

精巣腫瘍における Topo I 阻害剤のプラチナ化合物の効果増強について

大阪大学医学部泌尿器科学教室 (主任 : 奥山明彦教授)

三 木 恒 治

大阪府立成人病センター泌尿器科 (部長 : 古武敏彦)

古 武 敏 彦

ADVANTAGES IN COMBINATION CHEMOTHERAPY USING THE CAMPTOTHECIN ANALOGUE CPT-11 AND CISPLATINUM ANALOGUES FOR HUMAN TESTICULAR CANCER XENOGRAFTS

Tsuneharu Miki

From the Department of Urology, Osaka University Medical School

Toshihiko Kotake

From the Department of Urology, the Center for Adult Diseases, Osaka

The antitumor effects of combination chemotherapies using CDDP and the camptothecin analogue CPT-11 were compared with those of vinca alkaloids or podophyllotoxins, and those of CPT-11 and cisplatin analogues were also estimated. Two human testicular cancer xenografts (TTSC-2 and TTSC-3) heterotransplanted in nude mice were used. Combination therapy with CPT-11 and CDDP resulted in significant tumor regression and was much more effective than that of CDDP and vinca alkaloids or podophyllotoxin. The combination of CPT-11 and either CDDP or 254-S was significantly more effective than that of CPT-11 and either carboplatin or DWA2114R. Four evaluable refractory testicular cancers were treated with combination chemotherapy with CPT-11 and CDDP or 254-S as third line chemotherapy. Two patients remain alive and disease free and two patients died of disease. We concluded that the present combination is active in refractory testicular cancer.

(Acta Urol. Jpn. 39: 1221-1225, 1993)

Key words: Testicular cancer, Combination chemotherapy, CPT-11, Cisplatin analogues

緒 言

Biochemical modulation という概念は、抗癌剤 (effector) を投与するにあたって、ある薬剤 (modulator) の投与によってその effector の薬理動態を変化させて、抗腫瘍効果を増強させたり、正常細胞に対する障害、副作用を軽減することなどにより、癌化学療法の効果を増強させようとするものである¹⁾。特に methotrexate と 5-fluorouracil 交代療法の成功により脚光を浴びるようになり^{2,3)}、本邦においても胃癌⁴⁾、大腸癌⁵⁾を中心に臨床的検討がなされてきた。しかしながら泌尿器科領域においては、biochemical

modulation を積極的に用いた化学療法は、いまだ広く試みられていないのが現状である。

一方われわれは、植物アルカロイドの一種で、カンプトテシン (camptothecin) の新しい半合成誘導体で、DNA トポイソメラーゼ I の阻害剤として、既存の抗癌剤と交差耐性がなく、強い抗腫瘍効果を示す有望な抗癌剤である CPT-11 の抗腫瘍効果について、ヌードマウス可移植性ヒト精巣腫瘍株を用いて検討してきた。今回 CPT-11 のシスプラチン (CDDP) などプラチナ化合物の biochemical modulation としての効果増強について検討したので報告する。

Table 1. Characteristics of human testicular cancers heterotransplanted in nude mice

| Tumor lines | Histology of original tumor | Histology of xenograft | Serial transplantation | Tumor marker |
|-------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|--------------|
| TTSC-2 | Tca | Tca → E | F72 | AFP, HCG |
| TTSC-3 | Tca | Tca → E | F71 | AFP, HCG |

Tca: Teratocarcinoma, E: Embryonal carcinoma

Table 2. Evaluation of antitumor effects

| |
|--|
| Tumor weight (w) = (width) ² × (length) × 1/2 |
| Relative mean tumor weight (RW) = Wi/Wo |
| Wi: mean tumor weight at any given time |
| Wo: mean tumor weight at initiation of treatment |
| Tumor regression rate |
| T/C: mean RW for treated mice/mean RW for control mice × 100 (%) |
| (T/C < 42% is evaluated as effective) |

実験材料および方法

1) 実験動物

BALB/c, nu/nu, 雄ヌードマウス 5～6週齢 (日本クレア) を用い, Laminar Flow Isolack 内で SPF 下にて飼育した。

2) 実験腫瘍

大阪府立成人病センター泌尿器科にて確立, 継代維持中のヌードマウス可移植ヒト精巣腫瘍株, TTSC-2 および 3 (胎児性癌) の 2 株を用いた。TTSC-2, 3 の詳細についてはすでに報告済みであるが⁶⁾, これらの継代移植率はほぼ 100% で, その腫瘍の性質の概略を Table 1 に示す。

3) 実験方法

2～3 mm 角に細切した腫瘍片を 14G のトラカール針にて, ヌードマウス背部皮下に移植し, 推定腫瘍重量が約 500 mg に達した時点で無作為に群分けし, 1 群 5 匹として薬剤を投与した。

4) 抗癌剤の投与方法

抗癌剤を生理的食塩水で 0.2 ml になるように至適濃度に溶解し, マウス腹腔内に原則として 4 日ごとに 3 回投与した。対照群は生理食塩水 0.2 ml のみを投与した (Battelle Columbus Laboratory の Protocol に順じた)。CPT-11 を除いては, 各担癌マウスに対する各種抗癌剤の至適投与量に関してはすでに報告済みであるが⁷⁾, LD10 をめやすとして, 臨床的投与量を考慮し, 至適投与量とした。CPT-11, 254-S, DWA2114R はそれぞれ第一製薬, 塩野義製薬, 中外製薬の各製薬会社より供給を受けた。

5) 効果判定方法

腫瘍径をノギスで測定し, 長径 × (短径)² × 1/2 を推定腫瘍重量とした。治療開始時の腫瘍重量のバラツキを是正するために平均腫瘍重量 (relative mean tumor weight, 抗癌剤投与開始時と投与後腫瘍計測時の大きさの比) を求め, 相対的平均腫瘍重量比 (T/C) を算定し, 42% 以下を有効と判定した (Table 2)。これにより抗腫瘍効果を検討した。原則的には治療開始後 14 日目を効果判定日とした。さらに実験終了時には, 腫瘍の HE 染色によって, 組織学的検索を行った。なお, 抗腫瘍効果の統計学的検討には Student-t 検定を用い, P-value は対照群に対する, 判定時における実験群の推定腫瘍重量の比較によるものである。

結 果

Table 3 に TTSC-2 および 3 に対する, CPT-11,

Table 3. Antitumor effect of CPT-11 on human testicular cancer heterotransplanted in nude mice

| Tumor lines | Drugs | Dose mg/kg | T/C (%) | P-value | Survival rate (%) | Complete cure |
|-------------|--------|------------|---------|---------|-------------------|---------------|
| TTSC-2 | CPT-11 | 50 | 20 | NS | 100 | 0 |
| | CDDP | 5 | 4 | <0.05 | 100 | 2/5 |
| | VP-16 | 20 | 33 | NS | 100 | 0 |
| | VBL | 2 | 39 | NS | 100 | 0 |
| TTSC-3 | CPT-11 | 50 | 2 | <0.05 | 100 | 1/5 |
| | CDDP | 5 | 11 | <0.05 | 100 | 0 |
| | VP-16 | 20 | 75 | NS | 100 | 0 |
| | VBL | 2 | 43 | NS | 100 | 0 |

Table 4. Antitumor effect of combination chemotherapy with CPT-11 on human testicular cancer heterotransplanted in nude mice

| Tumor lines | Drugs | Dose mg/kg | T/C (%) | P-value | Survival rate (%) | Complete cure |
|-------------|-------------|------------|---------|---------|-------------------|---------------|
| TTSC-2 | CPT-11 | 30 | 59 | NS | 100 | 0 |
| | CDDP | 1.25 | 32 | NS | 100 | 0 |
| | CPT+CDDP | 30+1.25 | 2 | <0.01 | 100 | 4/5 |
| TTSC-2 | CDDP*+CPT | 20 | 0.5 | <0.01 | 100 | 4/5 |
| | CDDP*+VP-16 | 20 | 6 | <0.05 | 100 | 3/5 |
| | CDDP*+VBL | 1 | 15 | <0.05 | 80 | 0 |
| | CDDP*+VCR | 0.1 | 28 | NS | 100 | 0 |

CDDP*: 1.25 mg/m²

Table 5. Antitumor effect of combination chemotherapy with CPT-11 and platina analogues on TTSC-3

| Tumor lines | Drugs | Dose mg/kg | T/C (%) | P-value | Survival rate (%) | Complete cure |
|-------------|------------|------------|---------|---------|-------------------|---------------|
| TTSC-3 | CPT | 30 | 58 | | 100 | 0 |
| | CPT*+CDDP | 1.25 | 1 | <0.01 | 100 | 3/4 |
| | CPT*+254-S | 1.25 | 2 | <0.01 | 100 | 2/3 |
| | CPT*+CBDCA | 5 | 11 | <0.05 | 100 | 0 |
| | CPT*+DWA | 10 | 17 | <0.05 | 100 | 0 |

CPT*: 30 mg/kg

CDDP, 254-S ↔ CBDCA: P<0.05

CDDP, 254-S ↔ DWA: P<0.01

CDDP, エトポシド (VP-16), ビンブラスチン (VBL) の各種抗腫瘍剤の抗腫瘍効果の結果を示す。抗腫瘍効果は TTSC-2 では、T/C が20%で、CDDP の4%に比べやや弱い、VP-16 や VBL よりは有意に強かった (Table 3)。一方 TTSC-3 では、T/C が2%, complete cure も5匹中1匹で見られ、CDDP より強い抗腫瘍効果を示した。以上の結果より、今回検討した精巣腫瘍株に対しては、CPT-11 は CDDP とほぼ同様の抗腫瘍効果を示すことがわかった。

つぎに CDDP と CPT-11 の併用による抗腫瘍効果の増強を検討した。単独投与では T/C がおのおの32%, 59%と、抗腫瘍効果の弱い CDDP 1.25 mg/kg, および CPT-11, 30 mg/kg の投与量で、併用療法を行った。結果を Table 4 に示すが、T/C は2%, complete cure が5匹中4匹と、併用により著名な抗腫瘍効果を認め、CDDP と CPT-11 の併用療法による効果増強を強く示唆する結果であった。一方、CDDP と CPT-11, VP-16, VBL, VCR との併用療法の抗腫瘍効果の比較では、CDDP と CPT-11 併用が T/C, 0.5%, complete cure が5匹中4匹と、最も強い抗腫瘍効果を示した (Table 4)。これは精巣腫瘍の併用化学療法として、臨床的によく用いられている、CDDP と VP-16 の併用療法よりも強い抗腫瘍効果であった。

さらに CPT-11 とプラチナ化合物として CDDP, 254-S, カルボプラチン (CBDCA), DWA2114R との併用療法の抗腫瘍効果を検討した。その投与量は臨床における投与量を参考にして決めた。この結果を Table 5 に示すが、CPT-11 と CDDP, CBDCA, DWA2114R, および 254-S の併用のいずれにおいても、その抗腫瘍効果は、CPT-11 単独療法における T/C, 58%に比べ、1~17%と抗腫瘍効果の増強がみられた。特に CPT-11 と CDDP および 254-S の併用療法では、T/C はおのおの1%, 2%で特に強い抗腫瘍効果を示した。これは CBDCA や DWA の併用による11% (P<0.05), 17% (P<0.01) よりも有意に強い抗腫瘍効果であった。

考 察

CPT-11 は植物アルカロイドのカンプトテシンの誘導体で、L1210, P388 leukemia, Sarcomal 80, Meth A sarcoma, B16 melanoma, Lewis lung cancer などの実験系腫瘍において強い抗腫瘍効果や、延命効果を示すとともに、毒性も低いことが示されてきた⁹⁾。また CPT-11 は、DNA topoisomerase I 阻害剤としては、現在唯一本邦で臨床試験が行われ、その有効性が示され⁹⁾、さらに既存の抗腫瘍剤とも交叉耐性が少ないため、それらの抗腫瘍剤に対して抵

抗性の腫瘍にも抗腫瘍効果が期待できるとされている¹⁰⁾.

今回の実験では、CPT-11の50 mg/kgの投与で、精巣腫瘍株に *in vivo* で著名な縮小効果を認め、一部では腫瘍の完全消失も見られた。また survival rate は100%とその毒性も低いものであった。その抗腫瘍効果は CDDP とほぼ同等で、ビンカアルカロイド、ポドフィロトキシンよりは有意に強く、精巣腫瘍の治療に非常に有望な抗癌剤であることがわかった (Table 2, 3)。ただし今回の投与量は、マウスの LD-10 を考慮して設定しており、他の抗癌剤に比べ CPT-11 の LD10 が高いため、実際の臨床的投与量よりも多くなっている。それゆえ実際の臨床的投与量からみると、その抗腫瘍効果はもう少し低いと予想される。一方、併用療法の結果から、CDDP と CPT-11 の併用が、VP-16, VBL, VCR との併用療法よりもはるかに抗腫瘍効果の増強は強く、CDDP との併用効果がおおいに期待できる (Table 4, 5)。さらに CPT-11 とプラチナ化合物の併用療法では、CPT-11 と CDDP および 254-S の併用が強い抗腫瘍効果の増強を示した (Table 5)。また併用療法における survival rate もほぼ100%であり、その毒性も低いこと

が示された。以上の結果から、精巣腫瘍に対し、CPT-11 は強い抗腫瘍効果を示すとともに、CPT-11 と CDDP や 254-S などのプラチナ化合物の併用による、著名な抗腫瘍効果の増強が明らかにされ、臨床的にもおおいに期待できることが示唆された。上記の実験結果をふまえ、われわれは難治性精巣腫瘍の治療に CPT-11 と CDDP または 254-S の併用療法を用いることとした。4例の難治性精巣腫瘍を対象として、third line の化学療法として、CPT-11 と CDDP またはその誘導体である 254-S の併用療法を行った。CPT-11 は 200~300 mg/m²、CDDP は 100mg/m²、254-S は 100 mg/m² をいずれも点滴静注にて 3~4 週ごとに、4~7 回投与した。

その症例の概略を Table 6 に示す。いずれも、すでに CDDP をもちいた first line 化学療法後に、salvage 化学療法を受けた症例で、通常の化学療法では完治が望み難く、今回が third line の化学療法となる症例であった。その salvage 化学療法時の転移部位は、肺 2例、後腹膜 1例、後腹膜+縦隔 1例である。CPT-11+CDDP は症例 1 と 3、CPT-11+254-S は症例 2 と 4 に行った。

治療結果を Table 7 に示す。症例 1 は CPT-11+

Table 6. Presentation of 4 cases receiving third line chemotherapy with CPT-11+254-S

| No. | Age | Histology | Stage | Prior therapy | | Response | Metastatic site at salvage chemotherapy |
|-----|-----|-----------|-------|---------------|------------|----------|---|
| 1 | 43 | C | II | VAB-6 | CDDP+VP-16 | CR→Relap | RL |
| 2 | 28 | C | III C | RVB, RT | BEP | PR | Lu |
| 3 | 31 | S+E | II B | PVB | CDDP+VP-16 | PR | Lu |
| 4 | 38 | S | II A | RT, PVB | BEP | PR | ML, RL |

RT: radiation therapy Relap: relapse RL: retroperitoneum
ML: mediastinum Lu: lung

Table 7. Response and results of third line chemotherapy with CPT-11

| No. | Salvage therapy | Response | Treatment after salvage therapy | Present status (Mos.) |
|-----|-----------------|----------|---------------------------------|-----------------------|
| 1 | CPT-11+CDDP+RT | CR | RPLND | NED (53) |
| 2 | CPT-11+254-S | PR | L-X CPT-11+254-S | NED (40) |
| 3 | CPT-11+CDDP | PR | MTX, RT | Dead (6) |
| 4 | CPT-11+254-S | PR | VP-16, IFO, CBDCA OP, RT | Dead (12) |

RT : radiation therapy
RPLND: retroperitoneal lymph node dissection
L-X : resection of lung metastastasis
MLN-X: resection of mediastinal metastasis
MTX : methotrexate

CDDP の併用療法を 5 回おこない、CT では後腹膜転移巣はほとんど消失した。しかし HCG は 1.5 ng/ml まで低下したが正常化しないうえ、放射線療法との併用にて、さらに 2 回、CPT-11+CDDP 療法をおこない HCG は正常化した。確認のため後腹膜リンパ節郭清を施行、切除組織はすべて壊死であり、48 カ月後の現在 NED (no evidence of disease) である。症例 2 は PVB 療法後、salvage 療法として BEP 療法を行ったが、多発性肺転移は PR で、HCG も正常化しなかったため、CPT-11+254-S の併用療法を 5 回行った。いぜん PR であったが、HCG が正常化したので、thoracotomy により肺転移巣の切除を行い、残存癌を認めたため、さらに 2 回の CPT-11+254-S を追加、40 カ月後の現在 NED で生存している。以上の 2 例が有効例である。

症例 3 は多発性肺転移で、PVB 療法、salvage 療法として PE 療法を行ったが PR で、AFP も正常化せず、CPT-11+CDDP 療法を行うも PR で、4 カ月後に死亡した。症例 4 は seminoma の放射線療法後の後腹膜への再発で、PVB 療法、salvage 療法として BEP 療法を行ったが PR で、CPT-11+254-S 療法を 5 回施行したが PR で、12 カ月後には癌死した。

以上のように、精巣腫瘍の third line 化学療法として、CPT-11 と platina 製剤との併用はかなり有用であることがわかった。今後さらに症例数を増やし、精巣腫瘍に対する CPT-11 の治療効果を検討してゆきたい。

結 語

ヌードマウス可移植ヒト精巣腫瘍株を用い、CPT-11 と CDDP などのプラチナ化合物との併用療法により、抗腫瘍効果の著しい増強がみられることを示した。この結果をふまえ、4 例の難治性精巣腫瘍に対し CPT-11 と CDDP や 254-S による併用療法を行

い、2 例でその有効性が示された。

文 献

- 1) 太田和雄: Biochemical modulation. 医のあゆみ **141**: 572-575, 1987
- 2) Bertino JR, Sawick WL, Lindquist CA, et al.: Schedule-dependent antitumor effect of methotrexate and 5-fluorouracil. *Cancer Res* **37**: 327-328, 1977
- 3) Tisman G and Wu SGJ: Effectiveness of intermediate-dose methotrexate and high-dose-5-fluorouracil as sequential combination chemotherapy in refractory breast cancer and as primary therapy in metastatic adenocarcinoma of the colon. *Cancer Treat Rep* **64**: 829-835, 1980
- 4) 田口鉄男: 胃がんに対する新しい化学療法の試み. 癌と化療 **18**: 945-951, 1991
- 5) 古江 尚: 大腸がんの化学療法. 癌と化療 **18**: 529-534, 1991
- 6) 三木恒治, 細木 茂, 木内利明, ほか: ヒト精巣胚細胞腫瘍のヌードマウス異種移植の研究. 日泌尿会誌 **79**: 265-273, 1988
- 7) 三木恒治, 古武敏彦: ヌードマウス移植ヒト精巣腫瘍を用いた抗癌剤感受性試験と臨床成績. 泌尿紀要 **34**: 1903-1909, 1988
- 8) 新田和男, 横倉輝男, 沢田誠吾, ほか: 新規カンプトテンシン誘導体の抗腫瘍作用. 癌と化療 **14**: 850-857, 1987
- 9) 田口鉄男, 涌井 昭, 長谷川浩一, ほか: CPT-11 の第 I 相臨床試験. 癌と化療 **17**: 115-120, 1990
- 10) Tsuruo T, Matsuzaki T, Matsushita M, et al.: Antitumor effect of CPT-11, a new derivative of camptothecin, against pleiotropic drug-resistant tumors in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol* **21**: 71-74, 1988

(Received on October 19, 1993)

(Accepted on October 22, 1993)

(迅速掲載)