

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008 年度～2009 年度
 課題番号：20791135
 研究課題名（和文） 卵巣がん治療の個別化を目指した卵巣がんにおけるがん幹細胞の同定
 研究課題名（英文） Longer period to achieve low serum CA125 value and negative peritoneal cytology could predict positive lymph node status indicated as ovarian cancer stem cells in retroperitoneum.
 研究代表者 楯 真一（TATE SHINICHI）
 千葉大学・大学院医学研究院・助教
 研究者番号：00322636

研究成果の概要（和文）：術前化学療法中の CA125 および腹水細胞診の推移から、術前に後腹膜リンパ節転移、つまり cancer stem cell を予測できるかどうか検討した。CA125 値と腹水細胞診の推移は、Kaplan-Meier 曲線により評価した。19 例に後腹膜リンパ節郭清が施行された。19 例中 6 例にリンパ節転移をみとめた。CA125 値(<35 IU/ml)と細胞診（陰性化）推移（中央値）は、yTN0 群でそれぞれ 7.1 週、20.3 週であったのに対し、yTN1 群では 35.6 週と 37.4 週であった。後腹膜リンパ節転移陽性群では、CA125 と細胞診の陰性化が大幅に遅延していることが示された。

研究成果の概要（英文）：The objective of the current study is to clarify the association between positive metastatic lymph node and peritoneal cytology status and CA125 status at interval debulking surgery so that we could predict lymph node status before interval debulking surgery. Among patients, we performed retroperitoneal lymphadenectomy for 19 patients. 6 patients had positive lymph node status. In analysis for CA125, patients with yN1 had significantly longer period required until CA125 decreasing under 35 IU/ml than patients with yN0 (yN1 ; 35.6 weeks, yN0 ; 7.1 weeks). The median period until peritoneal cytology revealed negative was 19.1 weeks. In analysis for peritoneal cytology, patients with yN1 had significantly longer period required until negative cytology status than patients with yN0 (yN1 ; 37.4 weeks, yN0 ; 20.3 weeks). The longer period for CA125 value decreasing under 35IU/ml and peritoneal cytology revealed for negative could predict positive lymph node status.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
21 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：婦人科腫瘍学、卵巣がん、がん幹細胞、化学療法

1. 研究開始当初の背景

進行卵巣がんでは、optimal surgery と化学療法により CR が得られた場合でも再発してくる症例を経験する。これには、化学療法耐性のいわゆる cancer stem cell が関与していると考えられている。すなわち、化学療法により大部分の腫瘍細胞が apoptosis や necrosis に陥り消失するが、その中で薬剤耐性を有する stem cell が周囲の繊維化や硝子化による低酸素環境下に耐えて生き残る。その後、ゆっくりと増殖し、やがて heterogenous な腫瘍細胞へ分化して臨床的再発にいたると考えられている。したがって、この cancer stem cell を標的とした診断治療が、進行卵巣がんにおいて重要な鍵となる。現在までに我々は、進行卵巣がんにおける寛解導入化学療法後の腹水細胞診陰性例の予後が良好であることを報告してきた。最近、卵巣癌の cancer stem cell は CD133 陽性であることが報告された。そこで、この CD133 抗原を補助マーカーとして判定した場合の腹水細胞診により、再発をより正確に予知できるかどうかを研究目的とした。

2. 研究の目的

我々は、進行卵巣がんにおける寛解導入化学療法後の腹水細胞診陰性例の予後が良好であることを報告してきた。今回、我々は、寛解導入中に腹腔内留置リザーバーから連続的に腹水細胞診をおこない、腹水細胞診陰性化の時期と、その後におこなわれた interval debulking surgery におけるリンパ節転移の状況を検討することにより、cancer stem cell と考えられるリンパ節転移状況を推測できるか検討を行った。

2. 研究の方法

1999 年から 2008 年までに当科で治療した進行卵巣がん・腹膜癌患者のうち、先行化学療法後に IDS が行われた 46 例を対象とした。このうち 10 例で IDS 前に腹腔内リザーバーが挿入された。挿入例では腹水細胞診の陰転化または CA125 (<15 IU/ml) を IDS 実施の目安とした。細胞診結果の解析には、リザーバーおよび IDS 時の腹水細胞診結果を用いた。CA125 値と腹水細胞診の推移(治療開始日から IDS 実施日まで)は、Kaplan-Meier 曲線により評価した。CA125 値と腹水細胞診が、それぞれ 35 IU/ml 以下になった日および陰性化した日をイベント発生日とし、35 IU/ml 以下もしくは細胞診陰性化に至らずに IDS が実施された症例の IDS 実施日を打ち切りとして解析した。

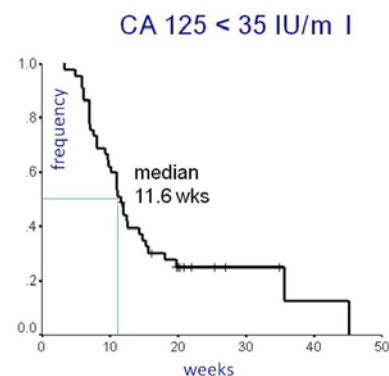
3. 研究成果

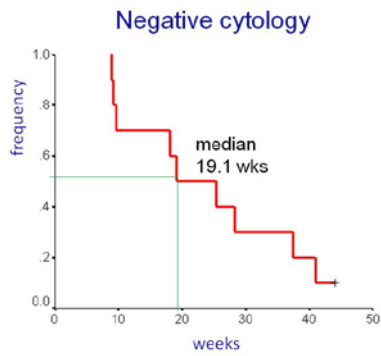
(1) 46 例中、卵巣がんが 36 例、卵管がんが 1 例、腹膜がんが 9 例であった。組織型では、41 例が漿液性腺癌であった。IDS 前に、全例で TC 療法が行われていた。IDS 前化学療法の施行回数は中央値が 6 コースであった。IDS は、40 例で optimal surgery が行われ、そのうち 19 例に後腹膜リンパ節郭清が施行された。19 例中 6 例にリンパ節転移をみとめた。

(2) CA125 値と細胞診の陰転化のタイミングについて Fig. 1 に示す。全症例での検討では、CA125 が 35IU/ml となるまでの期間は、中央値で 11.6 週であった。一方、腹水細胞診が陰性化した期間は中央値で 19.1 週であった。

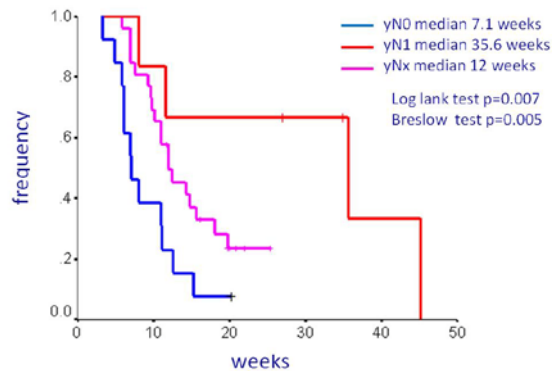
(3) CA125 値の正常化とリンパ節転移状況の検討をおこなった (Fig. 2)。CA125 値の正常化までの期間は、yN0 群では、7.1 週 (中央値) であったが、yNX 群では 12 週、yN1 群では 35.6 週と有意差をもって延長していた (log rank $p=0.007$, Breslow test $p=0.005$)。

【Fig. 1】



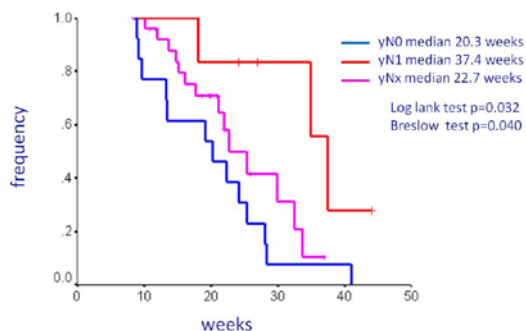


【Fig. 2】



(4) 腹水細胞診陰性化とリンパ節転移状況の検討をおこなった(Fig. 3)。腹水細胞診の陰性化までの期間は、yN0 群では、20.3 週（中央値）であったが、yNx 群では 22.7 週、yN1 群では 37.4 週と有意差をもって延長していた (log rank $p=0.032$, Breslow test $p=0.040$)。

【Fig. 3】

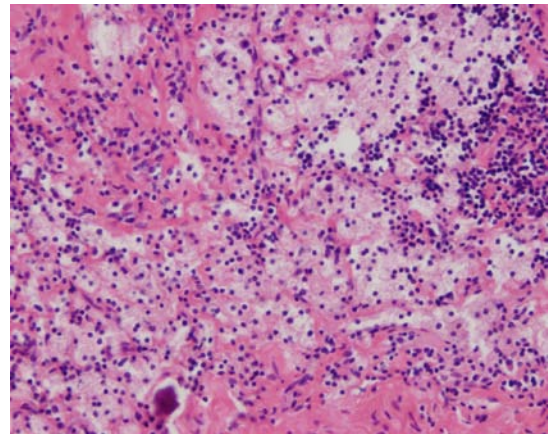


(5) 以上により、CA125 値の陰性化 (< 35 IU/ml) と腹水細胞診 (陰性化) のタイ

ミングは、後腹膜リンパ節転移の有無、つまり cancer stem cells を予測するためのパラメーターとなる可能性が示唆された。今後 CA125 値の推移、腹水細胞診と IDS の時期を参考にして、後腹膜リンパ節郭清が必要な症例または、省略できる症例が判断できる可能性が示唆された。

(6) 腫瘍細胞の存在を示唆する所見との関連性についての検討をおこなった。化学療法後に腫瘍が存在したと考えられる所見として、われわれは、ある程度の領域をもった線維化・硝子化、泡沫細胞 (【写真 1】)、異物肉芽、砂粒体に注目した。

【写真 1】



腫瘍細胞は認められなかったものの、上記に示したようなアポトーシスにより変性所見を伴ったリンパ節が認められた症例は 3 例認め、同様に CA125 や腹水細胞診の陰性化の時期の検討をおこなったところ、変性所見をともなった yN0 群の CA125 の陰性化の時期は 5.9 週であり、腹水細胞診陰性化の時期は 9.6 週と、変性所見を伴っていない yN0 群よりも早期に陰性化することが確認された。

(7) 2007 年 7 月より患者の同意の得られた症例に対して、初回手術にて付属器切除および大網切除以下の手術をおこない IPS (腹腔内リザーバー) を設置した。その後すみやかに寛解導入化学療法をおこない、2009 年 1 月

までに 12 例連続して得られたがん細胞が含まれる腹水中の検体の一部を遠心分離し沈殿物を保存液 (CytoRich RED Preservative Fluid) を用いて保存した。抗がん剤によって誘導された薬剤耐性の性格を有するがん細胞の抽出をすることができた。われわれは、これらがん細胞ががん幹細胞の性格を有していると考えており、現在、腹水および切除腫瘍標本から CD133 陽性細胞の分離を試みている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Nishikimi K, Habuka N, Okazima Y, Tate S, Nagai Y, Nakano M, Okawa R, Shozu M. Cytologic findings of low grade endometrial stromal sarcoma with sex cord-like differentiation: a case report. *Acta Cytol.* 2010 Jan-Feb;54(1):85-8. 査読有
2. Baasanjav B, Usui H, Kihara M, Kaku H, Nakada E, Tate S, Mitsuhashi A, Matsui H, Shozu M. The risk of post-molar gestational trophoblastic neoplasia is higher in heterozygous than in homozygous complete hydatidiform moles. *Hum Reprod.* 2010 25(5):1183-1191 査読有
3. Mitsuhashi A, Matsui H, Usui H, Nagai Y, Tate S, Unno Y, Hirashiki K, Seki K, Shozu M. Serum YKL-40 as a marker for cervical adenocarcinoma. *Ann Oncol.* 2009 Jan;20(1):71-7. Epub 2008 Aug 22. 査読有

[学会発表] (計 15 件)

1. 小野亜希子, 三橋暁, 松岡歩, 宮西香里, 山地沙知, 植原貴史, 平敷好一郎, 加藤一喜, 碓井宏和, 植真一, 生水真紀夫、感染と鑑別を要した G-CSF 産生卵巣癌の一例、第 118 回日本産科婦人科学会関東連合地方部会 2009 年 11 月 8 日 東京
2. 松岡歩, 植真一, 三橋暁, 碓井宏和, 木原真紀, 平敷好一郎, 鶴岡信栄, 山地沙知, 宮西香里, 小野亜希子, 長田久夫, 生水真紀夫急速に敗血症性ショックに至った卵巣膿瘍の 1 例、第 118 回日本産科婦人科学会関東連合地方部会 2009 年 11 月 8 日 東京
3. 宮西香里, 平敷好一郎, 加藤喜一, 植

真一, 碓井宏和, 三橋暁, 生水真紀夫アロマターゼ阻害剤投与が奏効した 4 期子宮癌肉腫の 1 例、第 118 回日本産科婦人科学会関東連合地方部会 2009 年 11 月 8 日 東京

4. 平敷好一郎, 山地沙知, 植原貴史, 植真一, 碓井宏和, 三橋暁, 堀内文男, 清川貴子, 中谷行雄, 生水真紀夫、子宮体部混合型腺癌(類内膜腺癌、漿液性腺癌)の一例、第 48 回日本臨床細胞学会秋期大会 2009 年 10 月 30 日 福岡
5. 清川貴子, 山田恭輔, 梅澤敬, 植真一、子宮頸癌の最近の知見と細胞診 腺系病変を中心に 絨毛腺管状乳頭腺癌および上皮内腺癌の病理学的特徴と問題点、第 48 回日本臨床細胞学会秋期大会 2009 年 10 月 30 日 福岡
6. 植真一, 平敷好一郎, 加藤一喜, 植原貴史, 碓井宏和, 木原真紀, 山地沙知, 曾根国瑞, 今泉あすか, 木嶋由理子, 宮西香里, 三橋暁, 生水真紀夫初期卵巣がんにおける術前 CA19-9 高値は予後因子となりうるか?、第 47 回日本癌治療学会学術集会 2009 年 10 月 22 日 横浜
7. 植真一, 加藤一喜, 平敷好一郎, 碓井宏和, 木原真紀, 山地沙知, 植原貴史, 三橋暁, 清川貴子, 中谷行雄, 生水真紀夫化学療法により肉眼的に消失した卵巣がん播種病巣に腫瘍細胞が遺残しているか?、第 46 回日本婦人科腫瘍学会学術集会 2009 年 7 月 10 日 新潟
8. 植真一, 滝川紀子, 平敷好一郎, 碓井宏和, 三橋暁, 板倉朋恵, 大木昌二, 堀内文男, 中谷行雄, 生水真紀夫、進行卵巣がんに対する IDS 時期の決定における腹腔内リザーバーの有用性について、第 50 回日本臨床細胞学会総会 2009 年 6 月 26 日 東京
9. 金田佳子, 植真一, 平敷好一郎, 碓井宏和, 加藤一喜, 木原真紀, 田中宏一, 尾本暁子, 高木亜由美, 三橋暁, 長田久夫, 生水真紀夫、子宮頸部円錐切除トレーナーの使用経験 第 61 回日本産科婦人科学会学術講演会 2009 年 4 月 3 日
10. 植真一, 滝川紀子, 平敷好一郎, 碓井宏和, 加藤一喜, 三橋暁, 大木昌二, 堀内文男, 中谷行雄, 生水真紀夫、進行卵巣がんに対する手術時期決定に腹腔内リザーバーによる細胞診が有用であった 3 例、第 47 回日本臨床細胞学会秋期大会 2008 年 11 月 14 日 東京
11. 植真一, 平敷好一郎, 加藤一喜, 金田佳子, 高木亜由美, 木原真紀, 碓井宏和, 三橋暁, 生水真紀夫、再発卵巣がんに対する gemcitabine 単剤による salvage chemotherapy の有用性、第 44 回日本癌治療学会総会 2008 年 10 月 30 日 名古屋

屋

12. 楯真一, 平敷好一郎, 碓井宏和, 木原真紀, 加藤一喜, 三橋暁, 松井英雄, 生水真紀夫、再発卵巣癌に対する治療戦略 再発卵巣がんに対する gemcitabine 単剤による salvage chemotherapy の有用性 第 44 回日本癌治療学会総会 2008 年 10 月 30 日 名古屋
13. 楯真一, 松井英雄, 平敷好一郎, 加藤一喜, 碓井宏和, 木原真紀, 海野洋一, 三橋暁, 生水真紀夫、初回化学療法後の腹水細胞診の意義 再発卵巣がんに対する化学療法の個別化にむけて、第 44 回日本婦人科腫瘍学会学術集会 2008 年 7 月 17 日 名古屋
14. 楯真一, 滝川紀子, 平敷好一郎, 海野洋一, 碓井宏和, 木原真紀, 三橋暁, 堀内文男, 中谷行雄, 生水真紀夫、進行卵巣がんにおける寛解導入化学療法後の手術時の腹腔細胞診の意義、第 49 回日本臨床細胞学会 2008 年 6 月 6 日 東京
15. 楯真一, 松井英雄, 海野洋一, 平敷好一郎, 平井真紀子, 木原真紀, 碓井宏和, 三橋暁, 生水真紀夫、初期卵巣がんに対する後腹膜リンパ節郭清の治療的意義、第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会 2008 年 4 月 12 日 横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

楯 真一 (TATE SHINICHI)

千葉大・学大学院医学研究院・助教

研究者番号 : 00322636

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

生水 真紀夫 (SHOZU MAKIO)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号 : 30226302