原 著

子宮頸癌に対する白金製剤の動注化学療法の 効果に関する細胞学的評価について

久留米大学産婦人科学教室

藤吉 啓造 田中 博志 田崎 民和 蓮尾 泰之
森 一朗 黒松 肇 江口 博敏 薬師寺道明
藤吉 りさ

進行子宮頸癌症例に対し Neo-Adjuvant Chemotherapy として白金製剤による動注化学療法を施行し、子宮腔部剝離細胞の経時的变化を観察することにより、治療効果判定の可能性を検討した。

対象は1989年7月より1992年5月までに当科において診断された進行子宮頸癌患者14例である。治療法は、シスプラチンもしくはカルボプラチンを左右の内腸骨動脈より注入した。動注化学療法は3週ごとに2コース行い、動注前および動注1コース後1週目、2週目、動注2コース後1週目、2週目に子宮腔部病巣部より綿棒擦過による細胞診を行った。

細胞診では腫瘍細胞数および正常細胞数の推移、また、細胞変化の個々の所見として、腫瘍細胞における核腫大、核濃縮、空胞変性、多角化の4つの所見の出現頻度に注目した。

治療の経過に伴い腫瘍細胞数の減少および正常細胞数の増加傾向が認められ、治療効果として治療開始後より核腫大、核濃縮細胞の出現が著明で治療の経過に従い、核濃縮細胞の出現頻度は減少した。また空胞変性細胞も治療開始後より認められたが増加傾向はみられず出現頻度は低かった。多核細胞の出現頻度は治療の経過とともに増加し、抗腫瘍効果を反映していると考えられ、最も客観的な指標となりうると考えられた。

Key words : Cervical cancer — Neoadjuvant chemotherapy — Cytological evaluation

I. はじめに

早期子宮頸癌の予後は診断および治療法の進歩により著明な改善を認めている。しかし、進行症例の治療においては依然満足すべき予後の改善がみられていないのが現状である。

そこでわれわれは進行子宮頸癌症例の予後改善を目的とし Neo-Adjuvant Chemotherapy として白金製剤による動注化学療法を行ってきた。

今回は、細胞診断による治療効果判定の可能性を検討するため、動注化学療法における子宮腔部剝離細胞の経時的变化について観察した。

Cytologic changes in cervical cancer due to intraarterial infusion chemotherapy primarily with a platinum preparation

Keizo FUJIYOSHI, M.D., Hiroshi TANAKA, M.D., Tamikazu TAZAKI, M.D., Yasuyuki HASUO, M.D., Ichirou MORI, M.D., Hajime KUROMATU, M.D., Hirotochi EGUCHI, M.D., Michiaki YAKUSHIJI, M.D., Risa FUJIYOSHI, C.T., J.S.C.

Department of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 830 福岡県久留米市旭町 67 久留米大学医学部産婦人科 藤吉啓造

平成 5 年 8 月 20 日受付

平成 6 年 4 月 22 日受理

表 1 対象症例

症例	年齢	臨床進行期	組織型	効果
1.	69	IV b	SCC	CR
2.	70	III b	SCC	CR
3.	63	III a	SCC	CR
4.	69	III b	SCC	PR
5.	62	III b	SCC	PR
6.	67	III a	SCC	PR
7.	38	II b	Ad-sq	PR
8.	65	III a	SCC	PR
9.	59	III b	Ad	PR
10.	59	II b	SCC	MR
11.	67	III b	SCC	MR
12.	31	IV a	SCC	MR
13.	58	III b	SCC	NC
14.	58	III b	SCC	NC

SCC : Squamous cell carcinoma

Ad-sq : Adenosquamous cell carcinoma

CR : Complete response

PR : Partial response

MR : Minor response

NC : No change

II. 研究対象および方法

1989年7月より1992年5月までに当科において診断され、Neo-Adjuvantとして動注化学療法を施行した進行子宮頸癌患者14例を対象とした。対象の内訳は臨床進行期II b期2例、III a期3例、III b期7例、IV a期1例、IV b期1例で、組織型は扁平上皮癌12例、腺癌1例、腺扁平上皮癌1例であった(表1)。化学療法の適応は子宮頸癌III期以上または、I, II期で腫瘍塊径が5 cmを越える場合で、おもに手術不能例や手術困難症例とした。動注化学療法の方法は、大腿動脈よりSeldinger法に準じて血管造影を行い、内腸骨動脈にカテーテルを挿入し、分岐部より2 cmの部位にシスプラチンもしくはカルボプラチンを左右の内腸骨動脈より注入した。動注化学療法は3週ごとに2回行い6週目に効果判定し、手術可能例には根治術を、それ以外の症例には放射線治療を追加した。

動注化学療法の治療効果は、CTまたはMRIによる治療前後の腫瘍病変の縮小率より癌治療学会効果判定基準(小山・斉藤)を参考にして判断した。

これらの症例より動注前および動注1コース後1週目、2週目、動注2コース後1週目、2週目に子宮腔部病巣部より綿棒擦過法で検体を採取し、パパニコロー染色を行い化学療法による経時的細胞変化を観察し

写真1 動注1コース1週目にみられた核濃縮細胞および核腫大細胞(40×3.3)

写真2 動注1コース2週目にみられた空胞変性細胞(40×3.3)

た。

検討項目は、1プレパラート上100倍視野で、細胞が均一に塗布され、細胞個々の所見が観察可能な5視野の細胞数の合計を出現細胞数とし、腫瘍細胞数および正常細胞数をcountした。

また、細胞学的変化は、高村ら⁹⁾によるDMBA誘発ラット卵巣癌実験モデルを用いたCDDP投与後の経時的腹水細胞の形態変化の報告を参考とし、核腫大、核濃縮、空胞変性、多角化の4つの所見について検討した。

おのおのの所見は30 μ以上の核を有する腫瘍細胞を核腫大、核クロマチン構造が不明で不透明核になった腫瘍細胞を核濃縮、核または細胞質に空胞を有する腫瘍細胞を空胞変性、2個以上の核を有する腫瘍細胞を多核化と定義し(写真1~3)、その出現数を上記の方法でcountし、腫瘍細胞総数に対する割合を出現頻度として算出した。

写真3 動注2コース1週目にみられた多核細胞(40×5.0)

III. 結 果

1. 動注化学療法効果判定

画像診断による腫瘍縮小率より著効3例, 有効6例, やや有効3例, 不変2例であり, 進行症例はみられなかった。著効および有効であった9例は浸潤所見の著明な改善を認めたため, 根治術完遂が可能であった。著効および有効例を含めた奏効率は64.3% (9例/14例)と判定した。

2. 腫瘍細胞の経時的変化

図1に示すように動注1コース後1週目よりほとんどの症例に著明な腫瘍細胞数出現の減少が認められ, 動注療法の追加および週数の経過とともに腫瘍細胞は消失していく傾向にあった。腫瘍細胞数の再増加傾向を認めた2症例は画像診断で, やや有効および不変と判定され, 根治術不能であったため放射線療法を追加した。

3. 正常細胞数の経時的変化

図2に示すように, 腫瘍細胞の出現数とは対照的に週数の経過とともに正常細胞の出現数が増加する傾向が認められた。また, この傾向は2コース後1週目に著明であった。

4. 腫瘍細胞の経時的変化

図3にそれぞれの細胞所見別に出現頻度の経過を示した。

核腫大所見は, 治療前には認めず動注後1週目より出現した。以後, 治療経過中認められたが出現頻度の増加または減少傾向はみられなかった。

核濃縮所見は, 治療前より認められ, 動注1コース後1週目にやや出現頻度の増加を認めたが, 1コース

図1 腫瘍細胞出現数

図2 正常細胞出現数

図3 腫瘍細胞の経時的変化

後2週目より出現頻度は減少した。

空胞変性は、治療経過中に認められたが、その出現頻度は少なく、治療経過に伴う明らかな増加あるいは減少傾向はみられなかった。

一方、多核化所見は、動注1コース後1週目より出現し、治療の経過に伴い、出現頻度が増加する傾向を認めた。

IV. 考 察

白金製剤の動注化学療法はその濃度依存的⁷⁾殺細胞効果を生かした効率的投与方法であり、子宮頸癌に対する有効性も多く報告され、現在、集学的治療法の一つとして位置づけられている³⁾。

われわれは、動注化学療法を、進行子宮頸癌の放射線治療効果の増強、二次的手術適応の拡大²⁾および微小転移巣の根治を目的としたNeo-Adjuvant chemotherapyとして施行し、主治療法の根治性を高めることにより進行子宮頸癌の予後改善を試みてきた。

そこで、主治療をもっとも効果的に行うためには適切なNeo-Adjuvant therapyの効果判定が必要であり、現在、画像診断、組織診断、コルポスコープ、血液生化学検査などによる判定を試みている。特に、治療経過に伴う組織学的変化が効果判定に応用されていることや、動注後に認められるコルポスコープ所見の変化に注目し、剝離細胞所見と治療効果判定の可能性について検討した。

まず、今回の検討では、治療の経過に伴う、腫瘍細胞数の減少を著明に認めた。真里谷ら¹¹⁾は放射線治療における経時的細胞診の評価で、局所一次効果では特に標本上での腫瘍細胞数の変化が重要であることを指摘し、高村ら⁸⁾は、非投与群と比較し、CDDPによる抗腫瘍効果として癌細胞数の減少を認めている。

また、腫瘍細胞数の減少と相反して、正常細胞数の増加を認め、これは、同時に施行した経時的コルポスコープ診断でもおに、著効および有効症例に認められた、局所癌病巣の縮小とともに再生上皮への置換を反映する所見であるとも考えられた。

以上より、腫瘍細胞数および正常細胞数の変化は、重要な治療効果判定指標になり得ると考えられる。

次に、子宮頸癌治療における細胞変化はおもに放射線療法において報告されてきたが、柴田⁴⁾は、5~10 Gyで細胞の腫大と染色性変化がみられ、10~20 Gyで細胞内空胞形成、クロマチンの粗大凝集、融解、濃

縮均質化といった核変性、20 Gy以上で多核細胞、巨核細胞が出現し、25 Gyあたりよりこれらの変性所見が強まり、治療効果として癌細胞数の著減を報告し、真里谷ら¹¹⁾は、照射により細胞所見がほぼ一定の経過をたどって変化するためその出現時期あるいは程度より放射線感受性を判断することが可能と報告、放射線感受性判定の試みもなされている¹⁰⁾。

一方、化学療法における細胞変化について高村ら⁸⁾は、癌細胞の大型化、単離化、多核化、細胞質内空胞が特徴的であり、薬剤効果を知る重要な情報源となり得ることを指摘した。

今回の検討では、図3に示すように、治療開始とともに腫瘍細胞の核腫大、核濃縮、空胞変性、多核化が認められた。放射線療法が細胞質変化を伴うのに対し、化学療法による変化はおもに核所見の変化であることが特徴的であると思われる。

ところが、塚原ら⁹⁾は放射線照射で認められる多核化や細胞質内空胞の存在は感受性との相関は認めず、逆に感受性不良所見と判定した¹⁰⁾。しかし、乾ら¹¹⁾によるヒト卵巣癌株 *in vitro* 制癌感受性試験に関する研究では、5-fluorouracil, Mitomycin C, Vincristine, Carbazil quinoneの投与による細胞形態観察でTripán blueによるdye exclusion methodと核長経測定で核腫大と死細胞率の増加が相関関係にあり、Impulse cytophotometerによるDNAヒストグラムでCarbazil quinoneによる高度な核腫大をきたした細胞の細胞回転の停止を認め、核腫大と細胞死との密接な関連を指摘した。また、杉田ら⁹⁾はCDDP療法後、核腫大、細胞質内空胞変性、核破壊、多核化を認め治療効果によるものと考え、flow cytometryによるDNAヒストグラムでも核腫大、多核化は高倍体細胞の増加との一致を指摘している⁵⁾。このことより化学療法において認められる核所見の変化は、化学療法の影響による変化であり、死細胞への一過程であることが強く示唆されるとともに化学療法および放射線療法において認められる細胞所見の差異ではないかと推察される。

以上より、化学療法においても放射線療法と同様な治療経過に伴う細胞形態変化を有すと考えられ、今回の検討では特に、多核化変性が治療の経過とパラレルに増加してくる傾向に注目すれば、客観的效果判定の重要な指標になり得ると考えられた。

細胞診断による効果判定は、簡便かつ迅速な診断法であるとともに時期を逸しない主治療法への移行に貢

献するものと考え、効果判定基準の確立に、今後、症例の積み重ねによる検討が望まれる。

なお、本論文の要旨は第33回日本臨床細胞学会総会において発表した。

Summary

Patients with advanced cervical cancer were treated by intraarterial infusion chemotherapy, primarily with a platinum preparation, as neo-adjuvant chemotherapy. Changes in the cells scratched from the uterine cervix were serially examined to assess the feasibility of efficacy evaluation by cytodiagnosis.

The subjects were 14 patients with advanced uterine cervical cancer diagnosed at our department between July of 1989 and May of 1992. Anticancer drugs were infused bilaterally into the internal iliac artery. Intraarterial infusion chemotherapy was administered twice at an interval of 3 weeks. The lesion in the cervix was scratched with a cotton swab for cytodiagnosis before treatment and one and 2 weeks after the first and second courses. Changes in the numbers of tumor and normal cells were examined by cytodiagnosis. As individual findings of cellular changes, the incidences of nuclear enlargement, pyknosis, vacuolar degeneration and multinucleated changes in tumor cells were determined. The findings indicated a decrease in the number of tumor cells and an increase in the number of normal cells during the course of treatment. Among cellular changes, large numbers of cells with nuclear enlargement and those with pyknosis were apparent immediately after the initiation of therapy. The incidence of cells with pyknosis decreased during the course of treatment. Cells with vacuolar degeneration were observed after the initiation of therapy, but the incidence was low with no increase being observed in these cells. The incidence of multinucleated cells increased during the course of treatment, reflecting an anticancer effect. Based on these findings, the incidence of multinucleated cells is thought to be a significant

indicator.

文 献

- 1) 乾 裕昭・他：ヒト卵巣癌株の in vitro 制癌剤感受性試験に関する研究—特に細胞形態を指標とする基礎的検討を中心に—, 日臨細胞誌, 21: 653~662, 1982.
- 2) 岩成 治・他：進行子宮頸癌に対する昇圧動注化学療法 (CDDP, PEP) の効果と副作用, 癌と化学療法, 16: 2792~2796, 1989.
- 3) 佐藤博己・他：子宮頸癌に対する CDDP・5 FU 併用動注化学療法, ONCOLOGY & CHEMOTHERAPY, 6: 139~143, 1991.
- 4) 柴田偉雄：子宮頸癌の治療と細胞診, 癌と化学療法, 9: 1704~1710, 1982.
- 5) 杉田道夫, 天神美夫：治療による癌細胞の形態学的影響—特に FCM を用いたマルチパラメーターによる分析, ONCOLOGY & CHEMOTHERAPY, 3: 225~232, 1988.
- 6) 杉田道夫・他：FCM (flow cytometry) による DNA パターンからみた cisplatin 療法の効果判定, 最新医学, 39: 1719~1723, 1984.
- 7) 関谷宋英・他：In vitro における cis-diamminedichloroplatinum II (CDDP) のラット卵巣腺癌クローン細胞株に対する殺細胞効果, 日産婦誌, 34: 1487~1490, 1982.
- 8) 高村邦子・他：Cis-diamminedichloroplatinum (II) (CDDP) 投与による腹水細胞の形態変化—腹水を有するラット卵巣腺癌のモデルを用いて—, 日臨細胞誌, 28: 806~817, 1989.
- 9) 塚原嘉治・他：子宮頸癌の放射線感受性の細胞診断学的研究, 日臨細胞誌, 15: 22~27, 1976.
- 10) 塚原嘉治・他：子宮頸癌の放射線感受性の細胞診断学的研究 (第2報), 日臨細胞誌, 16: 238~243, 1977.
- 11) 真里谷靖・他：経時的組織診および細胞診による放射線感受性評価の試み—子宮頸癌における検討—, 青県病誌, 35: 95~102, 1990.