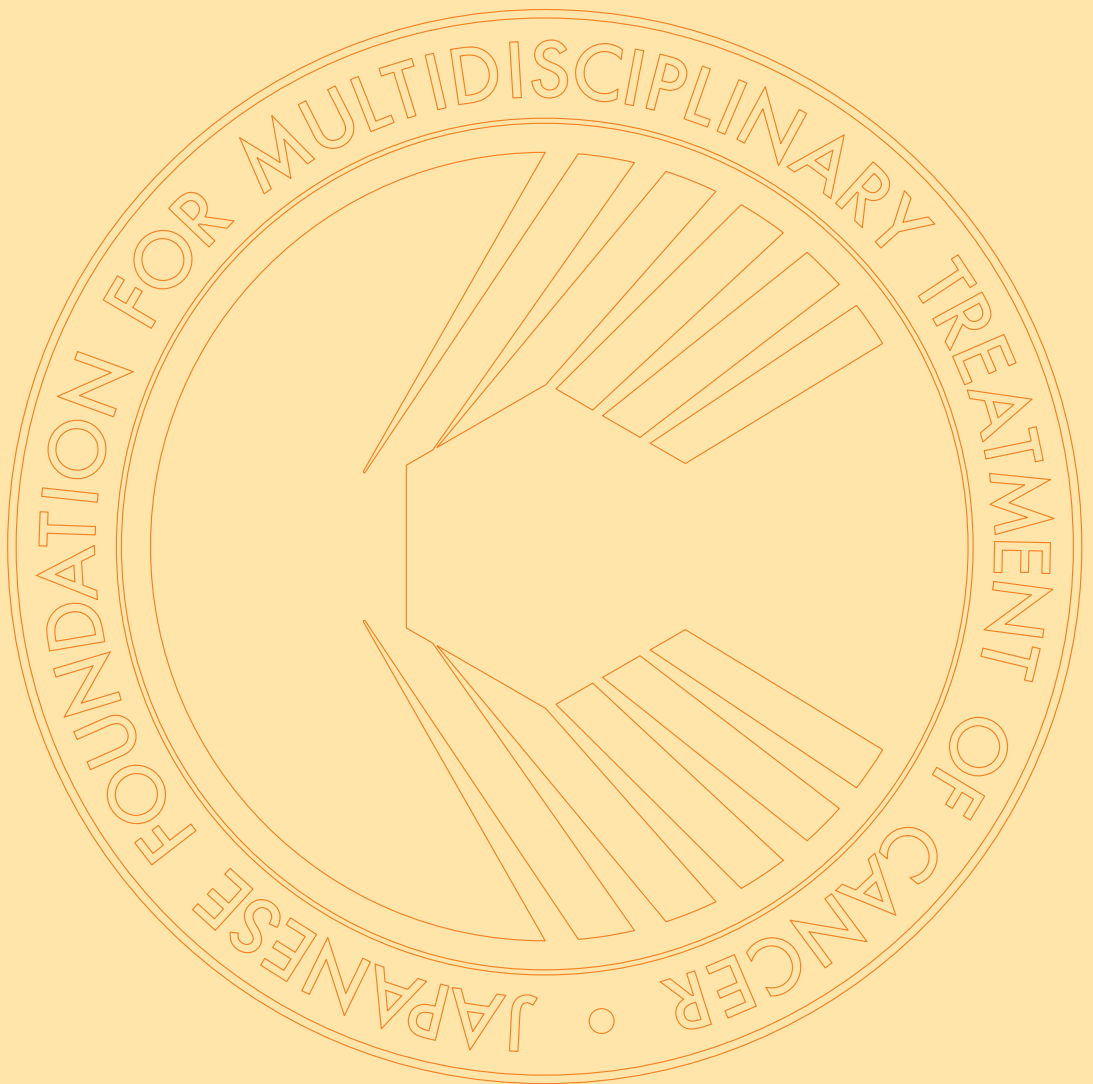


Advances in Cancer Treatment

がん治療のあゆみ

2014/第34回一般研究助成



逆境から次なる発展への起爆剤を探しましょう

理事長 佐 治 重 豊

日本には地震、津波、巨大台風、ゲリラ豪雨、豪雪、火山噴火等々と生命に危険を及ぼす自然災害が多発していますが、そのお蔭で豊富な水と四季折々の景観が楽しめ、世界で最も美しい国として賞賛されています。更に、自然災害は防災面で科学や技術分野で計り知れない発展が誘起できおり、その総括としてノーベル賞受賞者を多く輩出している国として、学際面で高く評価されていることも事実であります。

同様に医療界においても、日本は超高齢化社会で国民の半数が「がん」に罹患し、その3分1が死亡すると言う恐ろしい国(?)ですが、そのお蔭でがんの予防、診断、治療面で長足の進歩を遂げています。更に、その延長線上でiPS細胞を始め多くの最先端医療が開発され、人類に貢献しています。当財団の一般研究助成事業も、この意味で同じ趣旨の線上にあると理解しています。しかし、昨今のデオバン事件やスタップ細胞問題等々で、医学研究の倫理規定が見直され、その結果企業からの寄付金が激減し、新規臨床試験の提案も減り、財政面で一般研究助成事業の維持が困難となり、当財団の理事会で中止すべきかが議論される異常事態を迎えています。

ところで、一般研究助成事業は、基礎医学を中心とした Translational research の臨床応用への企画で、既に34年の歴史があり、「悩めるがん患者さん」のために何らかの貢献ができてきたと自負し、本年度も10名の先生方に贈呈させて頂きました。幸い、過去に受賞されました先生方の多くは、現在この方面の指導者として活躍されていますので、この面でも何らかのお役に立てていると喜んでいます。

さて、当財団では、「患者に優しいがん薬物療法、プロジェクトX」を2004年に起案して以来、多くの臨床試験を展開してきました。特に最近では、1,000例以上の大規模臨床試験でも目標症例数を超えて、期間内に症例集積が完了でき、数年前より多国間臨床試験 IDEA にも参画し、国際的にも高い評価を得ています。一方、付随研究を併用した臨床試験では①ホルモン陽性 Stage II、III A 閉経後乳癌に対する Ki67 等のバイオマーカーの検索、②腫瘍内科と合同で行う大腸癌を対象とした JOIN Trial では、京都大学ゲノム医学センターの協力のもと GWAS 法を用いた網羅的遺伝子解析を1,300例以上の症例で実施し、③進行・再発胃癌を対象とした臨床研究では日本人1,400例の HER2 蛋白発現頻度を解析し、④ HER2 陽性胃癌に対する trastuzumab の有効性の検証、及び⑤ Stage II 大腸がんに対する再発危険因子群として CEA mRNA の検索等を行っていますので、一般研究助成事業での成果も車の両輪として応用、展開できており。さらなる発展が期待されます。

さて、本稿は、平成25年度受賞者の研究成果をまとめた冊子ですが、脳腫瘍、前立腺癌、直腸癌、骨軟部腫瘍、睪癌、悪性リンパ腫、造血器腫瘍等々と対象臓器が多岐にわたり、治療方

法も多彩で、誠に興味深い内容で満たされていますので、是非多くの先生方に拝読頂き、ご意見などを賜れば幸いです。

最後に、一般研究助成事業でご尽力頂きました当財団の理事、監事、及び選考業務でお世話になりました小川道雄選考委員長並びに選考委員の先生方、更には受賞式（平成26年度）でご祝辞を賜りました厚生労働省健康局長の新村和哉先生、久留米大学名誉教授の掛川暉夫先生にも心から深謝申し上げます。

平成27年3月31日

選考経過報告

一般研究選考委員会

委員長 小川道雄

経過報告を簡単にご報告申し上げます。

従来助成対象者を50歳未満としておりましたが、平成13年度からは研究を臨床研究のみとし、臨床試験として5年以内に実施可能であることが加わり、更に平成23年度より「患者に優しい癌薬物療法」を優先して採択することとなっております。また平成26年度から、前回受領者の応募は受領後5年を経過していることを申込み要項に加えました。

応募件数は、本年度は昨年より3件増えて49件でした。応募締め切りは8月31日、その後応募書類のコピーは事務局より全ての選考委員に送付し、事前評価をしていただきました。

事前評価では、絶対評価の他に、相対評価で採点をお願いしております。その結果を事務局で集計し、去る10月17日に第39回一般研究選考委員会を開催し、選考委員が上位から1題ずつ議論を充分に行って厳正に評価を行いました。この選考委員会議事録は、公平性及び透明性を考慮し、経緯や理由を記録し、保存しております。

その結果10件の助成金受領者を決めました。助成金を受領される方は中間報告となるかもしれませんが、1年後に研究結果を発表して頂きます。また、優れた研究は、札幌冬季がんセミナーに推薦することになっております。

助成金を受領される先生方をお願いします。

研究論文を発表される際は「がん集学的治療研究財団助成金」の補助を得た旨を明記して頂くをお願いします。今回までの助成総額は6億3100万円となっております、がん治療の研究に役立っているものと推察しておりますが、本財団は公益法人ですので、acknowledgementを付した論文を刊行して頂くことは、重要な意味を持っております。つまり財団の業績にもなります。評価を集めてみますと49件のうち上の3分の1は同点数か1点差という事で、非常に評価の高い論文が揃っております。その中で選考するため、採択されたということは、是非とも論文にして頂き、acknowledgementを付けて頂きたいと考えております。私個人としては、次回の選考委員会で、5年以内に論文を発表した施設については1点を加点する等を提案しようと思っております。現在までに、acknowledgementを付けて頂いた論文は殆ど財団に届いておりません。今回受領された方は今後応募される後輩の為にも、acknowledgementを付けた論文刊行をお願い致します。

最後になりましたが、助成される10名の先生方、今回は本当におめでとうございます。またこの素晴らしい先生方をご推薦頂きました推薦者の学長、医学部及び関連学部の学部長、研究科長、病院長、研究所長などの方々に厚くお礼申し上げます。

以上で経過報告を終わります。

がん治療のあゆみ 目次

- 逆境から次なる発展への起爆剤を探しましょう……………理事長 佐 治 重 豊
- 選考経過報告……………一般研究選考委員会・委員長 小 川 道 雄
- ¹¹C-methionine PET-PRM解析による脳膠芽腫における Bevacizumab 療法の治療反応評価法の確立……………木 下 学……………1
大阪府立病院機構
大阪府立成人病センター脳神経外科
- 転移・進行性前立腺癌に対するネットワークメディスンを応用した新規臨床応用……………小 坂 威 雄……………7
慶應義塾大学医学部
泌尿器科学教室
- 再発ハイリスク直腸癌に対する全身化学療法と化学放射線療法の術前逐次投与による全く新しい集学的治療の臨床第Ⅱ相試験……………小 西 毅……………13
がん研究会有明病院
消化器外科
- 免疫応答解析に基づいた骨軟部腫瘍のバイオマーカーの開発……………末 原 義 之……………20
順天堂大学医学部
整形外科科学教室
- KRAS 遺伝子野生型の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対する2次治療としてのCetuximab(q2w)+mFOLFOX6またはCetuximab(q2w)+mFOLFIRI療法の臨床第Ⅱ相試験及び治療効果を予測するバイオマーカーの検討……………高 橋 信……………26
東北大学加齢医学研究所
臨床腫瘍学分野
- KIF20Aと結合するRNA結合蛋白質由来ペプチドワクチンの新規膀胱癌治療への応用……………谷 内 恵 介……………34
高知大学医学部附属病院
光学医療診療部
- 末梢性T細胞リンパ腫に対するTHP-COP-14療法の拡大臨床第Ⅱ相試験……………富 田 直 人……………40
横浜市立大学大学院医学研究科
病態免疫制御内科学
- 難治性造血器悪性腫瘍に対するHLA半合致同種造血幹細胞移植……………中 前 博 久……………44
大阪市立大学大学院医学研究科
血液腫瘍制御学
- 骨髄異形成症候群に対する早期エリスロポエチン介入の輸血依存性に対する影響を検討する臨床試験……………南 谷 泰 仁……………50
東京大学医学部附属病院
血液・腫瘍内科
- 放射線治療歴を有する再発悪性脳腫瘍に対する再照射の意義に関する研究……………長谷川 大 一 郎……………58
兵庫県立こども病院
血液腫瘍内科

^{11}C -methionine PET-PRM 解析による脳膠芽腫 における Bevacizumab 療法の治療反応評価法の確立

木下 学*

要旨 2013年より本邦でも初発再発膠芽腫に対して Bevacizumab の使用が適応追加となり保険収載されたが、脳腫瘍に対する治療効果判定としてディファクトスタンダードとして利用されている MRI が Bevacizumab の膠芽腫治療では評価モダリティとして不確かであるため、本研究では、MRI よりも正確に膠芽腫の腫瘍細胞密度を反映する ^{11}C -methionine PET を軸に、同画像に統計的処理を付加し Bevacizumab の膠芽腫治療を客観的に可視化することを試みた。その結果、MRI では予見することができなかった腫瘍の増悪を ^{11}C -methionine PET ならびに Parametric Response Map により可視化でき、さらには Bevacizumab による膠芽腫の各病変、つまり造影病変と浸潤部での治療反応性の違いを明らかにすることもできた。

はじめに

(脳) 膠芽腫は中央生存期間が約15ヶ月と非常に予後不良な原発性脳腫瘍であるが、本邦では2006年にテモダール (TMZ) が保険収載されて以来、治療成績が不満足ながらも有意に延長した。膠芽腫は腫瘍本体の周囲に浸潤性に脳組織を侵し、正常な脳組織を解剖学的にそして機能的に破壊しながら進展する。現在の標準治療は手術による可及的な腫瘍の減量と術後の TMZ 併用下放射線治療ならびにそれに引き続き行われる TMZ による維持療法である。このような治療を施すことで中央生存期間は約12ヶ月から15か月へと延長し¹⁾、腫瘍摘出手術の際に機能的 MRI による脳皮質機能評価、拡散テンソル画像による白質神経線維評価、さらには覚醒下手術といった脳機能温存手術が発展したことにより生存期間中の患者の生活の質 (QOL) も上昇した。

しかしながら、2013年まではファーストラインとして使用される TMZ 以外に科学的根拠に基づいたセカンドライン治療は存在せず、膠芽腫が TMZ 不応性に再発した場合の代替治療薬が存在しない状況であった。Bevacizumab が再発膠芽腫に対して、無増悪期間を延長させるという報告²⁾を根拠に2013年より本邦でも初発再発膠芽腫に対して Bevacizumab の使用が適応追加となり保険収載された。このように、セカンドライン治療が膠芽腫で規定された事は大変喜ばしい一方で、未だに Bevacizumab の膠芽腫治療に対する効果について客観的エビデンスが乏しい状況が続いている。Bevacizumab の膠芽腫治療に対する治療効果判定を困難にしているのは、脳腫瘍に対する治療効果判定としてディファクトスタンダードとして利用されている MRI が使用できない点にある。つまり、Bevacizumab を使用した場合には腫瘍細胞は殺傷されていないにもかかわらず、MRI では腫瘍造影効果が消失し、あたかも腫瘍が治癒され

*大阪府立病院機構 大阪府立成人病センター 脳神経外科

たかのような pseudo-response という現象が生じる。このような MRI による画像評価が難しいため、代替的な治療反応を可視化する方法の開発が必要である。本研究では、MRI よりも正確に膠芽腫の腫瘍細胞密度を反映する¹¹C-methionine PET³⁾⁻⁵⁾を軸に、同画像に統計的処理を付加し Bevacizumab の膠芽腫治療を客観的に可視化することを試みた。

方 法

再発膠芽腫に対して Bevacizumab 投与前ならびに 3クール後（3ヶ月後）にそれぞれ、造影 MRI ならびに¹¹C-methionine PET を施行した。次に Bevacizumab 前後の¹¹C-methionine PET を画像融合した（図1）。画像融合には normalized mutual information algorithm⁶⁾を使用した。このような画像に融合を行うことで、Bevacizumab 前後の画像を voxel-by-voxel に統計的に比較検討できるようになる。さらに、matlab というコンピューター言語で記述した自作ソフトウェアを利用して、関心領域（ROI）内の各ボクセルで¹¹C-methionine が有意に上昇あるいは低下したかを検定し、その結果を画像化した（図2）。同画像を Parametric Response Map と命名した⁷⁾。病変を「造影病変」と「非造影 T2 高輝度病変」に分類し、それらの病変での Response index を比較した。

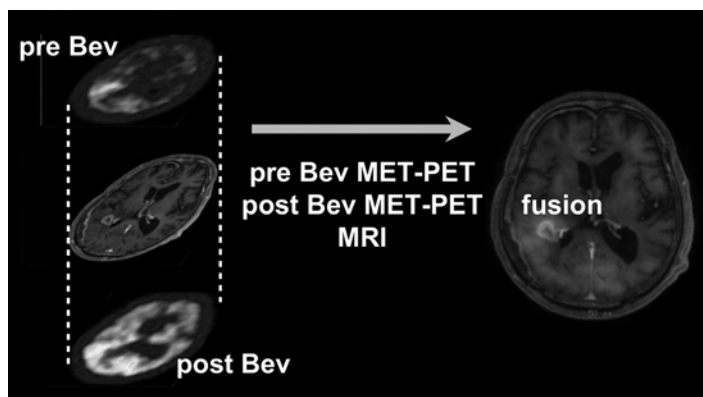


図1 Mutual normalized information を用いた画像融合

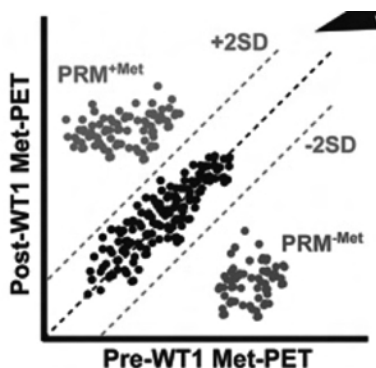


図2 Parametric Response Map の概念図

成 績

本解析を3例の再発悪性神経膠腫に対して施行できた。1例は再発膠芽腫、2例は再発悪性神経膠腫であった。

Illustrative case を提示する。64才男性の再発膠芽腫症例である。MRI では Bevacizumab により造影病変がほぼ完全に消失したが、Beverizumab 治療5クール目でMRI上は寛解状態であるにも関わらず、急速な performance status (PS) の急速な悪化をきたし、2ヶ月後に原病死した(図3)。¹¹C-methionine の Parametric Response Map 解析では、Beverizumab により造影病変は著名に¹¹C-methionine の低下を認めることができたが、非造影 T2 高輝度病変では¹¹C-methionine の取り込み率の変化を認めなかった。さらに、Beverizumab 使用前には認められなかった、新たな¹¹C-methionine 高集積部を確認することができ、これは Parametric Response Map 解析ではっきりと可視化された。死亡時には同部位に小結節造影病変を認めることができた(図4)。これらの結果から、MRI では予見することができなかった腫瘍の増悪を¹¹C-methionine PET ならびに Parametric Response Map により可視化できたことが示唆された。また、3例において造影病変と非造影病変の Response index を比較すると、造影病変では治療に反応した2症例では著名な Response index の上昇を認めるものの、非造影病変の Response index はほぼゼロを示した。これから、Beverizumab は造影病変に対しては治療効果があるものの、腫瘍浸潤部では、その効果が限定的であることが示唆された(図5)。

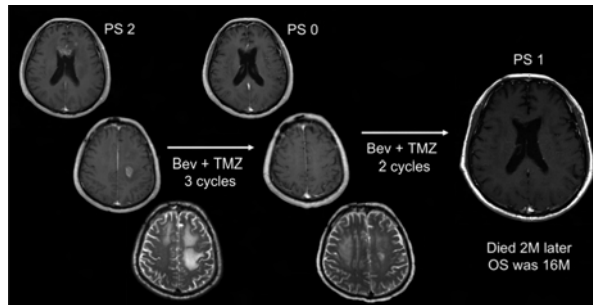


図3 代表症例の臨床経過提示

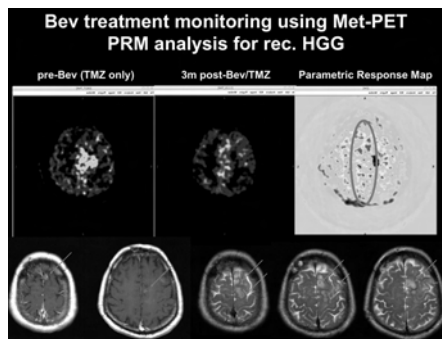


図4 提示症例に対する Parametric Response Map 解析

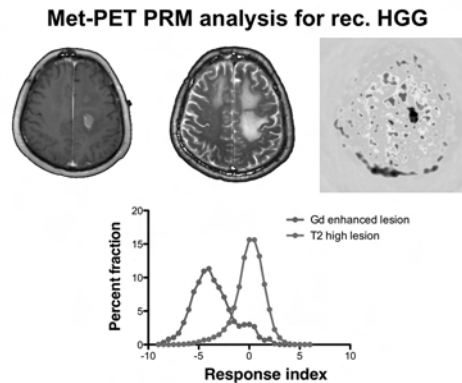


図5 病変別での Response Index 解析

考 按

Bevacizumab 使用下での治療効果判定は MRI が不正確であるためにきわめて難しい課題とされる。拡散強調画像 (DWI) や還流画像 (PWI) を利用した, Bevacizumab による膠芽腫の治療反応性評価が試みられているが, 決定的なエビデンスの確立はできていない。

我々は, これまでに膠芽腫の病理学的な特徴をもっとも正確に反映するのは ^{11}C -methionine PET であると提言してきた。これは, 定位的に採取された腫瘍組織と画像を比較検討した結果, 次図のように, 腫瘍細胞密度と ^{11}C -methionine の取り込みが直線的な正相関を示すという研究結果にもとづいている (図6)。

このような ^{11}C -methionine PET の抜群の画像化性能を利用して, 本研究ではさらに Parametric Response Map という手法を付加することでより精度の高い, 客観的な画像評価法の確立を達成できた。このような解析を可能にするために, 本研究では独自の画像解析ソフトを作成し, 一般臨床で利用されている Dicom 画像を直接解析できるように工夫している。再構成された Parametric Response Map は画像読影に際して, 直感的にどの部位が治療に反応したのかを検出できるように工夫してあり, 再構成画像で赤系統に描出された部位は増悪部, 青系統に描出された部位は治療反応部として画像化されている (図7)。

これに加えて本研究では Bevacizumab による膠芽腫の各病変, つまり造影病変と浸潤部での治療反応性の違いを明らかにすることもできた (図8)。造影病変と浸潤部において膠芽腫に対する Bevacizumab の反応が異なることはこれまで知られておらず, 本研究で始めて明らかになった現象である。ただし, 本研究は未だ3例と preliminary であり, 今後さらに症例を重ねて本研究で得られた仮説をさらに強固なものにする必要があると考えられる。

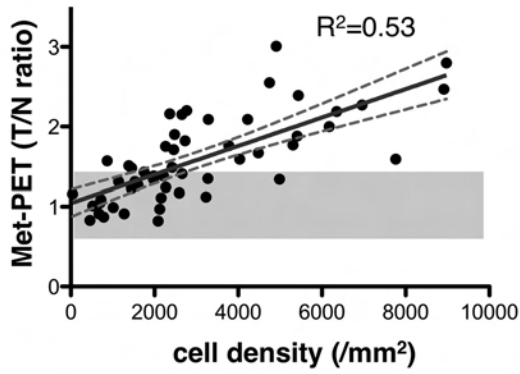


図6 ^{11}C -methionine PET と腫瘍細胞密度の相関関係

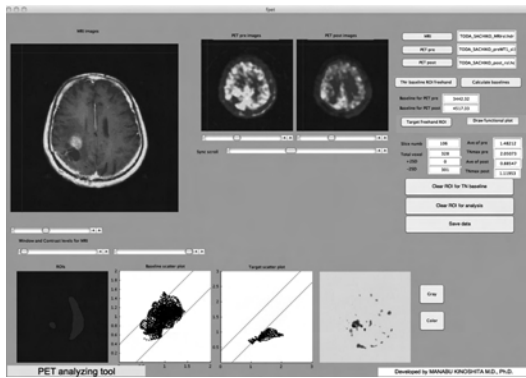


図7 Parametric Response Map 解析用自作ソフトウェア

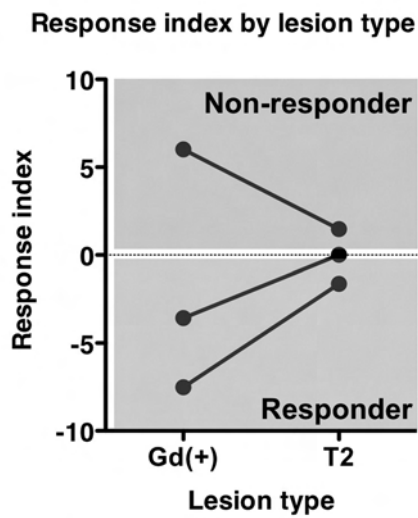


図8 造影病変と非造影病変での Response index の違い

おわりに

本研究から Bevacizumab による膠芽腫の治療反応性評価において ^{11}C -methionine PET を用いた Parametric Response Map の有用性を示すことができた。

文 献

- 1) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005 ; **352**(10) : 987 – 96.
- 2) Friedman HS, Prados MD, Wen PY, et al. Bevacizumab Alone and in Combination With Irinotecan in Recurrent Glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2009 ; **27**(28) : 4733 – 40.
- 3) Kinoshita M, Arita H, Goto T, et al. A Novel PET Index, ^{18}F -FDG- ^{11}C -Methionine Uptake Decoupling Score, Reflects Glioma Cell Infiltration. *J Nucl Med*. 2012 ; **53**(11) : 1701 – 8.
- 4) Okita Y, Kinoshita M, Goto T, et al. ^{11}C -methionine uptake correlates with tumor cell density rather than with microvessel density in glioma : A stereotactic image-histology comparison. *NeuroImage*. 2010 ; **49**(4) : 2977 – 82.
- 5) Arita H, Kinoshita M, Kagawa N, et al. ^{11}C -methionine uptake and intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence as separate index markers of cell density in glioma : a stereotactic image-histological analysis. *Cancer*. 2012 ; **118**(6) : 1619 – 27.
- 6) Veninga T, Huisman H, van der Maazen RWM, Huizenga H. Clinical validation of the normalized mutual information method for registration of CT and MR images in radiotherapy of brain tumors. *J Appl Clin Med Phys*. 2004 ; **5**(3) : 66 – 79.
- 7) Chiba Y, Kinoshita M, Okita Y, et al. Use of ^{11}C -methionine PET parametric response map for monitoring WT1 immunotherapy response in recurrent malignant glioma. *J Neurosurg*. 2012 : 1 – 8.

転移・進行性前立腺癌に対する ネットワークメディスンを応用した新規臨床応用

小坂 威雄*

要旨 申請者は転移がんにおける転移・浸潤能獲得のプロセスと体細胞からのiPS細胞誘導・獲得プロセスに類似性を見出し、既存薬剤を用いて転移・抗がん剤耐性前立腺癌の遺伝子ネットワークを初期がんあるいは、薬剤が感受性を有する段階に転換すること（リプログラミング・初期化）で新規治療応用ができないかと想定した。転移性がん特有の遺伝子ネットワークの制御に有用な手段・薬剤ないため、この発想の意義の臨床への応用には至っていなかった。本研究では、がんの幹細胞性を内包する細胞実験系を新規薬剤アッセイ系の主役とし、既存のヒト臨床上使用可能な化合物を用いてその遺伝子ネットワークを初期化するためにバイオインフォマティクスを応用し主成分分析を統合して新規候補薬剤を絞り込みというスクリーニング系を確立した。そこで実際に本概念に基づいたヒト臨床応用可能な有望な抗がん剤併用薬のスクリーニングにて同定された薬剤を用いて臨床研究を計画し、当院の倫理委員会の承認のもと、患者エントリーを開始した。

はじめに

日本における前立腺癌の罹患数は急激に伸びており、高齢化や食事の欧米化、PSAといった腫瘍マーカーの導入などによる診断技術の向上に伴い、今後も増加傾向が続くことが予想され、2020年には男性悪性腫瘍罹患率1位となることが推定されている。現在、根治切除が不可能な進行性・転移性前立腺癌に対しては薬物によって男性ホルモンを去勢域まで下げる内分泌療法が広く行われているが、その奏功期間は限られており、多くの症例において前立腺癌の再燃を認め、去勢抵抗性前立腺癌と呼ばれる状態となり、その場合有効な手立てがなく、生命予後は極めて厳しい。その中でドセタキセルは、海外において去勢抵抗性前立腺癌を対象としたランダム化比較試験（TAX327試験）で生存期間の延長が検証された唯一の抗がん治療・化学療法で、現在では世界中で、去勢抵抗性前立腺癌に対する標準治療として位置付けられ、広く施行されているに至っている（75mg/m²/3-4週毎）¹⁾。本邦においても国内患者を対象とした第II相試験及びTAX327試験の結果に基づいて、去勢抵抗性前立腺癌に対して海外と同用量でのドセタキセルの使用が2008年から認可され、去勢抵抗性前立腺癌患者に対し広く施行されており、安全性の確立した抗がん治療である。しかしながらドセタキセル療法を施行しても、初回治療から、あるいは治療を繰り返すうちに、治療抵抗性・抗がん治療耐性を示すようになり、その生命予後改善効果も限定的で、ドセタキセル療法に対し治療抵抗性となった場合、本邦において使用可能な有用な薬剤はない。他に有用な薬剤がないため、身体所見や臨床検査値から、ドセタキセルの投与不可能な場合を除いて、効果が限定的でありながらも、ドセタキセ

*慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室

ルの投与を継続するか、緩和ケアに移行する選択肢しかないのが、現在の我が国の去勢抵抗性前立腺癌に対するドセタキセル療法後の進行した前立腺癌患者さんに対する医療の現況である。

以上のように去勢抵抗性前立腺癌は予後が極めて不良で、その治療法は未だ満足できる域では到底なく、今後、我が国においても患者の増加が予測されており、社会的にも大きな課題となっている。このため、ドセタキセルによる抗がん治療抵抗性去勢抵抗性前立腺癌に対し、その抵抗性を減弱し、耐性を克服させることで、抗がん剤に対する感受性を回復させ、ドセタキセル療法の治療効果を改善することができる併用薬剤の登場が熱望されている。

現在、抗がん治療抵抗性癌とがん幹細胞との関係が注目されている。がん幹細胞とは、がん組織中で、正常組織における組織幹細胞のように、組織を再構築する能力を持つ細胞のことで、幹細胞性関連マーカーを発現している。がん幹細胞は、抗がん治療に対し耐性を持っているとされているが、その耐性機構はほとんど解明されていない。がん幹細胞に対し効果を示す薬剤があれば、大変有用と推察されるが、前立腺癌におけるヒトがん幹細胞性研究において、有用な実験モデルがないこと、また幹細胞関連マーカーの発現解析が不十分なため、前立腺癌幹細胞を標的とする治療戦略については、実行あるいは実現可能性がなく閉ざされた状態であった。

今まで我々は、前立腺癌の進展メカニズムの解明から、新規治療戦略の確立を目指した研究に従事してきた²⁾⁻⁵⁾。また、特に幹細胞の研究において転写因子の制御が幹細胞性の獲得・維持に重要であることを報告してきた⁶⁾⁻¹⁰⁾。その一連の研究の中で、幹細胞性関連マーカーで転写因子である OCT4 の発現が、がん幹細胞性と関連することに注目した¹¹⁾。オープンソースとして公開されているヒト前立腺癌の遺伝子発現のデータベースを抽出し、幹細胞関連因子の遺伝子発現を解析したところ、OCT4 の発現が、ヒト前立腺組織の正常前立腺組織よりも前立腺癌の組織において有意に発現が高いこと、また、特に抗がん剤に対し抵抗性を示す転移性癌においてその発現が、抗がん剤に対し感受性を有する限局性前立腺癌に比較して高いことを見出した。また、我々はヒト前立腺癌組織においても、再発が多いとされる低分化型前立腺癌や、局所進行癌において蛋白レベルで OCT4 の発現が高いこと、また、ドセタキセル治療後のがん組織においても、蛋白発現のレベルで OCT4 の発現が高いことを確認している。OCT4 の発現が高い前立腺癌はがん細胞生物学的悪性度が高いことが推察され、OCT4 の発現が高くなっている前立腺癌が抗がん治療抵抗性と関連していることが示唆され、OCT4 の発現が高い細胞集団を治療標的とする意義が明らかになってきた。そこで、OCT4 の発現が高い前立腺癌細胞実験系を構築するため、ヒト去勢抵抗性前立腺癌細胞株 (DU-145) を用いて OCT4 の発現が高い細胞群 (DU145^{OCT4-H}) を分離し、ドセタキセルの感受性比較試験を施行した。その結果、OCT4 の発現が高い群 (DU145^{OCT4-H}) は、そうでない細胞 (DU145^{OCT4-N}) に比較して、ドセタキセルに対する感受性が有意に低下しており、ドセタキセル療法に対し抵抗性・耐性を獲得した前立腺癌であることが *in vitro* および *in vivo* において明らかにした。さらに、DU145^{OCT4-H} はヌードマウスにおける皮下腫瘍の形成率も少ない細胞数で高く、がん原性・がん幹細胞性も高いことを明らかにした。このドセタキセル療法に対し耐性を獲得した、高いがん原性・がん幹細胞性を有する OCT4 の発現が高い前立腺癌を、元の DU145^{OCT4-N} 細胞の形質に戻すことの

できる薬剤があれば、ドセタキセルの感受性を回復でき、ドセタキセル療法が当初のように効果が発揮されるようになると推察された。このような概念に基づき、ドセタキセル療法に対する感受性の初期化が可能性を有する候補薬剤をスクリーニングすることとした。細胞の遺伝子発現をDNAマイクロアレイにて解析し、遺伝子発現プロファイルと比較検討した。DU145^{OCT4-H}の遺伝子発現プロファイルからDU145^{OCT4-N}の遺伝子発現プロファイルに変換し得る薬剤があれば、理論上は抗がん治療抵抗性を改善させ、抗がん剤の感受性を初期化(リプログラミング)できると考えた。そこで、Connectivity-Map (Broad Institute of MIT and Harvardが作成した遺伝子発現のデータベースで、様々な細胞に様々な既存薬を作用させて変化する遺伝子発現を網羅的に解析したもの)を利用して、これらの遺伝子発現から、DU145^{OCT4-H}をDU145^{OCT4-N}にリプログラミングし得る薬剤として数種類の候補薬剤を数理的に同定した。実際に *in vitro*, *in vivo* で、これらの候補薬剤のうちドセタキセル療法との併用で有用性を示す薬剤を見つけるために、候補薬剤のスクリーニングを施行したところ、我が国の日常臨床において、ヒトC型肝炎に対する抗ウイルス薬として臨床で広く使用され、安全性が既に確立されているリバビリン(商品名:コペガス)が有用な初期化薬として同定され報告した¹¹⁾。

リバビリンは他の前立腺癌細胞株を用いた、同様な作業仮説とワークフローを用いた実験系においても有用性を示し、抗がん治療抵抗性とがん幹細胞性を獲得した抗ドセタキセル抵抗性前立腺癌を標的とした治療として大変有用な、ヒト臨床で実際に使用できる安全性の確立された候補薬剤であることを見出した。

そこで本臨床研究はドセタキセル療法抵抗性前立腺癌に対するリバビリン併用ドセタキセル療法の有効性と安全性の評価を目的として計画された(図1)。

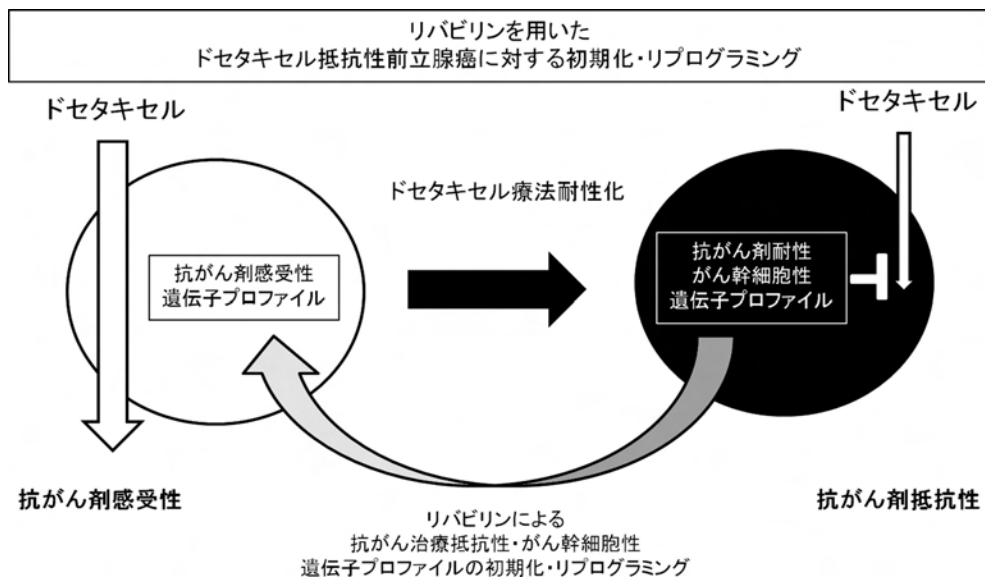


図1

対象と方法

選択基準：当院において、去勢抵抗性前立腺癌に対してドセタキセル療法を施行した症例のうち以下のうち基準を満たす患者。

1. 同意取得時に30歳以上96歳未満の患者。
2. 同意説明文書に署名する意思があり、署名ができる患者。
3. 病理組織学的に前立腺がんと診断された患者。
4. 去勢抵抗性前立腺癌であることが確認され、ドセタキセル療法後に増悪した患者。
増悪とは以下のいずれかを認めた場合
 - ①血清 PSA の2回連続上昇
 - ②画像診断における RECIST 判断による PD
 - ③骨シンチ画像診断における転移病巣の明らかな拡大または新病巣の出現
5. PSA 値が2以上の患者。
6. 試験中に前立腺癌に対する新規治療が計画されていない患者。
7. Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status が0または1である患者。
8. 治験責任医師、治験分担医師（実務担当）が12週以上の余命が期待できると判断した患者。
9. 以下に該当する十分な血液、肝臓及び腎機能を有する患者。

ヘモグロビン	9.0g/dl 以上,
白血球	3000/ μ l
血小板	75000/ μ l 以上
総ビリルビン	2.5×ULN 以下
AST 及び ALT	2.5×ULN 以下
血清クレアチニン	1.5mg/dl 以下
血清カリウム	3.5mEq 以上
血清アルブミン	3.0g/dl 以上

他の臨床検査値については基本的に CTCAE Grade 1 以下を基準とする。

10. 同意取得から治験薬投与終了後まで避妊を行うことに同意している患者。

除外基準：本研究の対象患者の除外基準を以下にまとめる。

- ①リバビリンの成分または他の抗ウイルス薬（アシクロビル、ガンシクロビル、ビダラビン等）に対し過敏症の既往のある患者で、試験責任医師が不相当と判断した患者。
- ②前立腺癌以外で重篤な合併症を有する患者。
- ③活動性の重複癌を有する患者。
- ④現在他の治験に参加している患者。
- ⑤その他、試験責任医師、治験分担医師が不相当と判断した患者。
- ⑥サンプル数およびその算出根拠。

⑦20名程度。

⑧研究期間内に慶應義塾大学病院において前立腺癌に対してドセタキセル療法が施行され、経過中に進行が認められ、ドセタキセル抵抗性前立腺癌となり、かつ、本臨床試験に同意可能な症例数。

主要評価項目及び主な副次評価項目

有効性：PSA 効果：30%以上の減少、

奏効率（測定可能病変を有する場合）RECIST に従い評価

安全性：身体所見、臨床検査、有害事象 QOL 評価：各種 QOL 調査票

副次目的：全生存期間（OS）、疾患特異的生存期間（CSS）、無増悪生存期間（PFS）、血液・尿中マーカーの変化

予定被験者数 20名程度

算出根拠：研究期間内に慶應義塾大学病院において前立腺癌に対してドセタキセル療法が施行され、経過中に進行が認められ、ドセタキセル抵抗性前立腺癌となり、かつ、本臨床試験に同意可能な症例数。2013年12月より登録を開始し、現在まで数例の患者がエントリーされており、試験継続中である。

考 察

今回我々は、我が国の日常臨床において、ヒトC型肝炎に対する抗ウイルス薬として臨床に広く使用され、安全性が既に確立されているリバビリンが、ドセタキセル療法抵抗性・去勢抵抗性前立腺癌に対し有用性を示す薬剤であることを見出したが、リバビリンは、ヒトC型肝炎に対しインターフェロン療法との併用薬として既に臨床に使用されている安全性の確立された薬剤であるため、他に治療法のないドセタキセル抵抗性・去勢抵抗性前立腺癌に対し、比較的円滑に導入が可能な新規薬剤であり、ドセタキセル療法との併用薬として大変有用な治療戦略となり得ると考えられ今後の臨床研究の進捗が期待される。今後は更にトランスレーショナルな研究を発展させ、難治性前立腺癌の内包する遺伝子ネットワークを初期化・リプログラム化するという概念に基づいた、独創的かつ革新的な新規治療戦略の確立と、その臨床応用を目的とした研究を推進させていきたいと考えている。

おわりに

最後に、本臨床研究をご理解いただき、多大なご支援をいただきました、がん集学的治療研究財団の皆様に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Tannock IF, de Wit R, Berry WR, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *The New England journal of medicine* 2004; **351**

- (15) : 1502–12.
- 2) Kosaka T, Miyajima A, Nagata H, Maeda T, Kikuchi E, Oya M. Human castration resistant prostate cancer rather prefer to decreased 5 α -reductase activity. *Scientific reports* 2013; **3** : 1268.
 - 3) Kosaka T, Miyajima A, Shirotake S, et al. Ets-1 and hypoxia inducible factor-1 α inhibition by angiotensin II type-1 receptor blockade in hormone-refractory prostate cancer. *The Prostate* 2010; **70**(2) : 162–9.
 - 4) Kosaka T, Miyazaki Y, Miyajima A, et al. The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with prostate cancer. *British journal of cancer* 2013; **108**(10) : 2123–9.
 - 5) Shirotake S, Miyajima A, Kosaka T, et al. Angiotensin II type 1 receptor expression and microvessel density in human bladder cancer. *Urology* 2011; **77**(4) : 1009 e19–25.
 - 6) Kosaka T, Kikuchi E, Mikami S, et al. Expression of snail in upper urinary tract urothelial carcinoma: prognostic significance and implications for tumor invasion. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2010; **16**(23) : 5814–23.
 - 7) Miyazaki Y, Kosaka T, Mikami S, et al. The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2012; **18**(15) : 4145–53.
 - 8) Nagamatsu G, Kosaka T, Kawasumi M, et al. A germ cell-specific gene, Prmt5, works in somatic cell reprogramming. *The Journal of biological chemistry* 2011; **286**(12) : 10641–8.
 - 9) Nagamatsu G, Kosaka T, Saito S, et al. Induction of pluripotent stem cells from primordial germ cells by single reprogramming factors. *Stem cells* 2013; **31**(3) : 479–87.
 - 10) Nagamatsu G, Kosaka T, Saito S, et al. Tracing the conversion process from primordial germ cells to pluripotent stem cells in mice. *Biology of reproduction* 2012; **86**(6) : 182.
 - 11) Kosaka T, Nagamatsu G, Saito S, Oya M, Suda T, Horimoto K. Identification of drug candidate against prostate cancer from the aspect of somatic cell reprogramming. *Cancer science* 2013; **104**(8) : 1017–26.

再発ハイリスク直腸癌に対する全身化学療法と 化学放射線療法の術前逐次投与による 全く新しい集学的治療の臨床第Ⅱ相試験

小西 毅*

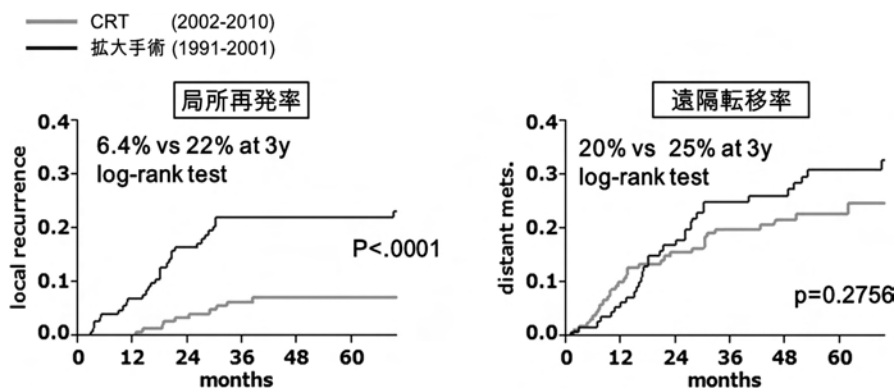
要旨 既存の集学的治療では遠隔転移、局所再発とも高率なハイリスク局所進行直腸癌を対象とし、遠隔転移制御を目的とした全身化学療法と局所再発制御を目的とした化学放射線療法（CRT）を術前逐次投与する臨床第Ⅱ相試験を計画した。対象はR0切除可能なcStageⅡ-Ⅲ下部直腸腺癌で、①垂直方向4個以上または側方領域1個以上のリンパ節転移②252-253リンパ節転移③Circumferential Resection Marginが1mm以内④深達度A以深で肛門管に位置し肛門温存の適応がない⑤他臓器に浸潤⑥直腸間膜脂肪に5mm以上浸潤、のいずれかを満たす症例とした。mFOLFOX6+Bevacizumab 6コース後、S-1併用CRT 50.4Gyを行い、根治手術を施行した。primary endpointはpCR率とし、予定症例数は43例とした。2014年9月時点で全症例の登録を終了した。2015年4月ころ、全症例の治療が完遂する予定であり、これ移行にprimary endpointを公表可能となる見込みである。全身化学療法とCRTの逐次投与による強力な術前治療は世界的にも報告は少なく、本臨床試験の意義は高い。

はじめに

下部直腸癌は大腸癌の中でも特に予後不良のため、術前化学放射線療法（CRT）による集学的治療が行われるが、局所再発は減少するものの遠隔転移や生存予後が改善しない点が問題となっている。また、下部直腸癌の手術は侵襲が大きく術後合併症が多いため、術後に十分な補助化学療法が入りにくい点も問題である。

われわれはこれまで、下部進行直腸癌に対する術前CRTに本邦独自の側方郭清を伴う拡大手術を組み合わせることで局所再発6%と良好な成績が得られること、一方で遠隔転移は手術単独に比べて低下しないこと、T4、N2-3、直腸切断術を要する進行癌などでは局所再発率20%以上、生存率40-50%程度と予後不良であること、さらに下部直腸癌の手術後は合併症が多いため術後補助化学療法が約4割しか行えないことを論文・学会発表にて報告し、これらの症例ではより強力な術前化学療法を含めたレジメンが必要であることを主張してきた（図1）¹⁾⁻³⁾。

*がん研究会有明病院 消化器外科



2002年以降の術前化学放射線療法導入により、それ以前の拡大手術単独治療に比べ、局所再発率は6%へ低下したが、遠隔転移率は減少しなかった。(術後観察期間 57ヶ月)

図1 当院のcStage II-III直腸癌に対する術前化学放射線療法の成績

世界的には、オキサリプラチン等の強力な薬剤をCRTへ加えて同時投与したり、CRTを行わずFOLFOXなどの全身化学療法のみを術前投与するレジメンが試みられてきたが、いずれもpCR率は25%以下で、既存のCRTの成績を超える上乗せ効果は限定的であった。しかし、最近、ASCO-GI2013にて、cStage II-III直腸癌に対しFOLFOX6とCapecitabine併用CRTを逐次投与する術前レジメンがKimberly Perezらにより報告され、高い安全性と有効性(pCR率33%)が示された。FOLFOXは大腸癌に対する最も強力かつ安全性の証明された全身化学療法であり、局所制御のCRTに加えて全身制御のFOLFOXを術前に一定期間投与することは、生命予後改善の観点から合理的で、特に再発リスクの高い症例で有効と考えられる。

そこで、われわれは、下部直腸癌の中でも特に再発リスクが高く、既存の集学的治療では遠隔転移、局所再発とも高率な高度局所進行下部直腸癌を対象とし、より強力な治療戦略として、遠隔転移制御を目的としたmFOLFOX6+Bevacizumab (BV)による全身化学療法を6コース施行後、局所再発制御を目的として、ギメラシルを配合し放射線増感作用が強いとされるS-1を併用した50.4GyのCRTを術前に逐次投与する集学的治療レジメンの臨床第Ⅱ相試験プロトコルを本邦で初めて作成した。全身化学療法とCRTの逐次投与による強力な術前治療は世界的にも報告は少なく、本邦では初の臨床試験である。特に再発ハイリスク直腸癌を対象とした研究は世界的にも皆無であり、既存の治療法では予後不良な本疾患に新たな可能性をもたらす重要な臨床試験と考えている。(UMIN-ID:000011457)

臨床試験の計画

1. 目的

再発リスクの高い切除可能局所進行直腸癌症例を対象として、mFOLFOX6+Bevacizumabによる術前化学療法と、S-1術前化学放射線療法を逐次行い、primary endpointをpCR率、secondary endpointsを安全性(有害事象発現割合、合併症発症割合)、R0切除率、奏効率、Downstaging率、3年無再発生存率とし評価を行う。

2. 対象症例

適格基準と除外基準を表1, 2に示す。本研究の特徴として、再発リスクの高い局所進行直腸癌を対象としていることが挙げられるが、具体的には、Ra/Rbに主座を有する直腸腺癌で、遠隔転移を有さずR0切除可能であり、治療前のMRI, CTなどによる画像評価で下記のいずれかを満たす症例と定義している。

- 垂直方向4個以上または側方領域1個以上のリンパ節転移 (N2-3, 大腸癌取扱規約 第7版)
- 252-253リンパ節転移の臨床所見が得られている (N2-3, 大腸癌取扱規約 第6版)
- 主病巣や転移リンパ節における Circumferential Resection Margin が接している (画像上1 mm 以内)
- 腫瘍がA以深で肛門挙筋へ浸潤または肛門管以遠に位置し肛門温存手術の適応とならない
- 他臓器または腹膜に浸潤する (深達度 AI, 大腸癌取扱規約 第7版)
- 直腸間膜脂肪に5 mm 以上浸潤する

表1 適格基準

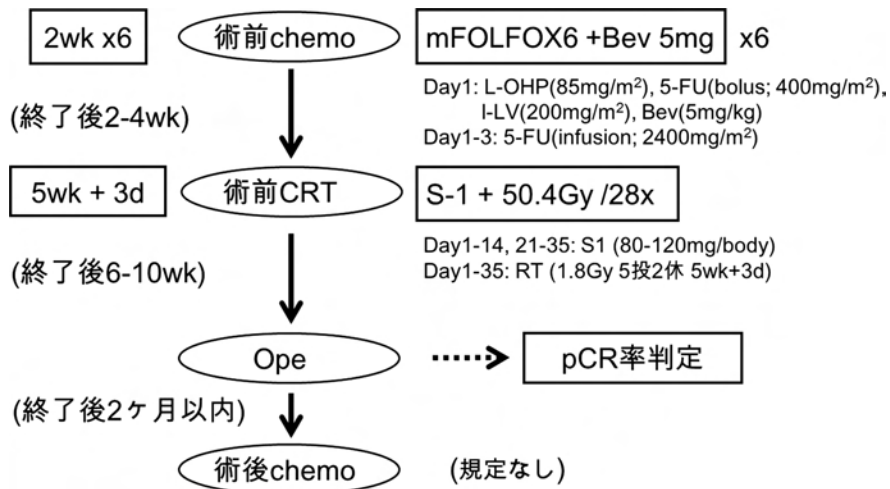
-
- 1) がん研究会病理部で病理専門医により組織学的に直腸癌（腺癌）と診断された症例
※腺癌の定義は乳頭腺癌，管状腺癌，低分化腺癌，粘液癌，印環細胞癌とし，内分泌細胞癌や腺扁平上皮癌は除外する。
 - 2) MRI, CT を用いた術前診断にて次のいずれかを満たす臨床所見が得られている症例
 - 垂直方向4個以上または側方領域1個以上のリンパ節転移 (N2-3, 大腸癌取扱規約 第7版)
 - 252-253リンパ節転移の臨床所見が得られている (N2-3, 大腸癌取扱規約 第6版)
 - 主病巣や転移リンパ節における Circumferential Resection Margin が接している (画像上1 mm 以内)
 - 腫瘍がA以深で肛門挙筋へ浸潤または肛門管以遠に位置し肛門温存手術の適応とならない
 - 他臓器または腹膜に浸潤する (深達度 AI, 大腸癌取扱規約 第7版)
 - 直腸間膜脂肪に5 mm 以上浸潤する
 - 3) 占拠部位が Ra または Rb である症例
 - 4) R0 切除が可能である症例
 - 5) 遠隔転移のない症例
 - 6) Performance Status (ECOG) が 0, 1 の症例
 - 7) 前治療として放射線療法, 化学療法, ホルモン療法などが施行されていない症例
 - 8) 主要臓器機能 (骨髄, 心, 肺, 腎など) の機能が十分保持されている症例
 - ①白血球数 $\geq 4,000/\text{mm}^3$ かつ $\leq 12,000/\text{mm}^3$
 - ②好中球数 $\geq 2,000/\text{mm}^3$
 - ③血小板数 $\geq 100,000/\text{mm}^3$
 - ④ヘモグロビン $\geq 9.0\text{g/dl}$
 - ⑤ GOT, GPT $\leq \text{ULN} \times 2.5$
 - ⑥血清総ビリルビン $\leq 1.5\text{mg/dl}$
 - ⑦血清クレアチニン $\leq \text{N}$ (正常範囲の上限)
 - ⑧ Ccr $\geq 60\text{ml/min/body}$
 - 9) 食事摂取可能で薬剤の経口投与が可能な症例
 - 10) 試験参加について患者本人から文書にて同意が得られている症例
-

表2 除外基準

- 1) S-1, Oxaliplatin, 5-FU, Leucovorin, Bevasizumab のいずれかの投与禁忌となる症例
- 2) 重篤な薬剤過敏症の既往歴のある症例
- 3) 骨盤に対し放射線治療の既往のある症例
- 4) 38.0°以上の発熱をともなう感染症を有する症例
- 5) 重篤な合併症（心不全, 間質性肺炎又は肺線維症, コントロール困難な糖尿病, 腎不全, 肝不全など）を有する症例
- 6) 感覚性の神経障害を有する症例
- 7) 脳転移を有する症例, あるいは臨床症状から脳転移が疑われる症例
- 8) 下痢（1日4回以上または水様便）のある症例
- 9) 症状緩和のために穿刺が必要と考えられる胸, 腹水の貯留例
- 10) 同時性重複癌または無病期間が5年以内の異時性重複癌を有する症例
- 11) 妊娠の可能性（意思）のある女性, 妊婦または授乳婦
- 12) 挙児希望のある男性
- 13) その他, 担当医師が対象として不適当と判断した症例

3. 治療レジメン

mFOLFOX6 + Bevacizumab (Beva) 5mg 標準投与量 6 コースの後, 最終 L-OHP 投与から 4 - 6 週あけて S-1 併用化学放射線療法 50.4Gy を施行し, 最終照射から 6 - 10 週の間に手術を行う (図 2)。



mFOLFOX6 + Bevacizumab (Beva) 5mg 標準投与量 6 コースの後, 最終 L-OHP 投与から 4 - 6 週あけて S-1 併用化学放射線療法 50.4Gy を施行し, 最終照射から 6 - 10 週の間に手術を行う。

図2 本研究レジメンの概要

mFOLFOX6 + Beva は, 各コース Day1 に L-OHP (85mg/m²), 5-FU (bolus ; 400mg/m²), l-LV (200mg/m²), Bevacizumab (5mg/kg), Day1 から Day3 にかけて 5-FU (infusion ; 2400mg/m²) の投与を行う。1 コースを 2 週間 (14日間) とし, 6 コース行う。

その後、最終L-OHP投与から4-6週間あけてS-1/RTを施行する。S-1/RTは、S-1を体表面積にあわせて1回40-60mgを1日2回、朝夕にて経口投与する。S-1は、2週間投与の後、1週間休薬し、その後2週間投与する。照射は、線量分割法は1回1.8Gy、1日1回、計28回50.4Gyとする。照射法は両側方および後方からの3門照射もしくは前後および両側方からの4門照射とする。1回の治療において3-4門すべてを照射する。放射線治療はS-1の開始と同時に開始し、照射は週5回月曜日から金曜日まで行い（最終週6週目のみ月曜日から水曜日までの3回）、放射線治療期間中に予定休止期間は設けない。最終照射から6-10週の間手術を行うこととする。

術後補助化学療法の有無については規定しない。

4. 集積予定症例数と試験期間

集積予定症例数と試験期間を表3に示す。

表3 症例数設定とその根拠、試験期間

2012. 11	RB 通過、試験開始時の予定症例数：24例（試験期間～2014. 12） 期待 pCR 率 35%、閾値 pCR 率 15%、 $\alpha=0.1$ 、 $\beta=0.2$ 、検出力80%=21例 若干の不適合症例を考慮して24例とした
2014. 2	集積順調にて予定症例数を43例へ変更（試験期間～2015. 6） 期待 pCR 率 35%、閾値 pCR 率 15%、 $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.1$ 、検出力90%=39例 若干の不適合症例を考慮して43例とした
2014. 9	43例登録完了

当初、集積予定症例数を24例で設定した。その根拠として、療法の期待 pCR 率を35%、閾値 pCR 率を15%とし、 $\alpha=0.1$ 、 $\beta=0.2$ 、検出力80%とした場合、21例必要となる。少数の除外症例を考慮して24例とした。症例登録期間は当院 IRB 承認（2012年11月）後、2014年12月までとした。

しかしその後、症例集積が非常に順調であったため、より高いエビデンスレベルをめざし、2014年2月に設定を変更し、集積予定症例数を43例とした。その根拠として、療法の期待 pCR 率を35%、閾値 pCR 率を15%とし、 $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.1$ 、検出力90%とした場合、39例必要となる。少数の除外症例を考慮して43例とした。これに合わせ、症例登録期間は2015年6月までとした。

追跡期間は症例登録終了後3年間とした。

現在の進捗状況

症例集積は順調に進み、2014年9月の時点で全43例の登録を終了した。2015年4月ごろに全症例の治療を完遂する予定である。従って、これ以降に primary endpoint である pCR 率を公表できる見込みである。

考 察

近年では、術前化学放射線療法の前に術前化学療法を組み合わせることで生存期間延長効果を上乗せする治療レジメンも試みられている。イギリスでは、Capecitabine + Oxaliplatin による化学療法と Capecitabine 併用化学放射線療法の逐次投与後に TME を行うレジメンの Phase II 試験が行われ⁴⁾、pCR 率24%と報告されている。また Capecitabine + Oxaliplatin による化学療法と Capecitabine ± Cetuximab 併用化学放射線療法の逐次投与後に TME を行う欧州の多施設共同試験⁵⁾では、各アームで pCR 率9%、11%であり、有害事象も許容範囲であった。局所進行直腸癌に対する術前化学放射線療法は局所再発の制御には効果が高いものの、遠隔転移の制御には効果が無いことはほぼ立証されているが、Bosset らが報告した EORTC 22921 試験⁶⁾では、CRT 後の補助化学療法も生存への寄与が証明されなかった。この原因の一つとして、手術後に補助化学療法を完遂できたのは43%未満と少ないことが挙げられている。このため、術後ではなく、術前 CRT 前の Upfront chemotherapy を考慮すべきであると結論づけている。このように、術前化学療法を組み合わせることにより延命効果を狙う戦略は妥当なものであり、本研究の意義は高いと考える。

S-1 は、5-FU 同様に放射線増感作用を有するとともに、5-FU の分解酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の阻害剤として TS-1 に配合されているギメラシル (CDHP) にも放射線の増感作用を有することが示唆される経口 5-FU 系薬剤である⁷⁾。S-1 単剤と放射線療法を検討した報告はいくつかあるが、Sadahiro らは、S-1 (2週間投与1週間休薬2週間投与) + 放射線 (45Gy) の第 I / II 相試験にて S-1 の用量を通常投与量に上げても DLT が認められず、pCR 率も22% (6/27) と良好であったと報告している⁸⁾。よって、今回、経口 5-FU 系抗がん剤であり、放射線増感作用があると報告されている S-1 を放射線照射と同時併用した S-1/RT 療法を mFOLFOX6 + Bevacizumab 療法の後に行うレジメンを選択した。S-1 は欧米では直腸癌に対する臨床試験として用いられておらず、本研究のオリジナリティーは高い。

おわりに

術前化学療法と化学放射線療法の逐次投与による pCR 率の向上により、直腸癌手術において最大の課題である肛門温存、排尿・性機能温存を含む臓器温存・機能温存手術が可能となる。患者の術後 QOL を考える上で、このような集学的治療による手術の縮小化は大変重要である。さらに、本研究は不随研究として、術前画像、内視鏡評価による pCR の予測試験を行っている。今後、pCR が手術前に高率に予測できるようになれば、究極の臓器温存治療として、手術を省略する Wait and see 戦略も選択肢の一つとなる。より高い根治性とより高い QOL は集学的治療の発展により両立するものであり、理想的な外科治療実現のため、今後のさらなる研究が必要と考える。

謝 辞

本研究の意義をご理解いただき研究助成をご支援いただきました「公益財団法人 がん集学的治療研究財団」の関係者の方々に深謝申し上げます。

文 献

- 1) 小西 毅, 上野雅資, 福長洋介, 他. 局所高度進行直腸癌に対する化学療法 術前化学放射線療法. 外科. **75**(3). 263–268. 2013.
- 2) 小西 毅, 上野雅資, 福長洋介, 他. 当院の進行下部直腸癌に対する治療法の変遷と成績から見た術前化学放射線療法の有効性と課題に関する検討. 癌の臨床. **58**(6). 389–395. 2012.
- 3) Konishi T, Watanabe T, Nagawa H, et al. Preoperative chemoradiation and extended pelvic lymphadenectomy for rectal cancer: Two distinct principles. *World J Gastrointest Surg.* 2010 Apr 27; **2**(4): 95–100.
- 4) Chau I, Brown G, Cunningham D, et al. Neoadjuvant Capecitabine and Oxaliplatin Followed by Synchronous Chemoradiation and Total Mesorectal Excision in Magnetic Resonance Imaging-Defined Poor-Risk Rectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2006 Feb 1; **24**(4): 668–74.
- 5) Dewdney A, Cunningham D, Tabernero J, et al. Multicenter Randomized Phase II Clinical Trial Comparing Neoadjuvant Oxaliplatin, Capecitabine, and Preoperative Radiotherapy With or Without Cetuximab Followed by Total Mesorectal Excision in Patients With High-Risk Rectal Cancer (EXPERT-C). *J Clin Oncol.* 2012 May 10; **30**(14): 1620–7.
- 6) Bosset JF, Calais G, Mineur L, et al. Fluorouracil-based adjuvant chemotherapy after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer: long-term results of the EORTC 22921 randomised study. *Lancet Oncol.* 2014 Feb; **15**(2): 184–90.
- 7) Nakata E, Fukushima M, Takai Y, et al. S-1, an oral fluoropyrimidine, enhances radiation response of DLD-1/FU human colon cancer xenografts resistant to 5-FU. *Oncol Rep.* 2006 Sep, **16**(3): 465–71.
- 8) Sadahiro SI, Suzuki T, Tanaka A, et al. Phase I/II Study of Preoperative Concurrent Chemoradiotherapy with S-1 for Locally Advanced, Resectable Rectal Adenocarcinoma. *Oncol* 2011; **81**: 306–11.

免疫応答解析に基づいた 骨軟部腫瘍のバイオマーカーの開発

末原 義之*

要旨 難治疾患である悪性骨軟部腫瘍の治療成績は依然極めて不良で深刻な課題が残されている。骨軟部腫瘍のさらなる治療成績向上のためには、更なる腫瘍発生・悪性度・治療抵抗性の解明や、現在までに肉腫研究に行われていない斬新なアプローチによる新規治療法の開発が不可欠と考える。近年、進行メラノーマ、固形腫瘍（非小細胞肺癌、大腸がん等）、造血器腫瘍における新規免疫療法開発が進み、免疫応答よりのアプローチによる新規バイオマーカー及び治療標的の開発が注目されている。

本研究は順天堂大学と国立がん研究センターが共同で研究を行い、難治性疾患である悪性骨軟部腫瘍に対して、マルチカラーフローサイトメーターを用いた免疫応答解析の手法に基づき、骨軟部腫瘍の発生・悪性化・治療抵抗性に関わる免疫担当細胞の特定を行い、そのプロファイリングに基づいた新規バイオマーカー及び治療標的の開発を目指す。

研究の目的

本研究は難治性の悪性骨軟部肉腫に対して、標準的に行われている化学療法が免疫機能に与える影響を解析することを目的とし、化学療法前後に継時的に血液を採取し、免疫担当細胞を解析する。担癌患者血液検体、および、採取可能症例では腫瘍検体（手術、生検検体）を用いて免疫応答解析を行い、骨軟部腫瘍の発生・悪性度・治療抵抗性に関わる免疫担当細胞を同定し、化学療法との免疫療法の併用の可能性や予後及び治療効果と関連するバイオマーカーの開発を進める。本研究成果として難治性の骨軟部腫瘍の治療個別化（投与患者選択）や治療成績向上に大きく貢献することが期待する。

研究の背景

骨軟部腫瘍のバイオマーカー及び治療標的に関して：

難治疾患である悪性骨軟部腫瘍の治療成績は依然極めて不良で深刻な課題が残されている。骨軟部腫瘍のさらなる治療成績向上のためには、(1)オーダーメイド医療を可能とする新たなバイオマーカーの開発、ならびに新規標的治療法のための新たな治療ターゲットの開発、(2)治療抵抗性のメカニズムと生命予後を規定する因子の解明が必要である。しかしながら、骨軟部腫瘍領域の新規治療においては、消化管間質腫瘍（GIST）に対するチロシンキナーゼ阻害薬 imatinib を使用した治療を除いて、画期的な治療の開発には至っておらず、骨軟部腫瘍領域における飛躍的な治療成績向上のためには、新規研究による継続的な治療開発アプローチは不可

* 順天堂大学医学部 整形外科教室

欠である。

現在までの骨軟部腫瘍における発現解析研究の中心は、DNA、mRNA、タンパク質のレベルでの網羅的発現解析が中心に研究されて一定の成果をあげてきたが、飛躍的な治療効果や予後改善を与えるバイオマーカーや治療ターゲットの開発には至っていない。そのため、更なる腫瘍発生・悪性度・治療抵抗性の解明や治療成績改善のためには、今までの肉腫研究に行われていない斬新なアプローチによる新規治療法の開発が不可欠と考える。

また、肉腫は“希少癌”として大規模な研究が困難な状況や製薬コストの問題により肉腫単独に対する創薬が困難な現状を考えた場合に、現在までに他癌で開発された分子標的治療薬などの適応拡大による新規治療法の開発は、合理的な方法であり重要なアプローチと考える。

近年、進行メラノーマ、固形腫瘍（非小細胞肺癌、大腸がん等）、造血器腫瘍における新規免疫療法開発が進み、免疫応答よりのアプローチによる新規バイオマーカー及び治療標的の開発が他癌において注目されている。本研究はその現在注目されている免疫応答のアプローチを骨軟部腫瘍に対して行い、新規治療法の開発を目指す。

免疫応答解析による研究に関して：

免疫応答の研究は米国において先行して研究が進められており、国内研究は後塵を拝している。特に国内においてメラノーマ、固形腫瘍（非小細胞肺癌、大腸がん等）、造血器腫瘍における新規免疫療法の開発においては、免疫応答解析は必須となってきた。また、近年、抗がん剤治療を受けた患者において免疫担当細胞を解析した結果、一部の抗がん剤（少量エンドキサン、ゲムシタビン、スニチニブ）は免疫系の一部に好ましい影響を与える事が明らかになっている¹⁾⁻³⁾。そのメカニズムとして、1) 制御性T細胞や Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) などの免疫抑制機能を有する細胞の数や働きを抑制する、2) 抗がん剤によりアポトーシスを起こした腫瘍細胞を抗原提示細胞が貪食し腫瘍特異的抗原を提示することで腫瘍特異的細胞障害性T細胞が誘導される、ことなどが考えられている。2010年、共同研究者の北野らはMSKCC, NY, USAにて主にBD社の最新フローサイトメーター (LSR II Fortessa) を用いた免疫応答反応を詳細に探索する独自のシステムの確立に成功した⁴⁾⁻¹⁰⁾。現在、その成果としてMSKCC, NY, USAで行われている各種新規がん免疫療法の臨床開発において、本免疫モニタリング法が各種、臨床試験、治験に標準的に採用されている。現在、日本国内では共同研究者の北野が2013年より国立がん研究センターに本解析手法の取り入れを現在開始している。

本研究の計画：

本研究は現在最も注目されている免疫応答の視点から骨軟部腫瘍に対して解析を行い、バイオマーカー及び治療標的の探索を行う世界初の研究である。本研究は順天堂大学（末原）と国立がん研究センター（北野、小林）が共同で研究を行う。解析試料は現在までに順天堂大学及び国立がん研究センターの骨軟部腫瘍チームとして、骨軟部腫瘍の手術・血液検体を用いて多数研究を行い多数の成果を得ている。その現在までに獲得された試料及び下記プロジェクトに沿って経時的に獲得された骨軟部腫瘍検体を用いて研究を行う。手法は本研究手法の開発者である共同研究者の北野の研究室（国立がん研究センター）において解析を行う。

本研究の期待される成果

本研究は難治性疾患である悪性骨軟部腫瘍に対して、マルチカラーフローサイトメーターを用いた免疫応答解析の手法に基づいた独自の患者免疫系の探索システムを使用し解析を行い、そのプロファイリングに基づいた新規バイオマーカー及び治療標的となりうる免疫応答反応分子の同定・開発を行う。

本研究成果として骨軟部腫瘍における個別化治療（薬剤有効患者の予測）や予後マーカーの同定、新規治療法開発につながり、難治性の骨軟部腫瘍の治療成績の向上に貢献することが大きく期待する。

研究方法

研究方法の概要：

本研究は悪性骨軟部肉腫患者血液を最新のマルチカラーフローサイトメーターを用いて免疫応答解析を行い、同一症例間および各症例内での経時的変化を比較解析することにより、新規予後予測マーカー及び薬剤奏効性予測マーカーの開発を目的とする。同定されたバイオマーカーについては、施設内及び多施設においての大規模検証を行い、本研究内でそのバイオマーカーの臨床応用への可能性についても検証を行う。さらに、同定されたバイオマーカーに該当する分子を標的とした薬剤が既に他の癌種で使用されている場合には、この薬剤を肉腫腫瘍細胞系における薬剤奏効実験を行い、肉腫を対象とする臨床応用の開発を行う。

解析の対象疾患：

本研究の順天堂大学の施設内倫理委員会の承認を受け、解析に必要な骨肉腫、悪性軟部肉腫及び転移性骨腫瘍の患者血液検体の採取を進めた。国立がん研究センターでも施設内倫理委員会の申請を進める。採取された悪性骨軟部肉腫患者血液を用い、対象は治療プロトコルに従った治療（①術前化学療法導例、②進行例に対する化学療法導入例）が行われる骨肉腫症例及び高悪性度軟部肉腫症例の解析検討をする。

解析の対象物質：

患者血液検体（末梢血10-20ml）を用いて、マルチカラーフローサイトメーターを用いて解析する。具体的な解析対象物質は

1. 免疫系を構成する各細胞群の細胞数；

単球系由来骨髄球由来抑制細胞（Myeloid Derived Suppressor Cell；MDSC）、Th1、Th2、Th17、キラーT細胞、制御性T細胞、B細胞、NK細胞、NKT細胞、単球、樹状細胞など

2. 各細胞群の機能や亜集団を反映する表面マーカー；

T細胞のCCR7、CD45RA、CD27、PD-1、CTLA-4、ICOS、LAG-3、Tim-3、PD-1、CTLA-4、ICOS、CCR4、NK細胞のNKG2D、樹状細胞のCD11c、CD123など

3. 残余組織がある場合、必要に応じて病理組織標本を用いた腫瘍細胞や周囲浸潤リンパ球の免疫組織化学的検索を行う。

バイオマーカー・治療標的開発の対象：

- (a)各種骨軟部腫瘍の化学療法感受性マーカーの探索
- (b)各種骨軟部腫瘍の予後予測マーカーの探索

発現プロファイリングと臨床病理学データとも照合し総合的に解析することで新規バイオマーカー及び治療ターゲットの探索を行う。

腫瘍組織内発現の検証について：

同定された免疫応答関連分子については、腫瘍組織内での発現及び局在を探索するために、それぞれの症例に対応した凍結手術検体及びパラフィン検体における(a)PCR法による定量、(b)免疫染色と、(c)腫瘍浸潤免疫応答細胞をフローサイトメーターで解析する。

臨床応用を目的とした大規模検証について：

免疫応答解析の成果として「予後予測因子」として同定された免疫応答解析結果については、施設内追加検体による検証セットを用いて大規模発現検証を行う。その施設内検証にて有用性が確認された免疫応答反応については、臨床応用を目的とした多施設大規模検証をさらに行い、薬剤奏効生予測・予後予測マーカーとして臨床応用が可能であるか検討を行う。

本研究の現在までの進行状況と成果

本研究の順天堂大学の施設内倫理委員会の承認を受けた。国立がん研究センターにおいては施設内倫理委員会の申請を進めた。解析対象である骨肉腫、悪性軟部肉腫及び転移性骨腫瘍の患者血液検体の採取を行い臨床情報と共に整備を行った。同時に手術検体の確保（凍結検体、パラフィン包埋検体）も行った。採取を行った患者血液検体に対して各種細胞表面物質、細胞内物質に別けてマルチカラーフローサイトメーターを用いて解析を行った。解析対象物質は、単球系由来の骨髄球由来抑制細胞（MDSC）、リンパ球由来のCD4陽性リンパ球、CD8陽性リンパ球、B細胞、NK細胞、NKT細胞、制御性T細胞、骨髄由来抑制細胞（MDSC）について解析を行った。複数の予備実験として免疫担当細胞の発現獲得に成功した（図1）。同時に本研究の蓄積データとした。

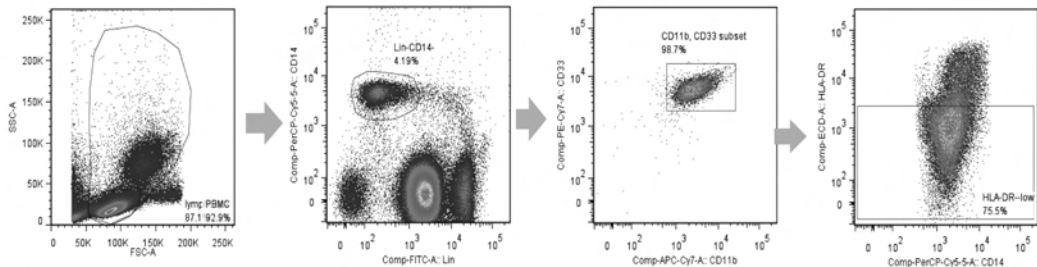


図1 m-MDSC (monocyte Myeloid Derived Suppressor Cell) in fresh PBMC of Osteosarcoma

今後の予定として研究計画に則り、悪性骨軟部腫瘍の免疫担当細胞の発現プロファイルのデータの更なる蓄積を行う。その蓄積データを用いて、1) 各種骨軟部腫瘍治療前、治療後の血

型検体の免疫担当細胞の発現プロファイルの比較を行い各種骨軟部腫瘍の化学療法感受性マーカーの探索を行う。2) 各種検体の免疫担当細胞の発現プロファイルと長期的な予後を比較し、各種骨軟部腫瘍各種骨軟部腫瘍の予後予測マーカーの探索を行う。3) 同定された免疫応答関連分子については、それぞれの症例に対応した手術検体の腫瘍組織内における発現及び局在の探索を免疫染色、フローサイトメーターで行う。

文 献

- 1) Ghiringhelli F, Menard C, Puig PE, et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer immunology, immunotherapy* : CII 2007 ; **56** : 641–8.
- 2) Soeda A, Morita-Hoshi Y, Makiyama H, et al. Regular dose of gemcitabine induces an increase in CD14+ monocytes and CD11c+ dendritic cells in patients with advanced pancreatic cancer. *Japanese journal of clinical oncology* 2009 ; **39** : 797–806.
- 3) van Crujisen H, van der Veldt AA, Vroeling L, et al. Sunitinib-induced myeloid lineage redistribution in renal cell cancer patients: CD1c+ dendritic cell frequency predicts progression-free survival. *Clin Cancer Res* 2008 ; **14** : 5884–92.
- 4) Kitano S, Postow MA, Ziegler CG, Kuk D, Panageas KS, Cortez C, Rasalan T, Adamow M, Yuan J, Wong P, Altan-Bonnet G, Wolchok JD, Lesokhin AM. Computational algorithm-driven evaluation of monocytic myeloid-derived suppressor cell frequency for prediction of clinical outcomes. *Cancer Immunol Res.* 2014 **2**(8) : 812–21.
- 5) Callahan MK, Masters G, Pratilas CA, Ariyan C, Katz J, Kitano S, Russell V, Gordon RA, Vyas S, Yuan J, Gupta A, Wigginton JM, Rosen N, Merghoub T, Jure-Kunkel M, Wolchok JD. Paradoxical activation of T cells via augmented ERK signaling mediated by a RAF inhibitor. *Cancer Immunol Res.* 2014 **2**(1) : 70–9.
- 6) Postow MA, Yuan J, Kitano S, Lesokhin AM, Wolchok JD. Markers for anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) therapy in melanoma. *Methods MolBiol.* 2014 ; **1102** : 83–95.
- 7) Kitano S, Tsuji T, Liu C, Hirschhorn-Cymerman D, Kyi C, Mu Z, Allison JP, Gnjatich S, Yuan JD, Wolchok JD. Enhancement of tumor-reactive cytotoxic CD4+ T cell responses after ipilimumab treatment in four advanced melanoma patients. *Cancer Immunol Res.* 2013 **1**(4) : 235–44.
- 8) Postow MA, Callahan MK, Barker CA, Yamada Y, Yuan J, Kitano S, Mu Z, Rasalan T, Adamow M, Ritter E, Sedrak C, Jungbluth AA, Chua R, Yang AS, Roman RA, Rosner S, Benson B, Allison JP, Lesokhin AM, Gnjatich S, Wolchok JD. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N Engl J Med.* 2012 **366**(10) : 925–31.
- 9) Lesokhin AM, Hohl TM, Kitano S, Cortez C, Hirschhorn-Cymerman D, Avogadri F,

- Rizzuto GA, Lazarus JJ, Pamer EG, Houghton AN, Merghoub T, Wolchok JD. Monocytic CCR2(+) myeloid-derived suppressor cells promote immune escape by limiting activated CD8 T-cell infiltration into the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2012 **72** (4) : 876–86.
- 10) Hirschhorn-Cymerman D, Budhu S, Kitano S, Liu C, Zhao F, Zhong H, Lesokhin AM, Avogadri-Connors F, Yuan J, Li Y, Houghton AN, Merghoub T, Wolchok JD. Induction of tumoricidal function in CD4+ T cells is associated with concomitant memory and terminally differentiated phenotype. *J Exp Med.* 2012 **209**(11) : 2113–26.

KRAS 遺伝子野生型の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対する 2 次治療としての Cetuximab (q2w) + mFOLFOX6 または Cetuximab (q2w) + mFOLFIRI 療法の臨床第Ⅱ相試験及び治療効果を予測するバイオマーカーの検討

高橋 信*

要旨 結腸・直腸癌研究において、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現により、抗癌剤感受性および予後の予測をするバイオマーカーを探索する研究が行われている。我々は網羅的遺伝子発現により大腸癌のサブタイプ分類を行う研究を行ってきた。その結果、大腸癌は大きく 2 つの要素によって 4 つのサブタイプに分類されることが示された。これら 4 つのサブタイプで抗 EGFR 抗体薬、イリノテカンベースレジメン、オキサリプラチンベースレジメンの有効性が異なる可能性が示唆された。本臨床試験では、初回化学療法が不応、不耐容となった治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対する 2 次治療としての cetuximab (q2w) および mFOLFOX6 または mFOLFIRI 併用療法の無増悪生存期間を検討する。本研究の結果、結腸・直腸癌のサブタイプ分類のバイオマーカーとしての臨床的有用性が検証され、結腸・直腸癌の治療の進歩に貢献できることを期待したい。

はじめに

1990 年以降に行われた大規模臨床試験の結果、結腸・直腸癌の化学療法においては、フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍薬をベースとし、塩酸イリノテカン、またはオキサリプラチンの併用療法 (FOLFIRI 療法, FOLFOX 療法等) が標準治療レジメンとして確立した。また近年、分子標的治療薬として、抗 VEGF 抗体薬であるベバシズマブ、抗 EGFR 抗体薬のセツキシマブ、パニツムマブが臨床導入された。現在では、イリノテカンレジメン、オキサリプラチンレジメンに抗 VEGF 抗体薬もしくは抗 EGFR 抗体薬を併用することで治療成績が向上することが示され、標準治療として広く用いられている¹⁾。

大腸癌研究ではマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現により、抗癌剤感受性および予後の予測をするバイオマーカーを探索する研究が行われている。さらに以前では解析が困難であった、FFPE サンプルから抽出した RNA を用いてマイクロアレイを行う網羅的遺伝子発現解析も可能になった²⁾。FFPE サンプルは、世界中ほとんどの医療機関において、病理組織学的診断のために保存されており、多数の症例の長期観察データを後ろ向きに容易に収集することが出来る利点がある。乳癌では網羅的遺伝子発現解析により、遺伝子発現パターンから luminal A, luminal B, HER2 enrich, basal like, normal like の 5 つのサブタイプに分類されることが示され、癌の多様性を遺伝子発現レベルから明解に説明した³⁾。このサブタイプが乳癌の臨

* 東北大学加齢医学研究所 臨床腫瘍学分野

床病理組織学的特徴や臨床像と良く対応し、このため、乳癌の分子生物学的背景の理解が大きく進歩した。乳癌と同様に大腸癌も多様な形質を有する集団であると考えられる。遺伝子発現解析により大腸癌の多様性を説明できれば、大腸癌に対する理解が深まり、より良い治療の選択、開発につながるものと期待される。

目 的

本臨床試験では、初回化学療法が不応、不耐容となった治療切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対する2次治療としてのcetuximab (q2w) およびmFOLFOX6またはmFOLFIRI併用療法の無増悪生存期間を検討する。

- 主要評価項目：無増悪生存期間 (Progression free survival : PFS)
- 副次的評価項目：奏効率、有害事象の発生割合と重篤度

さらに、本試験に参加する患者を対象に、その病理標本組織におけるバイオマーカーと本試験により得られた予後および化学療法の臨床的效果との相関性を評価し、網羅的遺伝子発現解析によるサブタイプ分類によってcetuximabの有効性を予測可能かについて検証することを目的とする。また、新規バイオマーカーの開発研究を行う。

バイオマーカー探索

1. 網羅的遺伝子発現解析

これまで我々は網羅的遺伝子発現により結腸・直腸癌のサブタイプ分類を行う研究を行ってきた。2005年から2010年までに切除不能進行再発大腸癌の診断で抗がん剤治療を施行した症例で、原発巣が切除され、そのFFPE組織が入手可能であった100例を対象とした。結腸・直腸癌の手術検体のFFPE組織よりRNAを抽出し、マイクロアレイを用いた網羅的発現遺伝子解析を行った。教師なし階層化クラスタリング法を行った結果、結腸・直腸癌は大きく4つのサブタイプに分類されることが示された(図1A)。また主成分分析を行った結果、2つの要素によって4つのサブタイプがアーチ状に分布することが示された(図1B)。これら4つのサブタイプでイリノテカンベースレジメンもしくはオキサリプラチンベースレジメンと抗EGFR抗体薬の有効性が異なる可能性が示唆された(図2)。具体的には、イリノテカンベースレジメンとオキサリプラチンベースの1次治療のPFSにおいて、Cluster B2は他のClusterよりも短い傾向を示し、特にCluster A1よりは有意に短かった(図2A)。また抗EGFR抗体薬のPFSにおいて、Cluster B1およびB2はCluster A1およびB2と比較して短い傾向を示し、特にCluster B2はCluster A2よりも有意に短かった(図2B)。

以上の結果より、本臨床試験の付随研究として、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析によって、サブタイプ分類を行い、本臨床試験治療の効果、予後との関連性の検討を行うこととした。

図 1

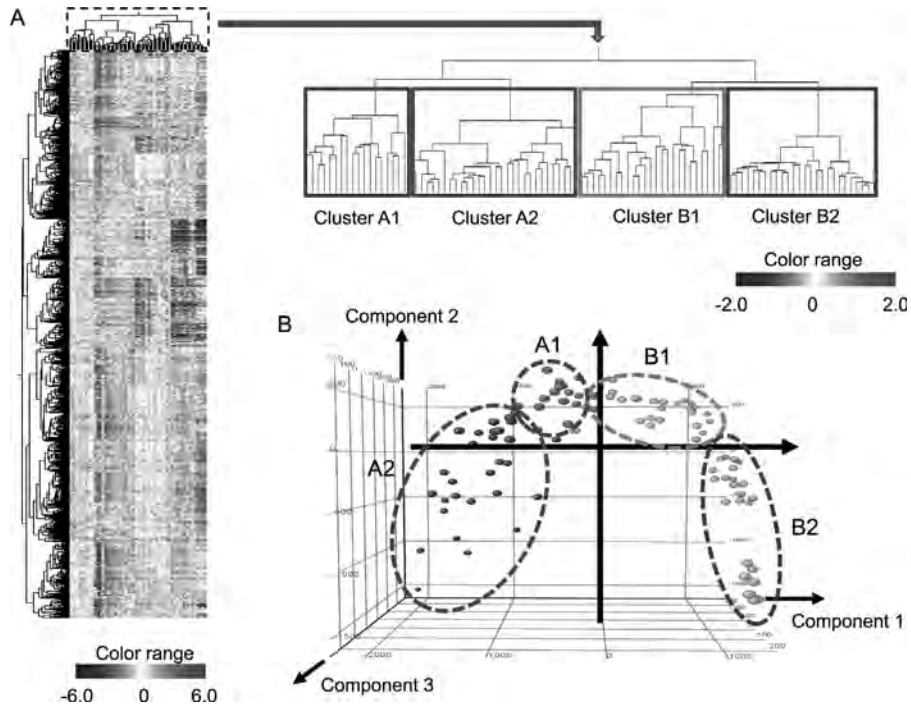


図 1 網羅的遺伝子発現解析によるクラスター分類

- A. 教師なし階層化クラスター解析。100例の結腸・直腸癌は遺伝子発現プロファイルによって4つのクラスターに分類された。
- B. 主成分分析。100例の結腸・直腸癌は component 1 および 2 で形成される平面上にアーチ状に分布し、component 1 の負の方向から A2, A1, B1, B2 の順に分布した。

図 2

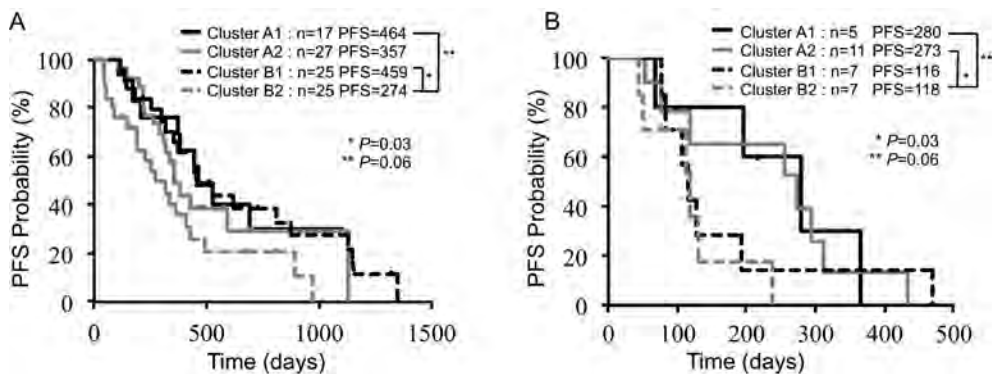


図 2 クラスター分類による生存曲線

- A. 1次治療における、イリノテカンベースもしくはオキサリプラチンベースレジメンのPFS(日)。P値はログランク検定により算出。
- B. 抗EGFR抗体薬のPFS(日)。P値はログランク検定により算出。

2. 結腸・直腸癌関連遺伝子変異解

結腸・直腸癌においては約40%の頻度で *KRAS* 遺伝子の活性型変異が検出される。そのうち約90%がコドン12および13に認められるが、コドン61など他の部位にも低頻度に認められる。EGFR の下流に位置する *KRAS* 遺伝子に活性型変異を有する症例は抗 EGFR 抗体が無効であることが示され、抗 EGFR 抗体のバイオマーカーとして一般臨床でも使用されている⁴⁾。*BRAF* 遺伝子変異は *KRAS* 遺伝子変異と同様に抗 EGFR 抗体薬のバイオマーカーとして期待されたが、cetuximab の治療効果が示される結果が得られている⁵⁾。一方で *BRAF* 遺伝子変異を有する症例は野生型の症例と比較して予後が極めて不良である⁴⁾ことが示されている。*PIK3CA* 遺伝子変異は、*KRAS* 遺伝子野生型例の解析で、抗 EGFR 抗体の効果予測因子であると報告されている⁶⁾。以上より、本研究においてこれらの遺伝子とその経路内の他の関連遺伝子(*NRAS*, *AKT* 他) バイオマーカーを解析に加えることとした。

- 1) *KRAS*
- 2) *BRAF*
- 3) *PIK3CA*
- 4) *NRAS*
- 5) *AKT*
- 6) その他、解析可能な関連遺伝子

3. CpG 部位メチル化表現型解析

結腸・直腸癌には DNA の CpG 部位でメチル化が起こる CIMP (CpG island methylator phenotype ; CpG 部位メチル化表現型) を示すものがあることが知られている。適切な CIMP のマーカー部位はまだ議論の多いところであるが、現在のところ *CACNA1G*, *IGF2*, *NEUROG1*, *RUNX3*, および *SOCS1* の5部位のメチル化を解析するのが一般的である⁷⁾。さらに、この5遺伝子の他に、*MLH1* 遺伝子のプロモーターメチル化解析はマイクロサテライト不安定性と関連するために重要である。近年、CIMP 陽性の大腸癌は5-FU をベースとする術後化学療法の有用性が低いことが示され、薬物療法との関連が解析されつつある⁸⁾。進行再発大腸癌における薬物療法と CIMP の関連性は報告がなく、本研究においては進行・再発大腸癌の CIMP を解析し、それぞれの群での化学療法の治療成績を比較することにより関連性の解析を解明することを目的のひとつとした。

- 1) *CACNA1G*
- 2) *IGF2*
- 3) *NEUROG1*
- 4) *RUNX3*
- 5) *SOCS1*
- 6) *MLH1*
- 7) その他 CIMP の評価に有用な遺伝子

4. DNA ミスマッチ修復タンパク質の免疫組織染色

約15%の散発性大腸癌においてマイクロサテライト不安定性 (MSI) が認められることが知られている。MSI を示す大腸癌は5-FU ベースの術後補助化学療法によるメリットが認められないことがレトロスペクティブな解析から報告されており、薬物療法の感受性ととの相関が示唆されている⁹⁾。このため、以下のミスマッチ修復タンパク質の免疫組織染色をおこない、治療効果との相関性を検討することとした。

- 1) MLH1
- 2) MSH2
- 3) PMS2
- 4) MSH6

5. PTEN タンパク質の免疫組織染色

癌抑制遺伝子 *PTEN* の転写産物である *PTEN* タンパクは PIP3 を脱リン酸化することにより PI3K/Akt 経路の活性を抑制する働きを持つ。*PTEN* の発現消失は PI3K/Akt 経路の活性化を引き起こし、*KRAS* 変異がない場合でも EGFR 経路の活性化を引き起こす。*PTEN* の発現消失により、抗 EGFR 抗体に抵抗性なることが報告されている¹⁰⁾。このため、*PTEN* タンパクの発現の有無を免疫組織染色で検討することとした。

以上の解析を統合的に行うことにより、大腸癌に対する薬物療法の治療効果を予測するバイオマーカーを開発することを目指す。

対 象

初回化学療法が不応、不耐容となった治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌で表1の基準を満たした症例を対象とした。

表1 適格基準

- 1) 本人より文書での同意が得られている症例
- 2) 病理組織学的に結腸癌あるいは直腸癌であることが確認され、組織学的に大腸原発の腺癌である症例
- 3) 大腸癌原発巣の手術検体もしくは生検検体を提出できる
- 4) 原発巣または転移巣組織において *KRAS* 野生型が確認されている
- 5) 同意取得日の年齢が20歳以上の症例
- 6) ECOG performance status (PS) が0 - 2である症例
- 7) 少なくとも1つの測定可能な標的病変 (RECIST ver1.1 判定基準) が画像上で確認されている症例

登録前30日以内のデータにより、以下の基準を満たす病変を1つ以上有していることとする
前治療に放射線治療を施行している症例は、放射線照射終了後に新たに出現した標的病変、または放射線照射野外の標的病変を有する症例とする

- ① CTで20mm≤ 又はヘリカルCTで10mm≤、短径15mm以上のリンパ節病変

- ② 一方向測定が可能な病変
- 8) 1次治療としてオキサリプラチンベースまたはイリノテカンベースの治療が施行され、それらの治療に不応性または投与困難になった症例 [なお、術後補助化学療法に関しては終了後180日以内に再発を確認しなかった場合には前治療としない]
- 9) 前治療終了から登録時点までに以下に示す無治療期間を有すること。
 - ① 放射線療法 4週間
 - ② 臓器切除を伴う手術療法（人工肛門造設術を除く） 2週間
 - ③ 化学療法（分子標的治療薬を含む） 2週間
 - ④ ホルモン療法，免疫療法 2週間
 - ⑤ サイトカイン，BRM製剤 2週間
 - ⑥ 他の治験薬 4週間
- 10) 登録日より60日以上生存が期待される症例
- 11) 登録前15日以内のデータにより，以下の骨髄・肝・腎機能を有する症例
 - ① 好中球数： 1500/mm³以上
 - ② 血色素量： 8.0g/dL以上
 - ③ 血小板数： 10.0×10⁴/mm³以上
 - ④ 血清総ビリルビン： 2.0mg/dL以下
 - ⑤ 血清AST (GOT)・血清ALT (GPT)：100U/L以下
 - ⑥ 血清クレアチニン： 1.50mg/dl以下

方 法

1コースは2週間とし cetuximab は，Day1 に500mg/m² を2時間かけて静脈内投与し，その後隔週投与として500mg/m² を2時間かけて静脈内投与する。mFOLFOX6療法またはmFOLFIRI療法は，cetuximab に引き続き投与することとし，cetuximab と同日に隔週投与方法で投与する。病態の悪化または耐容性の無い毒性が発現するまで，投与を継続することができる（図3）。

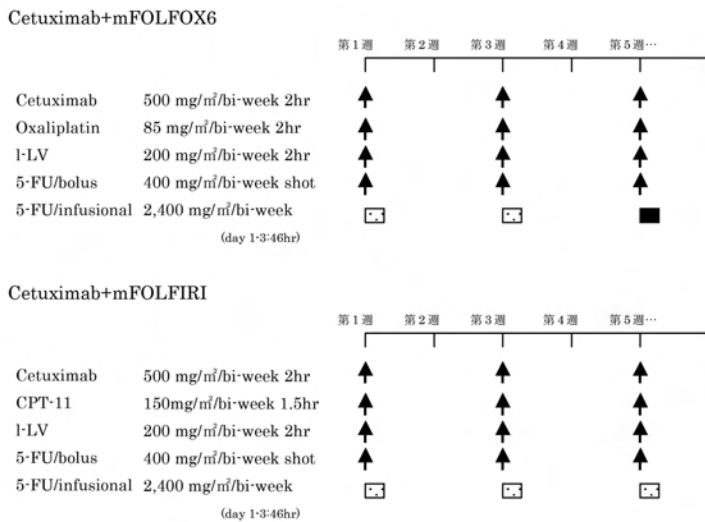


図3 シェーマ

進捗状況

特定非営利活動法人・東北臨床腫瘍研究会の参加施設，計33施設で実施している。2012年6月より登録を開始し，2014年11月現在，45例の登録がある。

考 按

本臨床試験は，初回化学療法が不応，不耐容となった治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌に対する2次治療としての cetuximab (q2w) および mFOLFOX6 または mFOLFIRI 併用療法の無増悪生存期間を検討する第Ⅱ相臨床試験である。これまでの研究の結果，網羅的遺伝子発現解析によって，結腸・直腸癌が4つのサブタイプに分類され，標準治療レジメンの治療効果が異なることが示唆された。しかしながら，この先行研究はあくまでも後ろ向きの観察研究であり，エビデンスレベルは高いものではない。そこで，本臨床試験は，2次治療としての cetuximab (q2w) および mFOLFOX6 または mFOLFIRI 併用療法の治療効果および安全性を検討するとともに，先行研究の結果を検証するための臨床試験として立案された。抗 EGFR 抗体薬のバイオマーカーとしては，前述の通り負の効果予測因子としての RAS 遺伝子変異のみである。RAS 遺伝子野生型の結腸・直腸癌における抗 EGFR 抗体薬の奏効率は約3割に過ぎず，バイオマーカーとしては不十分である。我々は網羅的遺伝子発現解析によるサブタイプ分類という新しい切り口で新規バイオマーカーを確立することを目指している。また，網羅的遺伝子発現解析のみならず，結腸・直腸癌の重要な発がんメカニズムである，CIMP，MSI のバイオマーカーとしての役割を検討するとともに，それらを統合解析することによって，結腸・直腸癌の新規サブタイプ分類とその分子生物学的意味づけを行うことを目標として研究を行っている。

おわりに

本臨床試験とバイオマーカー探索研究によって，結腸・直腸癌の分子生物学的理解が深まるとともに，サブタイプ分類による新規標準治療スキームの確立によって治療の進歩に貢献できる研究となるよう努力したい。

最後に，本研究にご理解をいただき，多大なご支援を頂きました公益財団法人がん集学的治療研究財団の皆様へ深謝申し上げます。

文 献

- 1) National Comprehensive Cancer Network: Clinical Practice Guidelines in *Oncology*. 2014.
- 2) Hoshida Y, Villanueva A, Kobayashi M, et al. Gene expression in fixed tissues and outcome in hepatocellular carcinoma. *N.Engl.J.Med.* **359** : 1995 – 2004, 2008.
- 3) Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* **98** : 10869 – 74, 2001.

- 4) Dahabreh IJ, Terasawa T, Castaldi PJ, et al. Systematic review: Anti-epidermal growth factor receptor treatment effect modification by KRAS mutations in advanced colorectal cancer. *Ann Intern Med.* **154**: 37–49, 2011.
- 5) C. Kohne, P. Rougier, C. Stroh, et al. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): A meta-analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status. ASCO GI cancers symposium. 2010 abstr#406.
- 6) Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res.* **69**: 1851–7, 2009.
- 7) Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al.: CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* **38**: 787–93, 2006.
- 8) Jover R, Nguyen TP, Perez-Carbonell L, et al.: 5-Fluorouracil adjuvant chemotherapy does not increase survival in patients with CpG island methylator phenotype colorectal cancer. *Gastroenterology.* **140**: 1174–81, 2011.
- 9) Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al.: Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.* **349**: 247–57, 2003.
- 10) Frattini M, Saletti P, Romagnani E, et al. PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients. *Br. J. Cancer.* **97**: 1139–45, 2007.

KIF20A と結合する RNA 結合蛋白質由来 ペプチドワクチンの新規膀胱がん治療への応用

谷内 恵介*

要旨 膀胱がんがきわめて予後不良である原因は、がん細胞の浸潤・転移能が高く、根治切除が行われたとしても術後の再発率が高いことである。したがって、膀胱がんの浸潤・転移機構の解明を行い、その研究成果を新規創薬に応用することが膀胱がんの予後改善には重要である。私達が以前報告した膀胱がん特異的腫瘍抗原 KIF20A¹⁾ は、膀胱がん細胞の増殖に関わるのみではなく、浸潤・転移にも関与することを示す知見を得た²⁾。すなわち、KIF20A は種々の RNA 結合蛋白質を含む RNA 顆粒を細胞浸潤・転移に必須の部位である Lamellipodium (葉状仮足) まで輸送することにより、がん細胞を浸潤・転移させていた。私達は、1つの KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質に着目し、ヒト膀胱がん組織を用いた免疫組織染色を行った結果、この RNA 結合蛋白質は、正常膀胱と正常重要臓器 (脳・肺・心臓・肝臓・腎臓・骨髄) において発現をほとんど認めず、膀胱がん組織の膀胱がん細胞において高発現していた。新規創薬へのアプローチの一つとして、KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質が KIF20A 同様に膀胱がん特異的腫瘍抗原である可能性を考え、RNA 結合蛋白質を標的としたペプチドワクチン療法の開発に向けたトランスレーショナル研究を行っている。本研究において、KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖ペプチド製剤の臨床研究に向けた標的分子の妥当性検討および長鎖ペプチドの免疫学的検討を行っている。

はじめに

がんペプチドワクチン製剤は従来の抗がん剤のような殺細胞型の薬剤とは異なり、ペプチド自体には薬理作用がなく、ペプチドが活性化するキラー T 細胞を介する免疫機構により抗腫瘍効果を発揮する。最近、膀胱がんを対象にしたペプチドワクチン療法の臨床試験が行われ、少数例では臨床的に明らかな治療効果を認める場合もあったが、プラセボ対照ランダム化第Ⅲ相臨床試験において全生存期間の有意な延長を達成することはできていない。なぜ効いたのか、また多くの症例ではなぜ効かないのか全く分かっていない。現在、国内で開発されているがんワクチンの大部分を占める短鎖ペプチドワクチンは、キラー T 細胞認識エピトープに相当する 9~10残基の短鎖合成ペプチドをワクチン抗原としており、ヘルパー T 細胞は活性化しない。最近実施された膀胱がんを対象にした KIF20A 抗原ペプチドワクチン療法の臨床試験においても短鎖ペプチドワクチンが用いられている³⁾。短鎖ペプチドワクチンでは、誘導される抗がん免疫の量や質が不十分で治療効果が乏しく⁴⁾、非免疫細胞等による不適切な抗原提示が起こり得るために、がんに対する免疫寛容を誘導してしまう危険性も指摘されている⁵⁾。担当個体の生体反応によるところもあるが、投与された短鎖ペプチドが、多くのがん症例に対して抗腫瘍効果を発揮できない可能性も考えられる。これに対して、長鎖ペプチドワクチン法が提案され注目されている⁵⁾。長鎖ペプチドワクチンは、キラー T 細胞とヘルパー T 細胞が認識

*高知大学医学部附属病院 光学医療診療部

するペプチド配列を含むようにデザインされた20~40残基の長いペプチドであり、キラーT細胞とヘルパーT細胞を同時刺激して良質ながん免疫応答を誘導できる⁶⁾。また、この長さのペプチドがキラーT細胞とヘルパーT細胞に提示されるためには、樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞の関与が必須であり、一般の体細胞などによる不適切な抗原提示と免疫寛容を回避できる⁷⁾。長鎖ペプチドワクチン法は短鎖ペプチドワクチンとは大きく異なる長所を有し、高い臨床有効性を発揮すると期待される。私達はKIF20A結合型RNA結合蛋白質由来の短鎖ペプチド製剤を進行膵がん患者に投与し、安全性と有効性を検討する医師主導第I相臨床試験を行う予定であった。しかし、最近行われたエルバモチドとOCV-C01由来の短鎖ペプチド製剤を用いた第III相臨床試験において、ともに全生存期間の有意な延長を達成することはできていない現状を踏まえ、短鎖ペプチドではなく長鎖ペプチドを用いた免疫学的介入臨床試験を実施する必要があると判断した。KIF20A結合型RNA結合蛋白質由来の長鎖ペプチド製剤の安全性と有効性を検討すると同時に網羅的分子解析を行い、なぜ効いたのか、またなぜ効かなかったのかを調べる予定である。本研究において、KIF20A結合型RNA結合蛋白質由来の長鎖ペプチド製剤が膵がん治療にとって適切な形態であるかを解析するトランスレーショナル研究を開始する。

方法および結果

1. KIF20A結合型RNA結合蛋白質が膵がんを対象としたペプチドワクチン療法の標的として適切かを検討

10例のヒト膵がん組織を用いて免疫組織染色を行った結果、KIF20A結合型RNA結合蛋白質は正常重要臓器（脳・肺・心臓・肝臓・腎臓・骨髄）と正常膵臓ではほとんど発現を認めず、10例の膵がん全症例で高発現していた（図1）。KIF20A結合型RNA結合蛋白質を膵がん細胞株からノックダウンすると、細胞形態が間葉細胞様から上皮細胞様に変化する（図2）。KIF20A結合型RNA結合蛋白質は、*in vitro*において膵がん細胞を浸潤・転移させていることを明らかにした（非公開データ）。*In vivo*実験において、KIF20A結合型RNA結合蛋白質は、膵がん細胞の肺・肝転移を亢進させていた（非公開データ）。KIF20AとKIF20A結合型RNA結合蛋白質は、膵がん細胞のLamellipodiumに集積し（図3）、Lamellipodiumのアクチンフィラメント重合を促進することにより、膵がん細胞の浸潤・転移に関わっていた（非公開データ）。膵がんは不均一ながん細胞集団であり、不均一な細胞亜集団はがん幹細胞、間葉系細胞形質を獲得し間質に浸潤する細胞、オートファジーを起こす細胞として知られる。これらの細胞亜集団は、母集団とは異なる遺伝子発現を示し、亜集団のみに発現する遺伝子産物は亜集団特異的抗原分子として免疫療法の標的になり得る。これらの亜集団細胞は、膵がん組織内に混在している。KIF20A結合型RNA結合蛋白質は、浸潤している膵がん細胞のLamellipodiumに特徴的な集積を示し、Lamellipodium内のアクチン重合を促進することにより細胞形態にも影響を及ぼす。したがって、KIF20A結合型RNA結合蛋白質はLamellipodiumが形成された浸潤・転移傾向の強い膵がん細胞亜集団の特異的抗原分子の可能性があり、KIF20A結合型RNA結合蛋白質

を標的とするペプチドワクチン療法は膵がんの浸潤・転移を抑制することにより効果を発揮する可能性が高い。

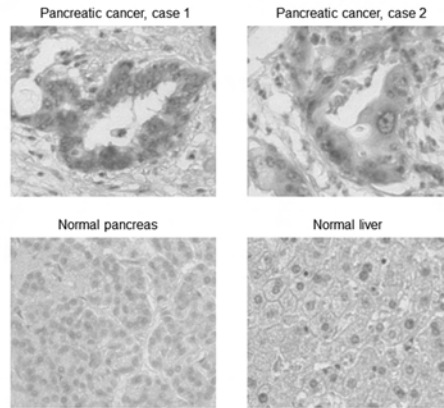


図1 KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質の病理組織学的発現解析

KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質は、進行膵がん組織の膵がん細胞において高発現しており、正常膵臓と正常肝臓における発現を認めなかった

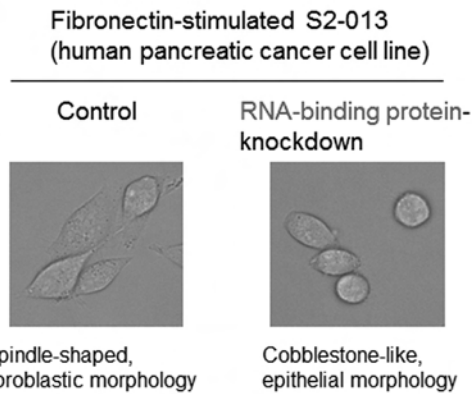


図2 KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質と膵がん細胞形態

KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質を膵がん細胞株 S2-013 からノックダウンすると、細胞形態が間葉細胞様から上皮細胞様に変化する

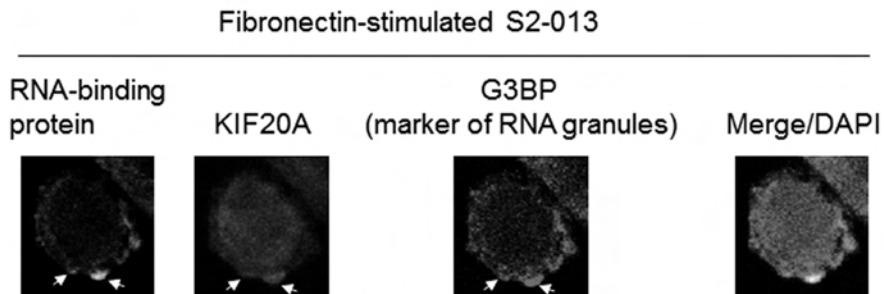


図3 KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質の Lamellipodium への集積

KIF20A と KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質は、RNA 顆粒マーカー G3BP とともに膵がん細胞株 S2-013 の Lamellipodium に集積する

2. KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来長鎖複合ペプチドの設計

短鎖ペプチドは、直接抗原提示細胞の HLA クラス I 上に提示されるが、長鎖ペプチドは抗原提示細胞に取り込まれてプロセッシングされ、HLA クラス I とクラス II 上に提示される。その結果、CD4+T 細胞のヘルパー作用で CD8+T 細胞は活性化 cytotoxic T lymphocyte (CTL) となる。KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質のエピトープペプチドのアミノ酸配列を延長し、細胞外で MHC クラス I 分子へ直接結合することを不可能にした 20-45 アミノ酸からなる長鎖ペプチドをデザインした (図 4)。両端の 5-15 アミノ酸程度を移動させながら N-末端から C-末端へと KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質の抗原蛋白全長を補うように設計したので、この長鎖ペプチドのプールは、キラー T 細胞とヘルパー T 細胞両者が認識するエピトープペプチドを含んでいる。現在実施中の *in vitro* での膀胱がん細胞株に対する細胞障害活性実験により、長鎖ペプチドプールの中から細胞障害活性のある KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖ペプチドを同定する。細胞障害活性を認めた長鎖ペプチドのみをカクテル化して、臨床試験に用いることのできる RNA 結合蛋白質由来の長鎖複合ペプチドを合成することができる。毒性試験としてマウスに対する一定量の単回投与による急性毒性試験により臓器毒性を調べる。

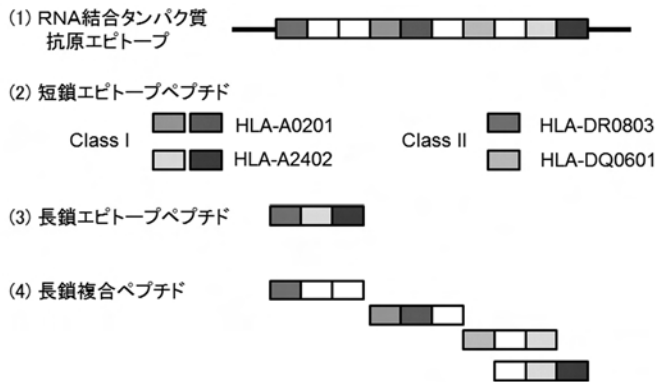


図 4 KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来長鎖複合ペプチドの設計

キラー T 細胞とヘルパー T 細胞両者の認識する KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質全長由来の短鎖エピトープペプチドをつなぎ合わせて長鎖ペプチドを合成し、それぞれの合成長鎖ペプチドを混合したものを免疫に用いる

考 察

KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖ペプチドを用いたペプチドワクチン臨床試験：

長鎖ペプチドワクチンの性能確認を実施した後、臨床応用を目指した臨床試験を開始する。臨床試験として、KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖複合ペプチド製剤を進行膀胱がん患者に投与し、安全性と有効性を検討する医師主導第 I 相臨床試験を行う予定である。そして、複数の長鎖ペプチドから成る KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖複合ペプチドを投与された膀胱がん患者における抗原特異的免疫反応の詳細な検討を行い、長鎖複合ペプチド製剤がキラー T 細胞とヘルパー T 細胞をともに刺激して良質ながん免疫応答を誘導できているかを

解析する。高知大学医学部附属病院の治験審査委員会の承認を得た説明文書を用いて、患者本人から文書による同意を得てから症例登録を行う。アジュバント（IFA）と混和した RNA 結合蛋白質由来長鎖複合ペプチド製剤（1.0mg/mL）を0.5, 1.0, 2.0mL/body の各容量段階5例をコホートとする事前登録方式の非対象用量漸増試験として実施する予定である（合計15症例）。投与方法は、週1回、4週間投与を1コースとし、4か月間投与を繰り返す。主要エンドポイントは安全性であり、副次エンドポイントは免疫反応、抗腫瘍効果の検討である。生存期間中央値（MST）を求め、高知大学医学部附属病院のベストサポーターケア進行膵がん症例のMSTと比較する。有害事象の発現頻度についてはグレードを考慮して算出する予定である。

おわりに

近年、がんワクチンの有効性を向上させる技術が強く求められている。私達はアジュバントを併用した KIF20A 結合型 RNA 結合蛋白質由来の長鎖複合ペプチドワクチン製剤の臨床応用を目指している。最近、ナノ粒子をデリバリーシステムに用いることで、抗原提示細胞への選択的なワクチン抗原輸送がなされ、ワクチンに対するアジュバントの効果が著しく増強することが報告されている。ワクチンの効果を増強するために、Toll 様受容体のアゴニストなどを免疫アジュバントとして併用することに加え、ナノ技術を取り入れることでがんワクチンの有効性を改善していく予定である。UMIN 臨床研究登録システムには、異なる標的タンパク質由来の短鎖ペプチドをカクテル化したがんペプチドワクチン療法の臨床試験が大腸がんをはじめとした消化器がんにおいて登録され、実施されている。これらの複数の蛋白質由来カクテル化短鎖ペプチドワクチン療法の大規模臨床試験結果が待たれる。私達は、有望な創薬標的である単一のがん抗原蛋白質の全長を補うように設計された長鎖ワクチンプールから免疫誘導できるものを選択してカクテル化した長鎖複合ワクチン製剤の臨床的な有効性を検討することにより、膵がんの新規治療法の開発に貢献していきたいと考えている。

文 献

- 1) Taniuchi K, Nakagawa H, Nakamura T, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Katagiri T, Nakamura Y: Down-regulation of RAB6KIFL/KIF20A, a kinesin involved with membrane trafficking of discs large homologue 5, can attenuate growth of pancreatic cancer cell. *Cancer Res* **65**: 105–12, 2005.
- 2) Taniuchi K, Furihata M, Saibara T: KIF20A-mediated RNA granule transport system promotes the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Neoplasia* 2014, in press.
- 3) Asahara S, Takeda K, Yamao K, Maguchi H, Yamaue H: Phase I/II clinical trial using HLA-A24-restricted peptide vaccine derived from KIF20A for patients with advanced pancreatic cancer. *J Transl Med* **11**: 291, 2013.
- 4) Arens R, Schoenberger SP: Plasticity in programming of effector and memory CD8 T-cell formation. *Immunol Rev* **235**: 190–205, 2010.

- 5) Melief JM, van der Burg SH: Immunotherapy of established (pre) malignant disease by synthetic long peptide vaccines. *Nat Rev Cancer* **8** : 351–60, 2008.
- 6) Tomita Y, Yuno A, Tsukamoto H, Senju S, Kuroda Y, Hirayama M, Irie A, Kawahara K, Yatsuda J, Hamada A, Jono H, Yoshida K, Tsunoda T, Kohrogi H, Yoshitake Y, Nakamura Y, Shinohara M, Nishimura Y: Identification of promiscuous KIF20A long peptides bearing both CD4+ and CD8+ T-cell epitopes: KIF20A-specific CD4+ T-cell immunity in patients with malignant tumor. *Clin Cancer Res* **19** : 4508–20, 2013.
- 7) Tomita Y, Nishimura Y: Long peptide-based cancer immunotherapy targeting tumor antigen-specific CD4+ and CD8+ T cells. *Oncoimmunology* **2** : e 2580, 2013.

末梢性 T 細胞リンパ腫に対する THP-COP-14 療法の拡大臨床第 II 相試験

富田 直人*

要旨 3週間毎の化学療法である CHOP 療法 (CHOP-21) は T 細胞性リンパ腫に対する標準的治療と考えられるが, PTCLs の CHOP-21 による予後は不良で 5 年生存率は 30% 程度とされる。Pirarubicin (THP-ADR) は doxorubicin と比較して細胞内への移行が速く, T-cell lymphoma cell line において doxorubicin より効果的に細胞内へ取り込まれ, 殺細胞効果が強いことが in vitro のデータで報告されている。そのため, CHOP-21 の doxorubicin を THP-ADR に変更した場合 (THP-COP-21), 少なくとも CHOP-21 と比較して臨床的に劣る可能性は低いと推定された。研究代表者らは THP-COP の治療強度を高めて 2 週間隔で治療を行う THP-COP-14 療法を計画し, 臨床第二相試験を施行して良好な結果を得たため, 同治療法を T 細胞性リンパ腫の標準治療とすべく, 拡大臨床第二相試験を計画した。

はじめに

末梢性 T 細胞リンパ腫, 非特異型 (PTCL, nos) は T 細胞性リンパ腫の約 30% を占め, 血管免疫芽球性リンパ腫 (AITL) は同じく約 20% を占める。両者はいずれも「節性 T 細胞リンパ腫」であり, 主にリンパ節が病変の主座とされている。T 細胞性リンパ腫の予後は B 細胞性よりも明らかに劣っており¹⁾, CHOP 療法 (CHOP-21) を主体とした治療での 5 年生存率は 20–30% とされている。B 細胞性リンパ腫に対する抗 CD20 抗体である Rituximab の臨床導入により約 3 分の 2 の症例に治癒が得られる状況であり, 近年 T 細胞性リンパ腫と B 細胞性リンパ腫の予後の差は開く一方となっている。

T 細胞性リンパ腫に対する現在の標準的治療は CHOP-21 であると考えられるが, PTCLs の CHOP-21 による予後は 5 年生存率 30% 程度と不良である。Pirarubicin (THP-ADR) は doxorubicin の 4'-O-置換体であり, 1970 年代に本邦で開発された薬剤である。THP-ADR は doxorubicin と比較して細胞内への移行が速く, T-cell lymphoma cell line において doxorubicin より効果的に細胞内へ取り込まれ, 殺細胞効果が強いことが in vitro のデータで報告されている²⁾。これらのことより, CHOP-21 の doxorubicin を THP-ADR に変更した場合 (THP-COP-21), 少なくとも CHOP-21 と比較して臨床的に劣る可能性は低いと推定された。また, 高齢者の末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCLs) における後方視的検討においては THP-COP-21 は CHOP-21 と比較して完全寛解率は 51% と勝っていたが, 生存率には両者で差が見られなかったことが報告されている³⁾。

このことより我々は THP-COP の治療強度を高めて 2 週間隔で治療を行う THP-COP-14 療

*横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科学

法を計画し、17例の PTCLs 症例と対象とした臨床第二相試験を終了している。その結果は奏功率94% (CR rate 88%), 3年無病生存率57%, 3年全生存率75%と PTCLs 症例に対する他の臨床試験結果と比較して極めて良好であった⁴⁾。我々はこれらの結果より、T細胞性リンパ腫に対する breakthrough を開発すべく、CHOP-21 vs THP-COP-14 の拡大臨床第二相試験を計画した。

方 法

平成26年5月～平成29年3月の期間に参加各施設で診断された PTCLs 症例対して THP-COP-14 療法と CHOP-21 療法の無作為化割付臨床第二相試験を実施する。病理診断は神奈川県リンパ腫病理研究会において複数の血液病理医による中央診断を行い、PTCLs に特徴的な各種分子マーカーについての免疫染色も併せて実施する。本無作為化臨床第二相試験によって THP-COP-14 の2年無増悪生存率60%以上が期待される。

1) 研究組織について

神奈川県リンパ腫病理研究会を本研究の母体とする。同研究会における年間悪性リンパ腫新規症例数は約700-800例と考えられる。

2) 対象症例について

神奈川県リンパ腫病理研究会各施設において PTCLs (PTCL, nos 又は AITL 又は ALK 陰性 ALCL) と診断された患者のうち、15歳～70歳の症例につき、十分な informed consent を得た上で本臨床試験に登録を行う。

3) 症例登録期間

2015年4月～2017年3月の3年間

4) 目標症例数

40例

5) 登録症例数について

本試験は、「THP-COP-14」の有効性を比較検討する臨床第二相試験である。閾値2年無増悪生存率と期待2年無増悪生存率を設定し、十分な精度で実施することを目標とする。症例集積期間を3年、追跡期間を2年と設定する。PTCLs に対する2年無増悪生存率は30%程度と報告されており¹⁾、閾値2年無増悪生存率を30%と設定する。また、既に終了した THP-COP-14 の第二相試験⁴⁾ (n=17) における2年無増悪生存率は68%であったため、期待2年無増悪生存率を60%とした場合、片側検定における α エラー5%のもとで、必要症例数17例とすると検出力90%を確保できる。若干の解析除外例を考慮して各群20例を目標症例数とする。

6) 試験治療について

CHOP 療法の doxorubicin を THP-ADR に変更の上、治療サイクルを2週毎とした「THP-COP-14」療法または「CHOP-21」療法を6コース施行する。化学療法中あるいはその後の観察期間中に明らかな病勢増悪 (Progressive Disease; PD) となった時点で他の治療を加えることを許容する。

A 群 (THP-COP-14)	下記を14日毎に施行, 合計 6 コース。	
THP-ADR	50mg/m ²	day 1
Cyclophosphamide	750mg/m ²	day 1
Vincristine	1.4mg/m ² (max 2.0mg/body)	day 1
Prednisolone	100mg/body	day 1-5
B 群 (CHOP-21)	下記を21日毎に施行, 合計 6 コース。	
Doxorubicin	50mg/m ²	day 1
Cyclophosphamide	750mg/m ²	day 1
Vincristine	1.4mg/m ² (max 2.0mg/body)	day 1
Prednisolone	100mg/body	day 1-5

7) End-point について

本臨床試験の primary end point は 2 年無増悪生存率, secondary end point は完全寛解率および全生存期間とする。

8) 病理学的 review について

本試験の登録症例においては, 診断時に参加各施設で施行された病理検体のプレパラート又はブロックを全症例の登録終了後に回収し, 神奈川県リンパ腫病理研究会において病理学的 review を受ける。臨床試験の生存解析は病理学的的確症例について施行する。

9) 登録センター

横浜市立大学附属病院において FAX にて症例登録を行う。登録センターでは乱数表を用いて直ちに両群への割付を行い, 担当主治医への連絡を行う。

経 過

本臨床研究は2014年1月に登録開始予定であったが, 参加予定施設の変更, および試験内容に関する討議, 調整に時間を要したため, 2015年4月に登録開始予定と開始時期の変更を余儀なくされている。参加予定施設は神奈川県下の4大学病院およびその関連施設, また神奈川県リンパ腫病理研究会の各施設であり, 登録開始後は3年間での目標症例数到達は十分に可能と考えられる。

お わ り に

本試験に御理解をいただき多大な御支援をいただきましたがん集学的治療研究財団の皆様にお礼申し上げますとともに, 試験開始時期の遅滞につきお詫び申し上げます。

文 献

- 1) Tomita N, Motomura S, Hyo R, et al. Comparison of Peripheral T-cell Lymphomas and Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Cancer* **109** : 1146 - 51, 2007.
- 2) Sato Y, Yamazaki K, Yasukawa K, et al. Cellular Uptake and Cytostatic Activity of Pirarubicin (THP) in T-Lymphoma Cells. *J New Remedies & Clinics* **48** : 71 - 8, 1999.

- 3) Mori M, Kitamura K, Masuda M, et al. Long-term results of a multicenter randomized, comparative trial of modified CHOP versus THP-COP versus THP-COPE regimens in elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Hematol* **81** : 246-54, 2005.
- 4) Tomita N, Kodama F, Tsuyama N, et al. Biweekly THP-COP therapy for newly diagnosed peripheral T-cell lymphoma. *Hematol Oncol* (in press).

難治性造血器悪性腫瘍に対する HLA 半合致同種造血幹細胞移植

中前 博久*

要旨 同種造血幹細胞移植が適応となる、予後不良の白血病および骨髄異形成症候群患者において、HLA 一致の血縁者同胞ドナーが見つかる可能性は本邦では少子化の影響もあり高くない。さらに、骨髄バンクドナーからの移植も、病状の悪化などから移植にたどり着けない患者も少なくないのが現状である。このような症例において、代替造血幹細胞移植ソースおよび移植法として、移植後大量シクロフォスファミドを用いた血縁 HLA 半合致移植法への期待が高まっている。この移植法の利点は、1) 経費がかかる複雑な T 細胞除去操作を必要とせず、2) 約90%と高率にドナーが見つかり、血縁 HLA 半合致移植法一般に言えることでもあるが、3) 疾患の憎悪時にドナーからの細胞療法が行いやすい、などの利点を有する。本研究を通じて、この移植方法をさらに発展、安定的なものにすることで、悪性血液腫瘍患者に移植の機会を増やし、救済につながることを期待できる。

はじめに

同種造血幹細胞移植の適応となる治療抵抗性の白血病および骨髄異形成症候群の症例で、血縁、非血縁 HLA 一致の適切なドナーがいない症例において、造血幹細胞の代替造血幹細胞源として、血縁 HLA 半合致ドナーや非血縁臍帯血での代替移植法の可能性が世界的に模索されてきた¹⁾⁻⁶⁾。一部の HLA 一致の臍帯血移植を除けば、これらの移植は HLA 不一致の移植となる。そのため、特に血縁 HLA 半合致ドナーにおいて、従来の HLA 一致ドナーからの移植と比較した場合に、移植片対白血病 (graft-versus-leukemia effects; GVL effects) が強い可能性を示唆する報告がある¹⁾²⁾。一方で、HLA 不一致移植では移植片の拒絶率の高さや、特に血縁 HLA 半合致移植においては、重症の移植片対白血病 graft-versus-host disease (GVHD) の発症率が高いことが懸念されてきた⁷⁾。

近年、ボルチモアのグループから、マウスの主要組織適合抗原 (MHC) 不一致移植モデルにおいて、移植時には免疫抑制剤を投与せずに移植して、同種抗原刺激によって、宿主およびドナーの同種反応性 T 細胞を増殖反応させて、移植後の72時間という限られた時期にシクロフォスファミド200mg/kg を腹腔内に投与することで、これらの同種反応性 T 細胞を選択的に除去できることを報告した⁸⁾。この結果、拒絶方向および、GVHD 方向の双方向の免疫寛容が誘導できることが分かった。一方、感染症制御や抗腫瘍効果に大きな役割を果たす T 細胞は、移植時に同種抗原刺激による反応はなく、反応増殖しないためシクロフォスファミドに感受性は低く、保持される。したがって、その後の移植後感染症や腫瘍などに対する移植後免疫

* 大阪市立大学大学院医学研究科 血液腫瘍制御学

は維持できるとされている（図1）。

また、移植されたドナー造血幹細胞はアルデヒド脱水素酵素の発現が高いため、他の分化した細胞の比べ、シクロフォスファミドを分解する能力が高く、シクロフォスファミドによって有意な障害を受けないことが分かっている。

欧米での臨床研究としては、2008年にボルチモアとシアトルのグループの共同研究によって、かなり強度の弱い骨髄非破壊の前処置による移植後大量シクロフォスファミドを用いた血縁HLA半合致移植の成績が報告された⁹⁾。本研究では、急性GVHDは低率であったが、再発率の高さが克服課題として残った。

当科では本邦で他施設に先駆けて、2009年より移植後大量シクロフォスファミドを用いた血縁HLA半合致移植を行っている。上記の背景から、当科では、高い再発率の克服のため、1) 移植前処置の強化、2) 幹細胞源はすべて末梢幹細胞を使用、3) 移植後シクロフォスファミドの減量などの独自の改良を行ってきた。

当科における前向き第Ⅱ相のパイロット試験（OCU9-1（承認番号1559））によって、血縁HLA半合致移植に末梢血幹細胞を用いることによって、十分に生着が担保できることを確認した。さらに、至適用量の移植後のエンドキサン大量療法を用いることによって、GVHDの発症率、重症度も許容範囲コントロールしうることも分かった。しかしながら、当科のパイロット試験では、移植時に血液学的な非寛解症例の移植後の生存率は芳しくなかった。さらに、前処置に骨髄破壊の前処置量のブスルファンを用いた場合は、BKウイルスによる出血性膀胱炎が高率に発症した。

このような背景から今回の研究では、これらのパイロット試験の結果をもとに前処置からATG（anti-thymoglobulin）および、ブスルファンを削除して改良を加えた。さらに、近年、急性白血病において、同種造血細胞移植後に微小残留病変（MRD）を評価して、早期にドナーリンパ球輸注を行うことが予後の改善につながるが示されており¹⁰⁾、再発例に対する移植後のドナーリンパ球輸注療法を組み入れて、血縁HLA半合致同種末梢血幹細胞移植の第2相試験を行い、その安全性や疾患に対する有効性を検討する。

対象と方法

試験デザイン

単施設第Ⅱ相臨床試験

目標症例数：計52例

評価項目及びその基準

主要評価項目

移植後100日での生着生存割合

副次的評価項目

1) 移植後1年での全生存率および、再発率

- 2) 移植後 1 年での非再発死亡率
- 3) 一次性生着不全, 二次性生着不全率
- 4) 造血回復までの期間, 完全キメラ達成までの期間
- 5) 急性及び慢性 GVHD の頻度, 重症度
- 6) 治療関連毒性
- 7) 細菌・真菌・ウイルス感染症の発症割合
- 8) 免疫再構築

研究の概要

13. 研究予定期間

症例集積期間：承認後～2018年6月30日

症例追跡期間：承認後～2019年6月30日

総研究期間：6年

移植方法の概略

移植前処置：リン酸フルダラビン（ $15\text{mg}/\text{m}^2 \times 2$ 回/日を2日間と $30\text{mg}/\text{m}^2 \times 1$ 回/日を4日間）、シタラビン（ $2\text{g}/\text{m}^2 \times 2$ 回/日を2日間）、メルファラン（ $100\text{mg}/\text{m}^2$ を1日間）を用いる（図2）。シクロフォスファミドは移植後 day 3, 4 に $25\text{mg}/\text{kg}$, 計 $50\text{mg}/\text{kg}$ 投与（図1）

移植ソース：全例で G-CSF（granulocyte-colony stimulating factor）で採取した末梢血幹細胞を用いる。

急性 GVHD 予防：免疫抑制剤はタクロリムス（ $0.03\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ ）と MMF $3\text{g}/\text{day}$ （ $1000\text{mg} \times 3$ 回/日で開始）を移植後5日目より開始する。

		-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4
Fludarabine*	$15\text{mg}/\text{m}^2 \times 2$	↓↓	↓↓											
Ara-C	$2\text{g}/\text{m}^2 \times 2$	↓↓	↓↓											
Fludarabine	$30\text{mg}/\text{m}^2$			↓	↓	↓	↓							
Melphalan	$100\text{mg}/\text{m}^2$							↓						
Cy	$25\text{mg}/\text{kg}$												↓	↓
										↓				
										PBSCT				

*fludarabine は Ara-C の 4 時間に投与、Cy: cyclophosphamide、PBSCT:末梢血幹細胞移植

図1 移植前処置：FA-FMeI

移植後のドナーリンパ球輸注について

Multi-color フローサイトメータおよび、定量PCRによる転座遺伝子転写産物やWT1 mRNA など分子マーカーを用いてMRDを移植後に定期的にフォローして、MRDが陽性化した場合は、免疫抑制剤中止後にグレードⅡ以上のGVHDが発症しないことを確認したのち、移植のドナーよりリンパ球輸注をdose-escalation法で行う計画である。

成 績

本研究は研究課題名「難治性造血器悪性腫瘍に対するHLA半合致同種造血幹細胞移植」として大阪市立大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を受けている（承認番号2571）。倫理委員会承認後より、平成26年11月の時点での登録数は14例である。年齢の中央値は46歳（範囲17-61）、性別は男性7例、女性7例、疾患の内訳は、急性骨髄性白血病6例、急性リンパ性白血病6例、骨髄異形成症候群1例、慢性骨髄性白血病1例であった。また、移植時非寛解例8例、寛解は6例で、半数以上が非寛解例であった。

本試験で対象となる患者は、疾患状態が悪い症例が多く、移植後早期の原疾患の進行・再発による死亡の可能性が高いことが予想される。よって、本試験での安全性に関しては、生着不全および、移植後100日までの早期死亡（原疾患の進行・再燃による死亡を除く）が、累積可能症例中における発生頻度の2項分布に基づく信頼区間の下限が20%以上となった場合には本試験を一旦中止することとしている。現時点では、生着不全および、移植後100日までの早期死亡は、評価可能症例12例で2次生着不全例1例であり、信頼区間の下限はおよそ7.3%であり、本試験の継続は可能と判断している。

考 按

欧米での臨床研究としては、前述したように2008年にボルチモアとシアトルのグループの共同研究が報告されている。我々と異なり、重度のGVHD発症を懸念して、幹細胞源には骨髄が用いられており、移植後大量シクロフォスファミドは、シアトルのグループは3日目および、4日目に計100mg/kg、ボルチモアグループは3日目に計50mg/kgの投与が行われている。急性GVHDの累積発症率はグレードⅡ-Ⅳが34%であり、通常のHLA一致の移植レベルの発症率で、非常にコントロールが良好あると言える。このため、1年の非再発死亡率は15%と良好であった。しかしながら、再発率が51%と高く、高い再発率の克服が課題として残ったといえる結果であった。

この報告から、特に移植時非寛解例などの予後不良の血液悪性疾患では、高い再発率の克服のために、移植前処置の強化が必要と考えられた。本研究でも移植前処置の強化を行っているが、我々と同様にアトランタのグループからも末梢造血幹細胞を用い、かつ移植前処置の強化した血縁HLA半合致移植の報告があり、結果としては生着率は問題なく良好で、末梢造血幹細胞を用いた場合には含まれるリンパ球の量が骨髄に比べて多いため、GVHDの発症率が高くなる懸念があるが、急性GVHDの発症率も許容範囲であったことが示されている¹¹⁾。

今後、症例を蓄積して、移植後大量シクロフォスファミドを用いた血縁HLA半合致移植に

において、骨髄前処置強度や造血幹細胞源が骨髄と末梢血の場合で、移植予後にどのような影響を与えるかを評価していく必要があると考えている。

おわりに

本研究は近年の高度かつ高価な分子標的治療などとは異なり、古くから使われてきた薬剤である、シクロフォスファミドを見直すことで、従来の同種造血細胞移植法とは全く異なった移植戦略を可能にした画期的な移植方法と考えます。この成果は、約50年も移植後の免疫抑制剤としてのシクロフォスファミドの開発を諦めることなく行ってきた研究者たちの弛まぬ努力の上に成り立っていると考えます。シクロフォスファミドそのものよりも、この移植法から見えてきた新しい同種造血細胞移植のメカニズムが、今後進展していくことを心より期待しています。

謝 辞

本研究にご支援賜りました公益財団法人がん集学的治療研究財団の関係者皆様に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Burroughs LM, O'Donnell PV, Sandmaier BM, et al. Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; **14**(11) : 1279–87.
- 2) Kanda Y, Chiba S, Hirai H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991–2000). *Blood*. 2003 ; **102**(4) : 1541–7.
- 3) Lu DP, Dong L, Wu T, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood*. 2006; **107**(8) : 3065–73.
- 4) Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation : a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol*. 2005 ; **23**(15) : 3447–54.
- 5) Atsuta Y, Suzuki R, Nagamura-Inoue T, et al; Japan Cord Blood Bank Network. Disease-specific analyses of unrelated cord blood transplantation compared with unrelated bone marrow transplantation in adult patients with acute leukemia. *Blood*. 2009 Feb 19 ; **113**(8) : 1631–8.
- 6) Takahashi S, Ooi J, Tomonari A, et al. Comparative single-institute analysis of cord blood transplantation from unrelated donors with bone marrow or peripheral blood

- stem-cell transplants from related donors in adult patients with hematologic malignancies after myeloablative conditioning regimen. *Blood*. 2007 Feb 1 ; **109**(3) : 1322 – 30.
- 7) Powles RL, Morgenstern GR, Kay HE, et al. Mismatched family donors for bone-marrow transplantation as treatment for acute leukaemia. *Lancet*. 1983 19 ; **1**(8325) : 612 – 5.
- 8) Luznik L, Jalla S, Engstrom LW, Iannone R, Fuchs EJ. Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood*. 2001 Dec 1 ; **98**(12) : 3456 – 64.
- 9) Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, Chen AR, Leffell MS, Zahurak M, Gooley TA, Piantadosi S, Kaup M, Ambinder RF, Huff CA, Matsui W, Bolaños-Meade J, Borrello I, Powell JD, Harrington E, Warnock S, Flowers M, Brodsky RA, Sandmaier BM, Storb RF, Jones RJ, Fuchs EJ. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Jun ; **14**(6) : 641 – 50.
- 10) Dominietto A, Pozzi S, Miglino M, Albarracin F, Piaggio G, Bertolotti F, Grasso R, Zupo S, Raiola AM, Gobbi M, Frassoni F, Bacigalupo A. Donor lymphocyte infusions for the treatment of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood*. 2007 Jun 1 ; **109**(11) : 5063 – 4.
- 11) Solomon SR, Sizemore CA, Sanacore M, Zhang X, Brown S, Holland HK, Morris LE, Bashey A. Haploidentical Transplantation Using T Cell Replete Peripheral Blood Stem Cells and Myeloablative Conditioning in Patients with High-Risk Hematologic Malignancies Who Lack Conventional Donors is Well Tolerated and Produces Excellent Relapse-Free Survival: Results of a Prospective Phase II Trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 ; **18**(12) : 1859 – 66.

骨髓異形成症候群に対する早期エリスロポエチン介入の 輸血依存性に対する影響を検討する臨床試験

南谷 泰仁*

要旨 骨髓異形成症候群 (MDS) の治療オプションは複数存在し、その優劣はわかっていない。本研究では、MDS の特性を探索する事で最適な治療を選択することが可能となることを目指した。そのために具体的には以下の4つの研究を行った。① MDS 患者の EPO 値を測定し、貧血が高度になるほど EPO 値が上昇するという相関があることを示した。② 現在行われているものより早期に EPO を投与することで輸血総量の減少がみこめるかという臨床研究を立案した。③ 様々な MDS 症例の遺伝子発現プロファイルを解析し、赤血球造血に関する遺伝子の発現が MDS の進展に伴い増加しさらに進展すると減少に転じることを示し、EPO 不応性メカニズムが遺伝子レベルで生じていることを示した。④ DNA メチル化阻害剤であるアザシチジンの治療に不応性となった症例のゲノムを解析し、アザシチジン不応性に関連する遺伝子変異を探索しその候補を同定した。

はじめに

骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome : MDS) は、造血不全と急性白血病への進展を特徴とする症候群である。MDS の病態・症状は非常に多彩であるために、MDS の診療は個々の症例に対して治療の目的を設定して進める必要がある。MDS の臨床経過は、造血不全によって貧血・出血・感染などの症状を呈し QOL の低下が問題となる低リスク群と、急性白血病へ進展する割合が高く生命予後が低下する高リスク群に大別される。このうち、高リスク群に対しては造血幹細胞移植もしくはその適応がなければ DNA メチル化阻害剤をもちいるというアルゴリズムがほぼ確立している。一方、低リスク群に対する治療は非常に複雑である (図1)¹⁾。さらに治療オプション間の優先順位に関しては高いレベルのエビデンスがなく、単群第二相試験で検討された奏功因子に基づいてアルゴリズムが決定されている。さらに、低リスク MDS に対する治療オプションは、殺細胞薬のような増殖の速い細胞一般に作用するものとは異なり特徴的な作用点を有する。これらのことを考え合わせると、各治療の作用特性に応じた因子を探索して、それらの因子の有無によって治療選択を行う事が重要である。本研究では、そのような因子の探索を試みた。

* 東京大学医学部附属病院 血液腫瘍内科

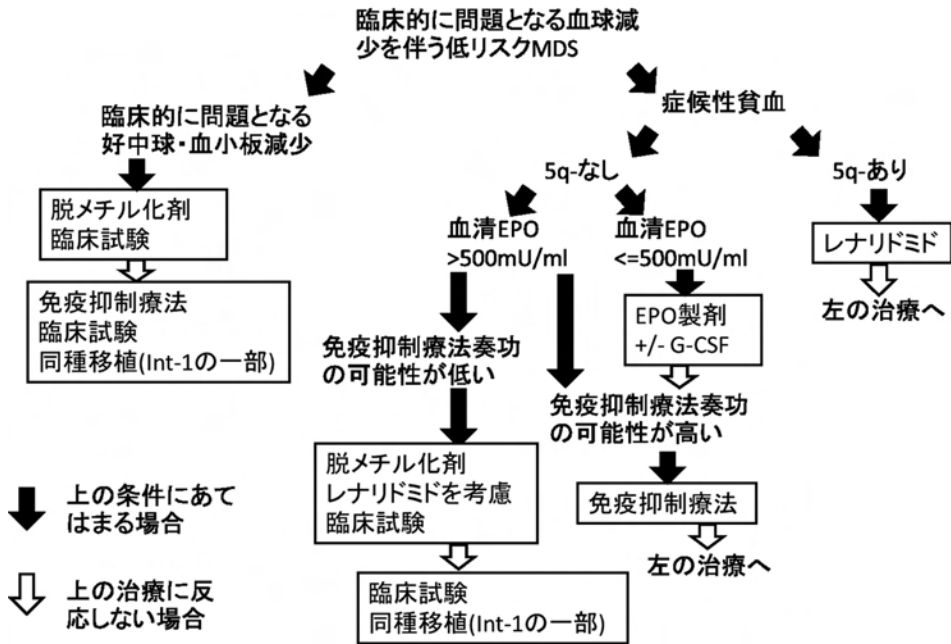


図1 NCCN が提唱する低リスク MDS の治療アルゴリズム

I. MDS における造血不全とエリスロポエチン

低リスク MDS のうち、貧血が主体となっている患者に対する対応は支持療法として輸血が基本となる。しかし輸血は鉄過剰による心不全・肝障害・易感染性が問題となるため、造血を促進する治療法の開発が必要となる。現在治療オプションとなるのがレナリドミド、エリスロポエチン (EPO) 製剤、免疫抑制剤、アザシチジンである。レナリドミドが対象となる第5染色体長腕が欠失した MDS は日本では少なく恩恵を受ける患者は少ない。EPO は赤血球系の分化増殖因子であり、腎臓で生成されるために腎不全に伴い EPO の産生が低下すると貧血となるため (腎性貧血)、EPO 製剤はこの病態に対して使用可能である。しかし、MDS における貧血に対して改善効果を有するため治験が行われ、まもなく使用可能となる見込みである。

II. MDS における EPO 値の検討 (先行研究)

MDS における EPO 製剤の奏功には、輸血歴が少ないこと、血清 EPO 値が低値 (500U/L 未満) である事が相関する²⁾。しかし、この EPO 値の条件を満たす患者が本邦の MDS の患者のうちどれほど存在するのか、というデータは存在しない。そこで当院に通院中の低リスク MDS の症例 (International Prognostic Scoring System: low または intermediate -1) のうち、Hb 値 9 g/dL 未満の症例20例を対象として、血清 EPO 値を測定した。血清 EPO 濃度は SRL 株式会社にて測定した³⁾。EPO 値は IPSS の low 群と比べて Int-1 群で有意に高値であった (p<0.05)。また、輸血歴の多い患者の方が高値であった (p<0.05)。性別、骨髄芽球の割合や染色体核型によるリスク、WPSS 指標との相関は認めなかった (図2)。輸血非依存例

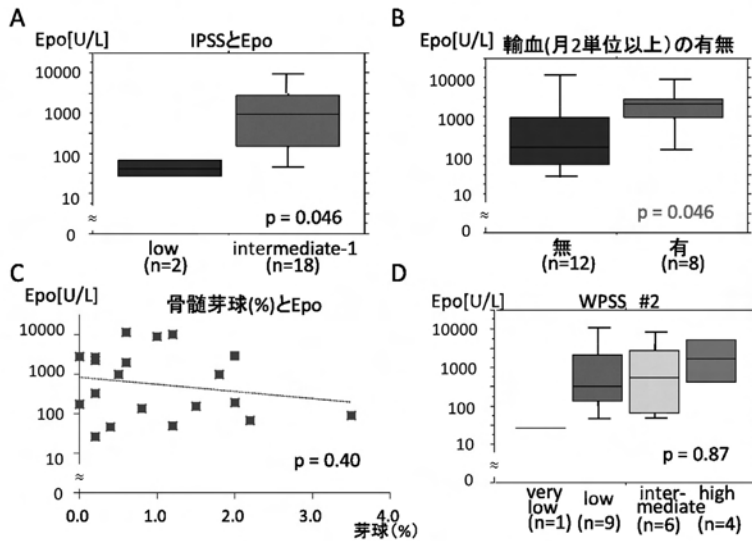
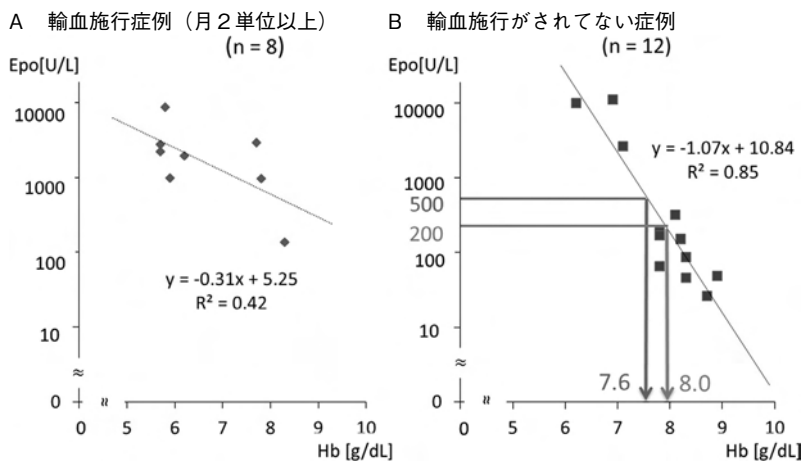


図2 低リスクMDSにおけるEPO値の検討

- A) IPSS リスクによるEPO値 B) 輸血依存性によるEPO値
C) 骨髓芽球割合とEPO値の相関 D) IPSS リスクによるEPO値

では、EPO値とHbの間に負の相関を認めた ($R^2=0.85$)。20例中、 $EPO < 500 \text{ U/L}$ は10例、 $EPO < 200 \text{ U/L}$ は9例が該当した。輸血非依存の12例を対象とした回帰直線では、 $EPO = 500 \text{ U/L}$ は $Hb = 7.6 \text{ g/dL}$ 、 $EPO = 200 \text{ U/L}$ は $Hb = 8.0 \text{ g/dL}$ に相当した (図3)。日本の輸血開始時のHb値は6~7 g/dLでありこの値は海外より低い、相当するEPO値は500U/L以上を示すことを考えると、本邦の基準で輸血を開始する症例はEPO製剤の効果が期待出来ないことが示唆される。そのため、輸血を施行されていない症例も含め、早期のEPO製剤の適応が今後の検討課題であると考えられた。



輸血施行がない症例では、Hb値が下がる、EPOの対数値が負の一次相関で上昇する

図3 MDSにおけるHb値とEPO値の相関

- A) 輸血依存症例 B) 輸血非依存症例

Ⅲ. 低リスク MDS に対する早期 EPO 製剤の使用を検討する臨床試験

上記の結果は、輸血の開始を待って EPO 製剤を使用するという治療戦略では EPO の有効性を得られない場合が多いことを示す。そこで MDS に対して早期に (Hb 8~9 g/dL の段階で) EPO 製剤を開始することで、輸血総量を減らすことが出来るのではないかと仮説を立て、臨床研究を計画した (図 4)。試験デザインはランダム化第二相とし、primary endpoint は割り付け後 1 年間の輸血総量の比較である。当初、持続型 EPO 製剤であるダルベポエチンが保険収載され、試験に使用できることが見込まれていたが、保険承認が遅れたため、この臨床研究は実施に移すことが出来なかった。この試験では secondary endpoint として、他の系統の血球減少や急性白血病への移行率を検討することを計画した。これは、「MDS において早期に ESA 製剤を開始することで、MDS の自然史を変化させることが出来るか」という作業仮説を検討するものであり、その効果の有無は全く検証されていない。



図 4 低リスク MDS に対する早期 EPO 製剤の使用を検討する臨床試験のデザイン

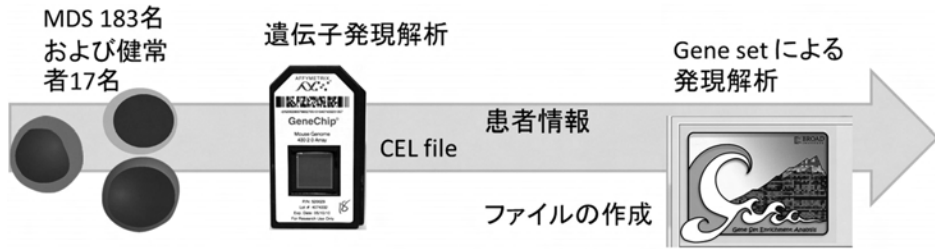
Ⅳ. EPO 下流遺伝子の発現解析

1. 背景

MDS において、EPO が高値であるにもかかわらず赤血球造血が阻害されていることが明らかとなったが、その機序はわかっていない。それを解明することは、EPO 製剤不応性や、有効例が無効化する事に対する原因の究明につながると考え、EPO 下流遺伝子の発現や変異の探索を行った。

2. 方法

遺伝子セットは NCBI の GEO database に登録されているデータセット “GSE19429” をもちいた。これは 183 名の MDS 患者と 17 名の健常人の骨髓血から、造血前駆細胞に相当する分画 (CD34+ をマーカーとしてソートした) を選別して、RNA を抽出して Affymetrix 社 GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 arrays にて発現解析を行ったものである⁴⁾。インターネット上に公開されている生のアレイデータ (CEL ファイル) と患者の疾患情報を取得し、WHO 分類に基づいて患者を低リスク群 (refractory anemia: RA, refractory anemia with ring sideroblasts: RARS)、高リスク群 (refractory anemia with excess of blasts: RAEB1, RAEB2) と識別し、これらを合わせて MDS のリスク毎の遺伝子発現の特徴を解析した。アレイ解析は R version 3.1.0 (<http://www.r-project.org/index.html>) および gene set enrichment analysis: GSEA (<http://www.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>) をもちいて行った (図 5)。



MDS 183名を、低リスク：MDS (RA/RARS) と高リスク：MDS (RAEB) に便宜上分けた。全登録遺伝子セットから、赤血球造血に関与すると思われる遺伝子セットを抽出した。

図5 MDS における赤芽球系遺伝子発現 ～解析の流れ～

3. 結果

GSEA では、特性に基づいて遺伝子セットをまとめた curated gene set を使用することで、病態による遺伝子発現の特徴を、ある遺伝子セットに含まれる複数の遺伝子の発現の傾向から判別することが出来る。本解析のために、赤血球造血に関係のある遺伝子セットを選択した。低リスク MDS は高リスク MDS と比べて赤血球造血に関与する遺伝子の発現は亢進していた。一方、同様の解析を健常者との比較においても行ったが、予想に反して低リスク MDS の方が健常者と比較して赤血球造血関連遺伝子の発現は高い傾向が見られた (図6)。

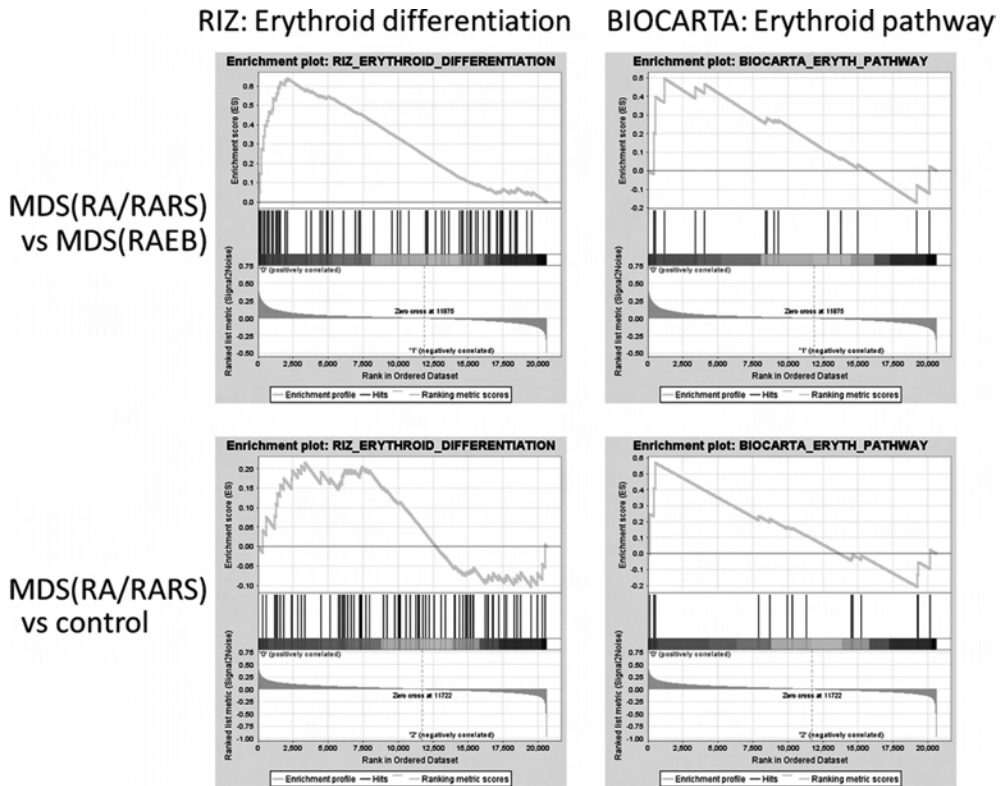
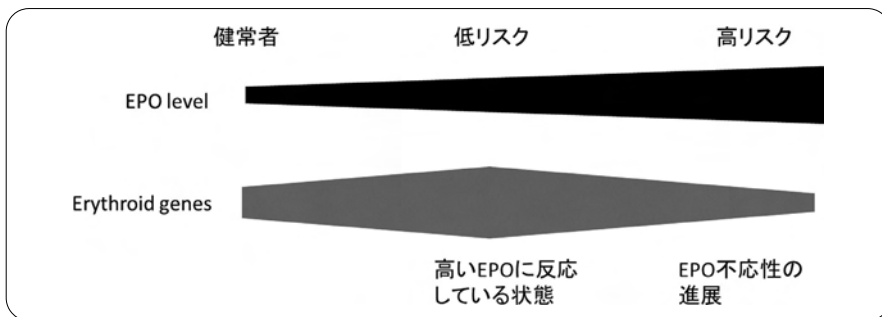


図6 MDS のタイプによる遺伝子セットの発現解析例

4. 考察

前検討で明らかになったように、MDSにおいて貧血の進行に対して血清 EPO 値の上昇がみられる。これは腎臓による貧血への代償機構は働いているものの、血球細胞が EPO に反応できていないことを示している。MDS の RA/RARS の段階では、EPO に反応して赤血球造血を司る遺伝子の発現は増加している。しかし、RAEB の段階に進展すると、EPO が高値であるにもかかわらず赤血球造血関連遺伝子の発現は減弱する。すなわち、すなわち MDS の貧血の進行は、「EPO 不応性メカニズムの進展」という側面を有する事がわかった (図7)。これには MDS において EPO シグナルの抑制機構が働いている可能性がある。ただし、RAEB に進展した場合には、骨髓球系の増加がみられるため赤芽球系前駆細胞が相対的に減少している可能性が考えられる。そのため、赤芽球系前駆細胞において同様の検討を行うことが望ましい。本解析の限界点として、EPO 下流のシグナル蛋白の活性化を検討することまでは出来なかった。また、この実験で検査した細胞は造血前駆細胞 (CD34+) であり、赤血球系前駆細胞への分化の減少という機序を否定できていない点である。



MDS の貧血の進行…EPO 不応性メカニズムの進展という側面を持つ
そのメカニズムを解明することは、EPO 製剤不応性や、有効例が無効化する事に対する原因の究明につながる。

図7 MDS の進展と赤血球造血遺伝子発現に関する考察

V. DNA メチル化阻害剤の不応性に関する遺伝子変異の探索

1. 背景

さらに我々は MDS に対してよくもちいられる治療として、DNA メチル化阻害剤であるアザシチジンの作用機序に関与する遺伝子についての検討を行った。今回は特に、アザシチジン不応性メカニズムに注目した。なぜならば DNA メチル化阻害剤の有効性は約 1 年とされており、一旦奏功した場合でも多くの場合不応性となるからである。

2. 方法

具体的には、我々が経験した患者から、アザシチジン治療が奏効した後に再燃した (アザシチジンによる治療で PR 以上もしくは SD+HI が得られたものの、再燃を認めた) 4 症例を対象として、治療前とアザシチジン治療後不応性となったときの腫瘍細胞のゲノムを抽出し、比較を行った。再燃時の遺伝子変異を調べ、診断時と比較することで、MDS の原因となる遺伝子ではなく、アザシチジン治療不応性に関与する遺伝子を調べることができる。Ion Proton (Life

technologies©)をもちいて Whole exome sequence を行い、Ion PGMにて deep sequencing を行った (図8)。

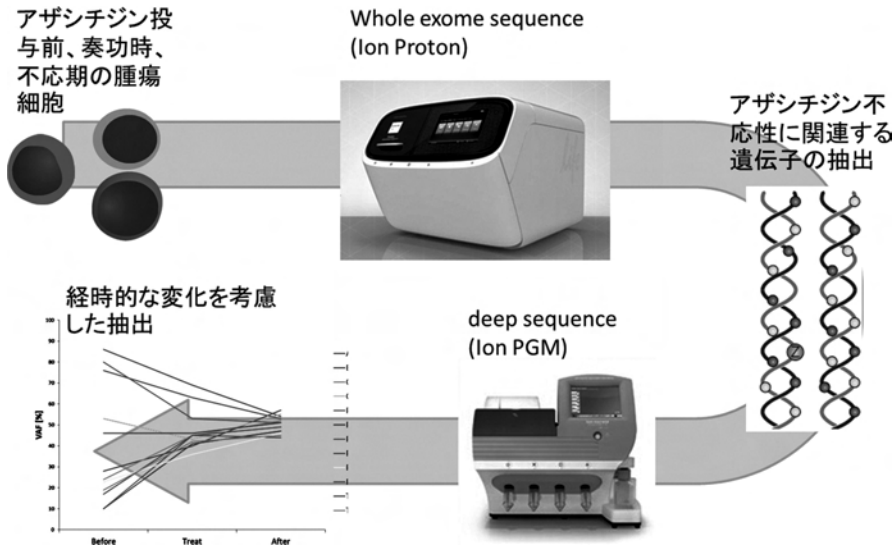


図8 アザシチジン不応性遺伝子の探索 ～実験の流れ～

3. 結果

アザシチジン治療再発時のみ見つかった397遺伝子(456箇所)の変異を、SNPsによる選別除去をおこない、遺伝子の機能や配列に基づいて28遺伝子に絞り込みを行った。これらの遺伝子はIon PGMをもちいてDeep Sequencingを行い、確認を行った。その結果、7つの遺伝子が抽出された。これらの遺伝子異常は、MDSにおいて見られるものではないため、MDSの発症に関与する遺伝子ではなく、アザシチジンの耐性に関与する遺伝子である事が示唆された(図9)。

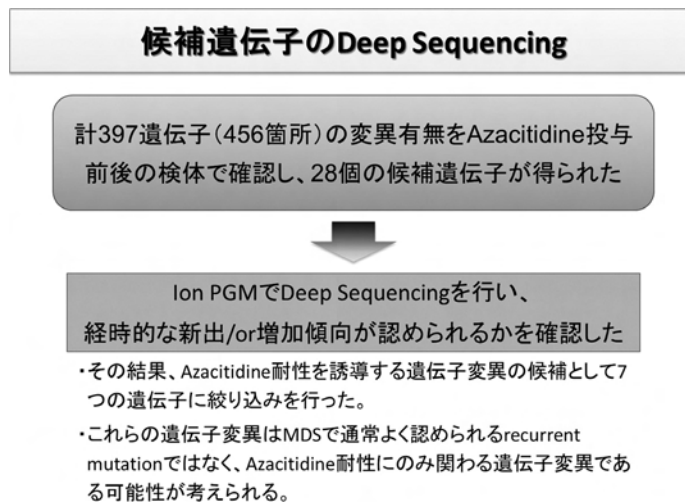


図9 アザシチジン不応性遺伝子の候補遺伝子の絞り込み

4. 考察

現在、これらの候補遺伝子のクローニングおよび shRNA construct の作成を進めており、in vitro で骨髄系腫瘍の細胞株を用いた過剰発現の系や機能抑制の系でのアザシチジン耐性化有無を確認している。その結果アザシチジンへの耐性に関与していることが確認出来れば、分子学的な耐性化機序を検討し、治療標的の発見につなげることが可能と考えられる。

おわりに

本研究では、複雑で多様な MDS の病態の一端をあきらかにすべく解析を行ったが、さらなる多数例での検証と臨床における実証が必要不可欠である。今後も MDS の診療の向上に向けて努力を続けていく必要がある。

本研究のご指導を頂いた黒川峰夫教授と、共同研究者の渡谷（中崎）久美先生、吉見昭秀先生、塚本彩人先生に感謝申し上げます。

最後に、この研究にご支援頂きました、がん集学的治療研究財団の皆様へ深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Myelodysplastic syndromes V.1. 2015.* 2014.
- 2) Hellstrom-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G, et al. A validated decision model for treating the anaemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin + granulocyte colony-stimulating factor: significant effects on quality of life. *Br J Haematol* **120**: 1037-46, 2003.
- 3) Nakazaki K, Nannya Y, & Kurokawa M Distribution of serum erythropoietin levels in lower risk myelodysplastic syndrome cases with anemia. *Int J Hematol* **99**: 53-6, 2014.
- 4) Pellagatti A, Cazzola M, Giagounidis A, et al. Deregulated gene expression pathways in myelodysplastic syndrome hematopoietic stem cells. *Leukemia* **24**: 756-64, 2010.

放射線治療歴を有する再発悪性脳腫瘍に対する 再照射の意義に関する研究

長谷川 大一郎*

要旨 一般に小児髄芽腫、上衣腫に代表される悪性脳腫瘍は無増悪生存率と全生存率の差が小さく再発後の救済が困難であることが知られているが、近年、放射線再照射により合併症の増加なく腫瘍制御効果が見られたとする報告が散見される。そこで我々は放射線治療歴を有する再発小児悪性脳腫瘍に対する再照射の安全性と有効性を明らかにするために臨床試験を計画立案した。臨床試験のデザインは早期第Ⅱ相臨床試験とし、組織学的に診断が確定され放射線治療歴を有する悪性脳腫瘍を対象とし、主要エンドポイントは1年無増悪生存率、副次的エンドポイントを1年全生存率、累積有害事象発生率と設定した。研究期間内に16例の症例登録を見込んでいる。本稿では本臨床試験の概要と進捗状況について解説する。

はじめに

小児髄芽腫、上衣腫は小児脳腫瘍の上位を占め、放射線・化学療法感受性を有することから手術療法に加えて放射線治療と化学療法を含めた集学的治療が行われてきた。小児脳腫瘍の治療目標は可能な限り生存率を高めることであるが、小児正常組織の放射線感受性は成人よりも高く、認知力障害、内分泌障害、聴覚障害、二次がん、骨成長障害などの晩期有害事象が知られている。このため治療効果に支障のない範囲で総線量や一回線量の低減、照射範囲の縮小化、あるいは照射開始時期の遅延を目的として再発リスクに応じて放射線治療線量や照射範囲の層別化を図った治療が臨床試験として行われてきた。

一方、小児髄芽腫、上衣腫は一般に治療リスクを問わず無増悪生存率と全生存率の差が小さく再発後の救済が困難であることが多い。初発治療に放射線治療を用いていない乳幼児では放射線治療と自家末梢血幹細胞移植救援大量化学療法により長期の腫瘍制御が得られる可能性があるとの報告もあるが、総じて再発例の治療は通常困難であり予後は極めて不良である。近年、再発脳腫瘍に対して放射線再照射により合併症の増加なく腫瘍制御効果が得られたとする報告が散見される。しかし、再発脳腫瘍に対する再照射に関して綿密に計画された臨床試験は極めて少なく、その意義は明らかでない。そこで我々は放射線治療歴を有し、他の治療では制御不能と考えられる再発脳腫瘍に対する再照射の意義を明らかにするために本研究を計画した。

1. 臨床試験計画

1) 臨床試験の目的とデザイン

本臨床試験の目的は放射線治療歴を有する再発悪性脳腫瘍に対して再照射を用いた救済治療

*兵庫県立こども病院 血液腫瘍内科

を行ない、その有効性と安全性を評価することである。試験デザインは早期第Ⅱ相試験とした。

2) 選択基準

- (1) 初診時に原発巣摘出術ないし生検が施行され、組織学的に脳腫瘍が確定している。
- (2) 登録日の年齢が25歳未満。
- (3) 脳に対する放射線治療が過去に施行されている。
- (4) 脳内あるいは脊髄に腫瘍の再発を認め、他の治療方法では制御不能と考えられる。
- (5) 初回の全脳照射から6カ月以上が経過している。
- (6) Performance status が0から2である。
- (7) 本人若しくは代諾者から文書による同意が得られている。

3) 除外基準

- (1) 活動性の重複がんを有する。
- (2) 妊娠中若しくは授乳中の婦人。
- (3) その他、研究担当者（医師）が不相当と判断した患者。

4) 評価項目

主要エンドポイント：1年無増悪生存率。

副次的エンドポイント：1年全生存率、累積有害事象発生率（内分泌学的異常、脳血管障害、知能障害、二次がん）。

5) 治療計画概要

- (1) 髄芽腫（primitive neuroectodermal tumor: PNET を含む）

①初回治療で局所照射が照射された領域外の再発：局所照射線量 36Gy（1回 1.8Gy, 20分割）。初回治療で50Gy程度の照射線量が照射されている可能性があり、累積照射線量は86Gyとなる。

②髄膜播種再発：全中枢神経照射線量 18Gy（1回 1.5Gy, 12分割）。初回治療で全中枢神経照射 18Gy から 24Gy が照射されている可能性が高く、全中枢神経に対しては累積線量が 36Gy から 42Gy となる。腫瘍局所には初回治療 50Gy 程度照射されていると考えられるので、累積線量は 68Gy となる。

③初回治療で局所照射が照射された領域外の再発：局所照射線量 36Gy（1回 1.8Gy, 20分割）。初回治療で 18Gy から 24Gy の照射線量が照射されている可能性があり、累積線量は 54Gy から 60Gy になる。

- (2) 上衣腫：局所照射線量 54Gy（1回 1.8Gy, 30分割）。

初回治療で約 54Gy の照射線量が照射されている可能性があり、合計約 108Gy の照射線量になる。

- 6) 症例設計：予定登録数16例。試験治療における期待1年無増悪生存率45%、域値1年無増悪生存率30%、 α -error 0.05、検出力80%とし、約10%の脱落症例を見込んだ場合の必要症例数を16例と算出した。

7) 初回治療を含めた症例組み入れの概略

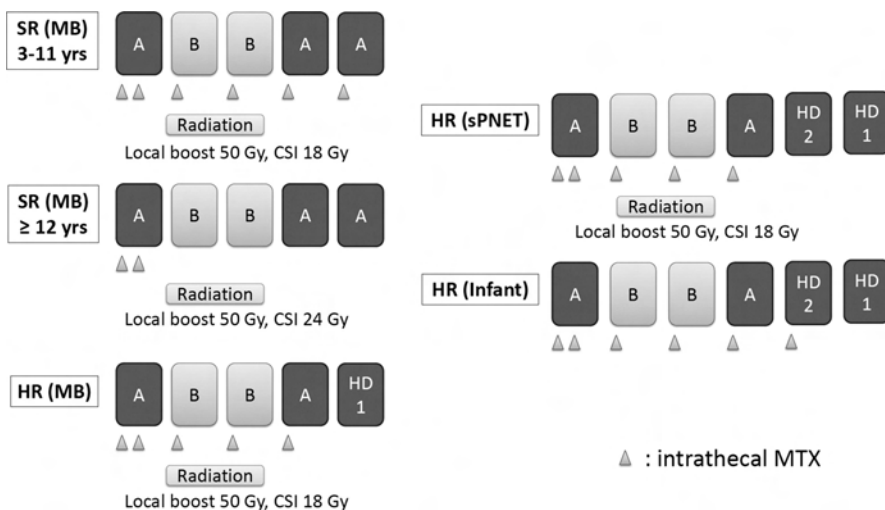
本研究対象の主体と見込まれる小児髄芽腫は放射線・化学療法高感受性腫瘍であり外科的切

除、放射線治療、化学療法からなる集学的治療を行なう。その際、初回治療はリスク分類に応じた層別化治療が行われ（図1）、乳幼児（3歳未満）では晩期毒性を考慮して初回治療において抗がん剤髄腔内投与（髄注）を併用した強化化学療法および自家末梢血幹細胞移植救援大量化学療法を導入することで放射線治療を回避する戦略をとった。一方で3歳以上の小児では標準リスク群に対して全脳全脊髄照射による放射線治療線量と髄注を併用した強化化学療法を行ない、高リスク群に対しては複数回自家末梢血幹細胞移植救援大量化学療法（tandem PBSCT）を導入することにより治療強化を図った。

標準リスク群	高リスク群	乳幼児
髄膜播種を伴わない（M0） 髄芽腫	髄膜播種を伴う（M1以上） 髄芽腫	3歳未満且つ髄芽腫または PNET

初発時年齢3歳未満、転移あり（Chang分類におけるM1～M3）のいずれか一つ以上を有するものを高リスク、それ以外を標準リスクと3群に分けた。

図1 小児髄芽腫に対する層別化治療におけるリスク分類



Regimen A : VCR/CDDP/CPA/VP16/IT-MTX

Regimen B : VCR/CDDP/CPA/IT-MTX

HD1（大量化学療法1）：TEPA/L-PAM or Bu/L-PAM or TOPO/L-PAM/CPA

HD2 : CDDP/CPA/VP16 +/- IT-MTX

図2 当科における小児髄芽腫に対する初期治療のリスク別治療概要

結 果

1. 登録開始より平成26年11月までに1例が実施された

症例：

5歳6カ月男児。嘔吐、頭痛に引き続き活気不良、意識障害（傾眠傾向）を認めたため前医を受診した。画像上、右大脳半球頭頂部に嚢胞を伴う占拠性病変を認め当院紹介入院となった。亜全摘術が施行され、施設並びに中央病理診断にて退形成上衣腫（anaplastic ependymoma）

と診断された。術前後画像診断では播種性病変なく Chang 分類 (M分類) では M0 であった。術後化学療法 (etoposide, cyclophosphamide, cisplatin) を行ったが奏功せず, temozolomide 併用放射線治療 (局所 boost : 54Gy/30fr) を行った。初回放射線治療から12カ月後に局所放射線治療の領域外である脊髄に大孔近傍を含む複数の播種性病変 (再発) を認めた (図3)。同意取得の後, Th11-L3 に座する播種性病変に対して局所放射線療法を総線量 50Gy (1回線量 2Gy, 25分割) で行った。さらに嚢胞増大に伴い水頭症を併発し, 腫瘍の嚢胞成分の増大および腫瘍内出血を認めた。局所に対して γ -knife を追加した後, 頸髄脊髄に座する播種性病変に対して局所放射線療法を総線量 8Gy (1回照射) で追加した。再放射線治療後, 症状進行の抑制は得られたものの頸髄病変への再照射3カ月後に原病により永眠された。初回再発から死亡までの生存期間は7カ月であった。尚, 放射線再照射後に治療に関連した明らかな有害事象は認めなかった。

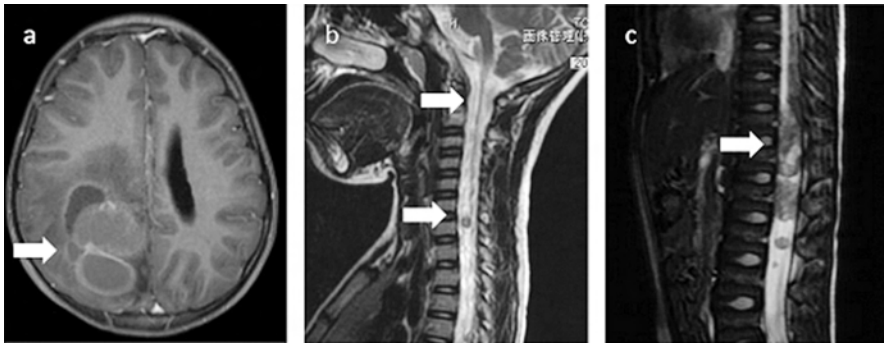
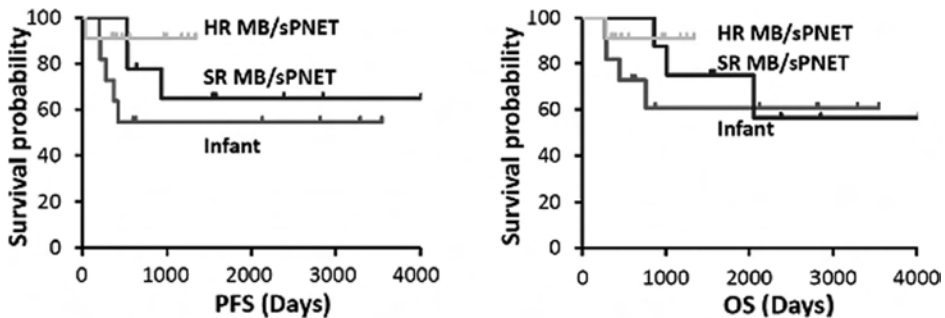


図3 症例 (再発上衣腫) の画像所見
a) 初発時, b) 頸髄播種病変, c) Th11-L3 に座する播種性病変

2. 症例集積再評価のための小児髄芽腫コホートの後方視的解析

症例集積が予定を下回った原因を検証するため, 自施設における小児髄芽腫コホートの後方視的解析を行った。リスク別治療成績を図4に示す (図4)。



2年無増悪生存率が標準リスク群 64.8±16.5%, 高リスク群90.9±8.7%, 乳幼児54.5±15%であった。2年全生存率は標準リスク77.7±13.8%, 高リスク群90.9±8.7%, 乳幼児60.6±15.7%であった。全症例34例中9例に再発を認めたが再発例の内訳は標準リスク群3例, 高リスク群1例, 乳幼児5例であった。

図4 当科における小児髄芽腫/PNET 症例の転帰
左図) リスク別無増悪生存率, 右図) 全生存率

さらに研究期間内に、初回治療において高リスク群及び乳幼児に対する大量化学療法の治療レジメンの改定が行われた。これは従来大量化学療法に用いていた thiotepa の販売中止に伴うものであり、これにより大量化学療法レジメンは Topotecan (Topo), cyclophosphamide (CY), melpharan (Mel) からなる大量化学療法に置き換えられた。Topo/CY/Mel レジメン変更後の高リスク髄芽腫および PNET は12例で18カ月無増悪生存率は $92 \pm 8\%$ であった(図5)。

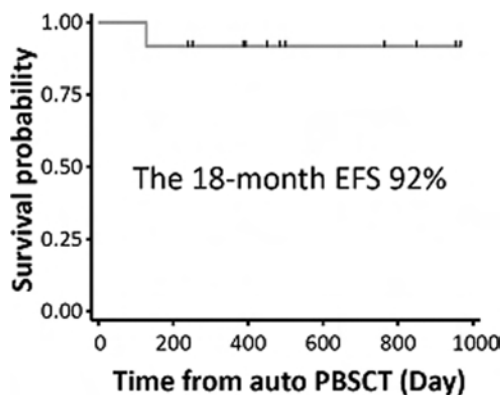


図5 Topo/CY/Mel レジメンで大量化学療法を行った12例の髄芽腫/PNET の無再発生存率

考 察

本研究の目的は放射線治療歴を有する再発脳腫瘍に対する放射線再照射の安全性と有効性を検証することである。臨床研究における再発症例の症例集積は初回治療の成否と深い関係があり、初回治療が期待を上回れば研究参加症例が滞る結果となる。本試験では試験開始より症例登録が見積もりを下回ったが、主たる原因は当該期間における初回治療の治療成果が期待を大きく上回ったことによると考えられる。特に社会的理由により大量化学療法レジメンを topotecan を主体とするパイロットレジメンに変更して以降、観察期間は短いものの高リスク群の18カ月無増悪生存率が92%と押し上げられた結果、再発症例に対する本研究の症例集積が予想を下回る結果となった。しかしながら期間内には登録症例の他にも、全身放射線照射後の頭蓋内播種再発を来した神経芽腫症例に対する放射線再照射(再照射線量 30Gy)を安全かつ有効に施行できた参考症例も経験され、安全性について一定の知見が得られた。

一方、Memorial Sloan-Kettering Cancer Center の Baskt らは、13例の再発髄芽腫症例に対して再照射を行い、有意な副作用の増加なく良好な治療効果が得られたと報告¹⁾している。Toront 大学の Bouffet らは、18例の再発上衣腫に対して再照射を行い、過去の非再照射症例に比して予後が良好であり、合併症も許容範囲であったと報告²⁾している。さらに最近小児科領域では、米国 St. Jude 小児病院から標準リスク群の再発髄芽腫に対して再放射線照射が有効であることを示唆する追試結果が報告³⁾されている。また本研究と並行して行われた自験例の後方視的解析でも対照群の無増悪生存率と全生存率の差はわずかであり、少なくとも再発後の救済が得られていないことは明らかとなった。現時点で本研究は対象症例が少ないが症例集積を続けながら研究目的達成をめざして研究を継続する予定である。

おわりに

本研究においては、本稿執筆時点では対象症例が少なく確定的な結論は得られていない。しかしながら本研究の対象とする小児髄芽腫、上衣腫の再発後の予後は極めて不良であり有望な治療戦略は見出されていない。症例集積の加速を図るために多施設共同研究への展開を含めて課題克服を図りつつ研究課題の達成を図りたい。最後に本試験にご理解をいただき多大なご支援をいただきましたがん集学的治療研究財団の皆様には深謝申し上げます。

文 献

- 1) Bakst RL, Dunkel IJ, Gilheeney S, Khakoo Y, Becher O, Souweidane MM, Wolden S; Reirradiation for recurrent medulloblastoma. *Cancer* 4977–4982, 2011.
- 2) Bouffet E, Hawkins CE, Ballourah W, Taylor MD, Bartels UK, Schoenhoff N, Tsangaris E, Huang A, Kulkarni A, Mabbot DJ, Laperriere N, Tabori U; Survival benefit for pediatric patients with recurrent ependymoma treated with reirradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1541–1548, 2012.
- 3) Wetmore C, Herington D, Lin T, Onar-Thomas A, Gajjar A, Merchant TE. Reirradiation of Recurrent Medulloblastoma: Does Clinical Benefit Outweigh Risk for Toxicity? *Cancer*. 2014.

研究経過報告書執筆要項

- (1) 下記の基準で論文（日本文）を作成して下さい。

要 旨	400字 × 1枚
本 文	400字 × 10枚
写真・図表	10枚以内（写真はモノクロ）
引用文献	10位

- (2) 原稿はパソコンをご使用の上、専門用語以外は当用漢字、現代かなづかい（平がな）を用い、平易明瞭に句読点は正確にお書き下さい。1枚に20字×20行とし、行間をできるだけあけてプリントアウトして下さい。また、CD-ROM、DVD-ROM等（テキスト形式保存）を使用機種、ソフト名を明記の上一緒にお送り下さい。
- (3) 薬品の商品名（欧文）は大文字、学名、一般名は小文字で記載下さい。
- (4) 数字は算用数字を用い、度量衡単位はCGS単位でm, cm, mm, cm², ml, l, dl, kg, g, mgなどとして下さい。
- (5) 写真は手札型以上の大きさと鮮明であること、文字や矢印を記号する場合はトレーシングペーパーをかけた上に明記して下さい。
- (6) 原稿は原則として返却いたしません。写真、図などで返却を要するものにはその旨明記して下さい。
- (7) 文献は本文中に引用されたもののみをあげて下さい。本文中の引用箇所には肩番号を付して下さい。
- (8) 文献の書き方は次のように統一して下さい。
引用文献、著者名は3人まで記し、それ以上は「他」「et al」として下さい。
外国文献の記載形式はIndex Medicus所載に準じて下さい。
雑誌の場合→引用番号) 著者名：論文題名、雑誌名、巻数、頁数（西暦年号）
単行本の場合→引用番号) 著者名：論文題名、書名（編者名）、版、頁、発行所名、発行地、（西暦年号）
例 1) 田口鐵男, 古江 尚, 塚越 茂, 他：胃癌の化学療法, 癌と化学療法7(12):109-114, 1980.
2) 幕内雅敏, 長谷川博, 山崎 晋：肝細胞癌の早期診断法, ウィルス肝炎から肝細胞癌へ（服部 信編）, 第2版, 309-328, 癌と化学療法社, 東京, 1982.
3) Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, et al: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by Actinomycetes. *J. Antibiotics* **29**:97-99, 1976.
- (9) 文頭は、はじめにではじまり、おわりにで結ぶ。
- (10) 論文は要旨－はじめに－（対象－方法－成績）－考按－おわりに－文献－表－図の説明－図の順に原稿を構成して下さい。図および表には文中に出る順番に番号を付して下さい。
- (11) 項目は次のような記号を用います。
I. …… 1. …… 1) …… a
- (12) 原稿には表紙を付し、表題、著者名、所属、機関名、原稿枚数、図表点数を明記して下さい。

一般研究助成者一覧(発刊年度)

- | | | |
|-------|-----------------------|------------------------|
| 1981 | 浅野長一郎 (九州大学理学部) | 東 市郎 (北海道大学免疫科学研究所) |
| (1 卷) | 天木 一太 (日本大学医学部) | 太田 和雄 (愛知県がんセンター) |
| | 加藤 哲郎 (秋田大学医学部) | 須賀 昭二 (国立名古屋病院) |
| | 関口 守正 (東京大学医科学研究所) | 高見沢裕吉 (千葉大学医学部) |
| | 寺尾 榮夫 (東京都立駒込病院) | 西 満正 (鹿児島大学医学部) |
| | 野本亀久雄 (九州大学医学部) | 棟久 龍夫 (長崎大学医学部) |
| | 母里 知之 (東海大学医学部) | 森 武貞 (大阪大学医学部) |
| | 吉田 修 (京都大学医学部) | 涌井 昭 (東北大学抗酸菌病研究所) |
| 1982 | 浅野長一郎 (九州大学理学部) | 井村 裕夫 (京都大学医学部) |
| (2 卷) | 海老名卓三郎 (東北大学医学部) | 古賀 成昌 (鳥取大学医学部) |
| | 小山 博記 (大阪府立成人病センター) | 志田 圭三 (群馬大学医学部) |
| | 友田 豊 (名古屋大学医学部) | 中西 昌美 (北海道大学医学部) |
| | 新島 端夫 (東京大学医学部) | 馬場 恒男 (九州大学生体防御医学研究所) |
| | 藤本 孟男 (愛知医科大学) | 細川真澄男 (北海道大学医学部) |
| | 松澤 大樹 (東北大学抗酸菌病研究所) | 松田 忠義 (東京都立駒込病院) |
| | 三好 勇夫 (高知医科大学) | |
| 1983 | 池田 恵一 (九州大学医学部) | 石引 久弥 (慶應義塾大学医学部) |
| (3 卷) | 木村 郁郎 (岡山大学医学部) | 桑野 信彦 (大分医科大学) |
| | 菅原 克彦 (山梨医科大学) | 高久 史磨 (東京大学医学部) |
| | 橋 武彦 (東北大学抗酸菌病研究所) | 螺良 英郎 (徳島大学医学部) |
| | 西平 哲郎 (東北大学医学部) | 野村 雍夫 (国立病院九州がんセンター) |
| | 藤原 大美 (大阪大学医学部) | 前田 浩 (熊本大学医学部) |
| | 三橋 重信 (久留米大学医学部) | 谷内 昭 (札幌医科大学) |
| | 山本三毅夫 (九州大学生体防御医学研究所) | |
| 1984 | 大西 克尚 (九州大学医学部) | 小野寺時夫 (東京都立駒込病院) |
| (4 卷) | 折田 薫三 (岡山大学医学部) | 藏本 淳 (広島大学原爆放射能医学研究所) |
| | 小磯 謙吉 (筑波大学臨床医学系) | 杉町 圭蔵 (九州大学医学部) |
| | 関根 暉彬 (国立がんセンター研究所) | 高月 清 (熊本大学医学部) |
| | 塚田 裕 (北海道大学医学部) | 鶴尾 隆 (癌研・癌化学療法センター) |
| | 原 泰寛 (国立病院九州がんセンター) | 福西 亮 (愛媛大学医学部) |
| | 前山 巖 (鳥取大学医学部) | 水落 次男 (東京大学医科学研究所) |
| | 山田 一正 (名古屋大学医学部) | |
| 1985 | 犬山 征夫 (慶應義塾大学医学部) | 北村 幸彦 (大阪大学医学部附属癌研究施設) |

- 1985 小玉 正智 (滋賀医科大学)
 (5 卷) 佐々木琢磨 (国立がんセンター)
 田中 正夫 (国立名古屋病院血液病センター)
 中村 徹 (福井医科大学)
 原 耕平 (長崎大学医学部)
 藤田 昌英 (大阪大学微生物病研究所)
 松谷 雅生 (東京都立駒込病院)
 吉田 孝人 (浜松医科大学)
- 1986 内野 治人 (京都大学医学部)
 (6 卷) 岡部 哲郎 (東京大学医学部)
 狩野 恭一 (東京大学医科学研究所)
 久保田哲朗 (慶應義塾大学医学部)
 坂井 保信 (東京都立駒込病院)
 曾根 三郎 (徳島大学医学部)
 田中 敬正 (関西医科大学)
 橋本 省三 (慶應義塾大学医学部)
 浜岡 利之 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
- 1987 市橋 秀仁 (藤田学園保健衛生大学医学部)
 (7 卷) 奥村 康 (順天堂大学医学部)
 勝沼 信彦 (徳島大学酵素科学研究センター)
 金沢 浩二 (新潟大学医学部)
 佐藤 周子 (愛知県がんセンター)
 高本 滋 (東京都立駒込病院)
 中村 仁信 (大阪大学微生物病研究所)
 松本 圭史 (大阪大学医学部)
 山口 豊 (千葉大学医学部肺癌研究施設)
- 1988 秋山 伸一 (鹿児島大学医学部附属腫瘍研究施設)
 (8 卷) 阿部 達生 (京都府立医科大学)
 上田 政和 (慶應義塾大学医学部)
 小川 恭弘 (高知医科大学)
 神奈木玲児 (京都大学医学部)
 今 充 (弘前大学医学部)
 笹月 健彦 (九州大学生体防御医学研究所)
 徳永 徹 (国立予防衛生研究所)
 馬場 正三 (浜松医科大学)
- 小林 利次 (産業医科大学)
 仙道富士郎 (山形大学医学部)
 鳥巢 要道 (九州大学医学部)
 新本 稔 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 原田 実根 (金沢大学医学部)
 穂積 本男 (埼玉県立がんセンター研究所)
 御厨 修一 (国立病院医療センター)
- 大野 竜三 (名古屋大学医学部)
 片野 建之 (癌研・癌化学療法センター)
 木村 元喜 (九州大学生体防御医学研究所)
 熊本 悦明 (札幌医科大学)
 珠玖 洋 (長崎大学医学部)
 田中 信男 (東京大学応用微生物研究所)
 西田 輝夫 (近畿大学医学部)
 羽生富士夫 (東京女子医科大学消化器病センター)
 前田 迪郎 (鳥取大学医学部)
 大森 弘之 (岡山大学医学部)
 小黒 昌夫 (千葉県がんセンター)
 加藤 四郎 (大阪大学微生物病研究所)
 坂本 純一 (愛知県がんセンター)
 鈴木 磨郎 (東北大学抗酸菌病研究所)
 峠 哲哉 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 正岡 徹 (大阪府立成人病センター)
 宮崎 保 (北海道大学医学部)
 吉田 奎介 (新潟大学医学部)
 浅野 茂隆 (東京大学医科学研究所)
 今岡 真義 (大阪府立成人病センター)
 江藤 澄哉 (産業医科大学)
 鎌田 七男 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 小山 研二 (秋田大学医学部)
 斎藤 正男 (東京大学医学部)
 谷川 允彦 (福井医科大学)
 富永 健 (東京都立駒込病院)
 平野 正美 (藤田学園保健衛生大学医学部)

- 1989 阿曾 佳郎 (東京大学医学部) 石川 哮 (熊本大学医学部)
(9卷) 今井 浩三 (札幌医科大学) 岩永 剛 (大阪府立成人病センター)
上田 龍三 (愛知県がんセンター研究所) 太田 康幸 (愛媛大学医学部)
岡田 秀親 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所) 小川 道雄 (大阪大学医学部)
掛川 暉夫 (久留米大学医学部) 加藤 知行 (愛知県がんセンター)
金子 明博 (国立がんセンター病院) 齊藤 博 (埼玉医科大学総合医療センター)
澤木 修二 (横浜市立大学医学部) 高上 洋一 (徳島大学医学部)
中村 治 (東京都立駒込病院) 藤本 重義 (高知医科大学)
町田喜久雄 (埼玉医科大学総合医療センター) 松野 正紀 (東北大学医学部)
- 1990 荒井 保明 (愛知県がんセンター) 宮本 幸男 (群馬大学医学部)
(10卷) 入野 昭三 (香川医科大学) 遠藤 光夫 (東京医科歯科大学医学部附属病院)
小倉 剛 (徳島大学医学部) 菅 典道 (京都大学医学部附属病院)
木谷 照夫 (大阪大学微生物病研究所) 池田 昌弘 (順天堂大学医学部)
島津 久明 (鹿児島大学医学部) 田中 隆一 (新潟大学脳研究所)
土橋 一慶 (帝京大学医学部) 中島 泉 (名古屋大学医学部)
新津洋司郎 (札幌医科大学) 西村 泰治 (九州大学生体防御医学研究所)
垣生 園子 (東海大学医学部) 原 信之 (国立病院九州がんセンター)
藤本 孟男 (愛知医科大学) 前原 喜彦 (九州大学医学部)
水谷 修紀 (国立小児医療研究センター)
- 1991 秋吉 毅 (九州大学生体防御医学研究所) 安藤 俊夫 (愛知県がんセンター研究所)
(11卷) 小川 秋實 (信州大学医学部) 小熊 信夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
小越 章平 (高知医科大学) 加藤 洋 (癌研・癌研究所)
木村幸三郎 (東京医科大学) 河野 公俊 (大分医科大学)
佐治 重豊 (岐阜大学医学部) 鈴木 敏 (山口大学医学部)
田中 良明 (東京都立駒込病院) 平井 久丸 (東京大学医学部)
藤永 蕙 (札幌医科大学附属がん研究所) 真崎 規江 (大阪府立成人病センター)
麦島 秀雄 (日本大学医学部) 山内 晶司 (名古屋大学医学部)
山口 俊晴 (京都府立医科大学) 由良 二郎 (名古屋市立大学医学部)
- 1992 赤沢 修吾 (埼玉県立がんセンター) 秋根 康之 (国立がんセンター中央病院)
(12卷) 貝原 信明 (鳥取大学医学部) 兼松 隆之 (長崎大学医学部)
河村 栄二 (北里研究所病院) 菊池 潔 (財慶應がんセンター)
木本 安彦 (大阪大学微生物病研究所附属病院) 葛巻 暹 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
琴浦 良彦 (京都大学医学部) 斎藤 貴生 (大分医科大学)
澤武 紀雄 (金沢大学がん研究所) 設楽 信行 (東京都立駒込病院)
柴田 昭 (新潟大学医学部) 土井 修 (大阪府立成人病センター)

- 1992 奈良 信雄 (東京医科歯科大学医学部)
(12卷) 山下 純宏 (金沢大学医学部)
- 1993 阿部 力哉 (福島県立医科大学)
(13卷) 片山 憲恃 (聖マリアンナ医科大学)
栗原 稔 (昭和大学附属豊洲病院)
藪田 精昭 (京都府立医科大学)
武市 紀年 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
土田 嘉昭 (東京大学医学部)
富田 幹夫 (埼玉県立がんセンター研究所)
濱田 洋文 (癌研・癌化学療法センター)
平岡 真寛 (京都大学医学部)
吉田 松年 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1994 相羽 恵介 (癌研・癌化学療法センター)
(14卷) 今村 正之 (京都大学医学部)
折笠 精一 (東北大学医学部)
小柳 知彦 (北海道大学医学部)
清木 元治 (金沢大学がん研究所)
直江 知樹 (名古屋大学医学部附属病院)
浜口 道成 (名古屋大学医学部)
藤本 修一 (千葉県がんセンター)
山崎 俊樹 (島根医科大学)
- 1995 岡本 尚 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所)
(15卷) 佐藤忠比古 (国立郡山病院)
嶋田 紘 (横浜市立大学医学部)
田中 公夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
花井 彩 (大阪府立成人病センター)
磨伊 正義 (金沢大学がん研究所)
森 茂郎 (東京大学医科学研究所)
和氣 徳夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1996 有井 滋樹 (京都大学医学研究科)
(16卷) 伊東 恭悟 (久留米大学医学部)
小澤 敬也 (自治医科大学血液医学研究部門)
佐藤 靖史 (東北大学加齢医学研究所)
杉本 芳一 (癌研・癌化学療法センター)
多羅尾和郎 (神奈川県立がんセンター)
- 西村 孝司 (東海大学医学部)
吉開 泰信 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
大塚 泰亮 (岡山大学医学部)
北島 政樹 (慶應義塾大学医学部)
小池 克郎 (癌研・癌研究所)
高見 博 (帝京大学医学部)
谷村 弘 (和歌山県立医科大学)
戸井 雅和 (東京都立駒込病院)
中村 恭一 (東京医科歯科大学医学部)
平岡 諦 (大阪府立成人病センター)
堀 勝義 (東北大学加齢医学研究所)
- 池田 恢 (国立がんセンター中央病院)
岡田 全司 (九州大学生体防御医学研究所)
菊地 浩吉 (札幌医科大学医学部)
杉本 徹 (宮崎医科大学)
田中 憲一 (新潟大学医学部)
新田 泰三 (順天堂大学医学部)
松崎 靖司 (筑波大学臨床医学系)
柳澤 昭夫 (癌研・癌研究所)
吉田 操 (東京都立駒込病院)
後藤 重則 (帝京大学生物工学研究センター)
佐藤 宏 (帝京大学医学部)
田崎 寛 (慶應義塾大学医学部)
中村 剛 (長崎大学医療技術短期大学部)
藤田 潤 (京都大学大学院医学研究科)
間野 博行 (自治医科大学医学部)
柳川 堯 (九州大学大学院数理学研究科)
- 石川 治 (大阪府立成人病センター)
大川 治夫 (筑波大学臨床医学系)
酒井 正彦 (関西電力病院)
執印 太郎 (高知医科大学)
谷 憲三朗 (東京大学医科学研究所)
松村 保広 (国立がんセンター中央病院)

- 1996 三角 順一 (大分医科大学医学部) 宮崎 澄雄 (佐賀医科大学医学部)
(16卷) 山脇 成人 (広島大学医学部) 吉村 昭彦 (久留米大学生命科学研究所)
- 1997 西條 長宏 (国立がんセンター研究所) 神保 孝一 (札幌医科大学)
(17卷) 瀬戸 加大 (愛知県がんセンター研究所) 田中 雅夫 (九州大学医学部)
丹後 俊郎 (国立公衆衛生院疫学部) 手島 昭樹 (大阪大学医学部)
中川原 章 (千葉県がんセンター) 野田 哲生 (癌研・癌研究所)
堀井 明 (東北大学大学院医学系研究科) 松山 裕 (東京大学大学院医学系研究科)
- 1998 小山 博史 (国立がんセンター中央病院) 烏野 隆博 (大阪府立成人病センター)
(18卷) 高後 裕 (旭川医科大学) 佐藤 昇志 (札幌医科大学医学部)
巽 典之 (大阪市立大学医学部) 中島 秀彰 (国立病院九州がんセンター)
名川 弘一 (東京大学医学部) 登 勉 (三重大学医学部)
萩原 正敏 (東京医科歯科大学難治疾患研究所) 畠 清彦 (自治医科大学)
不破 信和 (愛知県がんセンター) 前谷 俊三 (天理よろず相談所医学研究所)
村井 勝 (慶應義塾大学医学部) 安元 公正 (産業医科大学医学部)
矢守 隆夫 (癌研・癌化学療法センター)
- 1999 井上 俊彦 (大阪大学大学院) 大上 研二 (東海大学医学部)
(19卷) 大瀧 慈 (広島大学原爆放射能医学研究所) 加賀谷有行 (広島大学医学部)
河上 裕 (慶應義塾大学医学部先端医学研究所) 真貝 洋一 (京都大学ウイルス研究所)
高山 哲治 (札幌医科大学) 田中 淳司 (北海道大学医学部)
土田 正則 (新潟大学医学部) 野田 政樹 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
万代 昌紀 (京都大学医学部) 向田 直史 (金沢大学がん研究所)
森脇 久隆 (岐阜大学医学部) 吉貴 達寛 (滋賀医科大学)
渡邊 武 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2000 井上 正樹 (金沢大学医学部) 奥野 清隆 (近畿大学医学部)
(20卷) 河野 文夫 (国立熊本病院) 神奈木真理 (東京医科歯科大学歯科学総合研究科)
久保 敦司 (慶應義塾大学医学部) 小西 文雄 (自治医科大学大宮医療センター)
佐藤 博 (金沢大学がん研究所) 田中 紘一 (京都大学大学院)
中野 修治 (九州大学大学院) 樋野 興夫 (癌研・癌研究所)
福本 学 (東北大学加齢医学研究所) 松村 明 (筑波大学臨床医学系)
山口 佳之 (広島大学原爆放射能医学研究所) 吉川 秀樹 (大阪大学大学院)
吉田 知之 (東京医科大学)
- 2001 秋山 太 (癌研・癌研究所) 東 俊文 (慶應義塾大学医学部)
(21卷) 片野 光男 (九州大学大学院) 小林 国彦 (埼玉県立がんセンター)
澤津橋基広 (佐賀医科大学) 高橋 宗春 (東京大学医学部附属病院)
田原 秀晃 (東京大学医科学研究所) 玉木 長良 (北海道大学大学院)

- 2001 辻 晃仁 (高知県立中央病院)
(21卷) 野島 博 (大阪大学微生物病研究所)
村垣 善浩 (東京女子医科大学脳神経センター)
若杉 尋 (国立がんセンター研究所)
- 2002 秋田 弘俊 (北海道大学大学院)
(22卷) 鎌野 俊紀 (順天堂大学医学部)
黄 政龍 (香川医科大学)
高橋 豊 (金沢大学がん研究所)
平塚 正弘 (大阪府立成人病センター)
- 2003 上本 伸二 (三重大学医学部)
(23卷) 神田 善伸 (東京大学医学部)
河野 浩二 (山梨大学医学部)
檜原 啓之 (大阪府立成人病センター)
堀口 裕 (慶應義塾大学医学部)
- 2004 魚住 公治 (鹿児島大学病院)
(24卷) 清宮 啓之 (癌研・癌化学療法センター)
田中 文啓 (京都大学医学部)
古谷 和久 (愛知県がんセンター)
森 正樹 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2005 熊谷 昌明 (国立成育医療センター)
(25卷) 國土 典宏 (東京大学医学部附属病院)
並木 幹夫 (金沢大学医学部附属病院)
長谷川好規 (名古屋大学医学部附属病院)
林 慎一 (東北大学医学部)
- 2006 泉本 修一 (大阪大学大学院)
(26卷) 太田 三徳 (近畿中央胸部疾患センター)
小林 浩 (奈良県立医科大学)
澤田 明久 (大阪府立母子保健総合医療センター)
福岡 和也 (兵庫医科大学)
- 2007 磯本 一 (長崎大学医学部・歯学部附属病院)
(27卷) 馬屋原健司 (癌研・有明病院)
篠浦 伸禎 (東京都立駒込病院)
高見 昭良 (金沢大学医学部附属病院)
- 2008 掛地 吉弘 (九州大学大学院)
(28卷) 新地 洋之 (鹿児島大学大学院)
松村 保広 (国立がんセンター東病院)
吉崎 智一 (金沢大学大学院)
- 中島 格 (久留米大学医学部)
松崎 彰信 (九州大学医療技術短期大学部)
山本 博幸 (札幌医科大学)
- 遠藤 善裕 (滋賀医科大学)
小泉和二郎 (北里大学東病院)
高橋 慶一 (東京都立駒込病院)
戸田 正博 (慶應義塾大学医学部)
- 小野寺雅史 (筑波大学臨床医学系)
弦間 昭彦 (日本医科大学)
杉山 徹 (岩手医科大学医学部)
平井 康夫 (癌研・癌研究所)
- 河野 嘉文 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)
高山 浩一 (九州大学病院)
中島 淳 (慶應義塾大学医学部)
星 宣次 (山形県立中央病院)
山本 昇 (国立がんセンター中央病院)
- 甲能 直幸 (杏林大学医学部)
土屋 弘行 (金沢大学大学院)
萩原 弘一 (埼玉医科大学)
羽生 大記 (大阪市立大学大学院)
日野 雅之 (大阪市立大学大学院)
井上 啓史 (高知大学医学部)
大東 弘明 (大阪府立成人病センター)
佐治 重衡 (東京都立駒込病院)
竹内 聡 (神戸医療センター)
藤井 正人 (東京医療センター)
- 上野 清伸 (大阪府立成人病センター)
椎名秀一朗 (東京大学医学部附属病院)
新地 洋之 (鹿児島大学医学部・歯学部附属病院)
細野 亜古 (国立がんセンター中央病院)
粕谷 英樹 (名古屋大学医学部)
竹島 信宏 (癌研・有明病院)
元雄 良治 (金沢医科大学)
渡邊 昌彦 (北里大学医学部)

- | | | |
|-------|--------------------------|--------------------------|
| 2009 | 出水みいる (九州大学病院) | 高野 晋吾 (筑波大学大学院) |
| (29卷) | 塚田 敬義 (岐阜大学大学院) | 中森 正二 (大阪医療センター) |
| | 長谷川 潔 (東京大学大学院) | 服部 豊 (慶應義塾大学薬学部) |
| | 本田 五郎 (東京都立駒込病院) | 宮田 博志 (大阪大学大学院) |
| 2010 | 東 治人 (大阪医科大学) | 石川 剛 (京都府立医科大学) |
| (30卷) | 庄 雅之 (奈良県立医科大学) | 楯 真一 (千葉大学大学院) |
| | 谷 眞至 (和歌山県立医科大学) | 津田 浩史 (慶應義塾大学医学部) |
| | 藤原 義之 (大阪大学大学院) | 山口 和也 (岐阜大学医学部) |
| 2011 | 江口 英利 (大阪大学大学院医学系研究科) | 菊地 栄次 (慶應義塾大学医学部) |
| (31卷) | 堤 莊一 (群馬大学大学院医学系研究科) | 藤谷 和正 (国立病院機構大阪医療センター) |
| | 本告 正明 (大阪府立成人病センター) | 宮田 康好 (長崎大学病院) |
| | 宮田 義浩 (広島大学原爆放射線医学科学研究所) | 元井 冬彦 (東北大学病院) |
| | 山下 継史 (北里大学医学部) | |
| 2012 | 浦本 秀隆 (産業医科大学) | 葛西 和博 (岩手医科大学医学部) |
| (32卷) | 小西 毅 (がん研究会明病院) | 佐藤 康史 (札幌医科大学) |
| | 澤木 正孝 (愛知県がんセンター中央病院) | 高橋 秀典 (大阪府立成人病センター) |
| | 谷岡 真樹 (兵庫県立がんセンター) | 本間 尚子 (東京都健康長寿医療センター研究所) |
| | 松木 絵里 (慶應義塾大学病院) | 村上 英樹 (金沢大学整形外科) |
| 2013 | 井上 啓史 (高知大学教育研究部) | 沖 英次 (九州大学病院) |
| (33卷) | 河合 憲康 (名古屋市立大学大学院医学研究科) | 北郷 実 (慶應義塾大学医学部) |
| | 黒川 幸典 (大阪大学大学院医学系研究科) | 笹田 哲朗 (久留米大学医学部) |
| | 島崎 猛夫 (金沢医科大学総合医学研究所) | 種村 匡弘 (呉医療センター・中国がんセンター) |
| | 野尻 俊輔 (名古屋市立大学病院) | 丸橋 繁 (大阪府立成人病センター) |

がん治療のあゆみ 第34巻

平成27年3月25日 印刷
平成27年3月31日 発行

非 売 品

発行人 公益財団法人
がん集学的治療研究財団
佐 治 重 豊

お問い合わせは下記にお願いいたします。
〒136-0071 東京都江東区亀戸1-28-6
タニビル3F
電話 (03)5627-7593

印刷所 (株)糸川印刷

本書の内容の一部あるいは全部を無断で、複写機器等いかなる方法によっても複写・複製することは、法律で認められた場合を除き、著作者および出版者の権利の侵害になりますので、予め小社の許諾を求めて下さい。