症例報告

薬剤耐性遺伝子発現より薬剤を選択し化学療法を施行した 中枢神経系原発性悪性リンパ腫の1例

國 塩 勝 三 松 本 義 人 森 崎 訓 明
河 北 賢 哉 三 宅 啓 介 長 尾 省 吾

A Case with Primary Central Nervous System Lymphoma treated with Chemotherapy on the Basis of the Multidrug Resistance Gene mRNA Expression

by

Katsuzo Kunishio, M.D., Yoshihito Matsumoto, M.D., Kuniaki Morisaki, M.D.,
Kenya Kawakita, M.D., Keisuke Miyake, M.D., and Seigo Nagao M.D.

from

Department of Neurological Surgery, Kagawa Medical University

We reported a case in which a new preliminary treatment trial was performed successfully by chemotherapy using anti-cancer drugs selected on the basis of multidrug resistance gene mRNA expression from RT-PCR assay.

A 74-year-old female had gradually developed right hemiparesis. A CT scan revealed 2 homogeneously enhanced tumors, one in the left frontal and one in the left thalamic-peduncular areas. Biopsy of tumor in the left frontal lobe revealed a diffuse large B-cell lymphoma. Tumor tissue was examined for the expression of multidrug resistance gene mRNA such as MDR1, MRP1, cMOAT/MRP2, MXR1, MGMT and Topo II α using RT-PCR assay. The examination revealed overexpression of MDR1, MRP1, MGMT and Topo II α mRNA, but neither cMOAT/MRP2 nor MXR1 was expressed. First the patient was given a high-dose ($3.5\text{g}/\text{m}^2$) of methotrexate (MTX), and then the tumor in the left frontal lobe disappeared on a CT after 1 course of chemotherapy. However, the other tumor, in the left thalamic-peduncular region, showed regrowth after once disappearing. The patient was given successfully carboplatin ($400\text{mg}/\text{m}^2$), mitoxantrone ($10\text{mg}/\text{m}^2$), and prednisolone ($60\text{mg}/\text{m}^2$) with high dose MTX on the 2nd and 3rd courses of chemotherapy without irradiation. MR imaging after chemotherapy showed the complete disappearance of both tumors. After this the patient was discharged with a mild right hemiparesis.

(Received June 19, 2000 ; accepted December 10, 2000)

Key words : multidrug resistance gene, central nervous system lymphoma, MXR1
Jpn J Neurosurg (Tokyo) 10 : 469-474, 2001

はじめに

中枢神経系原発性悪性リンパ腫 (CNSL) は、これまで放射線療法を中心とした治療が行われてきたが、放射線療法のみでは短期間に再発し長期予後が不良であること、放射線の副作用としての脳萎縮による高次脳機能障

害発生の可能性が高いこともあり、放射線療法に加え種々の化学療法が試みられている^{3) 5) 7) 9) 15) ~ 17) 22)}。CHOP [cyclophosphamide (CPA), adriamycin (ADM), vincristine (VCR), prednisolone (PSL)] 療法がこれまで一般に普及してきたが、その評価は一定しておらず、長期予後の観点からは満足いくものとはいえない¹⁶⁾。近

香川医科大学脳神経外科／〒761-0793 香川県木田郡三木町池戸1750-1 (連絡先: 國塩勝三)

Address reprint requests to: Katsuzo Kunishio, M.D., Department of Neurological Surgery, Kagawa Medical University, 1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0793, Japan

A B C D
E F

Fig 1 A, B: Preoperative T1-weighted MR images showed iso intensity masses.
C, D: T2-weighted MR images showed slightly high intensity mass in the left frontal lobe and left thalamic-peduncular lesion.
E, F: T1-weighted MR images after Gd-DTPA demonstrated homogeneously enhanced lesions.

年, methotrexate (MTX) 大量療法および MTX に CHOP 療法などの他の化学療法を併用した投与法が試みられ, 良好な結果が報告されている^{5) 7) 9) 15) 17) 22)}. このような癌化学療法を行う場合に, 抗癌剤に対する腫瘍の耐性が大きな障害となっていることはよく知られている. 作用機序の異なる複数の薬剤に同時に耐性を獲得する機構を多剤耐性というが, この原因遺伝子としてこれまで multidrug resistance1 (MDR1), multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1), human canalicular multispecific organ anion transporter (cMOAT)/MRP2, MRP3, MRP4, MRP5, mitoxantrone resistance gene (MXR1), さらに O⁶ methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) および DNA topoisomerase II α (Topo II α) などが同定されている^{1) 2) 4) 6) 8) 10) ~13) 18) 19) 21)}.

今回, われわれは CNSL において, このような薬剤耐性遺伝子の発現結果を参考にした化学療法を行い, 良好な結果が得られたので報告する.

症 例

患 者: 74 歳, 女性

既往歴・家族歴: 特記すべきことはなかった.

現病歴: 1999 年 11 月 10 日より徐々に右片麻痺が進行し, 歩行困難となり発語が少なくなったため, 12 月 14

日当科入院となった.

神経学的所見: 運動性失語, 右片麻痺

血液生化学的検査: 異常は認められなかった.

全身ガリウムシンチ, 腹部 CT などの全身検索では頭蓋内以外の病変は認めなかった. 入院時頭部 MRI では, 左前頭葉および左視床から大脳脚に浮腫を伴い, T1 強調画像にて等信号, T2 強調画像でやや高信号で, Gd-DTPA にて均一に増強される腫瘍が認められた (**Fig. 1**). 12 月 16 日, 局麻下にて左前頭葉部腫瘍の定位的生検術を施行した. 組織診断は, diffuse large B-cell lymphoma であった.

RT-PCR 法: 本例の凍結組織検体を phenol-chloroform single step 法により RNA を抽出し, MDR1, MGMT, MRP1, cMOAT/MRP2, MXR1, Topo II α に特異的な primer を用いて 30 サイクルで RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 法を施行し, それぞれの mRNA の発現を検索した. それらの塩基配列は以下の如くである.

MDR1¹¹⁾: 5' primer; 5'-GCCTGGCAGCTGGAAGACAAATACACAAAATT-3', 3' primer; 5'-CAGACAGCAGCTGACAGTCCAAGAACAGGACT-3'

MGMT¹⁸⁾: 5' primer; 5'-CTCCTGGGCAAGGGGACGTCT-3', 3' primer; 5'-GATGAGGATGGGGACAGGATT-3'

Fig 2 2% agarose gels of MDR1, MGMT, MRP1, cMOAT, MXR and Topo II α RT-PCR products synthesized from mRNA of this case

Fig 3 A, B: CT scans 6 days after 1 course of high-dose MTX chemotherapy, demonstrating a reduced image of the left frontal tumor and the almost total disappearance of the left thalamic-peduncular lesion
C, D: CT scans 17 days after chemotherapy, revealing the almost complete disappearance of the left frontal tumor; however, also revealing the regrowth of the tumor in the left thalamic-peduncular lesion
E, F: MR images after 3 courses of chemotherapy demonstrating a complete disappearance of all lesions.

MRP1¹³⁾ : 5' primer ; 5'-AATGTCACGTGGAAT ACCAGC 3', 3' primer ; 5'-AACAGGCACGACTT GTTCC-3'

cMOAT/MRP2¹³⁾ : 5' primer ; 5'-TGAAGTTCTC CATCTACCTG-3', 3' primer ; 5'-CCAGCCAGTTC AGGGTTTGT-3'

MXR1¹⁹⁾ : 5' primer ; 5'-TGCCCAGGACTCAA TGCCC-3', 3' primer ; 5'-GACTGAAGGGCTAC TAACC-3'

Topo II α ²⁰⁾ : 5' primer ; 5'-TGTGGAGAGAAGCG GCTTGGTC-3', 3' primer ; 5'-TAGTTACTAGAAGT TAGGAGCTG-3'

β actin : 5' primer ; 5'-ATCACCATTGGAAT GAGCG-3', 3' primer ; 5'-TTGAAGGTAGTTTCGTG GAT-3'

その結果, MDR1, MRP1, MGMT, Topo II α は発現を認めたが, cMOAT/MRP2およびMXR1ではmRNAの発現はみられなかった (Fig. 2).

治療経過: 12月21日より, PSL 60mg/m²を併用したMTXの大量 (3.5g/m²) 投与を1クール行った. 治療6日後 (12月27日) のCTスキャンでは, 左視床から大脳脚の腫瘍はほとんど消失したが, 左前頭葉の腫瘍は5割程度の縮小効果しかみられなかった (Fig. 3A, B).

さらに2000年1月7日のCTスキャンでは左視床の腫瘍が再増大を認めたため (Fig. 3C, D), 薬剤耐性遺伝子発現の結果を参考にして, carboplatin (CBDCA) (400mg/m²), mitoxantrone (MIT) (10mg/m²) およびPSL (60mg/m²) をMTX大量投与 (3.5g/m²) に併用した. なお薬剤耐性遺伝子とそれに関連する抗癌剤をTable 1に記載する.

治療の結果, 3月17日のMRI画像では腫瘍は完全に消失した (Fig. 3E, F). 副作用として, 白血球減少 (最低値2000/ μ l), さらに血小板減少が主に化学療法開始9日後にみられたが, GCSFの投与にて対応可能であった. 3クール目の治療2日後に薬剤性アレルギーとして軽度の血圧低下をともなった薬疹が一過性に出現した. 神経

Table 1 Relationship between the drug resistance gene and related drug

Drug-resistance gene	Drug
MDR1 ¹¹⁾	vincristine, cyclophosphamide, methotrexate
MRP1 ⁸⁾¹⁰⁾¹²⁾	VP-16, adriamycin
cMOAT/MRP2 ¹²⁾¹³⁾	VP-16, (cisplatin)
MXR ¹⁹⁾	mitoxantrone
MGMT ¹⁸⁾²¹⁾	nitrosourea

学的に失語症は改善し、右片麻痺は改善傾向で現在リハビリ訓練中である。3クール目の治療より4カ月後の時点で再発はみられていない。

考 察

個々の腫瘍は組織型が同じであっても抗癌剤に対する感受性はそれぞれ異なっている。この要因の一つは抗癌剤に対する耐性の違いによるものが考えられる⁶⁾。抗癌剤に対する耐性機構として薬剤耐性遺伝子による薬剤排出機構があげられる⁶⁾。CNSLにおいて、個々の腫瘍での薬剤耐性遺伝子発現を検索することにより、より有効な抗癌剤による化学療法が行えるものと考えられる¹⁴⁾²⁰⁾²³⁾。MTXは大量投与により髄液中への移行が良好でロイコボリン救済療法の開発により、CNSLに対してもMTX大量投与療法が応用されるようになった⁷⁾⁹⁾¹⁵⁾²²⁾。

McAllisterら¹⁵⁾は、mannitol動注による血液脳関門開放にて大量MTX動注化学療法を10クール以上続行することで、放射線治療の併用なしで、高次脳機能を含めた長期予後が良好であったと報告している。今回、本症例は高齢であり、放射線療法は行わず、まずMTXの治療効果をみた後、薬剤耐性遺伝子検索結果を参考に、悪性リンパ腫の再発例などで使用される抗癌剤のCBDCAおよびMITを選択し治療を行った²³⁾。その結果3クール目の時点ではcomplete remission (CR) が得られた。本例において、1クール目のMTX大量療法で縮小した腫瘍が短期間で再び増大したことは興味深い。この原因として、初回治療としてMTXの大量投与を行い、ある程度の効果がみられたが、MDR1陽性のMTX耐性腫瘍細胞が早期に再増大したものと推察される。すなわち、本例のようなMTX耐性の症例では、大量といえども効果は十分期待できないと考えられる。事実、MTX大量療法の奏効率は60～90%で、効果がみられない症例も散在するのはこのような薬剤耐性遺伝子発現が関係するものと考えられる⁷⁾⁹⁾¹⁵⁾²²⁾。

一方、本例における2つの腫瘍の薬剤に対する反応は

異なっていることは興味深い。その理由として、薬剤耐性遺伝子検索は左前頭葉のもので、左視床の生検は施行していないが、両者の遺伝子発現が異なるものであるからだと推察される。

MDR1は、エネルギー依存性薬剤排出ポンプで、VCR、CPA、MTXなどの耐性に関与すると考えられており²⁾、MRP1もMDR1と同様薬剤排出ポンプの一つでATP-binding protein (ABC) transporterに属し、etoposide (VP-16)、ADM耐性に関与すると考えられている⁴⁾⁶⁾。cMOAT/MRP2はCDDP耐性に関与することが指摘されたが不明な点も多く、VP-16耐性との関連性が重視されている⁸⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾。MGMTの発現とグリオーマにおけるACNU耐性に関しては臨床例でも報告は散見される¹⁸⁾²¹⁾²⁴⁾。さらにTopo II α は、DNA合成に不可欠な酵素で細胞増殖に最も関与するが、このTopo II α を標的とする抗癌剤 (Topo II α inhibitor) としてVP-16やADMなどの薬剤がある¹²⁾¹³⁾。最近、Miyakeら¹⁹⁾はMITに対する特異的な薬剤排出ポンプである耐性遺伝子 (MXR1) を同定している。

本例の腫瘍組織では、cMOAT/MRP2およびMXR1の発現はみられなかったことより、抗癌剤として悪性リンパ腫の難治例や再発例などで使用されるCBDCAとMITを選択した²³⁾。

CNSLにおける中途半端な化学療法の中止は、薬剤に対する耐性の獲得に関連し、再発時の治療をより困難なものにすることになり得る。したがって初期療法を徹底すべきであるとの意見が強い。本例では3クール目に薬剤アレルギーがみられ、以後の治療は家族が望まなかったため中断しているが、今後徹底した経過観察が重要で放射線療法も検討している。

まとめ

薬剤耐性遺伝子の検索結果より選択した抗癌剤にて化学療法を施行し有効であった高齢者のCNSLの1例を報告した。今後CNSLにおいては、一連の薬剤耐性遺伝子発現を参考にした化学療法、いわゆる“テーラーメード”

の治療が期待される。

文 献

- 1) Beck WT: Unknotting the complexities of multidrug resistance: The involvement of DNA topoisomerases in drug action and resistance. *J Natl Cancer Inst* **81**: 1683-1685, 1989.
- 2) Becker I, Becker KF, Meyermann R, Höllt V: The multidrug-resistance gene MDR1 is expressed in human glial tumors. *Acta Neuropathol* **82**: 516-519, 1991.
- 3) Boiardi A, Silvani A, Valentini S, Salmaggi A, Allegranza A, Broggi G: Chemotherapy as first treatment for primary malignant non-Hodgkin's lymphoma of the central nervous system: Preliminary data. *J Neurol* **241**: 96-100, 1993.
- 4) Cole SPC, Bhardwaj G, Gerlach JH, Mackie JE, Grant CE, Almquist KC, Stewart AJ, Kurz EU, Duncan AMV, Deeley RG: Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistance human lung cancer cell line. *Science* **258**: 1650-1654, 1992.
- 5) DeAngelis L, Yohalom J, Thaler H, Kher U: Combined modality therapy for primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* **10**: 635-643, 1992.
- 6) Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I: Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci* **84**: 265-269, 1987.
- 7) Glass J, Gruber ML, Cher L, Hochberg FH: Preirradiation methotrexate chemotherapy of primary central nervous system lymphoma: Long-term outcome. *J Neurosurg* **81**: 188-195, 1994.
- 8) Grant CE, Vadimarsson G, Hipfner DR, Almquist KC, Cole SPC, Deeley RG: Overexpression of multidrug resistance-associated protein (MRP) increases resistance to natural product drugs. *Cancer Res* **54**: 357-361, 1994.
- 9) Hiraga S, Arita N, Ohnishi T, Kohmura E, Yamamoto K, Oku Y, Taki T, Sato M, Aozasa K, Yoshimine T: Rapid infusion of high-dose methotrexate resulting in enhanced penetration into cerebrospinal fluid and intensified tumor response in primary central nervous system lymphomas. *J Neurosurg* **91**: 221-230, 1999.
- 10) Kool M, de Haas M, Scheffer GL, Scheper RJ, van Eijk MJT, Juijn JA, Baas F, Borst P: Analysis of expression of cMOAT, (MRP2), MRP3, MRP4, and MRP5, homologues of the multidrug resistance-associated protein gene (MRP1), in human cancer cell lines. *Cancer Res* **57**: 3537-3547, 1997.
- 11) Lee JS, Scala S, Matsumoto Y, Dickstein B, Robey R, Zhan Z, Altenberg G, Bates SE: Reduced drug accumulation and multidrug resistance in human breast cancer cells without associated P-glycoprotein or MRP overexpression. *J Cell Biochem* **65**: 513-526, 1997.
- 12) Matsumoto Y, Takano H, Fojo T: Cellular adaptation to drug exposure: Evolution of the drug-resistant phenotype. *Cancer Res* **57**: 5086-5092, 1997.
- 13) 松本義人, 松本美千代, 峯村正実, 高野裕士, 長尾省吾, Iglesias A, Fojo T: Etoposide, m-AMSA 耐性細胞における ATP binding cassette superfamily (multidrug resistance-1, multidrug resistance-associated protein, human canalicular multispecific organ anion transporter) mRNA の発現様式. 癌と化学療法 **24**: 1941-1946, 1997.
- 14) 松本義人, 黒田摂子, 森崎訓明, 國塩勝三, 長尾省吾: グリオーマにおける多剤耐性遺伝子の発現について. 第8回日本脳腫瘍カンファレンス (抄録集). 1999.
- 15) McAllister LD, Doolittle ND, Guastadisegni PE, Kraemer DF, Lacy CA, Crossen JR, Neuwelt EA: Cognitive outcomes and long-term follow-up results after enhanced chemotherapy delivery for primary central nervous system lymphoma. *Neurosurg* **46**: 51-61, 2000.
- 16) 前田八州彦, 松本健五, 栗山充夫, 小野恭裕, 國塩勝三, 田宮 隆, 古田知久, 大本堯史: 中枢神経系原発悪性リンパ腫の臨床的検討—化学療法の役割について. 癌と化学療法 **24**: 807-813, 1997.
- 17) 松本健五, 前田八州彦, 小野恭裕, 田宮 隆, 古田知久, 大本堯史: 中枢神経系原発悪性リンパ腫に対する high dose methotrexate (MTX) -CHOP 併用療法 (M-CHOP 療法) の試み. 脳外 **26**: 889-895, 1998.
- 18) Mineura K, Yanagisawa T, Watanabe K, Kowada M, Yasui N: Human brain tumor O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase mRNA and its significance as an indicator of selective chloroethylnitrosourea chemotherapy. *Int J Cancer* **69**: 420-425, 1996.
- 19) Miyake K, Mickley L, Litman T, Zhan Z, Robey R, Cristensen B, Brangi M, Greenberger L, Dean M, Fojo T, Bates SE: Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: Demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res* **59**: 8-13, 1999.
- 20) 森崎訓明, 黒田摂子, 松本義人, 國塩勝三, 長尾省吾: グリオーマにおける多剤耐性遺伝子の発現について. *Neuro Oncol* **9**: 124-128, 1999.
- 21) Nagane M, Asai A, Shibui S, Nomura K, Matsutani M, Kuchino Y: Expression of O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase and chloroethylnitrosourea resistance of human brain tumors. *J Clin Oncol* **22**: 143-149, 1992.
- 22) O'Brien P, Roos D, Pratt G, Liew K, Bartan M, Poulsen M, Olver I, Trotter G: Phase II multicenter study of brief single-agent methotrexate followed by irradiation in primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* **18**: 519-526, 2000.
- 23) 佐藤太郎, 対馬健一, 日沢裕貴, 名久井結佳, 伊藤重豪, 田村好弘, 齊藤 聡, 高見秀樹, 棟方昭博, 河村節子: 再発, 治療抵抗性の悪性リンパ腫に対する BH-AC (Behenoyl-ara-C), MIT (Mitoxantrone), Etoposide, PSL Prednisolone 併用療法. 癌と化学療法 **24**: 733-736, 1997.
- 24) Tanaka S, Kamitani H, Amin MR, Watanabe T, Oka H, Fujii K, Nagashima T, Hori T: Preliminary individual adjuvant therapy for gliomas based on the results of molecular biological analyses for drug-resistance genes. *J Neurooncol* **46**: 157-171, 2000.

要 旨

薬剤耐性遺伝子発現より薬剤を選択し化学療法を施行した
中枢神経系原発性悪性リンパ腫の1例

國塩 勝三 松本 義人 森崎 訓明 河北 賢哉
三宅 啓介 長尾 省吾

薬剤耐性遺伝子の発現結果を基に化学療法を行い、良好な結果が得られた中枢神経系原発性悪性リンパ腫（CNSL）の症例を報告した。症例は74歳、女性で、1999年11月10日より徐々に右片麻痺および言語障害が進行し、当科入院となった。頭部CTおよびMRIにて、左前頭葉および左視床から大脳脚に浮腫を伴い、均一に増影される腫瘍が認められた。左前頭葉腫瘍の定位的生検術にて diffuse large B-cell lymphoma と診断した。

RT-PCR 法にて種々の薬剤耐性遺伝子の mRNA の発現を検索した結果、MDR1, MRP1, MGMT, Topo II α は発現を認めたが、cMOAT/MRP2, および MXR1 の発現はみられなかった。

methotrexate (MTX) の大量 (3.5 g/m²) 投与を1クール行ったが、一度縮小した腫瘍が再増大したため、2, 3クール目では、薬剤耐性遺伝子の発現結果より、mitoxantrone, carboplatin を MTX 大量療法と併用した。その後、腫瘍は完全に消失した。神経学的に失語症は改善し、右片麻痺は改善傾向にあり、現在リハビリ訓練中である。このような、一連の薬剤耐性遺伝子発現を参考した化学療法、いわゆる“テーラーメイド”の治療が今後期待される。

脳外誌 10 : 469-474, 2001