

切除不能膵癌における 抗癌剤感受性試験の試み

福島県立医科大学 内科学第二講座 若槻 尊、大平 弘正



画像診断が普及している今日においても、膵癌における切除率は20-30%と低く、その多くが発見時すでに切除不能であり、依然、化学療法が治療の中心となっている。塩酸ゲムシタビン (GEM) は、これまで膵癌化学療法の中心的な役割を果たしてきた5-FU との比較試験で、有意な生存期間中央値 (MST) の延長 (GEM 群5.65カ月、5-FU 群4.41カ月、 $p=0.0025$) と全身状態の改善を示す clinical benefit の著しい改善 (GEM 群23.8%、5-FU 群4.8%、 $p=0.0022$) が認められ、本邦でも2001年4月に使用可能となった¹⁾。その後、新規抗癌剤や分子標的治療薬も含めた GEM 単剤との比較試験が行われたが、現在においても GEM は切除不能膵癌における標準治療として広く認識されている²⁾。

一方、フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍剤である S-1 は、国立がんセンターを中心に行われた第 II 相試験において、単剤で奏効率37.5%、MST 9.2カ月と良好な成績を収め、これを受けて本邦で2006年8月に新たに適応を獲得した。これにより GEM 単剤しか治療選択肢がなかった膵癌化学療法において、GEM 耐性後の 2 次治療の導入 (GEM → S1) や GEM/S1 併用療法等、治療の選択に幅を持つことが可能となりその有用性が報告されている³⁾。特に GEM/S1 併用療法における第 II 相試験において、奏効率46.6%、MST 11.6カ月と良好な結果が報告され、これを受けて、現在 GEM 単剤療法、S-1 単剤療法、GEM/S1 併用療法の 3 群を比較する多施設共同第 III 相試験が行われている⁴⁾。また樹状細胞や

ペプチドワクチンを用いた免疫療法なども報告されている^{5,6)}。しかしながら、新規抗癌剤や分子標的治療薬の開発とともに、MST 20カ月以上と飛躍的に生存期間の延長が認められた大腸癌などと比較しても、切除不能膵癌はまだ難治性癌であることに変わりはない⁷⁾。

抗癌剤感受性試験は、1990年頃より胃癌を中心に行われてきた確立した手技であり、2008年には本邦で胃癌において保険収載となった^{8,9)}。抗癌剤感受性試験は、「同一の臓器由来で同一の組織型を有する癌でも、抗癌剤感受性は異なる」という考えに根ざしており、いわばテーラーメイド治療の先駆けである。要約すれば癌細胞を試験管内で各種抗癌剤下に培養し、治療前に最も効果が期待できる薬剤を選択する方法で、同時に不要な薬剤の回避にも貢献する。

当科では難治性癌である切除不能膵癌に対する治療の取り組みとして、2006年9月より超音波内視鏡下穿刺吸引生検により得られた膵癌検体を用いた抗癌剤感受性試験を試みてきた¹⁰⁾。今回、当科で施行している切除不能膵癌症例に対する抗癌剤感受性試験について紹介する。

超音波内視鏡下穿刺吸引生検

当科では入澤篤志准教授を中心に2001年1月より超音波内視鏡下穿刺吸引生検 (Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration

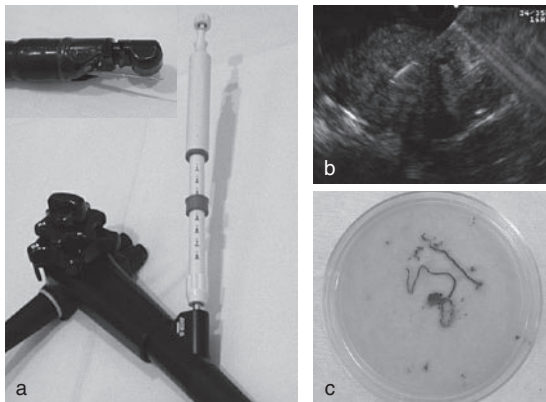


Figure 1 a; 超音波内視鏡と穿刺針。b; 穿刺時の超音波内視鏡画像。c; EUS-FNAにより得られた検体。

biopsy; EUS-FNA) を導入し、これまで検体採取が困難であった膵腫瘍性病変から検体を採取することが可能となった¹¹⁾。これによりこれまで画像診断が中心であった膵腫瘍性病変の質的診断において、病理学的診断を付加することが可能となった。現在 EUS-FNA はその高い診断能と安全性ゆえに、膵腫瘍性病変の病理学的診断において第一選択となってきた¹²⁾。

具体的な方法であるが、EUS-FNA はオリンパス社製の超音波内視鏡スコープ UC 240 P AL-5 を、穿刺針はオリンパス社製 NA 200H 22ゲージまたは Cook 社製 ECOTIP 22/25ゲージを使用している。通常の咽頭麻酔および静脈麻酔の前処置の後、超音波内視鏡下に腫瘍を描出する。病理診断目的の穿刺を行った後に、真菌等の混入を予防するため新たな穿刺針を用い、感受性試験用に3回の穿刺を追加し検体を採取している (Figure 1-a, b, c)。

抗癌剤感受性試験

抗癌剤感受性試験は癌細胞を試験管内で各種抗癌剤下に培養し、治療前に最も効果が期待できる薬剤を選択する方法である。具体的には癌細胞の細胞活

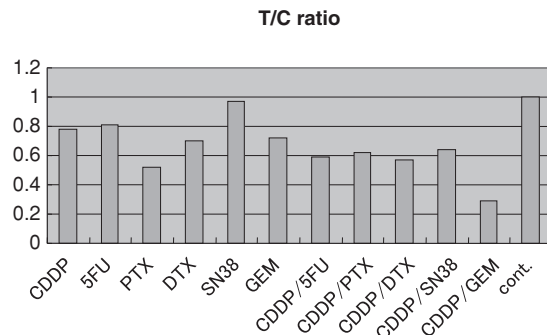


Figure 2 各薬剤における T/C ratio の比較。右端がコントロールである。

性をミトコンドリアや ATP などで測定し、治療群とコントロール群の比 (treated/control ratio; T/C ratio) を求めることにより、各種薬剤の効果を予測するもので、その感度、特異度、正診率はそれぞれ 82.7%、70.7%、73.6%と報告されている¹³⁾。

抗癌剤感受性試験は外科切除症例を中心に行われてきており、切除不能膵癌では検体採取における侵襲の問題がありこれまで行われてこなかった。われわれは2003年より、EUS-FNA 下に得られた微量検体を用いた抗癌剤感受性試験の確立に取り組み始めた。当初、既報に準じ MTT assay や CD-DST 法を行うも、検体量不足が原因で測定が困難であった。そこで測定感度が非常に高い ATP assay を行うことで、微量検体でも測定することが可能となった。ATP assay は理論上、数十個の細胞でも測定が可能である。

具体的な方法であるが、EUS-FNA により得られた検体は生理食塩水を入れた滅菌シャーレで洗浄し、鋏で細切後、enzyme cocktail で酵素処理を行い単細胞浮遊液とする。96穴プレートに各種抗癌剤を既報の濃度で添加した無血清培地で72時間癌細胞を培養する¹⁴⁾。ATP assay は Promega 社製ルミノメータおよびルシフェラーゼを用いて行い、T/C ratio を

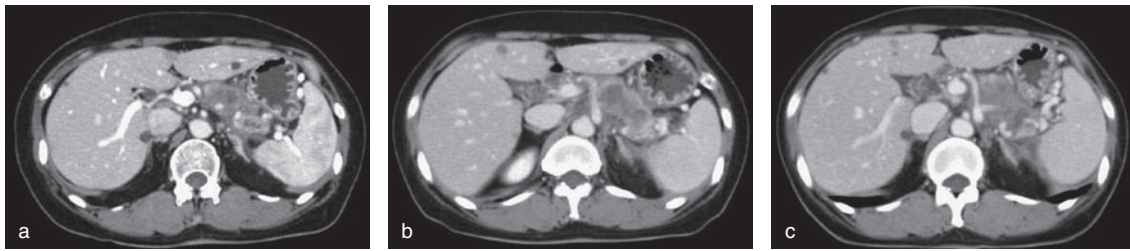


Figure 3 a; 治療前腹部造影 CT。膵体尾部に腫瘍と肝嚢胞を認めた。b; 2007年11月の CT。腫瘍の増大を認める。C; 2008年3月の CT。明らかな腫瘍の増大は認めない。

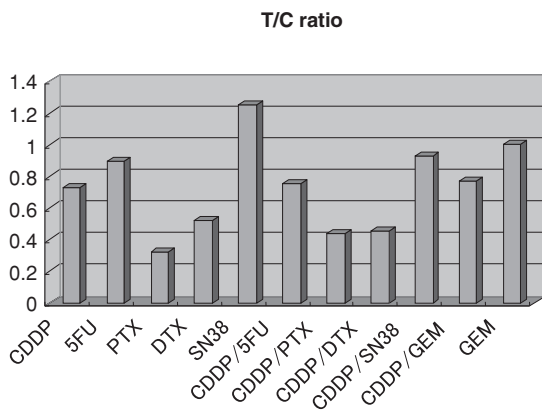


Figure 4 GEM 耐性であり、比較のため、コントロールは GEM となっている (右端)。PTX の T/C ratio が 0.32 と著明に抑制され、高い感受性が予想された。

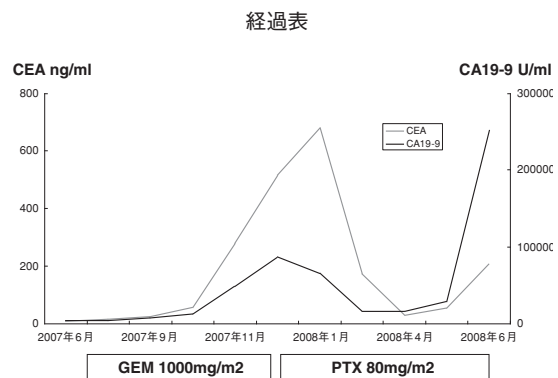


Figure 5 PTX 使用后、CEA、CA19-9の著明な低下が認められた。

測定し治療効果を予測している (Figure 2)。

2006年9月より本学倫理委員会承認のもと臨床応用を開始し、当初、有効な化学療法が報告されていない退形成性膵管癌の1次治療や GEM 耐性後の薬剤選択などの目的に行ってきた。また、本感受性試験の有用性を検討する目的で、初回治療切除不能膵癌症例において GEM の T/C ratio と GEM 投与後の無増悪生存期間を現在 prospective に経過観察中である。

抗癌剤感受性試験が有用であった症例を呈示する。症例は50代の女性。膵体尾部に50mmの腫瘍性病変および大動脈周囲リンパ節腫脹を認め、膵癌 stage

IV b と診断された (Figure 3-a)。2007年6月より GEM 1000mg/m² (3週投与、1週休薬) で6クール加療をされるも、2007年10月に腫瘍の増大および腫瘍マーカーの上昇を認めた (Figure 3-b)。このため2次治療の薬剤選択の目的で感受性試験を施行した。感受性試験の結果では paclitaxel (PTX) に感受性を示したため、十分なインフォームドコンセントを行い、PTX 80mg/m² (3週投与、1週休薬) に変更して5クール加療したところ画像上は SD であったが CA19-9の著明な低下を認めた (Figure 3-c、4、5)。本症例は stage IV b にもかかわらず13カ月と比較的長期の生存期間が得られた。

本感受性試験は未だ準備段階で、現在その有用性を prospective に検討中であり、今後の症例の蓄積が望まれる。また本感受性試験が確立することで、切除不能膵癌症例に対するテーラーメイド治療の確立に寄与できるものと考えている。

【参考文献】

- 1) Burris HA, Moore MJ, Andersen J, et al. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 15:2403-2413, 1997.
- 2) 日本膵臓学会 膵癌診療ガイドライン作成小委員会. 膵癌診療ガイドライン, 金原出版, 2006.
- 3) 中井陽介, 伊佐山浩通, 佐々木隆, 他. 膵癌に対する GEM・S-1 を用いた化学療法. *胆と膵* 29:401-406, 2008.
- 4) Nakamura K, Yamaguchi T, Ishihara T, et al. Phase II trial of oral S-1 combined with gemcitabine in metastatic pancreatic cancer. *Br J Cancer* 94:1575-1579, 2006.
- 5) Irisawa A, Takagi T, Kanazawa M, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle injection of immature dendritic cells into advanced pancreatic cancer refractory to gemcitabine: a pilot study. *Pancreas* 35:189-190, 2007.
- 6) Yanagimoto H, Mine T, Yamamoto K, et al. Immunological evaluation of personalized peptide vaccination with gemcitabine for pancreatic cancer. *Cancer Sci* 98:605-611, 2007.
- 7) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny, W, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 350:2335-2342, 2004.
- 8) Furukawa T, Kubota T, Suto A, et al. Clinical usefulness of chemosensitivity testing using the MTT assay. *J Surg Oncol* 48:188-193, 1991.
- 9) Yamaue H, Tanimura H, Noguchi K, et al. Chemosensitivity testing of fresh human gastric cancer with highly purified tumour cells using the MTT assay. *Br J Cancer* 66:794-799, 1992.
- 10) 若槻 尊, 入澤篤志, 高木忠之, 他. 手術不能膵癌患者における超音波内視鏡下穿刺吸引生検材料を用いた感受性試験 (第1報). *膵臓* 22:326, 2007.
- 11) 入澤篤志, 引地拓人, 山雄健次, 他. 膵腫瘍に対する超音波内視鏡下穿刺術. *日消誌* 100:280-291, 2003.
- 12) Wakatsuki T, Irisawa A, Bhutani MS. Comparative study of diagnostic value of cytologic sampling by endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration and that by endoscopic retrograde pancreatography for the management of pancreatic mass without biliary stricture. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1707-1711, 2005.
- 13) Kondo T, Kubota T, Tanimura T, et al. Cumulative results of chemosensitivity test for antitumor agents in Japan. *Anticancer Res* 20:2389-2392, 2000.
- 14) Kawamura H, Ikeda K, Takiyama I, et al. The usefulness of the ATP assay with serum-free culture for chemosensitivity testing of gastrointestinal cancer. *Eur J cancer* 33:960-966, 1997.