難治性精巣腫瘍に対する etoposide 大量療法を用いた 効率的な自家末梢血幹細胞採取法の確立

京都府立医科大学泌尿器科学教室 (主任: 渡辺 決教授)

中川 修一 杉本 浩造 三神 一哉 渡辺 決

京都府立医科大学衛生学教室 (主任: 阿部達生教授)

藺田 精昭 葛山由布子 阿部 達生

京都第1赤十字病院第3内科

藤 井 浩

SUCCESSFUL COLLECTION OF PERIPHERAL BLOOD STEM CELLS MOBILIZED BY HIGH-DOSE ETOPOSIDE FOR PATIENTS WITH CHEMOTHERAPY-RESISTANT AND/OR POOR PROGNOSTIC TESTICULAR CANCER

Shuichi Nakagawa, Kozo Sugimoto, Kazuya Mikami and Hiroki Watanabe

Department of Urology, Kyoto Prefectural University of Medicine

(Director: Prof. H. Watanabe)

Yoshiaki Sonoda, Yuko Kuzuyama and Tatsuo Abe

Department of Hygiene, Kyoto Prefectural University of Medicine

(Director: Prof. T. Abe)

Hiroshi Fujii

Third Department of Internal Medicine, Kyoto First Red Cross Hospital

Clinical effects of peripheral blood stem cell autotransplantation (PBSCT) after ultra high-dose chemotherapy were evaluated in patients with chemotherapy-resistant and/or poor prognostic testicular cancer. Four patients with testicular cancer, who had high-risk malignancy, were treated with high-dose etoposide ($500 \text{ mg/m}^2 \times 4 \text{ days}$) in order to collect peripheral blood stem cells. After the administration of high-dose etoposide, rG-CSF ($250 \mu\text{g/body}$) was administered from nadir state. Blood mononuclear cells were collected using a Fenwall CS-3000 blood cell separator. Fractions enriched for stem cells were obtained by discontinuous Percoll gradient centrifugation and were stored in liquid nitrogen using patient's sera and DMSO. The mean number of peripheral blood granulocyte-macrophage-colony-forming units (CFU-GM) collected by one apheresis was $22.3 \times 10^5/\text{kg}$ body weight. In addition, CFU-GM more than $2.0 \times 10^5/\text{kg}$ body weight could be collected in each apheresis, which was thought to be sufficient dosage to perform PBSCT in safe, based upon our previous studies. All the patients were treated by a combination of cisplatin ($20 \text{ mg/m}^2 \times 5 \text{ days}$), etoposide ($100 \text{ mg/m}^2 \times 5 \text{ days}$) and bleomycin ($15 \text{ mg} \times 3 \text{ days}$). Three patients responded to BEP therapy and obtained a CR, however, remaining 1 patient failed to achieve CR, who was later treated by ultrahigh-dose chemotherapy including carboplatin ($200 \text{ mg/m}^2 \times 4 \text{ days}$), etoposide ($250 \text{ mg/m}^2 \times 4 \text{ days}$) and cyclophosphamide ($50 \text{ mg/kg} \times 2 \text{ days}$) followed by PBSCT. He responded to this therapy and obtained a CR for 10 months. The results suggested the method was promising for patients with chemotherapy-resistant and/or poor prognostic testicular cancer.

Key words: peripheral blood stem cell autotransplantation (PBSCT), poor prognostic testicular cancer, high-dose etoposide

要旨：自家末梢血幹細胞移植術 (PBSCT) を組み入れた難治性精巣腫瘍に対する超大量化学療法について検討した。本療法はまず etoposide 大量療法後に末梢血より幹細胞を採取し、分離・凍結・保存した。その後、BEP 療法を行い、部分寛解 (PR) するが完全寛解 (CR) しなかった症例に対して、PBSCT 併用超大量化学療法を行うものである。難治性精巣腫瘍 4 例に対して、etoposide 大量療法 (VP-16; 500 mg/m² × 4 日間) を採取前化学療法として施行し、nadir より rG-CSF を 250 μg 連日投与し、骨髓回復期に血液成分分離装置を用いて末梢血より幹細胞を採取した。採取した幹細胞は Percoll 二層比重遠心法にて分離・凍結・保存し、メチルセルロース法にて定量した。採取できた顆粒球系幹細胞 (CFU-GM) 数は 1 回の apheresis 当たり 22.3 × 10⁵ 個/kg 体重であった。すべての apheresis で安全な移植に必要とされる 2.0 × 10⁵ 個/kg 体重以上の CFU-GM が採取可能であり、同時に抗腫瘍効果も認められた。4 例に対して、CDDP (20mg/m² × 5 日間), VP-16 (100mg/m² × 5 日間), BLM (15mg × 3 日間) を投与する BEP 療法を行ったところ、3 例は CR となったが、1 例が PR にとどまった。そこで PR となった 1 例に対して、PBSCT 併用超大量化学療法を行った。CBDCA (200mg/m² × 4 日間), VP-16 (250mg/m² × 4 日間), CPM (50mg/kg × 2 日間) を投与し、化学療法終了 72 時間後に PBSCT を施行した。その結果 CR となり、その後 10 カ月間無腫瘍生存中である。本療法は難治性精巣腫瘍に対する新しい治療法として有望である。

キーワード：自家末梢血幹細胞移植術, 難治性精巣腫瘍, etoposide 大量化学療法

結 言

私たちは 1991 年に、難治性精巣腫瘍に対して自家末梢血幹細胞移植術 (PBSCT) 併用超大量化学療法を行い、良好な治療効果を得たことを報告した¹⁾²⁾。しかし同時に、幹細胞採取前化学療法の投与薬剤や施行時期を改善することで、十分な抗腫瘍効果も期待できる、より効率的な幹細胞採取方法の確立をはかる必要性を痛感した。そこで今回、難治性精巣腫瘍 4 例において、採取前化学療法として etoposide 大量療法を用いた末梢血幹細胞採取法について検討し、安全かつ確実に PBSCT に必要な十分量の幹細胞を採取する方法を確立した。併せて、etoposide 大量療法により幹細胞の採取を行った後に、first line chemotherapy により部分寛解 (PR) となった 1 例に対して、PBSCT 併用超大量化学療法を行ったので、その有用性についても報告する。

対象と方法

対象は、1992 年 6 月から 11 月までに京都府立医科大学泌尿器科で etoposide 大量療法後に末梢血幹細胞の採取を行った難治性精巣腫瘍患者 4 例 (年齢 31 ~ 50 歳, 平均 38 歳) であった (表 1)。治療対象病変は、両側の多発性肺転移 1 例、肺および後腹膜リンパ節の bulky mass 1 例、後腹膜リンパ節の bulky mass 2 例であった。組織型は、seminoma 2 例, embryonal carcinoma 1 例, teratocarcinoma を含む複合組織型 1 例であった。いずれの症例も前治療としての化学療法、放射線療法は受けていなかった。

表 1 難治性精巣腫瘍患者

症 例	年齢	組織型	転移部位
1. K. I.	32	S	後腹膜
2. H. M.	31	Tc+S+Ch	肺, 後腹膜
3. S. U.	50	S	後腹膜
4. R. F.	39	E	肺(両肺野に多発)

S: Seminoma, Tc: Teratocarcinoma

Ch: Choriocarcinoma, E: Embryonal carcinoma

図 1 難治性精巣腫瘍に対する治療法 (京都府立医大)

難治性精巣腫瘍に対する PBSCT 併用超大量化学療法を組み入れた新しい治療法を、図 1 に示した。なお難治性精巣腫瘍とは EORTC³⁾で“poor risk”と定義している症例とした。すなわち、①5cm 以上の後腹膜

リンパ節転移巣を有する, ②2cm 以上の肺転移巣を有する, ③ β -hCG が10,000ng/ml 以上, ④ AFP が1,000 ng/ml 以上, ⑤肝, 骨, 脳神経系への転移巣を有する, の定義を満たす症例である。

採取前化学療法としては,すでに過去の経験で,non-Hodgikin リンパ腫・骨髄腫・急性骨髄性白血病において重篤な副作用もなく, 十分量の幹細胞が採取できた etoposide (VP-16) 500mg/m²を4日間連続投与する etoposide 大量療法(表2)⁴⁾⁵⁾を採用した。末梢血幹細胞の採取は既報⁶⁾のごとくである。すなわち化学療法後の白血球数が nadir に達した日より250 μ g/body/day の recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rG-CSF)を連日皮下投与した。化学療法終了2週間前後の骨髄回復期に, Fenwall 社製 CS-3000連続血液成分分離装置を用いて, 1回の化学療法で1~3回の apheresis を施行した。同時に apheresis 時の CD34陽性細胞の比率を測定した。Apheresis にて採取した細胞は, バッグ遠心にて多血小板血漿と赤血球層を除去した後, Percoll 二層比重遠心法⁷⁾により単核球を分離し, 10%dimethylsulfoxide(DMSO), 60%患者血清存在下で, 液体窒素中に凍結保存した。幹細胞の培養は既報のメチルセルロース法で行った⁸⁾。

安全量の幹細胞が採取されたことを確認した後, first line chemotherapy として cisplatin (CDDP)・VP-16・bleomycin (BLM) を併用した BEP 療法(表2)を行った。その結果, 完全寛解(CR)となった3症例は経過観察とした。しかし症例2では, 後腹膜リンパ節の bulky mass は CR となったが, 肺転移巣は60%縮小したものの PR であった。そこで BEP 療法3コース終了後, 12日目より PBSCT 併用超大量化学療法(表2)を施行した。実際の移植には, 特別な無菌室や準備室を必要とせず, 泌尿器科病棟内の通常の個室を消毒し, 簡易層流隔離システムを搬入して行った。

Day-9に IVH を挿入し, アミノグリコシド, 抗真菌剤の吸入と腸管内殺菌を開始し, 加熱食を供した。表2の regimen にしたがって, Day-8~-5に carboplatin (CBDCA)を1,200mg, VP-16を1,600mg, day-4, -3に cyclophosphamide(CPM)を6,000mg 投与後, day0に PBSCT を施行した。なお輸注した顆粒球系幹細胞(CFU-GM)数は15 $\times$ 10⁵個/kg 体重であった。移植後の day 1より rG-CSF 250 μ g の皮下投与を施行した。CPM による出血性膀胱炎を予防するため, day-4, -3に

表2 投与方法

1. 採取前化学療法 (Etoposide 大量療法)			
VP-16	500mg/m ²	(Days 1~4)	
2. First line chemotherapy (BEP 療法)			
CDDP	20mg/m ²	(Days 1~5)	
VP-16	100mg/m ²	(Days 1~5)	
BLM	15mg	(Days 1, 8, 15)	
(3週間毎に3コース)			
3. PBSCT 併用超大量化学療法			
CBDCA	200mg/m ²	(Days -8~-5)	
VP-16	250mg/m ²	(Days -8~-5)	
CPM	50mg/kg	(Days -4, -3)	
PBSCT		(Day 0)	

それぞれ sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna)を CPM 静注直後, 3時間, 6時間および9時間後に総量4,000mg を静注投与し, 尿量を1日3,000ml 以上になるように輸液療法を行った。Day-8から抗真菌剤の, day-4から acyclovir の静注投与を, それぞれ白血球回復期まで行った。Day-7, 0に高力価抗サイトメガロウイルス免疫グロブリン製剤を投与した。発熱時には静脈血培養と抗生物質の投与を行った。血小板が50,000/ μ l 以下となったときは, 血液成分分離装置により採取された血小板輸血を, 白血球除去フィルターをつけて施行した。

インフォームド・コンセントについては, 幹細胞採取のための採取前化学療法を行う前に, まず家族と相談の上, 全症例とも患者本人に病名を告知した。その上で, 病状, 治療の必要性, 治療目標, 治療法, 副作用とその対策などについて詳細に説明し, 同意を得た。また症例2については PBSCT 併用超大量化学療法を行う直前に, 再度説明の上同意を得た。

結 果

症例1の化学療法施行後の rG-CSF 投与時期, apheresis 施行時期および経時的な白血球数と CD34陽性細胞比率の推移を, 図2に示した。投与9日目に白血球数は600/ μ l となり, rG-CSF 250 μ g の皮下投与を開始した。白血球数がそれぞれ3,500/ μ l, 21,650/ μ l, 22,230/ μ l となった投与14, 16, 18日目に, apheresis を行った。CD34陽性細胞の比率は化学療法開始前日には0.1%以下と測定限界を下回っていたが, apheresis を行った14, 16, 18日目は, それぞれ6.6%, 4.3%, 3.9%と著明に増加していた。

Etoposide 大量療法後の末梢血幹細胞採取成績を表3に示した。採取時の白血球数は平均21,530/ μ l, 平均血液処理量は14.4l で, 平均6.6 $\times$ 10⁷個/kg 体重の単核

表 3 Etoposide 大量療法後の末梢血幹細胞採取成績

Case	Apheresis								
	No.	WBC (μ l)	Volume processed(<i>l</i>)	MNC ($\times 10^7$ /kg)	CFC ($\times 10^5$ /kg)				CD34 ⁺ cells (%)
					CFU-GM	BFU-E	CFU-Mix	Total	
1.	1.	3,500	15.2	2.0	5.9	4.6	1.74	12.2	6.6
	2.	21,650	15.0	4.5	17.5	6.9	3.49	27.9	4.3
	3.	22,230	9.2	2.1	9.0	2.8	1.62	13.4	3.9
2.	1.	19,050	15.5	9.0	29.7	16.1	7.46	53.3	12.8
	2.	26,720	15.8	8.0	26.7	12.7	4.29	43.7	5.6
3.	1.	29,680	15.0	13.0	53.4	13.5	4.85	71.8	12.1
4.	1.	27,900	15.0	7.7	13.8	8.6	0.92	23.3	3.7
Ave.		21,530	14.4	6.6	22.3	9.3	3.48	35.1	7.0

図 2 症例 1 の採取前化学療法施行後の白血球数および CD34 陽性細胞比率の推移

球を回収した。1 回の apheresis で採取した幹細胞数の平均値は、CFU-GM 22.3×10^5 個/kg 体重、BFU-E 9.3×10^5 個/kg 体重、CFU-Mix 3.48×10^5 個/kg 体重であった。これは安全な移植に必要とされる CFU-GM 数 2.0×10^5 個/kg 体重の約10倍量採取できたことになる。なおこの期間中に評価可能病変はそれぞれ24%から100%の縮小を示し、十分な抗腫瘍効果を認めた。採取幹細胞数と apheresis の回数との間には相関関係はなく、CD34陽性細胞の比率と相関していた。

BEP 療法は 4 例とも 3 コースを行い、その治療成績は CR 3 例 (75%)、PR 1 例 (25%) であった。BEP 療法で PR となった症例 2 に対して PBSCT 併用超大量化学療法を行った。超大量化学療法後、白血球数、血小板数はともに著明に減少したが、7 日目で白血球数、好中球数がそれぞれ $1,000/\mu\text{l}$ 、 $500/\mu\text{l}$ 、11日目で

図 3 症例 2 の PBSCT 併用超大量化学療法施行後の白血球数および血小板数の推移

血小板数が $50,000/\mu\text{l}$ 以上に回復した(図 3)。なお、ほかに重篤な副作用や合併症は認めなかった。治療開始時に $29 \times 25\text{mm}$ 大であった肺転移巣は、76%の縮小を示した。その後、2 カ月間経過観察したところ、腫瘍の大きさに変化を認めなかったため、残存した肺病変に対して左下葉部分切除術を施行した。病理組織学的所見は壊死組織で、癌細胞を認めず、超大量化学療法で CR になったと判定した。PBSCT 併用超大量化学療法後10カ月を経た1993年 9 月現在、無腫瘍生存している。

考 察

精巣腫瘍の治療成績は PVB 療法などの CDDP を含む多剤併用化学療法の導入以降飛躍的に向上し、進行性精巣腫瘍であっても治療が期待できるようになってきた⁹⁾¹⁰⁾。しかし、多発性肺転移、巨大な腹部腫瘍、肝転移、脳転移、腫瘍マーカー異常高値などの予後不良因子を有する症例、再発症例、通常多剤併用化学

療法に抵抗を示す症例の治療は極めて困難であり、これら難治性精巣腫瘍に対する有効な治療法の開発が急務と考えられる¹⁰⁾¹¹⁾。

近年、これら難治性精巣腫瘍の薬剤耐性を克服する手段として、自家骨髄移植術 (ABMT) を併用した超大量化学療法が試みられている^{12)~15)}。精巣腫瘍は、若年発症例が多く、化学療法に良く反応すること、骨髄浸潤がまれであることなどから、ABMT 併用超大量化学療法の効果が大きい期待できる腫瘍である。しかしながら、ABMT は移植骨髄の採取に全身麻酔を必要とする侵襲的方法であること、年齢により十分量の幹細胞を採取することが困難なこと、さらに移植後の患者管理が困難であることなどから、本療法には大きな制約がある。

一方、PBSCT は、このような超大量化学療法後の造血能救済のため、骨髄の代わりに末梢血中を循環している幹細胞を輸注する方法である。歴史的にみると、以前より末梢血中に幹細胞が循環することは知られていたが、1976年 Richman らにより、化学療法後の骨髄抑制からの回復期に末梢血中に幹細胞が増加することが報告された¹⁶⁾。その後さらに、rG-CSF を併用することにより末梢血中の幹細胞が著増することが報告された¹⁷⁾。そこで末梢血中に増加した幹細胞を apheresis により効率良く採取、凍結、保存し、dose intensity を目的とした超大量化学療法後に輸注し、骨髄の再構築を図る PBSCT が多くの施設で試みられるようになってきた¹⁸⁾¹⁹⁾。

PBSCT は ABMT と比較して、前述のごとく、採取に全身麻酔を必要としない、高齢者でも可能である、移植後の管理が容易である、といった利点をもっている。また腸骨領域への放射線照射の既往があっても採取が可能であり、悪性細胞の骨髄浸潤例でも移植片中への腫瘍細胞の混入の可能性が少なく、移植後の造血能や免疫能の回復も早いことから、今後 ABMT に代わって広く普及する方法と考えられる⁷⁾¹⁸⁾。

PBSCT においては、まず化学療法後の骨髄回復期に安全な移植に必要な末梢血幹細胞をいかに効率良く採取するかが、重要なポイントである。従来、化学療法のみで安全な移植に必要な末梢血幹細胞を採取する場合には、数回の採取前化学療法と数回の apheresis が必要なが知られている¹⁹⁾。しかし、患者の負担や採取後の分離・保存に要する手間を考えると、1回の apheresis で十分量の幹細胞を採取する方法を確立することが不可欠といえる。私たちは、rG-CSF を nadir

より併用することで、安全な移植に必要な末梢血幹細胞を、1回の採取前化学療法と1回の apheresis で採取できることを、造血管悪性腫瘍において明らかにしてきた^{4)~6)}。今回の精巣腫瘍症例でも、採取前化学療法として etoposide 大量療法を行い、nadir の時点から rG-CSF を併用することで、いずれも1回の apheresis で安全な移植に必要な末梢血幹細胞を採取できた。Siena らは、化学療法後の骨髄回復期に末梢血中に出現する CD34陽性細胞が骨髄中の CD34陽性細胞と同様の幹細胞の性質をもつことから、CD34陽性細胞を指標にすれば効率的な幹細胞採取ができると述べている²⁰⁾。今回の少数例の検討でもその傾向が確認されたことから、CD34陽性細胞を apheresis 施行時期の指標に用いることで、さらに効率的な採取が可能になると考えられる。

つぎに、採取前化学療法の抗腫瘍効果および施行時期が重要なポイントである。私たちは、1991年に PVB 療法4コース施行後に多発性肺転移・肝転移および後腹膜リンパ節転移を認めた難治性精巣腫瘍患者に対して、cytarabine (Ara-C) 大量療法を採取前化学療法に用いた末梢血幹細胞採取を行い、引き続き PBSCT 併用超大量化学療法を施行し、有効な結果を得た¹²⁾。しかし同時にいくつかの問題点も判明した。まず採取前化学療法として、当時確立していた Ara-C 大量療法⁴⁾を用いたが、精巣腫瘍には十分な抗腫瘍効果が認められなかった。また、すでに PVB 療法を4コース施行した後に紹介されたため、BLM (総量360mg) による考えられる肺線維症を認め、超大量化学療法の施行が困難であった。採取した幹細胞数も CFU-GM で 6.4×10^5 個/kg 体重と、今回の平均 22.3×10^5 個/kg 体重と比較すると少なく、PVB 療法による骨髄の疲弊があるのではないかと考えられた。これらの点を改善するため、今回の検討では、幹細胞も十分採取でき、しかも精巣腫瘍の salvage 化学療法として感受性の高い etoposide 大量療法を採取前化学療法に用いたところ、末梢血幹細胞採取量、抗腫瘍効果ともに満足できた。また施行時期は、難治性であると判断した時点、すなわち first line chemotherapy 前に施行し、良好な結果を得た。さらに first line chemotherapy は、PVB 療法と比較して副作用が少なく進行症例での有効性が高い BEP 療法²¹⁾に変更し、前回の症例が肺線維症のため超大量化学療法の施行が困難であったことを考慮し、BLM の1回投与量を原法の半量にあたる15mg とした (表2)。

採取前化学療法として通常のPVB療法またはBEP療法を行っても、その骨髓回復期に末梢血幹細胞の採取が可能ではないかと考えられる。しかし、末梢血より幹細胞を効率的に採取するためには強力な骨髓抑制を必要とし、従来行ってきたPVB療法後の白血球回復曲線の解析からは十分な採取が困難と判断した。

これまで国内外で、精巣腫瘍に対してPBSCT併用超大量化学療法を行った報告はみられないが、唯一Bokemeyerらが進行性精巣腫瘍症例で末梢血幹細胞を採取したと報告している²²⁾。彼らは、採取前化学療法としてG-CSFまたはGM-CSFを併用したdose-intensive PEI療法(CDDP 125~150mg/m², VP-16 600~1,000mg/m², ifosfamide 6,000~8,000mg/m²)を用いて、4症例に10回の化学療法で28回のapheresisを行っている。しかしapheresis 1回当たりの採取CFU-GM数は 0.77×10^5 個/kg体重、化学療法1回当たりの採取CFU-GM数も 2.15×10^5 個/kg体重と、私たちの成績の1/30程度であり、1回のapheresisで安全な移植に必要なCFU-GM数 2.0×10^5 個/kg体重を採取することは困難であった。したがって幹細胞の効率的採取には、採取を目的とした化学療法(VP-16; 2,000mg/m²)を行うことが重要であり、通常のPVB療法(VBL; 0.3mg/kg)あるいはBEP(VP-16; 500mg/m²)療法の骨髓抑制では、十分な幹細胞の採取は困難であるといえる。さらに、今回のプロトコルでは超大量化学療法を1回だけ施行しているが、1993年7月に発足した第1回PBSCT研究会のプロトコル検討会では、今後、超大量化学療法を複数回施行するという試案も出されており、1回の採取前化学療法で分割移植に必要な十分量の幹細胞を採取できるetoposide大量療法のようなregimenが、重要となってくるであろう。

超大量化学療法のregimenについては、ABMTを併用したCBDCAを含む併用療法のphase I/II studyの報告^{13)~15)}に基づき、CBDCA, VP-16, CPMの3者併用療法を選択した。この3者併用超大量化学療法の安全性と有効性を、すでに私たちは成人リンパ系悪性腫瘍7例の経験から確認している⁹⁾が、理想的には、今後dose-finding phase I/II studyの遂行が必要となろう。その場合の問題点はいくつか考えられる。まず、単一施設で経験する難治性精巣腫瘍の症例は非常に少ない。したがって、PBSCT併用超大量化学療法の有効性を検討するためには多施設共同研究によるphase I/

II studyが必要である。幸い、幹細胞の培養以外は、常備されている機器を用いて泌尿器科医だけで行うことも可能である。また新たに発足したPBSCT研究会も多施設共同研究を行う母体となりうるであろう。

つぎに、超大量化学療法を必要とする難治性精巣腫瘍のcriteriaが必要となる。今回私たちはEORTCのrisk criteriaを用いたが、ほかにIndiana University, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, NCIのrisk criteriaがあり、複雑である。それぞれの比較検討もすでに行われているが²³⁾、最終的なcriteriaは多施設共同研究の場で多数例を対象に決めるのが良いと思われる。

またetoposide大量療法を採取前化学療法として用いることで、末梢血幹細胞が十分採取できることは確認されたが、apheresis後にin vitroで行う採取幹細胞の分離・保存は大変手間のかかる作業である。今後多数例に対して本法を応用するためには、簡単な分離・保存法が必要となってくる。私たちはすでに、Percoll二層比重遠心法に代えてバッグ遠心法を試み、分離・保存の手間を大幅に軽減できる方法を確立している²⁴⁾。

最後に、化学療法後の微小残存病変が問題となる。難治性精巣腫瘍においては、いったんCRとなった後再発する症例をしばしば経験するが、これは微小残存病変の存在を示唆している。白血病では、TCR- δ 鎖遺伝子の再構成や病型特異的染色体転座に基づく遺伝子再構成を利用して、PCR法により10万個に1個程度の微小残存病変の検出が可能となっている。残念ながら、現在、精巣腫瘍の微小残存病変の検出は不可能だが、その存在が示唆されること、PBSCTを併用することで超大量化学療法が比較的安全に行えることから、今後、難治例ではfirst line chemotherapyでCRとなった症例に対しても、長期寛解・治癒を目指すためにも、PBSCT併用超大量化学療法を行うことを検討してもよいのではないかと考えられた。

結 語

1. 難治性精巣腫瘍4例に対して、採取前化学療法としてetoposide大量療法を用いた末梢血幹細胞採取を行った。その結果、十分量の幹細胞が採取でき、同時に抗腫瘍効果も認められた。なお、施行時期については、first line chemotherapy前が良いと考えられた。

2. BEP療法でPRとなった1例に対して、PBSCT併用超大量化学療法を行い、CRとなった。

3. 今後、多施設共同研究によるphase I/II studyを

行い、難治性精巣腫瘍に対する PBSCT 併用超大量化学療法の有効性を検討するのが重要である。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費(一般研究 C, 課題番号04670974), がん集学的治療研究財団助成金の援助を受けて行われた。

文 献

- 1) 杉本浩造, 中川修一, 高田 仁, 戎井浩二, 三神一哉, 野本剛史, 渡辺 決, 園田精昭, 阿部達生, 藤井 浩: 連続血球分離装置を用いて採取した自家末梢血幹細胞により大量化学療法を行った精巣腫瘍の1例. 医工学治療, **IV**, 170—174, 1992.
- 2) 杉本浩造, 中川修一, 三神一哉, 渡辺 決, 園田精昭, 阿部達生, 藤井 浩: 自家末梢血幹細胞移植術併用超大量化学療法を施行した難治性精巣腫瘍の1例. 泌尿紀要, **40**, 155—159, 1994.
- 3) Bajorin, D., Katz, A., Chan, E., Geller, N., Vogelzang, N. and Bosl, G.J.: Comparison of criteria for assigning germ cell tumor patients to "good risk" and "poor risk" studies. *J. Clin. Oncol.*, **6**, 786—792, 1988.
- 4) 葛山由布子, 園田精昭, 坂部秀明, 中川 均, 藤井浩, 阿部達生: G-CSFを併用した Ara-C 大量療法, Etoposide 大量療法による末梢血幹細胞の効率の採取法. 臨床血液, **34**, 1525—1531, 1993.
- 5) 藤井 浩, 中川 均, 園田精昭, 前川 平: 成人リンパ系悪性腫瘍に対する自家末梢血幹細胞移植術の試み. 日輸血会誌, **38**, 748—753, 1992.
- 6) 葛山由布子, 園田精昭, 奥田 司, 高島輝行, 三澤信一, 加嶋 敬, 中川 均, 藤井 浩, 阿部達生: 悪性リンパ腫における rG-CSF 併用化学療法の臨床的有用性とその意義. 臨床血液, **33**, 1789—1796, 1992.
- 7) Takaue, Y., Watanabe, T., Kawano, Y., Koyama, T., Abe, T., Suzue, T., Satoh, J., Shimokawa, T., Ninomiya, T., Kosaka, M., Shimizu, E., Ogura, T. and Kuroda, Y.: Isolation and storage of peripheral blood hematopoietic stem cells for autotransplantation into children with cancer. *Blood*, **74**, 1245—1251, 1989.
- 8) Sonoda, Y., Okuda, T., Yokota, S., Maekawa, T., Shizumi, Y., Nishigaki, H., Misawa, S., Fujii, H. and Abe, T.: Actions of human interleukin-4/B-cell stimulatory factor-1 on proliferation and differentiation of enriched hematopoietic progenitor cells in culture. *Blood*, **75**, 1615—1621, 1990.
- 9) Einhorn, L.H.: Testicular cancer as a model for a curable neoplasm: The Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res.*, **41**, 3275—3280, 1981.
- 10) 中尾昌宏, 中川修一, 豊田和明, 温井雅紀, 高田 仁, 戎井浩二, 杉本浩造, 渡辺 決, 前川幹雄, 都田慶一: 進行性睾丸腫瘍に対する PVB 療法の臨床的検討. 泌尿紀要, **35**, 1871—1875, 1989.
- 11) 温井雅紀, 中尾昌宏, 中川修一, 高田 仁, 戎井浩二, 杉本浩造, 渡辺 決, 前川幹雄: 非セミノーマ精巣腫瘍の臨床的検討. 泌尿紀要, **37**, 1281—1285, 1991.
- 12) Mulder, P.O.M., De Vries, E.G.E., Koops, H.S., Splinter, T., Maas, A., Geest, S.V.D., Mulder, N. H. and Sleijfer, D.T.: Chemotherapy with maximally tolerable doses of VP 16-213 and cyclophosphamide followed by autologous bone marrow transplantation for the treatment of relapsed or refractory germ cell tumors. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, **24**, 675—679, 1988.
- 13) Nichols, C.R., Tricot, G., Williams, S.D., van Besien, K., Loehrer, P.J., Roth, B.J., Akard, L., Hoffman, R., Goulet, R., Wolff, S.N., Giannone, L., Greer, J., Einhorn, L.H. and Jansen, J.: Dose-intensive chemotherapy in refractory germ cell cancer—A phase I/II trial of high-dose carboplatin and etoposide with autologous bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.*, **7**, 932—939, 1989.
- 14) Coppin, C.M.L., Barnett, M.J., Murray, N., Klingemann, H.G., Reece, D.E., Shepherd, J.D. and Phillips, G.L.: High dose chemotherapy (HDC) with autologous marrow rescue (AMR) as consolidation for extreme risk non-seminoma. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **9**, 139, 1990.
- 15) Linkesch, W., Kührer, I. and Wagner, A.: rhu-GM-CSF after ultrahigh dose carboplatin, VP-16, cyclophosphamide with ABMT in refractory germ cell cancer. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **9**, 141, 1990.
- 16) Richman, C.M., Weiner, R.S. and Yankee, R.A.: Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man. *Blood*, **47**, 1031—1039, 1976.
- 17) Dührsen, U., Villeval, J.L., Boyd, J., Kannourakis, G., Morstyn, G. and Metcalf, D.: Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*, **72**, 2074—2081, 1988.
- 18) Kessinger, A., Armitage, J.O., Smith, D.M., Landmark, J.D., Bierman, P.J. and Weisenburger, D.D.: High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood*, **74**, 1260—1265,

- 1989.
- 19) Takaue, Y., Watanabe, T., Hoshi, Y., Abe, T., Matsunaga, K., Saito, S., Hirao, A., Kawano, Y., Ninomiya, T., Kuroda, Y., Koyama, T., Suzue, T., Shimokawa, T., Uchiyama, H., Watanabe, A., Matsushita, T., Kikuta, A., Yokobayashi, A., Murakami, R., Manabe, A., Hosoya, R., Ohira, M. and Fujimoto, T.: Effectiveness of high-dose MCNU therapy and hematopoietic stem cell autografts treatment of childhood acute leukemia/lymphoma with high-risk features. *Cancer*, 67, 1830—1837, 1991.
 - 20) Siena, S., Bregni, M., Brando, B., Ravagnani, F., Bonadonna, G. and Gianni, A.M.: Circulation of CD34⁺ hematopoietic stem cells in the peripheral blood of high-dose cyclophosphamide-treated patients: Enhancement by intravenous recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 74, 1905—1914, 1989.
 - 21) Williams, S.D., Birch, R., Einhorn, L.H., Irwin, L., Greco, F.A. and Loehrer, P.J.: Treatment of disseminated germ-cell tumors with cisplatin, bleomycin, and either vinblastine or etoposide. *N. Engl. J. Med.*, 316, 1435—1440, 1987.
 - 22) Bokemeyer, C. and Schmoll, H.J.: Treatment of advanced germ cell tumours by dose intensified chemotherapy with haematopoietic growth factors or peripheral blood stem cells (PBSC). *Eur. Urol.*, 23, 223—230, 1993.
 - 23) 中村英二郎, 金子嘉志, 武繩 淳, 佐々木美晴: 進行性胚細胞腫瘍に対する Risk Criteria の検討. *泌尿紀要*, 38, 913—918, 1992.
 - 24) 藤井 浩, 中川 均, 菌田精昭, 葛山由布子: 末梢血幹細胞の簡易保存法. *日輸血会誌*, 39, 531, 1993. (1993年10月12日受付, 12月21日受理, 特別掲載)
-