

卵巢癌手術後における維持化学療法の意義

—ヌードマウス移植系を用いた検討—

大阪府立成人病センター婦人科

澤田 益臣 尾崎 公巳 本郷 二郎

広田 義和 稲垣 実

Effect of Post Operative Maintenance Chemotherapy against Ovarian Cancer

Masumi SAWADA, Masami OZAKI, Jiro HONGO,

Yoshikazu HIROTA and Minoru INAGAKI

Department of Gynecology, The Center for Adult Diseases, Osaka

概要 卵巢癌手術後の維持化学療法の意義を検討するためヌードマウスに移植継代されているヒト卵巢癌株を用いて実験を行つた。腫瘍株はYST-2 (Embryonal carcinoma (樋口・加藤)) 及びOVA-2 (分類不能癌)、薬剤は5FU製剤として1-Hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) を用いた。

実験1

YST-2 株をヌードマウスに移植後、腫瘍体積が3,000mm³に達した時点で腫瘍を切除し腫瘍の完全摘除群と不完全摘除群を作製した。この各群について腫瘍摘除後7日目より①HCFU投与群としてHCFU 100mg/kg/day 60日間投与、②対照群として0.3%メチルセルロース0.1ml/マウス/dayを60日間投与した。その結果、完全摘除群においてはHCFU投与により腫瘍の再増殖の抑制が明らかに認められた。非再発率は①52.0%、②21.1%となり再発が抑制された ($p < 0.01$)。担癌マウスの累積生存率は処置後72日目において①80.0%、②52.6%と有意に ($p < 0.05$) 改善がみられた。一方、不完全摘除群では、HCFU投与による再発抑制効果は特に認められなかつた。

実験2

OVA-2 株を移植と同時に③HCFU 100mg/kg/dayの投与を開始し60日間経口投与した群、④対照群として0.3%メチルセルロース0.1ml/マウス/dayのみ投与した群を比較した。その結果、HCFU投与により腫瘍増殖が明らかに抑制され60日目における担癌マウス生存率は③87.5%、④40.0%と有意に ($p < 0.001$) 改善がみられた。このHCFUの抗腫瘍作用は、組織学的に細胞の壊死、強い間質反応等の所見として確認された。

実験1, 2より、卵巢癌手術後に5FU製剤を用いての維持化学療法は再発防止においてその意義が明示された。

Synopsis The significance of maintenance chemotherapy after surgery for ovarian cancer was examined using a human tumor-nude mouse system.

Experiment 1: The human yolk sac tumor of the ovary (YST-2) heterotransplanted into nude mice was used. The tumor-bearing mice were administered 100mg/kg of 1-Hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) orally for 60 days after tumor resection. Control mice were given 0.1ml 0.3% methylcellulose after tumor resection. When the tumor was completely resected by surgery, HCFU treatment succeeded in decreasing the recurrence rate of the tumor, and in improving the survival rate of the host mice. However, when the macroscopic tumor was left in the host mouse, HCFU treatment did not affect either the recurrence rate of the tumor or the survival rate.

Experiment 2: The human poorly differentiated adenocarcinoma of the ovary (OVA-2) heterotransplanted into nude mice was used. Administration of 100mg/kg of HCFU immediately after the heterotransplantation into nude mice for 60 days suppressed the tumor growth. HCFU treatment improved the survival rate of the tumor-bearing mice. The antitumor effect of HCFU on the OVA-2 tumor was confirmed by histological examination.

These experiments revealed that the maintenance chemotherapy after surgery for ovarian cancer was

important in the effective treatment of the patient (tumor-bearing host).

Key words: Ovarian cancer・Maintenance chemotherapy・1-Hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU)・Nude mouse

緒 言

卵巣癌の治療にあたっては、今日なお第一選択として手術療法を適用することが基本となつている。しかし手術には多かれ少なかれミクロのレベルで癌が遺残することは否定できず、それが原因となつて再燃いわゆる癌の再発がおこる。それを防ぐために、須川、山片ら³⁾⁴⁾⁶⁾によつて提唱され、すでに子宮頸癌においてその臨床的意義が確認されているところの維持化学療法が、卵巣癌に対して試みられている現況にある¹⁾⁵⁾。しかし卵巣癌臨床例においては種々の要素が関与するため未だその厳密な評価は下されていない。著者らは手術施行後の維持化学療法が卵巣癌において再発の防止に寄与しているのか否かを明らかにすべく、動物実験モデルを用いて検討を行つた。

方法及び材料

実験動物

日本クレア（高槻）より購入し、Specific Pathogen Free 環境下において飼育した BALB/c ヌードマウス雌 6 週齢を用いた。飼育にはオートクレーブ滅菌水及び放射線滅菌飼料 CL-2 を用いた。

1. 実験 1

① 腫瘍

BALB/c ヌードマウス (nu/nu) 雌背部皮下に移植継代されているヒト卵巣癌 YST-2 株¹⁰⁾ (Yolk sac tumor, Embryonal carcinoma (樋口・加藤)) を用いた。

② 腫瘍摘除

ヌードマウス背部皮下に腫瘍を移植後、Houchens et al.⁸⁾の方法にのつとり腫瘍径を測定し長径×(短径)²×1/2をもつて腫瘍体積を算出し、腫瘍体積が3,000mm³に達した時点で腫瘍塊を切除し絹糸にて単結節縫合した。その際に腫瘍塊を肉眼的に遺残なく摘出した完全摘除群と明らかに腫瘍の遺残が認められる不完全摘除群とを意図的に作製した。摘出腫瘍並びに腫瘍摘除後の皮膚断端は10%ホルマリンにて固定しパラフィン切片作製

の上 H.E. 染色を施し検鏡した。

③ 薬剤

制癌剤投与群には5FU 製剤として組織内移行のよい⁹⁾¹¹⁾1-Hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) を選び100mg/kg/day を0.3%メチルセルロース0.1ml に溶解し、腫瘍摘除後7日目より60日間経口投与した。対照群には0.3%メチルセルロース0.1ml/マウス/day のみを60日間投与した。

④ 評価方法

腫瘍の完全摘除群、不完全摘除群の各々における対照群と HCFU 投与群について個々のマウスに移植されている腫瘍の再増殖を調べた。これらについて72日間の経過観察を行い再発率及び担癌マウスの生存率を調べた。結果の統計学的分析は Wilcoxon test によつた。

2. 実験 2

① 腫瘍

BALB/c ヌードマウス (nu/nu) 雌背部皮下に移植継代されているヒト卵巣癌 OVA-2 株¹²⁾ (Poorly differentiated adenocarcinoma, 分類不能癌) を用いた。

② 薬剤

腫瘍の移植を皮下に行い移植と同時に0.3%メチルセルロース0.1ml に溶解した HCFU 100mg/kg/day の投与を開始し60日間の経口投与を行つた。対照群には0.3%メチルセルロース0.1ml/マウス/day のみの投与を行つた。

③ 評価方法

対照群と HCFU 投与群との腫瘍体積を測定し HCFU 投与による腫瘍細胞の増殖抑制効果を調べた。次に、HCFU 投与による担癌マウスの累積生存率を算出し延命効果を検討した。さらに対照群および HCFU 30日間投与後の腫瘍を摘出し10%ホルマリンにて固定の上パラフィン切片を作製し H.E. 染色を施し組織学的検討を加えた。

成 績

実験 1

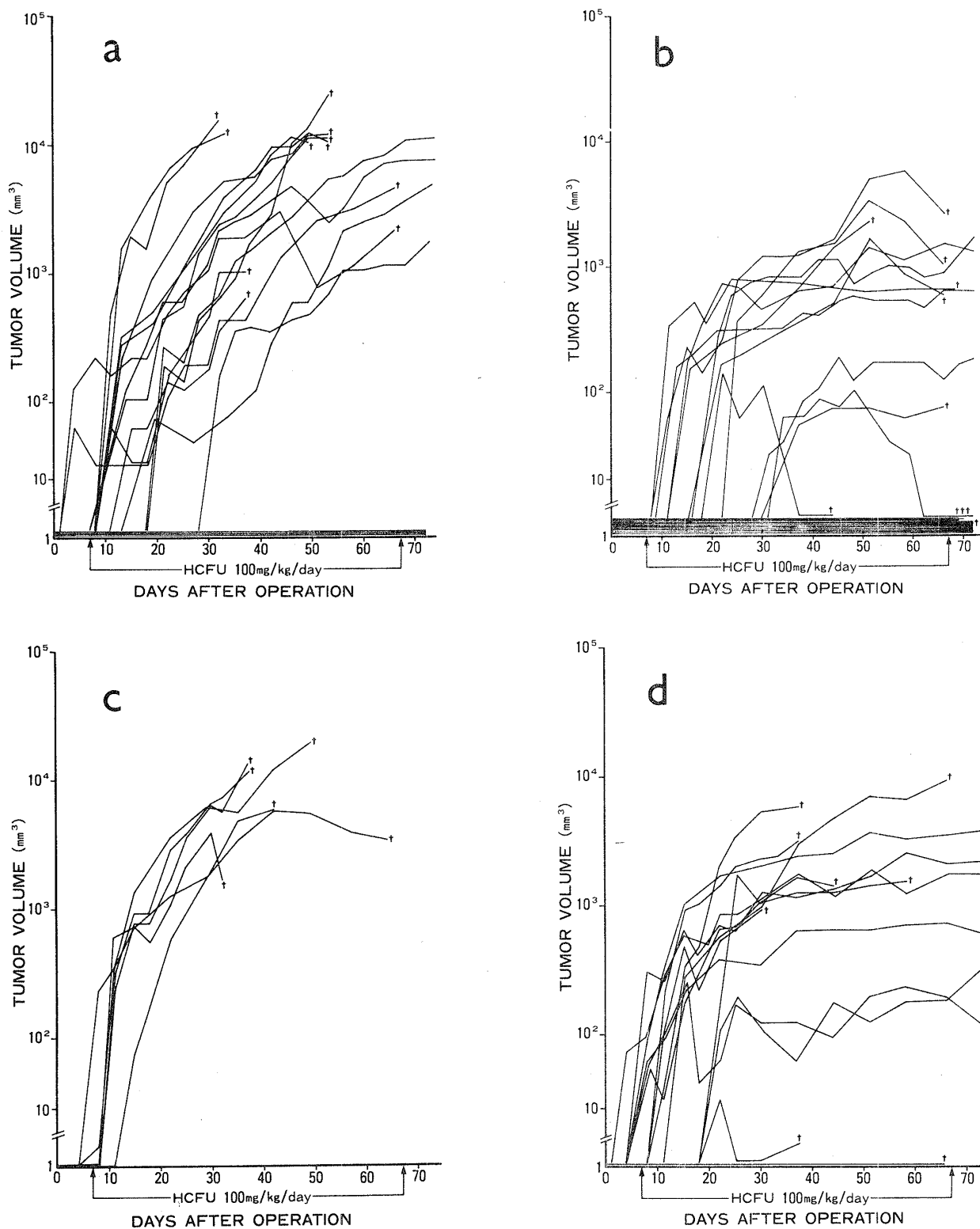


図1 腫瘍摘除後腫瘍の再増殖曲線 (YST-2 株)

- a. 腫瘍完全摘除対照群, b. 腫瘍完全摘除 HCFU 投与群, c. 腫瘍不完全摘除対照群, d. 腫瘍不完全摘除 HCFU 投与群, †, は死亡例

YST-2 株の腫瘍完全摘除群及び不完全摘除群における対照群並びに HCFU 投与群の個々の腫瘍体積の推移は図1の如くである。腫瘍の完全摘

除後 HCFU を投与した群においては、図に示す如く明らかに腫瘍の再増殖の抑制がみられた。

図2は腫瘍の非再発率をまとめたものである。

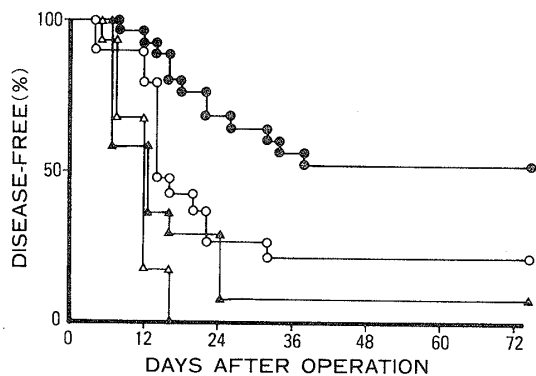


図2 腫瘍摘除後の腫瘍の非再発率 (YST-2 株)
○腫瘍完全摘除対照群, ●腫瘍完全摘除 HCFU 投与群, △腫瘍不完全摘除対照群, ▲腫瘍不完全摘除 HCFU 投与群

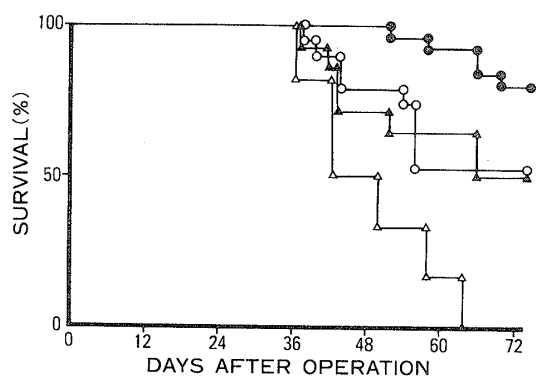


図3 腫瘍摘除後の担癌マウス累積生存率 (YST-2 株)
○腫瘍完全摘除対照群, ●腫瘍完全摘除 HCFU 投与群, △腫瘍不完全摘除対照群, ▲腫瘍不完全摘除 HCFU 投与群

完全摘除群においては対照群 (n=19) の非再発率 21.1%に比べ HCFU 投与群 (n=25) では 52.0%と有意に ($p<0.01$) 高い非再発率を呈した。これに対して不完全摘除群においては、対照群 (n=6) では16日目において全例に再増殖がみられたが、HCFU 投与群 (n=14) では72日目においてもなお7.1%に目立つた増大は認められなかった。しかし両者の間に統計学的有意差はみられていない。

次に担癌マウスの累積生存率は図3の如くであった。完全摘除群においては処置後44日目より HCFU 投与群と対照群との間に有意差 ($p<0.001\sim p<0.05$) がみられ、72日目においては対照群の生存率 (52.6%) に比べ HCFU 投与群では 80.0%と有意に ($p<0.05$) 高い生存率を示した。

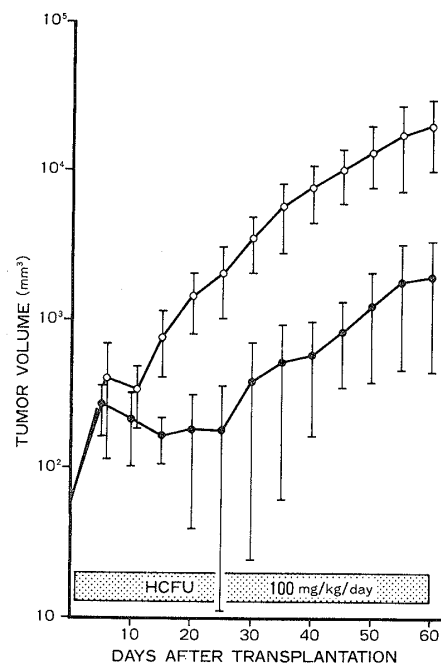


図4 HCFU 投与による腫瘍細胞の増殖抑制効果 (OVA-2 株)
○対照群, ● HCFU 投与群, $\bar{x}$ 平均 $\pm$ S.D.

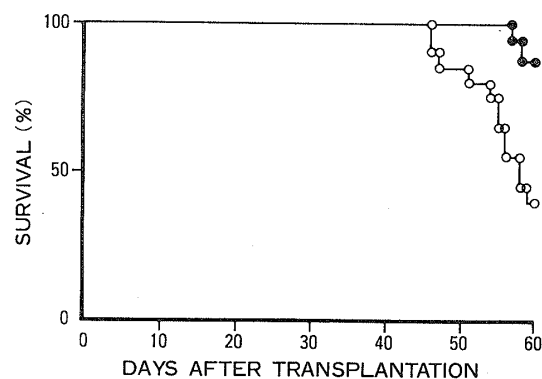


図5 HCFU 投与後の担癌マウスの累積生存率 (OVA-2 株)
○対照群, ● HCFU 投与群

一方、不完全摘除群においては処置後60日目附近において HCFU 投与群と対照群との間に有意差 ($p<0.05$) がみられたが、72日目においては両者の間に差は見出せなかった。

実験2

図4はOVA-2株の対照群 (n=20) 並びに HCFU 投与群 (n=16) の腫瘍発育曲線であるが HCFU 投与により明らかに腫瘍の増殖抑制がみられた。

図5はOVA-2株担癌マウスの累積生存率を示したものである。本腫瘍はきわめて発育が早く、

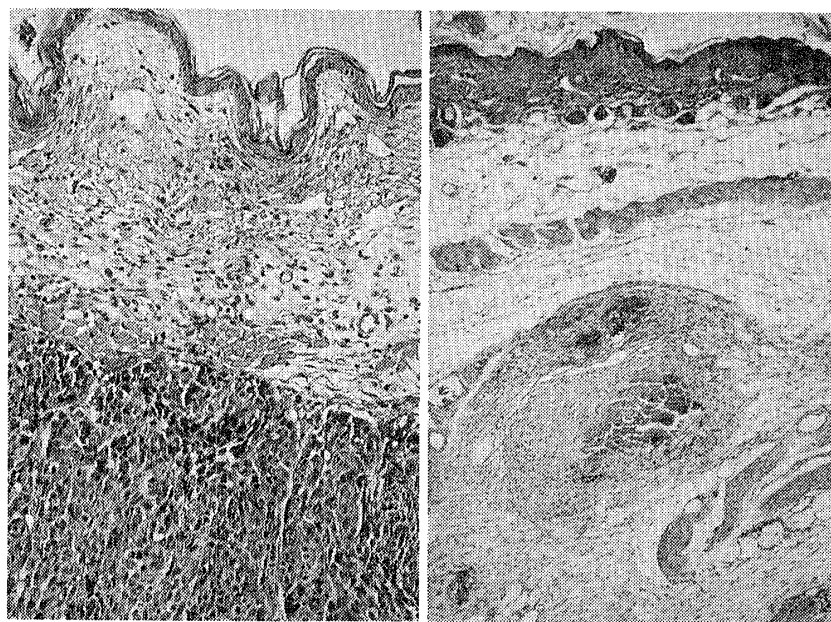


写真1 OVA-2株, 対照群(左)においては腫瘍細胞の集団が認められるのに対し, HCFU 100mg/kg/day 30日間投与群(右)では腫瘍細胞は壊死巣を形成し周辺にリンパ球様細胞浸潤が認められる(H.E. ×100)

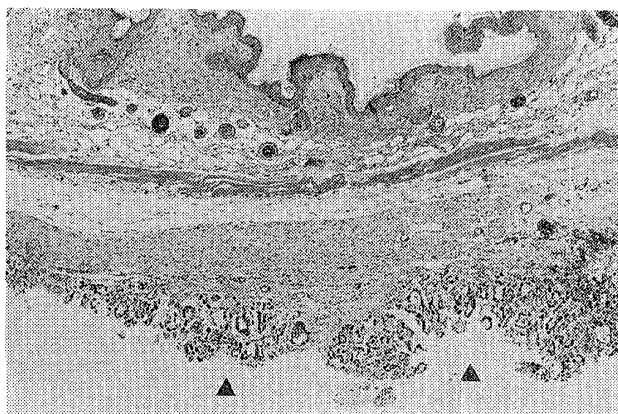


写真2 YST-2株, 腫瘍の肉眼的完全摘除後腫瘍細胞の遺残(▲印)が認められる(H.E. ×100)

腫瘍塊の増大にともない移植後50日目頃より担癌マウスが腫瘍死する症例が増加してくるわけであるが, HCFU 投与群においては60日目においても腫瘍の発育抑制がみられ, その結果有意に ($p < 0.001$) 高い累積生存率 (87.5%) が得られた。すなわち本腫瘍系では HCFU 投与による腫瘍の増殖抑制, 担癌マウスの生存率の向上が認められた。

この結果は組織学的にも確認され, 対照群においては viability の極めて高い腫瘍細胞の集団が認められた(写真1左)のに対し, HCFU 投与群においては, はつきりとした腫瘍細胞の集団が認

められず, 大部分の腫瘍細胞は壊死巣を形成し, その周辺にはリンパ球様細胞浸潤がみられ, 明らかに腫瘍細胞を排除しようとする像が認められた(写真1右)。

考 案

従来より完全手術施行後の維持化学療法の意義について検討した報告は少ない。外科領域では乳癌における Fisher et al.⁷⁾の報告, 婦人科領域では子宮頸癌における須川ら³⁾⁶⁾の報告をみるのみである。須川ら³⁾⁴⁾は, 制癌剤は細胞増殖阻害剤であつて細胞が増殖過程になれば作用しないとの基本に立ち, 癌の増殖動態の考慮から, 制癌剤の量的因子よりも投与の時間的因子を重視し, 維持化学療法の再発防止効果を提唱した。卵巢癌においては一般的に進行した症例の占める割合が多く, シスプラチンを中心とした衝撃的な化学療法剤の効果が検討されてはいるが, 完全手術施行後の維持化学療法については系統的な検討はなされていない。著者らは卵巢癌手術後の維持化学療法の臨床的意義を検討する実験モデルとして, ノードマウスに移植継代されたヒト卵巢癌株を用い薬剤の直接的な効果を調べた。

実験1で示された如く肉眼的に腫瘍の完全摘除

を行い得たと思われる症例においても組織学的には腫瘍細胞の遺残が認められ（写真2）それが将来における癌の再発となるわけである。実験1で腫瘍摘除後 HCFU の経口投与を行うことにより腫瘍の再発抑制、担癌マウスの生存率の改善が得られたことは、すなわち、HCFU 投与によりこれら遺残微小癌細胞の増殖に対しコントロールが可能であることを明示したものと考える。

次いで癌細胞が転移形成あるいは再発等、腫瘍再増殖の条件が整った早い時期において、HCFU 投与が細胞増殖の抑制に効果を示すか否かを検討する目的で実験を行つたが、その結果、腫瘍の増殖抑制並びに担癌マウスの生存率の改善がみられ、組織学的にも腫瘍の壊死並びに強い間質反応等が認められ HCFU 投与の効果が確認された。このことは臨床的見地よりみると、手術後の維持療法を評価するにあたり、維持療法というものが理論的に dormant な状態にある細胞の再増殖を常に監視し、それを押えている環境を作るという意味で意義あるものと考えられる。

山片ら⁹⁾は子宮頸癌において維持化学療法の効果が組織型に依存すると報告している。当然のことであるが、卵巣癌の維持化学療法においても個別的制癌剤の選択が必要であり例えば5FU 製剤に感受性のある腫瘍タイプにのみ5FU 製剤の維持化学療法が奏効するものと考えられる。今回の実験に用いた YST-2 株と OVA-2 株は既に報告した²⁾如く、共に5FU 製剤に感受性を示し、この点において実験モデルとして用いるに適した腫瘍であると考えられる。

今回の著者らの結果は卵巣癌手術後の維持化学療法の必要性を実験レベルで示したものと考える。実際の臨床における維持化学療法の必要期間、薬剤の有効投与量等については著者らは明示できなかったが、これらの問題点については、今後、臨床の場で明らかにされるものと期待している。

稿を終えるに臨み、HCFU 原末を提供して頂いた三井製薬株式会社に深謝します。また原稿作製にあたり渡会由起

嬢の御協力に感謝します。本論文の要旨は第37回日本産科婦人科学会学術講演会シンポジウム（昭和60年、福岡）において発表した。

文 献

1. 相良祐輔, 秋山実男, 武田佳彦: 産婦人科悪性腫瘍に対する UFT 経口投与の臨床成績. 日産婦誌, 36: 1287, 1984.
2. 澤田益臣: 卵巣がんの個別的化学療法の設定とその効果に関する研究—とくに無胸腺動物移植系を用いた検討—. 日産婦誌, 37: 1400, 1985.
3. 須川 信, 山片重房: 婦人科癌. 最新医学, 36: 1168, 1981.
4. 須川 信, 山片重房: 制癌剤の有効性と婦人科領域における適応. 産と婦, 50: 287, 1983.
5. 杉森 甫, 田中正久, 自見昭司, 渡辺英一, 加藤義徳, 森田 隆, 執行律夫, 山下裕国, 西村篤乃, 川上昌男, 豊田 泰, 塚本直樹, 松山敏剛, 滝 一郎: 卵巣癌に対する FT-207 による維持療法. 日産婦誌, 16: 633, 1981.
6. 山片重房, 山本久美夫, 海野隆彦, 須川 信: 維持化学療法による頸癌術後の再発防止効果. 産と婦, 7: 1369, 1983.
7. Fisher, B., Glass, A., Redmond, C., Fisher, E. R., Barton, B., Such, E., Carbone, P., Economou, S., Foster, R., Frelick, R., Lerner, H., Levitt, M., Margolese, R., MacFarlane, J., Plotkin, D., Shibata, H. and Volk, H.: L-phenylalanine mustard (L-PAM) in the management of primary breast cancer. An update of earlier findings and a comparison with those utilizing L-PAM plus 5-fluorouracil (5-FU). Cancer, 39: 2883, 1977.
8. Houchens, D.P., Ovejera, A.A. and Baker, A. D.: The therapy of human tumors in athymic (nude) mice. In proceedings of the symposium on the use of athymic (nude) mice in cancer research (eds. D.P. Houchens and A.A. Ovejera), 267. Gustav Fischer, New York, 1978.
9. Koyama, Y.: 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil (HCFU)—A masked 5-fluorinated pyrimidine. Cancer Treat. Rev., 8: 147, 1981.
10. Sawada, M., Matsui, Y., Hayakawa, K., Nishiura, H., Okudaira, Y. and Taki, I.: Human gynecologic cancers heterotransplanted into athymic nude rats. Gynecol. Oncol., 13: 220, 1982.
11. Sawada, M., Matsui, Y. and Okudaira, Y.: Concentrations of a new antitumor agent, 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil in serum and gynecologic tumor tissue. Acta Obst. Gynec. Jpn., 35: 2421, 1983.
12. Sawada, M., Matsui, Y. and Okudaira, Y.: Establishment of a new ovarian cancer tumor line in nude mice and its application to treatment of the donor patient. Gynecol. Oncol., 37: 1408, 1985.

（特別掲載 No. 6173 昭62・4・20受付）