

ISSN 1341-1993

Neuro-Oncology

ニューロ・オンコロジー

2000, vol 10, No 2

ニューロ・オンコロジーの会

Neuro-Oncology

ニューロ・オンコロジー

2000. vol 10. No 2

主題

“治療に難渋している脳腫瘍症例の検討”

“脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状”

“その他、「脳腫瘍全般に関する一般演題」”

第20回 ニューロ・オンコロジーの会 (2000,12)

【 目 次 】

はじめに	世話人 東京女子医科大学 堀 智勝	1
I. 総説		
高活性キラーリンパ球の誘導培養法と脳腫瘍の細胞療法の試み	理化学研究所・細胞開発銀行 大野 忠夫	2
II. 総説		
脳腫瘍の遺伝子治療の現況	Assistant Professor of Neurosurgery Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School 藤堂 具紀	10
III. 治療に難渋している脳腫瘍症例の検討		
治療に難渋している脳幹部膠芽腫の一小児例	東京女子医科大学 丸山隆志ほか	16
播種をきたし、治療に難渋したmixed pineocytoma-pineoblastomaの1例	筑波大学 浅川弘之ほか	22
診断・治療に難渋したpineocytomaの一例	慶應義塾大学 林 拓郎ほか	26
再増大を呈したlow grade astrocytomaの治療	東邦大学大森病院 清木義勝ほか	33
進行性片麻痺を生じ、病理組織診断に苦渋している全身性B細胞リンパ腫の一例	千葉県がんセンター 大里克信ほか	39
脊髄腫瘍を伴ったNeurofibromatosis type 2への対応 4自験例の報告から	東京医科大学 秋元治朗ほか	43
診断が困難であった多発性脳腫瘍の1例	弘前大学 田中雅彦ほか	47
IV. 脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状		
悪性グリオーマに対するインターフェロン β の有効性について	横浜市立大学 菅野 洋ほか	52
悪性脳腫瘍に対する養子免疫療法の経験	神奈川県立がんセンター 西村 敏ほか	57
悪性脳腫瘍に対する活性化リンパ球療法	国立がんセンター中央病院 渋谷壮一郎ほか	64
新しい抗癌剤耐性遺伝子MxR1/BCRP/ABCP1の発見	香川医科大学 三宅啓介ほか	69

遺伝子診断に基づいたglioblastomaの治療 74
北里研究所メディカルセンター病院 田中 聡ほか

悪性脳腫瘍の薬剤耐性遺伝子解析に基づいた抗癌剤治療 78
香川医科大学 松本義人ほか

V. その他「脳腫瘍全般に関する一般演題」

HIF-1デコイを用いた腫瘍細胞のVEGF発現制御に関する基礎的研究 82
神戸大学 佐々木真人ほか

Diencephalic syndromeを呈した視床下部gliomaの一例 90
旭川医科大学 程塚 明ほか

膠芽腫後療法中に染色体異常を来した高齢者の一例 96
昭和大学 小林信介ほか

神経膠腫における薬剤耐性遺伝子発現 (MDR-1, MRP) とMIB1-SPECT所見の関連性について 101
香川医科大学 國塩勝三ほか

側頭葉に発生したCystic germinomaの一例 105
北里大学 今野慎吾ほか

放射線誘発髄膜腫と考えられる 2 症例 109
東京女子医科大学 井上龍也ほか

Astrocytic tumorにおける血管新生に関する検討 114
千葉大学 宮川 正ほか

はじめに

第20回という記念すべき時に本会のお世話をさせていただきまして、大変光栄に思います。私は、鳥取大学におりますときに第9回の本会で特別講演をさせていただきましたが、それから5年以上たつた本日、今度はこの会をお世話させて頂くことになり、私なりに感慨深いものがあります。今回の主題は①治療に難渋している脳腫瘍症例の検討、②脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状、③その他「脳腫瘍全般に関する一般演題」とさせていただきました。また教育講演には理化学研究所・細胞開発銀行 大野忠夫先生に「高活性キラーリンパ球の誘導培養法と脳腫瘍の細胞療法の試み」という題でご講演戴きました。大野先生はすでに筑波大学脳神経外科と共同で CTL 療法;NK 療法を行っておられ、立派な成績を出されていますが、私の東京大学教養時代の同級生という縁もあり、さらに症例数を増やし、Primary case にも本治療を適応してみたいとのご希望があつて、東京女子医科大学でも大野先生のお力を借りて治療を始めたばかりです。放射線・化学療法をすべて行って万策つきた症例でも、CTL療法でCRになった症例などをご呈示戴きました。悪性グリオーマに対して有効な治療法の開発が望まれている現在、この治療法の有効性が、近い将来に示されるよう祈つてやみません。教育講演の二つ目はボストンの MGH、Marutzuza 先生の片腕である藤堂具紀先生にお願いしました。藤堂先生はこの講演のためにわざわざボストンから日本に戻つて戴きました、紙面を借りて深謝いたします。「脳腫瘍の遺伝子治療の現況」という題でご講演いただきましたが、実際に臨床試験を計画し、携わつておられる先生のお話で、大変会員にとつても参考になつたご講演でした。遺伝子治療は他の分野でもトピックスになっておりますが、越えなければならないハードルは意外に大きいようですが、21世紀脳神経外科の大きな目標でもあり、米国において活躍されている藤堂先生のご研究がさらに大きな発展を遂げることを祈念してやみません。

一般演題は、今回21題と多くの演題を戴き大変感激しております。特に遠く弘前大学や香川医科大学、神戸大学、旭川医科大学からも御演題を出していただき、本当にありがたいことと感謝申し上げます。いろいろな学会が多く、整理したらどうかという意見もありますが、本学会は事務局の久保先生の熱心さもあり、また Neuro-Oncology という本にご講演の内容が出版されるなど、多くの特色を持っており、派手さはありませんが、脳腫瘍の研究をされている若手の研究者にとって大事な、真摯な議論ができる立派な会だと思います、20回という節目の会をお世話させていただきましたが、世話人としては今回限りで引退させていただき、教室の村垣善浩先生を私の後任として推薦させて頂きました。

終わりに東京地区という、大きな人口を抱えている地でこのような会がずっと続き、少しでも脳腫瘍で苦しんでいる患者さんのためになる研究・治療法がこの研究会で生まれ育つことを期待しております。

第20回ニューロ・オンコロジーの会世話人
東京女子医科大学
脳神経外科 堀 智勝

高活性キラーリンパ球の誘導培養法と 脳腫瘍の細胞療法の試み

Cell therapy of brain tumors with highly active killer lymphocytes induced in vitro

理化学研究所 理研ジーンバンク・細胞開発銀行

大野 忠夫

【はじめに】

難治性の脳腫瘍に対し、我々は従来から期待されていながら今ひとつ評価の定まらない養子免疫療法に焦点をあて、理研ジーンバンク・細胞開発銀行に蓄積された高度の培養技術を生かした細胞療法を開発してきた。臨床における治療法としては、症例数も少なく未だ初期段階にあるものの、培養技術的には完成度の高い、患者末梢血から自家脳腫瘍細胞を特異的に殺せる高活性細胞傷害性Tリンパ球 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) の誘導培養法とその効果について解説する。いささかでも参考にしていただければ幸いである。

なお、以下に述べる臨床例は、筑波大学臨床医学系脳神経外科において施行されたものであり、能勢忠男教授、坪井康次講師を始め多数の方々との共同研究によるものである。本治療法は、1998年秋以来、脳腫瘍分野ではわが国で初めて「高度先進医療」として厚生省から認可され、筑波大附属病院で実施されており、その CTL 培養には細胞開発銀行のスタッフが全面的に協力している。

【ヒト CTL 誘導培養法の開発】

従来は癌の養子免疫療法として、LAK (lymphokine-activated killer) 細胞¹⁾、TIL (tumor-infiltrating lymphocyte)療法²⁾が試みられてきた。しかし、LAK療法は初期の報告ほどには癌治療効果がないこと^{3,4)}、あるいは殺癌細胞効果の強いTIL⁵⁾が取れにくいことから、現在は普及しているとは言い難い。

我々は、この課題に挑戦すべく末梢血リンパ球から CTL を誘導培養する検討を重ねてきた。先ず最初に、LAK 細胞培養にも使用し得る無血清培地 RHAM α ⁶⁾を開発し、これに4種のサイトカイン (IL-1, -2, -4, -6) のカクテル⁷⁾と、長期間培養のためのリンパ球採取者由来の自家血漿を添加し、攻撃

対象としたい癌細胞 (あらかじめ放射線処理しておく) と共存培養すれば、効率よくヒト CTL が in vitro で誘導できることを見いだした (図1)⁸⁾。健常人の抹消血を用いた場合、CTL 誘導には通常 7-10 日かかる。誘導された CTL の活性は高く、標的細胞に使用した日本人肺癌細胞株 SQ-5 を低い Effector/Target (E/T) 比で殺し、他の肺癌株 AOI や A549 は殺さない。また、ナチュラルキラー感受性の K562 細胞も、LAK 感受性の Daudi 細胞も殺さず (図2)、特異性も極めて高い。

【自家 CTL の誘導培養】

臨床適用を考えた場合、もし他人の CTL を使用したならば、患者の正常細胞も攻撃し、臓器移植の際の拒絶反応と逆の免疫疾患 (graft-versus-host disease, GVHD) を引き起こす可能性がある。それゆえ患者自家由来の CTL が必須となる。この際、誘導培養できた CTL が自家癌を特異的に殺し、自己の正常細胞を殺さないことを証明するためには、同一患者の末梢血、培養癌細胞、培養正常細胞の3点セットがなければならない。このような症例に当たることは滅多にないが、幸いにして得られた腎癌手術例から、1個の摘出腎臓から癌細胞と同時に癌が浸潤していない部位から正常腎細胞を培養することができた⁹⁾。この腎癌細胞を用いて誘導できた CTL は、既に報告されている方法に従って培養した NK や LAK の活性に比べてはるかに強力だった (図3)。いったん十分量の癌細胞数が確保できた腎癌症例では、in vitro での CTL 誘導成功率は 90% に達する⁹⁾。我々はこの他に、成功率は必ずしも高くはないが、癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋病理切片を脱パラフィン処理し、CTL を誘導する技術も開発した¹⁰⁾。

また、脳腫瘍の摘出材料の場合は、眼科ハサミでミンスすることによって得た細かい組織から、培養

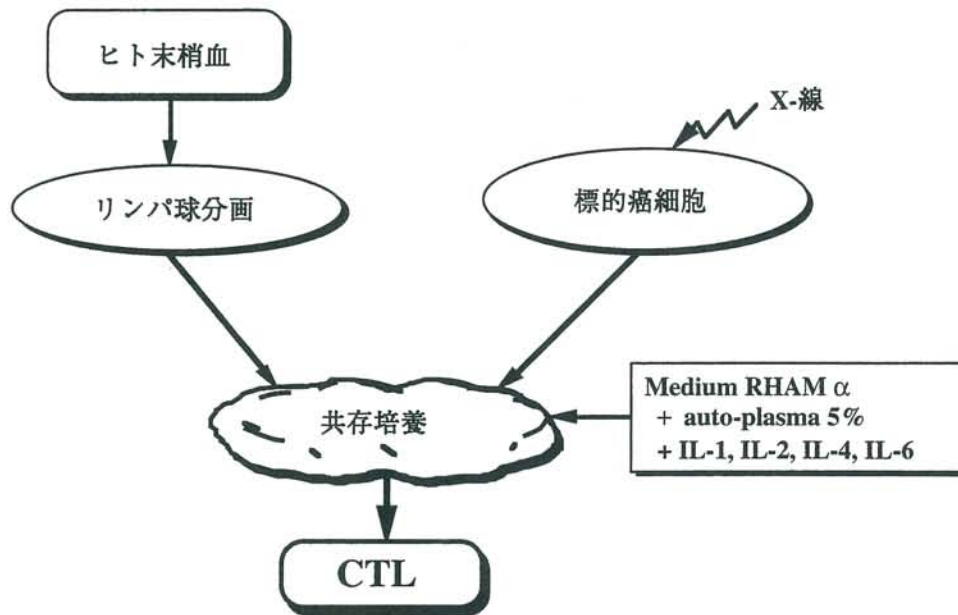


図1 ヒト CTL の誘導培養方法

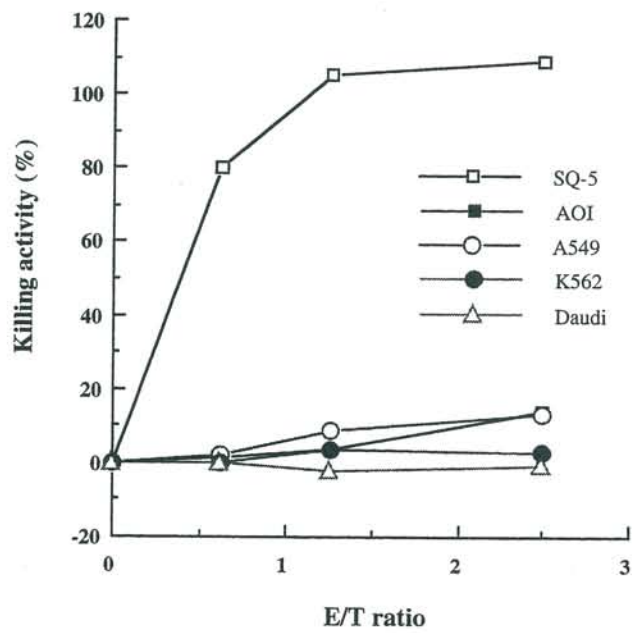


図2 ヒト肺癌細胞株 SQ-5 に対する健康人由来 CTL の抗原細胞特異性

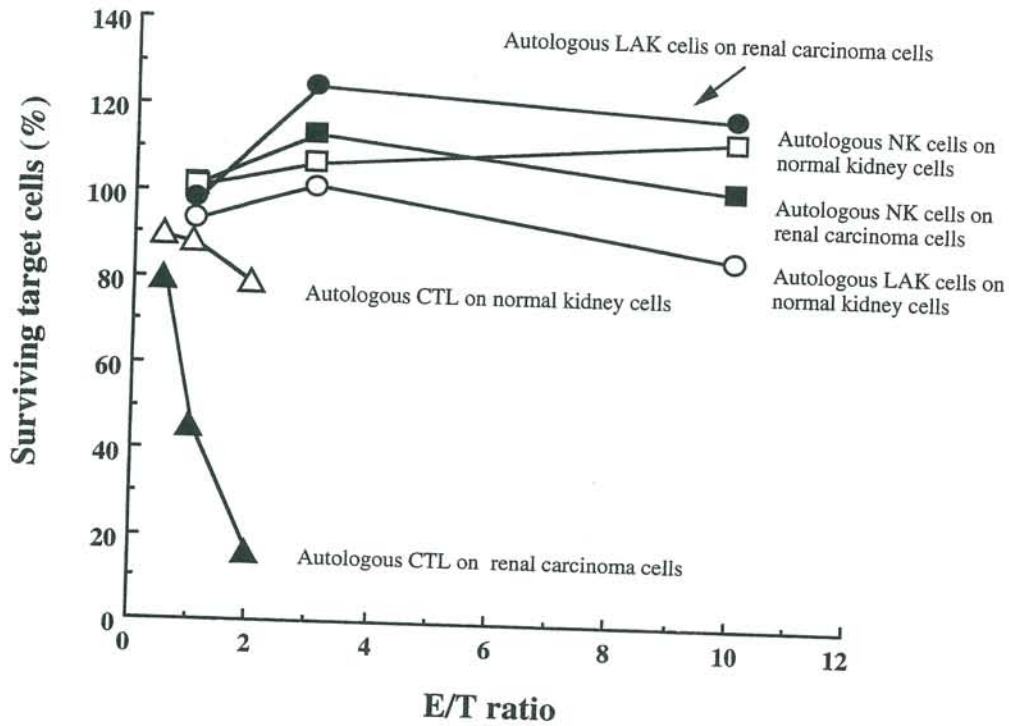


図3 腎癌の一症例における3種のキラー細胞活性の比較

本例では、48時間のkilling assay後、生残付着している標的細胞をクリスタルバイオレット染色法で定量した。したがってキラー活性が高いほど観測値は低い値をしめす。E/T比が低いため、通常20以上あれば観察できるNK細胞、LAK細胞のキラー活性がここでは観察できていない。

数日で比較的簡単に腫瘍細胞が遊走してくる。この性質を利用して、ミンスした glioblastoma multiforme の微小組織を標的細胞代わりに用いて自家 CTL の誘導を試み、成功した¹¹⁾。図4に、このとき同時に同一患者の抹消血から誘導培養した自家 LAK、CTL、また CTL 誘導培地に IFN γ を添加して誘導した CTL IFN γ の活性比較を示す。この実験の CTL 活性測定試験では、誘導キラーリンパ球とミンス組織から這い出したターゲット細胞とを48時間の間、killing assay のための培養をしているものの、E/T比はわずか1.67であり、CTL または CTL IFN γ が LAK に比べて強力なキラー活性を持っていることがわかる。ともあれ、材料確保の問題はあるとはいえ、患者自身の癌細胞を殺し正常細胞を殺さない CTL が癌患者末梢血から誘導できる点は重要である。

【自家 CTL の臨床応用】

上述した結果を受けて、筆者らは筑波大脳神経外科で臨床研究を開始した。体外で培養した細胞を再び体内に戻すには、安全を期すため少なくとも培養中に微生物汚染が起こっていないことと、その CTL

が患者自身のものであることを示す必要がある。この点、細胞開発銀行ならではの培養細胞株の品質検査システムが常備されており、問題なく実施可能である。

図5に示した MRI 画像は、我々が培養した自家 CTL を投与した最初の症例である¹²⁾。23才、女性で、初回手術後、計65Gyの放射線療法、PAV-MTX療法を施行後、再発したため、1995年10月25日に再手術し、glioblastoma multiforme と確定診断された患者である。術後 interferon- α の頭蓋内投与がされているが、増殖阻止はできなかった。1996年3月に患者の意識レベルは stupor の状態となり、呼吸も悪化、終末期の様相となった。

わずかな手術材料をもとに腫瘍細胞の初代培養を進め、誘導した CTL を 2×10^7 個、Ommaya reservoir を通じて直接脳内の手術腔内へ投与した。投与 CTL の標的細胞特異性は図6に示した。投与直後の安全性に関しては全く問題無く、初回投与を終了した。

効果は劇的で MRI 画像から計算された腫瘍体積が投与後1/3に激減した。患者は意識を回復、呼吸も正常化した。この間、軽度の手術腔内出血が認め

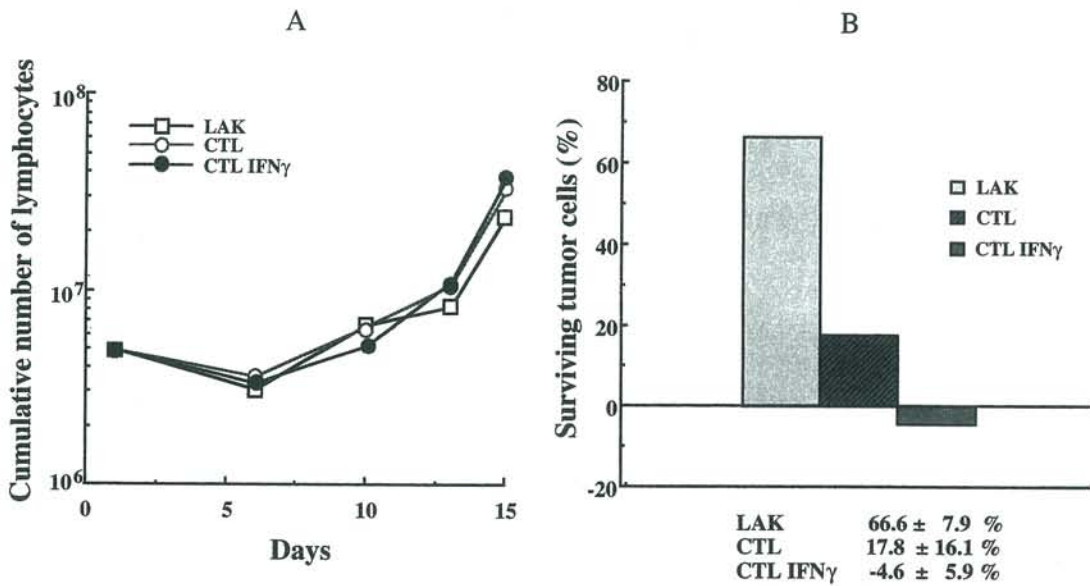


図4 ヒト脳腫瘍組織ミンスに対する自家キラーリンパ球の誘導培養

LAKは培地にIL-2のみを添加しターゲットを用いなくて誘導、CTLは図1の方法により、またCTL IFN γ は、CTL誘導培地にIFN γ を添加して誘導した。A、増殖曲線。B、キラー活性。ターゲットには組織ミンスから這い出した自家 glioblastoma 細胞を使用し、E/T比1.67で48時間培養した後、生残ターゲット細胞数の%で示した。

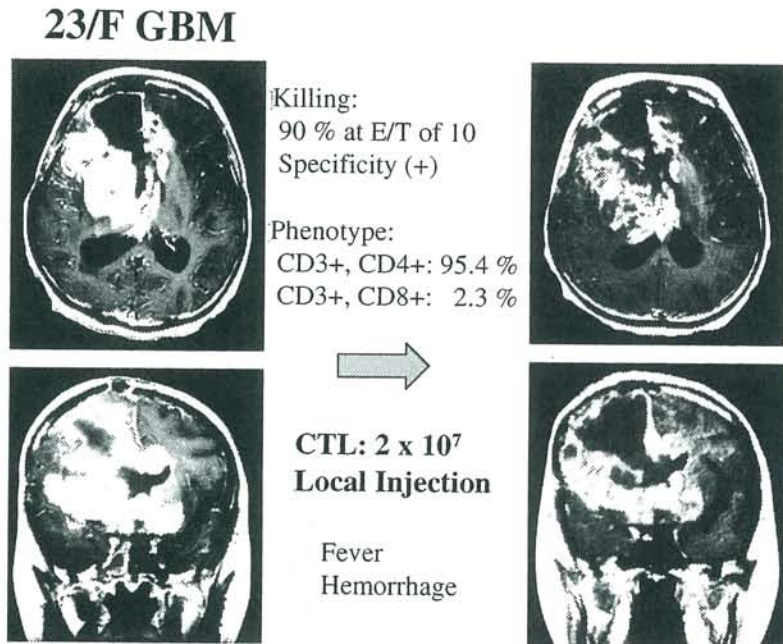


図5 症例1：再発悪性膠芽腫局所に投与した自家CTLによる効果

この症例1は23才女性、1994年6月に亜全摘手術、65Gy照射とPAV療法後、1995年10月に再発摘出術施行。その後interferon- α を投与したが無効であった。左側はCTL投与前、右側は1回目の投与後。キラー活性は24時間、E/T=10でテスト、90%のターゲットを殺した。他の細胞株を殺さず特異性がある。誘導CTLを含むリンパ球群はCD4+の細胞が多い。計3回投与したCTLの総数を記した。副作用としては、一過性発熱と軽度の投与局所出血のみ。特に他の追加治療はしていない。

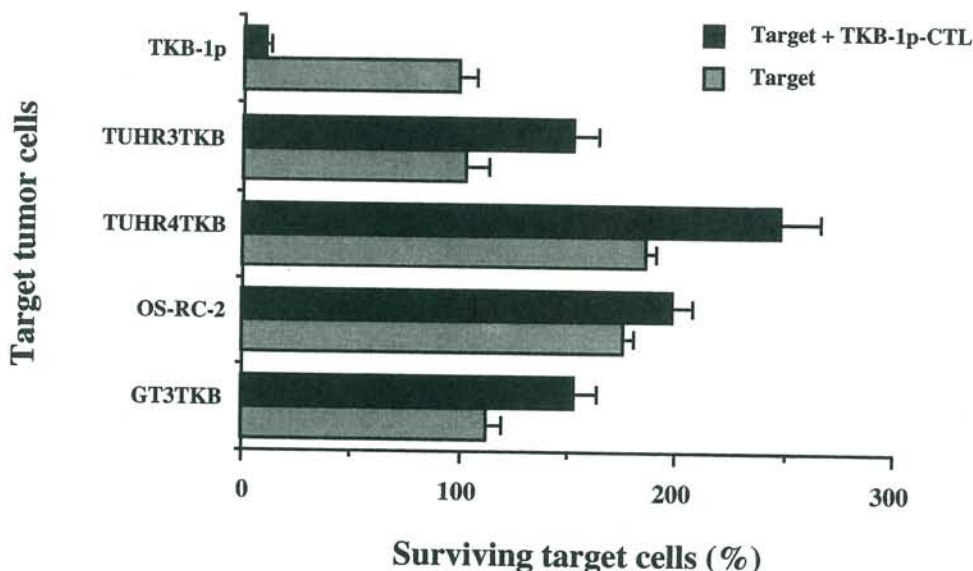


図6 症例1の誘導自家CTLの特異性

TKB-1p、TKB-1p-CTLが患者自家脳腫瘍細胞と自家CTLで、他は他家腎癌と胃 (GT3TKB) である。E/T比=10で24時間のkilling assayを施行。標的細胞の生残率をクリスタルパイオレット染色により定量している。24時間killing培養中に殺されない標的細胞は増殖するため100%を越えるが、患者自家標的細胞は殺され、ほとんど残っていない。

られたが、特段の治療は必要ではなく放置しても問題ない程度であった。容態はその後1ヶ月は落ちついており、この間にさらに3回の投与を繰り返したものの、殺しきれなかった残存腫瘍が再び増殖しはじめ、3ヶ月半後に亡くなっている。しかし、腫瘍容量半減以下の期間が4週間以上であったため、PRと判定した。

図7に示した症例2は、Anaplastic astrocytoma, grade IIIであったが、第1例と同様に、自家CTLを3回投与後、脳腫瘍の容積は半減し退院した。図中、患部の棒状の影は、挿入したOmmaya tubeのものである。そのままの状態を23ヶ月間維持し、PRと判定していたが、急激な再発をきたし亡くなった。

図8、図9はいずれも自家CTL投与後、minor response (MR)と判定された症例である。わずかだが明らかな一過性の腫瘍縮小は認められたものの、いずれも維持はできなかった。

その後、我々は現在も臨床研究を継続しており、定量的評価可能症例が10例を越えた。最新5例では、再発腫瘍と前手術腔境界の膜状組織を除去してから投与するように臨床プロトコルを改良している。現在までのところ、日本癌治療学会による制癌剤の効果判定基準に照らして、MRI画像上、腫瘍組織像が消失したCR1例、PR4例が出ており、ま

た再発巣は不変だが髄液播種巣のみ消失した1症例も経験している (投稿中)。

【結語】

ここで述べた症例はすべて手術・放射線・化学療法という従来療法を経た末期患者である。再発脳腫瘍へのCTL療法は未だ症例数も少ないため治療法として効果があると断定するのは早すぎるし、また、適用症例は再々発を来しているが、少なくとも従来療法では画像上の腫瘍サイズ激減という成績を上げることは困難であろうと憶測している。

腫瘍免疫療法の分野では、癌抗原ペプチドを単離し癌ワクチンとする方法が注目され、筆者らも研究している¹³⁾。最近では、免疫誘導のキーステップにある樹状細胞に癌抗原ペプチドを乗せ、腫瘍ワクチンとして投与する方法が登場し、悪性メラノーマ治療に大きな進歩が見られているが、有効率は31%¹⁴⁾、IL-2大量投与と組み合わせても42%¹⁵⁾である。ただし、正常細胞と共通する抗原ペプチドを用いるので自己免疫疾患を引き起こす可能性が指摘されている¹⁶⁾。脳腫瘍特異的で汎用可能な抗原が見つければ大いに期待できよう。しかしその前に、ここで述べた細胞療法も十分検討に値するのではなかろうか。

62/M GBM

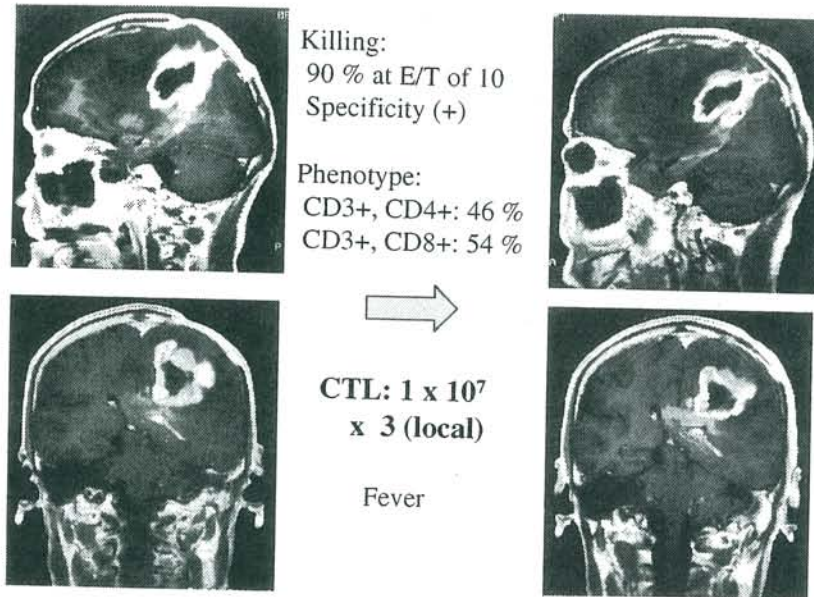


図9 症例4：再発悪性膠芽腫局所に投与した自家CTLによる効果。

この症例は62才男性、1996年12月に亜全摘手術、64Gy照射。病理診断はGBM。1997年4月再発。

【文献】

- 1) Rosenberg S. A., Lotze, M.T., Muul, L. M. et al.: Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N. Engl. J. Med.*, 313: 1485-1492, 1985.
- 2) Rosenberg S. A., Lotze, M. T., Muul, L. M. et al.: A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N. Engl. J. Med.*, 316: 889-897, 1987.
- 3) Rosenberg S. A., Packard, B. S., Aebersold, P. M.: Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N. Engl. J. Med.*, 319: 1676-80, 1988.
- 4) Fisher, R. I., Coltman, C. A., Doroshow, J. H., et al.: Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells - a phase II clinical trial. *Annals Internal Med.* 108: 518-523, 1988.
- 5) Topalian, S. L., Solomon, D. and Rosenberg, S. A.: Tumor-specific cytotoxicity by lymphocytes infiltrating human melanomas. *J. Immunol.* 142: 3714-3725, 1989.
- 6) Kawai, K., Sasaki, T., Saijo, K., et al.: Additive effects of antitumor drugs and lymphokine-activated killer cell cytotoxic activity in tumor cell killing determined by lactate-dehydrogenase-release assay. *Cancer Immunol. Immunother.* 35: 225-229, 1992.
- 7) Nakashima, M., Watanabe, T., Koprowski, H., et al.: In vitro expansion of tumor-specific, HLA-restricted human CD8⁺ cytolytic T lymphocytes. *Cell. Immunol.* 155: 53-61, 1994.
- 8) Liu, S. Q., Shiba, R., Kim, B. S., et al.: Long-term serum/plasma-free culture of human cytotoxic T lymphocytes induced from peripheral blood. *Cancer Immunol. Immunother.*, 39: 279-285, 1994.
- 9) Liu, S. Q., Kawai, K., Shiraiwa, H., et al.: High rate of induction of human autologous cytotoxic T lymphocytes against renal carcinoma cells cultured with an interleukin cocktail. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89: 1195-1201, 1998.
- 10) Liu, S. Q., Shiraiwa, H., Kawai, K., et al.: Tumor-specific autologous cytotoxic T lymphocytes from tissue sections. *Nature Med.* 2: 1283-1283, 1997.
- 11) Tsurushima, H., Liu, S. Q., Tsuboi, K., et al.: Induction of human cytotoxic T lymphocytes against minced tissues of glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 84: 258-263, 1996.
- 12) Tsurushima, H., Liu, S. Q., Tsuboi, K., et al.: Reduction of end-stage malignant glioma by injection

- with autologous cytotoxic T lymphocytes. *Jpn. J. Cancer Res.* 90: 536-545, 1999.
- 13) Kim, C., Matsumura, M., Saijo, K. et al.: In vitro induction of HLA-A2402-restricted and carcinoembryonic-antigen-specific cytotoxic T lymphocytes on fixed autologous peripheral blood cells. *Cancer Immunol. Immunother.* 47: 90-96, 1998.
- 14) Nestle, F. O., Aljagic, S., Gilliet, M., et al.: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med.* 4: 328-32, 1998.
- 15) Rosenberg, S. A., Yang, J. C., Schwartzentruber, D.J., et al.: Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nature Med.* 4: 321-7, 1998.
- 16) Ludewig, B., Ochsenbein, A. F., Odermatt, B., et al.: Immunotherapy with dendritic cells directed against tumor antigens shared with normal host cells results in severe autoimmune disease. *J. Exp. Med.* 191: 795-804, 2000.

脳腫瘍の遺伝子治療の現況

Updates of Brain Tumor Gene Therapy

ハーバード大学医学部マサチューセッツ総合病院脳神経外科

藤堂具紀

【はじめに】

1988年に米国で遺伝子マーキングの臨床プロトコールが承認されて以来、1990年には単一遺伝子疾患、更に多因性の遺伝子疾患（腫瘍性病変）へと適応が拡大され急速に臨床治験の申請が増加した。当初、米国の遺伝子治療の臨床プロトコールの審査は、FDA（食品医薬品局）とNIH（国立衛生研究所）のRAC（Recombinant DNA Advisory Committee）の2本立てで行われ、いずれも安全性、科学的根拠及び方法論の妥当性等を吟味したが、後者は科学者以外に法律家や倫理学の専門家なども委員に含まれ、審議を公開してその透明性と社会的コンセンサスを得ることに主眼をおいた。プロトコールの急増に伴い、1995年の後半よりFDAのみの承認となったが、RACはその後も存続し、主に新しい遺伝子治療法の審議を行ってFDAに対するアドバイザーとしての役割を果たしている。1997年には米国での臨床プロトコール申請数がピークに達したが、その後は減少傾向にあり、これは初期の治験結果が期待ほど十分な効果を示すに至っていないのを受けて、再度基礎研究に重点を置く最近の風潮を反映している。

現在までに世界で、遺伝子治療の臨床プロトコールは既に530件以上あり、その内約4分の3が米国で行われている。88%が安全性を評価する第I相或いはI/II相の治験であり、小規模に効果を評価する第II相に至ったものが10%、多施設での大規模な効果評価の第III相に至ったものはまだ1%にも満たない。遺伝子導入方法は、ウィルスベクターが最も多く利用されており、38%がレトロウィルスベクターであるが、最近ではアデノウィルスベクター（25%）が増加している。リポフェクション（13%）、naked/plasmid DNA（9%）がこれに続いている。疾患別に見ると、約3分の2が癌（腫瘍性病変）を対象にしており、その治療デザイン（アプローチ）は、癌遺伝子治療のほぼ3分の2が免疫遺伝子治療に分類される。初期には*in vitro*で癌細胞などに遺伝子導入を行ってからそれを患者に投与する*ex vivo*法の癌ワクチンが主流であったが、近年は腫瘍内で直接遺伝子導入を行

って*in vivo*で抗腫瘍免疫を惹起する方法が主流となりつつある。

米国のRACを通じて申請された臨床治験の内、脳腫瘍を対象にしたものは2000年11月現在で22件行われている（表1）。すでに報告されている初期の治験結果を中心に、脳腫瘍の遺伝子治療の現況を概説する。

【自殺遺伝子治療】

脳腫瘍を対象とした遺伝子治療として現在までに最も数多く臨床治験が行われているのは、単純ヘルペスウィルス（HSV）のチミジンキナーゼ遺伝子（tk）を腫瘍細胞に導入し、プロドラッグとしてガンシクロビル（ganciclovir: GCV）を全身投与する自殺遺伝子治療である。米国では1992年を皮切りに現在まで12件の臨床プロトコールが実施され、また唯一第III相治験まで進んでいる方法である。自殺遺伝子治療とは、ウィルスや細菌由来の特定の代謝酵素遺伝子を“自殺遺伝子”として腫瘍細胞に導入したのち、抗ウィルス薬や抗微生物薬などのプロドラッグを全身投与する遺伝子治療法である。用いられるプロドラッグは、哺乳動物細胞が通常もつ酵素では代謝されず、導入された遺伝子を発現する細胞のみで代謝・活性化され、細胞毒性を有する物質に変換されるため、遺伝子導入細胞を選択的に死滅させることができる。この手法の最大の利点は、HSV-tk遺伝子を導入した腫瘍細胞の割合よりはるかに多くの細胞が死滅する現象が見られることで、バystander効果（bystander effect）と呼ばれる。その機序として、*in vitro*では、HSV-tk発現細胞にて生じたGCV-3リン酸が、connexin43などのギャップジャンクションを介して隣接する細胞に流入して細胞毒性を発揮するとされるが、*in vivo*では、HSV-tk/GCV療法で殺細胞効果に伴って惹起される抗腫瘍免疫の関与が大きいとされる。

初期の臨床治験には、レトロウィルスベクターが用いられたが、ベクターそのものを直接腫瘍内へ投与しても遺伝子導入効率が極めて悪いため、ベクタ

表 1. 脳腫瘍を対象とした遺伝子治療の臨床試験 (米国RAO申請分)

プロトコール番号	対象疾患	導入遺伝子	ベクター	in/ex vivo	投与内容	投与経路	治験相	NIH/FDA承認日
自殺遺伝子								
9206-019	脳腫瘍	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内定位的	第I相	92.8.14
9303-037	再発神経膠芽腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内直接	第I相	93.4.16
9306-050	小児再発悪性星細胞腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内 (Ommaya)	第I相	93.9.3
9309-055	小児再発脳腫瘍	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内直接	第I相	93.10.7
9312-059	癌腔内播種	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	脳室内・髄腔内	第I相	94.1.20
9409-089	悪性脳腫瘍	HSV-tk	アデノウイルス	in vivo	ベクター	腫瘍内定位的	第I相	96.2.2
9412-098	悪性脳腫瘍	HSV-tk	アデノウイルス	in vivo	ベクター	腫瘍内定位的	第I相	96.2.2
9502-099	再発悪性神経膠腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内定位的	第I相	95.2.10
9605-154	悪性神経膠腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内直接	第I相	96.5.1
9608-157	初発神経膠芽腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内直接	第III相	96.8.22
9611-167	再発神経膠芽腫	HSV-tk	レトロウイルス	in vivo	ベクター-産生細胞	腫瘍内直接	第II相	97.1.6
9701-175	再発神経膠芽腫	HSV-tk	アデノウイルス	in vivo	ベクター	腫瘍内定位的	第I相	97.2.12
免疫治療								
9406-080	神経膠芽腫	IL-2	レトロウイルス	ex vivo	自己腫瘍細胞	皮下	第I相	94.7.12
9508-116	悪性神経膠腫	IL-4	レトロウイルス	ex vivo	自己腫瘍細胞	皮下	第I相	95.8.7
9306-052	神経膠芽腫	IGF-1アンチセンス	リポソーム	ex vivo	自己腫瘍細胞	皮下	第I相	93.12.2
9512-138	悪性神経膠腫	TGF-β2アンチセンス	electroporation	ex vivo	自己腫瘍細胞	皮下	第I相	96.4.2
9906-325	悪性神経膠腫	IFN-β	アデノウイルス	in vivo	ベクター	腫瘍内定位的	第I相	99.7.21
9911-355	悪性神経膠腫	GM-CSF	electroporation	ex vivo	異系腫瘍細胞 +線維芽細胞	皮下	第I相	00.2.3
癌抑制遺伝子								
9808-263	悪性神経膠腫	p53	アデノウイルス	in vivo	ベクター	腫瘍内	第I相	98.8.13
抗癌剤耐性遺伝子								
9306-051	脳腫瘍・卵巣癌	MDR-1	レトロウイルス	ex vivo	OD34*自己骨髄細胞	骨髄移植	第I相	93.9.3
9701-173	脳腫瘍	MGMT	レトロウイルス	ex vivo	OD34*末梢血細胞	静脈内	第I相	97.2.4
ウイルス療法								
9802-235	再発悪性神経膠腫	(lacZ)	ヘルペスウイルス	in vivo	増殖型ウイルス	腫瘍内定位的	第I相	98.2.10

HSV-tk: herpes simplex virus thymidine kinase; IL-2: interleukin 2; IL-4: interleukin 4; IGF-1: insulin-like growth factor 1
 MDR-1: multiple drug resistance gene-1; MGMT: O⁶-Methylguanine DNA methyltransferase

NIH, Office of Recombinant DNA Activities (ORDA)のHuman Gene Transfer Protocol List (2000年11月20日)による。

一産生細胞 (vector producing cells, VPC; 通常はマウス線維芽細胞) を投与する方法が用いられた。Ram Z et al.¹⁰⁾は、最初の第 I 相治験結果を報告した。15 例 (再発悪性グリオーマ 12 例、転移性脳腫瘍 3 例) を対象に、VPC を定位的に腫瘍内投与し、2 週間後に GCV (5mg/kg) が 14 日間投与された。その結果、腫瘍縮小は、中でも小さい方の腫瘍(1.4±0.5 ml) 5 例のみに観察された。腫瘍細胞の遺伝子導入効率はわずか 0.17%であった。また、副作用として痙攣発作、頭痛、汎血球減少、髄膜炎などが見られた。Klatzmann D et al.⁴⁾は、再発神経膠芽腫 12 例を対象とした第 I/II 相治験の結果を報告した。腫瘍の肉眼的全摘後、腫瘍腔内に VPC を注入し、2 週間後 GCV (5mg/kg) を 14 日間投与した。平均生存期間は 206 日で、3 例が 1 年以上生存した。腫瘍細胞への遺伝子導入は、6 例中 3 例のみにて PCR で検出された。また重度の副作用も目立ち、クモ膜下出血から死に至ったもの 1 例、細菌性髄膜炎 2 例、不全片麻痺と菌血症 1 例、腫瘍の脳室内播種をきたして死亡したものが 1 例あった。Shand N et al.¹¹⁾は、11 施設で再発神経膠芽腫 48 例を対象に行った少し大きな規模の第 I/II 相治験結果を報告し、同様のプロトコールが用いられた。ここでは、4 例にて腫瘍の一時的縮小が見られ、1 例の長期生存 (>31 カ月) があった。平均生存期間は 8.6 カ月、1 年生存率は 27%だった。剖検または再摘出で得られた腫瘍組織 18 例中 5 例より導入遺伝子が PCR で検出された。副作用として、痙攣発作、水頭症、片麻痺などが観察された。小児を対象とした第 I 相治験の結果は Packer RJ et al.⁷⁾により報告され、小児再発悪性脳腫瘍 12 例 (malignant glioma 7, ependymoma 2, PNET 3) を対象とした。腫瘍腔内に VPC を注入し (≤ 10 ml)、やはり 2 週間後 GCV (5mg/kg) を 14 日間投与した。副作用として一過性の神経症状が 4 例に認められ (意識障害、痙攣、不全片麻痺、脳浮腫)、その他に敗血症、シャント不全、帯状疱疹が見られた。11 例中 10 例で腫瘍増大が見られ、1 例のみ腫瘍が進行せず 2 年以上生存した。5 例 (術後 14 日~8 ヶ月) のうち 1 例のみから PCR でベクター DNA が検出された。

治験結果は、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率が *in vivo* では予想よりはるかに悪いことを示した。更に、VPC が異種細胞であることによる免疫原性とそれにより惹起される炎症と脳浮腫、GCV を投与すると VPC も死滅することなどの問題点も指摘された。替わってアデノウイルスベクターが用いられるようになり、Trask TW et al.¹⁹⁾が、再発悪性グリオーマ 13 例を対象にした第 I 相治験を報告した。アデノウイルスベクター (Adv.RSVtk, $2 \times 10^9 \cdot 2 \times 10^{12}$ virus particles) が腫瘍内に定位的に注入され (1 ml/5 min)、翌日より GCV (5mg/kg) を 1 日 2 回、

14 日間投与した。 2×10^{12} vp の投与を行った 2 例とも、24 時間以内に意識障害を生じ、この量ではベクター自体に毒性があることが判明した。他の副作用として低 Na 血症、発熱、1 例に水頭症が認められた。治療後 2 年以上生存が 3 例あり (GBM 2, AA 1)、腫瘍の一過性縮小 が 1 例あった (AA)。12 例中 10 例にアデノウイルス抗体価上昇を認めた。

【免疫遺伝子治療】

免疫系を modulate する蛋白の遺伝子を用いて抗腫瘍免疫を惹起する遺伝子治療で、導入遺伝子としてサイトカイン (IL-2, IL-4, IL-12, IL-18, GM-CSF, IFN- γ) や共刺激因子 (B7-1, B7-2)、免疫原性を増強する因子 (TGF- β アンチセンス、IGF-(特)アンチセンス、allogeneic な組織適合性抗原) などを用いる。脳腫瘍を対象として、それぞれ異なる導入遺伝子を用いた 6 件の第 I 相臨床プロトコールが米国で実施されている。最近の 1 件を除いては、いわゆる *ex vivo* 法 (genetically modified autologous tumor cell-based vaccine) で、摘出した腫瘍より培養した細胞に免疫調節遺伝子を *in vitro* で導入し、それを患者の皮下に投与して特異的抗腫瘍免疫の誘導を期待するワクチン療法である。Sobol RE et al.¹²⁾が、IL-2 を用いた遺伝子治療の 1 例報告をしている。再発神経膠芽腫の 52 歳の女性患者を対象とし、放射線処理した IL-2 遺伝子導入腫瘍細胞 (10^7 個) をワクチンとして定位的放射線手術 1 カ月後から皮下投与開始し、2~4 週間間隔で合計 10 回行った。末梢血から得られた単核球が、3 回目のワクチン以降は治療開始前の 3~4 倍の腫瘍細胞融解活性を示したと報告されているが、IL-2 療法開始 1 週間後より脳浮腫が悪化してステロイド投与を併用しており、腫瘍は増大し続けて 10 カ月後に患者は死亡している。

Insulin-like growth factor (IGF)-I のアンチセンスを発現するプラスミドを導入した腫瘍細胞を皮下投与すると、T 細胞を介した特異的抗腫瘍免疫反応が惹起され、脳腫瘍の縮小が見られることがラット C6 グリオーマモデルで示された²⁰⁾。これを応用した遺伝子治療が Case Western Reserve University で神経膠芽腫の患者を対象に行われ Anthony DD et al.¹⁾が結果を報告した。摘出した腫瘍より得られた培養細胞に IGF-I アンチセンスを発現するプラスミドをリポフェクション法で導入し Hygromycin B で選択した。導入細胞では IGF-I の発現が 60% 減少しているほか、MHC class I や B7-1 の発現が増加していることが示された。IGF-I アンチセンス遺伝子が導入され IGF-I の発現が減少した腫瘍細胞の確立に成功したのは、16 例中 12 例であった。しかし、遺伝子導入細胞の確立過程に時間がかかり、この間に 5 例の腫瘍が悪化して死亡または治験が受けられなくなり、2 例が待ち

きれずに他の治療に転向した。少なくとも1回の免疫遺伝子治療を受けられたのは結局5例となり、いずれも腫瘍は既に進行した状態で、ステロイド治療を併用した。治療後1例で腫瘍の縮小がCT上観察され、1例で腫瘍増大が一時的に停止した。この試験では、悪性グリオーマの進行の早さに比較し、*in vitro*での遺伝子導入細胞の確立過程に長い時間を要するという *ex vivo* 法の欠点が明らかとなった。

これに対し、ベクターを直接腫瘍に到達させて *in situ* にて腫瘍細胞に遺伝子を導入するいわゆる *in vivo* 法の実用性が認識され、現在は腫瘍治療の主流となりつつある。実験的脳腫瘍では、IL-12 や分泌型 B7-1 を用いた遺伝子治療の有用性が示されている^{8,15)}。悪性神経膠腫を対象に、アデノウイルスベクターを用いて interferon β 遺伝子を腫瘍内に直接導入する方法が米国で臨床で試されている。

【癌抑制遺伝子を用いた遺伝子治療】

癌抑制遺伝子の変異が存在する腫瘍細胞に正常な癌抑制遺伝子を導入したり、癌抑制遺伝子の過剰発現により腫瘍細胞の増殖停止やアポトーシスを誘導する遺伝子治療は、合理的なアプローチといえる。*In vivo* における実験的遺伝子治療でグリオーマに有効性が認められた癌抑制遺伝子には、p53、E2F-1、MMAC1/PTENなどがあげられるが、脳腫瘍の臨床で試されているのは現在のところ p53 だけである。p53 は、グリオーマの30%以上に変異が見られ、かつ悪性化初期の遺伝子変化であるという利点がある。更に、放射線治療や化学療法との併用で増強効果があり、*in vivo* にて腫瘍血管新生の抑制を介してバスタンダー効果を呈するという報告もある。一方、野生型 p53 を発現する腫瘍細胞では無効であることも多く、p21 過剰発現の腫瘍（グリオーマの70%以上）では p53 誘導性アポトーシスに抵抗性を示す。癌抑制遺伝子を用いた遺伝子治療の共通で最大の問題点は、基本的に遺伝子導入細胞のみに効果が現れることから、100%の細胞に目的の遺伝子が導入されない限り腫瘍の治癒には至らない点である。現存のベクターでは、遺伝子分配効率が到底理想に及ばない状況であるため、このアプローチは合理的ではあるが実用性に難がある。最近、HSV 構造蛋白の VP22 がそれを発現する細胞の細胞質から出て周囲の細胞に取り込まれて核に集積する性質を利用し、p53 と VP22 の融合蛋白を作って、p53 の機能を保ったまま周囲の非導入細胞へ広がらせて広範なアポトーシスを誘導する方法が提唱された⁹⁾。この様な工夫によっては、現存のベクターでも有効な治療アプローチとなる可能性も残されている。

【ウイルス療法】

遺伝子を細胞内に導入することを唯一の目的とした非増殖性(replication-incompetent)ウイルスベクターやリポソームに対し、増殖性(replication-competent)ウイルスベクターは腫瘍選択的に増殖することが可能で、導入遺伝子の運び屋として利用すると、ベクターの腫瘍内増幅により、広範な遺伝子分配が期待される。また、ウイルス感染と増殖に伴う直接的な殺細胞効果により、感染した腫瘍細胞は最終的に死滅するため、特定の遺伝子を導入をせずとも腫瘍を治癒させることが可能で、これをウイルス療法(oncolytic virus therapy)と呼んで、遺伝子治療と区別することもある。腫瘍内での増殖能を最大限に保ちつつ、正常組織での病原性を最小限に押さえるため、通常ウイルスゲノムに遺伝子操作を加えた変異ウイルスを用いる。脳腫瘍の分野では、単純ヘルペスウイルス(HSV)ベクターの開発が最も進んでおり、アデノウイルスやレオウイルスも試されている。

現在、米国で脳腫瘍を対象に臨床試験が行われている G207 は、ウイルスの2つの γ 34.5 遺伝子(病原性に関連した遺伝子)双方の欠失と lacZ 遺伝子挿入による ICP6 遺伝子(ribonucleotide reductase)の不活化という二重変異を有する第2世代の増殖性 HSV ベクターである⁶⁾。G207 は、脳腫瘍治療に有利な以下の特徴を有する。1)腫瘍特異的に増殖して殺細胞効果を呈する一方、正常脳組織では明らかな急性期毒性を示さない。2)GCV に対して高い感受性を示す。3)野生型 HSV-1 に戻る(revert)可能性がゼロに等しい。4)組織化学マーカー(lacZ 遺伝子)が存在する。また、G207 は HSV-1 strainF 由来であることから、37°C では増殖するが 39.5°C では増殖しないという温度感受性を有する。

G207 は種々のヒトグリオーマ及び悪性髄膜腫細胞株に対し高い殺細胞効果を示し、*in vitro* では MOI 0.1 で3~6日以内に腫瘍細胞を全滅させる^{6,21)}。一方、同じ投与量でラットの初代培養の神経細胞や星状細胞には影響を及ぼさない。この効果はそのまま *in vivo* にも反映され、ヌードマウスの頭蓋内に形成された U87MG グリオーマや F5 悪性髄膜腫に G207 ($2\sim 5 \times 10^6$ plaque-forming units (pfu)) を1回腫瘍内投与すると生存期間が延長する。G207 は現在までに60種以上の細胞株で試され、脳腫瘍に限らず、血液腫瘍を除くあらゆるタイプのヒトの腫瘍に有効であることが確かめられている¹³⁾。正常免疫マウスの脳腫瘍にも G207 は有効であるばかりでなく、G207 の腫瘍内増殖が特異的抗腫瘍免疫を惹起して効果が増強する¹⁸⁾。ステロイド免疫抑制下においても腫瘍内のウイルス増殖に変化はなく、基本的な抗腫瘍効果に影響は無いが、ステロイド長期投与では CTL 活性の抑制に伴い、腫瘍の治癒率が減少する¹⁷⁾。また、

成人の60~70%はHSV-1に対する抗体を保有するが、予め非致死量のHSV-1を投与して抗体を形成させたマウスで調べた結果、G207の抗腫瘍効果は血中の抗HSV-1抗体には全く影響されない²⁾。G207を臨床に用いるのに先立って、数多くのマウスやサルを用いて慎重な安全性評価がなされ、達成しうる最高量のG207でも脳内、脳室内投与で毒性がないことが確認された^{3,14)}。

G207の第I相臨床試験は再発悪性グリオーマの21例を対象に、ジョージタウン大学とアラバマ大学バーミングハム校にて行われた⁵⁾。10⁶ pfuから徐々に投与量を増やして3例ずつ3×10⁹ pfuまで、増強CTの増強部位に定位的に腫瘍内投与された。その結果、G207に起因する中〜重度の副作用は認めず、軽度の副作用として痙攣発作2例、脳浮腫1例を認めた。1例(3×10⁸ pfu)が投与後24時間以内に見当識障害と構語障害を呈したが、投与14日後の定位的生検は腫瘍所見のみで炎症を認めず、HSV免疫染色も陰性であった。投与3ヶ月以上後の、腫瘍増大では説明できない神経症状悪化が2例あったが、いずれも生検でHSV免疫染色が陰性であった。生検或いは再摘出術で得られた腫瘍組織7例中2例でPCRにてG207 DNAが検出された(投与後56日と157日)。G207投与後、Karnofskyスコアの改善が6例(29%)に認められた。経時的MRI評価を行った20例中8例に腫瘍の縮小を認めたが、脳梗塞で死亡した1例を除いた全例にて再増大を認めた。ステロイド投与にも関わらず、術前抗HSV-1抗体が陰性であった5例中1例に陽転を認めた。剖検が5例で行われ、脳病理はいずれも脳炎や白質変性を認めず、HSV-1免疫染色陰性であった。3例にて腫瘍が脳の1領域に限局し、神経膠芽腫に通常見られるような腫瘍細胞の周囲脳組織への著明な浸潤を認めなかった。脳梗塞で死亡した1例では残存腫瘍を認めなかった。第I相試験では、G207の3×10⁹ pfuまでの脳内投与の安全性が確認され、一部の患者では抗腫瘍効果を示唆する所見が得られたため、現在第II相臨床試験の計画が進んでいる。

【結語】

第I/II相臨床試験の結果から、脳腫瘍に限らず腫瘍性病変に対する遺伝子治療においては、導入遺伝子の分配の効率を上げることの重要性が認識された。これまで目立った治療効果が得られていないとはいえ、腫瘍性病変に対する遺伝子治療への期待はなお高く、基礎研究は益々盛んとなっており、より良い治療デザインの開発とベクター開発が試みられている。前者は特に免疫遺伝子治療の開発研究が盛んであるが、脳腫瘍に関しては、脳がいわゆるimmune privilegedであり且つステロイド投与や脳腫瘍細胞か

らの免疫抑制性因子の分泌により免疫抑制環境にあることや、非特異的炎症に伴う脳浮腫を最小限に抑える必要があるなどの特殊な条件を考慮し、強力で腫瘍特異性の高い治療法をデザインする必要がある。後者は、増殖性ウィルスベクターの利用が注目され、G207による安全性が確認された現在、脳腫瘍に対して今後はより効果の高いベクターの開発と応用が進むものと思われる。すでにIL-12などのサイトカイン遺伝子を発現する増殖性HSVベクターや⁸⁾、G207の安全性を保ちつつ抗腫瘍効果を改善した第3世代増殖性HSVベクターも開発されており¹⁶⁾、今後臨床への応用が期待される。

【文献】

- 1) Anthony, D. D., Pan, Y. X., Wu, S. G. et al.: Ex vivo and in vivo IGF-I antisense RNA strategies for treatment of cancer in humans. *Adv Exp Med Biol*, 451:27-34, 1998.
- 2) Chahlavi, A., Rabkin, S. D., Todo, T. et al.: Effect of prior exposure to herpes simplex virus 1 on viral vector-mediated tumor therapy in immunocompetent mice. *Gene Ther.*, 6:1751-1758, 1999.
- 3) Hunter, W. D., Martuza, R. L., Feigenbaum, F. et al.: Attenuated, replication-competent herpes simplex virus type 1 mutant G207: safety evaluation of intracerebral injection in nonhuman primates. *J. Virol.*, 73:6319-6326, 1999.
- 4) Klatzmann, D., Valery, C. A., Bensimon, G. et al.: A phase I/II study of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase "suicide" gene therapy for recurrent glioblastoma. Study Group on Gene Therapy for Glioblastoma. *Hum. Gene Ther.*, 9:2595-2604, 1998.
- 5) Markert, J. M., Medlock, M. D., Rabkin, S. D. et al.: Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial [see comments]. *Gene Ther.*, 7:867-874, 2000.
- 6) Mineta, T., Rabkin, S. D., Yazaki, T. et al.: Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med*, 1:938-943, 1995.
- 7) Packer, R. J., Raffel, C., Villablanca, J. G. et al.: Treatment of progressive or recurrent pediatric malignant supratentorial brain tumors with herpes simplex virus thymidine kinase gene vector-producer cells followed by intravenous ganciclovir administration. *J. Neurosurg.*, 92:249-254, 2000.
- 8) Parker, J. N., Gillespie, G. Y., Love, C. E. et al.: Engineered herpes simplex virus expressing IL-12 in the treatment of experimental murine brain tumors.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:2208-2213, 2000.
- 9) Phelan, A., Elliott, G., O'Hare, P.: Intracellular delivery of functional p53 by the herpesvirus protein VP22. *Nat. Biotechnol.*, 16:440-443, 1998.
 - 10) Ram, Z., Culver, K. W., Oshiro, E. M. et al.: Therapy of malignant brain tumors by intratumoral implantation of retroviral vector-producing cells [see comments]. *Nat. Med.*, 3:1354-1361, 1997.
 - 11) Shand, N., Weber, F., Mariani, L. et al.: A phase 1-2 clinical trial of gene therapy for recurrent glioblastoma multiforme by tumor transduction with the herpes simplex thymidine kinase gene followed by ganciclovir. GLI328 European-Canadian Study Group. *Hum. Gene Ther.*, 10:2325-2335, 1999.
 - 12) Sobol, R. E., Fakhrai, H., Shawler, D. et al.: Interleukin-2 gene therapy in a patient with glioblastoma. *Gene Ther.*, 2:164-167, 1995.
 - 13) Todo, T., Ebright, M. I., Fong, Y. et al.: Oncolytic herpes simplex virus (G207) therapy for cancer: from basic to clinical. In: *Tumor Suppressing Viruses, Genes, and Drugs - Innovative Cancer Therapy Approaches*. (ed. by Maruta, H.), Academic Press, San Diego, 2001 (in press).
 - 14) Todo, T., Feigenbaum, F., Rabkin, S. D. et al.: Viral shedding and biodistribution of G207, a multimutated, conditionally-replicating herpes simplex virus type 1, after intracerebral inoculation in *Aotus*. *Mol. Ther.*, 2:588-595, 2000.
 - 15) Todo, T., Martuza, R. L., Dallman, M. J. et al.: *In situ* expression of soluble B7-1 in the context of oncolytic herpes simplex virus induces potent antitumor immunity. *Cancer Res.*, 61:153-161, 2001.
 - 16) Todo, T., Martuza, R. L., Rabkin, S. D. et al.: Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. 2001 (in press).
 - 17) Todo, T., Rabkin, S. D., Chahlavi, A. et al.: Corticosteroid administration does not affect viral oncolytic activity, but inhibits antitumor immunity in replication-competent herpes simplex virus tumor therapy. *Hum. Gene Ther.*, 10:2869-2878, 1999.
 - 18) Todo, T., Rabkin, S. D., Sundaresan, P. et al.: Systemic antitumor immunity in experimental brain tumor therapy using a multimutated, replication-competent herpes simplex virus. *Hum. Gene Ther.*, 10:2741-2755, 1999.
 - 19) Trask, T. W., Trask, R. P., Aguilar-Cordova, E. et al.: Phase I study of adenoviral delivery of the HSV-tk gene and ganciclovir administration in patients with recurrent malignant brain tumors. *Mol. Ther.*, 1:195-203, 2000.
 - 20) Trojan, J., Johnson, T. R., Rudin, S. D. et al.: Treatment and prevention of rat glioblastoma by immunogenic C6 cells expressing antisense insulin-like growth factor I RNA. *Science*, 259:94-97, 1993.
 - 21) Yazaki, T., Manz, H. J., Rabkin, S. D. et al.: Treatment of human malignant meningiomas by G207, a replication-competent multimutated herpes simplex virus 1. *Cancer Res.*, 55:4752-4756, 1995.

治療に難渋している脳幹部膠芽腫の一例

東京女子医科大学 脳神経センター 脳神経外科
理化学研究所 理研ジーンバンク・細胞開発銀行*

丸山 隆志、村垣 善浩、町田 隆一、大野 忠夫*、西條 薫*、久保 長生、堀 智勝

【はじめに】

脳幹部神経膠腫には比較的良性で長期生存症例も見られるが、膠芽腫はその治療予後はきわめて不良で、いまだ確立した治療手段が定まらず放射線療法、化学療法など種々の治療法が施行されたが予後の改善は得られていない。特に脳幹部神経膠腫の場合は小児の発症例も多く、治療に難渋することが多い。今回、我々は脳幹部膠芽腫に対し外科治療および免疫療法を施行した8歳の小児例を集学的治療に免疫療法を加えた初期経験症例として報告する。

【症例】

8歳、男児

主訴：頭痛、複視

発症：平成12年2月、上記出現する。徐々に右不全麻痺が出現し近位受診し、頭部CTにて脳幹部腫瘍指摘される。精査加療目的にて当科に入院した。

入院時所見：意識清明、左眼球外転障害、右半身不全麻痺(4/5MMT)を認める。画像所見は第4脳室から脳幹部にかけて腫瘍が見られた(Fig.1)。

入院後の経過：同年4月27日、第一回腫瘍摘出術を行う。組織診断は膠芽腫である(Fig.3-a,b)。その後、化学療法(ACHU 50mg、VCR 0.1mg)と放射線療法(局所20Gy、total 50Gy)を行った。第一回目の術後の画像所見は腫瘍の部分摘出像である(Fig.2)。術後に上記症状は一時的に改善したため6月25日自宅退院する(KP score = 80%)。しかし、8月下旬より上記症状進行したため再入院した。入院時には右不全麻痺(4/5 MMT)に加え右半身感覚低下が著明となる(KP score = 60%)。腫瘍は嚢胞性変化を呈している(Fig.4)。9月25日、open MRIを用いた腫瘍部分摘出術および腫瘍リザーバーの留置を行った。術後 KP score = 40%)。術後の画像所見では腫瘍は比較的よく摘出された(Fig.5-a:手術前 Fig.5-b:手術後)。11月1日よりNK細胞を用いた免疫療法を開始、一週毎の計3回の投与を行なった。NK療法前のMRIでは腫瘍の摘出腔周囲に腫瘍の増大が見られたが、投与後一週間でのMRIでは腫瘍の gadrinium での造影効果が不均一

となっていることが確認された(Fig.6)。NK療法終了一ヶ月後の画像所見では直後と比較すると腫瘍の急速な増大所見を呈した(Fig.7)。

NK療法：

NK療法は20mlの末梢静脈血を一週毎に計3回採取、分離されIL-2による刺激を行い2週間培養を行なう。投与経路およびNK細胞数は下記のとおりである。本治療は理化学研究所細胞開発銀行と牛久愛和総合病院脳神経外科の協力を得て行われた。

第一回 11月1日、

局所 5×10^8 cell、全身 7×10^8 cell

第二回 11月8日、

局所 5.5×10^8 cell、全身 5.5×10^8 cell

第三回 11月15日、局所 2.95×10^8 cell

摘出標本の病理組織学的所見(Fig.3)：

第1回目摘出標本は細胞密度の高い腫瘍組織で cell pleomorphism, nuclear atypism の強い細胞からなり多数の核分裂像が見られた。細胞質はGFAP陽性、vimentin陽性の未分化の細胞で構成されており、血管内皮の増生や壊死像も観察された。MIB-1陽性率14%であった。2回目の摘出標本では上記の所見と同様だがMIB-1陽性率は24%まで上昇していた。これらより、glioblastoma multiformeと診断した。

転帰：上記の積極的治療にもかかわらず、その後腫瘍増大が急速に進行し、永眠した。

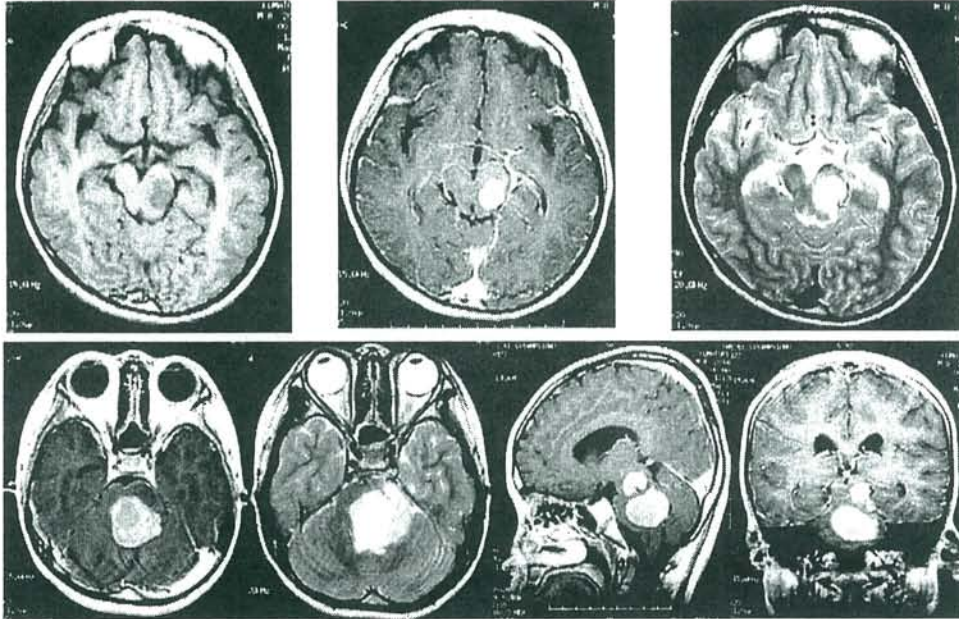
【考察】

脳幹部神経膠腫は小児に発症することが多く、その中でもintrinsic typeの場合、1年生存率50%以下と非常に予後が悪いことが知られている¹⁾。特に、脳幹内に首座を持つ腫瘍の場合、積極的外科切除術は合併症を引き起こす事が多く保存的治療が選択されることが多いが、放射線照射法の進歩や化学療法の併用にもかかわらず予後の改善は見られていない^{2,3)}。

今回の症例では、この脳幹部悪性神経膠腫に対し術中MRIを用いて積極的な腫瘍摘出を行ない、後療

Fig.1

入院時画像所見 2000/4/21



第一回手術後 2000/5/12

Fig.2

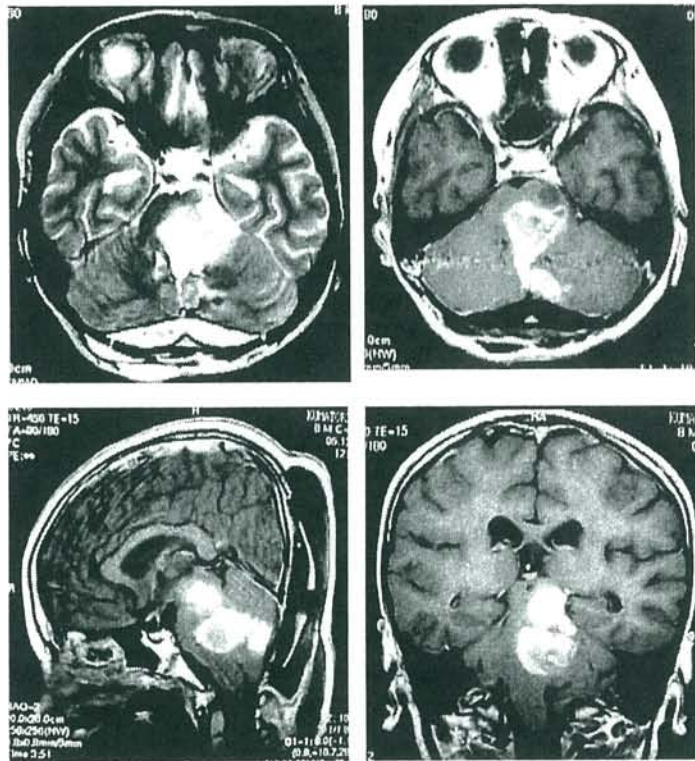
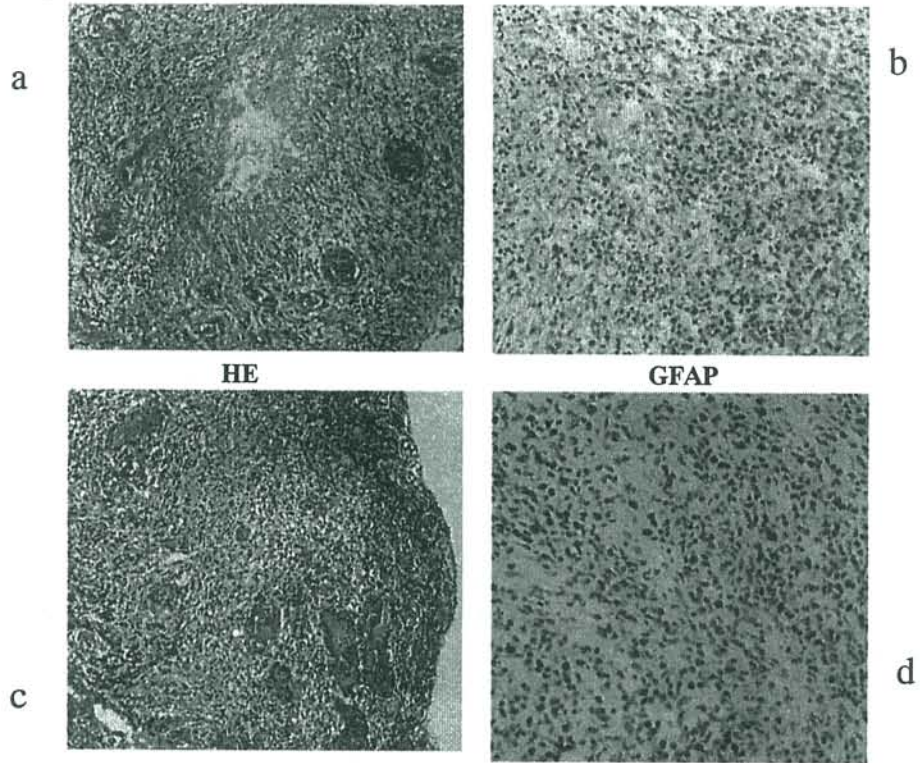


Fig.3 摘出組織の病理像



1回目MIB-1=14% 2回目MIB-1=24%

Fig.4 第二回 ope前画像 2000/9/22

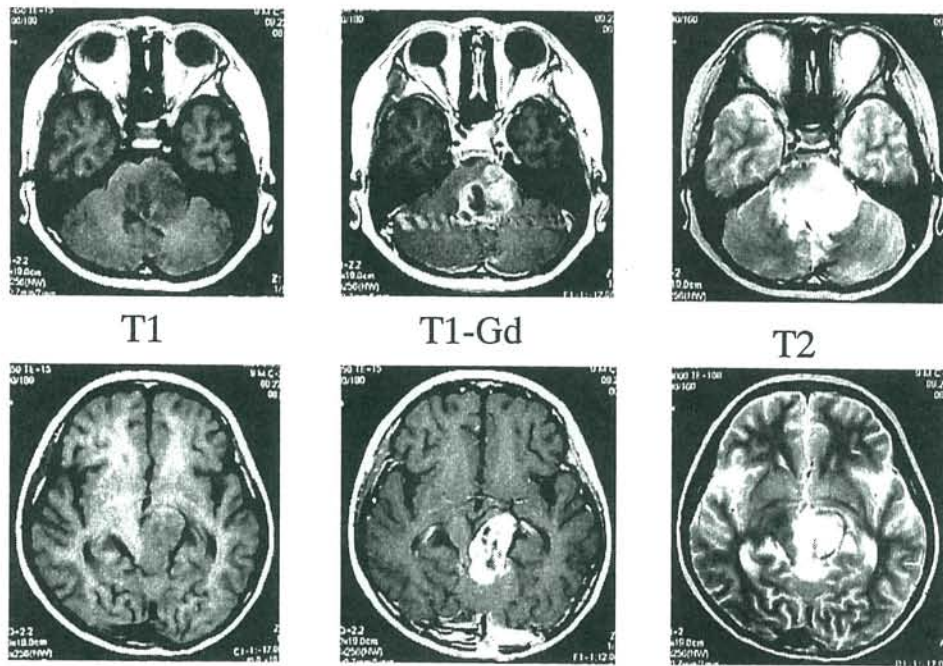


Fig.5

第二回 ope前後画像

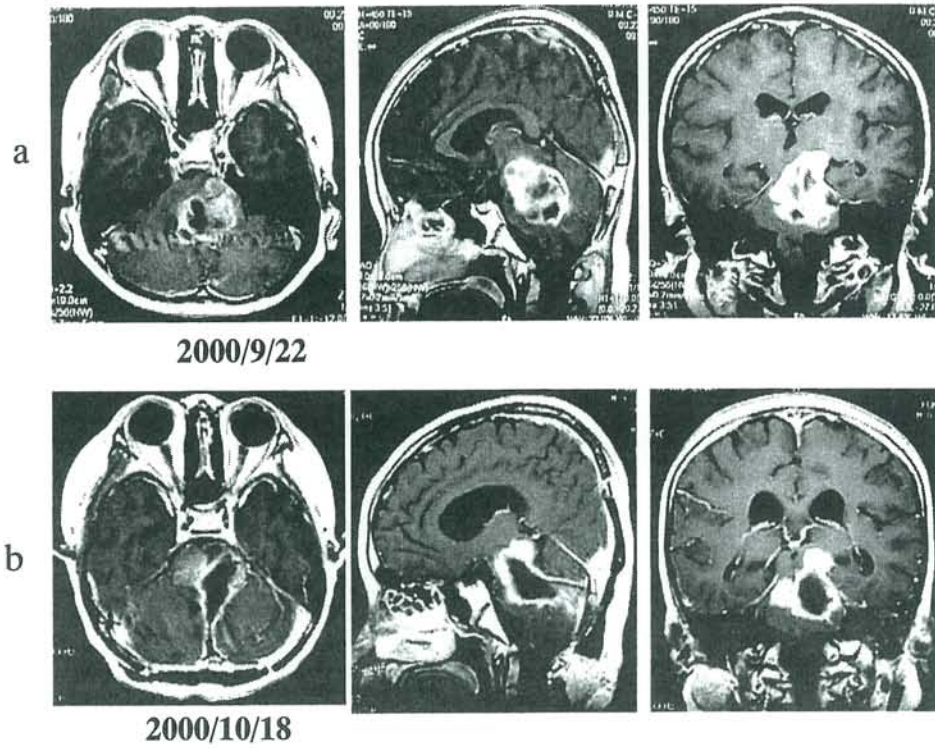
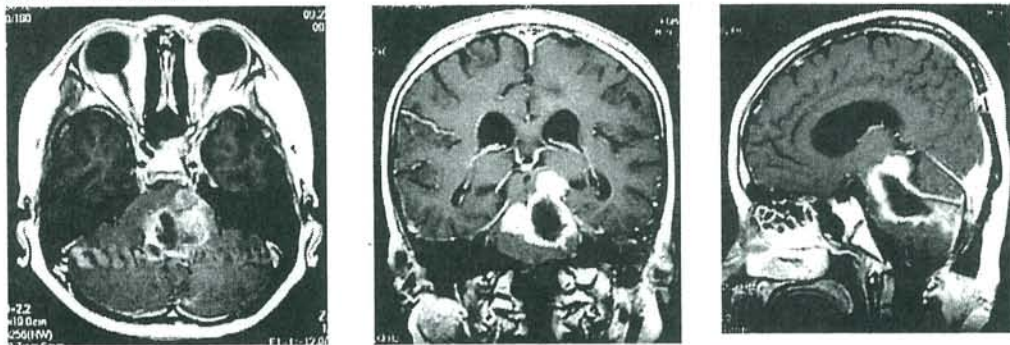


Fig.6

NK療法前後 画像

NK療法前 2000/10/18



NK療法後 2000/11/21

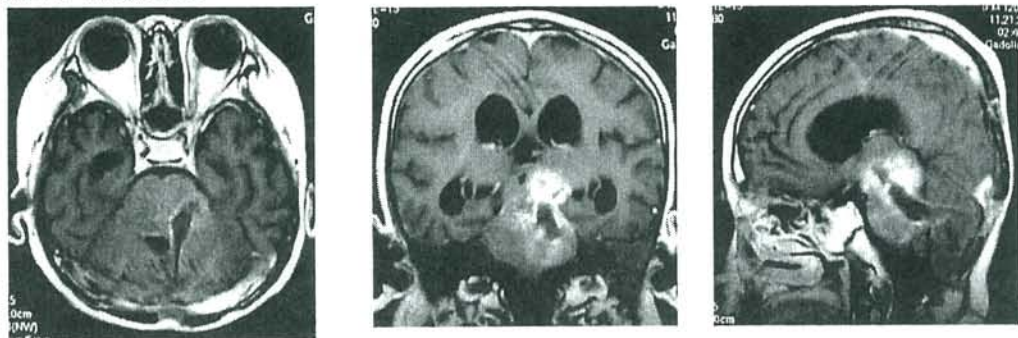
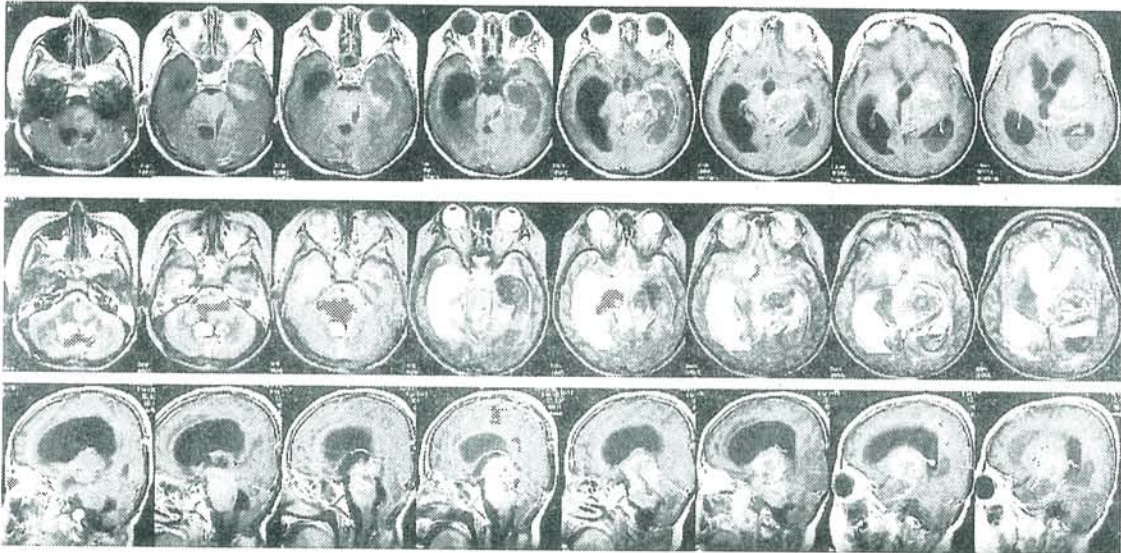


Fig.7

NK療法終了後一ヶ月 画像



法として NK 療法を施行した。脳幹部腫瘍摘出に open MRI および real-time Navigation system を併用することによる利点は、1) 現在の操作野や到達深度を確認することが可能となる、2) 術中のみならず術直後に MRI 撮像を行なうことが可能となることである。特に脳幹部腫瘍の場合には積極的に手術を行なうことにより、これまで画像診断にて組織型を推測することが多かった症例に対し、摘出組織からの確定診断が可能となった。ただし、navigation の誤差を 2mm 以下にすることは難しい事から、正常部分との境界領域では合併症を避けるためにも腫瘍の残存はやむを得ないと考える。特に肉眼的に正常部分と区別がつかない部位での信頼度は今後の症例数の蓄積が必要となるであろう。また、繰り返しの MRI の撮像が必要となるため手術時間が長くなること、造影剤の複数回の投与による false positive を生じることを認識していなければならない。本症例では腫瘍の部分摘出にて脳幹への圧迫が一時的でも改善され、神経症状の改善による自宅への一時退院が可能となった。また、NK 療法を行うための時間的余裕も確保することができた。現時点では腫瘍摘出術は予後の改善のためではなく、治療および quality of life のための時間の延長を目的とすると考えている。

本症例では CTL を目的として、第二回腫瘍摘出時、腫瘍細胞の初期培養を行なった。しかし、細胞の成長速度が遅く短期間での CTL の誘導はできなかった^{4,5)}。本症例では一度目の摘出の後、放射線療法、化学療法を行なっているため細胞の成長が遅延したことが予測される。

NK 療法後の経過として一週間後の MRI で Gd による造影効果に変化したことが観察された。すなわち腫瘍の辺縁が不明瞭となり造影効果が減弱したかのごとき所見が得られた。この時、T2-WI では周辺浮腫等の増強は見られていない。この時点での組織が得られないため NK 療法の効果を直接証明することはできないが、なんらかの腫瘍への作用があることが予想される。実際に、他の症例で同様の効果と共に腫瘍サイズの減少が観察されたものがあり、今後の症例数の蓄積により明らかになるであろう。

本症例の問題点としては、NK 療法前の KP-score の低さ、および摘出術後から NK 療法開始までの期間が長かったことが挙げられる。特に神経膠腫の場合の KP-score と予後との相関が指摘されているが、本例でも術前の KP-score は 40% と低下しており腫瘍による症状が進行した状態であった。NK 療法は採血から投与まで 5 週間をひとつのクールと設定している。これに加えて術中に腫瘍リザーバーを留置してから最初の採血までの時間を考えると約二ヶ月を要することとなる。この間、症例によっては摘出腔表面に fibrous tissue が形成され NK 細胞の腫瘍内への到達が制限されることや、腫瘍リザーバーの閉塞、腫瘍の増大による全身状態の悪化などの不確定要素が影響することは充分考えられる。NK 療法の効果をあげること、患者の生活の質を低下させないためにも KP-score が高く摘出術後早期より NK 療法を開始できる条件が必要になるであろう。今後脳幹部も含めて膠芽腫の集学的治療には手術療法を含めたさまざまな工夫がまだまだ必要である。

【結語】

- 1) 脳幹部悪性神経膠腫の一例を報告した。
- 2) 脳幹部腫瘍摘出における術中 MRI の有用性および問題点を指摘した。
- 3) 後療法としての NK 療法を行い画像上の変化を観察した。

本研究の一部は（財）車両競技公益資金記念財団の助成金の援助を受けました。

【文献】

- 1) Epstein FJ, et al :Brain-stem gliomas growth patterns. J Neurosurg 78:408-412,1993
- 2) Epstein FJ, et al :Intrinsic brain-stem tumors of childhood: Surgical indications. J Neurosurg 64:11-15,1986
- 3) Kahn AP: Surgical management of brain-stem tumors in children: Results and statistical analysis of 75cases. J Neurosurg 79: 845-852, 1993
- 4) Saijo, Y., X. Hong, M. Tanaka, R. Tazawa, S. Q. Liu, K. Saijo, T. Ohno, K. Koike, K. Ohkuda, K. Saitoh, and T. Nukiwa: Autologous High-Killing Cytotoxic T Lymphocytes against Human Lung Cancer Are Induced Using Interleukin (IL)-1b, IL-2, IL-4, and IL-6: Possible Involvement of Dendritic Cells, Clinical Cancer Research, 5, 1203-1209, 1999
- 5) 大野忠夫：細胞医薬-生きている細胞を用いるがんの免疫療法、ファルマシア、36: 683-687, 2000.

播種をきたし、治療に難渋した mixed pineocytoma / pineoblastoma の一例

A case report of mixed pineocytoma / pineoblastoma

筑波大学付属病院脳神経外科

浅川弘之、松村 明、片山 亘、高野晋吾、坪井康次、能勢忠男

【はじめに】

我々は mixed pineocytoma / pineoblastoma の治療中にくも膜下腔、脊髓腔に播種をきたし、放射線治療や化学療法にて反応性はあるものの時期をおいて再発を繰り返している症例を経験しており、その治療上の問題点や対策について考察したので報告する。

【症例】44歳、男性

【主訴】頭蓋内圧亢進症状 水頭症

【経過】平成5年(1993年)、10月水頭症病態にて発症した。頭部MRIにて、松果体部にガドリニウムにて一様に増強される腫瘍と、脳室拡大を認めた(Fig.1)。開頭腫瘍摘出術とV-Pシャント術を施行した。病理組織診断にて、Pineocytomaと手術直後に診断され、松果体部にプロトン局所照射を50Gy施行した。3ヶ月後、再度組織を検討し直し、診断は、Pineoblastomaとのmixed typeとなり(Fig.2)、シスプラチン、エトポシドによる化学療法を開始した。以後半年毎にスケジュール化学療法を継続した。平成7年(1995年)、頭部MRIにて右側脳室前角と延髄後方に播種を認め(Fig.3上段)、新たに、全脳照射(37.5Gy、松果体部を避けた)と全脊髄照射(30Gy)を施行した。照射後、播種は消失した(Fig.3下段)。その後約3年間、腫瘍再発を認めなかった。平成10年(1998年)、右上肢のしびれを訴え、頸髄MRIにてC6/7において、脊髓の右側優位に脊髓およびルートの大腫大とガドリニウムによる増強効果を認め(Fig.4)、脊髓播種と考えた。また、同時期に新たに、左側頭部に播種病巣が出現した(Fig.5)。イフォスファミドを加え、化学療法を継続して施行した。C6/7の増強効果は軽減したが、新たに、延髄後方、C4/5、Th8に播種が出現した。脳室壁にも播種と思われる所見を認めた。左側頭部の腫瘍は、一時消失傾向であったが、再び増大傾向がみられたため、化学療法(ICE)に加えてStereotactic radiotherapy(SRT)を40Gy加えて経過観察中である。

【考察】

本例での治療経過の問題点として、1)全脳照射の適応とその時期の選択 2)脊髓播種が出現した1998年までの約3年間のtumor freeの時期の化学療法の必要性の2点を考えた。本例は手術直後はpineocytomaとの診断であったが、病理組織の検討により、約3ヶ月後にpineoblastomaとのmixed typeと変更になった。Rubinsteinら¹⁾は、neuronal differentiationにてpineocytomaを分類し、Boritら²⁾は、臨床像及び、組織学的に、pineocytoma / pineoblastomaを検討している。また、Schildら³⁾は、pineal parenchymal tumor(PPT)を(1)pineocytomas (2)PPT with intermediate differentiation (3)mixed PPT exhibiting elements of both pineocytoma and pineoblastoma (4)pineoblastomaに分類し診断における電顕所見について報告している。Numotoら⁴⁾は、pineocytomaに比べ、pineoblastomaに有意にMIB-1 labeling indexが高いことを示し、pineoblastoma, mixed pineocytoma / pineoblastomaの診断の有用性を報告している。Boritらの、臨床像の分類²⁾と比較すると本例では、多発性の播種は、pineoblastomaを支持し、成人発症、ゆっくりした経過や、浸潤様式などは、pineocytomaの性格をもつと考えられた。これらの所見は、mixed pineocytoma / pineoblastomaの臨床像と一致するものと考えられた。

治療として、pineocytoma / pineoblastomaには、化学療法、放射線療法が併用されているが、その効果については、是非があり^{5~7)}、確立された治療法はない。本例では、1)局所照射後の再発。2)再発後の全脳、全脊髄照射にて再発巣の縮小と消失。3)スケジュールの化学療法の施行により長期生存を得た。以上3点より放射線療法及び、化学療法の効果を認めたと考えられた。本例では初回診断においてpineocytomaであったことより、局所照射を初期治療としておこなったため、その後の診断の変更によりスケジュール化学療法にて対処をしていたが、その

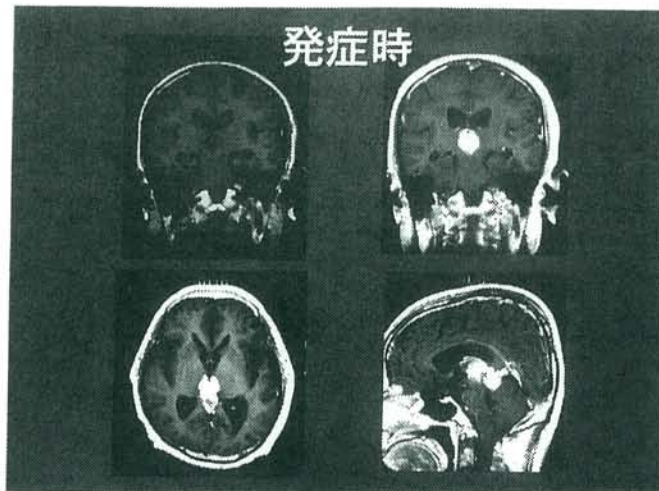


Fig. 1

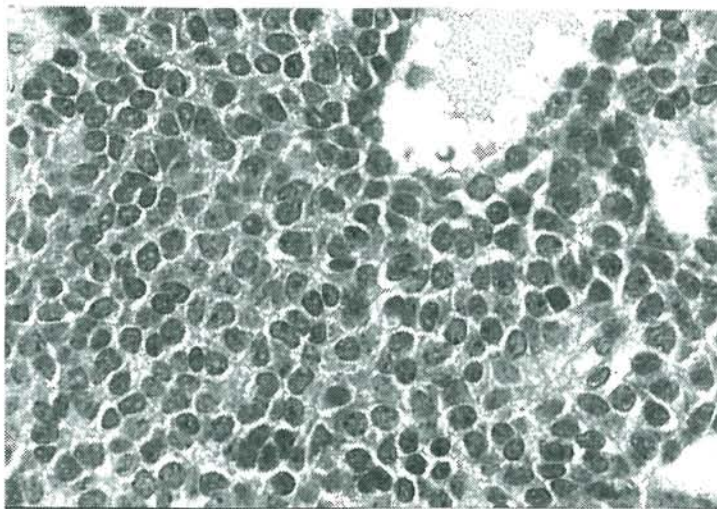


Fig. 2

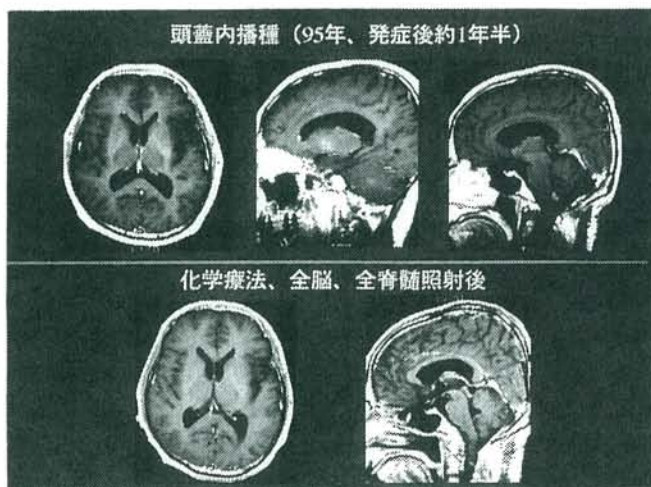


Fig. 3

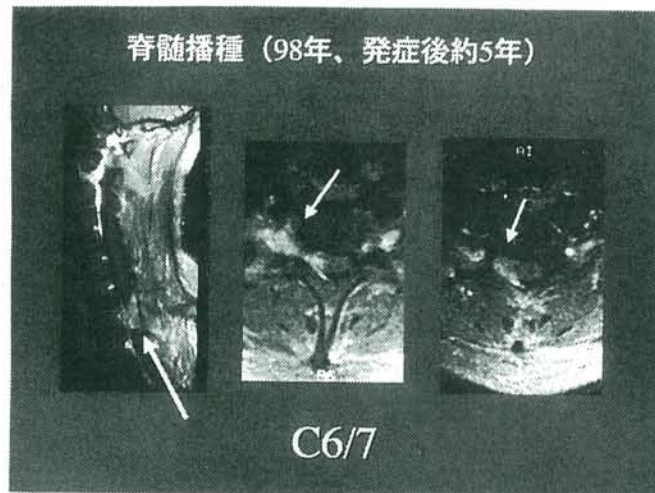


Fig. 4

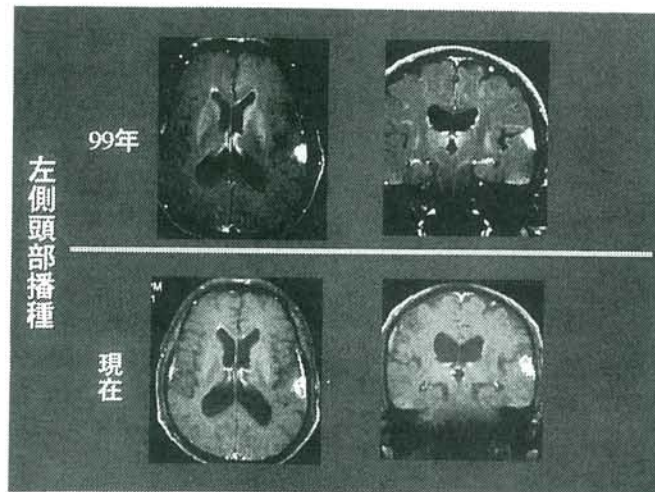


Fig. 5

後化学療法でも播種をきたしたため全脳全脊髄照射を行うことになった。初回の時点で全脳・全脊髄照射で1年8ヶ月後の播種を防止できたかどうかは不明であるが、pineocytoma / pineoblastoma の初期治療として全脳・全脊髄照射が効果があるかどうかは今後さらなる症例の積み重ねによって明らかになると思われる。

Pineoblastoma では多発性、脊髄播種は、予後不良因子である⁵⁾。本例は全経過は約7年と pineoblastoma としては、経過は長期と考えられる。しかし、leptomeningeal dissemination や、multiple CSF seeding を認め、長期的には予後不良と考えられる。今後さらなる化学療法の施行や、再発部位への放射線局所照射の必要に迫られている。今後の可能性としては

播種に対して髄腔内灌流療法などについても検討を行う予定である⁸⁾。

【結語】

Mixed pineocytoma / pineoblastoma の希な症例の臨床像を提示した。今回の症例の経過からその治療において retrospective に経過を分析すると mixed pineocytoma / pineoblastoma においても早期の全脳全脊髄照射及び、化学療法の導入の可能性も考えられ、今後さらなる症例の検討が必要と思われる。mixed pineocytoma / pineoblastoma は長期的にみると予後不良と考えられ、pineoblastoma に準じた追加治療の検討が必要と考えられた。

【文献】

- 1) Rubinstein LJ. : Cytogenesis and differentiation of pineal neoplasms. Human Pathology 12 (5) : 441- 448 , 1981
- 2) Borit A, Blackwood W, Mair WGP. : The separation of pineocytoma from pineoblastoma. Cancer 45 : 1408- 1418 , 1980
- 3) Schild SE, Scheithauer BW, Schomberg PJ, Hook CC, Kelly PJ, Frick L, Robinow JS, Buskirk SJ. : Pineal parenchymal tumors : clinical, pathologic, and therapeutic aspects. Cancer 72 : 870- 880, 1993
- 4) Numoto RT. : Pineal parenchymal tumors : cell differentiation and prognosis. J Cancer Res Clin Oncol 120 : 683- 690, 1994
- 5) Chang SM, Lillis-Hearne PK, Prados MD, et al. : Pineoblastoma in adults. Neurosurgery 37(3) : 383-391, 1995
- 6) Ghim TT, Davis P, Seo JJ, Crocker I, O'Brien M, Krawiecki N. : Response to neoadjuvant chemotherapy in children with pineoblastoma. Cancer 72 : 1795-1800, 1993
- 7) Kurisaka M, Arisawa M, Moriki A, Mori K. : Successful combination chemotherapy (cisplatin, binblastin, and bleomycin) with small-dose irradiation in the treatment of pineoblastoma metastasized into spinal cord : Surg Neurol 39 : 152-157, 1993
- 8) 河内正人、北村伊佐雄、後藤智明、松本陽子、上岡龍一、大河内秀昭、山田直子、生塩之敬 : 悪性脳腫瘍髄腔内播種に対する髄腔内化学療法 . Neuro-Oncology 9(1) : 2-13, 1999

診断、治療に難渋した pineal region tumor の一例

pineal region tumor with difficulty in diagnosis and treatment — a case report —

慶應義塾大学医学部 脳神経外科¹⁾ 病理診断部²⁾

林 拓郎¹⁾、吉田一成、河瀬 斌、亀山香織²⁾、池田栄二

【はじめに】

Pineal region に発生する主な腫瘍として pineal parenchymal tumor, germ cell tumor のほか glioma や第三脳室を発生母地とする ependymoma が挙げられる。これらの臨床経過や治療法は各々により異なり、画像および病理診断が重要である。また、その適切な早期診断は治療の選択に関わり、機能予後をも左右する。

今回われわれは、画像所見、病理像において診断に苦慮し、その治療過程においてもいくつかの討議すべき点をもつ症例を経験したので、診断および治療について考察を加え報告する。

【症例】

患者：30歳、女性

主訴：複視、傾眠

現病歴：1995年3月、頭痛、嘔気を主訴に他院を受診した。Magnetic resonance imaging (MRI) (Figure 1)にて松果体部腫瘍、水頭症と診断され、放射線治療(局所照射 60Gy)を施行した。この治療に際して生検、腫瘍マーカーによる検討はなされていなかった。同年5月のMRI (Figure 2)では腫瘍は縮小しており、外来通院加療となった。以後、臨床経過良好のため定期的な通院をしなかったが、1997年10月に軽度の意識障害のため同院を受診し、画像所見上、水頭症と診断され脳室腹腔短絡術を施行した。症状は軽快するも、1998年7月に複視を認めるようになり、同年10月には傾眠傾向となったため、当院を受診し、入院となった。

既往歴・家族歴：特記すべき事項なし。

入院時現症：傾眠、視力は右 0.2、左 0.1、上方注視麻痺、上下眼球運動障害、対光反射消失。明らかな運動、知覚障害は認めないものの起立、歩行は不可能であった。腫瘍マーカーの他、血液、生化学検査にて異常所見は認められなかった。入院時の緊急 computed tomography (CT) で著明な脳室の拡大を認めたため、水頭症と診断し、脳室腹腔短絡術を施行した。MRI (Figure 3) では松果体部に T1 及び T2 強

調画像で mixed intensity, Gd-DTPA で造影される両側視床、中脳上丘を圧迫する最大径 5cm の mass を認めた。CT 上でも明らかな calcification は認めなかった。occipital transtentorial approach (OTA) にて腫瘍摘出術を試みたが、両側視床との腫瘍境界に到達できず、部分摘出に終わった。病理組織像は hematoxylin-eosin (HE) 染色では類円形の hyper chromatic な核をもつ perinuclear-halo を伴った小型細胞が血管を伴う少量の線維性結合組織からなる間質を伴って充実性に増殖していた。部分的に rosette pattern を呈しているが (Figure 4)、この一部には血管を中心に類円形の核を持つ境界不明瞭な細胞が突起を伸ばし、perivascular pseudo-rosette を思わせる所見も認められた (Figure 5)。免疫染色では chromogranin A (Figure 6, upper left)、synaptophysin (Figure 6, lower left) は陰性、epithelial membrane antigen (EMA) (Figure 6, upper right) ではこの rosette の内腔に一部軽度の陽性所見を認めた。glial fibrillary acidic protein (GFAP) では rosette の周囲に陽性所見 (Figure 7, upper) を認めた (Figure 7, lower)。S-100 protein (Figure 8, left)、vimentin (Figure 8, right) は陽性であった。なお、Bodian 染色では塗銀線維は認められず、MIB-1 陽性率は 8.0% であった。carboplatin (450mg/m²)、VP-16 (150 mg/m²) による化学療法を 5 クール施行し、1999年7月のMRI (Figure 9) では腫瘍の著明な縮小効果は認めなかったものの、明らかな増大所見も認めなかった。再度 OTA により腫瘍摘出術を行い、肉眼的には nearly total resection であったが、松果体部、視床下部、脳弓への癒着の強い箇所については残存せざるを得なかった。同年9月のMRI (Figure 10) では両側視床、上丘への圧迫はほぼ解消され、松果体部、視床下部に軽度の残存腫瘍を認めるのみであった。さらに3クール(但し、7、8クール目はこれまで骨髄抑制が強かったため 2/3 量にて施行)の化学療法を追加し、同年11月のMRI (Figure 11, left) では著明な増大所見は認めなかった。この間、患者は disorientation を認める程度の意識障害であり、左動眼神経麻痺、左上下肢不全麻痺にてリハビリテーショ

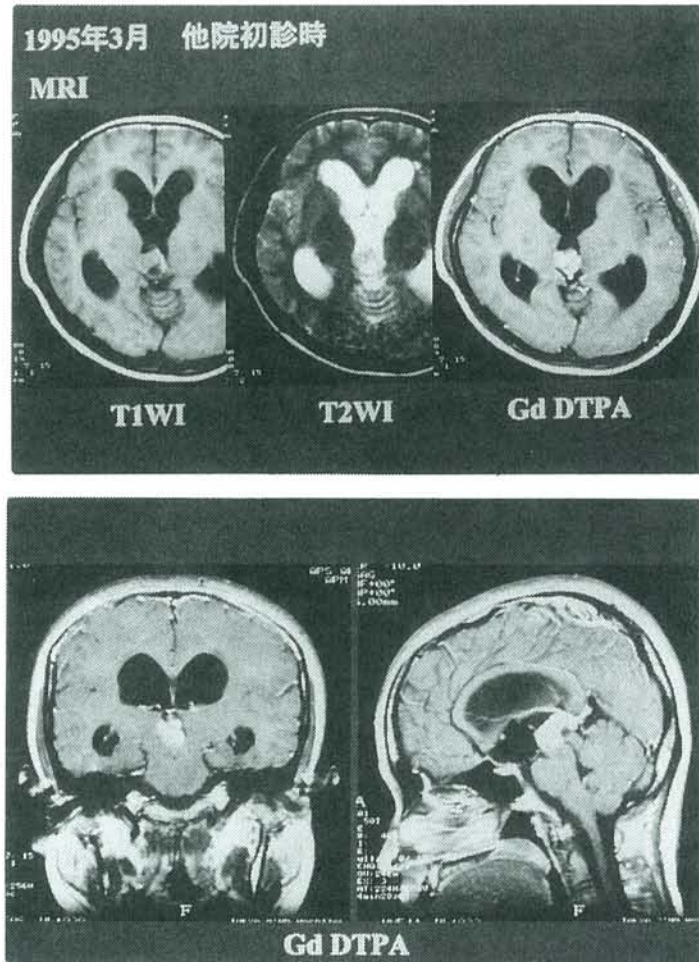


Figure 1

MRI taken on March, 1995, showing a mixed intensity mass lesion of pineal region enhanced with Gd-DTPA.

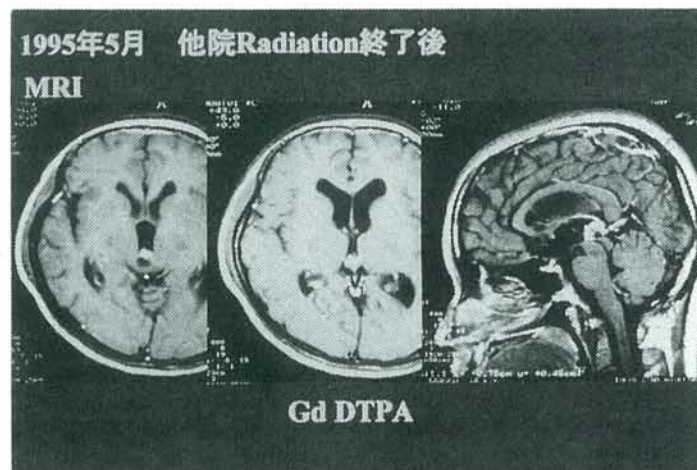


Figure 2

MRI taken on May, 1995, showing a mass lesion reduced by the radiation.

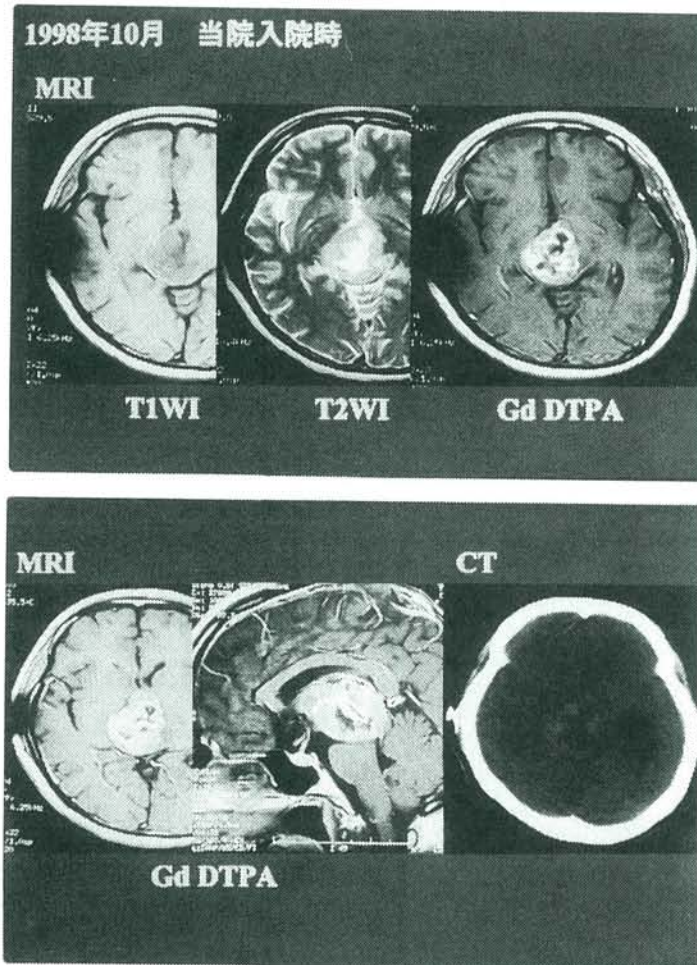


Figure 3

MRI and CT taken on October, 1998, Showing the enlarging of the tumor size before the first operation.

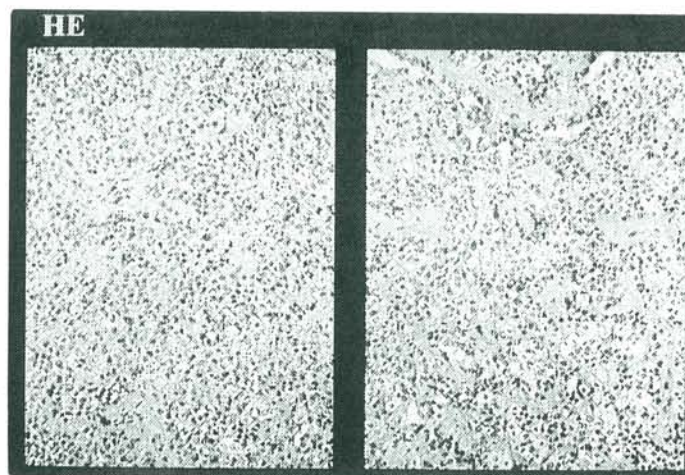


Figure 4

Photomicrograph of the surgical specimen showing the rosette composed the hyper chromatic round cells. (hematoxylin-eosin staining)

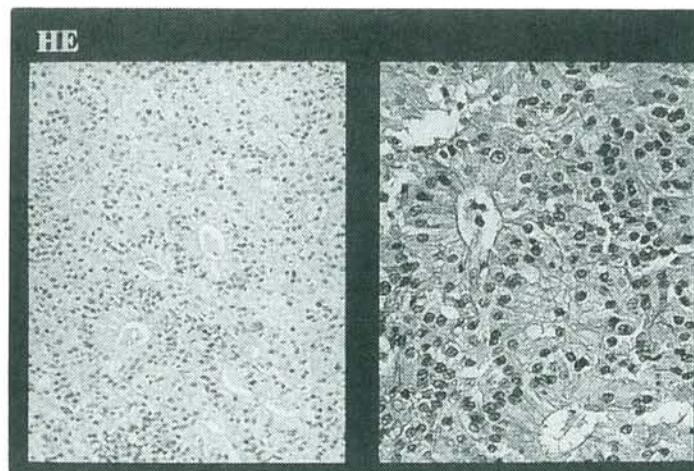


Figure 5

Photomicrograph of the surgical specimen showing the findings like a perivascular pseudo-rosette. (hematoxylin-eosin staining)

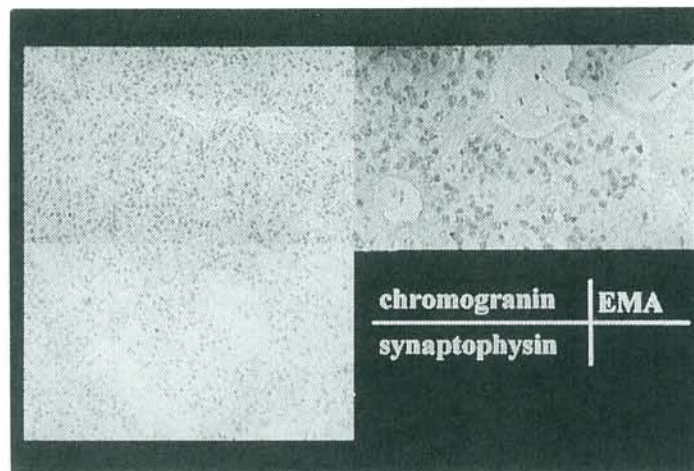


Figure 6

Photomicrograph of the surgical specimen

upper and lower left : The reactions to neither chromogranin A nor synaptophysin are negative.

upper right : The reaction to epithelial membrane antigen is positive along the luminal surface of the rosette.

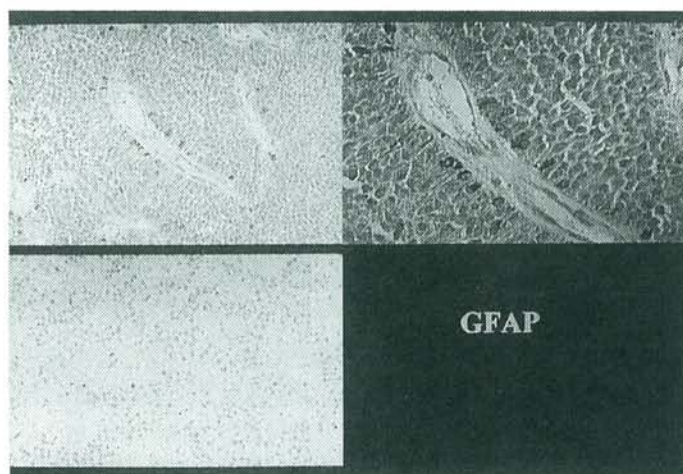


Figure 7

Photomicrograph of the surgical specimen

upper : The reaction to glial fibrillary acidic protein (GFAP) is positive around the rosette partially.

lower : The greater part of the cells shows no reaction to GFAP.

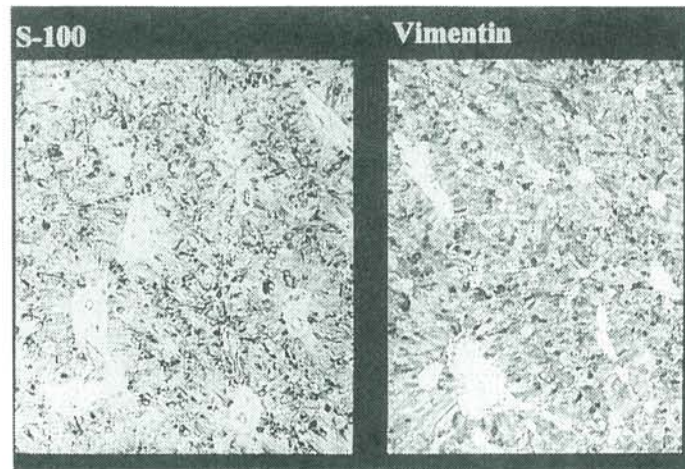


Figure 8
Photomicrograph of the surgical specimen
The reactions to both S-100 protein and vimentin are positive.

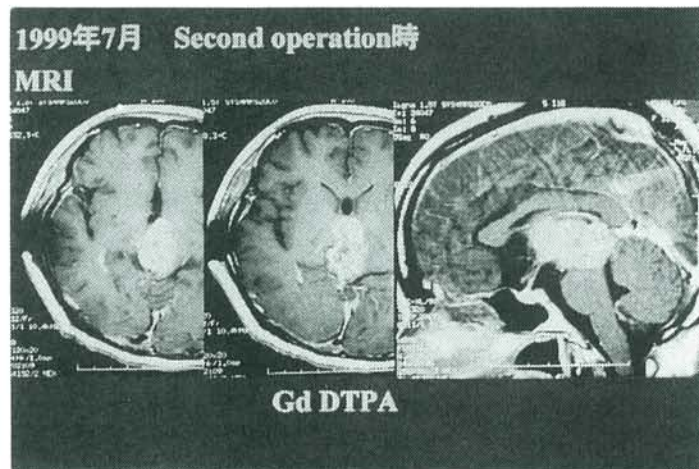


Figure 9
MRI taken on July, 1999, showing the residual tumor before the second operation.

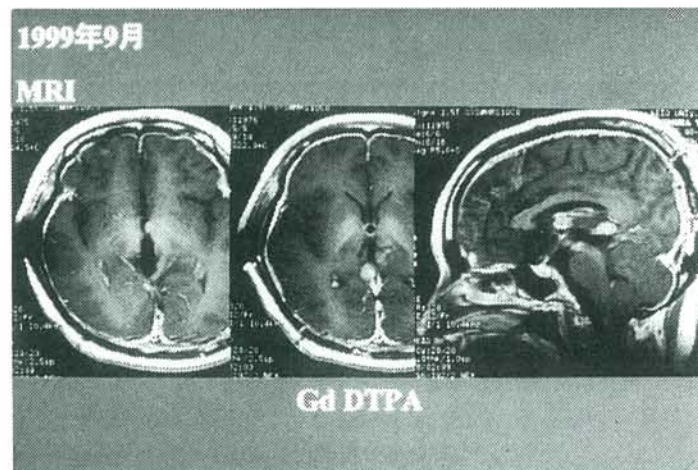


Figure 10
MRI taken on September, 1999, showing the reduced tumor after the second operation.

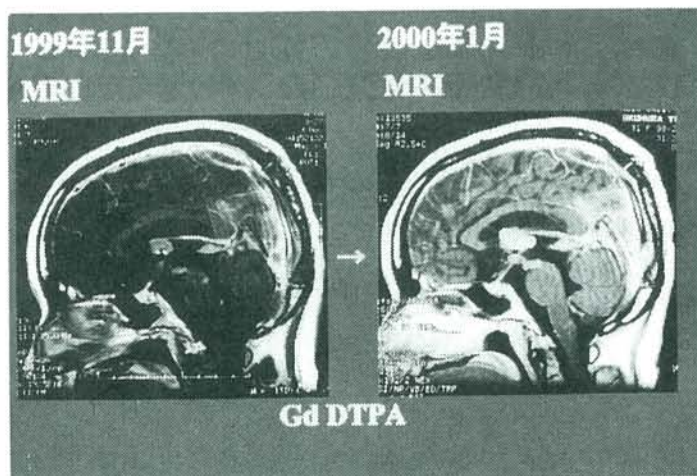


Figure 11

Left : MRI taken on November, 1999, showing the residual tumor at the hypothalamus mainly.
Right : MRI taken on January, 2000, showing the enlarging of the residual tumor size again.

ン施行していたが、自宅にて生活可能であった。しかし、徐々に日常生活動作の低下を認めるようになり、2000年1月のMRI (Figure 11, right) では視床下部に腫瘍の増大を認めたため、患者の quality of life を考慮し、自宅にて経過観察となった。同年8月、痙攣重積発作にて入院となり、septic shock のため死亡した。

【考察】

松果体部腫瘍は頭蓋内腫瘍のうち0.3から2.7%であり、比較的にまれな腫瘍である。これらは、germ cell origin の tumor、pineal cell origin の tumor、その他の cell origin の tumor、の3種類に分類される^{1,2)}。これらの術前診断はMRI、CT等の画像所見に加え、germ cell tumor の多くは腫瘍マーカーにより術前診断が可能と考えられる。

本症例の問題点の一つは他院での初期治療及び確定診断に至らなかった点にある。詳細は不明ではあるが、第一に画像所見のみで(マーカーは未検)で放射線療法を施行している点が挙げられる。腫瘍マーカーが上昇している症例については生検の是非には議論の余地があるものの⁹⁾、明らかな術前診断のつかない本症例に対しては、画像所見にて一部周辺組織との癒着があり摘出術が困難であることも予想されるが、少なくともある時期に生検を考慮すべき^{3,6,7)}であったと考えられる。次に放射線療法で縮小したものの complete remission に至らなかったことから考えれば pure germinoma よりも hCG/AFP- non secreting malignant non-pure germinomatous germ cell tumor、glioma、ependymoma、pineocytoma が鑑別診断として挙げられる。ependymoma や pineocytoma であれば完治の可能性もあり、10から30Gyの放射線治療後に治療効果を判定し腫瘍が消失していなければ、摘出術を行い、その後に化学療法や追加放射療法の追加を行うことが望ましかったと考えられた。

当院での治療経過においても retrospective に考えて議論を有する。まず、第一回目の腫瘍摘出術においてMRI上は周辺組織への圧排が強いものの、腫瘍縁は整形^{2,4)}であり、正常組織との境界は比較的明瞭と考え、全摘出術も可能と考えられたが、実際には癒着が強く部分摘出術となったことが挙げられる。また、化学療法終了後に最増大を認め追加化学療法を断念した。結果的にも outcome は dead であり、二回目の摘出術および追加化学療法の治療的意義は問われるべきであり、むしろ患者の quality of life を考慮して、早期に治療を断念すべきであったとも考えられる。しかし、後述の通り病理学的診断が困難ではあるが、いずれの診断であっても、根治、長期生存を望むには全摘出もしくは部分摘出術が前提となる⁸⁾ことから、必要な治療であったと考えている。

病理所見では HE 染色で膠原線維に支えられた小葉横造を認め、pineocytoma に compatible と考えられる。しかし、明らかな pineocytomatous rosette は認めず、免疫組織染色では synaptophysin chromogranin A、Bodian が陰性であり neuronal な component はないと思われる。Rosette が多く認められるが、perivascular pseudo-rosette とも解釈でき、ependymoma に compatible とも思われる。この rosette は単極性突起が太く、密に並んでいる点が、明らかに繊細な単極性突起が中等度の細胞密度を示して増殖する⁵⁾という ependymoma に typical な所見とは異なり、ependymoma と診断し難い。しかし、免疫組織染色では S-100 protein、vimentin が陽性であり、GFAP も rosette 周囲に限局しているが陽性、EMA も管腔に面する細胞膜で陽性を呈しており、ependymoma に矛盾しない所見⁵⁾である。一方でこの rosette を Flexner-Wintersteiner rosette と解釈し、GFAP に一部陽性所見を呈している点を考慮すれば、グリアや網膜へと分化した pineocytoma 等の pineal tumor も否定できない。断定はできないが、GFAP を除いた免疫組織

染色の結果を考慮して、現時点では ependymoma の可能性が強いと考えている。他院での治療開始時、または第一回の摘出後に ependymoma に準じた加療を行っていた際には異なった outcome が得られた可能性も考えられる。また、このような複雑な病理像を呈した一因として、病理診断前に放射線療法を施行していることが挙げられる。当然のことであるが、適切な時期に適切な治療を選択することがより正確な診断に繋がり、その結果が適切な後療法に繋がることが考えられた。

【結語】

画像所見及び病理所見上、診断に難渋し、外科的治療、化学療法、放射線療法の時期と選択に困難を極め、治療に難渋した pineal region tumor の一例を経験した。

【文献】

- 1) Anne J, Ghislaine S-P, Francois F, Karen P, Eric B, Marie-Magdeleine R, Laurent C, Michelle F-M : Pineal parenchymal tumors : A correlation of histological features with prognosis in 66 cases. Brain Pathology 10 : 49-60, 2000.
- 2) Chi-Shing Z, Hervey S, Michael A, Sylvie D, Patrick C, Jamshid A, Craig C : MR imaging of pineal region neoplasms. J Comput Assist Tomogr 15 : 56-63, 1991.
- 3) Francois F, Anne J, Philippe P, Ghislaine S-P, Carmine M, Mohamed BH, Laurent C, Jean-Pierre S, Jacques P, Michel S, Eric B : Parenchymal pineal tumors : A clinicopathological study of 76 cases, I J Radiation Oncology Biol Phys 46 : 959-968, 2000.
- 4) 松谷雅生 : pineocytoma と pineoblastoma. New Lecture 3 脳腫瘍, 第二版. 東京, 篠原出版, 山浦晶 (編), 1996, pp 174-178
- 5) 脳腫瘍全国統計委員会、日本病理協会 : 脳腫瘍取扱い規約. 東京, 金原出版, 1995.
- 6) Steven ES, Bernd WS, Michael GH, William WW, Mark KL, Lawrence BM, Margaret GN, Peter CB : Histologically confirmed pineal tumors and other germ cell tumors of the brain. Cancer 78 : 2564-2571, 1996.
- 7) Steven ES, Bernd WS, Paula JS, C. Christopher H, Patrick JK, Lorraine F, Jay SR, Steven JB : Pineal parenchymal tumors. Cancer 72 : 870-880, 1993.
- 8) 吉田一成、石森久嗣、近藤新、島崎賢仁、河瀬斌 : Ependymoma, anaplastic ependymoma の病態と治療. Neuro-Oncology 9 : 113-118, 2000.
- 9) 吉田一成、金子庸生、河瀬斌、池田栄二、岡本真一郎、渡辺玲子、石田明 : 初期治療に PBSCT support high-dose chemotherapy を併用した hCG, AFP-producing germ cell tumor の治療経験. Neuro-Oncology 8 : 48-52, 1998.

再増大を呈した Low grade astrocytoma の治療

The therapy for regrowing low grade astrocytoma

東邦大学医学部脳神経外科第一講座

清木 義勝、大塚 隆嗣、福井 康二、串田 剛、本多 満、柴田 家門

Key words : therapy, regrowing, low grade astrocytoma, recurrent

【はじめに】

最近の全国統計によると全グリオーマの中で low grade astrocytoma の占める割合は 29.1%で、5 年生存率は 69.2%と報告されている¹⁰⁾。malignant glioma とは異なり、その病状や腫瘍の成長速度もまちまちであることから、未だ、定まった治療法が確立されていないのが現状である。我々は最近の4年間に basal ganglia 部を中心に再増大を示し、集学的な治療により一応の緩解を見た2例の low grade astrocytoma の経験を得たので、その治療方法や治療上の問題点につき若干の文献的考察を加え報告する。

【症例と結果】

*症例1：48歳 男性

主訴：気分不快、右半身脱力発作

現病歴：1996年8月13日突然、気分不快となり嘔吐した。その後、右半身の脱力発作が頻発し、近くの病院に入院した。CT,MRI 検査で左前頭葉部に腫瘍病変を指摘され biopsy を受けたが、病理診断では脳梗塞か、腫瘍かはっきり診断がつかず、同年10月より当院にて経過観察していた。

来院時 MRI 所見

来院時の MRI-T1 画像では左前頭葉底部に一部手術によると思われる出血を伴った低吸収域を認め、この部位は T2 画像で high signal を示し、Gd-造影では増強されず、low grade glioma を思わせた。(Fig.1)

臨床経過

1997年8月頃からめまい発作と右半身脱力発作が再び出現し始めたが抗痙攣剤でコントロールされていた。1999年10月：めまい感、嘔気、右半身脱力発作が再び出現し始め、その後頻発するようになった。

*2000年2月2日：入院

*入院時所見：神経学的に特記すべきことなし

入院時 MRI 所見

入院時の MRI-T1 画像では左シルビウス裂を以て前頭葉底部、側頭葉底部から基底核部にわたる広範な領域に不均一な低吸収域を示す腫瘍病変を認め、T2 画像では前回見られた高吸収域は拡大し、Gd-造影では前頭葉底部の一部に増強効果が認められた。(Fig.2)

*2月24日：腫瘍部分摘出術

病理診断：astrocytoma GradeIII

病理所見：腫瘍組織は境界不明瞭な細胞が密に増殖、核は類円形ながらも大小不同、部分的には濃縮、多核化が見られる。前回のものと比べ、細胞密度は高く、核は多形成を示し悪性度は進行している。特染：GFAP(+), NSE(+), Vimentin(+), MIB-1:X400 の視野で平均5-7個。

*3月13日~4月24日：放射線療法：total: 60 Gy 分割照射 (MRI-T2 画像の high 高吸収域を含む)

*化学療法：CBDCA:450mg,MCNU:50mg (2回選択的内頸動脈持続動注)

*手術後、患者は順調に回復し、2000年5月1日になんら神経学的脱落症状を来すことなく独歩退院した。

退院後 MRI 所見

退院後、約4ヶ月の MRI 画像では腫瘍は縮小し、T2 画像での高吸収域も縮小した。

Gd 造影でもはっきりとした増強効果は認められない。(Fig.3)

*症例2：39歳 男性

主訴：鼻根部痛

現病歴：1997年6月鼻根部痛を訴え耳鼻科外来を受診した。CT,MRI 検査で右前頭葉部に腫瘍病変を指摘され当科に紹介入院となった。

*1997年6月23日：入院

*入院時所見：神経学的に特記すべきことなし

Fig.1
1996.11
on arrival

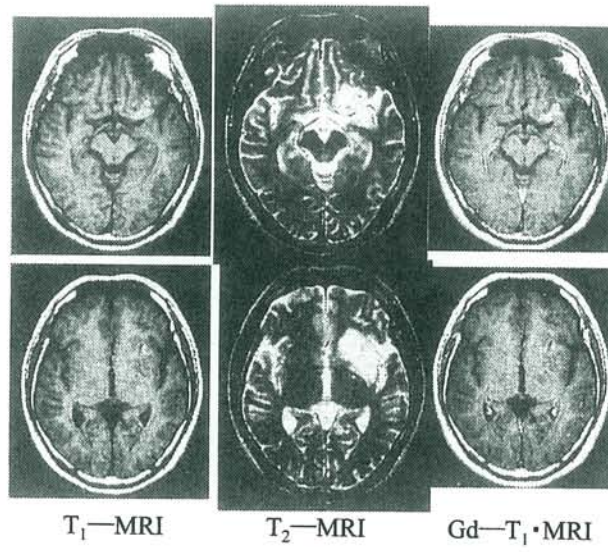


Fig.2
2000.1
Pre.Ope

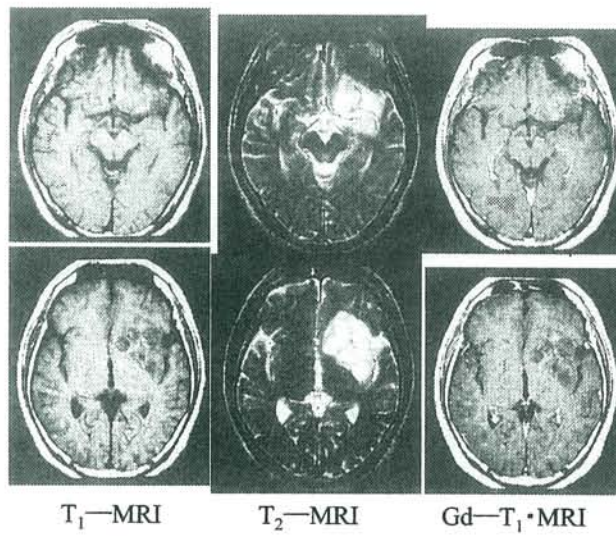
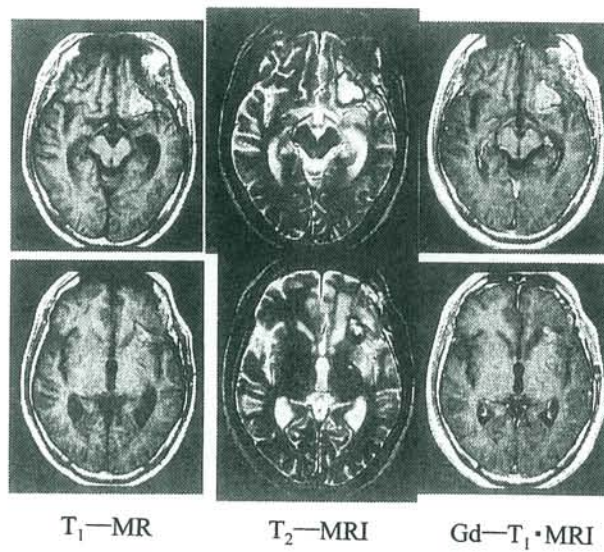


Fig.3
2000.9
Post.Ope.
&Post.Rad.



入院時 MRI 所見

入院時の MRI-T1 画像では右前頭葉に低吸収域を示す腫瘍病変が認められ、T2 画像では腫瘍部は高吸収域を示したが、Gd 造影では増強効果は得られなかった。(Fig.4)

* 7月4日: biopsy

* 病理診断: astrocytoma Grade II

* 放射線療法: total: 40 Gy 分割照射

患者は放射線療法後、症状も消失し、化学療法は行わず8月27日なんらの神経脱落症状を起こすことなく独歩退院した。

臨床経過

1997年8月27日: 退院後、外来通院治療であったが、2000年に入り頭痛、頭重感を訴え、4月から全身性強直性痙攣発作が起こるようになった。外来の MRI 検査でも腫瘍の増大を認めたため、2回目の入院となった。

* 2000年8月7日: 2回目の入院

* 入院時所見: 神経学的に異常所見を認めず。

2回目の入院時 MRI 所見

MRI-T1 画像では右前頭葉底部から側頭葉、基底核部に低吸収域を示す腫瘍陰影を認め、T2 画像では広範な高吸収域を示したが、Gd 造影では増強効果は認めなかった。(Fig.5)

* 9月1日: 腫瘍部分摘出術

病理診断: astrocytoma Grade III

病理所見: 組織学的には全体的に cellularity が高く、増加している腫瘍細胞は卵円形から楕円形の核を有し、その核は hyperchromatic である。細胞の異形性は比較的強く、一部に石灰化を認め、壊死や細胞分裂像は認めない。しかし、endothelial proliferation が多数認められ、cellularity も高い所見から grade 3 と診断した。

* 9月19日~10月17日: 放射線療法

MRI-T2 画像における high signal area に total: 40 Gy 分割照射

* 化学療法: CBDCA: 450mg, MCNU: 50m (2回選択的内頸動脈持続動注)

* 患者は腫瘍の部分切除術に続く放射線療法と2回の化学療法の後、頭痛および痙攣発作などの症状は消失し、2000年10月31日なんらの神経学的脱落症状を残すことなく独歩退院した。

退院時の MRI 所見

退院時の MRI-T1、T2 像では腫瘍の明らかな縮小は得られていないが、mass effect としてはかなりの軽減が認められた。(Fig.6)

【考察】

最近の文献によれば、良性、悪性に関わらず、組織学的悪性度所見を除き、グリオーマの予後良好を

決定する主な因子¹⁾は発症時の患者年齢が若年程よい(40or50歳以下)²⁾。腫瘍摘出率が高い程よい(75~100%)³⁾。手術前の神経症状が良好な程よい(Karnofsky Scale: 70以上)、と云う報告が多い^{1,5,9,11,13)}。一方、腫瘍の大きさや腫瘍の部位、放射線療法や化学療法に関してはその予後に影響を与えると云う報告と与えないと云う報告とがあり、未だ、議論の多いところである^{1,5,6,7,9,10)}。low grade glioma における5年生存率は50-70%が一般的であり、グリオーマの中では比較的予後が良いとされてきた。その大きさや部位が直接的に予後の決定には携わらないと云われているが、大脳深部や eloquent area にあるグリオーマの予後は良性グリオーマであっても、大脳表面近くに発生したものと比べると明らかに悪いと云う報告も多数見つけられる^{10,11)}。これは腫瘍の存在部位が原因となって、手術が不完全な腫瘍摘出術で終わっているからと推察される。malignant glioma の治療方針と違って low grade glioma に対する治療方針は今なお施設ごとにまちまちであり、これと云った決まった方針は打ち出されていない。その最大の理由は発見時の腫瘍の大きさに関わらず、腫瘍の増大速度や増大時期が一定していないが故に神経脱落症状の出現時期や神経症状の悪化速度も一定せず、いつ、どの時点で、どの程度の治療を施すべきか判断がつかないことにある。今回我々が経験した2症例は共に前頭葉底部から側頭葉底部に腫瘍の主座があり、一部は基底核部に浸潤している。頭痛、突然の不快感、半身の脱力発作などを主訴として来院しているが初診時にはこれと云った神経脱落症状もない。統計学的には手術用顕微鏡下で100%に近い腫瘍摘出が得られれば得られる程、その予後は非常に期待できると云われ、積極的に全摘術を提唱する報告もある^{1-3,5,9,10,11)}。しかし、このような症例において術中生検で low grade astrocytoma の診断を得た場合、広範囲な根治手術を行うには多大の勇気と神経学的リスクとを覚悟しなければならぬ。果たして、この初診時や初回入院の段階で基底核部を含む gross total な手術が現実的に可能であろうか。low grade astrocytoma の術後の放射線療法に関しても未だに統一された見解は出されていない^{1,2,5,7,9,10,11,13)}。Lunsford ら⁷⁾は定位的生検と放射線治療だけでも十分満足できる生存期間を得ることができたと報告し、Antonio ら¹⁾も50歳以下の症例で放射線治療が生存期間の延長をもたらしたと報告している。一方、Joseph ら⁹⁾は術後早期に放射線治療を行った症例も、術後時間を経て行った症例も共に生存期間の延長や再発までの期間延長、悪性転化への頻度の減少をもたらす要因にはならなかったと述べており、松本ら⁹⁾も5年、10年生存率で比較すると初回の手術後に放射線治療を行った症例群の方が放射線治療を行わ

Fig.4
1997.6
on arrival

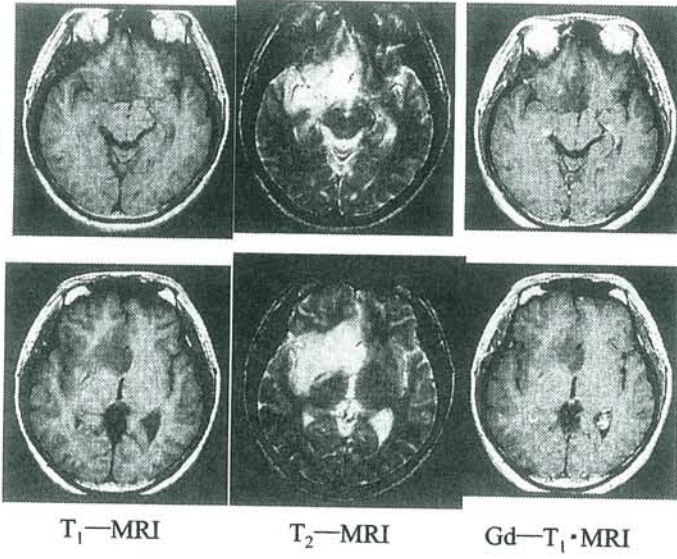


Fig.5
2000.8
Pre.Ope.

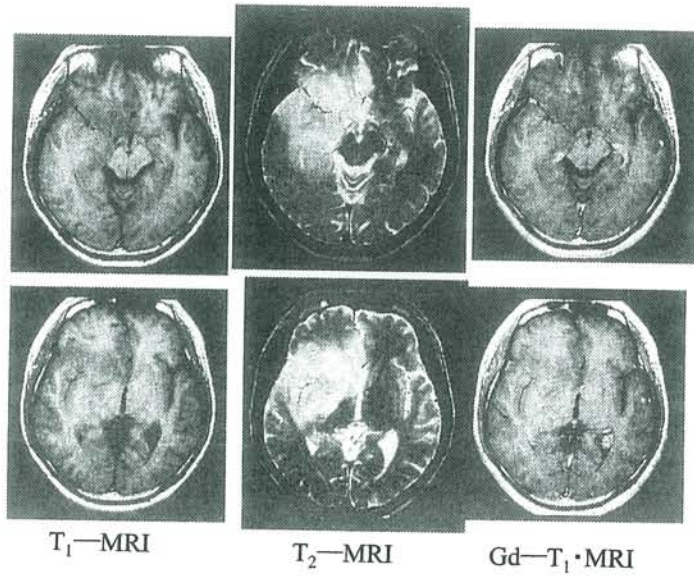
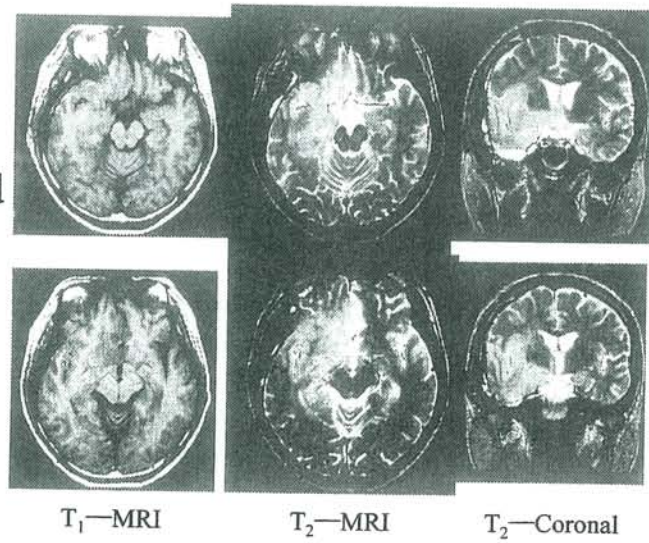


Fig.6
2000.10
Post.Ope.
&Post.Rad



なかった群よりも悪い結果であったと報告している。我々の施設¹¹⁾でも放射線治療が low grade astrocytoma の生存率を延ばす因子とはならなかった。グリオーマの再発部位に関しては悪性、良性を問わず MRI-T2 画像で high signal を示す境界から正常側 2 cm 以内の辺縁領域で起こるといふ報告が多い^{4,13)}。こう云った事実からも、もしも放射線治療を行うのであればこの辺縁領域を十分にカバーできる範囲に照射療法を行うべきである。また、最近の文献によれば stereotactic radiosurgery(SRS) や stereotactic radiotherapy(SRT)、convensinal fractionated radiotherapy との combined therapy(Combined RT)、術中の boost 照射などが有効であったと云う報告も多く^{6,8,13,14)}、今後有効な治療法の一つになるのではないかと期待される。グリオーマの化学療法にはニトロソウレア剤を中心に白金製剤なども使用されているが、未だ、明らかに有効と判断される薬剤は出現していない^{10,12)}。このような現状で regrowing を示した low grade astrocytoma に対する納得の行く治療方法を探し出す事は大変難しい問題ではあるが、現時点での治療法としては¹⁾手術時に出来る限り腫瘍の全摘出を目指す²⁾。腫瘍の組織学的悪性度を問わず術後の放射線療法を行う。照射にあたっては MRI-T2 画像で high signal を示す境界から正常域 2 cm 以内まで SRS や SRT、Combined RT などを駆使して十分な照射を行う³⁾。基本的には CT、MRI で 3ヶ月ごとに follow up する⁴⁾。radionecrosis を来した場合には早期に necrotomy を行う⁵⁾。化学療法は原則として入院期間中だけとし、長期的には行わない。と云ったところが我々の施設での方針であるが、今後、navigation system や monitoring system、術中 CT、MRI、術中照射などが安価となり一般の中核病院に普及する時代となれば、もつぱらしい有意義な治療成績を残せることが出来るのではないかとと思われる。

【結語】

- 1) 2例の regrowing low grade glioma の治療法について自験例と文献的考察から検討した。
- 2) 未だ、このような症例に対する治療法は確立されていないが、通常の施設での現実的な治療法は 1) 手術時に出来る限り腫瘍の全摘出を目指す。2) 腫瘍の組織学的悪性度を問わず術後の放射線療法を行う。照射にあたっては MRI-T2 画像で high signal を示す境界から正常域 2 cm 以内まで SRS や SRT、Combined RT などを駆使して十分な照射を行う。3) 原則として、3ヶ月ごと CT、MRI で follow up する。4) radionecrosis を来した場合には早期に necrotomy を行う。5) 化学療法は原則として入院期間中だけとし、長期的には行わない。と云ったところが一般的に可能な治療法ではない

かと考える。

【文献】

- 1) Antonio Nicolato, M.D., Massimo A. Gerosa, M.D., Paolo Fina, Ph.D., Paolo Iuzzolino, M.D., † Fabrizia Giorgiutti, M.D., and Albino Bricolo, M.D.: Prognostic Factors in Low-grade Supratentorial Astrocytomas: A Uni-multivariate Statistical Analysis in 76 Surgically Treated Adult Patients. *Surg Neurol* 44 : 208-223, 1995
- 2) Hugues Loiseau, M.D., Jean-Francois Dartigues, M.D., and Francois Cohadon, M.D.: Low-Grade Astrocytomas: Prognosis Factors and Elements of Management. *Surg Neurol* 44 : 224-227, 1995
- 3) Jacques H. Philippon, Stephane H. Clemenceau, Francois H. Fauchon, Jean Francois Foncin: Supratentorial Low-Grade Astrocytomas in Adults. *Neurosurgery*, Vol. 32, No. 4 : 554-559, 1993
- 4) Jeffery E. Masciopinto, M.D., Allan B. Levin, M.D., Minesh P. Mehta, M.D., and Blair S. Rhode, M.S.: Stereotactic radiosurgery for glioblastoma: a final report of 31 patients. *J Neurosurg* 82 : 530-535, 1995
- 5) Joseph Piepmeier, M.D., Susan Christopher, R.N., B.S.N., Dennis Spencer, M.D., Thomas Byrne, M.D., Jung Kim, M.D., Jonathan P. Knisel, M.D., Jill Lacy, M.D., Liliya Tsukerman, M.A., Robert Makuch, Ph.D.: Variation in the Natural History and Survival of Patients with Supratentorial Low-grade Astrocytomas. *Neurosurgery*, Vol. 38, No. 5 : 872-879, 1996
- 6) 木田義久、小林達也：グリオーマのガンマナイフによる治療。：神経進歩 43 (3) : 420-429, 1999
- 7) Lunsford LD, Somaza S, Kondziolka D, Flickinger JC: Survival after stereotactic biopsy and irradiation of cerebral nonanaplastic, nonpilocytic astrocytoma. *J Neurosurg* 82 : 523-529, 1995
- 8) 村垣善浩、久保長生、伊関 洋、今村 強、丸山隆志、堀 知勝：Navigation を用いた PRS 術中照射によるグリオーマ治療の工夫：Neuro-Oncology 10 (1) : 64-69, 2000
- 9) 松本健吾、安倍友康、寺田欣矢、田淵 章、足立吉陽、小野恭裕、田宮 隆、大本堯史、古田知久：Supratentorial Astrocytoma Grade II の治療成績。脳神経外科 27 (2) : 139-145, 1999
- 10) 野村和弘：グリオーマの臨床統計。神経進歩 43 (3) : 338-350, 1999
- 11) 大塚隆嗣、清木義勝、周郷延雄、柴田家門、寺尾榮夫：大脳半球発生 Low grade glioma の治療成績と治療における問題点。Neuro-Oncology 7 (1) : 45-48, 1997

- 12) Roger J.Packer,M.D.,Joane Ater,M.D.,Jeffry Allen,
M.D.,Peter Phillips,M.D., Russell Geyer,M.D.,
H.Stacy Nicholson,M.D.,Regina Jakacki,M.D.,
Elizabeth Kurczynski,M.D.,Michael Needle,M.D.,
Jonathan Finlay,M.B.,Ch.B.,Gregory Reaman,M.D.,
and James M.Boyett,Ph.D.:Carboplatin and
vincristine chemotherapy for children with newly
diagnosed progressive low-grade gliomas.
J Neurosurg 86 : 747-754, 1997
- 13) William F.Regine,M.D.,Roy A.Patchell,M.D.,
James M.Strottmann,M.D.,Ali Meigooni,Ph.D.,
Michael Sanders,M.S.,and Byron Young,M.D.:
Combined stereotactic split-course fractionated
gamma knife radiosurgery and conventional radiation
therapy for unfavorable gliomas:a phase I study.
J Neurosurg (Suppl 3) 93 : 37-41, 2000
- 14) Yoshihisa Kida,M.D.,Tatsuya Kobayashi,M.D.,and
Yoshimasa Mori,M.D.:Gamma knife radiosurgery for
low-grade astrocytomas: results of long-term follow
up. J Neurosurg (Suppl 3) 93 : 37-41, 2000

進行性片麻痺を生じ、病理組織診断に苦渋した 全身性B細胞リンパ腫の一例

A case report of progressive hemiparesis in the treatment of systemic B cell lymphoma
with vasculitis clinically and infarction pathologically

千葉県がんセンター脳神経外科、臨床病理*

大里克信、井内俊彦、大賀 優、武内利直*

key word; vasculitis, systemic lymphoma, CNS

【はじめに】

全身性リンパ腫に対して抗癌剤治療を施行していた過程で頭蓋内病変が出現し、手術施行した結果脳梗塞と診断された症例に遭遇した。病理組織では血管炎の診断には至ることはできなかったが、経過MRIと臨床像から脳血管炎による脳梗塞と診断した。頭蓋内血管炎の報告は最近多く見られ、リンパ腫に合併した報告もありけっして稀な病態ではないと思われる。過去の報告例と我々の症例を比較検討し報告する。

【症例】

症例は60才の女性。家族歴および既往歴には特記する疾患はなかった。1990年8月腹部腫瘤にて某病院受診。腫瘤は手術にて摘出され liposarcoma と診断された。vincristine, adreamysin, actinomycin D の併用療法を2回施行して退院となる。1994年3月左鼠径部リンパ節が肥大し、生検術が施行された。病理検査で diffuse mixed B cell lymphoma と診断されたため、当センター血液化学療法科入院となった。当センターにて腹部腫瘍の標本を取り寄せ再検査した。腫瘍組織は裸核細胞が瀰漫性に増殖し、Pan-B染色にて陽性(Fig.1)で UCH-1染色にて陰性であることから、B cell lymphoma であり鼠径部リンパ節腫瘍と同じ腫瘍であることが判明した。1995年5月腹部リンパ節の肥大がみられ CHOP療法を6回施行した。腫瘍は完全には消失しないもののかなりの縮小効果がみられた。しかし、1996年8月腹水が貯留するようになり、CHOP-ABVP療法を2回施行。腹水の消失がみられた。1998年5月頸部リンパ節が肥大し、MEVP化学療法を2回施行した。腫瘍の著名な縮小効果が観察された。2000年6月左上肢の脱力が生じた。Ga

シンチにて頸部腫瘍が示唆され、髄液細胞検査が0/3であることから脱力は頸部腫瘍による頸部神経叢の圧迫から生じていると診断された。このため ESHAP化学療法を施行して退院、経過観察となった。なお髄液検査の際に MTX と Ara-C の髄注加療を一度施行している。8月になり左上肢の麻痺が進行し、下肢にまで麻痺が生じてきた。このため脳外科受診となった。脳外科受診時には完全片麻痺以外には所見を認めなかった。MRIでは右頭頂葉の白質に T1WI で low、造影すると low の部分の周囲に帯状の造影効果が観察された。T2WI では T1 で low の部分が high で、造影された部分はそれよりやや薄い high intensity として描出された(Fig.2)。病状経過と MRI 所見から嚢胞形成を伴ったリンパ腫脳内浸潤と診断し、確定診断のため stereotactic biopsy を試みた。摘出標本の迅速診断はリンパ腫であったため術直後から放射線照射を開始し 10Gy 照射したが、永久標本の結果は浸出したリンパ球は T cell であり、脳梗塞の診断であった。このため再度 MRI を施行した。MRI では病巣は更に広がり、造影される部分は前頭葉白質まで及んでおり、対側の前頭葉灰白質にも新病巣が検出された(Fig.3)。通常の脳梗塞とは考え難く、再度組織検査を施行することとなり、開頭手術にて病巣を十分摘出して組織診断した。摘出標本では血管周囲に著名な細胞浸潤がみられそれらほとんどの細胞は T cell であった(Fig.4)。T1 で low だった中心部は macrophage を主体とした陳旧性梗塞であり腫瘍細胞は認められなかった。血管壁の異常も検出されなかった。術後は脳浮腫予防のため dexamethazon 8mg/day を7日間使用した。経過観察の MRI では造影効果もなくなり、対側の新病巣も検出されなくなっていた。12月現在片麻痺は継続しているものの新しい症状は加わって

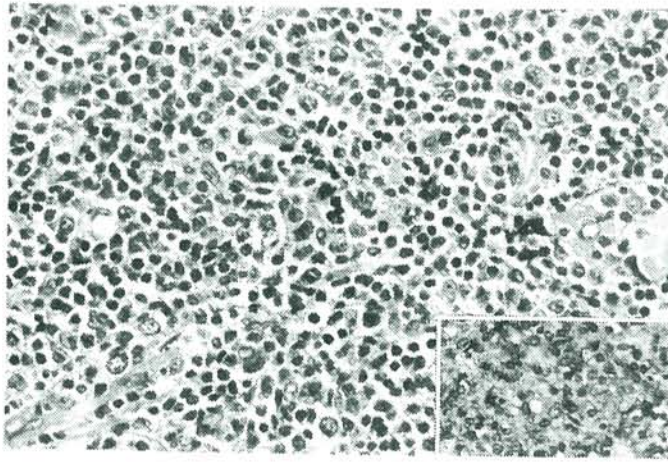


Fig.1 腹部腫瘍HE染色像 切り込みはPan-B染色

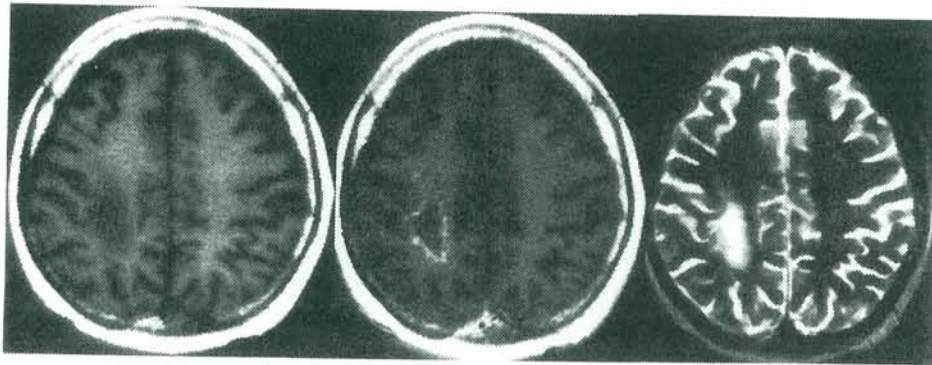


Fig.2 脳外科初診時MRI 左右は各々T1,T2強調、中央はGd造影T1画像

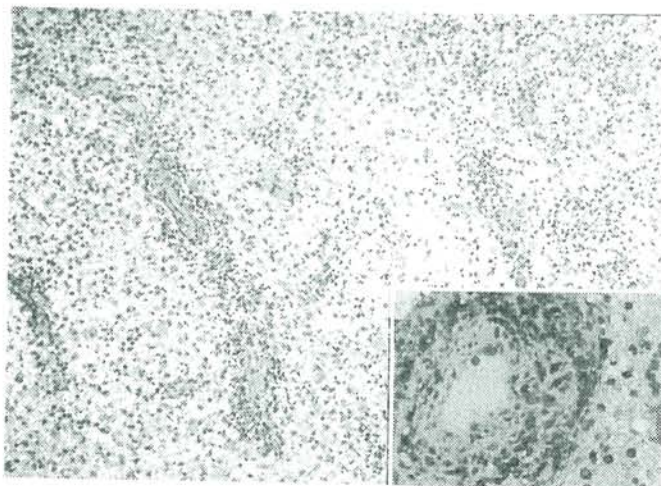


Fig.3 経過MRI 左は開頭手術前Gd造影、中央は約2ヶ月後のT1、右はGd造影画像、矢印は新病巣を示す。

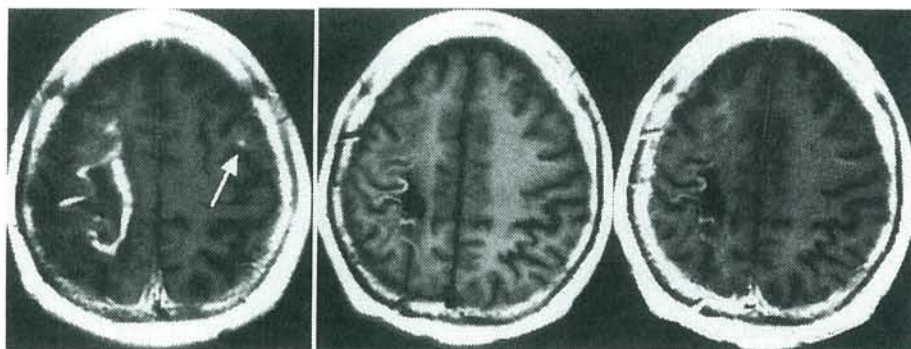


Fig.4 脳内腫瘍HE染色像 切り込みはMT-1染色

いない。症状が徐々に進行し、病理学的には梗塞像であることと、病巣が対側脳灰白質にも出現したことから血管炎による脳梗塞と診断した。なお脳血管撮影は施行する機会がなかった。

【考察】

血管炎 Vasculitis は頭痛や麻痺、視力障害などの脳局所症状、あるいは意識障害などで発症し、その臨床症状は多彩で、またその経過も自然治癒するものから、麻痺などの症状が持続してしまう例や死亡に至る例まで様々である。中枢神経の vasculitis は中枢神経領域に生じる granulomatous angitis などの primary vasculitis と膠原病や膿瘍あるいは悪性腫瘍などに伴って生じる secondary vasculitis とに分けられているが原因が特定できない例も多く Scolding らは syndrome としてとらえる方が実際的であると述べている¹⁾。vasculitis の MRI 所見は T1WI にて low, Gd 造影にて nodular あるいは heterogenous に造影され、T2WI にて high に認められるが特徴的な所見はないとされ、一般に病巣は多発性、両側性で灰白質にも白質にも生じると述べている²⁾。vasculitis の存在を検出するには MRI が適しており Harris ら³⁾ は全例に異常が指摘できたと報告している。しかし Greenan ら⁴⁾ は 33 例中 12 例にしか異常は認められなかったと報告し、血管撮影の方が有効であると主張している。vasculitis の可能性を疑った対象の違いにより差異が生じたものと考えられる。

血管撮影では beads 状の異常血管像や血管閉塞像として診断できるとされる⁴⁾が障害される血管の径が細かい場合は描出は不可能である。Ozawa⁵⁾ らは primary angitis を対象とした血管撮影の過去の報告を検討した結果 59%にしか異常像を認めなかったと述べている。MRI による診断率の差異と同様に血管撮影の有効性の差異も最終的に vasculitis と診断した根拠の違いにより対象群が違ってしまった結果と思える。

病理組織学的には epitheloid cell や giant cell の出現、あるいは血管中膜への細胞浸潤像が診断根拠となる⁶⁾。

病理学的に診断される率は 64 から 70%^{1,5)}とされるが primary angitis を系統的に検討した Alrawi ら⁷⁾は 61 例中 17 例(28%)にしか確定的診断はできなかつたと報告している。多くは脳軟化の所見で、vasculitis の診断の困難さを主張している。摘出する時期も問題となり、また biopsy に終わり、検索に十分な組織が得られていないこともこの低い診断率の原因となっている。

確定的な所見が得られない場合は想定される疾患を除外し、我々の例もそうであったが臨床像から vasculitis との診断に至らざるをえないのが現状である。Scolding らはこれからは眼底所見や anti neutrophil cytoplasmic antibody assay、さらに radioisotope-labelled white-blood cell scan が有効となるであろうと述べている。

secondary brain vasculitis は Alrawi によると感染症によるものが最も多く(7/33)、次にリンパ腫で 6 例の報告をしている。リンパ腫の治療においては数種類の化学療法が施行されるのが常であるが、化学療法による vasculitis の報告も見ると^{8,9)}。我々の症例でも多くの抗瘤剤が投与されており、薬剤が誘因となったかどうかも推定はできなかった。

【文献】

- 1) Scolding NJ et al; Cerebral vasculitis-recognition, diagnosis and management. QJM.1997 Jan.90(1);61-73
- 2) Wynne P.J, Younger DS, Khandji A, Silver AJ; Radiographic features of central nervous system vasculitis. Neuro Clin. 1997 Nov; 15(4);779-804, Review
- 3) Harris KG, Tran DD, Sickels WI, et al; Diagnosing intracranial vasculitis; The roles of MR and angiography. Am J Neuroradiol 1994; 15; 317-330
- 4) Greenan TI, Crossman RI, Goldberg HI. Cerebral vasculitis. MR imaging and angiographic correlation. Radiology 1992; 182; 65-72.
- 5) Ozawa T, et al; Primary angitis of the central nervous

- system;Report of two cases and review of the literature. *Neurosurgery* 1995 Jan;36(1);173-179.
- 6) Burger PC,Scheithauer BW,Vogel FS; Surgical pathology of the nervous system and its coverings; 1991.3rd edition.Churchill Livingstone Inc
 - 7) Alrawi A, et al; Brain biopsy in primary angitis of the central nervous system;*Neurology*. 1999 Sep 11;53(4);858-860.
 - 8) Vallejo C, et al; Ifosfamide and vinorelbine as first line chemotharapy for advanced non-small cell lung carcinoma. *Am J Clin Oncol*.1996 Dec;19(6);584-588
 - 9) Michel M, et al; Cerebral vasculitis after interleukin-2 therapy for renal cell carcinoma; *J Immunother Emphasis Tumor Immunol*; 1885 Aug;18(2);124-126

脊髄腫瘍を伴った Neurofibromatosis type 2 への対応 ～自験 5 例の報告から～

Surgical philosophy in the management of spinal schwannomas
associated with neurofibromatosis type 2

東京医科大学脳神経外科

秋元治朗、山田裕二、原岡襄

【はじめに】

Neurofibromatosis type 2(以下 NF2)の診断基準では、両側前庭神経鞘腫(以下 Bil-AT)の発生を十分条件としているのに加え、一側の前庭神経鞘腫(以下 AT)であっても、NF2 の家族歴、髄膜腫、他部位の神経鞘腫あるいは若年性白内障の存在などがあれば診断に足るとしている。NF2 に合併せる中枢神経系腫瘍型を分析した Mautner ら²⁾の報告によれば、AT をその 96%(両側例 90%)に認めているが、三叉神経鞘腫が 29%、髄膜腫が 58%もの症例に見い出され、更に脊髄神経鞘腫が 90%もの症例に認められたのである。この様に多彩な腫瘍を合併する病態ゆえ、その臨床像も複雑であり、近年ではその臨床像を 2 つの subtype に分類する方向にある。その 1 つは早期に発症し(通常 25 歳以前)、進行も速く、Bil-AT のほか多発性に神経系腫瘍を生ずる Wishart type(severe phenotype)、他の 1 つは晩期発症で通常両側性聴神経腫瘍以外に腫瘍の発生は無く、緩徐な臨床経過をとる Gardner type(mild phenotype)である。

治療に難渋している脳腫瘍症例をテーマとした本会において、著者らは最近経験した Wishart type と思われる NF2 の 5 例を呈示した。常染色体優性遺伝疾患という特殊な background を鑑みつつ、その実際の臨床経過における苦悩や、Bil-AT および脊髄腫瘍に対する手術適応等につき論じてみたい。

【症例】

過去 10 年間に経験した NF2 は 9 例あり、その内脊髄神経鞘腫を含む多発性神経系腫瘍をその臨床経過で認めた例は 5 例であった。Table 1 にその臨床像を示すが、NF2 の家族歴は 1 例のみに認めた。初発時年齢は 20-47 歳(平均 33.8 歳)で、男性 1 例、女性 4 例であった。3 例で皮下神経線維腫や脊髄神経鞘腫の手術が先行され、3-4 年後に Bil-AT が見い出され NF2 と診断された。聴力障害の程度は様々であったが、

20 年前に他院で既に Bil-AT の手術が施行され、deafness であった症例 2 を除いた 4 例でその左右差を認めている。初療時に髄膜腫、脊髄神経鞘腫をそれぞれ 3 例に認め、合併例ではそれらの腫瘍が多発していた。手術とその結果であるが、症例 1(Fig.1)では術前聴力障害の強い左側の AT と、大きめで cord を強く圧迫し、早晩 myelopathy を呈する可能性があるものと判断した C5 の dumbbell type tumor、馬尾の多発腫瘍を 2 期的に摘出した。術後左聴力脱失と顔面神経麻痺を呈した。症例 2 は局所再発部と radiculomyelopathy を呈した右 C5 の腫瘍を一次的に摘出した。myelopathy が改善し歩行の安定は得られたものの、元来の重篤な後遺症に加え、術側の顔面神経麻痺も加わった。症例 3 も聴力障害の強い側のみ手術したが聴力、顔面神経機能とも温存は困難であった。症例 4 (Fig.2)でも一側 AT と大孔部髄膜腫、dumbbell type の C2、C8 の神経鞘腫を一次的に摘出したが、術後重篤な下位脳神経麻痺が生じ、KPS50 と severe な状態に陥った。症例 5 も聴力障害の強い一側 AT を摘出したが、やはり聴力、顔面神経機能とも温存し得なかった。

問題はその後の経過である(Table 2)。残存せる AT に対しては積極的に γ -knife を勧めたが、実際に施行し得たのは症例 3 のみである。症例 2 では初療時の morbidity の大きさから抑鬱状態となりその後の follow up が困難となった。症例 3 では経過中徐々に腫瘍の出現が加速度をもって増え、適宜手術を繰り返したことにより、徐々に全身状態の悪化が招来され治療を断念した。症例 5 では初療時の morbidity から治療に対する恐怖心、病態に対する絶望感から γ -knife を含めた一切の治療を拒否された。

【考察】

Bil-AT に対する microsurgery の長期予後に関する mass study は少ないが、神経機能温存に関しては

Table 1

	自験5例における初療時現症				
	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5
NF2の家族歴	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
初診時年齢	26歳	56歳	20歳	61歳	47歳
NF2加療歴	23歳	36歳		47歳	43歳
初診時症状	皮下神経線維腫摘出 失神発作	両側前庭神経鞘腫摘出 幻聴 右上肢単麻痺	無し 耳鳴	脊髄神経鞘腫摘出(C7,8,Th1) 右下肢単麻痺 嚥下障害	皮下神経線維腫摘出 両側難聴
入院時神経所見	両側聴力低下 右G-R 1、左G-R 2	左顔面神経麻痺 両側聴力喪失 右上肢筋萎縮 歩行障害	両側聴力低下 右G-R 3、左G-R 2	両側聴力低下 右G-R 3、左G-R 5	両側聴力低下 右G-R 2、左G-R 5
入院時画像所見	両側前庭神経鞘腫 右蝶形骨縁髄膜腫 左C2、C5神経鞘腫 馬尾多発性神経鞘腫	右前庭神経鞘腫 右C5神経鞘腫	両側前庭神経鞘腫	両側前庭神経鞘腫 多発性髄膜腫(含大孔部) 左C2神経鞘腫 右C8神経鞘腫 胸椎神経鞘腫(多発)	左小脳橋角部髄膜腫 両側前庭神経鞘腫
初期治療(手術)	左前庭神経、C2、C5、 馬尾神経鞘腫摘出	右前庭神経、 右C5神経鞘腫摘出	右前庭神経鞘腫摘出	左前庭神経、C2神経鞘腫、 大孔部髄膜腫摘出	左小脳橋角部髄膜腫、 両側前庭神経鞘腫摘出
初療時後遺症	左G-R 5、H-B V	左右H-B V	右G-R 5、H-B V	左H-B V 下位脳神経麻痺	左H-B V
KPS	90	70	80	50	80

G-R: Gardner Robertson classification, H-B: House Blackman classification

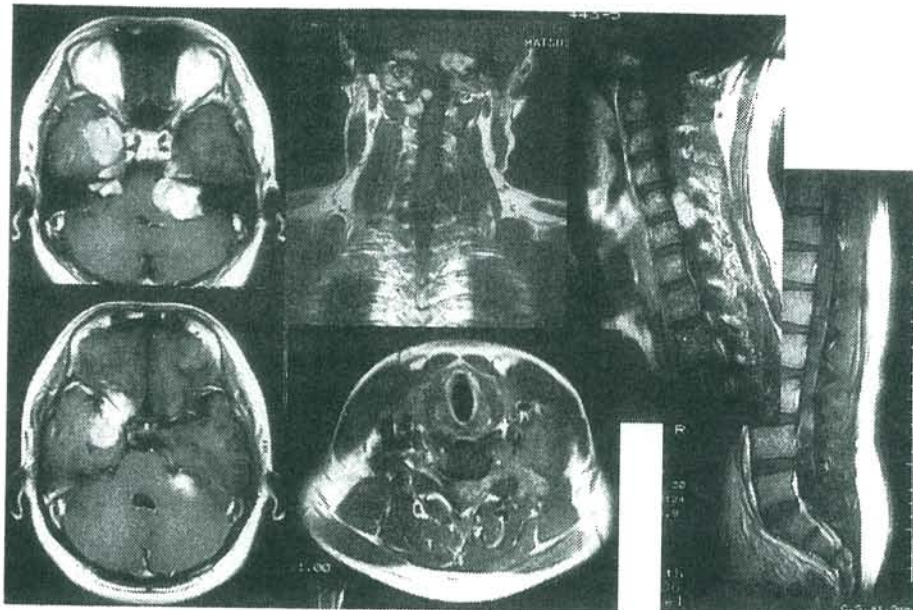


Fig. 1

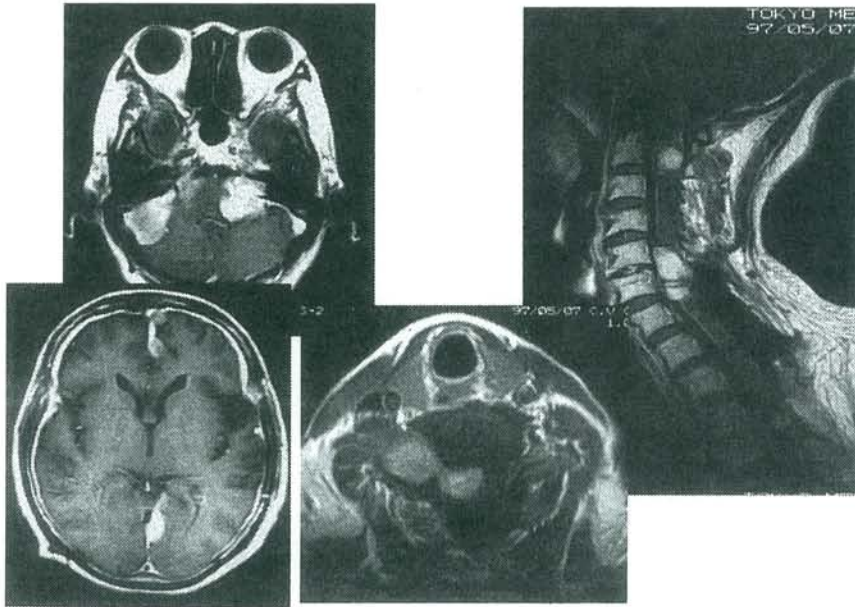


Fig. 2

Table 2

自験5例の初療後臨床経過

※症例1:	右前庭神経鞘腫、右蝶形骨縁髄膜腫の残存に対し経過観察 → 右前庭神経鞘腫(G-R 1)に対し γ -knife計画中
※症例2:	右前庭神経鞘腫のprogressionを術後早期に認め、再手術を勧めた → 両側聴力喪失、顔面神経麻痺があり再手術を拒否、抑鬱状態となりfollow up不能。
※症例3:	残存する左前庭神経鞘腫に対し1年後に γ -knifeを施行(G-R 2からG-R 5へ悪化) → 4年後傍矢状洞、蝶形骨縁髄膜腫が見い出され摘出術施行 → 7年後大脳鎌髄膜腫の摘出術施行、穹隆部髄膜腫も見い出されたが経過観察とす。 → 10年後対麻痺、意識障害を生ず。多発性髄膜腫、多発性脊髄神経鞘腫を認めたが、KPS50以下であり、家族の意向もあり経過観察とし、その後永眠された。
※症例4:	右半身麻痺の原因として残存するC7-Th1にかけてのdumbell type tumorが考えられ、手術摘出を検討した → 初回手術時の下位脳神経麻痺に起因する呼吸不全、MRSA肺炎の合併があり、KPSが漸次低下、家族の意向もあり経過観察とし、その後永眠された。
※症例5:	残存する右前庭神経鞘腫に対して γ -knifeを勧めた → 初回手術時の左聴力脱失、顔面神経麻痺から治療への恐怖心を訴えこれを躊躇、4年後に右聴力も喪失す → 9年後に対麻痺、Th12レベル以下の感覚低下を生ず。頭蓋内多発性髄膜腫、C6、Th5-7、L2-5に多発性神経鞘腫を認めた → 両側聴力喪失による抑鬱症状、疾患に対する絶望感もあり、治療をすべて拒否。

Samii のシリーズ²⁾にて聴力に関しては overall で 36%、3cm 以下の例では 57%、顔面神経に関しては 67%と一般的な AT に比し悪い様である。これは NF2 例では腫瘍の形状が不整で神経が engulf されていることや、神経自体に浸潤している事が多い為とされる⁴⁾。又著者らは顔面神経自体にも神経鞘腫が発生しており、transsection 後に腓腹神経の吻合を施行した症例 1 を経験している。一方 Lunsford ら⁴⁾の γ -knife のシリーズでは 1992 年以降辺縁線量を平均 17Gy から 13Gy に下げる事により、聴力が 67%、顔面神経が 81%もの温存率が得られ、surgical resection を凌駕した。tumor control rate も 3 年で 98%、7.5 年で 100%であり、術後の morbidity の大きさがその後の臨床経過に与える影響が大きい本病態においては、一般的な AT よりもより積極的に γ -knife を考えるべきかと考える。特に一側 AT に対して resection を行っている例においては、聴力温存の意味からも残存せる側に対しては、 γ -knife を勧めたい。

では脊髄 schwannoma の手術適応はどうだろうか。著者らは症候性のもの、ある程度の大きさを有し早晚症候性となる疑いがあるもの、および同一術野で摘出可能なもの等を手術適応有りとしてきたが、Klekamp ら¹⁾は NF2 に生じた脊髄 schwannoma では孤発例に比し術前神経症状が重篤であり、術後に症状が改善する可能性は少なく、更に全摘し得ても再発率は 5 年で 39.2%、9 年で全例再発すると述べている。それ故、症状出現前に見い出せた腫瘍に対しては積極的に摘出を図るべきと述べたいが、NF2 ではその多くに側彎や脊椎自体の変化も伴っており、術後の instability への対策等も考慮する必要があり、その手術適応を論ずる上での重要なポイントとなろう。又、近年 cyber knife が普及しつつあるが、本法では脊髄への stereotactic radiosurgery が可能であり、今後新しい治療 option として期待される。

著者らは今回の検討から NF2 の治療の困難さを実感した。最も重要なことは本疾患が germ line に乗った遺伝子異常に起因する疾患であることであろう。すなわち次から次へと襲ってくる中枢神経系腫瘍に患者が戦ってゆく motivation を維持できるか否か。これには主治医と患者との信頼関係が最も重要であり、初療時の morbidity を如何に抑えられるかが key point の様である。遺伝病であることを知った患者の絶望感を治療に立ち向かってゆく勇気に変える為には、脳神経外科医のみでは困難であり、耳鼻科医、遺伝学者、Psycho-oncologist、カウンセラーなどのチームで対応すべきであろう。

【結論】

NF2 に合併する脊髄神経鞘腫に対しては積極的な手術適応と考えるべきであるが、術後の instability へ

の対策や、再発に対する長期的経過観察が必須である。両側前庭神経鞘腫の治療が先行する事が多いため、その手術手技の向上、 γ -knife の積極的応用により、初療時の聴力、顔面神経機能の温存を図り、患者の病態に対する十分な理解と、如何に治療に立ち向かう motivation を高められるか。長い治療経過を要する本難病の治療に携わる我々脳神経外科医に与えられた重要な課題の一つと思われる。

【文献】

- 1) Klekamp J, Samii M: Surgery on spinal nerve sheath tumors with special reference to neurofibromatosis. *Neurosurg* 42, 279-290, 1998
- 2) Mautner V, Lindenau M, Baser ME, Hazim W, Tatagiba M, Haase W, Samii M, Wais R, Pulst S: The neuroimaging and clinical spectrum of neurofibromatosis 2. *Neurosurgery* 38, 880-886, 1996
- 3) Samii M, Matthies C, Tatagiba M: Management of vestibular schwannoma (acoustic neuromas); auditory and facial nerve function after resection of 120 vestibular schwannomas in patients with neurofibromatosis 2. *Neurosurgery* 40, 696-706, 1997
- 4) Subach BR, Kondziolka D, Lunsford LD, Bissonette DJ, Flickinger JC, Maitz H: Stereotactic radiosurgery in the management of acoustic neuromas associated with neurofibromatosis type 2. *J Neurosurg* 90, 815-822, 1999

診断が困難であった多発性脳腫瘍の1例

Unclassified Multiple Glioneuronal Neoplasm in Cerebrum - Case Report-

弘前大学脳神経外科¹⁾

東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科²⁾

田中雅彦¹⁾、久保長生²⁾、浅野研一郎¹⁾、大熊洋揮¹⁾、鈴木重晴¹⁾

【はじめに】

近年、WHO の脳腫瘍分類では診断が困難である glioneuronal tumor についての症例報告がなされている。

今回我々は、病理組織学的に診断が困難であり、免疫組織化学的に星細胞由来のマーカー、および神経細胞由来のマーカーの双方に陽性所見を呈した成人多発性脳腫瘍の1症例を経験したので若干の文献的考察を含めて報告する。

【症例】

28歳、男性。

家族歴・既往歴：特記すべき事項なし。

主訴：間欠的に生じる右上下肢のしびれ。

現病歴：平成12年2月中旬頃から、間欠的に右上下肢のしびれを自覚するようになった。このため、近医にて頭部CTおよびMRIを施行したところ、多発性の頭蓋内占拠性病変を認めた。同年、2月29日、精査・治療目的に当科紹介入院となる。

入院時神経学的所見：意識清明、麻痺および感覚障害は認めず、他の神経学的異常所見もみられなかった。主訴にある、間欠的に生じる右上下肢の感覚低下はてんかん発作によるものと考えられた。

神経放射線学的所見：頭部CTでは、左前頭葉から側頭葉にかけて、また、右前頭葉に低吸収域を認めた。造影CTにて造影効果は認められなかった。

頭部MRIにて、同病変は、T1WIで低信号、T2WIで高信号を呈した。また、T1WI, Gd+にてCT同様に造影効果はみられなかった。サイズは、左前頭葉から側頭葉の病変が長径70mm、右前頭葉の病変は長径25mmであった。周辺に脳浮腫は認めず、左側から右側への軽度正中偏位を認めた(Fig.1)。また、脳血管造影では、主として左側の病変による血管の偏位のみで、腫瘍陰影などの異常所見は認められなかった。

臨床検査所見：末梢血検査および生化学検査に異常

値はなく、主な腫瘍マーカーも陰性であった。

入院後経過：術前の画像診断にも難渋し、嚢胞性病変、充実性腫瘍、また、可能性は低い寄生虫などの感染性疾患などを考えた。平成12年3月16日、左側の病変に対し、Left pterional approachにて生検術を施行した。病変は皮質下に存在し、比較的軟らかくゼラチン様で、灰赤色を呈していた。正常脳組織との境界は極めて不明瞭であった。肉眼的には充実性の腫瘍性病変が疑われた。

また、右前頭葉の病変に対して、4月11日肉眼的全摘出術を施行した。術中所見は左側の病変と極めて類似したものであった。さらに、左側の残存腫瘍に対して、5月18日に部分摘出術を施行した。

病理組織学的所見：〔左側病変〕HE染色にて、円形の核を有する腫瘍細胞が主体で、胞体は明るく、分裂像は少数であった。壊死、ロゼット形成、endthelial proliferationは認められなかった(Fig.2-a, b)。免疫組織化学的には、GFAP陽性細胞が多数みられたが(Fig.3-a, b)、ニューロンのマーカーである、NF(Fig.3-a, b)、synaptophysin(Fig.3-a, b)およびNSE(Fig.3-a, b)も陽性であった。生検時のMIB-1 Staining Indexは2.4%であった(Fig.3-a)。しかし、左側病変に対する2度目の手術時の標本において、核異形が顕著で、MIB-1 Staining Indexが11.9%と高値を示す部分が認められた(Fig.3-b)。

〔右側病変〕組織学的に左側の病変と極めて類似する所見であった(Fig.2~6-c)。分裂像は少数であり、MIB-1 Staining Indexは2.2%であった(Fig.7-c)。以上、病理組織学的に要約すると、左右病変ともに基本的には星細胞腫であるが、これらに混在して乏突起細胞様あるいは神経細胞由来の腫瘍腫瘍を示唆するcomponentが認められる。また、左側の病変については腫瘍内に部分的に核異形が顕著で、かつ増殖能が高い要素を含むといった複雑な組織像を呈し

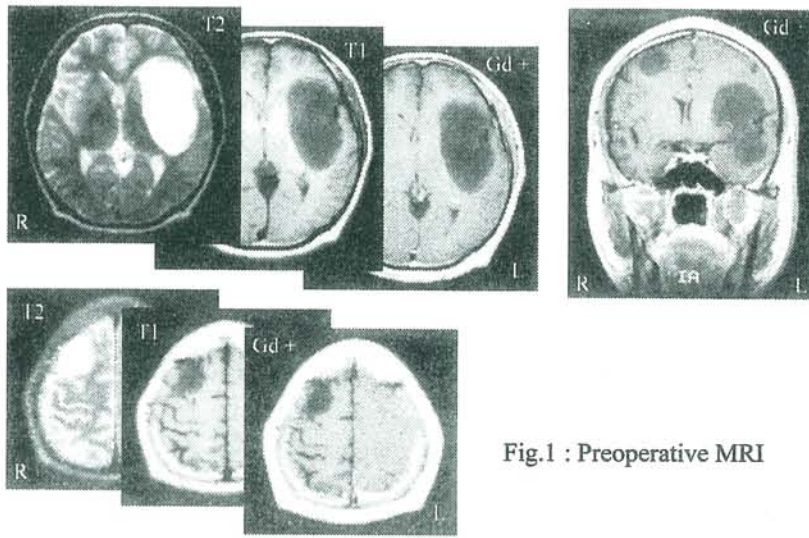


Fig.1 : Preoperative MRI

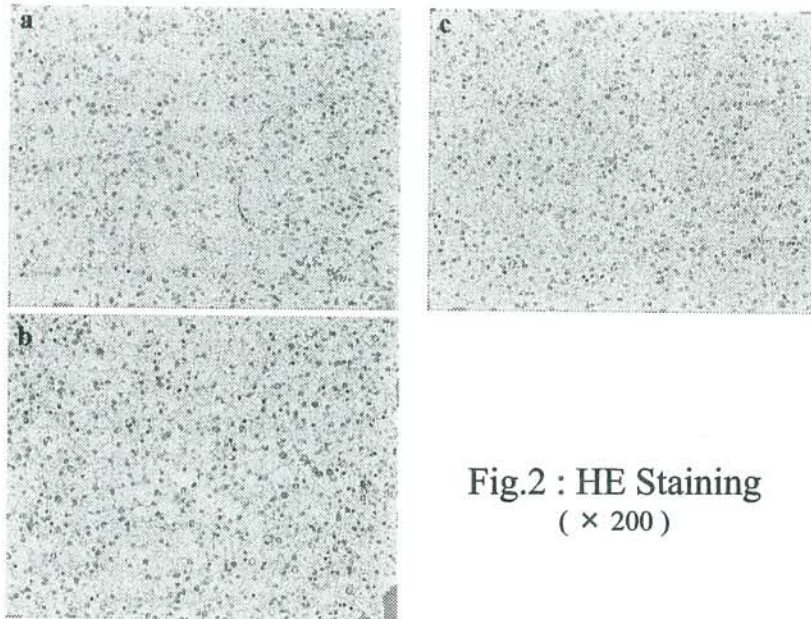


Fig.2 : HE Staining
(× 200)

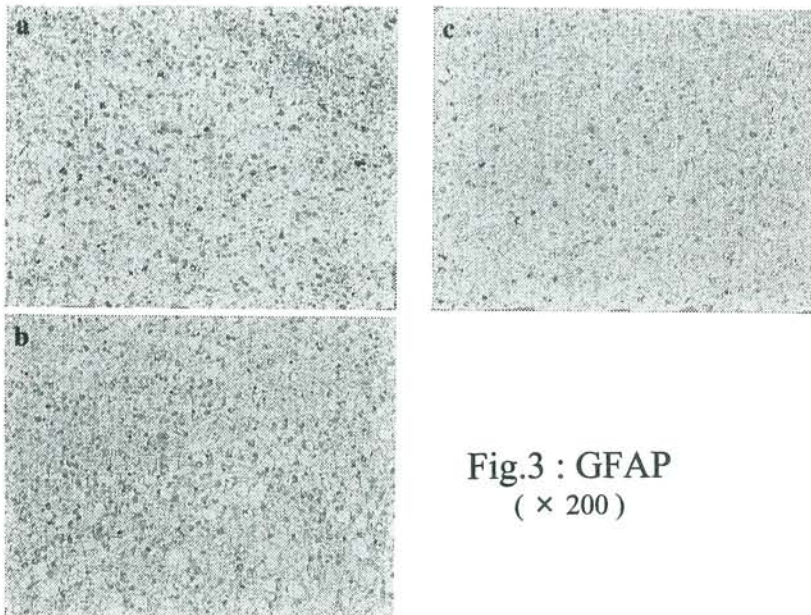


Fig.3 : GFAP
(× 200)

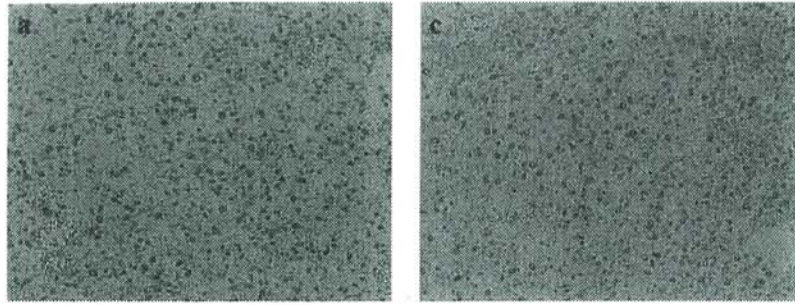


Fig.4 : Synaptophysin
(× 200)

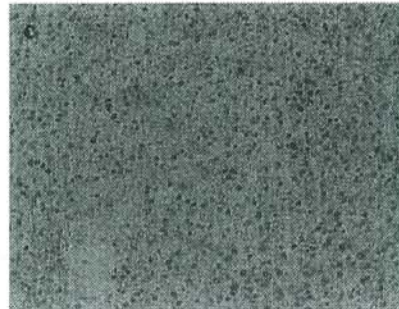
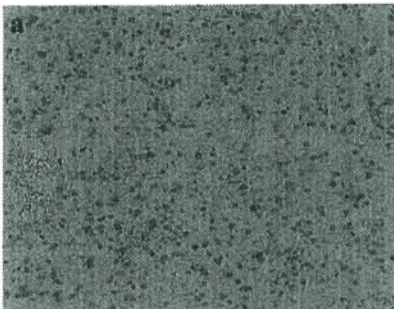


Fig.5 : NSE
(× 200)

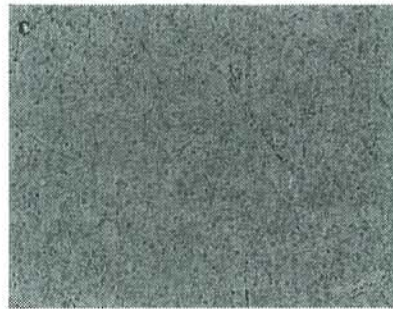
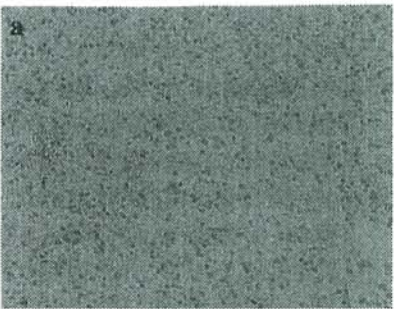


Fig.6 : Neurofilament
(× 200)



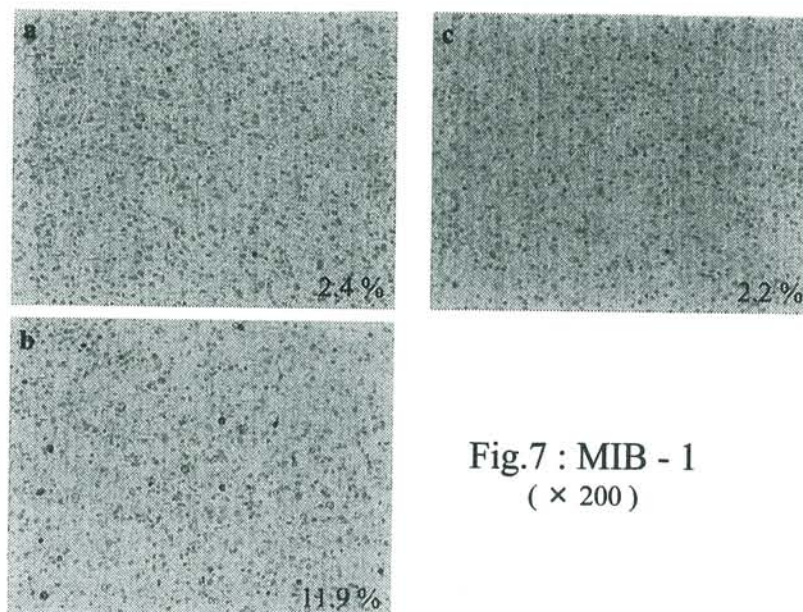


Fig.7 : MIB - 1
(× 200)

Table 1 : Summary of immunohistochemical findings

	Lt. frontotemporal tumor	Rt. frontal tumor
GFAP	+	+
Synaptophysin	+	+
NSE	+	+
NF	+	+
MIB-1	11.9 %	2.2 %

た。Table 1. に免疫組織化学的所見の概要を示した。

術後経過：左側の病変に対する生検術後、一過性に軽度右片麻痺および失語が出現したが直ぐに改善した。また、右上下肢のしびれ、脱力、失語を呈する症候性てんかんと考えられる症状もみられたが、抗痙攣剤の投与によってコントロール可能であった。3度の手術終了後、左前頭葉から側頭葉の残存腫瘍が存在したこと、また、一部に増殖能が強く核異形を有する組織が存在したことから、再手術、放射線・化学療法などの補助治療も考慮した。しかし、画像上、腫瘍周辺の脳浮腫もほとんど認めず、腫瘍の増大傾向もないことから外来にて経過観察を行うこととし、平成 12 年 6 月 10 日独歩自宅退院となった。退院後も当科外来にて定期的に頭部 MRI を施行し経過観察を行っている。なお、患者は退院翌日より職場復帰し、現在も神経学的異常所見なく経過している。また、痙攣発作についても良好なコントロールが得られている。

しかし、最近の MRI で若干の腫瘍増大傾向が認められており、また、新たに右側頭葉後部に直径 10mm の mass lesion が出現している。なお、同病変は MRI にて左側の病変と同信号域を呈した。現在、今後の治療方針について検討中である。

【考察】

近年 WHO の Neuronal and Mixed Neuronal-Glial Tumors¹⁾のいずれの型にも分類困難な病理組織学的所見を呈する腫瘍についての報告が散見される。

1999年に、Teoらが4症例の、Neuropil-like islandを有する、Glioneuroal tumorを報告した²⁾。腫瘍の構成要素は、主に GFAP 陽性の星細胞由来であるが、neuropil-like islandsをあわせもち、この組織はneuronのマーカーである、synaptophysinに陽性所見を呈する。このうち2例のMIB-1 SIは、6.8%、8.2%と高値を示した。また、画像所見では、CTにて低吸収域、MRIで、T2WIにて高信号、T1WIにて低信号域として描出され、周辺の脳浮腫もほとんど認められ

ないとしており、今回の我々の報告と類似している。しかし、我々の症例では、病理組織学的所見として、neuropil-like islandsが明瞭でなく、むしろ、腫瘍組織においては、びまん性に神経細胞系のマーカーが陽性である。この neuropil-like island を有する、glioneuroal tumorについては、後に Pryson とも報告しており³⁾、MIB-1 SIは、18.1%と高値で、比較的高い増殖能を有する腫瘍であることが考えられる。今回の報告でも、MIB-1 SIが11.9%と高値を示す部分を認めた。

また、1998年にKomoriらは、mixed neuronal-glia tumorのvariantとして、9症例のpapillary glioneuroal tumorについて報告した⁴⁾。病理組織学的には、①GFAP陽性の星細胞由来の細胞群によって囲まれたヒアリン変性を伴う小血管より構成される乳頭状の組織 ②様々なサイズを有するsynaptophysin陽性の神経細胞1群、という2つの構成要素を有する。また、細胞密度は中等度で、核異形も少なく、分裂像や壊死像も伴わないとしている。画像上は、MRIで、嚢胞性の病変として描出され、造影効果があると述べており、組織学的、また、画像上も今回の報告とは合致しない。また、papillary glioneuroal tumorについては、Prysonとも報告しており、この腫瘍は、嚢胞性で、MRIにてperiferal rimが造影されると記載している⁵⁾。また、MIB-1 SIは1.1%と低値であり、免疫組織化学的手法にてp53変異は示さなかったと報告している。さらに、Bouvier-Labitらも同様の腫瘍を報告しており、1例報告ではあるが、予後に関し、腫瘍全摘術後7年間再発をみていないと述べている⁶⁾。

また、Nakatsukaらは、dysembryoblastic neuroepithelial tumor (DNT)に類似しているが、特異的なglioneuroal elementを伴わない腫瘍について報告している⁷⁾。

この他に、Nishioらは、大脳半球に発生し、病理組織学的に反応性のastrocyteを伴い、腫瘍細胞がびまん性にsynaptophysin陽性所見を呈する腫瘍を、cerebral neurocytomaとして3例報告した⁸⁾。この腫瘍は、画像上CTにて低吸収域、MRIにてT1WIで低信号域、T2WIにて高信号域として描出され、造影効果もなく、また、周辺の脳浮腫も伴わず、画像的には今回の報告と酷似している。また、本性例において、GFAP陽性所見を呈した細胞群が反応性のastrocyteであることも否定はできない。

しかし、現時点で本症例の確定診断は困難であり、上述した報告と典型的に一致する病理組織像は得られていない。また、上述した報告はいずれも単発性であるが、本症例は多発性であり、比較的稀なケースであると考えられる。現在、当科外来にて嚴重に経過観察を行うとともに、病理組織診断についても

慎重に検討している。

【結語】

術前画像診断が困難で、病理組織学的診断および治療方針にも難渋している成人多発性脳腫瘍の1例を報告した。現在、その病理組織学的診断および治療方針につき検討中である。

【参考文献】

- 1) Paul Kleihuse, Webster K. Cavenee. Pathology & Genetics of Tumors of the Nervous System. IARC Press Lyon, 2000
- 2) Teo JG, Gultekin SH, Bilsky M et al : A distinctive glioneuroal tumor of the adult cerebrum with neuropil-like (including "rosetted") islands : report of 4 cases. Am J Surg Pathol 23(5) : 502-10, 1999
- 3) Prayson RA, Abramovich CM : Glioneuroal tumor with neuropil-like islands. Hum Pathol 31(11) : 1435-8, 2000
- 4) Komori T, Scheithauer BW, Anthony D et al : Papillary glioneuroal tumor : a new variant of mixed neuronal-glia neoplasm. Am J Surg Pathol 22(10) : 1171-83, 1998
- 5) Prayson RA : Paillary glioneuroal tumor. Arch Pathol Lab Med 124(12) : 1820-3, 2000
- 6) Bouvier-labit C, Daniel L, Dufour H et al : Papillary glioneuroal tumor : clinopathological and biochemical study of one case with 7-year follow up. Acta Neuropathol (Berl) 99(3) : 321-6, 2000
- 7) Nakatsuka M, Mizuno S, Kimura T et al : A case of an unclassified tumor closely resembling dysembryoplastic neuroepithelial tumor with rapid growth. Brain Tumor Pathol 17(1) : 41-5, 2000
- 8) Nishio S, Takeshita I, Kaneko Y et al : Cerebral Neurocytoma - A New Subset of Benign Neuronal Tumors of the Cerebrum. Cancer 70 : 529-537, 1992

悪性グリオーマに対するインターフェロン β の有効性について

Effects of interferon- β against malignant gliomas

横浜市立大学医学部脳神経外科

菅野 洋、林 明宗、鈴木範行、山本勇夫

【はじめに】

インターフェロン(IFN)は、1954年に Nagano, Kojima および Sawai¹⁾によりウイルス抑制因子として発見され、1957年に Isaacs と Lindenmann²⁾によりインターフェロンと命名された生理活性物質である。その作用は、抗腫瘍作用および抗ウイルス作用の2種類に大別される。抗腫瘍作用は、直接作用として、DNA合成抑制作用³⁾、細胞周期延長作用⁴⁾が認められ、間接作用として、NK細胞⁵⁾およびT細胞(LAK細胞)の活性化⁶⁾、リンパ球による細胞障害の活性化⁷⁾が認められている。原発性脳腫瘍に対する効果としても、膠芽腫、髄芽腫、悪性星細胞腫に対して、インターフェロン β の一定の有効性が証明されているが⁸⁻¹⁰⁾、その有効性は必ずしも高いものではなく、実際の臨床例で奏功したという感触がなかなか得られない。本研究では、当科において悪性神経膠腫に対して過去にインターフェロン β を投与した例と投与しなかった例について、その有効性について、検討した。

【方法】

対象は、1980年から2000年の間に当科において治療を行い、組織学的に診断の確定した退形成星細胞腫(anaplastic astrocytoma)47例および膠芽腫(glioblastoma)40例の計87例の悪性グリオーマである。このうち、少なくともインターフェロン β の初期療法(300万単位 \times 3/2~8週)を行った37例と行わなかった50例に分けた。悪性グリオーマに対する治療は、新たな神経脱落症状を出さない範囲で可及的に摘出した。インターフェロン β (300万単位)は、術後、インドメタシン(Indomethacin)座薬またはジクロフェナクナトリウム(Diclofenac Sodium)座薬50mgを投与後、生理食塩水100mLに溶解し、30分以上かけて点滴静注した。また、化学療法剤を静注した群と動注した群に分けて、検討した。化学療法剤は、1980年から1992年まではACNU100mgを4~8週間隔で

静注し、1993年以降はACNU 100mg, Cisplatin(CDDP)75mg, Carboplatin 300mg (CDBCA)のうちのいずれか1剤とEtoposide 30~60mgを腫瘍の存在する支配領域の総頸動脈または椎骨動脈より4~8週間隔で投与(動注)した。放射線療法は、Linacによる全脳照射50Gyに加えて局所への追加照射を10~15Gy行った。統計学的解析は、Kaplan-Meier法にて生存分析を行い、log-rank testを用いて有意差を検定し、 $p<0.05$ を有意と判定した。

【結果】

1. 膠芽腫に対するIFN β の有効性

膠芽腫40例中、IFN β 投与群は20例で、IFN β 非投与群は20例であり、この両群間に生存期間に有意差はなかった。また、化学療法剤を静注した使用した群(静注群)20例のうちIFN β 投与群は13例、非投与群は7例であり、この静注群のIFN β 投与群と非投与群についてKaplan-Meier法で解析すると、 $p=0.1931$ で両群間には生存期間に有意差はなかった(Fig.1)。化学療法剤の動注群は20例であり、このうちIFN β 投与群は13例、非投与群は7例であった。動注群のIFN β 投与群と非投与群についてKaplan-Meier法で解析すると、 $p=0.0122$ でIFN β 投与群の方が有意に長期の生存期間を認めた(Fig.2)。また、IFN β 投与群と非投与群との間にKarnofsky Performance Scale(KPS)に関して差はなかった。

2. 退形成星細胞腫に対するIFN β の有効性

退形成星細胞腫47例中、IFN β 投与群は17例で、IFN β 非投与群は30例であり、両群には生存期間に有意差はなかった。化学療法剤の静注群は25例であり、このうちIFN β 投与群は3例、非投与群は22例であった。この静注群のIFN β 投与群と非投与群についてKaplan-Meier法で解析すると、 $p=0.4885$ で両群には有意差はなかった(Fig.3)。一方、化学療法剤の動注群は22例であり、このうちIFN β 投与群は14

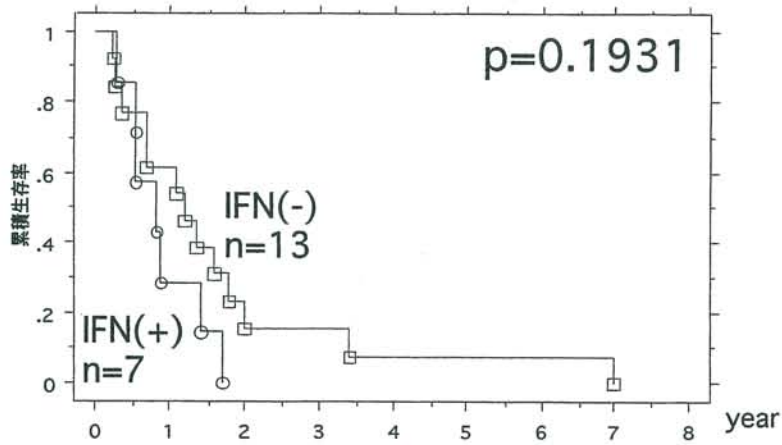


Fig.1

膠芽腫に対する化学療法剤の静注群における IFN β 投与群と非投与群についての生存解析。Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.1931$ で両群間には生存期間に有意差はなかった。

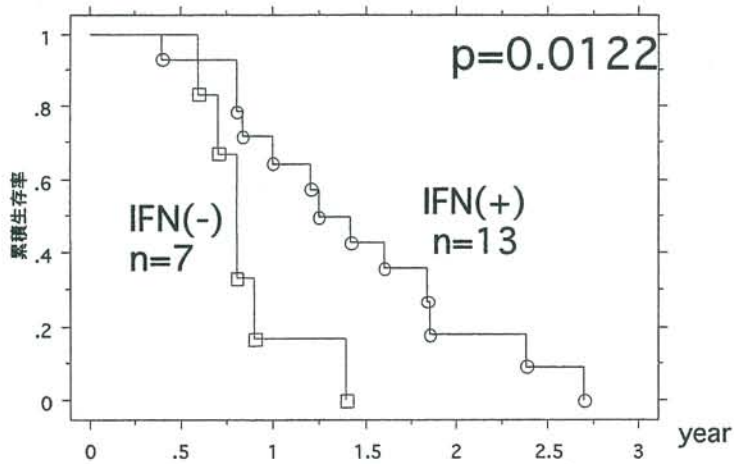


Fig.2

膠芽腫に対する化学療法剤の動注群における IFN β 投与群と非投与群についての生存解析。Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0122$ で IFN β 投与群の方が有意に長期の生存期間を認めた。

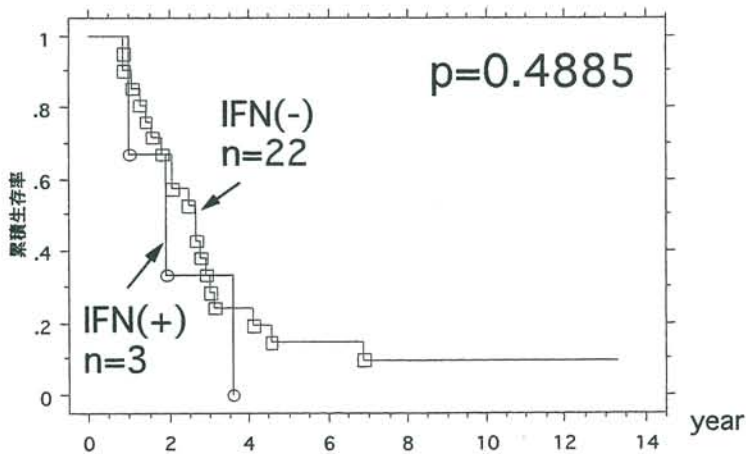


Fig. 3

退形成星細胞腫に対する化学療法剤の静注群における IFN β 投与群と非投与群についての生存解析。Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.4885$ で両群には有意差はなかった。

例、非投与群は 8 例であった。動注群の IFN β 投与群と非投与群について Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0468$ で IFN β 投与群の方が有意に長期の生存期間を認めた(Fig.4)。また、IFN β 投与群と非投与群との間に Karnofsky Performance Scale(KPS)に関して差はなかった。

3. 悪性グリオーマ全体に対する IFN β の有効性

膠芽腫 40 例と退形成星細胞腫 47 例を合わせた 87 例について、IFN 投与群 37 例と非投与群 50 例に分けて検討すると、両群の間には $p=0.5141$ で生存期間に有意差はなかった(Fig.5)。87 例中、化学療法剤の静注群は 45 例であり、このうち IFN β 投与群 10 例と非投与群 35 例について Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0239$ で IFN β 非投与群の方が有意に長期の生存期間を示した(Fig.6)。これに対し、動注群 42 例では IFN β 投与群の方が非投与群に比べて、 $p=0.0041$ で有意に長期の生存期間を示した(Fig.7)。

【考察】

悪性グリオーマに対する IFN β の臨床効果に関する報告としては、永井⁸⁾が悪性グリオーマ(膠芽腫および悪性星細胞腫) 48 例について IFN 単独療法として行った phase II study の結果では、CR 1 例、PR 12 例で奏効率 27.1%であったと報告し、若林ら⁹⁾は悪性グリオーマに対して、放射線単独治療(平均生存期間 15.2 ヶ月)および放射線治療+ACNU 治療(19.7 ヶ月)に比べ、IFN- β +放射線治療+ACNU 治療(IAR 療法)は 25.3 ヶ月と有意に長期の生存期間を示し、初期治療による奏効率も放射線+ACNU の 35.7%に対し、IAR 療法が 60.5%と高い奏効率を示したと報告している。また、永井ら¹⁰⁾は、髄芽腫と星細胞腫に対する IFN β の奏効率を点滴静注群と局所投与群に分けて検討し、髄芽腫 20 例では、点滴静注群 17 例で著効が 3 例(17.6%)、局所投与群 3 例で著効が 1 例(33.3%)であり、星細胞腫 25 例では、点滴静注群では

23 例中著効が 1 例(4.3%)、有効が 4 例(17.4%)であり、局所投与群では 2 例中有効が 1 例であったと報告している。

IFN β 投与に際し放射線療法を併用した場合、悪性グリオーマに対して IFN β 投与が奏効するメカニズムとしては、IFN β 自身の放射線感受性の増強効果、あるいは放射線治療や ACNU などのニトロソウレア系抗癌剤と IFN β の直接的抗腫瘍効果の相互作用によるものと考えられる¹¹⁾。ただし、永井らの報告^{8, 10)}にみられるように、IFN β 単独での奏効率は 50%を越えず、決して高いとは言えない。このため、実際に IFN β を投与する脳神経外科医にとっては、悪性グリオーマに対して IFN β が奏効したという実感を持つことが少ないのが現状である。今回の検討でも、悪性グリオーマ 87 例全体でも、膠芽腫 40 例あるいは退形成星細胞腫 47 例でも、Kaplan-Meier 法では IFN β の投与の有無で生存期間に有意差はみられなかった。ところが、化学療法剤の動注群については、IFN β 投与群の方が悪性グリオーマ全体、退形成星細胞腫、膠芽腫のいずれの群でも有意に生存期間の延長を示した。抗癌剤を腫瘍の栄養血管の近位である頸動脈や椎骨動脈から動注することで、腫瘍内に高濃度の抗癌剤を到達させ、より高い効果を得ようとする試みはかなり以前から行われてはきたが、静注による投与に比べて必ずしも高い効果が期待できるわけではない。ただ、静注に比べて動注では急速に髄液中の薬剤濃度が高まることが知られており、抗癌剤の作用と IFN β の DNA 合成抑制作用、細胞周期の延長作用などがより相乗的に作用する可能性があるものと考えられる。また、抗癌剤を動注することで静注に比べて、抗癌剤の投与量を少なく押さえられているため、それが抗癌剤の免疫抑制効果を軽減し、IFN β の免疫賦活作用に対して、有利に働いている可能性もあると思われる。しかしながら、動注群では IFN β 投与した方が生存期間の延長がみられる理由については更に検討を要すると考えられる。

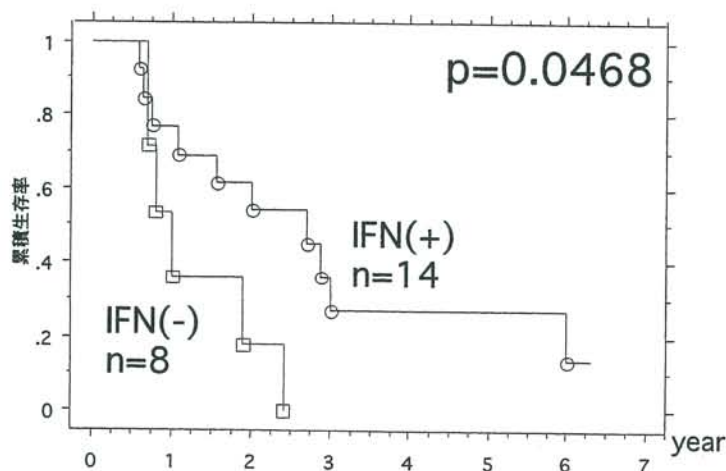


Fig. 4

退形成星細胞腫に対する化学療法剤の静注群における IFN β 投与群と非投与群についての生存解析。Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0468$ で IFN β 投与群の方が有意に長期の生存期間を認めた。

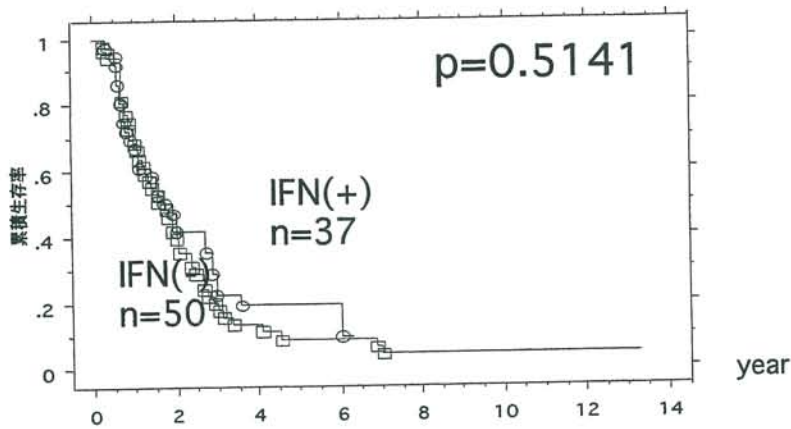


Fig. 5
悪性グリオーマ 87 例について、IFN 投与群 37 例と非投与群 50 例についての生存解析。
両群の間には $p=0.5141$ で生存期間に有意差はなかった。

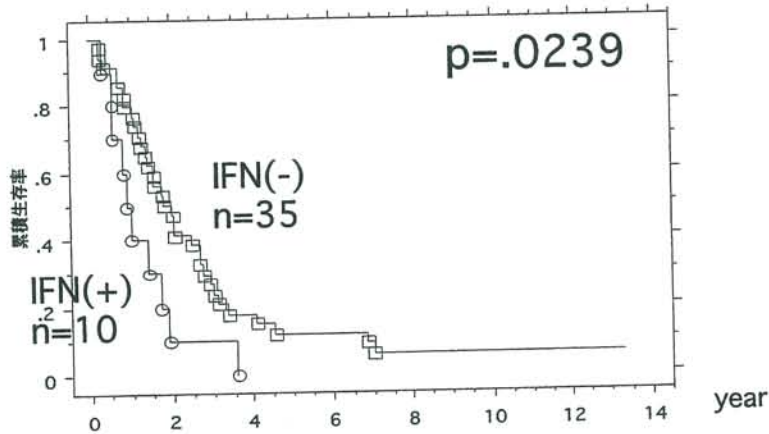


Fig. 6
悪性グリオーマ 87 例のうち化学療法剤の静注群 45 例のうち、IFN β 投与群 10 例と非投与群
35 例について生存解析。Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0239$ (log rank test)で、むしろ IFN
 β 非投与群の方が有意に長期の生存期間を示した。

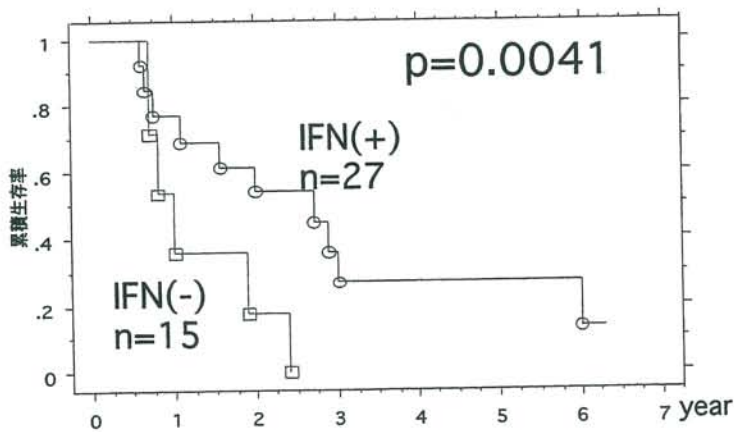


Fig. 7
悪性グリオーマ 87 例のうち、動注群 42 例のうち、IFN β 投与群と非投与群について生存解析。
Kaplan-Meier 法で解析すると、 $p=0.0041$ (log rank test)で IFN β 投与群が有意に長期の生存期間を示した。

【文献】

- 1) Nagano Y, Kojima Y, Sawai Y: Immunity et interference dans la vaccine: Inhibition de infection dermique par le virus inactive.
C R Soc Biol 148: 750-752, 1954
- 2) Isaacs A, Lindenmann J: Virus interference I, The interferon. Proc Royal Soc B147: 258, 1957
- 3) Nagao S, Tohgo A, Kohno M, Ogawa H : Cytostatic action of human fibroblast interferon in direct growth inhibition : effect on human malignant melanoma.
Gann 74(3): 452-458, 1983
- 4) Genka S, Shitara N, Tsujita Y, Kosugi Y, Takakura K : Effect of interferon- β on the cell cycle of human glioma cell line U-251 MG : flow cytometric two-dimensional (BrdU/DNA) analysis.
J Neuro-Oncology 6 : 229-307, 1998
- 5) 今村幸雄、黒川眞樹、佐藤 宏、砂田芳秀 :
骨髄腫患者におけるヒト線維芽細胞インターフェロン(HuIFN- β)連日投与による免疫学的検討、
日本臨床免疫学会誌 10(3):223-231, 1987
- 6) Oshimi K, Oshimi Y, Motoji T, Kobayashi S,
Mizogucchi H: Lysis of leukemia and lymphoma cells by autologous and allogeneic interferon-activated blood monolayer cells.
Blood 61(4): 790-798, 1983
- 7) 石原和之、早坂健一、山本明史 : 悪性黒色腫に対する HuIFN- β の腫瘍内投与における臨床効果および病理学的観察、 癌の臨床
29(6): 603-607, 1983
- 8) 永井政勝 : BMR 療法、悪性神経膠腫
高倉公朋監修 pp. 155-164、現代医療社、1989
- 9) 若林俊彦、吉田 純 : 悪性脳腫瘍に対するインターフェロン併用療法の有効性、
Biotherapy 4(7): 1264-1269, 1990
- 10) 永井政勝 : 悪性脳腫瘍に対する Human Fibroblast Interferon(BM532)の臨床効果、
日本癌治療学会誌 24(3) : 638-646, 1989
- 11) 若林俊彦、吉田 純 : 脳腫瘍の IFN 療法、
Current Therapy 13: 100-105, 1995

悪性脳腫瘍に対する養子免疫療法の経験

Our Experience of Adoptive Immunotherapy for Malignant Brain Tumors

神奈川県立がんセンター脳神経外科¹⁾、
神奈川県立がんセンター臨床研究所第二科²⁾、
横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター脳神経外科³⁾、
神奈川県立こども医療センター脳神経外科⁴⁾

西村 敏¹⁾、久間祥多¹⁾、矢野間俊介²⁾、林 明宗³⁾、関戸謙一⁴⁾、伊藤 進⁴⁾

【はじめに】

原発性悪性脳腫瘍に対する補助療法として養子免疫療法が注目されてきたが、その *in vitro* での有効性に比べ、臨床成績はいまだ満足できるものではない。当センターでは、1996年2月より悪性脳腫瘍に対して養子免疫療法を施行してきたので、その経験について報告する。

【対象と方法】

対象は、年齢：9～61歳（平均40.4歳）、性別：男性3例、女性5例、組織：膠芽腫3例、退形成星状細胞腫3例、髄芽腫2例、施行前のKPS 70以上6例、60以下2例、再発例6例、再発例でないもの2例であった。（Table 1）

当センターでは関根らの方法¹⁾に準じて固相化CD3刺激法で活性化リンパ球を大量培養し、1996年2月よりこの活性化リンパ球を2週間毎に外来で×10¹⁰前後を点滴静注している。（Fig.1）

【結果】

臨床症例を検討した。Table 2に患者各々の活性化リンパ球輸注の施行回数、総量、NK活性、LAK活性、生存期間を示す。LAK活性が高くなっている症例の方が、生存期間が長い印象を受ける。活性化リンパ球は51-Cr releasing assayにより細胞障害性を検討した。Fig.2に輸注前、後のNK活性、LAK活性を示す。

代表的な症例を呈示する。Fig.3、7、9、11に臨床経過を示す。

症例1は、49歳女性 膠芽腫の患者で、初期療法後3.8 mosで再増大し、脊髄へも転移し、化学療法を続けたが効果がないため、養子免疫療法を施行した。画像上変化なく、14.9 mosで全身状態が悪化し死亡した。（→Fig.4）

症例2は、61歳女性 退形成星状細胞腫の患者で、手術は部分摘出に終わったものの初期治療後寛解状態で、養子免疫療法を施行している。その後も寛解状態が続いたが、47.7 mosで残念ながら、再発した。亜全摘術を施行し、再び養子免疫療法を施行し、54.4 mos再発なく過ごしている。（→Fig.5A、5B）

症例8は、50歳女性 退形成星状細胞腫の患者で、手術は部分摘出に終わったものの初期治療後直ちに養子免疫療法を化学療法と平行して施行している。画像上腫瘍は縮小傾向をみせている。（→Fig.6）

症例7は、56歳女性 膠芽腫の患者で、初期治療後に養子免疫療法を化学療法と平行して施行したが、10.1 mosで再発し、12.0 mosで腫瘍死した。（→Fig.8）

症例3は、9歳女性 髄芽腫の患者で、27 mos後頸髄に再発し、養子免疫療法を施行したが、11.0 mos後播種にて腫瘍死した。（→Fig.10）

症例4は、14歳男性 髄芽腫の患者で、40 mos後局所に再発し、化学療法と平行して養子免疫療法を施行したが、高度の髄膜膠腫症となり化学療法を中止したが、その後も養子免疫療法を続け、自宅生活をおくることが出来た。最終的に肺炎にて24.2 mos後死亡した。（→Fig.12）

【考案】

脳腫瘍に対する養子免疫療法に対する問題点は、どのような方法を取れば標的細胞に有効に到達させることが出来るか、いかに細胞障害活性を高くし、しかも大量に投与出来るかにあると考えられる。また致し方ない側面はあるものの、従来は通常の治療がなされた後の再発腫瘍に施行された点にも問題があるとも考えられる。投与方法としては、マウスでの報告では静注投与でも充分効果が観られたという報告²⁾もあるが、一部の癌腫では有効な全身投与も脳

Case	Age	Sex	Path	P/R	KPS	Previous Therapy			
						Op.	Rad (Gy)	Chem	BRM
1	49	F	GB	R	70	SR	60 (sp 50)	Y	IFN- β
2	61	F	AA	P	90	PR	60	Y	IFN- β
3	9	F	Med	R	70	TR	59.2(sp 34.2)	Y	IFN- β
4	14	M	Med	R	70	TR	56.0(sp 29.6)	Y	IFN- β
5	24	M	GB	R	60	PR	*(sp 50)	Y	(-)
6	60	M	AA	R	40	SR	60	Y	IFN- β
7	56	F	GB	R	90	SR	60	Y	IFN- β
8	50	F	AA	P	70	PR	60	Y	IFN- β

Table 1 List of cases

Adoptive Immunotherapy

20 ml of patients' peripheral blood

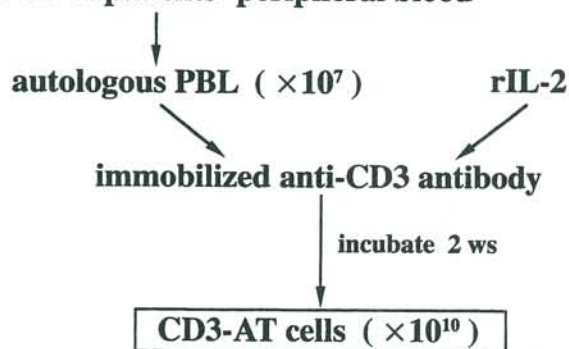


Fig.1

Case	Survival	Total No.	Total amount(cell)	NK activity (K562)		LAK activity (Daudi)	
				initial PBL	post PBL	initial PBL	post PBL
1	14.9 mos	33	6.2×10^{10}	15.0	42.1	0.0	16.7
2	54.4 A	20	7.5×10^{10}	10.3	28.4	1.5	12.0
3	11.0	24	19.4×10^{10}	19.8	45.2	2.5	24.3
4	24.2	55	32.5×10^{10}	22.7	45.2	3.0	22.0
5	4.5	7	4.2×10^{10}	12.4	28.7	1.5	5.9
6	2.6	4	4.0×10^{10}	16.0	20.6	1.2	2.6
7	12.0	16	12.0×10^{10}	18.0	32.8	1.7	7.2
8	10.5 A	21	7.6×10^{10}	10.5	48.7	2.0	27.8

Clinical data of adoptive immunotherapy

Table 2

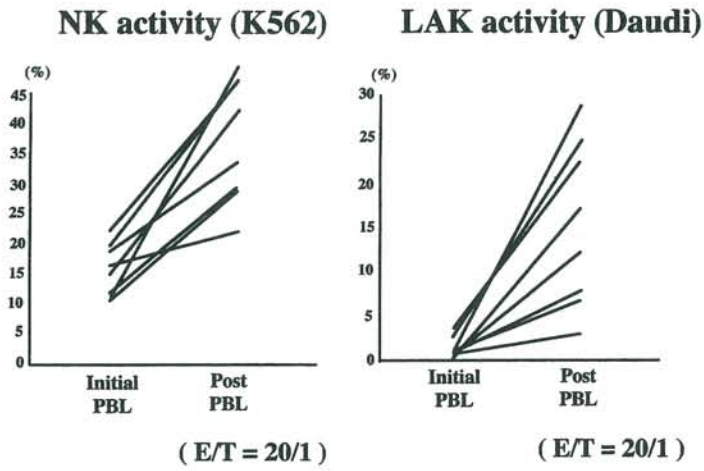


Fig.2

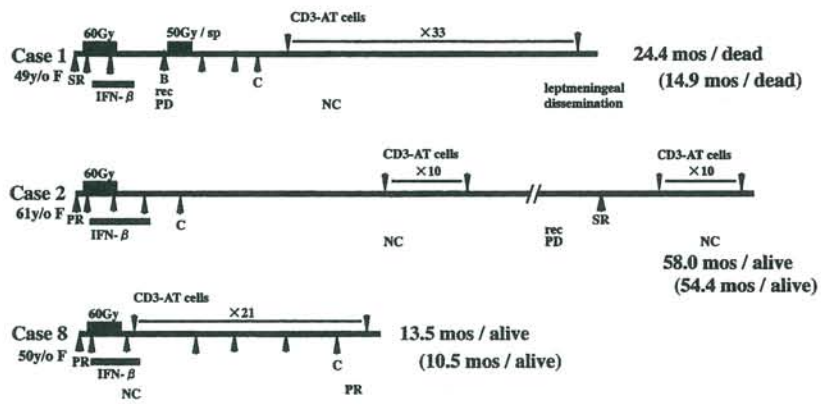


Fig.3

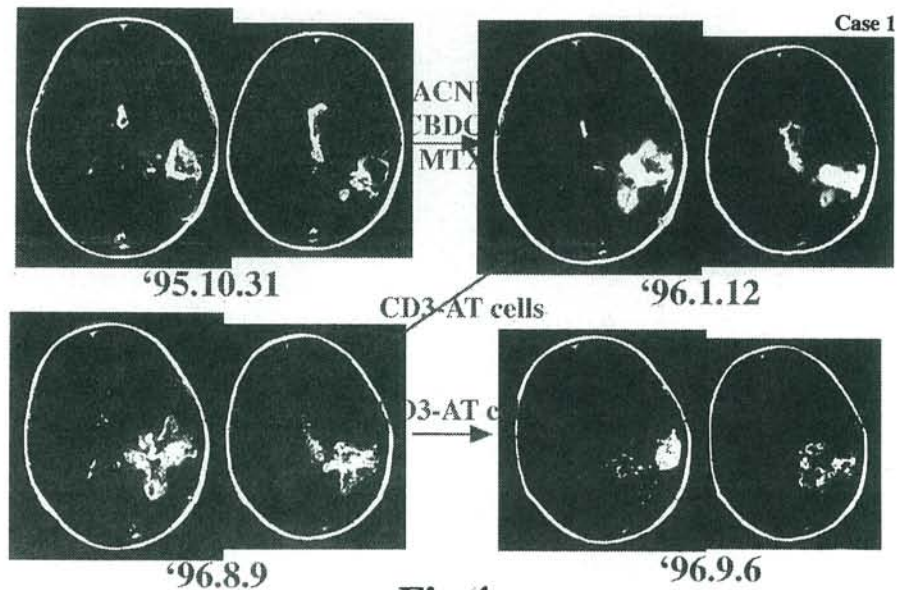
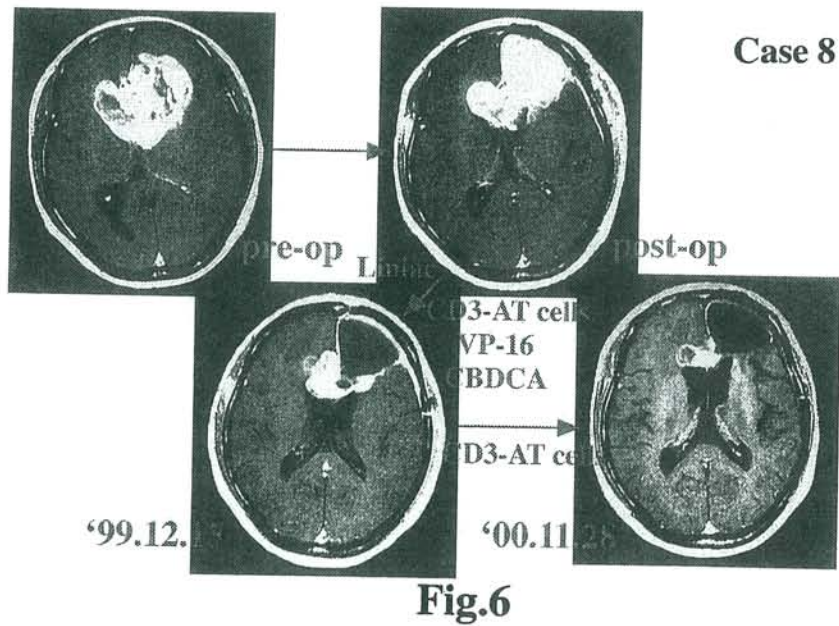
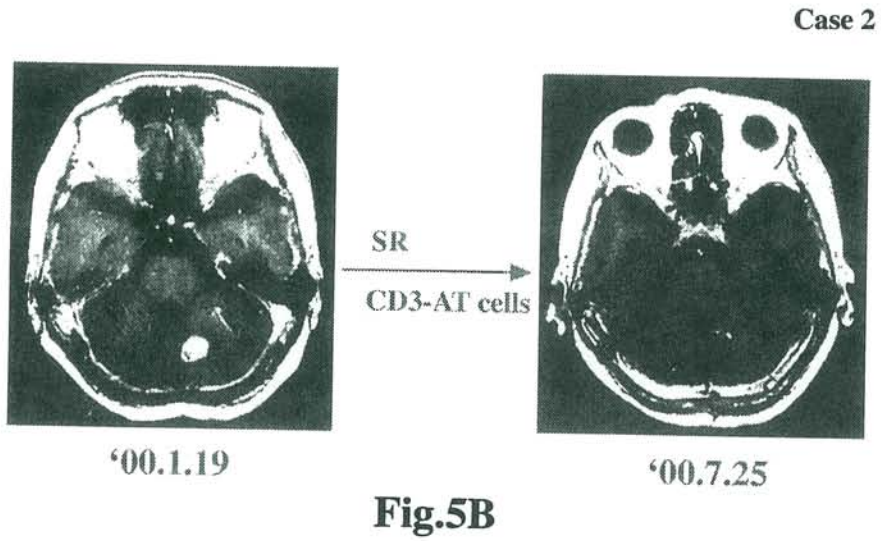
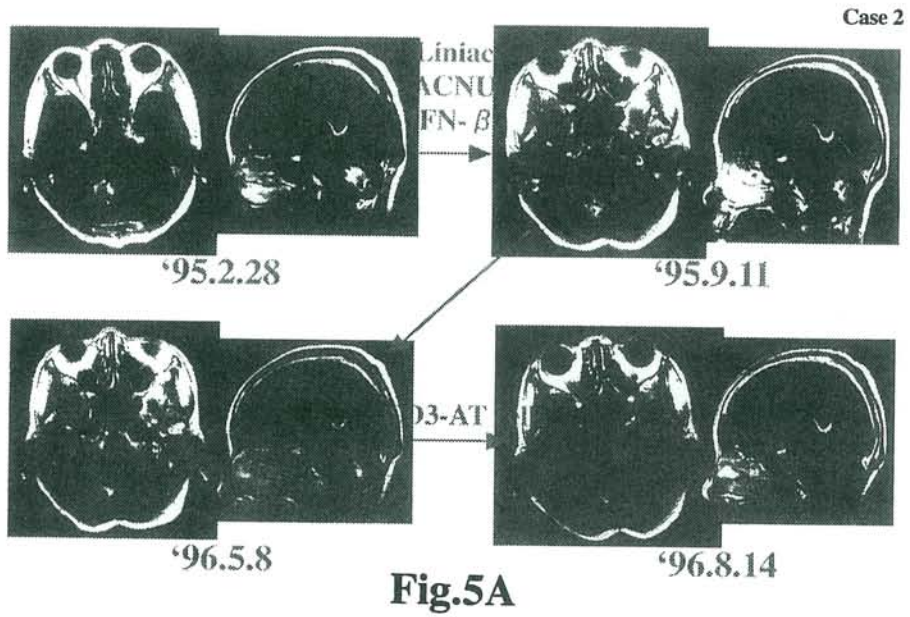


Fig.4



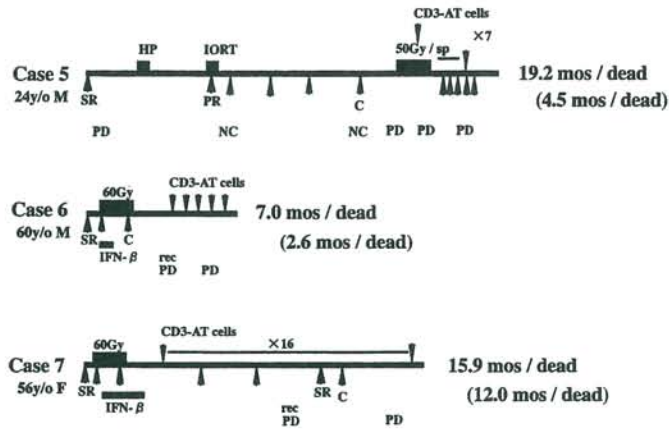


Fig.7

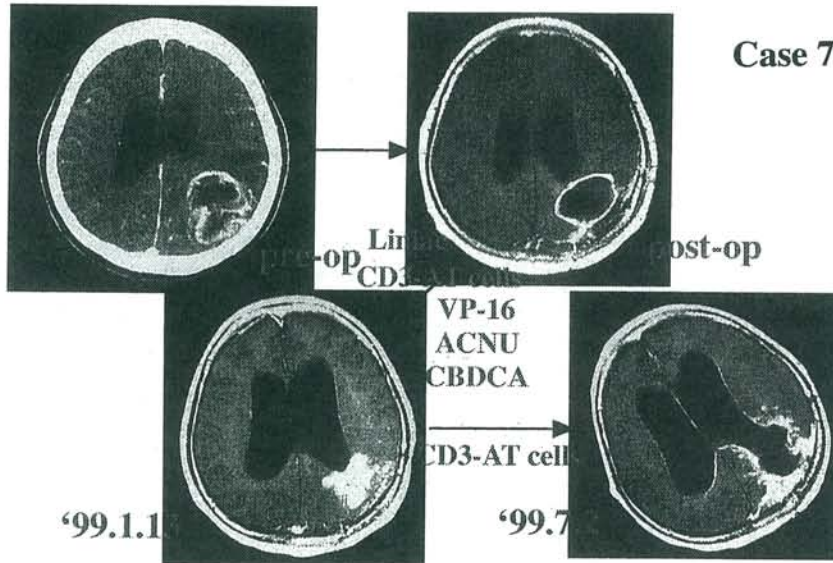


Fig.8

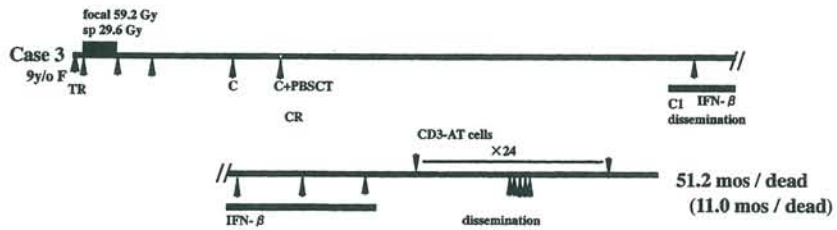


Fig.9

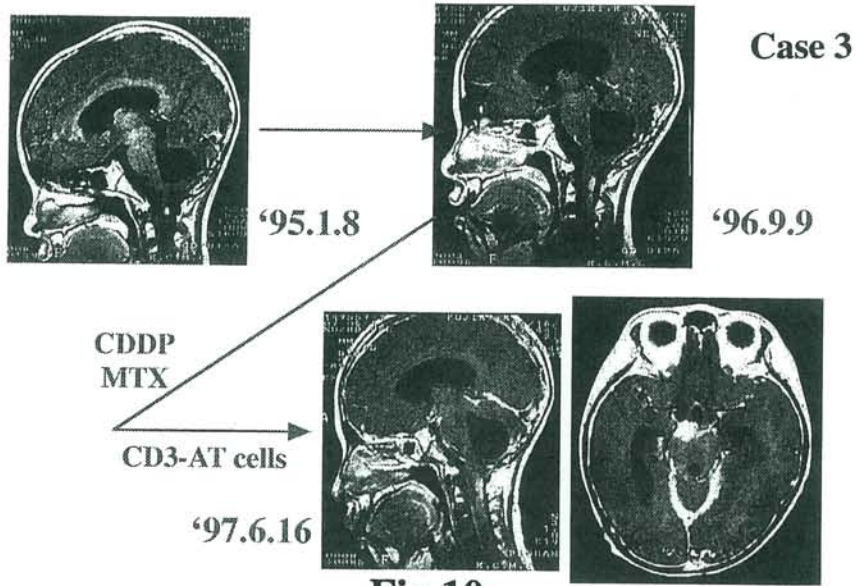


Fig.10

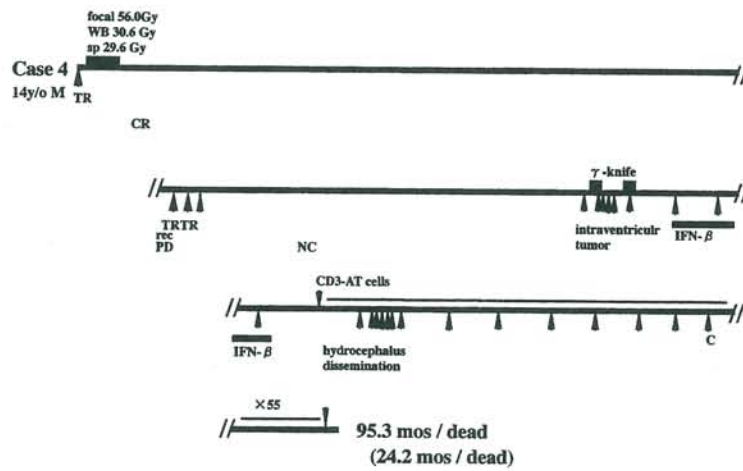


Fig.11

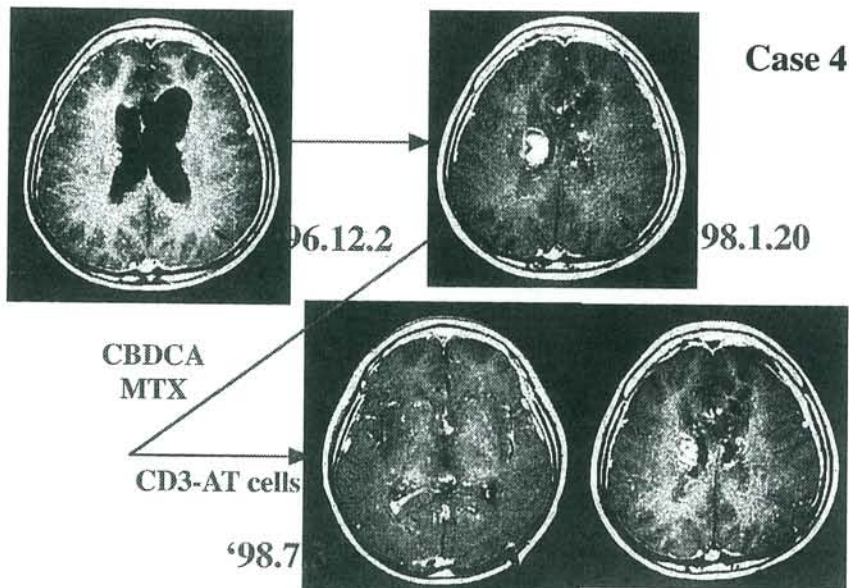


Fig.12

腫瘍に対してはあまり効果がない^{3, 4)}という意見が多い。脳腫瘍に対する報告^{5, 6, 7, 8, 9, 10)}では、局所養子免疫療法が殆どである。高山ら¹¹⁾は、肝癌の治癒的切除例に対し当センターと同様の方法で養子免疫療法を施行した randomized trial を施行し、初回再発について有意差を報告している。これは免疫療法に対する標的細胞の数の問題が重要であることを示唆しており、手術後の初期治療より開始することが重要であると考えられる。

当センターで施行している固相化 CD3 刺激法で活性化リンパ球を大量培養し二週間毎に点滴静注する方法は、

(1) leukapheresis を必要とする方法では患者の負担が大きく、特に小児には適用しがたいのに対して、この培養法を用いれば、少量の採血で大量の活性化リンパ球が得られ、外来で施行可能である。

(2) 経静脈投与で脳腫瘍局所へどの程度到達するかという問題はあるものの一方、

1) 局所投与でも効果の限界や障害がある^{9, 10)}。

(a) Ommaya 設置等が必要である。(b) 腫瘍塊を形成していると効かない。(c) 浸潤能の低さと、繰り返して施行すると反応性被膜を形成する。

2) グリオーマ患者も他悪性腫瘍と同様に全身的にも免疫抑制状態となり、T 細胞低下、抗体反応の低下、T 細胞の細胞障害能の低下がおり、その改善に意義がある。

3) 末梢血リンパ球内に CTL が存在するとすれば、活性化リンパ球自身が産生する IL-2、GM-CSF、IL-4 等が、抗原提示細胞を刺激して CTL を誘導する可能性がある。

等の理由で経静脈投与を施行している。

【結語】

(1) 当センターで施行した養子免疫療法について検討した。

(2) 固相化 CD3 刺激法で大量培養した活性化リンパ球の経静脈的投与による養子免疫療法は、leukapheresis を必要とせず患者自身に対する負荷が少なく、良好な ADL の期間を延長する症例がある印象を受けた。

(3) 特に髄芽腫では、高度の播種発生後も生命予後を延長させる印象を受けた。

【文献】

- 1) 関根暉彬、高山忠利、許斐康司、垣添忠生：活性化自己リンパ球投与によるがんの再発防止の可能性。HUMAN CELL 7(3):121-124, 1994
- 2) Holladay FP, Heitz T, Wood GW: Antitumor activity against established intracerebral gliomas exhibited by cytotoxic T lymphocytes, but not by lymphokine-activated killer cells. J Neurosurg 77:757-762, 1992
- 3) 岡田秀穂、吉田 純：脳腫瘍の遺伝子治療、生物学的療法。脳外 27(1):9-17, 1999
- 4) Mitchel MS: Relapse in the central nervous system in melanoma patients successfully treated with biomodulators. J Clin Oncol 7:1701-1709, 1989
- 5) Okamoto Y, Shimizu K, Tamura K, Miyao Y, Yamada M, Matsui Y, Tsuda N, Takimoto H, Hayakawa T: An adaptive Immunotherapy of patients with medulloblastoma by lymphokine-activated killer cells(LAK). Acta Neurochir(Wien) 94:47-52, 1988
- 6) Lillehei KO, Mitchel DH, Jojnsen SD, McCleary EL, Kruse CA: Long-term follow-up of patients with recurrent malignant gliomas treated with adjuvant adoptive immunotherapy. Neurosurg 28:16-23, 1991
- 7) Barba D, Salis SC, Holder C, Rosenberg SA, Oldfield EH: Intratumoral LAK cell and interleukin-2 therapy of human gliomas. J Neurosurg 70:175-182, 1989
- 8) Ibayashi Y, Yamaki T, Kawahara T, Daibo M, Kubota T, Uede T, Tanabe S: Effect of local administration of lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 o malignant brain tumor patients. Neurol Med Chir(Tokyo) 33:448-457, 1993
- 9) 宮城航一、六川二郎、仲宗根進、銘苅 晋、古閑比佐志、比嘉 靖、石川康成、高良英一、堀川恭偉：悪性脳腫瘍に対する養子免疫療法の臨床成績と問題点。脳外誌 4(1):30-39, 1995
- 10) 吉田誠一、田中隆一、高井信行、小野晃嗣、森宏：LAK 療法を中心とした免疫療法の現状。脳外誌 1(2):110-115, 1992
- 11) Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, Yamasaki S, Kosuge T, Yamamoto J, Shimada K, Sakamoto M, Hirohashi S, Ohashi Y, Kakizoe T: Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomized trial. Lancet 356:802-807, 2000

固層化 CD3 抗体活性化リンパ球による 悪性脳腫瘍の治療

Treatment for malignant brain tumors using immobilized
anti-CD3 antibody activated T lymphocytes

国立がんセンター中央病院脳神経外科、(株)リンフォテック*

渋井壮一郎、田中 実、石井一彦、野村和弘、関根暉彬*

【はじめに】

手術、放射線、化学療法による集学的治療によっても現在なお悪性脳腫瘍の予後は不良であり、膠芽腫に至っては5年生存率が10%に満たない¹⁾。再発例に対する放射線照射は、壊死の出現の危険性を伴い、化学療法剤に対しても腫瘍細胞が耐性を獲得している可能性が高いため、有効な治療法がないというのが現状である。この疾患の生存率を向上させるには、有効な初期治療を行うことも大切であるが、さらにその効果を維持することが重要であり、そこに維持療法としての免疫療法の存在意義があると考えられる。免疫療法としては数多くの試みがあるが、今回われわれは、固層化 CD3 抗体を用いて大量の活性化リンパ球を培養して、悪性神経膠腫患者の局所あるいは静脈内に投与し、この疾患に対する治療への応用の可能性を検討した。

【方法および症例】

固層化 CD3 抗体を用いた活性化リンパ球の培養は関根の方法によった²⁾。すなわち、ヘパリン採血を行った末梢血 20ml から LeucoPREP を用いてリンパ球を分離し、RPMI-1640 にて洗滌後、CCM ヒト血清 10% および Interleukin-2 (IL-2) 700JRU/ml を含む RPMI-1640 培養液に浮遊させ、CD3 抗体を底面に吸着 (固層化) させたフラスコ内で培養した。6 日目に gas-permeable bag に移し、AIM-V (ヒトリンパ球培養無血清培地) にヒト血清 1% および IL-2 175JRU/ml 加えた培地内で培養し $10^9 \sim 10^{10}$ の活性化リンパ球を得た。これを 5 例の悪性脳腫瘍患者に腫瘍腔内あるいは静脈内に投与した。

【結果】

活性化リンパ球投与を行った各症例の臨床経過を述べる。症例 1 は Ommaya 髄液貯留槽からの局所投与で、症例 2~5 では静脈内投与である。症例のリス

トを Table 1 に示す。

症例 1 23 歳女性

右後頭葉 anaplastic astrocytoma 再発

9 年前に他院にて右後頭葉 low grade astrocytoma を切除後放射線治療が行われたが再発し、今回 2 回の手術を受け当院に来院した。再発時の病理診断は anaplastic astrocytoma であった。当院にて再度開頭手術を行った際に設置した Ommaya の髄液貯留槽より活性化リンパ球を週 1 回計 8 回注入した。2 ヶ月後の MRI で腫瘍の縮小効果は得られず、むしろ造影剤にて増強される領域の増大と嚢胞内への出血を認め投与を中止した (Fig.1)。この症例の詳細についてはすでに永根らが報告している³⁾。

症例 2 14 歳男性

medulloblastoma 再発、髄腔内播種

髄芽腫再発例で、小脳虫部の髄芽腫に対し、手術、放射線治療、carboplatin および etoposide による化学療法後、脳室内および頸髄に再発した。ACNU および etoposide を併用し、1~2 週ごとに活性化リンパ球の点滴静注を行った。1 年後右前頭葉に新病変が出現し、局所放射線治療を行い消失するも、また 2 年後には髄腔内播種を来し徐々に増大したため、リンパ球の投与を中止した。投与期間は 2 年 6 ヶ月にわたり、計 64 回施行した。広範な播種性病変を認めるも治療終了時まで患者は良好な performance status を維持し、ほぼ正常な生活を続けることが可能であった。

症例 3 14 歳男性

medulloblastoma 再発、髄腔内播種

髄芽腫再発例で、手術、放射線治療、化学療法後に脳内および脊髄に広範な再発を来した。活性化リンパ球の静脈内投与を行ったが、病状の進行が早

Table 1. Cases treated with CD3-activated T lymphocytes

No.	age/sex	diagnosis	location	method	comment
1.	23F	anaplastic astrocytoma	rt. occipital	local	PD
2.	14M	medulloblastoma	dissemination	iv	PR, good PS
3.	14M	medulloblastoma	dissemination	iv	PD
4.	42M	anaplastic astrocytoma	rt. frontal	iv	PD, good PS
5.	56M	glioblastoma	rt. frontal	iv	SPECT

PD, progressive disease; PS, performance status

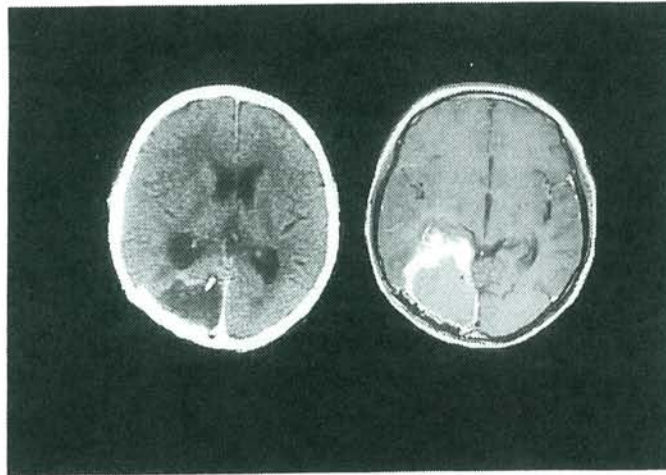


Fig.1

Case 1. Recurrent anaplastic astrocytoma. Left, Postoperative CT scan after contrast enhancement. Right, MRI after activated lymphocyte therapy showing marginal enhancement and bleeding into the cavity.

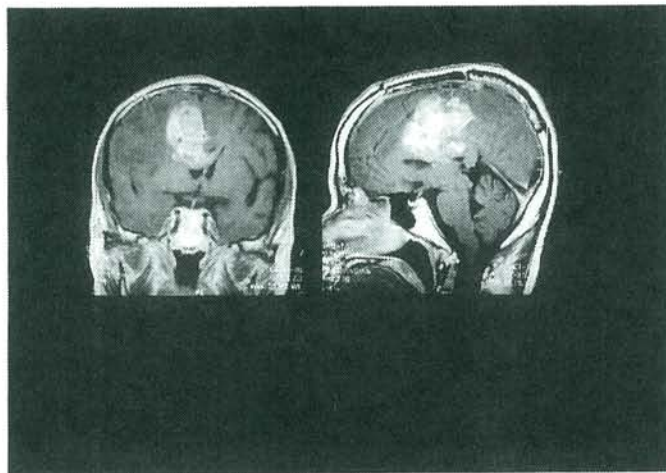


Fig.2

Case 4. Recurrent anaplastic astrocytoma. MRI showing a right parietal enhancing tumor.

く、3回目の投与が終わった段階で治療継続困難となり死亡した。

症例 4 42歳男性

右前頭葉 anaplastic astrocytoma 再発

右前頭葉 anaplastic astrocytoma 再発例で、手術後 ACNU および etoposide を併用した化学放射線治療、維持化学療法を行っていたが、腫瘍の縮小効果が得られず、1年後に再手術を行った (Fig.2)。手術後、ACNU、procarbazine、vincristine による化学療法を1コース行った後、活性化リンパ球の静脈内投与を行った。週に1回6ヵ月間投与を行ったが腫瘍は増大を続け、意識障害を来すに至ったため24回で投与を中止した。この症例では腫瘍が右前頭葉の大半を占め、さらに脳梁を越え反対側に進展しても全身状態は安定しており、死亡する1週間前まで意識が保たれ経口摂取が可能であった。また、初回投与時、0.5mCi の Indium-111 にて活性化リンパ球を標識し、30分、24時間、48時間後の脳シンチを行い腫瘍への取り込みの有無を調べた結果、24時間、48時間後の検査で右頭頂部への若干の集積像が認められた (Fig.3)。

症例 5 56歳男性

右側頭葉 glioblastoma

術前に1mCi の Indium-111 にて標識した活性化リンパ球の静脈内投与による脳内分布を調べた。投与後24時間の脳シンチを行ったが明らかな腫瘍への集積は認められなかった。そこで single photon emission tomography (SPECT)を行ったところ、MRI上のリング状腫瘍の形状に一致した集積が認められた (Fig.4)。この症例では病状の進行が速く活性化リンパ球による治療を施行するに至らなかった。

【考察】

悪性脳腫瘍に対して現在行われている標準的治療としては、手術、放射線治療、化学療法を組み合わせた集学的治療であるが、これらをもってしても治癒をもたらすのは困難であり、最も悪性度の高い膠芽腫の5年生存率は10%に満たないというのが現状である。最近では各種遺伝子治療も試みられているが、いまだ従来の治療成績を凌駕するに至っていない⁴⁾。一方、非特異的免疫療法として、BCG、OK-432などが1970年代より用いられてきたが、十分な治療効果は得られておらず、さらに安全で有効な免疫療法が期待されている。1982年 Grimmらの報告以来、自己の末梢血をIL-2にて刺激して得られた lymphokine-activated killer cell (LAK)を用いた悪性腫瘍の治療は数多く試みられている⁵⁾。Rosenbergらは、転移性腫瘍に対しLAK療法を行い、悪性黒色腫の転

移病巣を主体に44%(11/25)の奏効率を得たと報告している⁶⁾。悪性脳腫瘍に対しても腫瘍腔内への局所療法が行われているが、若干の有効例はあるものの、治療の際出現する頭痛、脳浮腫、発熱、倦怠感などが問題になっている^{7,8)}。細胞障害性リンパ球を得る方法として、腫瘍特異性という観点で腫瘍周辺に浸潤したリンパ球(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)が優れていると考えられるが、TILは手術によってのみ得られるため、継続した治療に用いるにはリンパ球の供給源として適しておらず、末梢血を用いる方が効率的である。関根はCD3抗体を固着化したフラスコ内でIL-2存在下に患者血液を培養し、大量の活性化リンパ球を得ることに成功した²⁾。この方法により得られるリンパ球の表現型は通常のLAKに比べ、成熟リンパ球を示すCD3、helper/inducer TのCD4、suppressor/cytotoxic TのCD8の比率が高く、Natural killer細胞のmarkerであるCD16陽性リンパ球の比率は低いとされ、通常のLAK療法とは異なる抗腫瘍効果が期待できる、山崎らは本法により培養したTILおよび末梢血活性化リンパ球を用いてstage IVの悪性黒色腫で25%の奏効率を、Takayamaらは肝動脈内投与により原発性および転移性肝癌3例中2例にPRを得たと報告している^{9,10)}。脳腫瘍に対しては片倉らが初期治療にて腫瘍の消失した膠芽腫症例の維持療法としてこの活性化リンパ球投与を行っており、本法を施行した4例全例が3年以上生存、内2例が5年以上の生存を示した¹¹⁾。これは肉眼的に全摘できた膠芽腫の5年生存率が20%という脳腫瘍全国集計調査報告と比較するときわめて高いものである。今回、われわれは安全性を考慮し、再発例を主体に本法を行ったが、化学療法と併用した症例2のみで腫瘍縮小効果を得ることができたのみで、他の症例では明らかな抗腫瘍効果は観察されなかった。しかしながら、症例2、4において腫瘍が増大を示している際も患者が良好な performance status を維持できたことは、本法との因果関係は不明であるが興味深い。

患者に投与された活性化リンパ球が有効に働くためには腫瘍近辺への移行が必要である。Kradinら¹²⁾は放射性同位元素で標識した活性化リンパ球を転移性肺癌患者の静脈内に投与してその集積を調べ、初期に網内系に蓄積し腫瘍ではむしろcold spotになると報告しており、動脈内投与でMoritaら¹³⁾、Takayamaら¹⁰⁾は腫瘍への集積を指摘している。脳腫瘍についてはいまだ報告がなく、症例4では通常の脳シンチで、症例5ではSPECTでわずかな集積を思わせる所見が得られた。免疫療法においては残存腫瘍とeffector cellとの相対的数量がその効果に大きな影響を与えると考えられる。今後は、残存腫瘍の少ない症例、可能であれば初期治療で腫瘍が消失した症例においてその効果を検討する方向である。

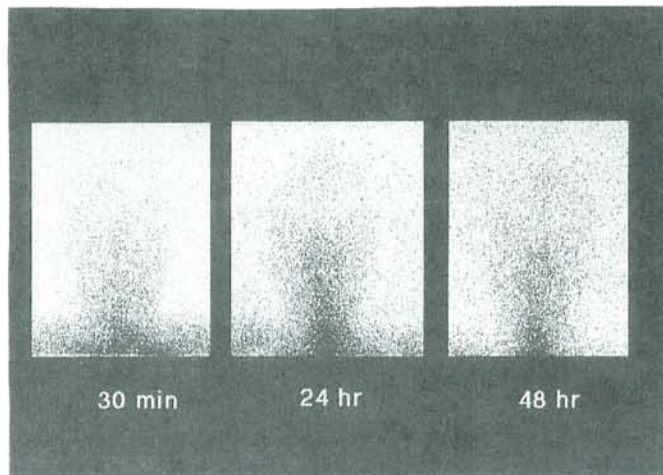


Fig.3

Case 4. Brain scintigram after injection of In-111 labeled activated lymphocytes(30 minutes, 24 hours, 48 hours) showing slight accumulation in the right parietal region.

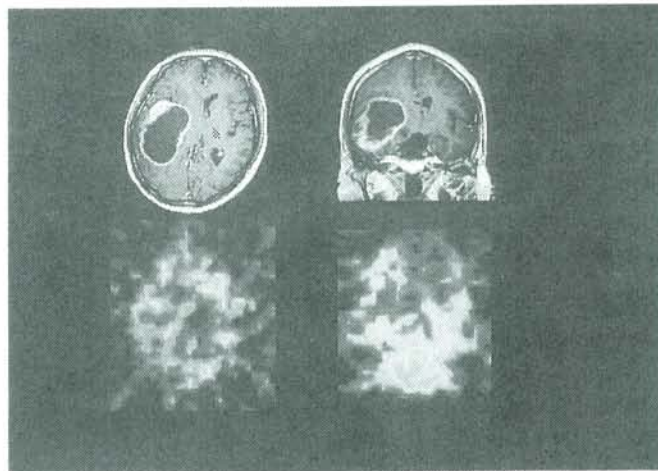


Fig.4

Case 5. Cystic glioblastoma. MRI and SPECT using In-111 labeled activated lymphocytes revealing a similar ring-shaped lesion in the right temporal lobe.

【文 献】

- 1) Report of brain tumor registry of Japan (1969-1993). 10th edition. Neurol Med Chir(Tokyo) 40, 2000. Supplement.
- 2) 関根暉彬：固層化 CD3 抗体により活性化した T cell (CD3-AT)を用いた養子免疫療法. *Botherapy* 4: 1606-1613, 1990.
- 3) 永根基雄, 小山博史, 渋井壮一郎, 野村和弘：LAK 局所療法施行中に腫瘍出血を伴う再発をきたした悪性星細胞腫の 1 例. *脳神経* 45: 547-551, 1993.
- 4) Ram Z, Culver KW, Oshiro EM, et al. :Therapy of malignant brain tumors by intratumoral implantation of retroviral vector-producing cells. *Nat Med* 3: 1354-61, 1997
- 5) Grimm EA, Mazumder A, Zhabg HZ, et al. Lymphokine-activated killer phenomenon: Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J Exp Med* 155: 1823-1841, 1982
- 6) Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. :Observation of the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Eng J Med* 313: 1485-1492, 1985.
- 7) Jacobs SK, Wilson DJ, Kornblith PL, et al. :Interleukin-2 or autologous lymphokine-activated killer cell treatment of malignant glioma: Phase I trial. *Cancer Res* 46: 2101-2104, 1986

- 8) Barba D, Saris SC, Holder C, et al.
: Intratumoral LAK cell and interleukin 2 therapy of human gliomas. *J Neurosurg* 70: 175-182, 1989.
- 9) 山崎直也, 早坂健一, 石原和之, 関根暉彬:
Immobilized Anti-CD3 Antibody-Activated T Lymphocytes を用いた養子免疫療法によるステージ IV 悪性黒色腫 8 例の治療効果.
BCG 免疫療法誌 15: 51-55, 1991.
- 10) Takayama T, Makuuchi M, Sekine T, Terui S, Shiraiwa H, Kosuge T, Yamazaki S, Hasegawa H, Suzuki K, Yamagata M, Fujii M, Tanaka T, Kakizoe T: Distribution and therapeutic effect of intraarterially transferred tumor-infiltrating lymphocytes in hepatic malignancies. A preliminary report. *Cancer* 68: 2391-2396, 1991.
- 11) 片倉隆一ら : personal communication
- 12) Kradin RL, Boyle LA, Preffer FI, et al.
: Tumor-derived interleukin-2-dependent lymphocytes in adoptive immunotherapy of lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 24: 76-85, 1987.
- 13) Morita t, Yonese Y, Minato N:
In vivo distribution of recombinant interleukin-2-activated autologous lymphocytes administered by intra-arterial infusion in patients with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 78: 441-450, 1987.

新しい抗癌剤耐性遺伝子 MXR1/BCRP/ABCP1 の発現

Expression of the new multidrug resistance gene(MXR1/BCRP/ABCP1)

香川医科大学脳神経外科

National Cancer Institute, National Institutes of Health*

三宅啓介、岡田真樹、松本義人、國塩勝三、長尾省吾

Tito Fojo, Suzan Bates*

【はじめに】

多くの抗癌剤に対して同時に耐性を獲得する機構の1つとして ATP binding cassette (ABC) transporters があり、最近、これらの transporters が、癌治療に深く関わりを持っていると注目されている。最初に MDR1/P-glycoprotein (Pgp)が、同定され、現在、Pgp に対する抑制物質を用いた臨床応用まで行われてきている。その後、Pgp が発現していない多剤耐性株より、multidrug resistance protein (MRP) 1-6 が、同定され、現在、解析が進められている。一方、固形癌の抗癌剤治療においても有効性が認められている mitoxantrone に対する耐性遺伝子はまだ報告されていない。今回我々は、過去に報告されたいずれにも属さない ABC transporter を mitoxantrone、anthracyclines や camptothecin analogues に耐性を持つ株より分離、同定したので報告する。

【方法】

ヒト固形癌である S1 に mitoxantrone を作用させ、耐性を獲得させた S1-M1-80 は、mitoxantrone に対して 142000 倍もの耐性を獲得しており、MDR1、MRP1 および cMOAT の蛋白の発現を認めない。Confocal Microscopy により mitoxantrone の細胞内動態実験では、S1 では mitoxantrone の取り込みが行われ、細胞内に蓄積する傾向にあるが、S1-M1-80 では、全く細胞内に蓄積される傾向がない。以上のことから S1-M1-80 には、今までに報告されていない耐性遺伝子があると予測され、S1-M1-80 の遺伝子解析を行った。

S1-M1-80 より cDNA library を作成し、その cDNA library から random prime labeling system を用いた differential screening 法により、親株よりも耐性株で多く発現している遺伝子を分離した。分離した遺伝子を MXR1¹⁾と名付け、MXR1 の sequence 解析を行

った。

MXR1 の mRNA 発現を S1-M1-80、MCF-7 AdVp3000、MCF-7 MX-ES、MDR1 および MRP 発現細胞株において Northern 解析法を用いて測定した。

次に Southern 解析法により、S1-M1-80、MCF-7 AdVp3000 および MCF-7 MX-ES において DNA レベルでの発現を比較検討した。

Fisher 法を用いて MXR1 の遺伝子局在を解析した。グリオ-マ細胞株 (SF295 および U87MG) において Northern 解析法を用いて MXR1 mRNA の発現量を検討した。

MXR1 の sequence の結果より、アミノ酸の配列を解析し、これより MXR1 に対する抗体を作成した。この抗体を用いて S1-M1-80、MCF-7 AdVp3000、MCF-7 MX-ES、SF295 および U87MG 株における MXR1 蛋白の発現を解析した。

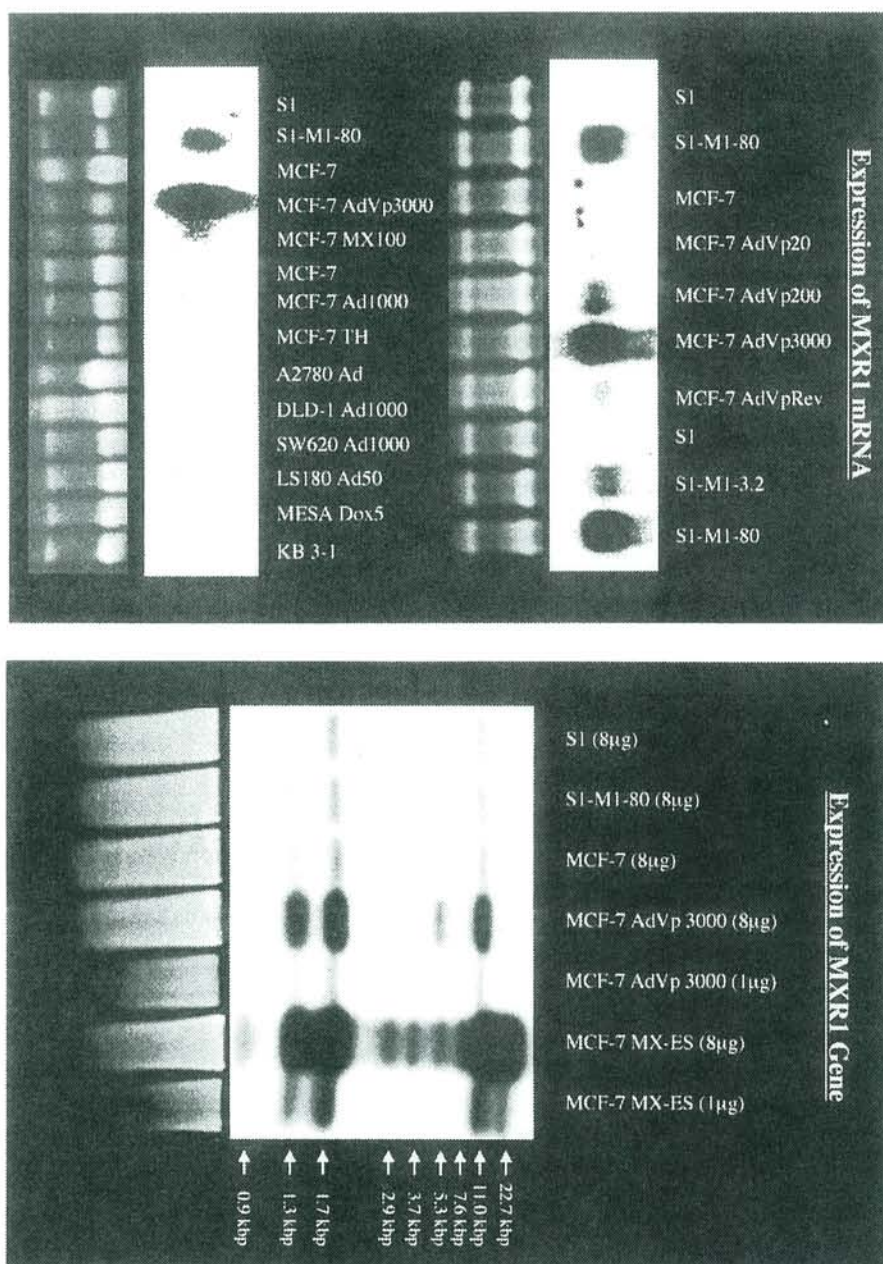
【結果】

MXR1 sequence 解析により、ATP-binding site である Walker A および Walker B を含み、また、transmembrane site が 6 箇所であることから、ABC transporters の一員であると判明した。

MXR1 の mRNA 発現を Northern 解析法により比較検討した。MDR1 および MRP 発現細胞株では MXR1 の発現は認められないが、S1-M1-80、MCF-7 AdVp3000 および MCF-7 MX-ES において、親株より MXR1 の発現増加を認めた (Fig. 1)。

Southern 解析法を用いた DNA レベルの発現の比較検討において、MCF-7 AdVp3000 および MCF-7 MX-ES では、MXR1 の gene amplify が認められたが、S1-M1-80 では、gene amplify は認められなかった (Fig. 2)。

MXR1 の遺伝子局在の解析により、MXR1 は chromosome 4q21-22 に存在し、MCF-7 AdVp3000 およ



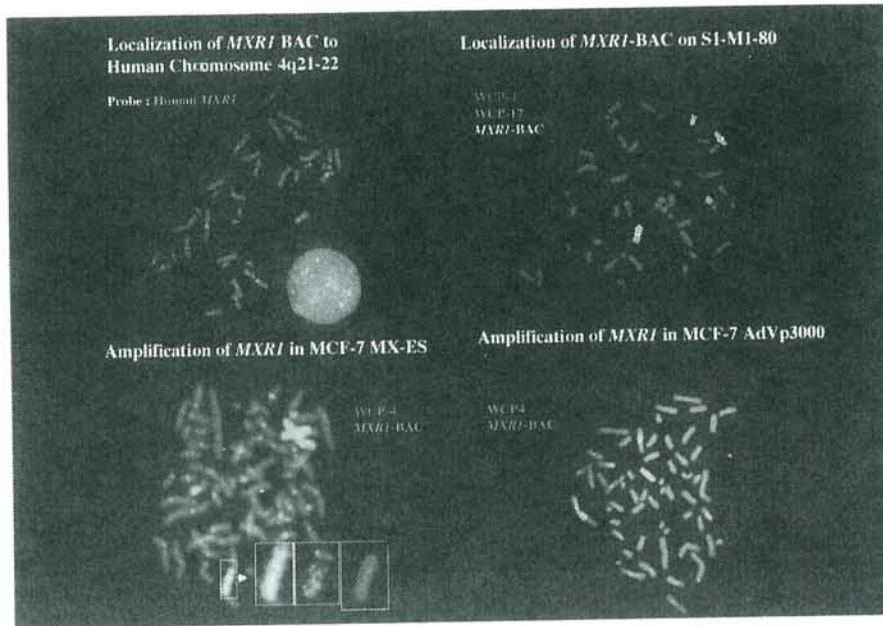
Northern (Fig.1) and Southern (Fig.2) analysis using the *MXR1* (cDNA#1) cDNA as a probe. Northern analysis demonstrates high levels of expression in sublines which have been previously shown to have high levels of resistance to mitoxantrone and anthracyclines (S1-M1-3.2 and 80; MCF-7 AdVp 20, 200, and 3000; and MCF-7 MX100), but not in adriamycin-selected cell lines previously shown to overexpress MDR-1 (MCF-7 Ad1000, MCF-7 TH, A2780 Ad, DLD-1 Ad1000, SW620 Ad1000, LS180 Ad50, MESA Dox5), or in 3 sensitive cell lines (MCF-7, S1, and KB3-1). Southern analysis documents the existence of gene amplification in MCF-7 AdVp3000 cells, and very high levels of amplification in MCF-7 MX-ES cells, but no gene amplification in S1M1-80. Hind III was used to digest the DNA prior to Southern analysis.

び MCF-7 MX-ES では、染色体上で *MXR1* gene の amplify が確認されたが、S1-M1-80 では、*MXR1* gene の amplify は認められず、chromosome 4q21-22 と chromosome 17 p13 との間で translocation を認めた (Fig. 3)。

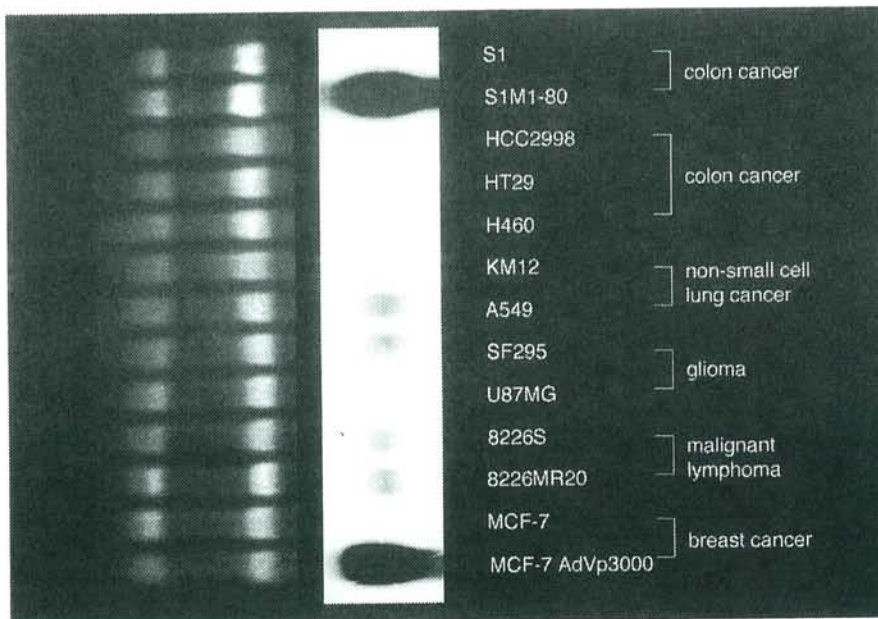
グリオ-マ細胞株において、SF295 では *MXR1* の mRNA の発現増加を認めたが、U87MG では発現が認

められなかった (Fig. 4)。

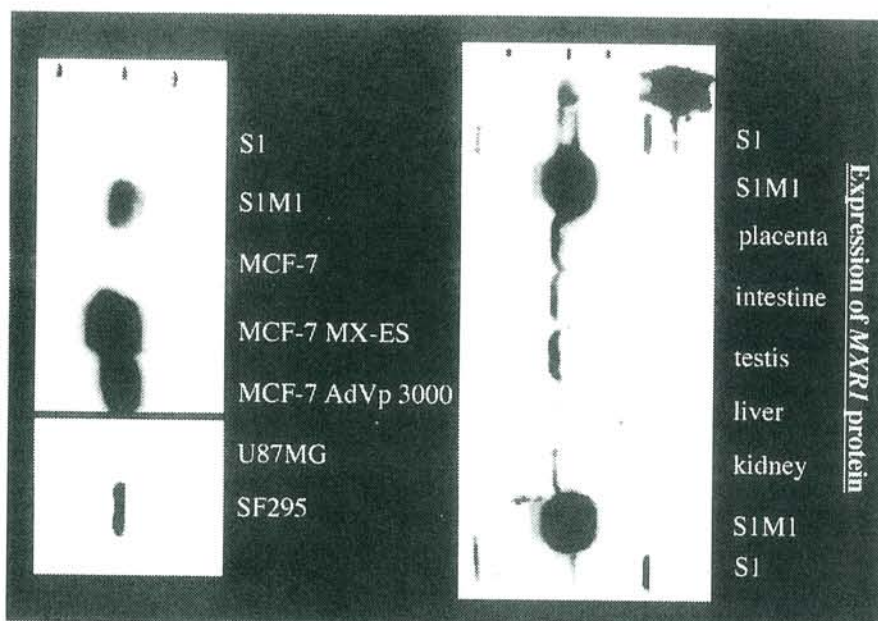
MXR1 に対する抗体を用いて *MXR1* 蛋白の発現を比較検討した。S1-M1-80、MCF-7 AdVp3000 および MCF-7 MX-ES において *MXR1* 蛋白の発現増加を認め、SF295 においても蛋白の発現を認めたが、U87MG では発現が認められなかった (Fig. 5)。



FISH (Fig.3) with BAC-derived *MXR1* probe localized to 4q21-22. *MXR1* is localized to 4q21-22 in Normal lymphocytes : two normal chromosomes 4. S1-M1-80: one normal chromosome 4; t(4; 17)(q21-q22; p13); the *MXR1* signal is split at the breakpoint. MCF-7 AdVp 3000; one normal chromosome 4, one add(4) with signal *MXR1* signal, and t(4; 5) with amplified *MXR1* signal at the translocation breakpoint. MCF-7 MX-ES; t(6; 4; 6; 3) with amplified *MXR1* signal at the translocation breakpoint.



Northern analysis (Fig.4) using the *MXR1* cDNA as a probe demonstrates high levels of expression in sublines which have high levels of resistance to mitoxantrone and anthracyclines (S1-M1-80 and MCF7 AdVp3000), but not in 2 parental cell lines (S1 and MCF7). In human malignant lymphoma cell line(8226S), mitoxantrone-selected malignant lymphoma cell line(8226MR20) and human glioma cell line(SF295), northern analysis documents the expression of *MXR1*.



Western blot (Fig.5) for MXR1: Membrane proteins (30µg/lane) were size fractionated by polyacrylamide gel electrophoresis, transferred to a PVDF membrane, and probed with MXR1 antibody. Detection of bound antibody was by ECL.

【考察】

今回我々は、mitoxantrone に対して高い耐性をもつ S1-M1-80 より MXR1¹⁻⁶⁾遺伝子を分離、同定した。MXR1 は、ABC transporter の一員であり、抗癌剤の多剤耐性機構に関わると考えられている。実際に MXR1 遺伝子を親株に導入し、発現させた細胞では、mitoxantrone に対して約 4000 倍の耐性を獲得した²⁾。以前報告された Pgp あるいは MRP を発現し、多剤耐性を獲得した細胞株では、MXR1 の発現は認められなかった。また、DNA において MCF7-AdVp3000 あるいは MCF7-MX-ES では、MXR1 の増幅を認めたが、S1-M1-80 では、MXR1 の増幅は認められず、第 4 染色体上の MXR1 遺伝子の部位で第 17 染色体と転座を認めた。以上のことから MXR1 遺伝子による多剤耐性の獲得機構には、2 種あると予測される。

多剤耐性機構に関わる ABC transporter である Pgp あるいは MRP は、N 末より 6 つの transmembrane site があり、ATP-binding site である Walker A および Walker B があり、また同様に transmembrane site と ATP-binding site があるという構造である。今回我々が分離した MXR1 は、N 末より ATP-binding site である Walker A および Walker B があり、次に 6 つの transmembrane site がある、いわゆる“half-transporter”であり、Drosophila white gene と homology がある。Drosophila white gene は、Drosophila scarlet gene あるいは Drosophila brown gene とそれぞれ hetero dimer を形成し、guanine あるいは tryptophan の pump 作用に関わると考えられている。したがって MXR1 も同様に hetero dimer を形成して耐性に関わっているか、あ

るいは、homo dimer として存在しているのか、現在のところまだわかっていない。

MXR1 に類似の遺伝子である BCRP⁵⁾および ABCP1⁶⁾に関して、これらの遺伝子と MXR1 との間には一部遺伝子の配列およびアミノ酸の配列が異なり、機能に関しても一部異なるが、mitoxantrone のポンプ作用は共通である。今後、遺伝子配列と機能との関係にこれらの遺伝子の解析が必要である。

グリオーマ細胞株における MXR1 の遺伝子および蛋白の発現に関して、MXR1 の発現を認める株もあれば認めない株もあり、さらに解析を行う必要があるが、今後の脳腫瘍に対する化学療法に関して、選択的抗癌剤使用の 1 つの指標になるとと思われる。

【結論】

mitoxantrone 耐性株において new ABC transporter である MXR1 を同定した。MXR1 は他の細胞株においても mitoxantrone に対する耐性度に 相関して発現量の増加が認められ、mitoxantrone 耐性に重要な役割を果たしていると推定された。

【文献】

- 1) Miyake K, Mickley L, Litman T, Zhan Z, Robey R, Cristensen B, Brangi M, Greenberger L, Dean M, Fojo T, Bates SE: Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res.* Jan 1;59(1):8-13, 1999

- 2) Knutsen T, Rao VK, Ried T, Mickley L, Schneider E, Miyake K, Ghadimi BM, Padilla-Nash H, Pack S, Greenberger L, Cowan K, Dean M, Fojo T, Bates S: Amplification of 4q21-q22 and the MXR gene in independently derived mitoxantrone-resistant cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*. Jan;27(1):110-6, 2000
- 3) de Bruin M, Miyake K, Litman T, Robey R, Bates SE: Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR. *Cancer Lett*. Nov 15;146(2):117-26, 1999
- 4) Litman T, Brangi M, Hudson E, Fetsch P, Abati A, Ross DD, Miyake K, Resau JH, Bates SE: The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2). *J Cell Sci*. Jun;113 (Pt 11):2011-21, 2000
- 5) Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao Y, Rishi AK, Ross DD: A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*. Dec; 95:15665-15670, 1998
- 6) Allikmets R, Schriml LM, Hutchinson A, Romano-Spica V, Dean M: A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug Resistance. *Cancer Res*. Dec 1;58:5337-5339, 1998

遺伝子診断に基づいた Glioblastoma の治療

北里研究所メディカルセンター病院脳神経外科
北里大学医学部脳神経外科*

田中 聡、小林郁夫、岡 秀宏*、安井美江*、
鈴木祥生*、宇津木聡*、藤井清孝*

【はじめに】

我々は、1997年からMGMT遺伝子のRT-PCRによる発現の有無に基づいた、Individual adjuvant therapy (IAT)を行い、glioma全46症例で、初期補助療法の有効率51.4%、MST29ヶ月と従来の治療を行った126例の成績(33.7%, 17ヶ月)を大きく上回っている¹⁾。一方、IATを行ったGM19例では、有効率は43.6%(control 25.0%)と比較的良好であったが、MSTに関しては14ヶ月(control 11ヶ月)とわずか3ヶ月の延長に過ぎない。Glioblastoma (GM) 55例の遺伝子発現を、primary GM (PGM) と secondary GM (SGM) に分けてRT-PCRおよび免疫染色にて検討し、それらに基づいた適切な治療法を考察した。

【対象ならびに方法】

対象:1985年から2000年までに経験したGM55症例を対象とした。これらのうち、臨床経過よりPGMと考えられる症例は43例、SGMと考えられる症例は12例であった。12例のうち、病理組織学的にastrocytomaからのprogressionが実際に証明されたのは4例のみである。55例のうち、IATを行った症例は19例であった。

免疫染色:ホルマリン固定、パラフィン包埋切片が得られた症例に関しては、MIB-1染色および、p53の免疫染色(抗体はDakoのDO7を使用)を行った。

RT-PCR:-70°Cの凍結保存検体が得られている症例では、Isogen(Wako)を用いてtotal RNAを抽出し、RAV-2 reverse transcriptase (TaKaRa) およびRandom primerを用いた逆転写反応にてcDNAを合成した。PCRは、35サイクルで行い、epidermal growth factor receptor (EGFR)、EGFRのmutantであるerbB2、ACNU耐性遺伝子であるMGMT、白金製剤耐性遺伝子の一つと考えられているGST- π 、internal controlとして β 2-microglobulinのそれぞれに特異的なprimerを用いた^{2, 3)}。Interferon

regulatory factor (IRF) -1 および -2 に共通な primer を用いて行った PCR 産物は、制限酵素 EcoT22I にて IRF-2 のみを切断し、3%アガロース・ゲルによる電気泳動の band を解析し、NIH image 1.62 を用いて IRF-1 と IRF-2 の発現比を算出した⁴⁾。各 primer の塩基配列は Table 1 に示す。**統計学的解析:**55症例の症例背景および治療に関する予後因子に関して、StatView 5.0 を用いて統計学的解析をおこなった。予後因子には、症例背景として初発・再発、年齢、性別、Karnofsky's performance scale (KPS)、MIB-1 index、p53 陽性率、各 mRNA 発現率を選び、治療に関するものとしては、手術摘出率、IAT、使用薬剤 (ACNU, Pt compounds, IFN- β)、3 剤以上の投与、放射線照射量、ACNU の投与量、G-CSF の併用などに関して検討した。検定法は、Student's t-test、Fisher's exact probability test、Chi-square test、Mann-Whitney's U-test、Wilcoxon's test などを用いた。

【結果】

全55症例の症例背景、治療、治療成績に関する統計学的解析の結果を Table 2 に示した。全体で初期治療の有効率は32.7%であり、36.0%の症例に主にIFN- β による維持療法を施行し、生存期間中央値は12ヶ月、2年生存率は35.8%であった。初期治療の効果に関して有意な因子は、IRF-1/2比とACNUのdoseであり、多変量解析ではACNUのdoseのみが有意であった。また、生存期間に関しては、初発・再発、年齢、KPS、EGFRの発現、erbB2の発現、3剤以上の投与、放射線照射量、維持療法の有無が有意な予後因子であり、多変量解析ではKPS、EGFRの発現、erbB2の発現が有意であった。

一方、これらをPGMとSGMに分けて検討し、予後因子の比較を Table 3、Kaplan-Meier法による生存曲線を Fig. 1に示した。SGMのp53陽性率は、PGMのそれを上回り、erbB2の発現はPGMがSGM

Table 1 Sequences of primers of PCR

Name	Sequence	Product(bp)
β 2MG-S	TTCTGGCCTGGAGGGCATCC	344
β 2MG-A	ATCTTCAAACCTCCATGATG	
MGMT-S	CCTGGCTGAATGCCTATTTTC	239
MGMT-A	GATGAGGATGGGGACAGGATT	
GST-S	CATGCTGCTGGCAGATCAG	223
GST-A	CATTCATCATGTCCACCAGG	
IRF-S	ATCCCGGGGCTCACATGGGTAA	212/153
IRF-A	ATATCCGGCATGGACTTCATGGC	
EGFR-S	ACAGCCATGCCGCATTAGCTCTAA	109
EGFR-A	GGAATGCAACTTCCCAAATGTGCC	
erbB2-S	CCTCTGACGTCCATCATCTC	130
erbB2-A	CGGATCTTCTGCTGCCGTCG	

Table 2 Backgrounds and the effects of the therapy of glioblastomas

Factors		Effect		Survival	
		Univariate	Multivariate	Univariate	Multivariate
N	55				
Primary or relapse (R:)	25.5%	>0.9999	-	0.0195	0.3298
Age	59.3 ± 14.0	0.4232	-	0.0030	0.5576
Sex (M:)	52.7%	0.1431	-	0.3351	-
KPS	49.8 ± 23.9	0.0609	-	0.0002	0.0273
MIB-1	15.1 ± 9.7%	0.5962	-	0.3473	-
p53	13.0 ± 13.3%	0.5582	-	0.2772	-
EGFR	61.3%	0.6576	-	0.0127	0.0231
erbB2	58.1%	>0.9999	-	0.0403	0.0279
MGMTmRNA expression	43.2%	0.6942	-	0.2843	-
GST- π mRNA expression	57.6%	0.6908	-	0.4569	-
IRF-1/2	1.1 ± 2.0	0.0119	0.1363	0.6854	-
Surgical reduction rate	63.0 ± 30.5%	0.7022	-	0.7601	-
IAT rate	34.5%	0.3332	-	0.3009	-
Use of ACNU	70.9%	0.5018	-	0.4001	-
Use of Pt compounds	20.0%	0.4486	-	0.6532	-
Use of IFN- β	67.3%	0.5261	-	0.8193	-
More than 3 drugs	20.0%	0.4663	-	0.0196	0.7362
Radiation (Gy)	40.4 ± 25.4	0.2040	-	0.0397	0.4761
Dose of ACNU (mg/m ²)	89.1 ± 17.5	0.0008	0.0035	0.8191	-
Use of G-CSF	53.1%	0.2125	-	0.2549	-
Effect of initial therapy	32.7%	-	-	0.0646	-
Maintenance therapy	36.0%	-	-	0.0008	0.8248
Median TTP (M)	7	-	-	-	-
Median survival (M)	12	-	-	-	-
1-year survival rate	58.3%	-	-	-	-
2-years survival rate	35.8%	-	-	-	-
3-years survival rate	21.5%	-	-	-	-

を上回ったが、ともに有意差は認められなかった。両群間には、年齢、KPSに加え、MGMTの発現率に有意差を認め、初期治療の有効率はほぼ同等であるにもかかわらず、生存期間、生存率ともにSGMはPGMの約2倍であった。また、MGMT発現の有意差に一致して、ACNUを用いた初期治療の有効率は、PGM 27.8%に対してSGMは42.9%と比較的高かった。

【考察】

約5年前よりGMはPGMとSGMに分けて論議されるようになり、特に両者の予後の相違に関して病理学的、分子生物学的な検討を交えた報告は多い⁵⁾。PGM (de novo GM) は、予後不良で、高齢、男性、3ヶ月未満の病歴を典型像とし、分子病理学的にはEGFR amplification、MDM2 amplification、PTEN (10q23) mutation、p16 deletion、Loss or LOH

Table 3 Backgrounds and the effects of therapy of primary and secondary glioblastoma

Factors	Primary	Secondary	P-value
N	43	12	
Primary or relapse (R:)	20.9%	50.0%	0.0676
Age	62.0±13.1	49.5±12.4	0.0025
Sex (M:)	53.5%	50.0%	0.7535
KPS	44.7±22.9	68.3±17.7	0.0020
MIB-1	16.2±10.5%	12.4±6.6%	0.1728
p53	11.3±12.0%	20.3±15.7%	0.3130
EGFR	59.1%	66.7%	>0.9999
erbB2	68.2%	33.3%	0.1143
MGMTmRNA expression	57.7%	9.1%	0.0100
GST- π mRNA expression	50.0%	77.8%	0.2635
IRF-1/2	1.1±2.2	0.8±0.7	0.3246
Surgical reduction rate	59.7±30.8%	75.0±26.2%	0.0848
IAT rate	39.5%	16.7%	0.1830
Use of ACNU	67.4%	83.3%	0.4743
Use of Pt compounds	23.3%	8.3%	0.4223
Use of IFN- β	72.1%	50.0%	0.1768
More than 3 drugs	23.3%	8.3%	0.4223
Radiation (Gy)	40.0±25.1	56.4±19.1	0.0063
Dose of ACNU (mg/m ²)	87.9±18.4	93.6±12.2	0.6501
Use of G-CSF	55.0%	44.4%	0.7165
Maintenance therapy	31.6%	50.0%	0.3088
Effect of initial therapy	32.5%	33.3%	>0.9999
Effect of ACNU therapy	27.8%	42.9%	0.6856
Effect of Pt therapy	50.0%	0.0%	>0.9999
Median TTP (M)	5	11	0.0220
Median survival (M)	11	25	0.0063
MST (ACNU treated)	10	25	0.0153
MST (Pt treated)	12	22	0.3173
1-year survival rate	48.0%	91.7%	-
2-years survival rate	25.6%	68.8%	-
3-years survival rate	12.8%	42.7%	-

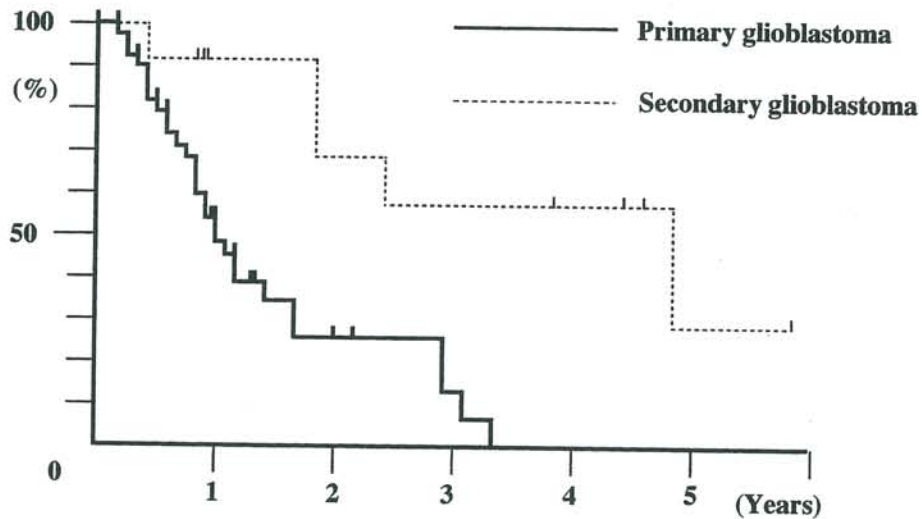


Fig. 1 Kaplan-Meier survival analysis of the patients with glioblastomas

of chromosome 10, CD95 (Fas/Apo-1) overexpression を特徴とする⁶⁾。一方、SGM (progressing GM) は比較的若年の女性に多く、厳密には2回以上の biopsy により組織学的悪性化所見が示されることが診断に必要である。予後は良好であり、p53 (17q) mutation、Loss of DCC expression、LOH of 19q13.3、LOH of 13q (RB)、LOH 10q、High telomerase activityなどを分子生物学的特徴とする⁷⁾。

我々の症例においては、PGM と SGM で生存期間には著明な差が認められたものの、初期治療の有効性には有意差が認められなかった。一般に、PGM では SGM に比べ各種治療に対する抵抗性が強いと考えられており、特に今回観察された ACNU 耐性遺伝子である MGMTmRNA の発現比は、そのことを如実に示すものであると考えられる⁸⁾。白金製剤に対する SGM の有効率0%という我々の結果は、症例数がわずか1例のみの結果であり、今後の臨床的経験により全く別な結果が出てくるものと考えられる。

また、p53 の変異が認められる症例では、MGMT の発現率が有意に低いという報告がある⁹⁾。前述のように p53 の変異は、SGM の特徴とされ、我々の結果は少なくともこれと矛盾するものではない。また、MGMT は 10q26 に位置し、GM の 10q LOH や PTEN の変異との関係も今後検討されるべきであると考えられる¹⁰⁾。

今回の結果から、PGM では SGM より MGMTmRNA の発現率が有意に高く、治療を困難にしている一因であると思われる。PGM と考えられる症例では、一般的に ACNU を用いるより白金製剤を中心とした化学療法を優先すべきであると考えられる。

【文献】

- 1) Tanaka S, Kamitani H, Amin MR, Watanabe T, Oka H, Fujii K, Nagashima T, Hori T: Preliminary individual adjuvant therapy for gliomas based on the results of molecular biological analyzes for drug-resistance genes. *J Neuro-Oncology* 46: 157-171, 2000
- 2) Schwartz S, Caceres C, Morote J, Torres ID, Rodriguez-Vallejo JM, Gonzalez J, Reventos J: Over-expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB2/neu but not of int-2 genes in benign prostatic hyperplasia by means of semi-quantitative PCR. *Int J Cancer* 76: 464-467, 1998
- 3) Gussow D, Rein R, Ginjaar I, Hochsteinbach F, Seemann G, Kottman A, Ploegh HL: The human β 2-microglobulin gene. P structure and definition of the transcriptional unit. *J Immunol* 139: 3132-3138, 1987
- 4) 田中 聡、谷浦晴二郎、黒崎雅道、Md Ruhul Amin、渡辺高志、堀 智勝、長島 正：グリオーマにおけるインターフェロン感受性に関する検討 *神経免疫研究* 11:146-150, 1998
- 5) Watanabe K, Tachibana O, Sata K, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H: Overexpression of the EGF receptor and p53 mutation are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol* 6: 217-223, 1996
- 6) Fujisawa H, Reis RM, Nakamura M, Colella S, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H: Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (de novo) than in secondary glioblastomas. *Lab Invest* 80:65-72, 2000
- 7) Nakamura M, Yang F, Fujisawa H, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H: Loss of heterozygosity on chromosome 10 in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 59: 539-543, 2000
- 8) Shrieve DC, Alexander E 3rd, Black PM, Wen PY, Fine HA, Kooy HM, Loeffler JS: Treatment of patients with primary glioblastoma multiforme with standard postoperative radiotherapy and radiosurgical boost: prognostic factors and long-term outcome. *J Neurosurg* 90: 72-77, 1999
- 9) Rolhion C, Penault-Llorca F, Kemeny J-L, Kwiatkowski F, Lemaire J-J, Chollet P, Finat-Duclos F, Verrelle P: O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene (MGMT) expression in human glioblastomas in relation to patient characteristics and p53 accumulation. *Int J Cancer* 416: 416-420, 1999
- 10) Pieper RO: Understanding and manipulating O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase expression. *Pharmacol Ther* 74: 285-297, 1997

薬剤耐性遺伝子解析に基づいた 悪性脳腫瘍の抗癌剤治療

Chemotherapy for gliomas based on the expression levels of drug resistant genes

香川医科大学 脳神経外科

松本義人 三宅啓介 川西正彦 河井信行
小川智也 入江恵子 國塩勝三 長尾省吾

Key words: multidrug resistance, chemotherapy, glioma, MDR-1, MRP

【はじめに】

癌化学療法を行う上で抗癌剤に対する耐性が大きな障害となっている。その作用機序の一つとして Multidrug resistance (MDR)-1 に代表されるエネルギー依存性薬剤排出ポンプによる多剤耐性があげられる²⁾。今回、悪性脳腫瘍において、現在、報告されている7種類の薬剤耐性遺伝子の発現を検索し、その結果に基づき抗癌剤治療を行ったので報告する。

【対象、方法】

対象は、悪性グリオーマ患者9例で (astrocytoma grade III : 6例, grade IV : 3例)、年齢は、38才から73才であり、男性4例、女性5例である。凍結脳腫瘍組織より、Isogen^R(ニッポンジーン)を用いて total RNA を抽出した。Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)は First-Strand cDNA Synthesis Kit^R (Amersham)を用いて行った。検索した薬剤耐性遺伝子は、MDR-1、mitoxantrone resistance gene (MXR)、Multidrug resistance-associated protein(MRP)-1、MRP-2、Topoisomerase (Topo) II α 、O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT)、glutathione S-transferase (GST)- π であり、コントロールとしての β -actin の発現量も測定した。Table 1 に示した primer を用いて30から35サイクルでPCRを行い、各薬剤耐性遺伝子の mRNA 発現を検索した。MDR-1 はピンクリスチン²⁾、MXR はミトキサントロン³⁾、MRP1 と MRP2 はエトポシド^{4,5,6)}、MGMT は ACNU⁷⁾、GST- π はシスプラチンに対する耐性遺伝子で⁹⁾、また、Topo II α は発現が多いとエトポシドに対する感受性が高いとし⁵⁾、有効と思われる抗癌剤を選択した。その効果は、MRI、MR spectroscopy (MRS)、MR perfusion 法

による mean transit time (MTT)を用いて評価した。

【結果】

各薬剤耐性遺伝子の mRNA 発現の結果とそれに基づき有効と思われる抗癌剤を Table 2 に示した。Fig.1には case 7の薬剤耐性遺伝子の発現と化学療法前後の頭部 MRI、MRS を示した。MDR-1、MXR、MGMT、GST- π の発現量が高く、ピンクリスチン、ミトキサントロン、ACNU、シスプラチンに耐性であると考えられ、MRP1、MRP2 が陰性で Topo II α が高発現していたので、エトポシドを投与した。治療が進むに従い MRI では、造影される部分が消失し、MRS では、コリン/クレアチン比の低下と NAA の上昇が認められ、治療効果が反映された。Fig.2には case 9の結果を示した。MDR-1、MRP1、MRP2、MGMT、GST- π の発現が強く、また Topo II α の発現が低く、ピンクリスチン、エトポシド、ACNU、シスプラチンに対して耐性と考えられた。MXR の発現がなくミトキサントロンに対する感受性が高いと考え、それを投与した。MRI では、治療が進むに従い、造影される部分が出現してきたが、その部分の MTT は低下し、MRS ではコリン/クレアチン比も低下しており、治療による壊死巣と思われた。その他の症例については化学療法後、頭部 MRI で再増殖の認められない期間を Table 2 に示した。平均経過観察期間は10.1ヶ月で化学療法後再増殖の認められていない期間は平均8.7ヶ月であり、9例中6例でまだ、再増殖を認めていない。副作用は1例に骨髄抑制による MRSA 肺炎を併発したのみで、mortality は認めていない。

Table 1 Primer sequences

Gene	5' primer	3' primer
MDR-1	5' -TTTTCATGCTATAATGCGAC	5' -TCCAAGAACAGGACTGATGG
MXR	5' -TGCCAGGACTCAATGCAACAG	5' -GACTGAAGGGCTACTAACC
MRP1	5' -CGGAAACCATCCACGACCCTAATCC	5' -ACCTCCTCATTTCGCATCCACCTGG
MRP2	5' -CTGCCTCTTCAGAATCTTAG	5' -CCCAAGTTGCAGGCTGGCC
Topo II	5' -GGCTCGATTGTTATTTCCAC	5' -GGTTGTAGAATTAAGAATAGC
MGMT	5' -CTCCTGGGCAAGGGGACGTCT	5' -GATGAGGATGGGGACAGGATT
GST- π	5' -CATGCTGCTGGCAGATCAG	5' -CATTATCATGTCCACCAGG
β -actin	5' -ATCACCATTGGCAATGAGCG	5' -TTGAAGGTAGTTTCGTGGAT

Table 2 Expression of multidrug resistant genes in gliomas

	MDR-1	MXR	MRP1	MRP2	TopoII	MGMT	GST- π	supposed to be effective drugs	TTP* ⁵ / FP* ⁶
Case 1 grade IV	—	—	++	+	—	+	+	MTX* ¹ VCR* ²	5/11
Case 2 grade III	—	—	++	—	+	+	+	MTX VCR	7/12
Case 3 grade III	++	++	—	—	++	+	—	VP16* ³ CDDP* ⁴	11/11
Case 4 grade IV	+	—	++	—	+	+	+	MTX	17/17
Case 5 grade III	+	+	+	—	—	+	—	CDDP	10/10
Case 6 grade IV	++	++	—	—	++	++	+	VP16	7/8
Case 7 grade III	++	++	—	—	++	+	+	VP16	9/9
Case 8 grade III	—	—	+	++	—	+	+	MTX VCR	6/7
Case 9 grade III	+	—	++	++	—	+	+	MTX	6/6

The density of DNA is expressed by —, +, and ++. —, band of DNA can not be detected; +, barely detected; ++, clearly detected.

MTX*¹: mitoxantrone, VCR*²: vincristine, VP-16*³: etoposide, CDDP*⁴: cisplatin,

TTP*⁵: time to progression (months), FP*⁶: follow up period after Chemotherapy (months)

【考察】

グリオーマに対する化学療法は、各施設ごとにさまざまな治療プロトコールにより行われているが、抵抗性を示しほとんど効果が見られない場合もあり、必ずしも満足のいく結果に至っていない。個々の腫瘍は組織型は同じでも抗癌剤に対する感受性はそれぞれ異なっており、この要因の一つとして抗癌剤に対する耐性が考えられる¹⁾。

異なる複数の薬剤に同時に耐性を獲得する機構を多剤耐性というが、この原因遺伝子として今までにいくつかの耐性遺伝子が報告されてきた。Multidrug resistance (MDR) -1 は、1986年に発見されたエネルギー依存性薬剤排出ポンプで、アドリアマイシン、ビンクリスチン、サイクロフォスファミド、メソトレキセートなどに対し多剤耐性に関与するといわれている²⁾。MRP1とMRP2はそれぞれ1992年、1996

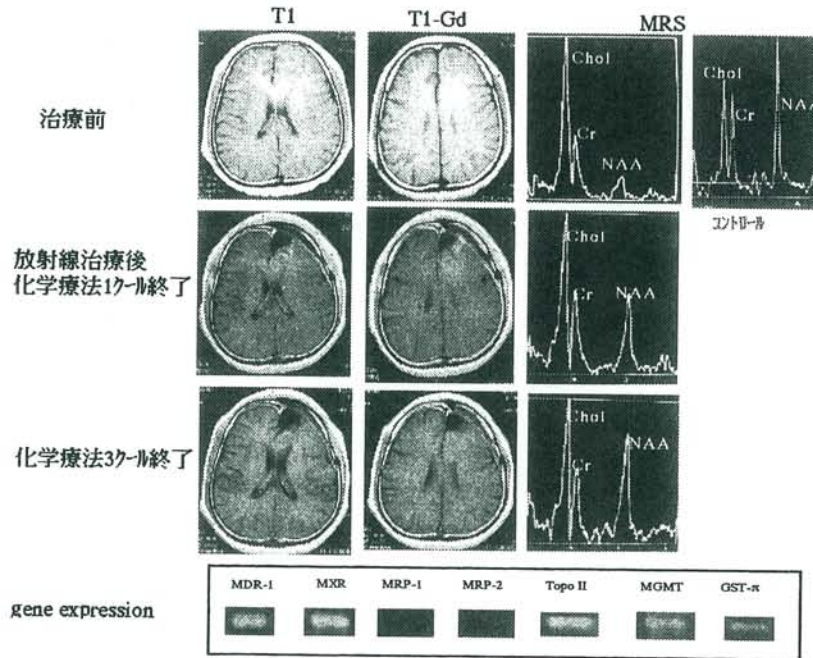


Fig.1 case7

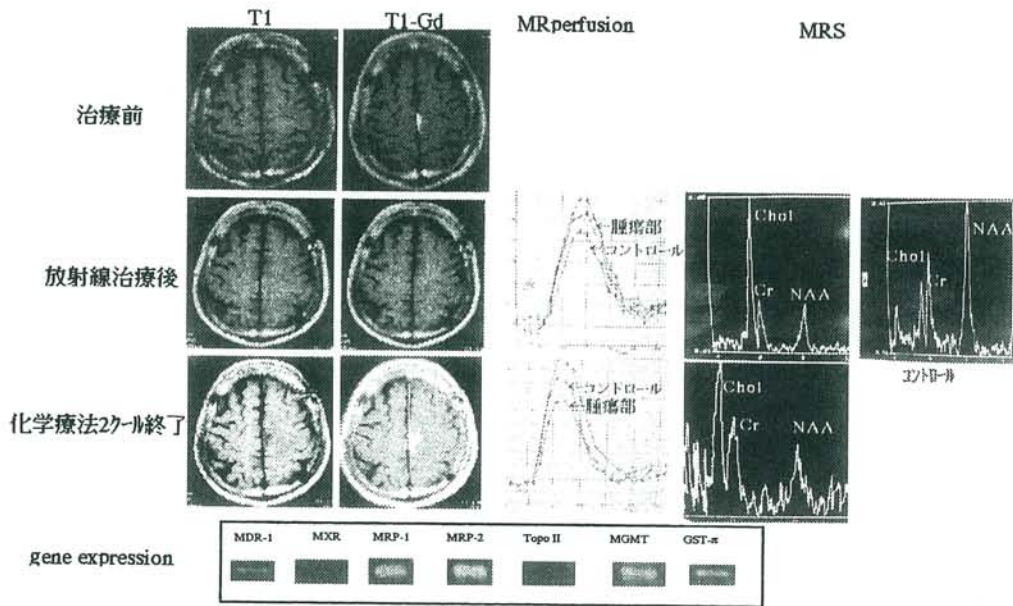


Fig.2 case9

年に発見された薬剤排出ポンプであり、MDR-1と同様 ATP-binding cassette protein transporter に属し、エトポシドやアドリアマイシン耐性に関与すると考えられている^{1,10)}。また、最近、ミトキサントロンを細胞外に排出する MXR が同定されている⁸⁾。一方、Topo II α 型は細胞増殖に関与すると考えられ、それをターゲットとする抗癌剤、すなわち Topo II 阻害剤 (エトポシドやアドリアマイシンなど) の薬剤感受性の指標となると考えられている^{3, 4)}。その他、MGMT は ACNU、GST- π はシスプラチンに対する耐性遺伝子と考えられている⁹⁾。これらの遺伝子の発現を指標に有効と思われる 1 剤から 2 剤の抗癌剤を選択し投与している。

さて、治療効果であるが、まだ、症例数も 9 例と少なく、異なった抗癌剤の選択方法と直接比較することが困難であるため、客観的評価ができない。しかし、悪性グリオ-マにおいて平均 10.1 か月の経過観察期間で 6/9 例(再増殖を認めない期間:平均 8.7 ヶ月)で腫瘍の再発、再増殖を認めておらず、腫瘍の局所制御はかなり良好と思われる。

治療の評価方法では、case 7 のように MRI で広範に脳回が肥厚しているだけで造影される部分が少ない場合には MRS によるコリン/クレアチン比が治療効果の良い指標になった。Case 9 では、治療が進むに従い、造影される部分が出現したが、MTT の低下、コリン/クレアチン比の低下が治療効果を反映した。これまでの MRI に MRS、MTT などを併用し、これまで以上に正確に治療効果を評価できた。

化学療法の副作用はほぼ容量依存적であり、効果が期待されない抗癌剤の使用はさけられるべきである。有効な抗癌剤を 1 剤から 2 剤に限定して投与する本療法では、副作用は 1 例に骨髄抑制による MRSA 肺炎を併発したのみで mortality は認められていない。

今後、さらに症例数の増加、長期の経過観察期間が必要である。また、獲得耐性つまり、同一薬剤の長期投与後の耐性の問題も派生してくると思われる、その時点での耐性遺伝子の増幅、変異、転写異常についての再検討も要すると思われる⁷⁾。

【文献】

- 1) Cole, S.P.C., Bhardwaj, G., Gerlach, J.H., Mackie, J.E., Grant, C.E., Almquist, K.C., Stewart, A.J., Kurz, E.U., Duncan, A.M.V., & Deeley, R.G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug resistant human lung cancer cell line. *Science* 258, 1650-1654. 1992.
- 2) Fojo, A.T., Ueda, K., Slamon, D.J., Poplack, D.G., Gottesman, M.M., & Pastan, I. Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 265-269. 1987.
- 3) 松本義人、藤原敬、本城康正、笹岡昇、土田高宏、長尾省吾：ヒトおよびラットグリオ-マにおける DNA トポイソメラーゼ I の定量、脳腫瘍病理: 11,59-64,1994
- 4) Matsumoto, Y., Takano, M., Fojo, T. Cellular adaptation to drug exposure: Evolution of the Drug-resistant phenotype. *Cancer Res.* 57: 5086-5092. 1997.
- 5) 松本義人、高野裕士、長尾省吾、Angel Iglesias、Tito Fojo: Etoposide: mAMSA 耐性細胞における DNA トポイソメラーゼ(I, II α , II β) mRNA の発現様式、癌と化学療法, 24(15):2265-2269, 1997
- 6) 松本義人、松本美千代、高野裕士、長尾省吾、Angel Iglesias: Tito Fojo: Etoposide, mAMSA 耐性細胞における ATP binding cassette superfamily (multidrug resistance-1, multidrug resistance-associated protein, human canalicular multispecific organ anion transporter) mRNA の発現様式、癌と化学療法, 24(13):1941-1946, 1997
- 7) 松本義人、森崎訓明、國塩勝三、長尾省吾、高野裕士、Tito Fojo: Etoposide: mAMSA 耐性細胞における DNA トポイソメラーゼ- mRNA 内突然変異頻度、癌と化学療法, 25(8):1145-1149, 1998
- 8) Miyake, K., Mickley, L., Litman, T., Zhan, Z., Robey, R., Cristensen, B., Bragi, M., Greenberger, L., Dean, M., Fojo, T., Bates, S.E. Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: Demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res.* 59, 8-13. 1999
- 9) 森崎訓明、黒田撰子、松本義人、國塩勝三、長尾省吾：グリオ-マにおける多剤耐性遺伝子の発現について、ニューロオンコロジー, 9(2):124-128, 1999
- 10) Paulusma, C.C., Bosma, P.J., Zaman, G.J., Bakker, C.T., Otter, M., Scheffer, G.L., Scheper, R.J., Borst, P. Congenital jaundice in rats with a mutation in a multidrug resistance associated protein gene. *Science* 271:1126-1127. 1996.
- 11) 笹岡昇：悪性グリオ-マに対する抗癌剤感受性試験の検討、癌と化学療法, 17(11):2247-2252, 1990

HIF-1 デコイを用いた腫瘍細胞の VEGF発現制御に関する基礎的研究

HIF-1 decoy inhibits a hypoxia-induced
up-regulation of VEGF in tumor cells

神戸大学医学部 脳神経外科

佐々木 真人、高本 剛、江原 一雅、玉木 紀彦

【要 約】

【緒言】血管内皮に特異的な増殖因子である VEGF (vascular endothelial growth factor) は、腫瘍血管新生において重要な役割を果たしている。すなわち、腫瘍細胞の高い酸素/栄養素要求性が腫瘍細胞からの VEGF 分泌を促し、それが周囲の既存血管にパラクライン的に作用して、血管新生を促進させる。この VEGF 発現亢進のもっとも強い誘導因子が、腫瘍細胞に対する低酸素刺激である。最近、低酸素応答に関連して発現する転写因子の一つである Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) がクローニングされ、VEGF の発現および腫瘍血管新生の促進に重要な役割を果たすことがわかってきた。

【目的】今回の実験の目的は、HIF-1 の転写因子結合配列と同じ配列をもつデコイ (おとり遺伝子) を作製し、腫瘍細胞に導入、低酸素負荷をかけることで、VEGF 遺伝子の発現を抑制できるかどうかを調べることにある。

【材料・方法】 HIF-1 デコイとして VEGF の HRE cis element (TACGTGGGCT) を含む 20 mer の oligo-DNA を 3 種類と同長の scramble sequence を 1 種類コントロールとして作製した。ラットのグリオーマ細胞株 C6 を用いて、まず hypoxia により VEGF の発現上昇を確認し、次いでこの系におけるデコイ導入の影響を調べた。HIF-1 デコイおよび scramble sequence の導入は、リポフェクション法を用い、導入後に低酸素負荷をかけた。Normoxia と hypoxia でのコントロール群、HIF-1 デコイ導入群および scramble sequence 導入群にわけ、比較した。低酸素負荷は、Becton Dickinson 社の Gas Pack System を用い、transfection 後、このシステムで 18 から 20 時間、37°C で incubate した後、mRNA を抽出して、ノーザンブロットを行い転写活性を調べると共に、ELISA を用いて培養液中 VEGF の定量測定を施行した。さらに細胞より核分画を抽出して、Gel Shift Assay を行なった。

【結果】低酸素負荷によって誘導される VEGF の発現亢進は、HIF-1 デコイ導入により、mRNA レベルで著明に抑制を受けることが、ノーザンブロットで示された。また、培養液中の VEGF も ELISA 法で約 23% まで減少を認め、HIF-1 デコイの効果を確認した。Gel Shift Assay では、HIF-1 デコイの HIF-1 結合領域における競合的阻害を確認した。

【結論】低酸素誘導転写因子 HIF-1 に対するデコイを腫瘍細胞に導入することで、VEGF の発現調節が可能であった。血管新生のもっとも強力な誘導因子は、低酸素であり、それに対する応答機構の制御は、腫瘍のみならず、多くの血管新生の治療にも役立つと思われる。

Key words : HIF-1, VEGF, Decoy, Malignant glioma

【はじめに】

哺乳類の細胞は、低酸素状態に適応するため、嫌気的な状況下での ATP 産生に必要な遺伝子(aldolase A, enolase- α , lactate dehydrogenase, pyruvate kinase, glucose transporter[Glut-1]など)、酸素運搬能上昇(赤血球産生)のための Erythropoietin(Epo)や血管新生に必要な VEGF などの遺伝子の発現を制御するいくつかの機構を発達させてきた^{1,6)}。低酸素応答に関連した転写因子として AP-1 や NF- κ B などが報告されているが、最近クローニングされた HIF-1 は、低酸素応答に最も重要な転写因子として注目されている^{2,3)}。HIF-1 は、HIF-1 α と ARNT : (HIF-1 β)の二つのサブユニットから構成され、いずれも bHLH-PAS 転写因子ファミリーに属し、ヘテロダイマーの形成と DNA 結合能が示唆される⁴⁾。ARNT は、低酸素の有無に関わらず核内に存在するのに対して、HIF-1 α は、低酸素によって制御される⁵⁾。通常の酸素濃度下では、HIF-1 α は、VHL の関与したユビキ

チン化とプロテアソーム (ubiquitin-proteasome system)により分解されるが、低酸素下では、HIF-1 α の安定化が生じると同時に、細胞質から核内へ移行し、ARNT と active な HIF-1 複合体(ヘテロダイマー)を形成する⁴⁾。この HIF-1 複合体は、プロモーター領域の Hypoxia-response element (HRE)に結合することで、転写活性を上昇させ、解糖系の酵素群や VEGF, Epo の産生を誘導し、細胞を低酸素状態に適応させる^{1,6)} (Fig.1)。さらに HIF-1 は、低酸素応答において中心的な役割を果たすのみならず、胎生期の器官形成⁷⁾や腫瘍増殖、転移^{8,9)}、アポトーシス¹⁰⁾にも関係し、癌やその他の難治性疾患の治療戦略の新しい分子標的として注目されている。今回我々は、HIF-1 の転写因子結合配列と同じ配列をもつデコイ(おとり遺伝子)を作製し、腫瘍細胞に導入、低酸素負荷をかけることで、VEGF 遺伝子の低酸素誘導を抑制できるかどうかを調べた (Fig.2)。

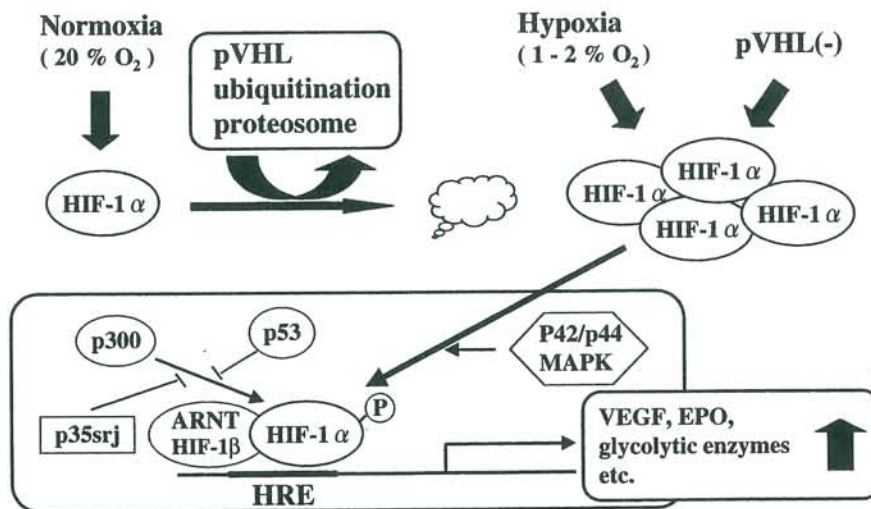


Fig.1 : HIF-1 α signal transduction

In normoxic condition, pVHL binds to HIF-1 α and targets it for proteasomal degradation. Hypoxia, by activating a still controversial mechanism, inhibits degradation of HIF-1 α . HIF-1 α can then translocate to the nucleus where it can interact with p300 and activate gene transcription. p53 or p35srj could interfere with this interaction and inhibit the hypoxic response. Active p42/p44 MARK can phosphorylate and activate HIF-1 α ¹²⁾

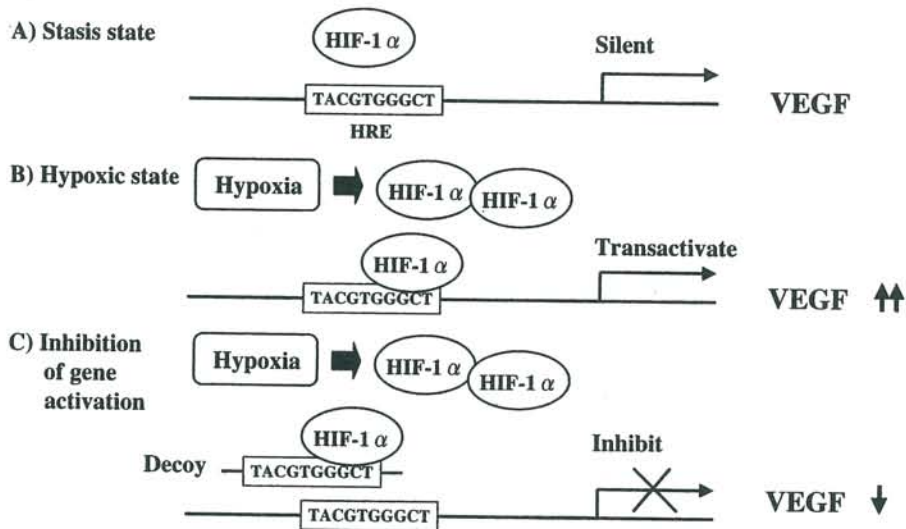


Fig.2 : The decoy oligonucleotide approach to block the function of the transcriptional factor HIF-1.

In static state (a), HIF-1 α is strictly controlled and sequestered from HRE (TACGTGGGCT). Under hypoxic condition (b), HIF-1 α is stabilized and binds to HRE in the promoter regions of VEGF gene. The introduction into the nucleus of decoy oligonucleotides that bear the consensus binding sequence (c) prevents interaction of the factor with its promoter targets, thus inhibiting the transactivation of hypoxia-inducible genes, such as VEGF.

【材料・方法】

- ① 細胞：Rat C6 glioma 細胞を用い、DMEM+10%FCS で5%CO₂ 37°Cにて培養した。
- ② デコイの作製および導入：低酸素に関するDNA エレメントは、hypoxia-response element (HRE)と呼ばれ、現在までにいくつかの低酸素誘導因子の HIF-1 結合配列が同定されている。VEGF では、ヒト/マウス 共通配列の TACGTGGGCT の HRE が確認されている (Table.1)。HIF-1 デコイとして VEGF の HRE cis element (TACGTGGGCT)を含む 20 mer の oligo-DNA を 3 種類と同長の scramble sequence を 1 種類コントロールとして作製した (Fig.3)。この中でもっとも効率の高かった No.2 のデコイをこの後の実験に使用した。デコイの細胞への導入は、Lipofectin Reagent (Life Technologies, Inc)を用いた。24 時間前に調整した (3 x 10⁵ cells/60mm plate) C6 細胞を、デコイおよびコントロール DNA を含む DNA/Lipofectin mixture と 6 時間培養し、通常の培地に換えた後、24 時間 normoxia で培養した。以後半分は、18 時間低酸素負荷をかけ、残りは 18 時間 normoxia で培養した。低酸素負荷による VEGF の誘導は、3 時間目より上昇し、15 時間目

に一定のレベルに達した後、24 時間目まで微増する¹³⁾。また 48 時間以降は細胞の activity が低下することから、低酸素負下の時間は、18 時間と設定した。

- ③ 低酸素負荷：低酸素負荷は、Becton Dickinson 社の Gas Pack System (Gas Pak Plus : BBL)を用い、18 時間、37°Cで incubate した。
- ④ ノーザンプロット解析：トランスフェクトおよび低酸素負荷後、RNeasy kit (QIAGEN)にて mRNA (total)を抽出して、ノーザンプロットを行い、VEGF の転写活性を調べた。プローブは、マルチプライム法で標識した DNA プローブを使用した。
- ⑤ ELISA : R&D system の mouse VEGF Immunoassay kit (Quantikine™ M)を使用して培養上清中の VEGF を測定した。
- ⑥ Gel shift assay : HIF-1 デコイをトランスフェクトし、低酸素負荷をかけた後、回収した細胞から核分画を抽出し、コンセンサス配列を ³²P で標識したプローブとハイブリさせ、低イオン強度の条件下で 4%ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、ゲルを乾燥させた後、フィルムに expose した。

Table 1 : HRE (hypoxia responsive element) of hypoxia-inducible genes

低酸素誘導遺伝子とHIF-1結合配列 (HRE)

遺伝子	種	HRE
エリスロポイエチン	ヒト	TACGTGCTGT
エリスロポイエチン	マウス	TACGTGCTGC
ホスホフルクトキナーゼ	マウス	TACGTGCTGC
アルドラーゼA	ヒト	GACGTGACTC
エノラーゼ1	ヒト	TACGTGACGG
グルコーストランスポーター1	マウス	GGCGTGCCGT
VEGF	ヒト	TACGTGGGCT
ヘムオキシゲナーゼ	マウス	GACGTGCTGG
トランスフェリン	ヒト	TACGTGCGCT
Insulin-like growth factor binding protein(IGFBP-1)	ヒト	GACGTGCTCT
誘導型一酸化窒素合成酵素	マウス	TACGTGCTGC

HIF-1 decoy

Constructs sequence :

- ① 5'- CCACAGTGCATACGTGGGCT -3'
3'- GGTGTACGTATGCACCCGA -5'
- ② 5'- GTGCATACGTGGGCTCCAAC -3'
3'- CACGTATGCACCCGAGGTTG -5'
- ③ 5'- TACGTGGGCTCCAACAGGTC -3'
3'- ATGCACCCGAGGTTGTCCAG -5'
- ④ 5'- GCTGTAGAGCTCGCATCGAC -3'
3'- CGACATCTCGAGCGTAGCTG -5' (scramble)

Fig.3 : Construct sequence of HIF-1 decoy

【結果】

- ① ノーザンブロット解析：C6 細胞を用いたノーザンブロットの結果では、Lane.1 の normoxia の状態に比べて、hypoxia の負荷をかけることで Lane.3 でみられるように、VEGF の発現が極めて高く up-regulate された。しかし、デコイを導入した細胞では、Lane.2 でみられるように、その発現は低く抑えられた。また、scramble sequence 導入群では、コントロール群と同じ変化を示したことから、この VEGF の発現抑制は、デコイ導入に特異的な現象と思われる (Fig.4)。
- ② ELISA：低酸素負荷後の細胞培養液の ELISA で VEGF の定量を行った。R&D の VEGF ELISA システムを用いたが、培養液中の VEGF の量は、通常酸素下で 132.6 pg/ml であった。低酸素負荷時、コントロール群で 8445.0 pg/ml、scramble sequence 群で 6700.0 pg/ml と著明な発現上昇を認めたとに対して、デコイ導入群では 1950.0 pg/ml と有意な低値($p < 0.001$)を示し、通常の低酸素負荷時の 23%近くまで抑制効果を認めた (Table.2)。
- ③ Gel shift assay：コントロール群でシフトしたバンドが、HIF-1 binding site に認められるが、HIF-1 デコイ導入群の Lane2 および Lane3 では band の濃度が減少し、デコイ導入による競合的な HIF-1 結合抑制を認めている (Fig.5)。

【考察】

腫瘍と HIF-1/VEGF pathway

腫瘍組織内の酸素濃度は、2%から 0%とされ、腫瘍辺縁から中心に向かうにつれて低下する⁹⁾。低酸素状態において腫瘍細胞は、HIF-1/ VEGF pathway を介して、いくつかの glycolytic enzyme や VEGF, Epo などの成長因子の発現を促進し、この状態に適応し、増殖、浸潤、転移に有利な環境を獲得しようとする¹²⁾。したがって、この経路の遮断は、腫瘍細胞へのエネルギーの供給を止めるのみならず、腫瘍組織の維持に必要な増殖因子の枯渇を招き、ネクローシスおよびアポトーシスを誘導でき、その結果、抗腫瘍効果を期待できる。現在までに、抗 VEGF 抗体やアンチセンス VEGF 療法など VEGF を中心とした anti-angiogenic therapy がいくつか提唱され、動物実験における効果が報告されている¹⁹⁾が、より上流のレベルでのシグナル制御に関しての報告は未だ少ない。VEGF の発現は、HIF-1 などが関係した transcriptional な regulation と VEGF mRNA の半減期の増減による post-transcriptional な regulation の二つの異なる調節機構が考えられている¹³⁾。今回は、デコイを用いて前者の transcriptional regulation の制御を試みたが、post-transcriptional regulation の検討も、今後必要になってくると思われる。また、HIF-

1 α 以外の VEGF 遺伝子転写活性因子である ARNT(HIF-1 α)や HLF(HIF-2 α)の役割も徐々に明らかとなりつつある。HIF-1 は、低酸素下で活性化されるが、CoCl₂やインスリン、EGF, FGF-2, IGF-2 の存在下では、通常酸素下でも活性化される。したがって、HIF-1 は最初、低酸素応答に関連した蛋白として同定されたが、現在は、通常酸素下および低酸素下両条件下のエネルギー代謝の主要調節因子としての働きが想定されてきている。

HIF-1 α の発現制御について

低酸素下で HIF-1 α 蛋白が著しく増加することが見出された。この増加は蛋白質の低酸素下での安定性によるものであり、転写レベルよりむしろ翻訳段階で行われている。再酸素下によって HIF-1 α は非常に速やかに分解されることも報告されている。通常の酸素条件下では HIF-1 α の半減期は 5~15 分とされ、この急速な HIF-1 α の分解にはユビキチン依存性のプロテアソームによる蛋白分解機構 (ubiquitin-proteasome system)が関与し、癌抑制遺伝子の p53 や VHL が HIF-1 α のユビキチン化とプロテアソームによる分解を促進し、HIF-1 α の量を一定に保つ働きがあるとされている。このことは Specific proteasone inhibitor, lactacystin の存在下では、HIF-1 α の半減期が延長することからも裏付けられる。またこれらの遺伝子を欠失した腫瘍では、低酸素状態に反応して、あるいは酸素濃度に関係なく、constitutive に HIF-1 α の安定化および VEGF の分泌が活性化され、腫瘍血管新生が盛んである。たとえば VHL 遺伝子は、腎癌や、小脳血管芽腫および網膜血管腫など血管産生腫瘍で癌抑制遺伝子として機能するが、近年ユビキチン化を促進し、蛋白質の分解に関与することがわかってきた (E3 ユビキチンリガーゼ)。VHL を不活化した腫瘍細胞では、通常酸素下で VEGF mRNA の安定性を増加させる¹¹⁾。また、VHL の不活化は、glycolytic enzyme の一つである Glu-1 の発現を通常酸素下で誘導することもわかっている²¹⁾。VHL を発現していない腎細胞癌株 (RCC4)では、HIF-1 α が通常酸素下で安定化し、constitutive に発現しており、wild-type VHL の導入で HIF-1 α の degradation や低酸素応答能が回復するとされる²¹⁾。また癌抑制遺伝子 p53 は、ヒトの癌の多くで変異が認められているが、低酸素状態では、HIF-1 α の安定化が生じ、p53 の安定化と蓄積を促す。しかし一方で p53 は、p53 と HIF-1 の co-activator である p300 との結合により、HIF-1 α による遺伝子誘導を阻害する。したがって p53 は、細胞周期の停止やアポトーシスの制御などの他に HIF-1 α の制御因子として重要な働きをしている^{10,14,15)}。以上のことから、腫瘍細胞における HIF-1 の活性は、

Northern blot analysis

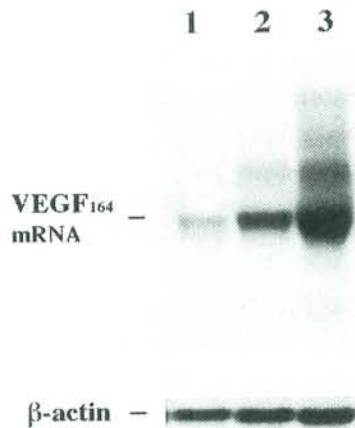


Fig.4 : Northern blot analysis for VEGF₁₆₄ mRNA

Lane1; C6 (normoxia), Lane2; C6+HIF-1 decoy (hypoxia), Lane3; C6 (hypoxia). 9μg total RNA was loaded on each lanes.

Table 2 : ELISA for VEGF₁₆₄ in culture medium

The level of VEGF in culture medium was remarkably increased under hypoxic condition (more than 60-fold). HIF-1 decoy significantly inhibited the hypoxia-induced up-regulation of VEGF compared with scramble decoy.

	Conc. (pg/ml)
C6 (control ; normoxia)	132.6
C6 (control ; hypoxia)	8445.0
C6 + HIF-1 decoy (hypoxia)	1950.0 *
C6 + scramble decoy (hypoxia)	6700.0

(* p < 0.001)

局所的な低酸素あるいは VHL や p53 などの癌抑制遺伝子の不活化によりコントロールされていると思われる。今回の実験では、wild-type p53(+)の C6 細胞のみを使用した。mutant p53(+)の GS9L 細胞や各種ヒトグリオーマ細胞株において、VHL や p53 など癌抑制遺伝子と HIF-1 反応性との関連を現在調査中である。VHL, p53 以外にも癌抑制遺伝子である PTEN が HIF-1α誘導遺伝子の抑制を行うことが

報告されている¹⁸⁾。また、HIF-1αの活性化が一酸化窒素によって阻害され、低酸素での遺伝子活性化と一酸化窒素合成系の間に転写レベルでのクロストークが存在することが明らかにされ²⁰⁾、この領域の研究をホットなものとしている。今後、低酸素応答の制御機構が徐々に解明され、全体像が見えてくるものと思われる。

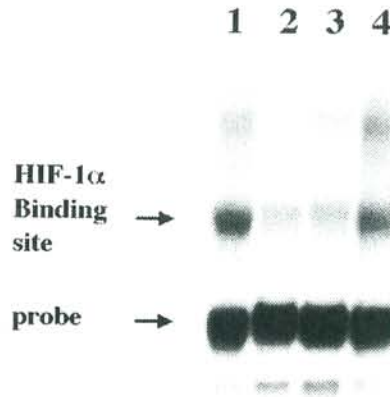


Fig.5 : Gel shift assay

Lane1; control, Lane2; HIF-1 decoy treated Lane3; HIF-1 decoy treated Lane4; scramble decoy treated. 5 μ g of nuclear extract was loaded on a 4% polyacrylamide gel.

デコイを用いたアプローチ

現在までに、障害血管における内皮肥厚と血管平滑筋増殖に対する E2F-1 デコイや、多くの炎症性サイトカインや接着因子の発現に転写レベルで重要な役割を果たしている NF- κ B に対するデコイ法を *in vivo* で利用した成績などが報告されている¹⁶⁾。デコイ法の利点として①炎症性サイトカインや低酸素など特定の刺激により誘導された複数の遺伝子発現を転写因子特異的に抑制できる。②基礎的、恒常的な遺伝子発現は維持されるため、副作用が少ない。③病態特異的に対象とする転写因子を選別できる。④多くの転写因子の結合決定塩基配列は 10 塩基以下の配列で構成されているので、目的とするデコイオリゴのデザインと合成が容易である¹⁷⁾、などがある。その反面、一つの遺伝子の転写が複数の転写因子や補助因子の複合体によって制御され (multiplicity)、逆に一つの転写因子が複数の遺伝子の発現を制御することもあるから、単一転写因子の制御では特異性 (specificity) の面で限界があるともいわれる。全身投与では、生理的な血管新生の障害や免疫機能の抑制などの副作用が問題となるが、当面、局所投与に限り、低酸素刺激により誘導される遺伝子群を標的とすれば、補助療法としてある程度の抗腫瘍効果が期待できると思われる。しかし、遺伝子導入のためのベクターの問題や血流が低下している低酸素領域にいかにかデコイを送り込むかというデリバリーシステムの問題など解決すべき課題も多く今後の研究が期待される。また、細胞内に取り込まれ

たデコイの多くは、ライソゾームに捕獲消化されるため、有為な効果を発揮するためには、核内に移行する (nuclear localization) ことが必要とされ、そのための特別なデリバリーシステム (改良型 Cationic lipids や HVJ-liposome) の開発も望まれる。

【結論】

低酸素誘導転写因子 HIF-1 に対するデコイを腫瘍細胞に導入することで、転写レベルでの VEGF の発現調節が可能であった。核酸医薬品として扱えるデコイは、従来の遺伝子治療とは異なった多くの利点があり、多くのサイトカインや増殖因子の発現制御に有用なアプローチの一つと考えられる。血管新生のもっとも強力な誘導因子は、低酸素であり、それに対する応答機構の制御は、腫瘍のみならず、多くの血管新生の病の治療にも役立つと思われる。今後、その機構の分子レベルでの解明が望まれるとともに関連因子を標的とした分子標的治療の新しい戦略を開発する必要がある。

【謝辞】

本研究の一部は、文部省科学研究助成 (課題番号: 12671358) の援助により行った。また、本研究を開始するにあたり、技術的な支援および有意義なアドバイスをいただいた Erlangen 大学神経病理学の Plate 教授に深謝いたします。

【文献】

- 1) Semenza GL: Hypoxia-Inducible Factor-1 : master regulator of O₂ homeostasis. *Curr Opin Genet Dev* 8:588-594, 1998
- 2) Wang GL and Semenza GL: General involvement of Hypoxia-Inducible Factor-1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:4304-4308, 1993
- 3) Wang GL and Semenza GL: Characterization of Hypoxia-Inducible Factor-1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. *Biol Chem* 268:21513-21518, 1993
- 4) Wang GL, Jiang B-H, Rue EA and Semenza GL: Hypoxia-Inducible Factor-1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:5510-5514, 1995
- 5) Salceda S and Caro J: Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. *J Biol Chem* 272: 22642-22647, 1997
- 6) Faller D: Endothelial cell response to hypoxic stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26:74-84, 1999
- 7) Ryan HE, Lo J and Johnson RS: HIF-1 α is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO* 17:3005-3015, 1998
- 8) Jiang B-H, Agani F, Passaniti A and Semenza GL: V-SRC induces expression of Hypoxia-Inducible Factor-1(HIF-1) and transcription of genes encoding vascular endothelial growth factor and enolase-1 : involvement of HIF-1 in tumor progression. *Cancer Res* 57:5328-5335, 1997
- 9) Zhong H, Agani F, Baccala AA, Laughner E, Rioseco-Camacho N, Isaacs W, Simons JW and Semenza GL: Increased expression of Hypoxia-Inducible Factor-1 α in rat and human prostate cancer. *Cancer Res* 58:5280-5284, 1998
- 10) Carmeliet P, Dor Y, Hebert J-M, Fukumuras D, Brusselmans K, Dewerchin M, Neeman M, Bono F, Abramovitch R, Maxwell P, Koch CJ, Ratcliffe P, Moons L, Jain RK, Collen D and Keshet E: Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumor angiogenesis. *Nature* 394:485-490, 1998
- 11) Levy AP, Levy NS, Iliopoulos O, Jiang C, Kaelin WG and Goldberg MA: Regulation of vascular endothelial growth factor by hypoxia and its modulation by the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Kidney Int* 51:575-578, 1997
- 12) Richard DE, Berra E and Pouyssegur J: Angiogenesis : How a Tumor Adapts to Hypoxia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:718-722, 1999
- 13) Ikeda E, Achen MG, Breier G, and Risau W : Hypoxia-induced transcriptional activation and increased mRNA stability of vascular endothelial growth factor in C6 glioma cells. *J. Biol. Chem.*270:19761-19766, 1995
- 14) Blagosklonny MV, An GW, Romanova LY, Trepel J, Fojo T and Neckers L: p53 inhibits Hypoxia-Inducible Factor-stimulated transcription. *J Biol Chem* 273:11995-11998, 1998
- 15) An GW, Kanekal M, Simon MC, Maltepe E, Blagosklonny MV and Neckers LM: Stabilization of wild-type p53 by Hypoxia-Inducible Factor-1 α . *Nature* 392:405-408, 1998
- 16) Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I, Tomita N, Moriguchi A, Maeda K, Sawa Y, Kaneda Y, Higaki J and Ogihara T.: In vivo transfection of cis element"decoy"against nuclear factor-kB binding site prevents myocardial infarction. *et al. Nature Med.* 3:894-899, 1997
- 17) 居石 克夫 : 動脈硬化と血管新生 医学のあゆみ 194(10):803-809, 2000
- 18) Zundel W et al : *Genes Dev* 14:391-396, 2000
- 19) Sasaki M, Wizigmann-Voos S, Risau W and Plate KH : Retrovirus producer cells encoding antisense VEGF prolong survival of rats with intracranial GS9L gliomas. *Int. J. Devl. Neuroscience* 17:579-591, 1999
- 20) Sogawa k, Numayama-Tsuruta K, Ema M, Abe M, Abe H and Fujii-Kuriyama Y. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1 activity by nitric oxide donors in hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 7368-7373, 1998
- 21) Maxwell RH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockmann ME, Wykoff CC, Pugh CW, MaherER and Ratcliffe PJ : The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 399:271-275, 1999

Diencephalic syndrome を呈した 視床下部 glioma の一例

A case of hypothalamic glioma presenting diencephalic syndrome

旭川医科大学 脳神経外科

程塚 明、広島 覚、和田 始、中井 啓文、田中 達也

【はじめに】

Diencephalic syndrome は、1951 年に Russel が初めて報告した症候群で、乳幼児で視床下部前部の腫瘍により、著明なるいそを呈するとされており¹⁾、内分泌学的検査では血中成長ホルモンの異常高値を認める。

今回我々は、視床下部 glioma によって発症した本症候群の一例を経験したので、若干の文献的考察を加えて報告する。

【症例】

1 歳 4 ヶ月 女児 NS000210

主訴：いそ

現病歴：平成 11 年 1 月 30 日、満期産(在胎 40 週 4 日)にて出生した。母体の妊娠・分娩に異常なく、生下時も仮死なく、生下時体重は 2782g であった。生後 3 ヶ月までは母乳栄養で、5 ヶ月より離乳食を開始したが、食不振・嘔吐・下痢などは認められなかった。しかし、この頃より、体重増加が停止したため、同年 9 月に近医小児科を受診したが特に異常を指摘されず経過観察となっていた。生後 1 歳 2 ヶ月になっても、依然体重増加が認められなかったため、平成 12 年 3 月 28 日当院小児科を初診し、精査のため、同科入院となった。入院後の頭部 MRI にて異常を指摘され、当科紹介となり同年 5 月 9 日当科入院となった。**入院時全身理学所見：**身長 71.6cm、体重 5.5Kg、胸囲 38cm、頭囲 44cm で、著明なるいそを認めた (Fig.1)。Tab.1 に患児の成長曲線を示すが、体重のみ生後 5 ヶ月より増加が停止し、 $-4SD$ 以下となっていた。皮下脂肪は殆どないが、筋肉の発達は良好であった。皮膚の硬化はなく、軽度乾燥していた。色素沈着もなかった。外性器等、外表の異常もなかった。また、顔貌には特有の警戒顔貌を認めた。

入院時神経学的所見：神経学的には、やや多動傾向を認めるものの、精神運動発達は 1 歳相当と異常はなかった。視力・視野・眼底に異常はなかった。その他

明らかな異常所見を認めなかった。

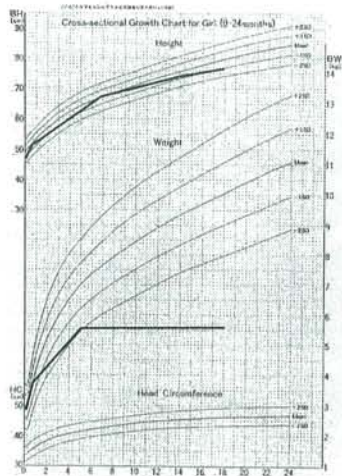
内分泌学的所見：各種ホルモンの基礎分泌は、GH:92.77ng/ml, LH:0.10 μ U/ml, FSH:1.61 μ U/ml, TSH:1.16 μ U/ml, T3:1.66 μ g/dl, T4:12.91 μ g/dl, F-T3:3.03ng/dl, F-T4:1.21 ng/dl, Cortisol:20.19 μ U/ml であり、GH の異常高値を認めた。負荷試験では、Insulin 負荷試験では GH の奇異反応は認めず、TRH・LH-RH・L-dopa 負荷試験では、全て正常反応であった。**神経放射線学的所見：**頭部 MRI (Fig.2) では、両側視床下部からトルコ鞍上部に進展する、T1WI で low から iso signal intensity を呈し T2WI で不均一な high signal intensity を呈する腫瘍を認め、この腫瘍は Gd にても不均一に造影された。脳室系の拡大はなく、視神経も同定できなかった。1H-MRS ではコリンのみの上昇を認め、201TI-SPECT ではこの腫瘍に一致した uptake を認め、retention index は -0.17 であった (Fig.3)。

入院後経過：以上より、本症例は視床下部前部原発腫瘍により diencephalic syndrome を呈しているものと考えられ、同年 5 月 31 日、病理学的診断と内減圧を目的に右前頭側頭開頭にて腫瘍摘出術を施行した。手術所見では (Fig.4)、視交叉は腫瘍により全体的に腫大し、一部で腫瘍は側方に exophytic に進展していた。視力・視野等に異常が無く神経症状に乏しいため、この部の部分摘出にて手術を終了した。

病理組織学的所見：病理組織標本では、HE 染色では (Fig.5)、腫瘍細胞はやや異型性のある類円形の核をもち、繊細な突起を多数認め一部では微小嚢胞を伴っており、fibrillary astrocytoma と考えられた。しかし、微小嚢胞変性が著明で、好酸性の rosenthal fiber 様の構造を認め、pilocytic astrocytoma を思わせる部分も、ごく一部で認めた。以上より組織標本全体としては、fibrillary astrocytoma, grade 2 と診断した。なお、免疫染色では (Fig.6)、GFAP は強陽性で MIB-1 LI が 4.4% であった。また、GH 及び GRH 免疫染色は陰性であった。



Fig.1



	身長(cm)	体重(g)
生下時	47.0(-1SD)	2728(-1SD)
生後1ヶ月	51.3(-1SD)	3680(-1SD)
5ヶ月	63.5(mean)	5548(-1.8SD)
7ヶ月	66.5(mean)	5460(-2.6SD)
1歳2ヶ月	72.3(-1SD)	5510(-4SD)
1歳6ヶ月	75.5(-2SD)	5600(-4.3SD)

Tab.1



Fig.2

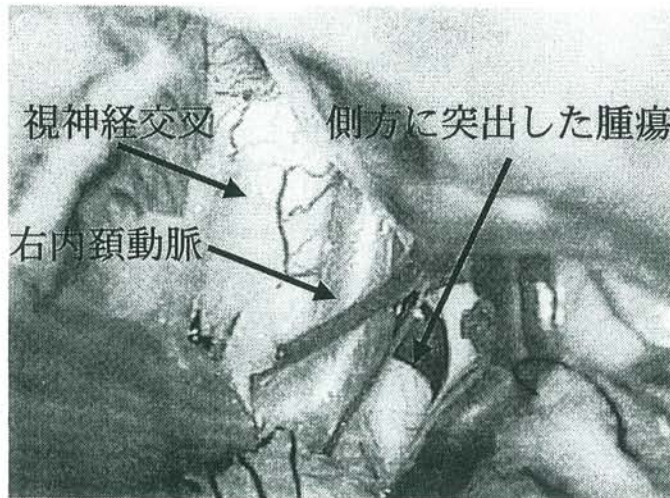
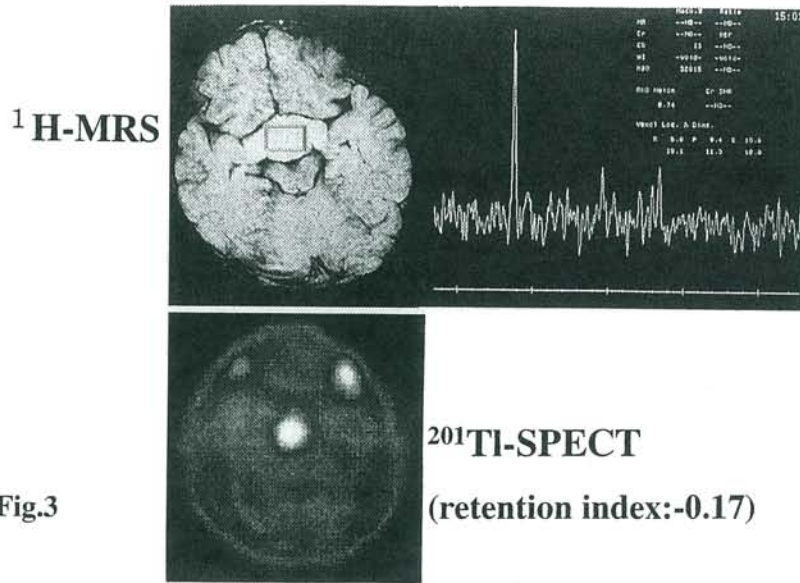
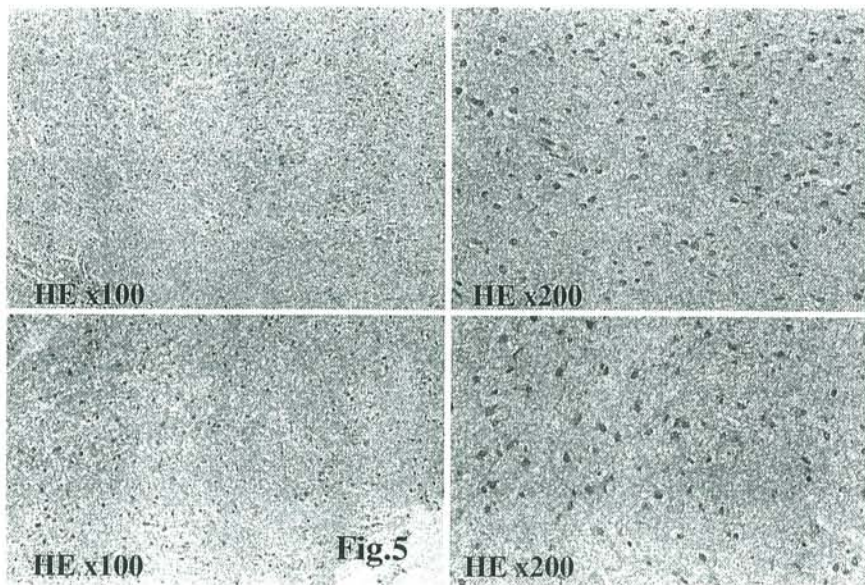


Fig.4



術後経過: 病理組織診断が astrocytoma, grade 2 であること、1 歳 4 ヶ月の年少児であること及び視力・視野障害などの神経症状にも乏しいため、後療法として、VCR(0.1mg/kg)と CBDCA(150mg/m²)による化学療法を開始した。化学療法 4 クール終了後の頭部 MRI では(Fig.7)、軽度の腫瘍の縮小を認めており、更に化学療法を継続している。今後の経過を見て、5 歳以上に成長してから、腫瘍の再増大等を認めれば放射線照射も考慮に入れている。

【考察】

Diencephalic syndrome は 1951 年に Russel が乳幼児で視床下部前部に腫瘍があり、高度なるいそを来たした症例を最初に報告したものである¹⁾。Burr ら²⁾がまとめた diencephalic syndrome の臨床症状は Tab.2 の如くで、本症例もいそ、警戒顔貌、多動など主要な症候を認めた。また、神経学的には所見が乏しいものの、視力障害に伴う眼振や視神経萎縮を認めると報告しているが、本例も同様に軽度の多動傾向以外は明らかな神経症状を認めなかった。内分泌学的検査では血中成長ホルモン(GH)の上昇や負荷試験での異常反応、血中 cortisol の異常なども報告されており、その病態としては視床下部障害によるホルモン抑制因子の障害が想定されている³⁾。本症例も著明な GH の上昇と軽度の cortisol の上昇を認め、以上の所見より diencephalic syndrome と診断した。本症候群の病因としては、視床下部の前部から視神経交叉の腫瘍性病変、特に low grade astrocytoma が多くを占めているが、重要なことは 2 歳以下の乳幼児期に発症することである^{2,3)}。Dutton らは、chiasmatic glioma の内、5.1% に diencephalic syndrome を認めたと報告しており比較的稀な病態と考えられる⁴⁾。Low grade astrocytoma の中では、pilocytic astrocytoma が大多数を占めると言われている^{2,3)}が、Allen は視神経から視床下部の glioma は pilocytic astrocytoma が多く、視床原発の glioma は fibrillary astrocytoma が多いと報告しており⁵⁾、更に Sutton らは hypothalamic/chiasmatic astrocytoma 33 例中 11 例は fibrillary astrocytoma であったが、平均年齢 10 歳と、年長児に多いと報告している⁶⁾。本症例は臨床経過・神経学的所見・神経放射線学的所見などより視床下部前部が原発と考えられるが、病理組織学的所見では、一部に pilocytic astrocytoma を思わせる部分を認めるものの、大部分は fibrillary astrocytoma と診断され、病理学的にも比較的稀な組織像を呈していた。さて、chiasmatic-hypothalamic glioma の治療に関しては、未だに議論の分かれるところで、確定した治療方針は得られていない。Garvey ら⁷⁾は chiasmatic-hypothalamic glioma につき、多くの文献を review しており、その治療の問題点としては、まず、natural history が一定しておらず、過誤腫様の病

変であるとする報告⁸⁾や 10 年生存率が 60%でその後も徐々に低下するといった、必ずしも予後良好とは言えないとする報告⁹⁾があり、また、その増殖能についても多様で、癌などの悪性腫瘍に匹敵する症例もあるといった報告¹⁰⁾もある、としている。次いで、一部の症例は NF1 に合併して出現するが、NF1 非合併例では進行するものが多く、合併例では進行が遅く若干予後良好であるとも報告している⁷⁾。更に CT/MRI 導入以前は optic nerve 原発のものと chiasmatic-hypothalamic glioma が混同されており、この事が治療方針や成績に影響を及ぼしている、としている。一方、各種の治療法に関しても、Garvey ら⁷⁾は、手術は optic nerve glioma 以外はあまり十分な効果は得られず、却って手術操作による合併症の危険性を指摘しており、放射線照射も短期間の腫瘍の進展抑制効果はあるものの、成長障害や認知障害といった adverse effect の問題があり、化学療法も多剤併用療法で 44~80%で有効としているが、再増大までの期間の延長効果程度であるとしており、手術と後療法の組み合わせを提唱している⁷⁾。西尾らも、Garvey らと同様の結果を得ており、腫瘍進展例では、手術と術後放射線療法が有効であると報告している¹¹⁾。また、関貫らも一側視床下部に局限した症例では、腫瘍全摘と 50Gy の局所照射で有効であった、と報告している¹²⁾。しかし、化学療法の有効性も近年徐々に見直され、放射線療法に取って代わるものになりつつある⁵⁾。使用薬剤も以前は vincristine や actinomycin D を主体としていたが¹³⁾、その後 nitrosourea を主体とするもの¹⁴⁻¹⁶⁾や etoposide¹⁷⁾を併用するものが施行されている。また、Packer らは carboplatin と vincristine による化学療法を施行し、特に 5 歳以下の小児例で、2 年間の経過観察で 80%以上で有効と報告している¹⁸⁾。更に最近の報告では、Nishio らは、腫瘍生検後に ranimustine や nimustine などの nitrosourea での化学療法のみを施行し、平均 3 年 7 ヶ月の経過観察で、75%の症例で有効と報告しており¹⁹⁾、Gropman らも carboplatin と vincristine による化学療法のみで、平均 2 年 4 ヶ月の経過観察で、体重増加は平均 80%で、MRI 上 50%以上の腫瘍縮小を 57%の症例で認めたと報告している²⁰⁾。また、Kato らも cisplatin と vincristine による化学療法で腫瘍の縮小及び神経症状・内分泌症状の改善を、共に 75%の症例で認めたとし、化学療法を第一選択の治療に挙げている²¹⁾。現在、本症例については、年齢・腫瘍の局在や文献的な治療成績などを考慮に入れて、今後も化学療法を継続し、その効果を検討し、場合によっては、5 歳以上になってからの放射線照射の追加も考慮することとしている。

【結論】

1. Diencephalic syndrome を呈した、視床下部 glioma

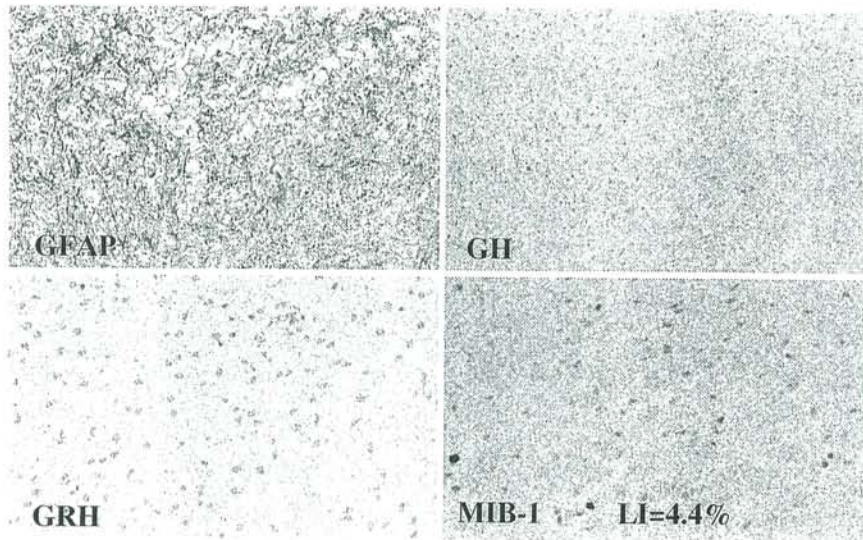
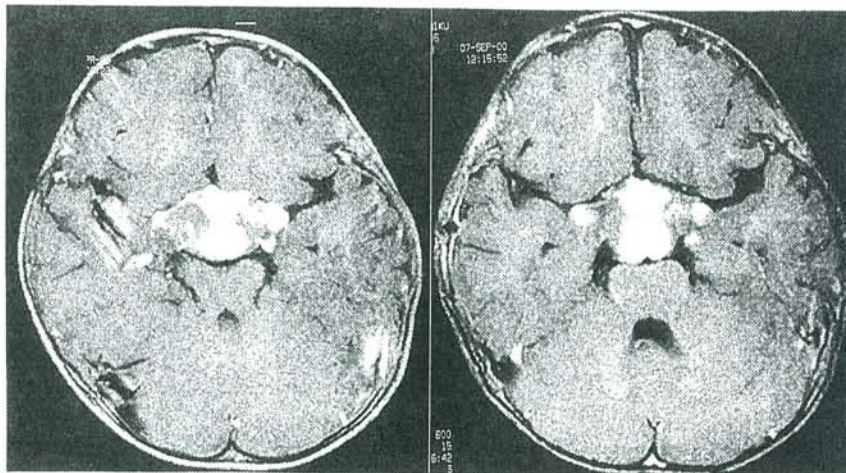


Fig.6



術前MRI Gd(+)
Fig.7

CMT 4クール終了後
MRI Gd(+)

Clinical features of diencephalic syndrome

Emaciation	100%
Alert appearance	87%
Increased vigor and/or hyperkinesis	72%
Vomiting	68%
Euphoria	59%
Pallor	55%
Nystagmus	55%
Irritability	32%
Tremor	23%
Sweating	15%
Large genitals	5%

(Burr et al. 1976)

Tab.2

の一例を報告した。

2. 著明なるいそうと血清 GH の高値を認め、神経学的には軽度の多動傾向を認めた。
3. 病理組織学的診断は、比較的稀な fibrillary astrocytoma, grade 2 であった。
4. 術後化学療法を施行し、軽度の腫瘍縮小効果を認めており、今後更に化学療法の継続を予定している。

【文献】

- 1) Russel A :A diencephalic syndrome of emaciation in infancy and childhood. Arch Dis Child 26: 274-280, 1951
- 2) Burr IM, Slonim AE, Danish RK, et al : Diencephalic syndrome revisited. J Pediatr 88: 439-444, 1976
- 3) DeSousa AL, Kalsbeck JE, Mealey J et al :Diencephalic syndrome and its relation to opticochiasmatic glioma: review of twelve cases. Neurosurgery 4: 207-209, 1979
- 4) Dutton JJ :Gliomas of the anterior visual pathway. Survey of Ophthalmology 38:427-451, 1994
- 5) Allen JC :Initial management of children with hypothalamic and thalamic tumors and the modifying role of neurofibromatosis-1. Pediatr Neurosurg 32: 154-162, 2000
- 6) Sutton LN, Molloy PT, Sernyak H, et al :Long-term outcome of hypothalamic/chiasmatic astrocytomas in children treated with conservative surgery. J Neurosurg 83:583-589, 1995
- 7) Garvey M, Packer RJ :An integrated approach to the treatment of chiasmatic-hypothalamic gliomas. J Neurooncol 28:167-183, 1996
- 8) Hoyt WF, Baghdassarian SA :Optic gliomas of childhood :natural history and rationale for conservative management. Br J Ophthalmol 53: 793-798, 1969
- 9) Chang CH, Wood EH :The value of radiation therapy for gliomas of the anterior visual pathway. In:Brockhurst RJ, Borouchoff SA, Hutchinson BT (eds) Controversy in Ophthalmology, Philadelphia, WB Saunders Company. 1977, pp878-886
- 10) Alvord EC, Lofton S :Gliomas of the optic nerve or chiasm. J Neurosurg 68:85-98, 1988
- 11) Nishio S, Takeshita I, Fujiwara S, et al :Optico-hypothalamic glioma. An analysis of 16 cases. Child's Nerv Syst 9: 334-338, 1993
- 12) 関貫聖二、坂東一彦、白川典仁、ほか : 広範囲腫瘍摘出術を施行した片側 hypothalamic juvenile pilocytic astrocytoma の 2 例. 小児の脳神経、21:179-183, 1996
- 13) Packer RJ, Sutton LN, Bilaniuk LT, et al :Treatment of chiasmatic/hypothalamic gliomas of childhood with chemotherapy: An update. Ann Neurol 23:79-85, 1988
- 14) Lefkowitz IB, Packer RJ, Sutton LN, et al :Results of the treatment of children with recurrent gliomas with lomustine and vincristine. Cancer 61:896-902, 1988
- 15) Chamberlain MC, Levin VA :Chemotherapeutic treatment of the diencephalic syndrome. A case report. Cancer 63:1681-1684, 1989
- 16) Petronio J, Edwards MSB, Prados M, et al :Management of chiasmatic and hypothalamic gliomas of infancy and childhood with chemotherapy. J Neurosurg 74:701-708, 1991
- 17) Pons M, Finlay JL, Walker RW, et al :Chemotherapy with vincristine(VCR) and etoposide(VP-16) in children with low grade astrocytoma. J Neuro-Oncol 14:151-158, 1992
- 18) Packer RJ, Allen JC, Phillips P, et al :Efficacy of chemotherapy for children with newly diagnosed progressive low-grade gliomas(Abstract). Ann Neurol 36:496, 1994
- 19) Nishio S, Morioka T, Takeshita I, et al :Chemotherapy for progressive pilocytic astrocytomas in the chiasmo-hypothalamic regions. Clin Neurol Neurosurg 97:300-306, 1995
- 20) Gropman AL, Packer RJ, Nicholson HS, et al :Treatment of diencephalic syndrome with chemotherapy: growth, tumor response, and long term control. Cancer 83:166-172, 1998
- 21) Kato T, Sawamura Y, Tada M, et al :Cisplatin/vincristine chemotherapy for hypothalamic/visual pathway astrocytomas in young children. J Neuro-Oncol 37:263-270, 1998

膠芽腫後療法中に染色体異常を認めた高齢者の一例

A case of an elderly patient with secondary chromosomal aberration during chemoradiotherapy for glioblastoma

昭和大学脳神経外科

小林信介、阿部琢巳、泉山 仁、嶋津基彦、小澤宏史、
川村典義、池田尚人、松本 清

【はじめに】

今回我々は膠芽腫後療法中の染色体分析で、細胞共通性のない染色体異常を認め、化学療法により染色体異常を来した可能性のある高齢者の稀な 1 例を経験したので、若干の文献的考察を加え報告する。

【症 例】

症 例：74 歳、女性

主 訴：左不全片麻痺

既往歴：家族歴：特記事項なし

現病歴：1998 年 8 月より左片麻痺が出現し、近医より紹介入院となった。

神経学的所見：入院時左不全片麻痺(上下肢とも MMT 4/5)及び、着衣失行・左半側空間無視を認めた。

入院時放射線学的所見：頭部 MRI では右側頭頭頂葉の深部白質に周囲に edema を伴う最大径 4.5cm の ring 状に enhance される mass lesion を認めた(Fig. 1)。血管撮影では右内頸動脈撮影にて early venous filling を伴った hypervascular tumor の所見が認められた。

手 術：膠芽腫の術前診断にて 1998 年 10 月 9 日開頭腫瘍摘出術を施行した。腫瘍辺縁に沿って gyrectomy を施行し、enhance される領域を可及的に全摘出した。

組織学的所見：摘出病理標本は全体的に小型で細胞密度の高い腫瘍細胞で、核の異型性・分裂像、血管内皮の増殖、壊死像を認めており膠芽腫と診断した(Fig. 2)。MIB-1 labeling index は 19.9% だった。

術後経過 (Table 1)：術後 MRI ではガドリニウムで造影される病変は認められず(Fig. 3)、細胞周期同調化学放射線療法を開始した。初期療法として術後 2 週目より ACNU 110mg×1 日+Vincristine 1.5mg×2 日、Vincristine 1.5mg×2 日、ACNU 110mg×1 日+Vincristine 1.5mg×2 日をそれぞれ 2 週間おきに投与し、同時に T2 強調画像で高信号を呈する領域に局所照射 60Gy を行い、Interferon-β 300 万単位 3 回/週×

8 週間投与を行う予定としていた。しかし術後 6 週目の化学療法後に強い骨髄抑制を認め汎血球減少を呈したため、Interferon-β は 4 週間だけ投与し、それ以上は全身状態を考慮し行わなかった。放射線照射を予定通り施行後、汎血球減少の改善を待ち、術後 3 か月で退院した。術後 5 か月の MRI で腫瘍の再発を認め再入院した。前回の骨髄抑制を考慮し ACNU 50mg×1 日+Vincristine 0.7mg×2 日と減量し、Interferon-β 300 万単位 3 回/週、追加局所照射 30Gy 行った。その後強い汎血球減少を再び呈した為、化学療法はそれ以後行わず Interferon-β のみ 1 週間投与して終了した。その後の治療は家族が希望せず、腫瘍は増大し術後 11 か月で患者は腫瘍死した。

染色体検査(Fig. 4 A~G)：術後 4 か月の時点で末梢血 T cell を用いた染色体検査を行った。その結果は全細胞に共通した染色体異常は認めなかったが、共通性の無い染色体異常が X 染色体と常染色体 No.1・No.2・No.3・No.4・No.7・No.9・No.13・No.16 等の染色体にそれぞれ認められた。術後 5 か月の時点で染色体検査の再検を行ったが、やはり前回と同様に細胞共通性の無い染色体異常を認めた。

【考 察】

一般集団における染色体異常の頻度(常染色体、性染色体を併せて)は約 0.6%(170 人に 1 人)といわれているが、それを誘起する原因としては化学療法剤の投与、放射線の被曝、ウイルス感染などが知られている。化学療法後の二次性悪性腫瘍は当初アルキル化剤(cyclophosphamide, nitrosoureas, procarbazine)投与後の二次性白血病を中心に報告されていたが、その後 etoposide(VP-16)投与後にも観察されることがわかってきた¹⁻⁵⁾。それにより抗がん剤の染色体異常誘発能について研究が進み、アルキル化剤や etoposide などの抗がん剤は高頻度に染色体異常を誘発することが判明した⁶⁾。

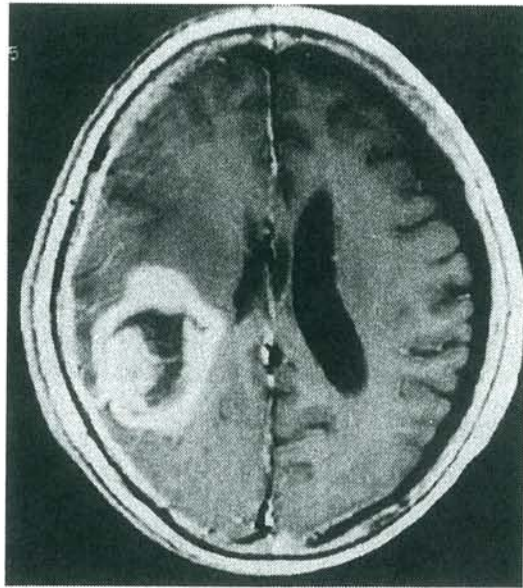


Fig.1
Preoperative axial T1-weighted gadolinium-enhanced MR image showing ring enhancement in the right-sided temporoparietal lesion.

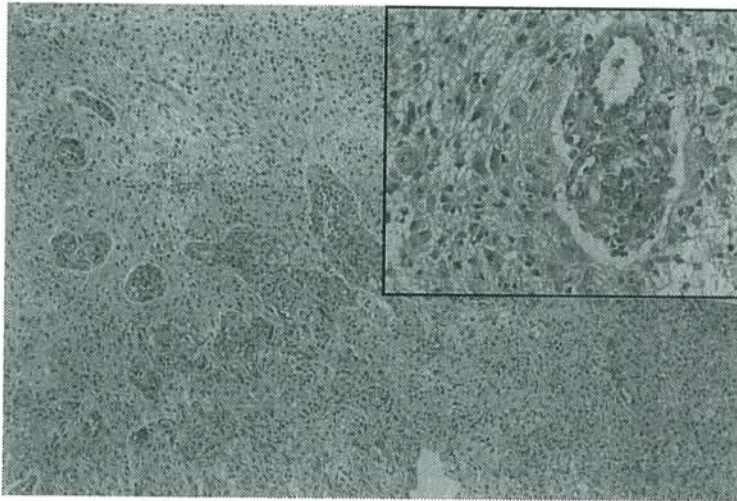


Fig.2
Photomicrograph of a surgical specimen revealing mitotic figures, pleomorphism, endothelial proliferation and necrosis.

Table 1

Postoperative treatment schedule of chemoradiotherapy combined with ACNU, vincristine, and interferon- β .

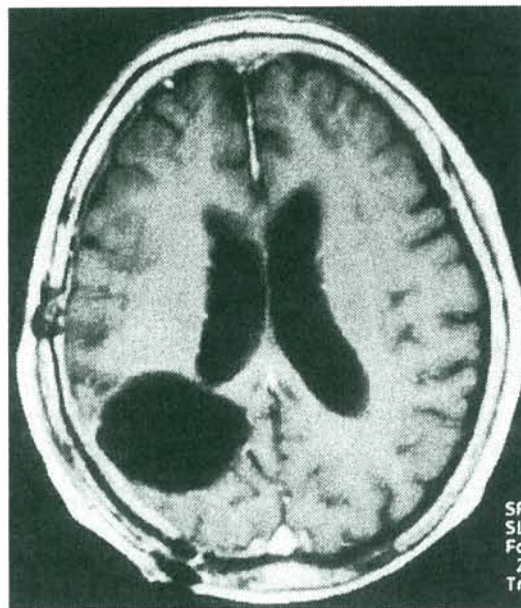
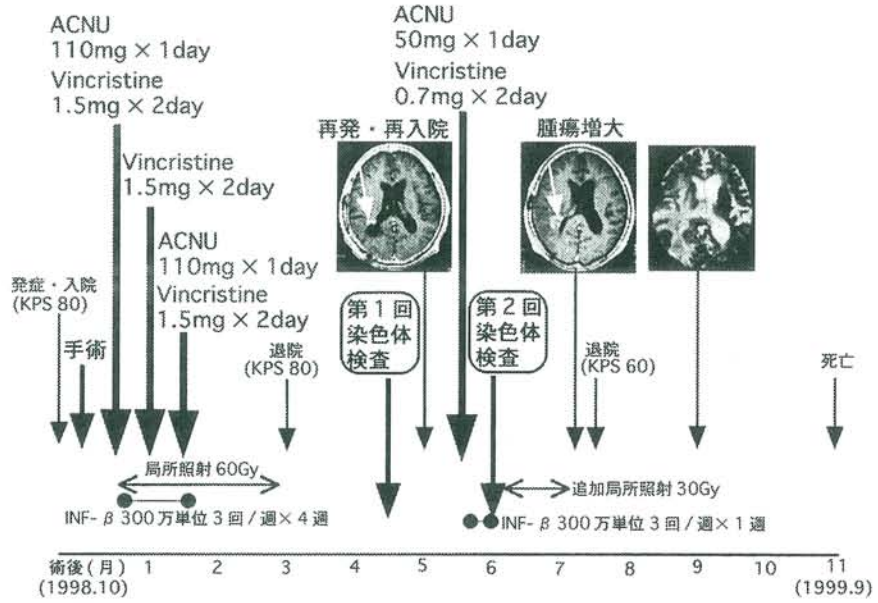


Fig.3

Postoperative axial T1-weighted gadolinium-enhanced MR image demonstrating no high signal intensity area.

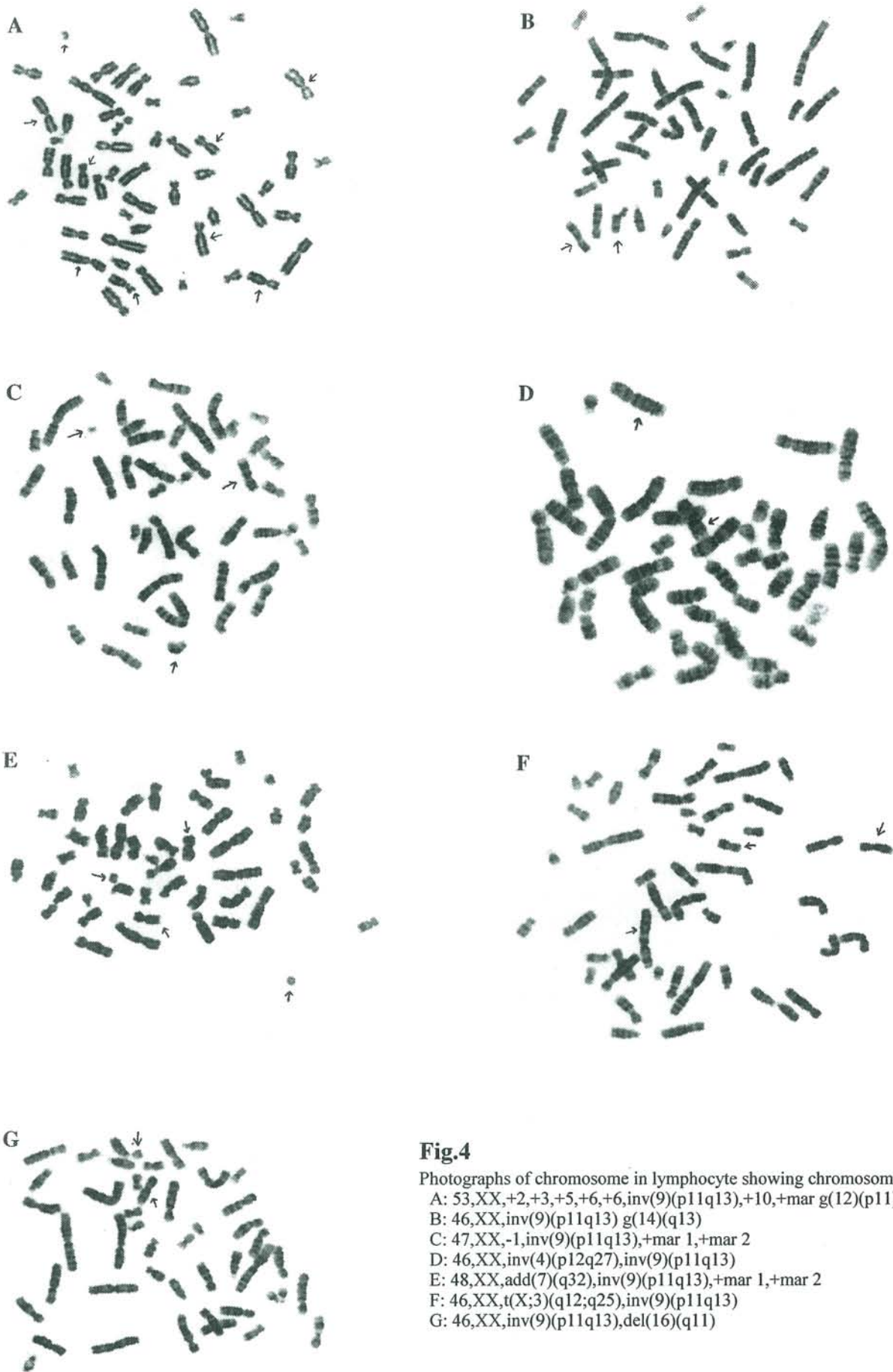


Fig.4

Photographs of chromosome in lymphocyte showing chromosomal aberration.

A: 53,XX,+2,+3,+5,+6,+6,inv(9)(p11q13),+10,+mar g(12)(p11)

B: 46,XX,inv(9)(p11q13) g(14)(q13)

C: 47,XX,-1,inv(9)(p11q13),+mar 1,+mar 2

D: 46,XX,inv(4)(p12q27),inv(9)(p11q13)

E: 48,XX,add(7)(q32),inv(9)(p11q13),+mar 1,+mar 2

F: 46,XX,t(X;3)(q12;q25),inv(9)(p11q13)

G: 46,XX,inv(9)(p11q13),del(16)(q11)

今回我々は膠芽腫患者に ACNU+Vincristine と放射線照射を用いた後療法中にどのような染色体異常が見られるかを検討するため、患者の末梢血リンパ球を用い染色体分析を施行した。その結果、細胞共通性のない染色体異常が認められた。後療法前には染色体は調べておらず、後療法との因果関係は確実なものではないが、後療法、特に ACNU 投与後に染色体異常が出現した可能性は十分に考えられる。この症例は抗がん剤投与中の骨髄抑制が強く現れ、その改善が遅延したが、その事と染色体異常が認められたことと何か関係があるかもしれない。今後骨髄抑制を認める症例、特に高齢者を中心に染色体検査を行いさらに検討したい。

【文献】

- 1) 矢崎 信, 飯田真介, 松林 正ら: 化学療法後に複合型免疫不全症を発症した t(X;11)(q13;q23)を伴う乳児急性単球性白血病の 1 例.
日小血会誌 10(3): 199-204, 1996
- 2) 田畑恭裕, 納谷真由美, 北條 誠ら: 神経芽腫の治療終了 10 か月後に 11q23 異常を伴う急性リンパ性白血病を発症した 1 小児例.
日小血会誌 10(3): 169-174, 1996
- 3) 田中 実, 渋井壮一郎, 野村和弘: 悪性神経膠腫に対する ACNU, VP-16 の治療効果の検討.
Neuro-Oncology 8(2): 39-43, 1998
- 4) Iida H, Taji H, Iida M et al.: Secondary leukemia after etoposide treatment involved MLL gene rearrangement.
Jpn J. Clin. Hematol. 35(6): 569-575, 1994
- 5) Haupt R, Fears RT et al.: Risk of secondary leukemia after treatment with etoposide(VP-16) for langerhans cell histiocytosis in Italian and Austrian-German populations. Int. j. Cancer: 71: 9-13, 1997
- 6) 阿部達生: 化学変異原と染色体異常. 古庄敏行, 吉田勉弘, 阿部達生, 福嶋義光, 近藤郁子編, 臨床染色体診断法, pp718-726, 金原出版, 東京, 1996.

神経膠腫における薬剤耐性遺伝子発現と MIBI-SPECT所見の関連性について

香川医科大学脳神経外科

國塩勝三、岡田真樹、森崎訓明、三宅啓介、松本義人、長尾省吾

【はじめに】

心筋血流製剤として開発された^{99m}Tc-hexakis-2-methoxy-isobutyl-isonitrile (MIBI)は、²⁰¹Tlと同様に肺癌や乳癌のみならず神経膠芽腫などの脳腫瘍においても集積がみられることが報告されている⁵⁾。また、MIBIは多剤耐性腫瘍のイメージング剤としても注目されている¹⁾。すなわち、薬剤耐性機構に関わるものの一つに、ある種の抗癌剤を細胞内から細胞外へ排出するポンプとして作用する multidrug resistance (MDR)-1 産物の P 糖蛋白があり、これが抗癌剤同様 MIBI を細胞外に排泄すると考えられている²⁾。最近では薬剤耐性遺伝子の一つである multidrug resistance-associated protein (MRP) についても MIBI の排泄機構との関連性が報告されている^{3, 4)}。今回我々は、神経膠腫において MIBI および Tl SPECT を施行し、それぞれの集積程度と MDR-1 および MRP-1 の薬剤耐性遺伝子発現との関連性について検討した。

【対象および方法】

対象とした症例は開頭術もしくは生検術にて組織診断のえられている神経膠腫患者 11 例で、年齢は 40～73 歳 (平均年齢 50.5 歳)、男性 5 例、女性 6 例である。組織診断は星細胞腫(Grade II) 1 例、悪性星細胞腫(Grade III) 6 例、神経膠芽腫(Grade IV) 4 例である。発生部位は前頭葉 7 例、側頭葉 2 例、頭頂葉 1 例、後頭葉 1 例である。

SPECT は MIBI 600MBq、Tl 111MBq を経静脈的に同時投与し、2 核種同時収集法にて 15 分後に頭部 SPECT の早期像、3 時間後に後期像を撮像した。腫瘍と健側脳に ROI を設定し腫瘍/正常脳カウント比 (T/N) を早期像、後期像より求め、それぞれ early ratio (ER)、delayed ratio (DR) とし、さらにこれらより retention index [RI=(DR-ER)×100%/ER]を算出した。

Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay

凍結腫瘍検体より ISOGEN を用いて phenol-chloroform single step 法により total RNA を抽

出した。RT-PCR は、First-Strand cDNA Synthesis Kit (Amersham Pharmacia Biotech) を使用して行った。使用した primer は MDR-1、MRP-1、 β actin に対する特異的な primer (Table 1) を用いて 30～35 サイクルで PCR 反応を行い、MDR-1 および MRP-1 mRNA 発現を検索した。これらの発現の有無と SPECT 所見との関連性について検討を行った。

【結果】

Table 2 に各症例のカウント比と MDR-1 および MRP-1 mRNA 発現の有無を示した。

1) MIBI-SPECT と Tl-SPECT との関連性

MIBI-SPECT は 11 例中 6 例に集積がみられたが、5 例では腫瘍に集積はなかった。代表例を Fig.1 に提示する。T/N 比は、ER が 9.5 ± 15.2 、DR は 9.2 ± 9.7 、RI は $51.8 \pm 108.2\%$ であった。Tl-SPECT では 7 例で集積が見られたが、4 例ではみられていない。この陰性 4 例はいずれも MIBI-SPECT においても集積がみられなかった。ER、DR、RI はそれぞれ 4.5 ± 4.3 、 3.3 ± 2.0 、 $-9.8 \pm 15.2\%$ であった。カウント比 (ER, DR) は MIBI-SPECT が Tl-SPECT より高い傾向がみられたが、有意差はみられなかった。ER および DR において MIBI および Tl-SPECT の両者間で相関がみられた (ER; $r = 0.964$, $p < 0.0001$; DR; $r = 0.853$, $p < 0.0003$) (Fig.2)。RI に関しては、MIBI および Tl-SPECT の両者の相関は認められなかった。

2) RT-PCR 法による薬剤耐性遺伝子検索

RT-PCR 法による薬剤耐性遺伝子検索では、11 例中 7 例で MDR-1 mRNA 発現がみられた (Fig.3)。また MRP-1 mRNA は 11 例中 6 例で発現がみられた。

3) MIBI-SPECT 所見と薬剤耐性遺伝子発現との関連性

MIBI-SPECT では、MDR-1 mRNA 発現陽性群では ER、DR、RI はそれぞれ 4.4 ± 6.3 、 5.3 ± 6.2 、 $25.7 \pm 57.5\%$ で、陰性群では、 18.3 ± 22.9 、 16.0 ± 11.7 、 $97.3 \pm 167.5\%$ であった (Fig.4)。ER、DR および RI は有意差はみられなかったが陽性例が陰性例よりも高い傾向にあった。一方、MRP-1 mRNA 発現陽性群では ER、

Table 1

mRNA	primer
MDR-1	5'primer: 5'-GCCTGGCAGCTGGAAGACAAATACACAAAATT-3' 3'primer: 5'-CAGACAGCAGCTGACAGTCCAAGAACAGGACT-3'
MRP-1	5'primer: 5'-AATGTCACGTGGAATACCAGC-3' 3'primer: 5'-AACAGGCACGACTTGTTC-3'

Table 2 Results of SPECT and mRNA expression of 11 cases

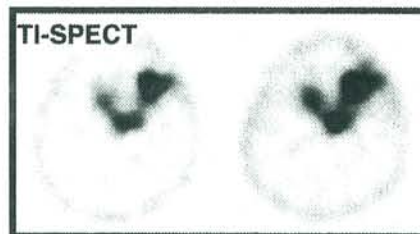
Case	Histology	TI-SPECT			MIBI-SPECT			Gene expression	
		Early T/N	Delay T/N	R.I. (%)	Early T/N	Delay T/N	R.I. (%)	MDR-1 mRNA	MRP-1 mRNA
1	Grade II	1.00	1.00	0.0	1.00	1.00	0.0	++	-
2	Grade III	4.35	3.75	-17.2	5.27	7.00	32.8	++	-
3	Grade III	3.00	3.21	7.0	1.00	1.00	0.0	+	+
4	Grade III	1.00	1.00	0.0	1.00	1.00	0.0	++	-
5	Grade III	5.37	6.28	16.9	6.00	25.55	325.8	-	++
6	Grade III	15.10	4.38	-70.9	51.67	25.00	-51.6	-	+
7	Grade III	1.00	1.00	0.0	1.00	1.00	0.0	-	++
8	Grade IV	1.00	1.00	0.0	1.00	1.00	0.0	+	++
9	Grade IV	7.60	5.64	-25.8	18.26	17.29	-5.3	++	-
10	Grade IV	3.11	3.25	4.5	3.56	9.00	152.8	++	-
11	Grade IV	6.83	5.31	-22.3	14.55	12.60	115.3	-	++

R.I.: retention index = (Delay T/N - Early T/N) / Early T/N x100%

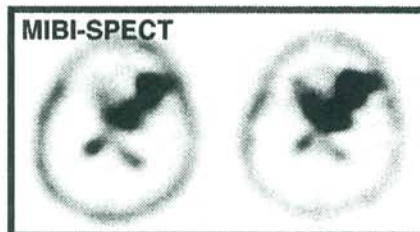
Case 9



Gd-MRI



Early (7.6) Delay (5.6) R.I.= -25.8%



Early (18.3) Delay (17.3) R.I.= -5.3%

Fig. 1

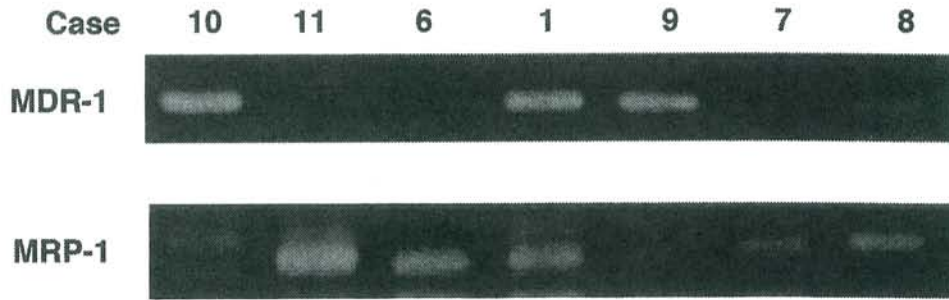


Fig. 2

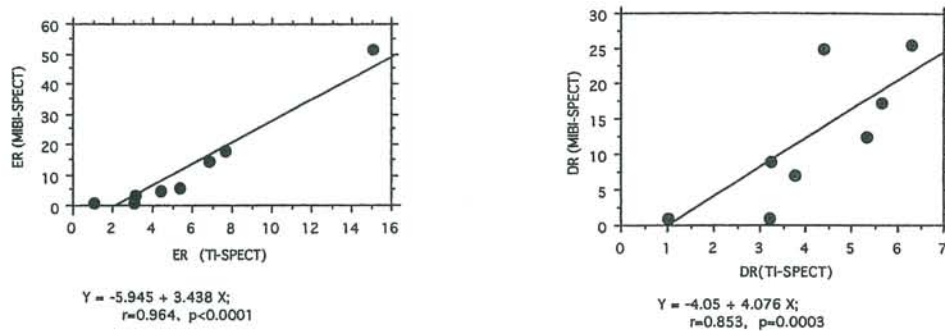


Fig. 3

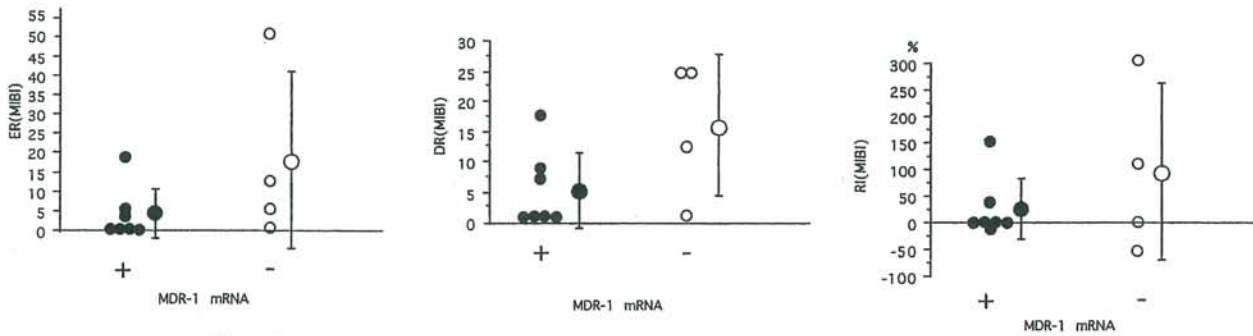


Fig. 4

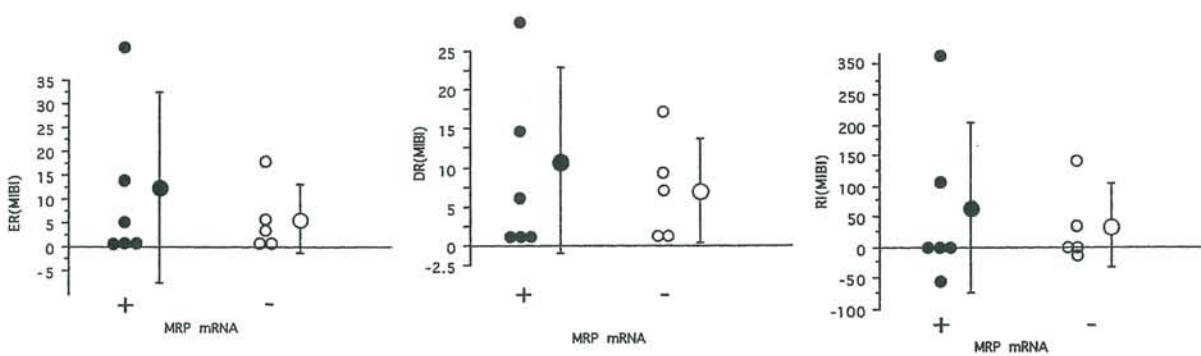


Fig. 5

DR、RI はそれぞれ 12.5 ± 19.9 、 11.0 ± 11.9 、 $64.9 \pm 139.1\%$ で、陰性群では、 5.8 ± 7.2 、 7.1 ± 6.7 、 $36.1 \pm 67.0\%$ であった(Fig.5)。ER、DR および RI は陽性群が陰性群よりも低い傾向にあるが有意差はみられなかった。

【考察】

薬剤耐性機構のひとつとして考えられている P 糖蛋白は、ある種の抗癌剤を細胞内から細胞外へ汲み出すポンプの働きを有するものと考えられている。薬剤と同様 MIBI がこのような P 糖蛋白のポンプ作用により細胞内から細胞外へ排泄されることが知られており、多剤耐性腫瘍のイメージング剤として注目されている¹⁾。すなわち、早期に取り込まれた MIBI が時間の経過とともに排泄されるような場合、DR が ER より低下することになるが、P 糖蛋白の関与する抗癌剤は MIBI 同様排泄されるため効果が期待できないと考えられる。Yamamoto ら²⁾ は、肺小細胞癌において ER、DR および RI と化学療法の効果との関連性を報告しており、治療前に化学療法の効果予測の可能性を示唆している。

一方、MIBI は血流量や血管透過性亢進に関連して受動拡散により細胞に取り込まれ、ミトコンドリア膜内外に存在する膜電位に依存して保持されるといわれている²⁾。MIBI が TI よりも腫瘍検出率は高く正常との境界もより明瞭であるという報告がみられる⁵⁾。今回の検討では、腫瘍検出率は必ずしも MIBI が高いとはいえないが、そのカウント比は高い傾向があり、正常脳との境界もより明瞭でコントラストのよい画像がえられた。ER、DR は MIBI と TI は相関がみられるものの RI は関連がみられなかった。これは、集積はある程度両者同様の機序が考えられるが、排泄機構は異なることが示唆される。頭部では MIBI は TI と異なり、血液脳関門を通過し脳室内に集積するため、脳室内部もしくは脳室周辺部に発生した腫瘍ではその境界が不明瞭となることが問題となる。

長町ら⁷⁾ は、脳腫瘍患者における MIBI および TI-SPECT 所見を検討し、神経膠腫において MIBI は TI よりもコントラストのよい画像が得られ、悪性度評価の有用性を示唆しているが化学療法の効果の予測は難しいと報告している。井内らは神経膠腫において MIBI/TI の比をとることで P 糖蛋白発現と薬剤の効果予測に有用であると報告している。

これまでの報告では、悪性度の高い神経膠腫では集積が強い傾向がみられるが、本検討では Grade III、IV の悪性度の高い glioma においても集積が見られない症例が 2 例みられた。これは、diffuse glioma もしくは gliomatosis cerebri に相当する組織所見を呈する症例で、MRI 画像にても必ずしも造影効果は強くない。このような症例において、TI および MIBI-SPECT

で集積は低いことは血液脳関門の観点から予測され、MIBI-SPECT 所見と悪性度との関連がない症例も散在するのは事実である。森崎ら⁶⁾ が報告した如く神経膠腫において薬剤耐性遺伝子には幾種類もあり各々の症例で発現様式は異なる。このことより MDR-1 の発現のみでは特定の抗癌剤を除いて薬剤の効果予測は困難と考えられる。

本検討では、MIBI-SPECT 所見は TI-SPECT 所見とほぼ相関し、TI より集積が強くコントラストがよい画像がえられた。MIBI は TI と異なった排泄機構が考えられるが、MDR-1 mRNA の発現との相関は必ずしもみられなかった。さらに、MRP-1 mRNA に関しても今回の検討では相関性はみられなかった。今後症例を蓄積して検討を重ねたい。

【文献】

- 1) Ballinger JR, Hua HA, Beery BW, et al. : Technetium-99m-sestamibi as an agent for imaging P-glycoprotein-mediated multidrug resistance : in vitro and in vivo studies in a rat breast tumour cell line and its doxorubicin resistance variant. Nucl Med Commun 16:253-257,1995
- 2) Chiu ML, Kronauge JF, Piwnica-Worm D : Effect of mitochondrial and plasma membrane potentials on accumulation of hexakis (2-methoxyisobutylisonitrile) technetium in cultured mouse fibroblasts. In J Nucl Med 31:1646-1653,1990
- 3) Hendrikse NH, Franssen EJF, Van der Graaf WTA et al. : ^{99m}Tc-sestamibi is a substrate for P-glycoprotein and the multidrug-associated protein. Br J Cancer 77: 353-358, 1998
- 4) 井内俊彦、難波宏樹、藤本修一ら : SPECT による Glioma の P 糖蛋白発現と薬剤耐性予測 CI 研究 22:153-159,2000
- 5) Lee JS, Scala S, Bates SE et al. : Reduced drug accumulation and multidrug resistance in human breast cancer cells without associated P-glycoprotein or MRP overexpression. J Cell Biochem 65: 1-14, 1997
- 6) 森崎訓明、黒田摂子、松本義人ら : グリオーマにおける多剤耐性遺伝子の発現について Neuro-Oncology 9:124-128,1999
- 7) 長町茂樹、陣之内正史、大西 隆ら : ^{99m}Tc-MIBI による脳腫瘍の評価 : ²⁰¹Tl との比較および治療効果との関連性について 核医学 35 : 121-130, 1998
- 8) Yamamoto Y, Nishiyama Y, Satoh K, et al. : Comparative study of technetium-99m-sestamibi and thallium-201 SPECT in predicting chemotherapeutic response in small cell lung cancer. JNM 39: 1626-1629, 1998

側頭葉に発生した Cystic germinoma の一例

Cystic germinoma arising from the right temporal lobe: A case report

北里大学医学部 脳神経外科

今野慎吾、宇津木 聡、岡 秀宏、近藤宏治、田中 聡、藤井清孝

Key words: germinoma, cystic tumor, temporal lobe

【はじめに】

中枢神経系 germinoma は、松果体、鞍上部、基底核に 95% が発生し^{1,10,16)}、それ以外の部位での発生は比較的稀である^{7,9,11,18)}。一方、germinoma の嚢胞形成は、松果体では比較的少ないが、基底核では 50~86% に嚢胞を伴うことがありその多くは多胞性を示す^{1,6,10,16)}。

今回我々は、右側頭葉に発生した巨大な単一嚢胞を有する germinoma の極めて稀な一例を経験したので若干の文献的考察を含め報告する。

【症例】

患者：13 歳、男児

主訴：痙攣発作

既往歴：妊娠、分娩歴に異常なし。生後 1 歳頃に痙攣発作を認め、その後発達遅延を認めていた。

現病歴：1999 年 12 月に進行する左癱瘓性麻痺の精査目的で当院精神科において頭部 MRI 施行したところ右側頭葉内側に径 1.5x1cm 大の T1 および T2 強調画像で high intensity lesion を認めた。同部位は Gd-DTPA による明かな増強効果は認められず、一部にニボーを形成し出血性病変と考えられたため経過観察となった (Fig 1)。2000 年 7 月末より左癱瘓性片麻痺の増悪および発語の低下が出現した。同年 9 月の頭部 MRI で異常病変の著明な拡大を認め当科紹介受診となり、同年 10 月 6 日に全身性の痙攣発作のため緊急入院となった。

入院時神経学的所見：入院時に意識障害 (GCS 10 点)、右共同偏視、左上下肢の麻痺および左上下肢で深部腱反射の亢進を認めた。

入院時検査所見：血液中胎盤性アルカリフォスファターゼ (445 IU/l) および HCG-β (2.0ng/ml) が高値であったが、その他の検査所見に異常は認めなかった。

入院時画像所見：頭部単純 CT 所見 (Fig 2) では、

右側頭葉から基底核部に径 7x5cm 大の巨大な腫瘍性病変を認め、その内部は等吸収域で周囲はやや高吸収域を示した。造影後 CT では腫瘍周囲は増強効果を認めた。頭部 MRI 所見では、同部位は T1 強調画像により 高信号域、T2 強調画像ではほぼ等信号域を示し、Gd-DTPA による造影では明かな増強効果は認められなかった。画像上右側頭葉から発生し巨大に拡大した嚢胞性病変と考えられた (Fig 3)。

手術所見：手術は右側頭開頭、middle temporal gyrus に corticotomy を置き、嚢胞を開放した。嚢胞内容は、はじめはキサントクロミーで、奥には黒赤色の血腫成分が認められた。嚢胞壁を内視鏡で観察すると不整な小隆起を多数認めキサントクロミーを呈していた。内視鏡下に小隆起の一部を摘出し、Ommaya を嚢胞内に留置して手術を終了した。嚢胞内溶液中の胎盤性アルカリフォスファターゼは 510 IU/l、HCG-β は 5900ng/ml と高値であった。

病理組織学的所見：HE 所見では、比較的大型で明瞭な核小体を持ち細胞質に乏しく細胞間の接着のない腫瘍細胞と、多数のリンパ球浸潤を認め、いわゆる two cell pattern を示した (Fig 4)。胎盤性アルカリフォスファターゼ染色では腫瘍細胞は陽性であり (Fig 5)、germinoma と診断した。一方、摘出組織中には HCG 陽性細胞は認めなかったが、嚢胞内の HCG-β が高値であることから臨床的には germinoma with STGC と考えられた。

術後経過：術後、化学療法 (VP 療法) を 2 クール施行し、血液中と Ommaya からの嚢胞内溶液中の HCG-β 量は検査感度未満と著明に低下した。

【考察】

Germinoma の好発部位は一般に松果体、鞍上部、基底核であり、それ以外での発生は約 5% といわれ^{1,10,16)}、放線冠¹²⁾、前頭葉^{3,4)}、脳室⁸⁾、小脳橋角部^{7,15)}、延髄^{11,17)}、脊髄^{2,4,9)}などの報告が散見される。しかし、

Fig 1

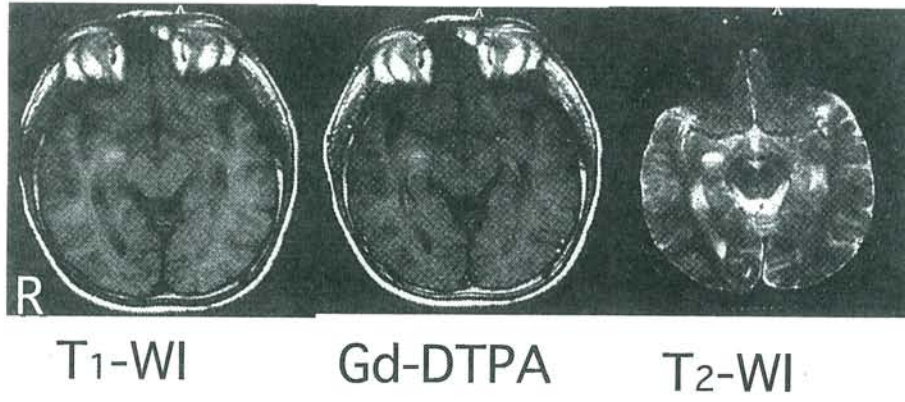


Fig 2

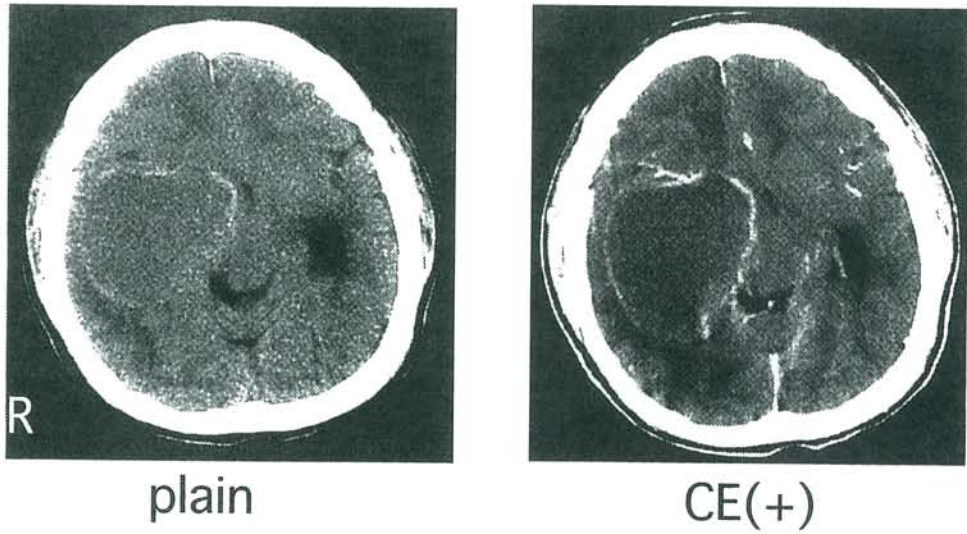
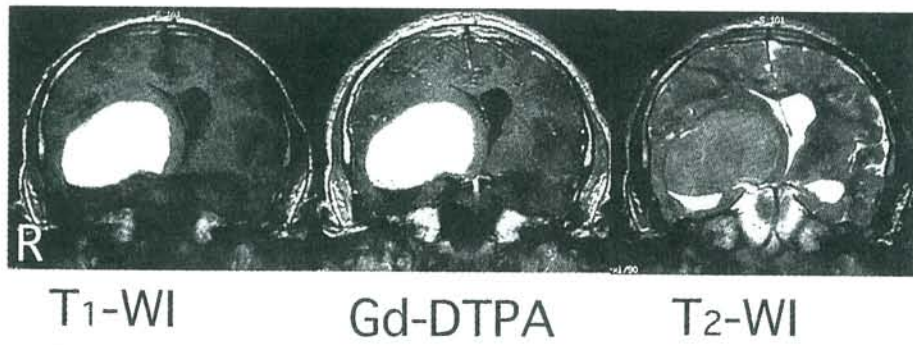


Fig 3



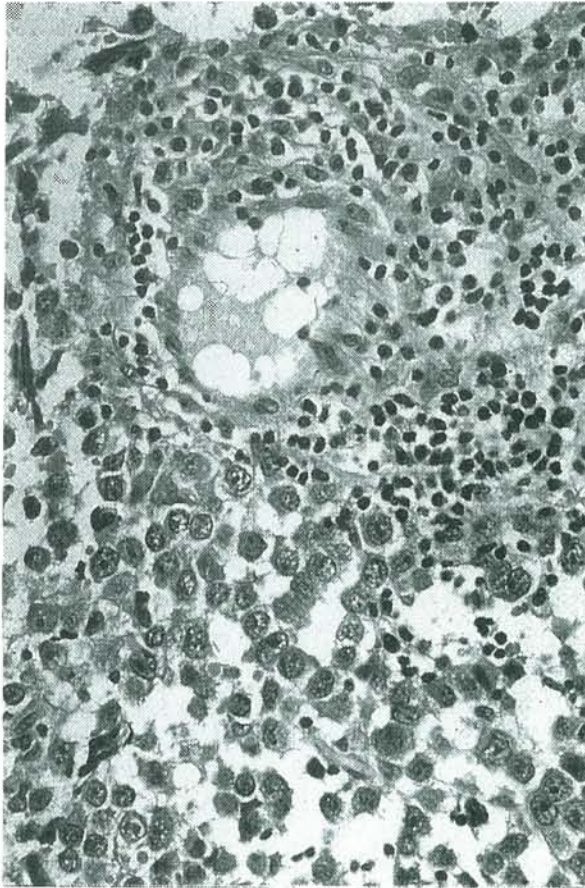


Fig. 4

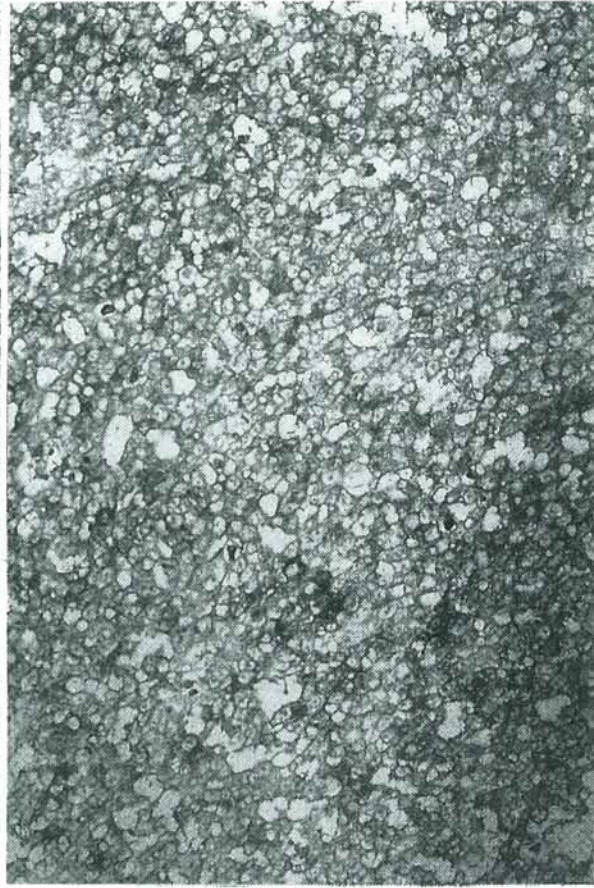


Fig. 5

我々が渉猟し得た限り germinoma が側頭葉実質内から発生したとする報告は過去に認められず、初例と考えられる。

Germinoma の発生については、胎生期、特に胚芽発生初期段階（発生第 2 週頃）で 2 層性胚盤に様々な時期の胚芽細胞の迷入が起こりやすく、この時期に迷入した germ cell が腫瘍化したものと考えられている^{13,14}。そのため、germinoma は正中近くに発生することが多く、本症例のように正中より外れた部分に発生することは極めて稀と考えられており、なぜ側頭葉に発生したかについては不明である。

嚢胞を伴う germinoma の頻度は 17~42% であり^{1,10,16}、多くの場合多発性を示す。しかし、鞍上部および基底核部に発生する germinoma に限ると 50~86% に嚢胞を伴う^{1,6,10,16}。特に大きな嚢胞の場合、その内容はキサントクロミーを示すことが多く、過去の腫瘍内出血を示唆している¹⁰。このメカニズムとして、腫瘍血管がもともと脆弱で小出血を繰り返すことによりキサントクロミーの内容を有する嚢胞が形成されると推測される。本症例においても同様な機序により嚢胞が形成され腫瘍径が急激に大きくなったものと考えられた。一方、松果体に発生した germinoma の場合は腫瘍径が小さいうちから水頭症

や眼球運動障害などを発症することが一般的であるが、鞍上部、基底核部および本症例の様な脳実質内発生 of germinoma では、腫瘍が拡大するまで症状が出にくいことが大きな嚢胞を伴う理由と考えられた^{3,5,10,12}。

【結語】

右側頭葉実質内から発生し、大きな単一嚢胞を伴った極めて稀な germinoma の 1 例を報告した。

【謝辞】

本症例の検討の一部は文部省科学研究助成、文部省アカデミックフロンティア推進事業、北里大学父兄会研究助成の援助を得た。

【文献】

- 1) Fujimaki T, Matsutani M, Funada N, Kirino T, Takakura K, Nakamura O, Tamura A, Sano K: CT and MRI features of intracranial germ cell tumors. *J Neurooncol*;19(3):217-226, 1994
- 2) Hisa S, Morinaga S, Kobayashi Y, Ojima M, Chikaoka H, Sasano N: Intramedullary spinal cord germinoma producing HCG and precocious puberty

- in a boy. *Cancer* 1985 Jun 15;55(12):2845-2849, 1985
- 3) Hoshino N: Ectopic pinealoma – Report of three cases. *Arch Jap. Chir.* 22:145-147, 1975
 - 4) Itoh Y, Mineura K, Sasajima H, Kowada M: Intramedullary spinal cord germinoma: case report and review of the literature. *Neurosurgery* Jan;38(1):187-191, 1996
 - 5) 河本圭司、谷定泰、河村悌夫、松村浩、染田邦幸：巨大な前頭葉皮質下の Germinoma の 1 例：脳神経外科 8(6): 577-582, 1980
 - 6) Kim DI, Yoon PH, Ryu YH, Jeon P, Hwang GJ: MRI of germinomas arising from the basal ganglia and thalamus. *Neuroradiology* Aug;40(8):507-511, 1998
 - 7) Kurtsoy A, Pasaoglu A, Koc RK, Oktem IS, Kontas O : Cerebellopontine angle germinoma. A case report. *Neurosurg Rev*;19(2):127-130, 1996
 - 8) Masuzawa T, Shimabukuro H, Nakahara N, Iwasa H, Sato F: Germ cell tumors (germinoma and yolk sac tumor) in unusual sites in the brain. *Clin Neuropathol* Sep-Oct;5(5):190-202, 1986
 - 9) Miyauchi A, Matsumoto K, Kohmura E, Doi T, Hashimoto K, Kawano K : Primary intramedullary spinal cord germinoma. Case report. *J Neurosurg* Jun;84(6):1060-1601, 1996
 - 10) Moon WK, Chang KH, Kim IO, Han MH, Choi CG, Suh DC, Yoo SJ, Han MC : Germinomas of the basal ganglia and thalamus: MR findings and a comparison between MR and CT. *AJR Am J Roentgenol* Jun;162(6):1413-1417, 1994
 - 11) Nakajima H, Iwai Y, Yamánaka K, Yasui T, Kishi H: Primary intracranial germinoma in the medulla oblongata. *Surg Neurol* May;53(5):448-451, 2000
 - 12) 奥野修三、久永學、知禿史郎、榊寿右、角田茂：放線冠に肉芽腫様変化を伴って発生した Germinoma. 脳神経外科、20 (7) : 775-780、1992
 - 13) Sano K : Pathogenesis of intracranial germ cell tumors reconsidered. *J Neurosurg* Feb;90(2):258-264, 1999
 - 14) Sano K, Matsutani M, Seto T: So-called intracranial germ cell tumours: personal experiences and a theory of their pathogenesis. *Neurol Res* Jun;11(2):118-126, 1989
 - 15) 佐藤修、隆旗俊明、千ヶ崎裕夫、佐野圭司：小脳橋角部の松果体部腫瘍 (pinealoma) — その病変部位をめぐる問題点—脳神経 22: 821-827, 1970
 - 16) Sumida M, Uozumi T, Kiya K, Mukada K, Arita K, Kurisu K, Sugiyama K, Onda J, Satoh H, Ikawa F, et al : MRI of intracranial germ cell tumours. *Neuroradiology* Jan;37(1):32-37, 1995
 - 17) Tashiro T, Yoshida J, Wakabayashi T, Sugita K, Abe H : Primary intracranial germinoma involving the medulla oblongata—case report. *Neurol Med Chir (Tokyo)* Apr;33(4):251-254, 1993

放射線誘発髄膜腫と考えられる2症例

東京女子医科大学 脳神経センター 脳神経外科

井上龍也、村垣善浩、丸山隆志、山根文孝、岡田芳和、久保長生、堀 智勝

【はじめに】

脳腫瘍に対する補助療法のひとつに放射線治療は重要な役割を果たしているが、近年その副作用に関する報告が見られている。そのひとつに放射線照射後におこる腫瘍の発生は重大な問題である。この副作用はまれであるが、重大な合併症の1つである。今回我々は放射線照射を行った症例に初回腫瘍と異なった組織型の脳腫瘍が発生した2症例を経験したので、放射線誘発脳腫瘍との関連を考え、若干の文献的考察を加え報告する。

【症例】

症例1：36歳 女性、主訴：頭痛

既往歴：昭和48年（3歳時）左前頭部の eosinophilic granuloma に対し、他院にて腫瘍摘出術と放射線照射（⁶⁰Co 全脳 25Gy）を施行された。詳細は不明である。

現病歴：平成8年（32歳）頃より頭痛があり他院受診。CTにて小脳テント下の2カ所に脳腫瘍を指摘された。その後他院にて経過観察されていた。今回精査目的で当科受診し、平成12年10月27日手術目的にて入院した。前医での画像所見などの情報がなく、数年前と腫瘍の大きさなど比較できなかった。10月30日腫瘍摘出術施行を施行した。

入院時神経所見：意識清明、小脳症状も含め、明らかな神経症状を認めない。

神経放射線学的所見：頭蓋単純撮影では3歳時に治療された病変は見られない。CTスキャンでは左小脳半球に均一に造影される腫瘍が2個見られた。MRIではT1にてはisointensityでT2ではhigh intensityの病変が見られた。さらにT1造影では均一に造影され、dural tail signがみられた。T2では腫瘍周辺のhigh intensityは強くない。脳血管撮影では外頸動脈から栄養される腫瘍陰影を認めた（Fig.1-a,b,c,d）

手術所見：多発性の髄膜腫の診断もと摘出術を行った。小脳テントの下方に径1.5cm、2.0cmの腫瘍を認めた。付着部位は共に小脳テントだったが、大きな方は一部静脈洞と接しており、小さい腫瘍は全摘を行った

（simpson grade）、大きな方は静脈洞に接しており simpson gradeの手術で摘出した（Fig.2）。

病理所見：紡錘形の細胞が主体のmeningiomaで一部に whorl formationを認める。MIB-1 indexはそれぞれ0.1%、0.9%だった。いずれもfibrous meningiomaである（Fig.3-a,b:large tumor,c,d:small tumor）。

症例 2：33歳 女性、主訴：めまい

既往歴：昭和42年（6歳時）視神経膠腫に対し他院にて腫瘍摘出術施行。残存腫瘍に対して放射線照射（⁶⁰Co 照射範囲不明 28.6Gy）、化学療法（Showdomycin 700mg）を行い、腫瘍の縮小を認めた。以後外来にてfollowされていた。

現病歴：平成8年（29歳時）肺炎にて他院入院。その際頭部MRI施行され、右小脳橋角部に腫瘍が認められた。この際には腫瘍は直径1cmであるが、平成12年8月の画像所見では直径2cmに増大したため、手術目的で当科入院となる。

平成12年8月29日腫瘍摘出術を行った。

入院時神経所見：意識清明 右眼視力0.01 両耳側半盲認めるが、聴力障害等その他神経所見を認めない。

神経放射線学的所見：頭部CTで右小脳橋角部に径2cm程度の腫瘍を認める。骨条件では内耳道の明らかな拡大は認めない。MRIのガドリニウム造影では腫瘍は均一に造影され、dural tail signも認められた。脳血管撮影では、腫瘍病変以外にPICA及びSCAをfeeding arteryとするAVMが認められる（Fig.4-a,b,c,d）。

手術所見：小脳テントの下方で右小脳橋角部に腫瘍を認める。腫瘍は肉眼的全摘出が行われたが付着部位は凝固しSimpson gradeである。小脳内のAVMの全摘出も同時に行った（Fig.5）。

病理所見：摘出腫瘍は紡錘形の細胞が主体のmeningiomaで一部にpsammoma bodyを認めた。MIB-1 indexは0.8%だった（Fig.6-a,b）。またAVMは大小さまざまな血管が認められる典型的なAVMの像を示していた（Fig.6-c,d）。

Fig.1 Case 1

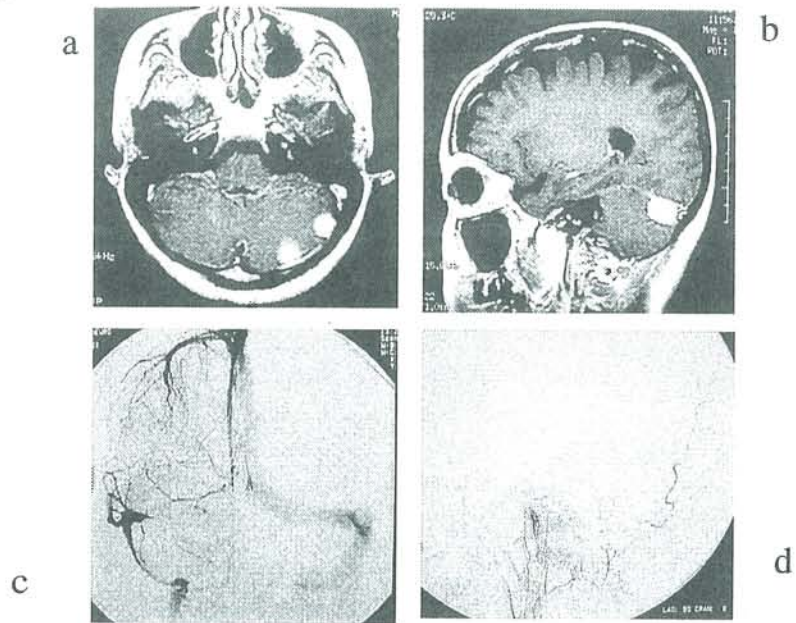


Fig.2

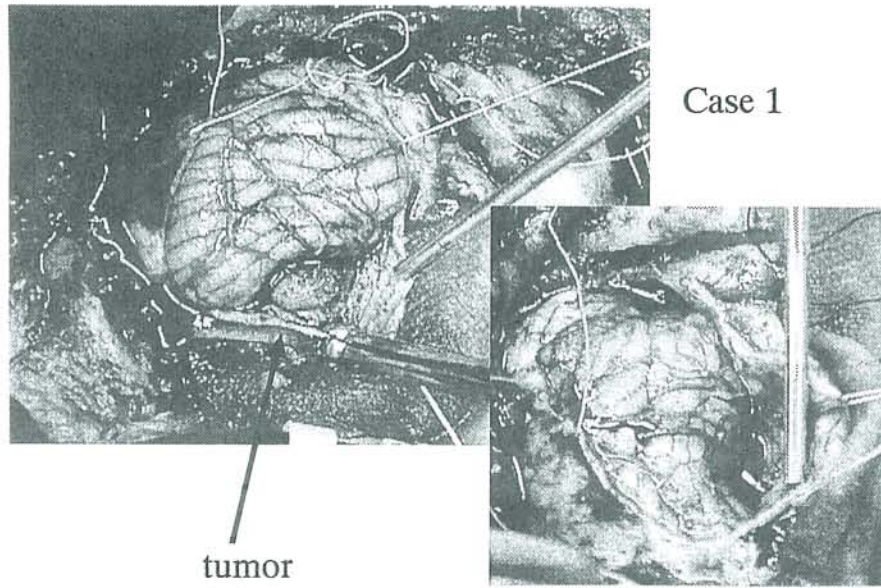
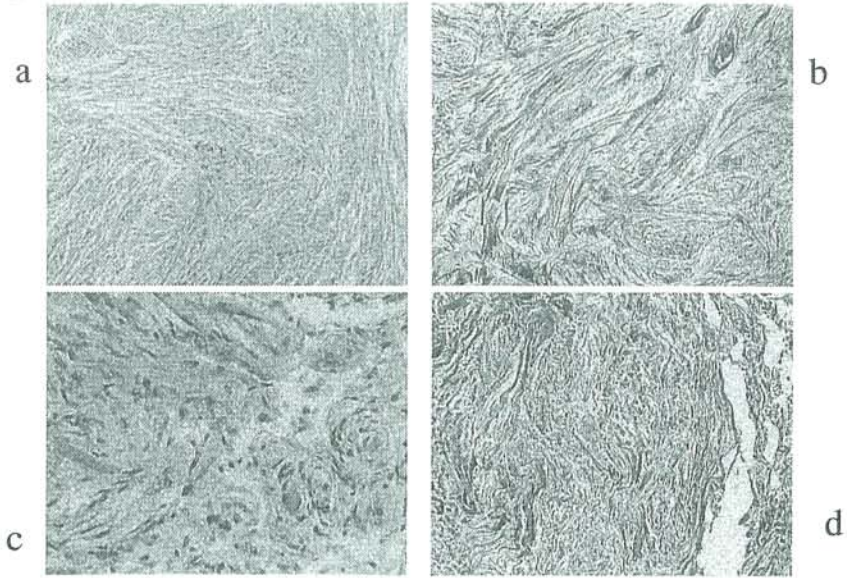


Fig.3 Case 1

large tumor MIB-1 = 0.1%



small tumor MIB-1 = 0.9%

Fig.4 Case 2

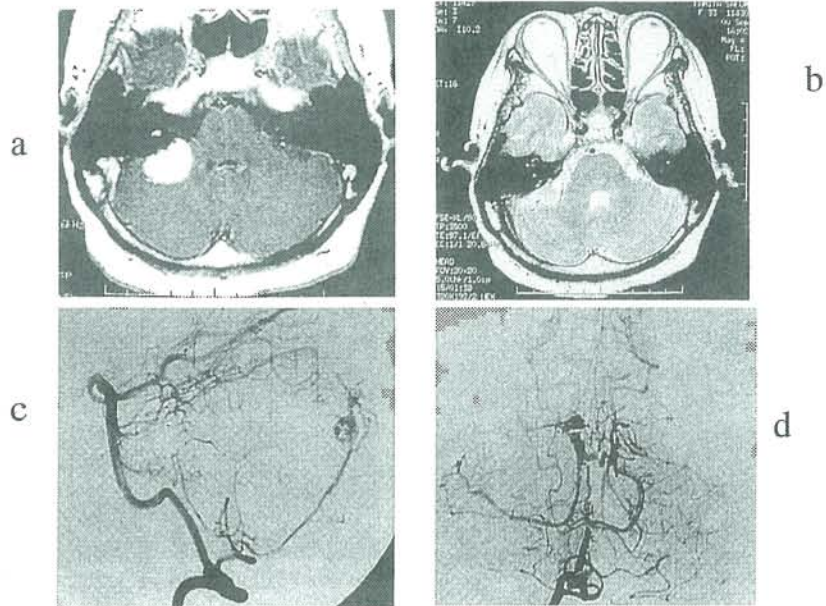


Fig.5

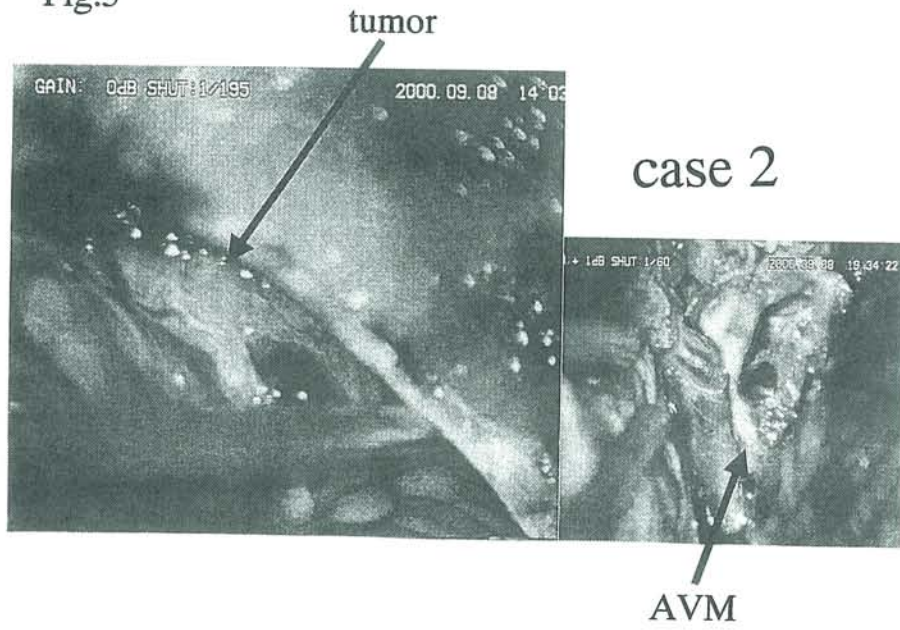
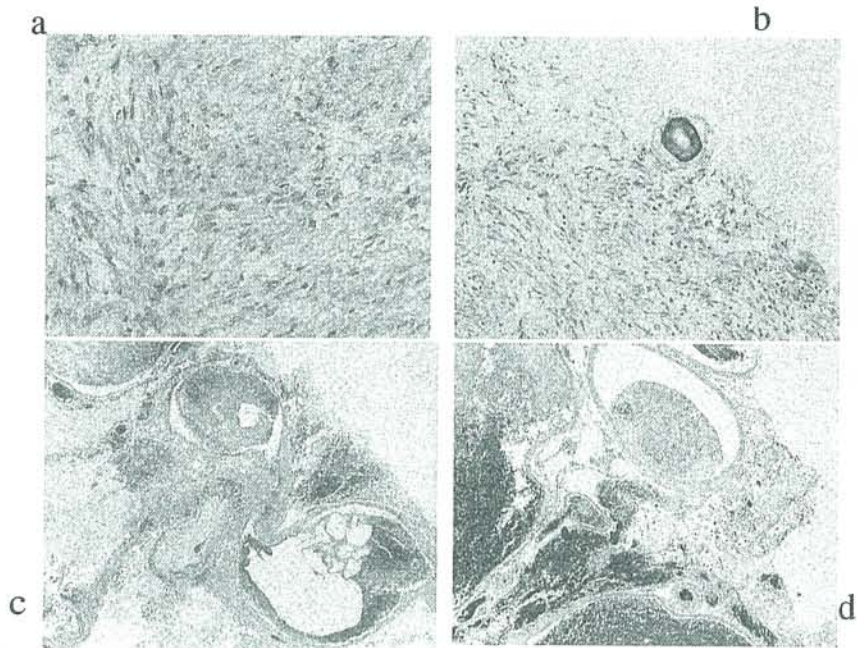


Fig.6

Case 2 MIB-1 = 0.8%



【考察】

放射線照射後に発生する腫瘍の定義として Cahan ら¹⁾は、①照射野に一致して腫瘍が発生する。②照射前にその部位に腫瘍は存在しない。③照射終了後の十分な潜伏期間を有する。④二次腫瘍が組織学的に証明されている。⑤二次腫瘍の組織像が原発腫瘍と異なる。などをあげている。

また Soffer ら²⁾によれば放射線誘発腫瘍の特徴として、1) 円蓋部周辺に多く発生する。2) 再発率が高い (18.7%)。3) 多発性 (18.7%) である。4) 悪性型 (14.2%) が見られる。5) 腫瘍発生期間は平均 36.8 年である。などをあげている。

また、放射線照射線量と潜伏期間との関係についても Harrison M.J ら³⁾によって記載がなされ得ており、それによると照射線量が多いほど潜伏期間は短くなり、線量が少ない症例ほど潜伏期間は長くなるというのである。そして発症までの期間は 10Gy 以下と 20Gy 以上ではそれぞれ 35 年と 19.5 年と発症までの期間に明らかな差が生じた。このことは放射線照射に伴い遺伝子の一部に変異がおり、その遺伝子の細胞分裂が繰り返される事によって腫瘍細胞となるという Rubinstein ら⁴⁾は述べている。また同様に、患者が比較的若い時期に放射線療法を受けている場合が多いこと⁵⁾も述べられており、照射線量や潜伏期間は重要な因子である。

今回の症例はいずれも小児期に頭部に照射を受けており、潜伏期間も 25 年以上あり、放射線誘発脳腫瘍と考えられる。しかし、発生部位は小脳橋角部と小脳円蓋部と後頭蓋窩である。1 例のみ多発性であった。組織は 2 例ともに fibrous meningioma で増殖能の指標である MIB-1 陽性率は 0.1% と 0.9%、もう一例は MIB-1=0.8% と低く、悪性所見は見られなかった。従来の悪性腫瘍が多いという過去の論文とは必ずしも一致しない結果となった。また、2 例目では同じ後頭蓋窩に AVM を合併しており、これは先天性の因子が強い病変であり、放射線照射とは結びつかないが極めてまれな症例である。

本研究の一部は (財) 車両競技公益資金記念財団の助成金の援助を受けました。

【参考文献】

- 1) Cahan WG, et al: Sarcoma arising in irradiated bone: Report of eleven cases. *Cancer* 1:3-29, 1948
- 2) Soffer D.: Intracranial meningiomas following low-dose irradiation to the head: *JNS* :59: 1048-1053. 1983
- 3) Harrison MJ, et al: Radiation-induced meningiomas: Experience at the Mount Sinai Hospital and review of the literature. *J Neurosurg* 75:564-574. 1991
- 4) Rubinstein AB, Shalit MN, Cohen ML, et al:

Radiation-induced cerebral meningioma:

a recognizable entity. *J Neurosurg* 59:1048-1953, 1983

- 5) S. Nishino: Radiation-Induced Brain Tumours:

Potential Late Complications Tumours:

Acta Neurochirurgica 140:

763 of Radiation Therapy for Brain -770. 1998

Astrocytic tumor における血管新生に関する検討

An Assessment for Angiogenesis in Astrocytic Tumors

千葉大学 脳神経外科

宮川 正、岩立康男、堺田 司、山内利宏、峯清一郎、山浦 晶

【はじめに】

腫瘍細胞にとって vascular network は必要不可欠なものであり、それにより酸素や栄養素が供給され、老廃物が除去される。そのため現在では固形腫瘍の成長は angiogenesis 依存性と考えられている。悪性腫瘍における angiogenesis は、腫瘍細胞やそれを取り巻くマクロファージを中心とした腫瘍関連細胞から分泌される種々の growth factors が、血管内皮細胞に作用して成立すると考えられている¹⁾。

Folkman が angiogenesis の重要性を報告して以来 angiogenic growth factors に関する研究は盛んに行われるようになってきた。その中でもとりわけ、Vascular endothelial growth factor (VEGF)に関する研究は多く、今日 VEGF は悪性腫瘍の angiogenesis に大きく関与していると考えられている²⁻⁴⁾。しかし、これまで行われた angiogenesis に関する研究の主体は growth factors であり、それらの receptors の面から検討した報告はわずかに散見されるのみである⁵⁾。そこでわれわれは、血管内皮細胞に発現している数種類の VEGF receptor のうち、Flt-1 と Flk-1/KDR の2種類の receptor に注目し、angiogenesis との関連を検討した。また、epidermal growth factor (EGF)は腫瘍細胞の VEGF 産生を regulate しているとの報告⁶⁾もあり、あわせて腫瘍細胞における EGF receptor 発現と angiogenesis との関連性についても検討した。

【対象および方法】

1996年から2000年の間に当院で経験し、組織学的に astrocytic tumor と診断された34例を対象とした。WHO分類によると grade I 3例、と grade II 12例、grade III 5例、grade IV 14例であった。年齢は1才〜70才(平均41.4才)で、全例開頭腫瘍摘出術あるいはCTステレオ生検術を施行した。術中に採取した腫瘍組織標本をホルマリン固定、パラフィン包埋し、MASコートスライドグラスへ切り出して免疫化学染色により検索を行った。抗原賦活として0.01M citrate buffer (pH7.2)下に121℃、20分のオートクレイブ処置を行った。検討項目は microvessel density、EGFR

staining index、VEGFの主要 receptorであるFlt-1およびFlk-1/KDRである。

Microvessel density (MVD)

CD34抗体(IMMUNOTECH, U.S.A.)を用いて腫瘍内血管内皮細胞を免疫染色した。まず弱拡大で血管の多い部分を5視野選択し、400倍の強拡大で血管をカウントし5視野の平均値をその標本の microvessel density とした。

EGFR staining index

EGFR抗体(Santa Cruz, U.S.A.)を用いて免疫染色し、腫瘍細胞のEGFR発現を検索した。Staining indexは血管数の多い部分を選択し、400倍の強拡大で1視野内の全腫瘍細胞とEGFR陽性腫瘍細胞をカウントして算出した。5視野の平均値を腫瘍細胞の staining index とした。

Flt-1 および Flk-1/KDR

Flt-1抗体およびFlk-1/KDR抗体(Santa Cruz, U.S.A.)を使用し血管内皮細胞の免疫染色を行った。1視野内の全血管に対するFlt-1陽性およびFlk-1/KDR陽性血管をカウントし、それぞれの陽性率を算出した。5視野の平均値が20%以上を positive、それ以下を negative とした。

【結果】

Microvessel density (MVD)

CD34抗体により腫瘍内の microvessel は良好な免疫染色性を示した(Fig.1)。grade別に microvessel density を見てみると、grade I と grade III、grade II と grade IIIとの間にそれぞれ統計学的有意差を認めた(Fig.2)。今回の検討では、grade IVの標準偏差が大きく他の grade との間には有意差は認められなかった。

EGFR staining index

Fig.3にEGFR抗体により免疫染色された腫瘍細胞を示す。また血管周囲の腫瘍細胞は特に良好な免疫

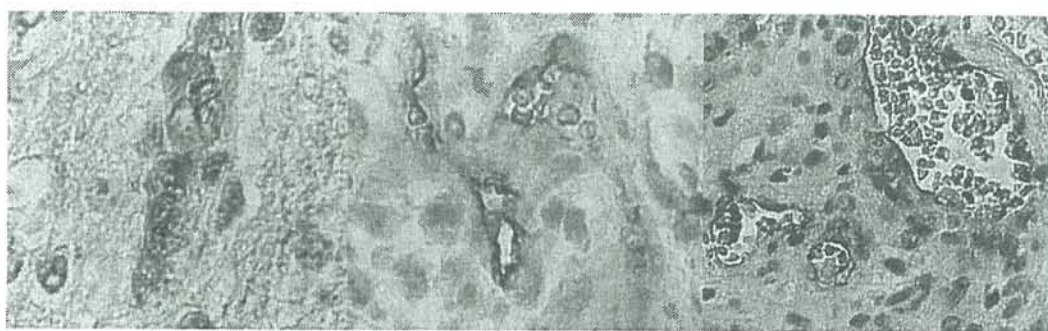


Fig. 1

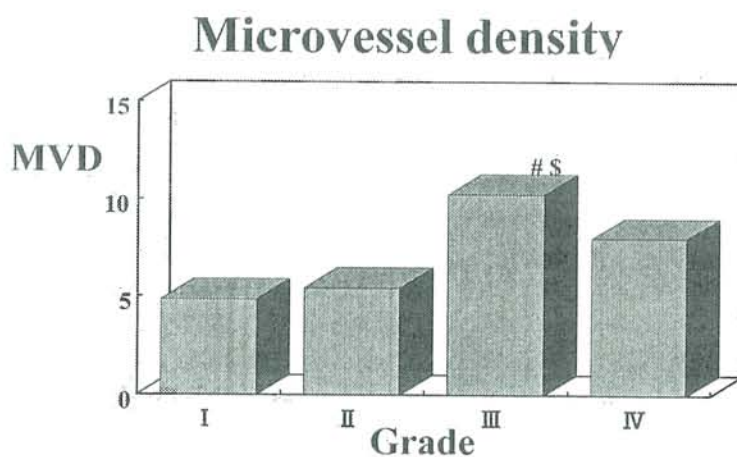


Fig. 2

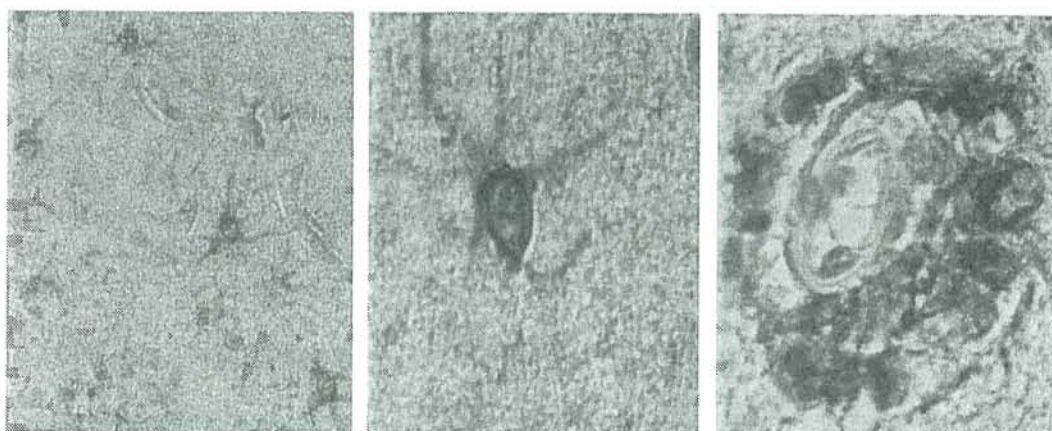


Fig. 3

染色性を示していた。

grade別にみた EGFR staining index は、grade I では明らかに低く grade III、IVとの間にそれぞれ有意差を認めた($p < 0.05$; Fig. 4)。

Fig. 5 に示すように、EGFR staining index と MVD との間には $r = 0.50$ の相関がみられた。

Flt-1 および Flk-1/KDR

腫瘍内 microvessel の Flt-1 抗体および Flk-1/KDR 抗体による免疫染色性は Fig. 6 に示されている。これら 2 種類の VEGF receptor の免疫染色性を grade 別にみると Flt-1 はそれぞれの grade では統計学的有意差は示さなかった。一方、grade IV では明らかに Flk-1/KDR 陽性の microvessel は多く、grade I、II、III との間に有意差を認めた (Fig. 7)。

EGFR staining index

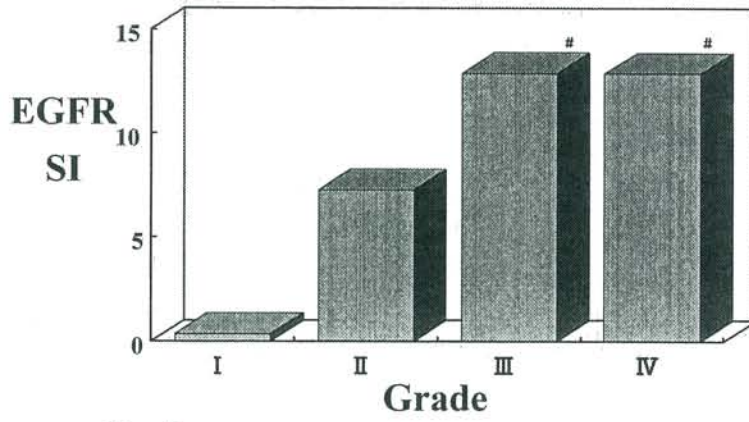


Fig. 4

Correlation between EGFR and MVD

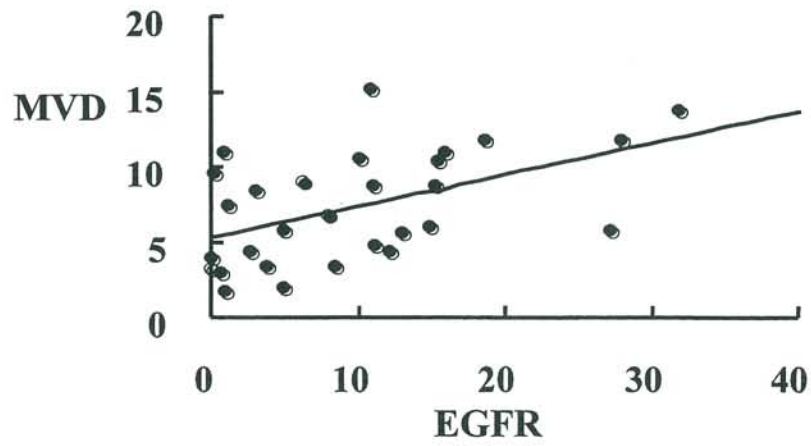


Fig. 5



Fig. 6

Immunoreactivity Flt-1 and Flk-1/KDR

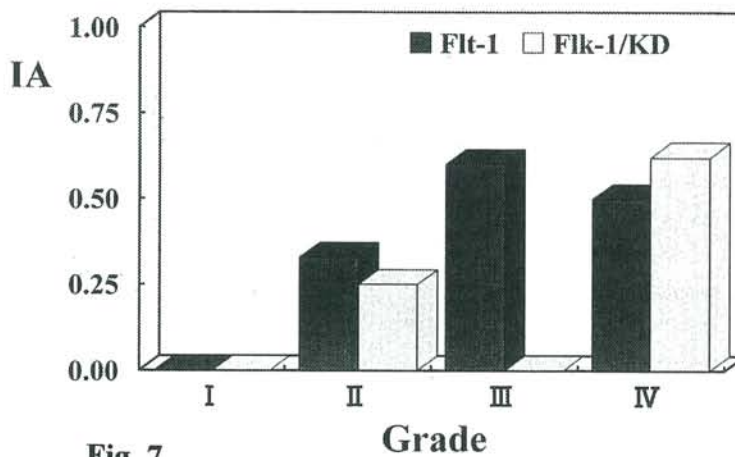


Fig. 7

【考察】

既存の微小血管から新たに血管が新生する血管新生という現象は、paracrine mechanismにより制御されていると考えられる¹⁾。腫瘍により誘導される angiogenesis の場合、腫瘍が産生する angiogenic growth factor が血管内皮細胞に発現している receptor に結合することにより、血管内皮細胞内での signal 伝達を開始し、その結果血管内皮細胞の細胞分裂、増殖につながる。VEGF は、これまで報告されているいくつかの angiogenic growth factors の中でも中心的な役割を演じているとされる^{4,5,7)}。

Angiogenesis を評価する方法のひとつとして microvessel density (MVD)が提唱され、多くの悪性腫瘍で prognosis あるいは survival とよく相関することが報告されている。今回のわれわれの検討でも、grade I と II をあわせた low grade glioma は grade III の high grade glioma との間に有意差を認め、悪性度が増すに従って angiogenesis が盛んに行われていることが示唆された。ただ今回の検討では、grade IV の MVD は他の grade との間には有意差を示さず、標準偏差が大きいためと考えられた。

免疫染色を用いて検索した腫瘍細胞の EGFR 発現率は、grade I で明らかに低く high grade glioma との間に有意差を認めた。Goldman ら³⁾によると、EGF は glioma 細胞の VEGF 産生を誘導するとされる。またある種の glioblastoma 細胞は EGFR を過剰発現し、EGF は VEGF 産生や in vivo における angiogenesis の重要な regulator であるとしている。この仮説はわれわれの結果からも説明される。つまり、Fig.5 に示すように EGFR staining index と MVD との間には有意な相関を認め、また、血管周囲の腫瘍細胞は EGFR に対して良好な免疫染色性認められた。

VEGF の receptor はこれまで数種類報告されているが、その中でも Flt-1 および Flk-1/KDR は angiogenesis

に関連する重要な receptor とされている。Plate らは、Flt-1 mRNA は腫瘍血管内皮細胞で up-regulate していると報告している⁷⁾。

今回われわれが行った免疫染色での検討では、Flk-1/KDR は grade IV の腫瘍内血管内皮細胞に強く発現し、他の grade との間に有意な差を認めた。一方、Flt-1 は grade 間での差は認められなかった。元来、Flt-1 および Flk-1/KDR は成人正常脳の血管内皮細胞には発現してはならず、この2種の receptor の共同した発現は glioma angiogenesis にとって critical と考えられる。また、2種の receptor の発現には、grade 間で差があることから次の仮説が提唱される。つまり、腫瘍の発生初期の段階では、血管内皮細胞には Flt-1 が有意に発現していて VEGF の刺激によって angiogenesis が起こってくる。腫瘍が成長するに従い血管内皮細胞に Flk-1/KDR が発現し、VEGF に対してより affinity が高い Flk-1/KDR が VEGF と結合することにより angiogenesis をさらに進行する。このため、悪性度の高い astrocytic tumor ほど血管に富んだ腫瘍になると考えられた。

【文献】

- 1) Folkman, J. and Klagsbrun, M., Angiogenic factors. *Science*, 235, 442-447 (1987)
- 2) Breier, G., Albrecht, U., Sterrer, S., and Risau, W., Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial-cell differentiation. *Development*, 114, 521-532 (1992)
- 3) Keck, P. J., Hauser, S., Krivi, G., Sanzo, K., Warren, T., Feder, J. and Conolly, D. T., Vascular permeability factor, an endothelial-cell mitogen related to PDGF. *Science*, 246, 1309-1312 (1989)
- 4) Millauer, B., Witzmann-Voos, S., Schnürch, H., Martinez, R., Moller, N. P. H., Risau, W. and Ullrich,

- A., High-affinity VEGF binding and developmental expression suggests flk-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis.
Cell, 72, 835-846 (1993)
- 5) Plate, K. H., Breirer, G., Weich, H. A. and Risau, W., Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature (Lond.)*, 359, 845-848 (1992)
- 6) Goldman, C. K., Kim, K., Wong, W. L., King, V., Brock, T. and Gillespie, G. Y., Epidermal growth factor stimulates vascular endothelial-growth-factor production by human malignant glioma cells : a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol. Biol. Cell.*, 4, 121-133 (1993)
- 7) Plate, K. H., Breier, G., Millauer, B., Ullrich, A. and Risau, W., Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its cognate receptors in a rat-glioma model of tumor angiogenesis. *Cancer Res.*, 53, 5822-5827 (1993)

第 20 回 ニューロ・オンコロジーの会

第20回世話人 東京女子医科大学 脳神経外科
堀 智勝 (事務: 久保 長生)
TEL 03-3353-8111 (内26224)
FAX 03-5269-7398

治療に難渋している脳腫瘍症例の検討
テーマ演題 脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状
その他「脳腫瘍全般に関する一般演題」

1. 日時: 平成12年12月9日 (土) 14:00~19:05

2. 場所: 日本化薬(株) 東京支社会議室

住所 東京都豊島区高田2-17-22 目白中野ビル5階
TEL 03-5955-1800 (代表)

3. プログラム (発表 6分 討論 4分)

I 治療に難渋している脳腫瘍症例の検討 (14:00~15:10) 座長 日本医科大学 高橋 弘

1) 治療に難渋している脳幹部膠芽腫の一小児例

東京女子医科大学 脳神経外科 丸山隆志、村垣善浩、町田隆一、久保長生
堀 智勝

2) 播種をきたし、治療に難渋したmixed pineocytoma-pineoblastomaの1例

筑波大学附属病院 脳神経外科 浅川弘之、松村 明、片山 亘、高野晋吾
坪井康次、能勢忠男

3) 診断・治療に難渋したpineocytomaの一例

慶應義塾大学 脳神経外科 林 拓郎、吉田一成、河瀬 斌

4) 再増大を呈したlow grade astrocytomaの治療

東邦大学大森病院 脳外科 清木義勝、福井康二、串田 剛、柴田家門

5) 進行性片麻痺を生じ、病理組織診断に苦渋している全身性B細胞リンパ腫の一例

千葉県がんセンター 脳神経外科 大里克信、大賀 優、井内俊彦
臨床病理 武内利直

6) 脊髄腫瘍を伴ったNeurofibromatosis type 2への対応 4自験例の報告から

東京医科大学 脳神経外科 秋元治朗、山田裕二、原岡 襄

7) 診断が困難であった多発性脳腫瘍の1例

弘前大学 脳神経外科 田中雅彦、浅野研一郎、大熊洋揮、鈴木重晴
東京女子医科大学 脳神経外科 久保長生

II 教育講演 (15:10~15:55)

座長 東京女子医科大学 堀 智勝

「高活性キラーリンパ球の誘導培養法と脳腫瘍の細胞療法を試み」

理化学研究所・細胞開発銀行

大野 忠夫 先生

Ⅲ 脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状 (15:55~16:55) 座長 東京女子医科大学 村垣 善浩

- 1) 悪性グリオーマに対するインターフェロン β の有効性について
横浜市立大学 脳神経外科 菅野 洋、林 明宗、鈴木範行、山本勇夫
- 2) 悪性脳腫瘍に対する養子免疫療法の経験
神奈川県立がんセンター 脳神経外科 西村 敏、久間祥多
横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター 脳神経外科 林 明宗
- 3) 悪性脳腫瘍に対する活性化リンパ球療法
国立がんセンター中央病院 脳神経外科 渋井壮一郎、石井一彦、野村和弘
- 4) 新しい抗癌剤耐性遺伝子MxR1/BCRP/ABCP1の発見
香川医科大学 脳神経外科 三宅啓介、岡田真樹、松本義人、國塩勝三、長尾省吾
National Cancer Institute FOJO TITO、
National Institutes of Health BATES SUSAN
- 5) 遺伝子診断に基づいたglioblastomaの治療
北里研究所メディカルセンター病院 脳神経外科 田中 聡、小林郁夫
北里大学 脳神経外科 岡 秀宏、安井美江、鈴木祥生
宇津木 聡、藤井清孝
- 6) 悪性脳腫瘍の薬剤耐性遺伝子解析に基づいた抗癌剤治療
香川医科大学 脳神経外科 松本義人、三宅啓介、川西正彦、河井信行
小川智也、入江恵子、國塩勝三、長尾省吾

【休憩】 (15分)

Ⅳ 教育講演 (17:10~17:55) 座長 東京女子医科大学 久保 長生

「脳腫瘍の遺伝子治療の現況」

Assistant Professor of Neurosurgery
Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School 藤堂 具紀 先生

V その他「脳腫瘍全般に関する一般演題」 (17:55~19:05) 座長 筑波大学 坪井 康次

- 1) HIF-1デコイを用いた腫瘍細胞のVEGF発現制御に関する基礎的研究
神戸大学 脳神経外科 佐々木真人、高本 剛、江原一雅、玉木紀彦
- 2) Diencephalic syndromeを呈した視床下部gliomaの一例
旭川医科大学 脳神経外科 程塚 明、広島 覚、和田 始、中井啓文、田中達也
- 3) 膠芽腫後療法中に染色体異常を来した高齢者の一例
昭和大学 脳神経外科 小林信介、阿部琢巳、泉山 仁、嶋津基彦、小澤宏史
川村典義、池田尚人、松本 清
- 4) 神経膠腫における薬剤耐性遺伝子発現 (MDR-1, MRP) とMIB1-SPECT所見の関連性について
香川医科大学 脳神経外科 國塩勝三、三宅啓介、松本義人、長尾省吾
- 5) 側頭葉に発生したCystic germinomaの一例
北里大学 脳神経外科 今野慎吾、宇津木 聡、岡 秀宏、近藤宏治、田中 聡、藤井清孝
- 6) 放射線誘発髄膜腫と考えられる2症例
東京女子医科大学 脳神経外科 井上龍也、村垣善浩、丸山隆志、山根文孝
岡田芳和、久保長生、堀 智勝
- 7) Astrocytic tumorにおける血管新生に関する検討
千葉大学 脳神経外科 宮川 正、岩立康男、堺田 司、山内利宏、峯清一郎、山浦 晶

- 1) 会費として、受付で1,000円頂きます。
- 2) ご参加の先生方は、日本脳神経外科専門医クレジット (3点) が取得できます。

ニューロ・オンコロジーの会(第1回～第21回)

第1回	開催日	H3.4.13(土)
	世話人	東京大学医学部脳外科・松谷雅生
	テーマ演題	再発髄芽腫の治療
	講演	再発髄芽腫の治療(熊本大脳神経外科・生塩之敬)
	特別講演	最近の癌遺伝子と癌抑制遺伝子研究の展開(国立がんセンター研究所・口野嘉幸)
第2回	開催日	H3.12.14(土)
	世話人	東京女子医大学脳神経センター脳神経外科・久保長生
	テーマ演題	再発神経膠腫の診断と治療
	教育講演	再発神経膠腫の診断-脳放射線壊死との鑑別に於いて-(筑波大脳神経外科・吉井与志彦)
	特別講演	癌化学療法法の進歩-基礎から臨床(国立がんセンター・西條長宏)
第3回	開催日	H4.4.11(土)
	世話人	順天堂大脳神経外科・佐藤潔
	テーマ演題	悪性脳腫瘍に対する免疫・生物療法の実状および展望
	教育講演	悪性グリオーマに対する β -Interferon療法(獨協医大脳神経外科・永井政勝)
	特別講演	癌免疫療法法の基礎と臨床-今後の展開(東北大学薬学部衛生化学・橋本嘉幸)
第4回	開催日	H4.12.12(土)
	世話人	日本大脳神経外科・宮上光祐
	テーマ演題	再発髄膜腫の診断と治療
	教育講演	脳腫瘍に対するLineacを用いたstereotaxic radiosurgery(国立がんセンター放射線治療部・秋根康之)
	特別講演	悪性髄膜腫瘍(九州大脳神経外科・福井仁士)
第5回	開催日	H5.4.10(土)
	世話人	国立がんセンター脳神経外科・野村和弘
	テーマ演題	転移性脳腫瘍の診断と治療
	特別講演	人がんの発生と進展にかかわる癌抑制遺伝子(国立がんセンター生物学部長・横田 純)
第6回	開催日	H5.12.11(土)
	世話人	群馬大学脳神経外科・田村 勝
	テーマ演題	CNS Lymphomaの診断と治療
	教育講演	松果体実質腫瘍の病理(群馬大第一病理・中里洋一)
	教育講演	悪性リンパ腫の化学療法(東京女子医大血液内科・押味和夫)
第7回	開催日	H6.4.9(土)
	世話人	帝京大学医学部附属市原病院脳神経外科・長島 正
	テーマ演題	悪性グリオーマの治療
	教育講演	癌遺伝子治療の現状と今後の展望-悪性グリオーマ治療を中心に-(国立がんセンター研究所生物物理部・口野嘉幸)
	教育講演	悪性グリオーマに対する放射線治療の実際(日本大学医学部放射線科・田中良明)
第8回	開催日	H6.12.10(土)
	世話人	日本医科大学脳神経外科・高橋 弘
	テーマ演題	悪性脳腫瘍におけるBRMを含めた維持療法
	教育講演	フローサイトメトリーを用いた脳腫瘍のcell kineticsと免疫(関西医科大学脳神経外科・河本圭司)
第9回	開催日	H7.4.15(土)
	世話人	順天堂大学脳神経外科・新田泰三
	テーマ演題	悪性グリオーマの手術に関する問題点
	教育講演	肝臓外科手術の進歩(東京大学第2外科・幕内雅敏)
	特別講演	マッピング下の functional area の手術(鳥取大学医学部免疫学・堀 智勝)
第10回	開催日	H7.12.9(土)
	世話人	筑波大学脳神経外科・吉井與志彦
	テーマ演題	悪性グリオーマの治療評価診断と治療法の選択
	一般演題	悪性グリオーマ全般について
	教育講演	TI-201SPECTIによる腫瘍診断-脳腫瘍への応用を含めて-(金沢大学医学部核医学科・利波紀久)
教育講演	DNA修復と神経系(放射線医学総合研究所・佐藤弘毅)	

第11回	開催日	H8.4.6(土)
	世話人	神奈川県立がんセンター脳神経外科・久間祥多
	テーマ演題	悪性グリオーマに対する化学療法 -各施設のプロトコールについて-
	一般演題	悪性グリオーマに対するその他の非手術的治療
	教育講演	統計的検定の結果をどう解釈するか(愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・橘 敏明)
	教育講演	感受性試験を基にした脳腫瘍の化学療法(金沢大学がん研究所化学療法部・田中基裕)
第12回	開催日	H8.12.7(土)
	世話人	昭和大学脳神経外科・松本 清
	テーマ演題	高齢者(70歳以上)の髄膜腫に対する治療
	一般演題	高齢者の脳腫瘍治療における現況
	教育講演	良性脊髄腫瘍の治療の問題点について・・・特に頭蓋内髄膜腫・神経鞘腫との比較について・・・ (東京都立神経病院脳神経外科・高橋 宏)
	教育講演	脳腫瘍におけるアポトーシスの意義(佐賀医科大学脳神経外科・田淵和雄)
第13回	開催日	H9.4.12(土)
	世話人	慶應義塾大学脳神経外科・大谷光弘
	テーマ演題	Low grade gliomaに対するadjuvant therapyの適応とtimingについて
	一般演題	Low grade gliomaの興味ある症例
特別講演	T細胞に認識されるヒトメラノーマ抗原の単離同定と免疫遺伝子治療への臨床応用 (Surgery Branch, National Cancer Institute, NIH・河上 裕)	
第14回	開催日	H9.12.13(土)
	世話人	東京医科大学脳神経外科・秋元治朗
	テーマ演題	神経細胞系腫瘍の臨床
	テーマ演題	再発悪性グリオーマに対する治療選択
	特別講演	癌化学療法分子標的耐性とアポトーシス (東京大学分子細胞生物学研究所・鶴尾 隆)
第15回	開催日	H10.4.11(土)
	世話人	東邦大学脳神経外科・柴田家門
	テーマ演題	脳室内腫瘍の治療選択
	特別講演	変異型ウイルスを応用した脳腫瘍の遺伝子治療 (慶應義塾大学生理学教室・矢崎貴仁)
第16回	開催日	H10.12.12(土)
	世話人	自治医科大学脳神経外科・篠田宗次 増沢紀男
	テーマ演題	グリオーマ治療耐性とその対策
	特別講演	アデノ随伴ウイルス(AAV)を利用した遺伝子導入法とその遺伝子治療への応用 (自治医科大学 血液学講座・遺伝子治療研究部・小澤敬也)
第17回	開催日	H11.4.10(土)
	世話人	東京大学脳神経外科・藤巻高光
	テーマ演題	転移性脳腫瘍とどう闘うか
	特別講演	悪性脳腫瘍髄腔内播種に対する髄腔内化学療法 (熊本大学脳神経外科・河内正人)
第18回	開催日	H11.12.11(土)
	世話人	横浜市立大学医学部附属浦舟病院脳神経外科・林 明宗
	テーマ演題	その他の稀な腫瘍(1) 脊髄(髄内)腫瘍 (2) 母斑症(Phacomatosis)に合併する脳腫瘍
	特別講演	QOLを重視したグリオーマの治療
第19回	特別講演	本邦における von Hippel-Lindau 病の実態と遺伝子異常: 遺伝子異常と腫瘍発生のメカニズム (高知医科大学泌尿器科・執印太郎)
	特別講演	悪性リンパ腫の治療 - 自施設の経験を中心に - (神奈川県立がんセンター第四内科・児玉文雄)
	開催日	H12.4.8(土)
	世話人	千葉県がんセンター脳神経外科・大里克信
	テーマ演題	小児悪性脳腫瘍の診断と治療: 症例報告も含む
	特別講演	その他、最近経験した興味ある症例について
特別講演	神経芽細胞腫における発がんと進展の分子機構 (千葉県がんセンター生化学研究部・中川原 章)	

第20回	開催日	H12.12.9(土)
	世話人	東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科・堀 智勝
	テーマ演題	治療に難渋している脳腫瘍症例の検討
	テーマ演題	脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状
	テーマ演題	その他、「脳腫瘍全般に関する一般演題」
	教育講演	脳腫瘍の遺伝子治療の現況 (ハーバード大学マサチューセッツ総合病院脳神経外科・藤堂具紀)
	教育講演	高活性キラーリンパ球の誘導培養法と脳腫瘍の細胞療法の試み (理化学研究所細胞開発銀行・大野忠夫)

次回開催予定

第21回	開催日	H13.4.14(土)
	世話人	北里大学 脳神経外科・岡 秀宏
	テーマ演題	脳腫瘍診断および治療における血管内手術の貢献
	テーマ演題	悪性脳腫瘍に対する治療の現状と将来への展望
	テーマ演題	症例検討(診断および治療に難渋した症例)
教育講演	「悪性グリオーマ特異的レトロウイルスベクターの開発と遺伝子治療 (高知医科大学脳神経外科・清水恵司)	

ニューロ・オンコロジーの会 会則 (Neuro-Oncology Conference)

第一章 総 則

- 第1条 本会は、ニューロ・オンコロジーの会 (Neuro-Oncology Conference) と称する。
第2条 本会は、事務局を東京女子医科大学脳神経センター脳神経外科内に設置する。

第二章 目的および事業

- 第3条 本会は、脳腫瘍における日常臨床上の問題点を討議し、脳腫瘍症例の診断と治療の向上とわが国における neuro-oncology の発展を目的とする。
第4条 本会は、前条の目的を達成するため以下の事業を行う。
(1) 研究会の開催
(2) 研究会発表記録等の出版、発行
(3) 関連学術団体との連絡および協力
(4) その他、本会の目的を達成するために必要とされる事業

第三章 会員および世話人

- 第5条 本会は、会員及び賛助会員によって構成される。
(1) 会員は、本会の対象領域に関心を持つ医師および医療従事者とする。
(2) 賛助会員は本会の目的に賛同する個人又は団体とする。
第6条 会員の中から世話人を置き、本会の運営を行う。世話人会が研究会会長を選出する。
第7条 世話人の中から庶務幹事と会計幹事を置く。

第四章 世話人会

- 第8条 世話人会は世話人の2/3以上の出席(含委任状)により成立し、随時開催される。
第9条 議決は委任状を含む世話人半数以上の同意をもって決する。

第五章 研究会の開催

- 第10条 研究会は年2回の開催とする。
第11条 研究会は会長が主催する。
第12条 研究会は各回毎”テーマ”を決め、以下の内容にて行う。
(1) 症例検討
(2) 基礎及び臨床研究
(3) 教育講演または特別講演
第13条 研究会を開催するにあたり参加費を徴収する。

第六章 会 計

- 第14条 研究会等の運営は参加費及びその他の収入をもって、これにあてる。
第15条 研究会等の収支決算は会計幹事が作成し、世話人会に報告し、承認を得る。

第七章 細 則

- 第16条 本会は日本脳神経外科学会専門医クレジット対象学会で3点が認められている。
第17条 本会則を変更する場合には、世話人会の承認を要する。
第18条 本会則は、平成12年12月9日に改訂され、同日実施される。

ニューロ・オンコロジーの会事務局 (庶務幹事 久保長生)

〒162 東京都新宿区河田町8-1

東京女子医科大学 脳神経センター 脳神経外科内

TEL 03-3353-8111 (代)

FAX 03-5269-7398

ニューロ・オンコロジーの会 世話人一覧

平成12年12月9日

世話人	施設
秋元 治朗	東京医科大学附属病院
浅井 昭雄	東京大学医学部附属病院
大里 克信	千葉県がんセンター
久間 祥多	神奈川県立がんセンター
栗原 秀行	群馬大学医学部附属病院
篠田 宗次	自治医科大学附属病院
柴田 家門	東邦大学医学部附属大森病院
渋谷 壮一郎	国立がんセンター中央病院
高橋 弘	日本医科大学附属第二病院
坪井 康次	筑波大学医学部附属病院
長島 正	帝京大学医学部附属市原病院
西川 亮	埼玉医科大学附属病院
林 明宗	横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター
菱井 誠人	順天堂大学附属順天堂医院
藤巻 高光	帝京大学医学部附属病院
松本 清	昭和大学医学部附属病院
宮上 光祐	駿河台日本大学病院
吉田 一成	慶應義塾大学医学部附属病院
久保 長生	東京女子医科大学病院
村垣 善浩	東京女子医科大学病院

編集後記

第20回ニューロ・オンコロジーの会は東京女子医科大学 脳神経外科 主任教授 堀智勝先生のお世話で有意義な会となりました。多数の皆様のご参加感謝いたします。

今回は10年目で20回と節目の会でした。主題は脳腫瘍に対するバイオセラピーの現状などですが、免疫療法は古くて新しい治療方法でさらに分子生物学的研究が進歩しつつある現状では更なる進歩が期待されます。遺伝子治療はすべての人が本治療法の進展を待ち望んでいます。しかし、現時点ではわが国ではこれらに応用する方法もなく、われわれが現在もてる手技で最善の治療をするべきだとも思います。本会はニューロ・オンコロジーの会と命名し、わが国でのニューロ・オンコロジーの進歩とその名称を含めた診療領域の発展を望んで設立しました。現在は脳腫瘍分野の臨床医は脳神経外科の一般医が担当していますが、近い将来では神経腫瘍科(Division of Neuro-Oncology)という新しい分野が脳神経外科サブスペシャリイーとなることを望んでおります。第20回にあたり、従来の本会の規約の改正を行い、多数の先生方に新しく世話人に加わっていただき、新たな気持ちで本会を発展させていきたいと思っております。皆様の更なるご協力をお願い申し上げます。

第21回は北里大学 医学部 脳神経外科 岡秀宏、藤井清孝先生のお世話で21回 21世紀最初のすばらしい会がもたれると思っております、多数の先生方のご出席をお待ちしております。

Neuro-Oncology Vol 10 No2.2000

2000年12月 発行

編集・発行 / ニューロ・オンコロジーの会
(編集: 久保長生)

事務局 〒162-8666

東京都新宿区河田町 8-1

東京女子医科大学 脳神経外科

Tel:03-3353-8111, Fax:03-5269-7398

E-mail: okubo@nij.twmu.ac.jp (Kubo Osami, M.D., Ph.D)