

論文の内容の要旨

論文題名 犬リンパ腫における微小残存病変測定 of 臨床的有用性

氏 名 佐藤 雅彦

イヌのリンパ腫は発生頻度の高い悪性腫瘍であり、その症例のほとんどが致死的な経過を辿ることから、臨床的にきわめて重要な疾患である。症例の多くは、化学療法に反応して臨床的寛解に達するが、最終的に再発を免れず死に至る。これまで 30 年以上にわたってさまざまな化学療法プロトコールが検討されてきたが、1990 年代に導入されたシクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾロンを組み合わせた CHOP プロトコールで得られた成績を大幅に上回るプロトコールの報告はなく、従来の方法ではさらに治療成績を向上させるのには限界があるものと考えられる。

この現状を打破するため、再発時の腫瘍細胞の源となるが寛解時には一般的な方法では検出できない残存した腫瘍細胞である微小残存病変 (Minimal Residual Disease: MRD) を検出する系が有用であるものと考え、この方法をイヌのリンパ腫症例に応用しようと考えた。ヒトのリンパ腫において、化学療法終了後の MRD レベルは再発までの期間と相関すること、また再発の前に MRD レベルが上昇することが報告されており、その臨床的重要性が示唆されている。しかしながら、イヌのリンパ腫では MRD の定量系が報告されているが、その臨床的重要性については十分な検討がなされていない。イヌにおいてリンパ腫の治療成績向上のために、また将来的に MRD レベルに基づいたテーラーメイド型の治療を実現するため、実際のリンパ腫症例における MRD の臨床的意義を把握する必要があるものと考えた。

本論文における一連の研究は、イヌリンパ腫における臨床的有用性を検討することを目的として行ったものである。第 1 章においては、化学療法プロトコールの早期段階におけ

る MRD レベルの予後予測因子としての有用性を検討した。第 2 章では、第 1 章の結果を受け、多剤併用化学療法中に用いられる各抗癌剤の腫瘍細胞減少効果の違いおよびその治療成績との関連を検討した。本研究の第 1 章および第 2 章において、MRD レベルが治療効果の指標として利用できることが示されたが、MRD が低レベルになった症例においても高頻度で再発が起きることが示された。そこで、第 3 章では MRD 測定の再発早期予測に関する有用性を明らかにしようとした。

第 1 章：多剤併用化学療法プロトコルの早期段階における MRD 測定の臨床的重要性

イヌリンパ腫多剤併用化学療法終了時の MRD は、その後の再発までの期間を予測する上で有用であることが報告されている。しかし、イヌリンパ腫症例においては、化学療法プロトコルを予定通り最後まで終了できる症例は約半数に過ぎない。そこで本章では、化学療法プロトコルの早期段階における MRD 測定の有用性について検討した。ここでは、イヌリンパ腫治療に用いられている代表的なプロトコルであるウィスコンシン大学多剤併用化学療法 (UW-25) で治療したリンパ腫 36 症例を対象とした。診断時の腫瘍細胞数および UW-25 第 6 週目、UW-25 第 11 週目の末梢血中 MRD を、各症例の腫瘍細胞に特異的なプライマーとプローブを設計し、リアルタイム PCR で定量した。その結果、第 11 週目に測定を行った 31 症例のうち、17 症例では MRD が検出限界レベル以上 (MRD⁺, 11 - 2555 コピー/10⁵ 末梢血単核球) が、14 症例では MRD が検出限界レベル未満 (MRD⁻) であった。これら 31 症例のうち 29 症例は臨床的に完全寛解に達していた。MRD⁻ 症例の無進行生存期間は MRD⁺ 症例のものに比べて有意に長かった (無進行生存期間中央値 : MRD⁻, 337 日 ; MRD⁺, 196 日) ($P = 0.0002$)。しかし、診断時における末梢血液中の腫瘍細胞数および第 6 週目の MRD レベルによって症例群を層別化した場合には、各群の間に無進行生存期間の差は認められなかった。これらの結果から、UW-25 第 11 週目の MRD レベルは予後予測因子となりうることを示された。

第 2 章：多剤併用化学療法中に使用される各抗癌剤の腫瘍細胞減少効果の比較

イヌのリンパ腫に対して広く用いられている UW-25 は、ビンクリスチン (VCR)、シロフォスファミド (CPA)、およびドキシソルビシン (DXR) の 3 剤を 1-2 週おきに交互に使用するプロトコルである。しかし多くの症例では、治療開始後短期間のうちに完全寛解が得られるため、各抗癌剤の効果を確認できずに治療を継続しているのが現状である。すなわち、

これら3剤がどの程度腫瘍細胞を減少させているかどうかは不明であった。第1章において、治療プロトコールの早期においてMRDレベルが検出限界未満になる症例とそうでない症例では、各抗癌剤の腫瘍細胞減少効果に差があるのではないかと考えられた。そこで、本章ではリアルタイムPCRを用い、各抗癌剤の投与前後における腫瘍細胞数を定量することにより、それぞれの抗癌剤の腫瘍細胞減少効果を比較したいと考えた。本章では、UW-25によって治療を行ったリンパ腫のイヌ29症例を対象とした。その結果、UW-25の第1-4週における各薬剤の腫瘍細胞を減少させる頻度は、VCRで100% (29/29)、CPAで51.7% (15/29)、DXRで96.3% (26/27)であり、CPAは他の2剤に比べて有意に腫瘍細胞を減少させる頻度が低かった ($P < 0.0005$)。初回CPA投与後に腫瘍細胞が減少した群 (CPA奏効群)と減少しなかった群 (CPA無効群)との間には体重に関して有意な差が認められた (CPA奏効群-23.5 kg, CPA無効群-9.0 kg) ($P < 0.01$)。また、CPA奏効群は無効群に比べて無進行生存期間が有意に長かった (CPA奏効群の中央値-305日, CPA無効群の中央値-95日) ($P < 0.01$)。一方、第6-9週における各薬剤の腫瘍細胞を減少させる頻度は、VCRで19.2% (5/26)、CPAで25.0% (5/20)、DXRで73.7% (14/19)であった。VCRの腫瘍細胞を減少させる頻度は、第1-4週よりも第6-9週において有意に低かった ($P < 0.0001$)。第6-9週においてDXRの腫瘍細胞減少頻度は他の2剤に比べて有意に高かった ($P < 0.01$)。

本研究により、イヌのリンパ腫治療としてUW-25で用いられているCPA投与量(250 mg/m²)は不十分である可能性が示され、それはとくに大型犬において問題となるものと考えられた。また、プロトコールが進むにつれてVCRの腫瘍細胞減少効果は低くなることから、本剤はおもに初期治療に使用すべきものと考えられた。本章の成果は、MRD測定を多剤併用化学療法の改良に利用できる可能性を示すものと考えられた。

第3章：MRDモニタリングによる早期再発予測

第1章および第2章において、MRDは治療効果の指標として利用でき、イヌリンパ腫症例の予後予測に有用であることが明らかとなった。しかし、MRDが低いレベルにまで低下しても再発が認められることにより、十分な寛解期間が得られないことが示された。そこで本章では、MRD測定の早期再発予測における有用性を検討した。本章では、イヌリンパ腫症例で抗癌剤治療終了後に完全寛解に達している20症例を対象とし、その後の末梢血液中のMRDレベルを定期的にモニタリングした。その結果、再発が認められた15症例のうち、14症例において臨床的な再発の前からMRDレベルの上昇が認められることが明らか

となった。これら再発が認められた症例において、MRD レベルの上昇から再発までの期間の中央値は42日(0-63日)であった。一方、観察期間内において再発が認められなかった5症例においてはMRD レベルの上昇は認められてなかった。以上の結果から、治療終了後のMRD レベルのモニタリングにより、再発予測が可能であることが明らかとなった。

以上のようなMRDの臨床的有用性を検討した一連の研究成果により、イヌにおけるリンパ腫治療成績向上のため次のような新規化学療法指針を提示できるものと考えられた。

- (1) 多剤併用化学療法の早期段階におけるMRD レベル測定により、治療反応性を客観的に評価することが可能となり、それに基づいた地固め療法の必要性を示唆することができる。
- (2) 各抗癌剤の投与前後におけるMRD レベルを測定することにより、化学療法プロトコルを改良する方針が得られ、より効果的なプロトコルを開発することが可能となる。
- (3) MRD 上昇による早期再発予測を可能とし、それに基づいて早期再寛解導入療法を開始することができる。

本論文の成果は、MRD レベルの測定結果を基にした治療、つまりMRD-guided therapyを可能とするものであり、これはテーラーメイド型治療の方法論につながるものである。これら一連の研究成果は、化学療法の発展のために客観的評価法を導入したものとして意義あるものと考えており、イヌのリンパ腫における化学療法の進歩につながるものと確信している。