ホルモン不応性進行性前立腺癌に対するインターフェロン $\alpha 2a$, 5FU 併用療法

北海道大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 小柳知彦教授)

篠原 信雄 原林 透 松田 博幸
能中 修 野々村克也 小柳 知彦

国立札幌病院泌尿器科 (部長: 藤枝順一郎)

永 森 聡 大 室 博

斗南病院泌尿器科 (部長: 出村孝義)

松 村 欣 也 出 村 孝 義

5-FLUOROURACIL AND ALPHA-2a INTERFERON IN PATIENTS WITH HORMONE-REFRACTORY PROSTATE CANCER

Nobuo Shinohara, Tohru Harabayashi, Hiroyuki Matsuda, Osamu Nounaka,

Katsuya Nonomura and Tomohiko Koyanagi

Department of Urology, Hokkaido University School of Medicine

(Director: Prof. Tomohiko Koyanagi)

Satoshi Nagamori and Hiroshi Ohmuro

Department of Urology, Sapporo National Hospital, Hokkaido Cancer Center

(Chief: Junichiro Fujieda)

Kinya Matsumura and Takayashi Demura

Department of Urology, Tonan Hospital

(Chief: Takayoshi Demura)

(Background) Hormone-refractory metastatic prostate cancer remains a disease for which limited therapeutic options are available. Therefore, the establishment of newly, more effective chemotherapy is expected. Experimental data suggest that PC-3, a human hormone refractory prostate cancer cell line, showed a 2-fold increase in 5-Fluorouracil (5FU) sensitivity in the presence of alpha-2a Interferon (IFN $\alpha 2a$) at 100 IU/ml, compared to that without IFN $\alpha 2a$. Based on this data, we treated 11 patients with 5FU and IFN $\alpha 2a$ in order to determine the clinical response and toxicity of this combination chemotherapy.

(Methods) One course of this combination chemotherapy consisted of a continuous intravenous infusion of 5FU at 600 mg/m²/day for 5 days (D1-D5) with IFN $\alpha 2a$ 3 million units (MU) intramuscularly 3 times weekly (D1, D3, D5) followed by a bolus injection of 5FU at 600 mg/m² and IFN $\alpha 2a$ at 3 MU/day on D15 and D22.

(Results) Based on the Response Criteria for Prostate cancer Treatment, one of 9 patients with bony metastasis had partial response, 2 patients with nodal disease on the CT scan obtained partial response. Six of 11 patients had more than 50% decrease in post-therapy prostatic antigen levels, 3 of whom obtained complete response. Significant myelosuppression did not occur. There were no chemotherapy-related deaths.

(Conclusion) These results suggest that the combination of 5FU and IFN $\alpha 2a$, although preliminary, is an active regimen against hormone-refractory metastatic prostate cancer.

Key words: hormone refractory prostate cancer, 5FU, IFN $\alpha 2a$

要旨：(背景と目的)一般にホルモン不応性転移性前立腺癌は、難治性で、現在のところ有効な治療法は存在しない。そのため新しい、より有効な化学療法の樹立が期待されている。基礎的検討より、ホルモン不応性前立腺癌細胞株 PC-3においてインターフェロン $\alpha 2a$ (IFN $\alpha 2a$) 100IU/ml 存在下で非併用時に比較して5FU 感受性が2倍増加することが示された。この結果にもとづき、我々は11名の症例に IFN $\alpha 2a$, 5FU 併用療法を行い、その有効性および副作用を検討した。

(対象と方法)方法は5FUは600mg/m²を1～5日に24時間持続静脈内注入し、その間 IFN $\alpha 2a$ 300万単位を1, 3, 5日めに筋肉内投与、さらに15, 22日めに5FUは600mg/m²を急速静脈内注入し、合せて IFN $\alpha 2a$ 300万単位を筋肉内投与した。これを1コースとし、有効例には原則として2コース以上投与した。

(結果)前立腺癌治療効果判定基準に従い評価したところ、骨転移陽性例11例中1例でPR, CT上確認されたリンパ節転移陽性例2例はPRであった。また11例中6例で治療後前立腺抗原の50%以上の下降がえられ、そのうち3例がCRであった。副作用では高度の骨盤抑制はみられず、治療に伴う死亡例は認めなかった。

(結論)これらの結果より、本併用療法はホルモン不応性前立腺癌に対する有効な治療法の一つとなり得ることが示唆された。

キーワード：ホルモン不応性前立腺癌, 5FU, IFN $\alpha 2a$

緒 言

1941年, Huggins and Hodges の報告¹⁾以来進行性前立腺癌に対する内分泌療法の有用性は確立している。しかし治療経過中に多くはホルモン不応性となり、一度ホルモン不応性となると有効な治療法はなく、新しい化学療法の樹立が待たれている。近年癌化学療法の領域に biochemical modulation の考えが導入され、種々の領域の癌に対する化学療法に応用されてきている。その中で、インターフェロン $\alpha 2a$ (IFN $\alpha 2a$), 5FU 併用療法は Walder らの大腸癌に対する報告²⁾以来、消化器系腫瘍に対する有用性が広く知られている。今回我々は、ホルモン不応性前立腺癌に対する新しい化学療法として、この IFN $\alpha 2a$, 5FU 併用療法を取り上げ、その基礎的、臨床的検討を行った。

対象及び方法

1. 実験細胞による効果増強の検討

抗癌剤の効果増強の検討には、ホルモン不応性ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 (ATCC より購入) を用いた。細胞株の継代培地として、10%牛胎児血清 (FCS), 0.5% グルタミンを添加した Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) を用いた。薬剤として、5FU は協和醗酵工業 (株) より、また IFN $\alpha 2a$ は武田薬品工業 (株) より購入し、薬剤感受性試験直前に培養液 DMEM で種々の濃度に希釈して使用した。薬剤感受性試験には、対数増殖期の細胞を用い、細胞を96ウェルプレートにまき、24時間後に種々の濃度の薬剤を加え、3日間培養した。その後生細胞数の測定には3-[4,

5-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT ; Sigma 社製) を用い、生細胞中に産生される tetrazolium 塩を540nm の吸光度で測定する、いわゆる MTT assay³⁾を用いた。各試験は triplicate で行い、アッセイは5回以上繰り返し行った。まず5FU 単独, IFN $\alpha 2a$ 単独の濃度生存率曲線を作成し、50%阻害値 (IC₅₀値) を算出した。IFN $\alpha 2a$ による5FU の効果増強は、IFN $\alpha 2a$ 濃度10, 100, 1,000, 10,000IU/ml に固定した際の5FU の濃度生存率曲線より算出した IC₅₀値を、5FU 単独での IC₅₀値と比較することにより相対耐性度を算出した。更に、各5FU 濃度における理論値 (相加効果) を (種々の濃度の5FU 単独の生存率) × (各一定濃度の IFN $\alpha 2a$ 単独による生存率) / 100より算出し、その値より実測値が低い場合を相乗効果有り と判定した。統計学的解析には Cochran's test を用いた。

2. 臨床的検討

1) 対象の選択

1993年12月から1994年10月に、北大、国立札幌病院・北海道ガンセンターおよび斗南病院において、前治療として十分な内分泌療法が行われたにもかかわらず、その経過中に新病変の出現または血清前立腺抗原 (PA) 値の再上昇をきたした再燃症例で、インフォームド・コンセントのえられた11例を対象とした (Table 1)。対象症例の背景因子をみると、年齢は56歳から81歳、中央値64歳、Performance status (PS) は、PS0 4例, PS1 3例, PS2 3例, PS3 1例であった。前治

Table 1 Patients' characteristics

No.		11
Age (yr)	Median	64
	Range	56–81
PS	0	4
	1	3
	2	3
	3	1
Previous hormonal therapy		
	Estramustine phosphate (Est)	2
	Castration+CMA	1
	Castration+DES-P	1
	Castration+Est	3
	LH-RH+CMA	2
	LH-RH+DES-P	2
Site of metastasis		
	Bone only	9
	Lymph nodes only	1
	Lymph nodes and pleural effusion	1
PA value at study entry (ng/ml)		
	Median	45
	Range	6.4–386

CMA: Chlormadinone acetate

DES-P: Diethylstilbestrol phosphate

療として行った内分泌療法の内容は、estramustine phosphate の内服のみ 2 例，除睾術に抗男性ホルモン剤，女性ホルモン剤，estramustine phosphate の内服を併用したもの 5 例，LH-RH agonist に抗男性ホルモン剤，estramustine phosphate の内服を併用したもの 4 例であり，再燃までの期間は 9～48 カ月（中央値 16 カ月）であった。この内 estramustine phosphate の内服のみが行われていた 2 例を除き，9 例は再燃時内服剤の投与を中止し，本療法の開始まで最低 2 週間経過を観察した。その間に内服剤 Chlormadinone acetate を中止することで，PA 等マーカーの改善が得られる現象（いわゆる withdrawal syndrome）が起こらなかったことが，中止後のマーカー測定により確認された。転移部位では骨のみ 9 例，リンパ節のみ 1 例，リ

ンパ節と胸水貯留のみられたもの 1 例であり，また治療開始前 PA 値（DELFIGA PSA kit）は 6.4ng/ml から 386ng/ml（中央値 45ng/ml）であった。

2) 薬剤の投与スケジュール (Fig. 1)

Day 1 から Day 5 まで 5FU 600mg/m² を 24 時間持続静脈内注入し Day 15, Day 22 に 5FU 600mg/m² を静脈内注入した。また IFN α 2a は，Day 1, 3, 5, 15, 22 に 300 万国際単位 (IU) 筋肉内投与し，28 日間を 1 コースとし，有効例に対しては原則として 2 コース以上投与した。

3) 効果判定

1 コース毎に日本泌尿器科学会前立腺癌効果判定基準⁴⁾にもとづき，効果判定した。尚血清 PA 値は DELFIGA PSA kit を用い測定したため，栗山らの報告⁵⁾に従い，cut-off 値を健常者との境界である 1.98ng/ml とし，この値以下になった時をマーカー CR とした。副作用については癌治療学会固形がん化学療法効果増強の判定基準⁶⁾の副作用の記載様式にしたがった。

結 果

1. 基礎的検討

IFN α 2a を単独投与した際の検討では 10, 100, 1,000, 10,000, 100,000IU/ml の濃度で，対象群と比

Table 2 Effect of IFN α 2a on 5FU resistance

IFN α 2a dose (IU/ml)	IC ₅₀ of 5FU (μ g/ml; mean $\pm$ SD)	Relative resistance ratio*
0	0.162 $\pm$ 0.076	1
10	0.184 $\pm$ 0.256	1.1
100	0.080 $\pm$ 0.013	0.49**
1000	0.281 $\pm$ 0.204	1.7
10000	0.286 $\pm$ 0.128	1.8

*Relative resistance ratio calculated as the ratio of the IC₅₀ for 5FU with each dose of IFN α 2a divided by the IC₅₀ for 5FU alone.

**Significant difference from 5FU alone, $p < 0.01$ (Cochran's test)

Fig. 1 Treatment schedule of the combination chemotherapy (IFN α 2a and 5FU)

Fig. 2 5FU sensitivity in PC-3 cells

Actual survival curve of 5FU alone (—○—), theoretical survival curve of 5FU with IFN α 2a 100IU/ml (····■····) and actual survival curve of 5FU with IFN α 2a 100IU/ml (—■—).
*Significant difference between actual survival and theoretical survival of 5FU with IFN α 2a in each concentration of 5FU, $p < 0.01$ (Conchran's test).

較して、各々 $83 \pm 6\%$ 、 $71 \pm 8\%$ 、 $57 \pm 8\%$ 、 $43 \pm 6\%$ 、 $34 \pm 5\%$ の増殖抑制を認めた。これら濃度でIFN α 2aを併用した際の5FUのIC₅₀値、相対耐性度を検討したが、IFN α 2aを100IU/mlで併用した場合、5FUのIC₅₀値の有意な低下 ($p < 0.01$)、即い殺細胞効果の増強がみられた (Table 2)。しかしその他の濃度では5FUの殺細胞効果増強はみられず、IFN α 2a 1,000IU/ml以上ではかえって殺細胞効果の減弱がみられた。この結果はIFN α 2a 100IU/ml併用時の5FUの濃度生存曲線 (理論値、実測値)でも確認され、いずれの濃度においても実測値は理論値より低値を示し、特に0.01、0.1 μ g/mlでその差は有意であった ($p < 0.01$; Fig. 2)。

2. 臨床的検討

1) 抗腫瘍効果 (Table 3)：対象11例が全て完全例であり、1994年11月現在、3コース終了5例、2コース終了3例、1コース終了3例であった。これら11例の治療効果を、評価病変別にみると、骨転移巣 (9例)ではpartial response (PR) 1例、no change (NC) 7例、progressive disease (PD) 1例、奏効率11%、リンパ節 (2例)ではPR 2例、奏効率100%、腫瘍マーカーPA (11例)ではcomplete response (CR) 3例、PR 3例、NC 3例、PD 2例、奏効率55%であった。治療に伴うPAの変化をFig. 3に示した。一方、主観的效果として転移巣の痛みに関しては、有症状例6例中改善3例、不変1例、増悪2例であり、またPSは1

Table 3 Clinical response

Case	Course	Bone	Lymph node	PSA
1. KS	3	NC	PR	NC
2. MT	3	NC		CR
3. MK	3	NC		PR
4. SK	3	PD		PR
5. TH	3		PD	
6. S I	2	PR	CR	
7. T I	2		NC	
8. S F	2	PR	CR	
9. MT	1	NC	PR	
10. I N	1	PD	PD	
11. HM	1	NC	NC	
Response rate		1/9(11%)	2/2(100%)	6/11(55%)

例で改善、10例で不変であった。

2) 副作用 (Table 4)：骨髄抑制は比較的軽度であり、白血球減少は全例 grade 2以下 (最低値は2,200)、血小板減少はみられなかった。一方、消化器系副作用では口内炎、嘔気・嘔吐とも比較的軽度であったが、1例で激しい下痢がみられた。5FUによる皮膚炎 (Hand-Foot syndrome) は11例中4例 (36%)にみられ、投与コース数の増加とともにその発現頻度は増加した。また、IFN α 2aによる精神症状であるうつ状態は認めなかった。

Fig. 3 PA changes after treatment

Favorable response ($\geq$ PR) : —○—Unfavorable response ($\leq$ NC) : —●—

PA value : DELFIA PSA kit (cut-off value 1.98ng/ml)

Table 4 Toxicities observed in 11 patients

Toxicity	Grade				
	0	1	2	3	4
Leucocytopenia	5	2	4		
Thrombocytopenia	11				
Mucositis	8		3		
Anorexia	7	2	2		
Nausea/Vomiting	10		1		
Diarrhea	8	2		1	
Neurologic	11				

Hand-foot syndrome (5-FU dermatitis) : 4/11 (36%)

考 察

ホルモン不応性前立腺癌に対し、NPCP による cyclophosphamide 療法の報告以来、種々の全身化学療法が試みられてきた⁷⁾。しかし、対象となる症例の平均年齢が70歳前後と高齢者であり、かつ心血管系障害、腎機能障害など合併症を有していることが多い等、宿主側の悪条件もあり、従来の化学療法では奏効率は低く、また副作用による QOL の低下が問題となっていた。そのため化学療法は、いまだに骨痛、神経痛等の症状改善を目的にすることが多い現状である。

近年、消化器癌を中心に biochemical modulation の概念が導入され、抗癌剤の抗腫瘍効果を増強させつつ、副作用の軽減を図り癌化学療法の効果を高める試みが数多く行われてきている。その内、IFN α 2a, 5FU

併用療法は Wadler ら²⁾が結腸・直腸癌における成績を報告して以来、その有効性が広く知られ、食道癌、膀胱癌の化学療法にも応用されている⁸⁾。

そこでホルモン不応性前立腺癌に対する IFN α 2a, 5FU 併用療法の導入にあたり、まず *in vitro* の実験系としてホルモン不応性前立腺癌細胞株 PC-3 を用い、消化器癌と同様に IFN α による 5FU の殺細胞効果の増強がおこなうかどうか検討した。その結果、IFN α 2a 100 IU/ml で併用した場合、最も強く 5FU の殺細胞効果の増強がみられ、IFN α 2a の投与量を増やしても必ずしも効果増強がおこらなかった。赤沢らは、胃癌細胞株を用い、IFN α による thymidine kinase (TK) 阻害により、5FU の殺細胞効果が増強されると報告している⁹⁾。TK 阻害効果は IFN α の濃度に依存して増強されるとしており、その場合 5FU の殺細胞効果も IFN α の濃度に依存して増強すると考えられる。しかし、PC-3 細胞においては 5FU の殺細胞効果の増強が、IFN α 2a の濃度に依存せず、TK 阻害以外の要因が働いている可能性が示唆された。また臨床応用に際し、併用する IFN α 2a の投与量は必ずしも増やす必要はないことが示された。

これらの結果にもとづき、IFN α 2a, 5FU 併用療法の臨床前期第 2 相試験を行った。現在までにいくつかの施設から 5FU 単独療法の報告がなされているが、Kuzel ら¹⁰⁾は 22 例中、PR 以上の症例及び PA の 50% 以上の下降症例がみられず、有効性はないと報告して

いる。IFN α 2a 単独療法についても van Haelet-Pisani ら¹¹⁾が40例のホルモン不応性前立腺癌症例で検討しているが、奏効率5%, PAの50%以上の下降症例が10例と5FU 単独療法と同様に有用性は低いとされている。一方、IFN α 2b, 5FU 併用療法は Dreicer らにより報告されている¹²⁾。彼らは13例に対し、5-FU 500mg/m²を5日間投与し、1週間休薬期間をおき、その後5-FU 750ng/m²を週1回投与、一方 IFN α 2b は 9×10^6 IU を初日から週3回皮下投与した。しかし本療法を施行したにも関わらず、1例も有効例はなく、重篤な副作用(口内炎、下痢)を31%に認め、臨床的有用性は低いとしている。それに対し、今回の併用療法は骨転移陽性例11例中1例でPR、リンパ節転移陽性例2例はともにPR、PAの50%以上の下降も55%の症例でみられ、副作用も軽度であった。この差は対象症例の選択条件、効果判定法の差によりもたらされた可能性もあるが、副作用の強さからみて薬剤投与スケジュール、薬剤投与量の違いによる影響が強いと思われる。

尚、本併用療法施行時の IFN α 2a 及び5FU の血中濃度に関しては今回の研究では測定しておらず、今後検討していく予定である。ただ、今回我々が選択した投与量で IFN α 2a を投与した場合、その血中濃度は投与後約3時間で13IU/ml になることが知られており、また5FU に関しては、持続静脈内注入でほぼ $0.065 \sim 0.39 \mu\text{g/ml}$ 、急速静脈内注入で $13 \sim 130 \mu\text{g/ml}$ になるとされている¹³⁾。5FU の持続静脈内注入で得られる濃度は基礎的検討で設定したものに近いものと思われる。一方、急速静脈内注入で得られると考えられる濃度に関しては、今回の基礎的研究において、5FU の短時間接触による殺細胞試験を行っていないので、不明であり、今後この点も検討していく必要があると考えられた。

結 語

今後、さらに適切な薬剤投与量、投与スケジュールの検討は必要であるが、今回我々が報告した IFN α 2a, 5F 併用療法はホルモン不応性前立腺癌に対する治療法の一つとして有効で、さらに症例をあつめ検討すべきと思われる。

文 献

- 1) Huggins, C. and Hodges, C.V.: Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.*, **1**, 293—297, 1941.
- 2) Waldler, S., Schwartz, E.L., Goldman, M.,

- Lyver, A., Rader, M., Zimmerman, M., Itri, L., Weinberg, V. and Wiernik, P.H.: Fluorouracil and recombinant alpha-2a-interferon: An active regimen against advanced colorectal carcinoma. *J. Clin. Oncol.*, **7**, 1769—1775, 1989.
- 3) Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.*, **65**, 55—73, 1983.
- 4) 日本泌尿器科学会・日本病理学会編: 泌尿器科癌の治療効果判定基準: 前立腺癌の治療効果判定基準. 日泌尿会誌, **83**, 462—467, 1992.
- 5) 栗山 学, 江崎奈々, 山田伸一郎, 伊藤慎一, 岡野学, 高橋義人, 篠田育男, 河田幸道, 大川二朗, 宮脇 章, 清見千代子, 戸田景三, 藤中早代, 西山ひとみ, 藤井昭男: DELFIA PSA を用いた血清 PSA 測定の臨床的意義. 泌尿紀要, **38**, 425—431, 1992.
- 6) 日本癌治療学会固形がん化学療法効果増強の判定基準. 日癌治療会誌, **21**, 943—953, 1986.
- 7) Warner, J.A. and Heston, W.D.W.: Future developments of nonhormonal systemic therapy for prostatic carcinoma: Advanced prostatic carcinoma. *Urol. Clin. North Am.*, **18**, 25—33, 1991.
- 8) Wilke, H., Stahl, M., Schmoll, H.J., Preusser, P., Fink, U., Meyer, H.J., Achterath, W., Knipp, H., Kohne-Wompner, C.H. and Harstrick, A.: Biochemical modulation of 5-fluorouracil by folinic acid or alpha-interferon with and without other cytostatic drugs in gastric, esophageal, and pancreatic cancer. *Semin. Oncol.*, **19**, 215—219, 1992.
- 9) 赤沢修吾, 吉田清一: Interferon- α による5-FU の biochemical modulation—Interferon- α と5-FU の投与方法の検討—. 消化器癌, **2**, 83—87, 1992.
- 10) Kuzel, T.M., Tallman, M.S., Shevrin, D., Braud, E., Kilton, L., Johnson, P., Kozlowski, J., Vogelzang, N.J., Blough, R. and Benson, A.B. III: A phase II study of continuous infusion 5-Fluorouracil in advanced hormone refractory prostate cancer. *Cancer*, **72**, 1965—1968, 1993.
- 11) van Haelst-Pisani, C.M., Richardson, R.L., Su, J., Buckner, J.C., Hahn, R.G., Frytak, S., Kvols, L.K. and Burch, P.A.: A phase II study of recombinant human alpha-interferon in advanced hormone-refractory prostate cancer. *Cancer*, **70**, 2310—2312, 1992.
- 12) Dreicer, R., Forest, P.K. and Williams, R.D.: Phase II trial of 5-fluorouracil and alpha-2b interferon in patients with hormone-refractory metastatic prostate cancer. *Urology*, **44**, 377—380, 1994.
- 13) Calabresi, P. and Parks, R.E. Jr.: Antiproliferative agents and drugs used for immunosuppression. In *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th ed., p. 1247—1306, Macmillan Publishing Co., New York, 1985.

(1995年1月13日受付, 7月24日受理)