 特集 診療・研究の最前線(2)

順天堂医学 48(2)
p. 173~183 (2002)

子宮癌と卵巣癌への挑戦**

The challenge to ovarian cancer and uterine cancer

木下 勝之*

KATSUYUKI KINOSHITA

産婦人科学教室の現状

2001年4月より、順天堂大学産婦人科学教室を担当して以来、教室の特徴を明らかにし、今後の診療および研究の方向性を検討した。

周産期部門では、出生後に外科治療を要する胎児異常妊婦と、SLEを中心とした内科合併症妊娠が多いことが特徴である。今後のdynamicな周産期医療の展開のためには、小児科新生児部門の協力のもとにNICUを現在の6床から少なくとも12床まで増やし、母体搬送症例を自由に受け取れる体制が必須である。

内視鏡関連部門は、腹腔鏡・子宮鏡を用いた良性腫瘍に対する手術に関し、わが国でleadershipを取る程に卓越した技術を有し、クリニカルパスを導入した手術患者管理システムは、病院のモデルとして機能している。

生殖内分泌・不妊症治療部門は、内視鏡技術を駆使した不妊症検査を導入し、生殖医療の最先端技術を実践している。

悪性腫瘍部門では、毎年100例以上の新しい婦人科癌症例が集まり、今後も増加傾向にあることから、教室の診療・研究の柱の1つとして一層の発展が期待できる領域と考えられた。そこで産婦人科

癌診療体制としては、米国MD Anderson Cancer Centerと対等の診療内容を実現することを目標として、gynecologic oncologistの養成を中心に、手術療法・化学療法・放射線療法、そして分子標的療法の研究および臨床応用の展開を考えている。

本講演ではその裏付けとして、前任地である埼玉医大総合医療センター産婦人科における、子宮頸癌と卵巣癌に対する化学療法の新しい試みの成果を中心に述べ、今後期待される分子標的療法の研究成果について述べる。

子宮頸癌に対する動注 neoadjuvant chemotherapy (NAC)

世界産婦人科連合(FIGO)の婦人科癌治療年報(2001年)によれば、子宮頸癌の5年治癒成績は、Ia期94%、進行癌ではIb期80%・II期74%・III期46%・IV期25%である。わが国では、子宮癌検診の普及により、早期癌がその2/3を占めるようになったとはいえ、残された課題は進行癌の治癒成績の改善と放射線療法後の難治性下腿リンパ管浮腫等の予防対策である。そこで、この課題への挑戦として、進行子宮頸癌に対して、neoadjuvant chemotherapy(NAC)動注化学療法を行ったので、その治療成績について報告する。

1. 目的

子宮頸癌に対する主治療前の化学療法により腫瘍の縮小が期待される。そこで、NAC動注化学療法を行い、従来手術療法の適応にならず、放射

* 順天堂大学医学部産婦人科学講座教授

Department of Obstetrics and Gynecology, Jun-
tendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

** 第297回順天堂医学会学術集会〔Nov. 17, 2001開催〕
〔July 10, 2002 原稿受領〕

線療法が選択されたⅢ期以上の症例に対する手術療法の可能性と放射線療法の回避，さらにⅡ期症例に対する縮小手術の可能性を検討することを目的とした。

2. 対象

5年間（1995～1999）の子宮頸癌Ⅱ期以上の進行癌114例を，病理組織別に2群に分類し，子宮頸部扁平上皮癌86例，年齢28～80歳（平均53歳）と子宮頸部腺癌28例（腺癌18例・腺扁平上皮癌10例）年齢25～86歳（平均51歳）を対象とした。

3. 治療方針

- 1) 大腿動脈よりカテーテルを動脈内に挿入し，内腸骨動脈に達し，上臀動脈を超えた部位より，抗がん剤を左右動脈に同量，one shotで注入した。
- 2) この動注化学療法は3～4週ごとに，2～3コース施行した。
- 3) 動注終了後，3週目に原則として手術療法をおこなったが，手術不能症例では，放射線療法を選択した。
- 4) 術後リンパ節転移，または筋層浸潤1/2以上では，化学療法または放射線療法を追加した。

4. 動注化学療法のregimen

1) 扁平上皮癌に対して

Carboplatin (AUC2.5～4.5)・Etoposid (200～300mg/body)・Mitomycin (8mg/mm²)

2) 腺癌または腺扁平上皮癌に対して

Carboplatin (AUC2.5～4.5)・Etoposid (200～300mg/body)・Epirubicin (30～40mg/mm²) or Mitomycin (8mg/mm²) いずれも，多剤併用療法を選択した。

5. 治療効果判定方法

1) NAC治療前後で，内診・超音波検査・MRIにより腫瘍縮小効果を判定し，進行期に関して，down stagingの有無を評価。

2) 治療前筋層浸潤1/2以上あるいはリンパ腺転移がみとめられる症例のうち，NAC終了後浸潤が1/2未満になった症例，またはリンパ節転移が消失した症例を放射線療法回避できた症例とした。

3) 治療成績を分析し，予後不良症例を検討した。

6. 成績

1) 動注NAC前後の，子宮頸部腫瘍の縮小効果の一例はMRI所見（図-1）のごとくであり，治療後は正常大にまで縮小した。

2) 腺癌または腺扁平上皮癌の縮小効果に関して，PR以上の奏功率は75.0%であり（表-1），扁平上皮癌では85.2%であった。

3) down stagingは扁平上皮癌76.8%，腺癌または腺扁平上皮癌では64.3%であった。

4) 放射線療法回避率をみると，Ⅰ・Ⅱ期では，61.3%で，Ⅲ・Ⅳ期では，20.8%であった。

5) 長期予後を生存曲線でみると，2年では扁平上皮癌Ⅰb，Ⅱ期では84.2%，Ⅲ・Ⅳ期では60%であり（図-2），腺癌または腺扁平上皮癌ではⅠb，Ⅱ期で77.8%，Ⅲ・Ⅳ期50.0%で（図-3）であった。

図-1 動注化学療法前後のMRI所見

表-1 Adenosquamous or Adenocarcinoma 縮小効果

病期	症例	CR	PR	NC	PD
I b	5	1	3	0	1
II a	4	0	4	0	0
II b	11	3	6	2	0
III b	7	0	3	4	0
IV a	1	0	1	0	0
	28	4	17	6	1
					奏効率75.0%

図-2 SCCの生存曲線

図-3 子宮頸部腺癌の生存曲線

6) 予後不良であった症例は24例あり、この群の縮小効果は50%であった。このうち、I・II期9例の再発・増悪部位は、局所再発1例・遠位リンパ節転移3例・遠隔転移5例だった。一方、III・IV期症例は15例あり、局所再発8例・遠位リンパ節再発4例・遠隔転移6例であった(表-2)。

7. 考察

動注NAC療法は子宮頸部腫瘍への血流が豊富である時期に、局所に大量の制癌剤が投与されることから、腫瘍は縮小し、また所属リンパ節転移巣を減少または消滅されることで、その後の主治療の根治性をたかめることである。

NACのレジメンに関して、cisplatin含む多剤併用で奏効率は50%以上であることから、PAMF

表-2 予後不良症例の検討

死亡症例24例 I・II期9例、III・IV期15例				
Down staging 縮小効果				
I・II期	55.6%	55.6%		
III・IV期	40.0%	46.7%		
再発・増悪部位				
	局所	骨盤リンパ節	遠位リンパ節	遠隔
I・II期	1	1	3	5
III・IV期	8	(8)	4	6
重複あり				

(cisplatin, adriamycin, mitomycin, 5-FU)も試みられ、奏効率83%との報告もある。今回用いたレジメンは組織型に関係なく有効な白金製剤とetoposideを中心に、腺癌に有効なepirubicin、扁平上皮癌にmitomycinを用いた。この成績から、レジメンに関して有効性の高い薬剤であり、特に化学療法に抵抗性であることが、問題である頸部腺癌にも75%の奏効率を示したことは有望なレジメンと考えられる。

投与経路として、全身投与でなく、内腸骨動脈内注入することにより、局所の制癌剤濃度を高め、転移巣にも有効であることが期待された。事実、有効症例をみると開腹所見では、骨盤リンパ節の転移巣と思われる腫大したリンパ節は縮小し病理学的所見からも、癌細胞は証明されず、またIIb期以上で、基靭帯や腔壁浸潤が認められた症例では、摘出組織の病理所見から、浸潤部位に癌細胞は証明されなかった。従って、臨床進行度分類では、down stagingは70%の症例で達成された。

この結果、縮小手術の可能性が出てきた。特にIb期でCRになった症例では、基靭帯・腔壁の微小の浸潤も制御されることから、広汎子宮全摘術をする必要はなく、縮小手術として拡大子宮全摘術、または単純子宮全摘術も可能になると思われる。しかし、PR症例では、骨盤リンパ節の転移が消失しないこともあることから、CRであっても、骨盤リンパ節廓清は行うべきであり、PR症例では傍結合織やリンパ節転移の有無を検索す

る目的からも、微小な残存病巣を除去する意味からも広汎子宮全摘術を行うべきと思われる。

また従来手術療法は不可能であったⅢ期症例は全て手術が可能となり、放射線療法抵抗性あるいは、制癌剤抵抗性の可能性がある腫瘍に対し、腫瘍縮小後に遺残腫瘍を摘出することができること、また下腿リンパ管浮腫など難治性の副作用が問題となる放射線療法の回避の視点からも、動注NACは有意義と思われた。しかし、動注NAC療法が無効であった症例では、骨盤リンパ節・遠隔リンパ節、または遠隔臓器への転移が制御されていない症例であったことから、NAC療法では遠隔転移のコントロールが不可能であると思われた。

この新しい動注NAC療法の効果は患者の生存率とquality of lifeに寄与するかどうかで評価されねばならない。実際、Ⅲb期症例の累積5年生存率は64%であり、単独放射線療法の生存率を上回るとの報告もある。さらに、従来治療に抵抗する頸部腺癌に対して、その効果も著明であり、NAC適応症例の選別によりその有用性が明確になることが期待される。今後、このprospective randomized studyによる、有効性の証明が求められている。

卵巣癌に対するPBSC併用 semi-high dose化学療法

卵巣癌は多剤併用化学療法により一次効果、長期予後共に改善してきたが、Ⅲ期以上の進行卵巣癌ではその5年生存率は30%と低く、寛解例でも再発することが多い。化学療法の限界の一つにdose limiting factorとして、骨髄抑制があった。この問題の解決策として、固形癌に対してPBCSTの併用による利癌剤のdose upが試みられている。

1. 目的

PBSC（末梢血管細胞移植）併用semi-high dose化学療法を新たに開発し、その方法と無菌室管理を必要としない、通常の大部屋で行えるかどうかの、そして治療効果につき検討を行った。

2. 対象

卵巣癌Ⅱc期以上の症例で、①performances-tatus（PS）0～2、②65歳以下、③初回手術で残存腫瘍のある症例、④初回化学療法例、以上4項目を全て満たした29症例を対象とした。その詳細は表-3の如くである。効果判定は、second reductive surgeryもしくはsecond look operation、third look operationによって行った。

3. 末梢血管細胞動員・採取法

1) 末梢血管細胞動員とPBSC採取法

PBSCの動員化学療法はCarboplatin（CBD-CA：expected AUC5.0～5.5）+Etoposide（550～750mg/body）とした。

化学療法後、G-CSF5 μ g/kgを連日皮下投与し、白血球数がnadirより上昇する時に末梢血CD34陽性細胞をフローサイトメトリー法にてカウントした（図-4）。PBSC採取前日に末梢血CD34陽

表-3 StageⅡc以上の残存病変を有する進行卵巣癌29例（FIGO）

組織分類	進行期	
Serous adenocarcinoma（20例） （高分化型：14例、低分化型：6例）	Ⅱc	1
	Ⅲc	15
	Ⅳ	4
Mucinous adenocarcinoma（1例） Clear cell carcinoma（6例）	Ⅱc	1
	Ⅲc	3
	Ⅳ	2
Endometrioid carcinoma（2例）	Ⅱc	1
	Ⅲc	1

図-4 末梢血管細胞の動員

性細胞数（末梢血中のリンパ球の個数/ μl ×CD34陽性細胞（%））を算出し、10～20個/ μl 以上になったら、翌日連続遠心血液分離装置（Baxter社CS3000）を用いてPBSC採取を行った。約3時間、10Lの血液を処理し、当日のうちに採取したCD34陽性細胞数/kgを算出した。今後の予定化学療法に必要なPBSC量に応じて2～3日間続けて採取し、使用まで凍結保存した。

2) semi-high dose化学療法のレジメンと施行方法

PBSCT併用semi-high dose化学療法はCBDCA（expected AUC 8.5～9.5：800mg～1000mg/body）＋Etoposide（350～450mg/ m^2 ×5日間；1300～1600mg/body）であった（図-5）。4PBSCTは制癌剤投与後1～2日目に行った。移植後、白血球数が10000/ μl 程度に回復するまでG-CSF5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を連日投与した。

3) 治療スケジュール

初回に標準手術（子宮全摘出術・両側付属器切除術・骨盤および傍大動脈リンパ節郭清術・大網切除術）ができた場合、動員化学療法、PBSCT併用semi-high dose化学療法（2～5回、通常4回を目標とし、副作用・PS効果によって増減）、最後に標準化学療法を施行し、second look operationで効果の確認を行う。通常、化学療法は6コースであるが、腫瘍残存量・効果・副作用により増減した。

4. 成績

1) PBSC採取量

PBSC採取は18名例30コースにおいて74回施

図-5 EJ semi-high dose化学療法

行された。1コースあたりの平均採取CD34陽性細胞数は $21.7 \pm 17.3 \times 10^6/\text{kg}$ であった。経時的に末梢血中CD34陽性細胞数と採取量との間に正の相関がみられ、末梢血中にCD34陽性細胞数が10個/ μl あれば $1.0 \times 10^6/\text{kg}$ 、50個/ μl あれば $5.0 \times 10^6/\text{kg}$ 程度の採取量が期待できた（図-6）。

2) PBSC移植による骨髓機能への効果

PBSCT併用semi-high dose化学療法は88コースで行われ、1コースあたり平均移植CD34陽性細胞数は $9.6 \pm 7.0 \times 10^6/\text{kg}$ （ $2.8 \sim 17.8 \times 10^6/\text{kg}$ ）であった。白血球数が1000以下となったのは、38コース（44%）であったが、平均2.7日、最長6日間で回復した。血小板数が3万以下になったのが86コース（64%）であり、1～2回の血小板輸血が必要となった。

PBSCTによる骨髓機能の回復をみると、移植後白血球数の立ち上がりは平均 9.2 ± 1.0 日（7～12日）目であり、血小板の回復は白血球より平均3.7日遅れた。図-10に示すように、PBSCTによる白血球数の回復は、動員化学療法に比し、nadirは低いものの、立ち上がりは急峻であり、PBSCTにより急速な骨髓機能回復が認められた（図-7）。

3) 治療成績

Ⅲ期以上の症例の生存曲線を見ると、PBSCAT

図-6 末梢血CD34陽性細胞数と採取CD34陽性細胞数

図-7 末梢血管細胞移植時の白血球の推移

図-8 低分化型腺癌の生存曲線

併用semi-high dose化学療法を行った症例の5年生存率は50%, 明細胞癌6例を除くと60%であり, 標準量化学療法を行った症例(47例)の30%に比し, 著明な改善が認められた。しかし, 明細胞癌は化学療法に抵抗性であり, 2年生存が20%であった(図-9)。組織別に見た奏効率は, 漿液性のう胞腺癌では75%(CR60%, PR15%)であったが, 明細胞癌では50%(CR33%, PR17%)であった(表-5)。

特に, 低分化型腺癌Ⅲ期以上のレジメンの違いによる, 初回治療成績を比較すると, CAP(CD-DP; $70\text{mg}/\text{m}^2$, adriamycin; $40\text{mg}/\text{m}^2$, cyclophosphamide; $600\text{mg}/\text{m}^2$, 6コース)10例, 標準EJ(etoposide; $500\text{mg}/\text{m}^2$, CBDCA; AUC3.0~4.5, 6コース)16例では, CRはそれ

図-9 StageⅢ以上の症例の生存曲線

ぞれ, 40%・50%であったが, EJのsemi-high dose(7例)では83.3%と良好な成績であった(表-6)。その生存曲線を見ると40ヵ月の段階で, 後者は80%であり, 前者の35%に比し, 良好の経過をたどっている(図-8)。

全症例の初回化学療法の平均actual dose intensity(±S. D.)は, CBDCA $186.2 \pm 43.9\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ ($130.6 \sim 267.0\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$)・etoposide $291.4 \pm 80.2\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$ ($214.3 \sim 445.2\text{mg}/\text{m}^2/\text{week}$)であった。29症例の臨床効果を婦人科癌化学療法直接効果判定基準よりみると, CR15(52%)例, PR6(20%)例であった(表-4)。

4) 副作用

88コース中, 血小板輸血55コース(62.0%) MAP血輸血40コース(45.6%), また白血球数 $1000/\text{mL}$ 以下の白血球減少は, 49コース(55.7%)であった。血小板輸血は1~2回(1回の量: 10~20単位)であった。当初, 血小板3万以下で血症板を用意していたが, 現在では2万以下で対応している。1例, 血症板輸血の際フィルターを通さなかったため, 抗血症板抗体を作り, ガンマグロブリン療法・ステロイド療法を行った。発熱症例は7例あったが, いずれも重篤なものではなく, 通常の大部屋での管理が可能であった。無菌室など必要なく, 安全に治療コースを完遂できた。

5. 考察

癌に対する化学療法の治療効果はdose intensityと関係が深い。しかし固形癌の場合でも, 骨髓抑

表-4 臨床効果と進行期分類 (FIGO)

stage	CR	PR	NC	PD
Ⅱc	2 (50.0%)	2 (50.0%)		
Ⅲc	12 (63.0%)	3 (16.0%)	3 (16.0%)	1 (5.0%)
Ⅳ	1 (16.6%)	1 (16.6%)	1 (16.6%)	3 (50.0%)
total	15 (52.0%)	6 (20.0%)	4 (14.0%)	4 (14.0%)

CR: complete response

PR: partial response

NC: no change

PD: progression of the disease

表-6 低分化型腺癌Ⅲ期以上のdose upによる初回治療成績比較

		奏効率	CR	PR	NC	PD
通常量	CAP	70.0 %	40.0 %	30.0 %	20.0 %	10.0 %
	EJ	83.3 %	50.0 %	23.3 %		16.3 %
大量	EJ	100 %	83.3 %	16.7 %		

CAP (CPA, ADM, CDDP)

EJ (Etoposide, CBDCA)

表-5 臨床効果と組織分類

	CR	PR	NC	PD
Serous cystadenocarcinoma	12 (60%)	3 (15%)	3 (15%)	2 (10%)
高分化型:	9 (65%)	1 (7%)	3 (21%)	1 (7%)
低分化型:	3 (50%)	2 (33%)		1 (17%)
Mucinous cystadenocarcinoma	1 (100%)			
Clear cell carcinoma	2 (33%)	1 (17%)	1 (17%)	2 (33%)
Endometrioid carcinoma		2 (100%)		
Total	15 (52%)	6 (20%)	4 (14%)	4 (14%)

制がdose limiting factorとなっていたため、薬剤の投与に限界があった。この解決法の一つとして、薬剤のdose upのために自家骨髄移植が試みられていた。近年、PBSCを簡便に採取可能となったことから、PBSCは血液疾患や種々の固形癌で試みられ、その有用性が報告されてきた。

今回の臨床成績から

1. CBDCA + EtoposideによるPBSC採取は、数回のsemi-high dose化学療法に必要な分量のPBSCが確保できる。しかし症例によっては化学療法の投与量を増量してもPBSCが採取できない症例がある。

2. 動員化学療法時のG-CSFの投与量・時期の検討が必要である。今回化学療法終了時より投与

し始めたが、さらに投与期間を短縮できる可能性もあり、PBSCの適応がある症例でもPBSC動員には個体差があることが判明した。PBSC併用でも化学療法に対する骨髄制御や、副作用を呈する症例もある。またsemi-high doseによる腫瘍縮小効果に抵抗性の組織型として、明細胞癌がある。

3. CBDCA・Etoposideの共通の副作用である血小板低下がPBSCを併用しても高頻度におこる。

4. 奏効率は高いが、長期予後に関しては、今後の経過を見る必要がある。

このように、PBSC併用semi-high dose化学療法は、超大量化学療法法のdose intensityと比べてもその効果に違いはなく、副作用の点から大部屋での管理が可能であった。特に低分化型腺癌では奏効している一方、明細胞癌ではdose upしても有効性は乏しい。組織型によりその反応性が

異なることから、組織型によりレジメの変更が必要であり、制癌剤の種類としてpaclitaxel+canfoplatin,あるいはcanfoplatin+CPT-11などPBSCT併用の新たな展開が期待される。

癌分子標的療法に関する基礎的研究

癌分子標的療法とは、癌細胞に関するバイオサイエンスの研究から明らかとなった癌関連遺伝子やその遺伝子産物・増殖因子・受容体・細胞増殖周期・アポトーシスから血管新生・転移機構を標的とする薬剤による治療法である。

婦人科癌に対する分子標的治療は、これからの大きなテーマであり、前任地では子宮頸癌にたいする癌ワクチンの開発をテーマに、基礎研究を続けていたが、その一環として、『ヒトパピロヒーマウイルス感染子宮頸癌・異形成病変患者のHLAハプロタイプとT細胞のメッセージに関する研究』があり、また当教室では、『ヒストン脱アセチル化阻害剤による癌細胞の老化誘導と癌抑制遺伝子の再発現に関する研究』が進められている。本稿では、その詳細は原著論文に譲り、その論旨を述べる。

ヒトパピロヒーマウイルス感染子宮頸癌・異形成病変患者のHLAハプロタイプとT細胞のメッセージに関する研究

1. 目的

子宮頸癌の病巣組織の約80%にはHPVが感染しており、腫瘍組織からはE6・E7遺伝子が検出され、HPVが子宮頸癌の病因に関与していると考えられている。しかし、HPVに感染していても高度異形成が消失する例もあり、これは感染免疫反応の結果、ウイルスと異形細胞が排除されたと推定される。

免疫反応を担うT細胞は、MHC分子上に提示されたウイルス抗原ペプチドを認識するが、CD8陽性細胞はペプチドとMHAクラスⅠを認識し、パーフォリンやグランザイムを介し標的細胞を障

害する。またCD4陽性細胞はペプチドとMHAクラスⅡを認識し、抗体産生やFas-Fas Ligand系をとうしてアポトーシスを誘導する。したがって、子宮癌の病因にはHPVと宿主のHLAなど免疫学的遺伝子背景が関与している可能性があると考えられる。

そこで、子宮癌患者のHPV抗原に対するT細胞依存性免疫反応がHLAに拘束され、その活性の有無が子宮頸部病変の進行と相関しているかを解析した。

2. 対象と方法

症例は1998年12月より産婦人科外来を受診した子宮頸部異形成・頸癌の患者で、同意の得られた84例であり、採取した子宮頸部病変組織よりDNAを抽出し、HPVタイピングを行い、メッセンジャーRNAからはT細胞の免疫反応を確認するため、RT-PCR法によりTCR・Fas Ligand・Perforinの発現を検討した。

HLAの解析は患者末梢血より、単核球分離後クラスⅠはリンパ球障害私見(LCT)によりタイピング。クラスⅡはDNAを抽出し、PCR-SSO法によりタイピングを行った。

次にHLAクラスⅠ・Ⅱのallele頻度を、対象をCINⅠ・Ⅱ群とCINⅢ・Invasive Ca群の2群に分け、それぞれをhealthy donor群間でt検定により統計学的な差を求めた。同様に、HPV16陽性症例36例についても検定した。

3. 成績

クラスⅠ抗原においては有為な関連性は認めなかった。クラスⅡ抗原においてはDRB1*0901・DQB1*03032のハプロタイプがCINⅢ・ⅠC群で、特にHPV16陽性のCINⅢ・ⅠC群で著明に増加を示し、またDRB1*0601はCINⅢ・ⅠC群で有為な増加を認めた。

逆にDRB1*0405・DQB1*0401のハプロタイプはCINⅢ・ⅠC群で有為な減少を認め、またDRB1*1302・DQB1*0604のハプロタイプは全患者群で有為な減少を認めた(表-7)。以上よりHPV抗原に対する免疫反応はHLAクラスⅡに拘束されていることが示唆された。

表-7 HLA-class II allele頻度結果 (%)

	all patients	all patients CIN I・II CIN III・IC	HPV16 positive CIN I・II CIN III・IC	healthy donors
DRB1*0901	45.7	36.0	50.0	44.4
DQB1*03032	44.4	40.0	46.4	59.3
DRB1*0405	18.5	32.0	12.5	22.2
DQB1*0401	17.3	32.0	10.7	11.1
DRB1*1302	4.9	4.0	5.4	0.0
DQB1*0604	4.9	4.0	5.4	3.7
DQB1*0601	48.2	28.0	57.1	33.3
				51.9
				36.2

表-8 ハプロタイプ別のFas Ligand・Perforinメッセージの存在

ハプロタイプ	症例数	Fas Ligand陽性率	Perforin陽性率
all	84	33.3% (28/84)	36.9% (31/84)
DRB1*1302・DQB1*0604	4	100% (4/4) ↑↑	50.0% (2/4) ↑
DRB1*0405・DQB1*0401	14	50.0% (7/14) ↑	50.0% (7/14) ↑
DRB1*0901・DQB1*03032	36	30.5% (11/36) ↓	38.9% (14/36)

表-8に病巣組織でのTCR・Fas Ligand・Perforinの陽性率を示した。TCRは病変の進行度が増すと発現が低下する傾向にあり、Fas Ligandも同様に低下を認めた。しかし、Perforinは進行した群での発現率が高い傾向にあった。

また有意さを認めたハプロタイプでもDRB1*1302・DQB1*0604, DRB1*0405・DQB1*0401のハプロタイプではFas Ligandの発現が高く、逆にDRB1*0901・DQB1*03032のハプロタイプではFas Ligandの発現が低い傾向をしめた。

4. 結論

1) 子宮病変の異型とHLAclass II アリルの頻度には相関が認められる。DRB1*0901・DQB1*03032の頻度は全患者、とくにHPV16陽性の進行例で増加しており、病変の進行に関係しているとおもわれた。DRB1*0405・DQB1*0401の頻度はCIN III・IC群で減少しており、進行を防御している可能性が示唆された。DRB1*1302・DQB1*0604の頻度は全患者で減少しており、HPV感染の防御との関連が示唆された。

2) 病巣のFas Ligandのメッセージより、CD4陽性T細胞によってHPVが排除され、異形成病変の進行が防げられている可能性が示された。

3) HLA DRB1*0901・DQB1*03032のハプロタイプを持つ患者はHPV16抗原特異的CD4陽性T細胞の細胞障害作用が不十分なため異型が進行する可能性がある。

4) 経過観察における宿主の免疫能、HLAの解析が重要である。

今後、子宮頸癌の癌抗原ペプチドの探索のために、CD4陽性細胞の認識するウイルスのエピトープの決定を行ない、さらにペプチドワクチンのデザインへと研究が展開している。

酪酸ナトリウムによる婦人科癌細胞株における細胞老化誘導機構に関する研究

1. 目的

酪酸ナトリウム(以下NaB)は、ヒストン脱アセチル化阻害作用を有し、細胞増殖の抑制・分

化やアポトーシスの誘導などに関与する。本研究では、NaB 処理による細胞増殖の変化、細胞周期の変化、p21・rRb 蛋白の発現変化を観察した。

2. 方法

NaB 処理癌細胞株における遺伝子発現の変化を、cDNA micro array を用いて解析した。NaB の老化誘導能を SA- β -ガラクトシダーゼ染色により解析した。ヌードマウス上に形成された腫瘍へ NaB を直接投与し、使用抑制効果を観察した。

3. 成績

1) 細胞株の HHUA でのフローサイトメトリーの結果コントロールと比べ、G1 期細胞の著明な増加と S 期細胞の減少が濃度依存性に見られ、G1 期停止を示した。他の子宮体癌・卵巣癌細胞株でも同様な結果であった。また、SubG1 fraction への蓄積は認められなかった。従って NaB による子宮体癌・卵巣癌細胞株での増殖抑制効果は G1 期停止によると考えられた。

2) HPV 陽性子宮頸癌細胞株を用い、NaB 各濃度処理した時の細胞増殖曲線を見ると、濃

度依存性に細胞増殖を抑制し、フローサイトメトリーでは、S 期細胞数の減少は認めなかったが、子宮体癌・卵巣癌細胞株では、NaB は細胞を G1 期あるいは G2 期に停止させ、細胞増殖を抑制した (図-10)。

3) NaB 処理によりいずれの細胞株においても細胞の平坦化・肥大化・細胞周期停止といった細胞老化の特徴を呈したので、細胞老化特異的な ph6 の β -ガラクトシダーゼ活性の解析以下 (β ギャル) を行い、細胞老化の有無を検討した。HHUA 細胞株の未処理と NaB2mM で 5 日間処理した時の、 β ギャル活性を見ると、細胞は平坦化・肥大化し、核・核周囲に青く染色される細胞数の増加が観察された (図-11)。

4) ヌードマウスへ移植した腫瘍に NaB を直接投与すると、腫瘍サイズの著明な減少を認めた (図-12)。

4. 結論

1) NaB による p21 を標的とした婦人科癌治療への有効性が示唆された。

図-10 Flow Cytometry

図-11 Senescence associated β -Galactosidase activity (pH6) with HE staining

control (HHUA) NaB treated (HHUA)
図-12 NaB 治療ヌードマウス

2) NaBはp53非依存性p21蛋白を発現誘導し、G1期停止及び細胞老化誘導に機能する。G1期停止はpRb非依存性経路により制御される。

以上、分子標的療法開発の一貫として、基礎研究の成果を示した。癌への挑戦の道は長く険しい。教室の日々臨床および研究に関する地道で確実な歩みの一端を述べた。

謝 辞

前任地での共同研究者にあった埼玉医科大学総合医療センターの竹田 省教授・齋藤真紀助手に、深甚なる謝意を表する。またNaBの癌細胞老化機構9研究は、当教室、寺尾泰久を中心とした腫瘍グループの研究成果である。

(文献省略)