本研究は上皮性卵巣癌におけるサイトカイン遺伝子を中心とした免疫関連遺伝子の発現を網羅的に解析し、腫瘍局所免疫と臨床病理学的因子との関与を明らかにする事を目的とした。上皮性卵巣癌における免疫系遺伝子の発現プロファイルを病理組織・臨床病期・予後などと比較検討することで、卵巣癌の局所免疫機構の分子生物学的な解明することを試みた。

#### B. 研究方法

東京慈恵会医科大学附属病院で外科手術が施行された上皮性卵巣癌症例63例よりインフォームド・コンセントを得て収集した腫瘍組織を解析対象とした。各種臨床病理学因子（年齢・PS・病理組織型・FIGO進行期・残存腫瘍径など）は病歴より収集した。

卵巣癌における免疫関連遺伝子16種の mRNA 発現解析は、腫瘍組織より抽出した RNA を用いて、Real-time RT-PCR法により行った。以下に示す免疫関連遺伝子及びコントロールとして Human 18S ribosomal RNA の定量的発現解析を施行した。

#### TaqMan Cytokine Gene Expression Plate

interleukin 1 $\alpha$  (*IL-1 $\alpha$* ),  
interleukin 1 $\beta$  (*IL-1 $\beta$* ),  
interleukin 2 (*IL-2*),  
interleukin 4 (*IL-4*),  
interleukin 5 (*IL-5*),  
interleukin 8 (*IL-8*),  
interleukin 10 (*IL-10*),  
interleukin 12 p35 (*IL-12p35*),  
interleukin 12 p40 (*IL-12p40*),  
interleukin 15 (*IL-15*),  
interferon- $\gamma$  (*IFN- $\gamma$* ),  
tumor necrosis factor- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* )

#### TagMan Gene Expression Assays

interleukin 6 (*IL-6*),  
MHC class II antigen, DR alpha  
(*HLA-DRA*),  
MHC class II antigen, DP alpha 1  
(*HLA-DPA1*)

解析データは 2- $\Delta\Delta$ CT法を用いて変

換後、Normalizationを施行した。Gene Cluster及びTree Viewプログラムを用いてクラスタリング解析を行い、同解析にて得られたクラスター間の患者情報を対比することで、各種臨床病理情報に特異的な発現プロファイルの抽出を行った。(倫理面の配慮)

本研究は東京慈恵会医科大学の倫理委員会、ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会にて承認を得ている。

### C. 研究結果

免疫関連遺伝子 16 遺伝子中、発現頻度が全対象中 30%以下であった 4 遺伝子を除き、12 遺伝子を解析に使用した。また、CT 値の平均が 35 サイクル以上の 13 症例を除き、計 50 症例を解析対象とした。

クラスタリング解析により、卵巣癌 50 症例は大きく 2 つのクラスター (A, B) に分類された。クラスター A には、漿液性腺癌 24 症例中 20 症例 (83%)、類内膜腺癌 5 症例中 4 症例 (80%) 及び明細胞腺癌 21 症例中 4 症例 (19%) がクラスターした。一方、クラスター B には漿液性腺癌 4 症例 (17%)、類内膜腺癌 1 症例 (20%) 及び明細胞腺癌 17 症例 (81%) がクラスターした。このクラスターと組織型及び臨床病期との相関は統計学的に有意であった。その他の因子には有意な相関関係は認められなかった (下表)。

因子	A	B	P
年齢			
≤ 60	23	18	0.733
> 60	5	4	
組織型			
明細胞腺癌以外	24	5	<0.001
明細胞腺癌	4	17	
FIGO stage			
I+II	9	15	0.011
III+IV	19	7	
残存腫瘍			
≤ 1 cm	17	16	0.373
> 1 cm	11	6	

遺伝子発現については、クラスター B において、IL-6、IL-8、IL-10 などの Th2 サイトカイン遺伝子の発現が高い傾向を認めた。

### D. 考察

本研究では、12 種の免疫関連遺伝子の網羅的発現解析により上皮性卵巣癌の病理組織型を特徴づける発現プロファイルを見いだした。特に卵巣明細胞腺癌では IL-6 を中心とした Th2 サイトカイン優位の発現パターンを呈した。炎症性サイトカインである IL-6 は感染、損傷、炎症などで惹起される生体防御機構において重要な役割を果たす Th2 サイトカインである。卵巣癌においては、マイクロアレイなどの high-throughput 解析により、IL-6 が明細胞腺癌において高発現であることが報告されている。

また、卵巣癌患者の血清及び腹水における IL-6 発現量は予後と相関することも確認されている。近年、薬剤耐性卵巣癌細胞株を用いた基礎研究において、IL-6 が Stat3 のリン酸化を介して薬剤感受性に寄与し、そのモノクローナル抗体は in vitro で抗腫瘍効果を持つことが示された。卵巣明細胞腺癌は、薬剤耐性や血栓症との高頻度の合併など、そのユニークな臨床病態が特徴であり、本研究成果は、その臨床病態解明の一助と成りうる可能性がある。

### E. 結論

本研究では、上皮性卵巣癌の病理組織型を特徴づける発現プロファイルを見いだした。特に化学療法抵抗性を特徴とする明細胞腺癌では IL-6 が高発現であった。本研究成果は新たな治療戦略として、卵巣癌患者の個別化治療の一つの指標となることが想定され、術前化学療法患者選択の可能性を広げるものと思われる。

### 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. 高倉 聡、落合和徳、他：「【がん合併症の管理】リンパ浮腫. 癌と化学療法 2011, 38(4):528-533.
2. Hashimoto T, Ochiai K, et al. Cyclin D1 predicts the prognosis of advanced serous ovarian cancer. Exp Ther Med. 2011, 2(2):213-219.
3. Katsumata N, Ochiai K, et al. Phase II study of S-1, an oral fluoropyrimidine, in patients with advanced or recurrent cervical cancer. Ann Oncol. 2011, 22(6):1353-1357.
4. 大浦訓章、落合和徳、他：「産婦人科手技シリーズ 周産期手術 子宮内容除去術」産科と婦人科 2011, 78(1):1-11.
5. 坂本 優、落合和徳、他。「【婦人科がんのMolecular Biology】ゲノム異常」産科と婦人科 2011, 78(1):33-44.
6. 矢内原 臨、落合和徳、他：「【婦人科がんのMolecular Biology】細胞周期」産科と婦人科 2011, 78(1):54-58.
7. 高倉 聡、落合和徳、他：「【がん合併症の管理】リンパ浮腫」癌と化学療法 2011, 38(4):528-533.
8. 佐藤佳世、落合和徳、他：「診断の指針 治療の指針 卵巣がんのスクリーニング」総合臨床 2011, 60(5):787-788.
9. 藤原恵一、落合和徳、他：「婦人科グループの取り組み JGOGから世界への挑戦」腫瘍内科 2011 7(5):476-480.
10. 坂本 優、落合和徳、他：「子宮頸部病変の保存的治療 とくに子宮温存療法の種類とその適応について」日本婦人科腫瘍学会雑誌 2011, 29(3):680-690.

## 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

三次元培養系における細胞集塊を用いた  
ヒト卵巣癌が産生する血管新生因子に関する研究

研究分担者 小林 裕明 九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学・准教授

研究要旨

がんの浸潤や転移には、細胞の形態や運動等を制御する細胞骨格関連分子が深く関与している。がん細胞周囲の間質細胞ではアクチンファイバーの減少を伴う細胞間開裂が生じ、癌細胞がそこを通過し浸潤する現象がみられる。我々はアクチンファイバーの安定性をもたらすアクチン結合蛋白質カルポニン h1 (CNh1) に着目した。アデノウイルスベクターを用い CNh1 を腹膜中皮細胞へ導入したところ、同細胞内ではアクチンファイバーが安定化し播種や浸潤を抑制した。他方、卵巣がん細胞ではファイバーが過剰発現し増殖や浸潤が抑制された。

また、*in vivo* で卵巣癌腹膜播種モデルマウスにアデノウイルス-CNh1 を腹腔内投与し延命効果を認めた。しかし、操作の煩雑さや細胞毒性などのアデノウイルスベクターの欠点を考慮し、本研究ではより臨床応用しやすいベクターとして HIV-1 由来蛋白である Tat ペプチドを用いた。Tat ペプチドは細胞毒性を有さず高度な細胞膜透過性を持つ。これと CNh1 とを融合させ、その有用性を検討した。CNh1 遺伝子全長と同等の効果を有する CNh1 遺伝子部分に対応する CNh1 ペプチドを Tat ペプチドに融合させ、CNh1-Tat 合成ペプチドを作成し得た。このペプチドは以前のアデノウイルスをベクターとして CNh1 遺伝子全長を導入したときと同等のアクチン安定化効果を発揮し、この合成ペプチドを取り込んだ腹膜中皮細胞層は卵巣がん細胞の浸潤を抑制し、一方、取り込んだ卵巣がん細胞の増殖能および浸潤能は低下した。さらに腹膜中皮と卵巣がんの両細胞に合成ペプチドを取り込ませると、更にごがん細胞は腹膜中皮層に浸潤し難くなった。Tat ペプチドは卵巣がん細胞において導入効率が高く、遺伝子治療のベクターとして有用であると考えられた。今後は、臨床応用を目標に卵巣癌腹膜播種モデルマウスを用いた *in vivo* での検討を行う予定である。

A. 研究目的

がんの浸潤や転移には、細胞の形態や運動等を制御する細胞骨格関連分子が深く関与し、がん細胞周囲の間質細胞ではアクチンファイバーの減少を伴う細胞間開裂が生じ、がん細胞がそこを通過し浸潤する現象がみられる。我々は以前、アクチンファイバー

の安定性をもたらすアクチン結合蛋白カルポニン h1 (CNh1) に着目し、アデノウイルスベクターを用い卵巣がん腹膜播種に対する CNh1 遺伝子治療の基礎的検討を行った。CNh1 を腹膜中皮細胞へ導入したところ、アクチンファイバーが安定化し腹膜中皮細胞層へのがん細胞の浸潤を抑制した。

一方、卵巣がん細胞に導入するとアクチンファイバーが過剰発現し、増殖や浸潤が抑制された。*in vivo*でも卵巣がん腹膜播種モデルマウスにアデノウイルスをベクターとして *CNh1* を腹腔内投与したところ延命効果を認め、*CNh1* 遺伝子治療の臨床的有用性が示唆された。しかし臨床応用を考えたとき、アデノウイルスベクターには細胞毒性や導入効率の問題など多くの障壁がある。そこで本研究では、臨床応用しやすい安全なベクターとして高度な導入効率を持ちながら細胞毒性を示さない Tat ペプチドに着目し、*CNh1* の作用部位ペプチドを結合した *CNh1*-Tat 合成ペプチドを用いた *CNh1* 遺伝子治療の可能性を基礎的に検討することを目的とした。

## B. 研究方法

- 1) *CNh1* 遺伝子のどの部分が *CNh1* 遺伝子全長導入と同様の効果を発揮するか、腹膜中皮細胞と卵巣がん細胞の培養系で検証する。
- 2) 上記で有効と判明した遺伝子部分に対応する *CNh1* ペプチドを Tat ペプチドに融合させ、*CNh1*-Tat 合成ペプチドを作成する。それが *CNh1* 遺伝子導入と同様の効果を発揮するか、腹膜中皮細胞と卵巣がん細胞の培養系で検証する。
- 3) *CNh1*-Tat 合成ペプチドをヒト卵巣がん腹膜播種モデルヌードマウスに投与し、以前のアデノウイルスをベクターとした *CNh1* 遺伝子治療と同等以上の効果を発揮するか検証する。
- 4) 臨床応用に向けて、*CNh1*-Tat 合成ペプチドと抗癌剤治療との併用効果があるか、反復治療が可能か、につき腹膜播種モデルマウスを用いて検討する

(倫理面への配慮)

動物実験は院内の動物施設において、

同施設委員会が規定する実験倫理規定に準じて行われた

## C. 研究結果

- 1) *CNh1* 遺伝子全長と同等の効果を有する *CNh1* 遺伝子部分に対応する *CNh1* ペプチドを Tat ペプチドに融合させ、*CNh1*-Tat 合成ペプチドを作成した。Tat ペプチドは最も頻用されている 10 配列のものを用い、ペプチド C 末端に *CNh1* ペプチドとマーカーとしてのグルチニンを融合させたペプチドを作成した。
- 2) この合成ペプチドは以前のアデノウイルスをベクターとして *CNh1* 遺伝子全長を導入したときと同等のアクチン安定化効果を卵巣癌細胞株と腹膜中皮細胞株において発揮した。また、この合成ペプチドを取り込んだ腹膜中皮細胞層は卵巣癌細胞の浸潤を抑制し、一方、取り込んだ卵巣癌細胞の増殖能および浸潤能は低下した。さらに腹膜中皮と卵巣癌の両細胞に合成ペプチドを取り込ませると、更に癌細胞は腹膜中皮層に浸潤し難くなった。
- 3) と 4) に関しては現在、まだ実験中である。

## D. 考察

以前の我々の研究から、*CNh1* はがん細胞の増殖・浸潤を抑制するばかりでなく、宿主側細胞である腹膜中皮細胞のがん浸潤に対するバリアーとしての機能を高める作用も有すると考えられ、*CNh1* 遺伝子治療は同一遺伝子のがん抑制と宿主防御能の増強という二面的効果を有する新しい遺伝子治療となる可能性が示された。しかし、アデノウイルスをベクターとした遺伝子治療はすでに臨床で試みられたものの、施行する際の煩雑な手続きや安全性に関する問題、ウイルスに対する中和抗体の出現による効果減弱（繰り返しの治療に不向き）の問題などがあり、実臨床に応用するには不向きと思われた。

そこで、本研究では臨床応用しやすい安全なベクターとして Tat ペプチドに着目し、これに CNh1 の作用部位ペプチドを結合した CNh1-Tat 合成ペプチドを用いた CNh1 遺伝子治療の可能性を検討した。Tat ペプチドは HIV ウイルス由来の細胞膜透過能を持つ 10 個のアミノ酸から構成されるペプチドで、細胞膜のマクロピノサイトーシスで効率よく細胞内に取り込まれる。これまでに細胞毒性の報告はなく動物実験にも安全に投与され、欧米ではすでに、約 20 の Phase I や II の臨床試験も行われている。本研究の現在までの結果からは、CNh1-Tat 合成ペプチドは以前のアデノウイルスをベクターとして CNh1 遺伝子全長を導入したときと同等のアクション安定化効果を卵巣癌細胞株と腹膜中皮細胞株において発揮した。

#### E. 結論

現在はまだ培養細胞株においてしか CNh1-Tat 合成ペプチドの有用性を確認できていないが、今後、ヒト卵巣がん腹膜播種モデルヌードマウスでもその有効性が確認されれば、本ペプチドの卵巣がん腹膜播種への臨床応用への道が開ける。

#### 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. Ohgami T, Kobayashi H, et al. Low-dose mithramycin exerts its anticancer effect via the p53 signaling pathway and synergizes with nutlin-3 in gynecologic cancers. *Cancer Sci.* 2010, 101(6): 1387-1395.
2. Kaneki E, Kobayashi H, et al. Incidence of postmolar gestational trophoblastic disease in androgenetic moles and the morphological features associated

with low risk postmolar gestational trophoblastic disease. *Cancer Sci*, 2010, 101(7):1717-1721.

3. Okuma E, Kobayashi H, et al. Cytoplasmic and stromal expression of laminin ? 2 chain correlates with infiltrative invasion in ovarian mucinous neoplasms of gastro-intestinal type. *Oncol Rep*, 2010, 24(6):1569-1576.
4. Nishimura I, Kobayashi H, et al. Expression and localization of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in uterine carcinosarcoma. *Virchows Arch*, 2011, 458(1):85-94.
5. Ohishi Y, Kobayashi H, et al. Nuclear localization of E-cadherin but not beta-catenin in human ovarian granulosa cell tumours and normal ovarian follicles and ovarian stroma. *Histopathology*, 2011, 58(3): 423-432.

##### 2. 学会発表

1. 小林裕明. 公募研究助成報告：難治性再発卵巣がんに対するがん休眠状態を目指したテーラード化学療法の基礎的臨床的研究：第 49 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会 2010 年 12 月 4 日-5 日. 佐賀.
2. 小林裕明. 特別講演：Metronomic chemotherapy 理論に基づくがん休眠療法と維持化学療法：第 24 回関越 DIF 研究会、2011 年 2 月 19 日. 京都.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

1. 特許取得  
特記すべき事項なし
2. 実用新案登録  
特記すべき事項なし
3. その他  
特記すべき事項なし