

博士（医学）得地令郎

学位論文題名

Predicting chemotherapeutic response to small cell lung cancer of platinum compounds by thallium-201 SPECT.

（タリウム201SPECTを用いた肺小細胞癌に対するプラチナ製剤の治療前効果予測）

学位論文内容の要旨

I 研究目的

プラチナ製剤であるシスプラチンは肺小細胞癌をはじめ多くの癌の化学療法に使用されている。プラチナ製剤に対する耐性の重要な機序の一つとして癌細胞における薬剤の集積の減少があり、なかでもプラチナ製剤の輸送に関与する Na-K ATPase レベルの低下は重要である。

心筋梗塞、甲状腺腫瘍の診断に用いられてきたタリウム 201 シンチグラフィーは単純光量子コンピューター断層法（SPECT）によって精度が向上し、腫瘍シンチグラフィーとして肺癌の検索にも利用されるようになり、現在ではガリウムシンチグラフィーより肺癌病変検出に優れていると評価を受けている。タリウムの腫瘍細胞への取り込みは、プラチナ製剤と同様に腫瘍の持つ Na-K ATPase レベルと相関があるとされている。

タリウムとプラチナ製剤は共通の Na-K ATPase を介する機序で腫瘍に取り込まれる事から、タリウムの細胞内取り込み量はプラチナ製剤のそれと関係があり、タリウムの取り込みがプラチナ製剤の治療効果と関係する可能性がある。タリウムシンチグラフィーとプラチナ製剤の治療効果との関係を明確にするために、肺小細胞癌患者を対象としてタリウム 201SPECT での取り込み量とプラチナ製剤を中心とする化学療法の治療効果の関係について検討した。

さらに、タリウムの取り込み量とプラチナ製剤の感受性を直接比較するため、肺小細胞癌細胞株 PC-6 を用いて基礎的検討を行った。すなわち、Na-K ATPase の特異的阻害薬であるウアバインを前処置した群としなかった群に分け、細胞内タリウム取り込み量及びそれぞれのシスプラチン感受性を測定し、両者の関係について併せて検討した。

II 対象と方法

1991 年から 1996 年の間に北海道大学医学部附属病院第一内科に入院した、未治療の肺小細胞癌 25 名の内 21 名（男 18 名、女 3 名、平均 68 才）を対象とした。除外した 4 名のうち 1 名は腫瘍径がタリウム 201SPECT の検出限界以下の例であり、1 名は喀血による突然死例、残り 2 名は全身状態からプラチナ製剤の減量例である。化学療法施行前に全例タリウム 201SPECT を行った。すなわち、塩化タリウム 201 を 111Mbq 投与 15 分後（早期スキャン）と 120 分後（後期スキャン）の 2 度撮像した。病理所見を知らされていない核医学専門医からなるカンファランスで異常集積があるかないか判定された。異常集積を示した時、異常集積内と対側正常肺に閑心領域を定め、閑心領域内での平均カウント数を測定し、対側肺と病変部位との比を算出し取り込み率とした。病変部位でのタリウム 201 残存の程度を評価するため、利波らの提唱する残存指數を以下のように求めた。

残存指數 = (後期スキャン取り込み率 - 早期スキャン取り込み率) / 早期スキャン取り込み率

化学療法はシスプラチンとエトポシドの併用、あるいは同じプラチナ製剤でほぼ同等の効果をもつカルボプラチナとエトポシドの併用療法を行った。症例により放射線療法の併用を行った。

治療効果判定は、治療後4週以上継続し腫瘍が完全に消失したものをCR、腫瘍の面積が50%以上縮小したものをPR、50%未満の縮小から25%以下の増大をNC、25%以上の増大あるいは新病変出現をPDとした。

治療法により化学療法単独群（12名）と放射線療法併用群（9名）に分け、それぞれCRとPRを有効群、NCとPDを無効群として、タリウム201SPECTにおける残存指数に差がないか検討した。統計学的検討はMann-WhitneyのU検定を用い、危険率が0.05以下を有意とした。

in vitro の実験として肺小細胞癌培養株PC-6を用いて、Na-K ATPaseの特異的阻害薬であるウアバイン200μMに1時間接触させた群（PC-6/O）とウアバインに接触させなかつた群（PC-6）のそれぞれを対象に、10ppmの塩化タリウムで10分間培養後洗浄し、誘導結合型プラズマ質量分析装置にて細胞内タリウム濃度を測定し、両群間でタリウムの取り込み量に差がないか検討した。また同様に、PC-6/OとPC-6において、さまざまな濃度のシスプラチニンに一時間接触させた後、96時間培養後XTT法を用いてそれぞれ生存細胞数を測定し、薬剤濃度と反応曲線を描きIC₅₀を求め、両群間で差がないか検討した。各々の実験はそれぞれ3回ずつを行い、統計学的検討はtテストにより行い、危険率が0.05以下を有意とした。

III 結果

化学療法単独群において、有効群（5名）の平均残存指数0.22±0.13（mean±S.D.）は無効群（7名）のそれ0.01±0.10（mean±S.D.）と比べて有意に高かった。放射線療法併用群は1例を除いて全例が有効であった。

in vitro の実験において、Na-K ATPaseの特異的阻害剤であるウアバインで前処置したPC-6/Oの細胞内タリウム濃度は226.4±135.9 ppb（mean±S.D.）であり、前処置しなかつた群PC-6の562.7±102.6 ppb（mean±S.D.）と比べて有意に低下していた。また、シスプラチニンに対する感受性試験ではPC-6/OにおけるIC₅₀（5.1μM）はPC-6のそれ（3.1μM）に比べて有意に高く、ウアバインの前処置によって肺小細胞癌培養株におけるシスプラチニンへの感受性の低下が示された。

IV 考案

タリウム201SPECTは肺癌の診断に有用であり、現在広く臨床に使われつつある。タリウム201SPECTでは早期分布は腫瘍のもつ血流量を反映し、後期分布は腫瘍のもつNa-K ATPaseを反映していると考えられている。残存指数が高いということは後期分布でタリウムの集積が多いということであり、Na-K ATPaseレベルが高いと考えられる。本研究では、肺小細胞癌患者においてタリウム201SPECTで残存指数の高い症例はプラチナ製剤への反応性が良いことが明らかとなった。タリウム201SPECTの残存指数とプラチナ製剤への反応性を検討し、両者に有意な関係があることを示したのは我々が初めてである。

また、肺小細胞癌培養株を用いた実験系において、Na-K ATPaseの特異的阻害剤ウアバインがタリウムの細胞内への取り込みを有意に抑制し、かつシスプラチニンへの感受性も明らかに低下させていることから、両者の癌細胞への取り込みはNa-K ATPaseによる能動輸送が共通の重要な役割を果たしていることが示唆された。

これまで癌化学療法の非観血的な治療前効果予測法は皆無であったが、タリウム201SPECTを用いることによってプラチナ製剤の治療効果予測が可能となり、より効果の期待できる治療法を選択することが可能となる。このことによって患者のQOLを高め、予後の延長にも貢献することが期待される。

V 結語

タリウム201SPECTは肺小細胞癌においてプラチナ製剤の化学療法の効果を予測する良い指標となりうる。

学位論文審査の要旨

主査教授 玉木長良

副査教授 長嶋和郎

副査教授 川上義和

学位論文題名

Predicting chemotherapeutic response to small cell lung cancer of platinum compounds by thallium-201 SPECT.

(タリウム201SPECTを用いた肺小細胞癌に
対するプラチナ製剤の治療前効果予測)

タリウム 201 シンチグラフィーシングルフォトンエミッションコンピューター断層法（タリウム 201SPECT）は、腫瘍シンチグラフィーとして肺癌の診断に利用されている。タリウムの腫瘍細胞への取り込みに関与する重要な因子の一つは、腫瘍の持つ Na-KATPase である。一方、プラチナ製剤であるシスプラチニンも Na-KATPase によって癌細胞に取り込まれる。従って、共通の機序を介して腫瘍に取り込まれる事から、タリウムの取り込み量はプラチナ製剤のそれと関係があり、タリウムの取り込み量がプラチナ製剤への治療効果と関係する可能性がある。そこで、1991 年から 1996 年の間に北海道大学医学部附属病院第一内科に入院した、未治療の肺小細胞癌 21 名（男 18 名、女 3 名、平均年齢 68 才）を対象にタリウム 201SPECT での取り込み量とプラチナ製剤を中心とする化学療法の治療効果の関係を検討した。タリウム 201SPECT の方法は、塩化タリウム 201 を 111MBq 投与 15 分後（早期スキャン）と 120 分後（後期スキャン）の 2 度撮像し、病変部位と対側正常肺の関心領域内での平均カウント数を測定し、比を求め、それぞれの取り込み率とした。次に病変部位でのタリウム 201 残存の程度を評価するため、残存指数を以下のように求めた。

残存指数 = (後期スキャン取り込み率 - 早期スキャン取り込み率) / 早期スキャン取り込み率

化学療法はプラチナ製剤とエトポシドの併用療法を行い、症例によって放射線療法の併用を行った。化学療法単独群（12 名）における治療効果は、有効（腫瘍が 50% 以上縮小した場合）が 5 名で、無効（腫瘍が 50% 未満の縮小だった場合）が 7 名であった。タリウム 201SPECT の平均残存指数は、有効群で 0.22 ± 0.13 (mean \pm S.D.)、無効群で 0.01 ± 0.10 (mean \pm S.D.) であり、有意に有効群で高かった。すなわち、タリウム 201SPECT での取り込みがプラチナ製剤の治療効果と関係するという結果を得た。次に、Na-K ATPase の変化だけでタリウムの取り込み量とプラチナ製剤の感受性の変化が説明可能か否かを検討した。すなわち、Na-K ATPase の特異的阻害薬であるウアバイン $200 \mu\text{M}$ に 1 時間接触させた群 (PC-6/O) とウアバインに接触させなかつた群 (PC-6) に、 10 ppm の塩化タリウムを 10 分間接触させた後に洗浄し、加熱酸分解して細胞を融解し、誘導結合型プラズマ質量分析装置にてタリウム濃度を測定した。PC-6/O の細胞内タリウム濃度は $226.4 \pm 135.9 \text{ ppb}$ (mean \pm S.D.) であり、PC-6 の $562.7 \pm 102.6 \text{ ppb}$ (mean \pm S.D.) と比べて有意に低下した。また、PC-6/O と PC-6 においてシスプラチニン感受性試験を行い、薬剤反応曲線から PC-6/O における IC_{50} ($5.1 \mu\text{M}$) は PC-6 のそれ ($3.1 \mu\text{M}$) に比べて有意に高く、ウアバインの前処置によって肺小細胞癌培養株におけるシスプラチニンへの感受性の低下が示された。従って、Na-K ATPase の変化によって、細胞内タリウ

ムの取り込みの低下とシスプラチニに対する感受性の低下が説明された。発表後、主査および副査から肺癌におけるタリウムシンチの感度、他の臓器の腫瘍におけるタリウムシンチの有用性、シスプラチニの腎毒性の機序、タリウムの細胞外排出機構、腫瘍の持つ増殖能とタリウムの取り込みとの関係、タリウムの取り込み率と治療効果の関係、臨床への応用の可能性などについて質疑が行われた。これらの質疑に対し申請者は、肺癌において腫瘍径が15mm以上であれば感度、特異度ともに極めて高く診断において有用であること、肺癌以外の臓器の腫瘍にタリウムシンチを応用することで今回の結果と同様にシスプラチニに対する反応を予測できる可能性があること、また Na-K ATPase 活性と腫瘍の持つ増殖能が相関するので増殖能の高い腫瘍ではタリウムの取り込みが高い可能性があるとの回答を行った。加えて、その他の質疑においても申請者は、質問者を納得させる妥当な回答を行った。また、後日、主査、副査による審査委員会を開催し、本研究の斬新性、実験法、結果の解釈の妥当性、関連領域の知識、さらに研究者としての申請者の資質について審議をおこない、いずれの点についても高く評価できるとの結論に達した。審査員一同は、これらの成果を認め、博士(医学)の学位に値するものと判定した。