

原

著

## 骨肉腫における化学療法の有効性の指標 としての腫瘍細胞の核面積の検討

新潟大学医学部整形外科教室（主任：田島達也教授）

滝 沢 隆 史

A Quantative Study on Nuclear Size of  
Tumor Cells as a Prognostic Factor for  
the Effectiveness of Chemotherapy  
in Osteosarcoma

Takashi TAKIZAWA

*Department of Orthopaedic Surgery,  
Niigata University School of Medicine,  
Niigata City  
(Director: Prof. Tajima, Tatsuya)*

Nuclear sizes of tumor cells in preoperative biopsy specimens and in resected materials, response to administration of adriamycin and methotrexate, and survival rates were compared in nineteen patients of osteosarcomas in the period from 1974 through 1988.

Ten patients were treated with adriamycin and nine patients with methotrexate. Thirteen patients were classified into non-effective group which were designated as grade I or II by Rosen's classification as to effectiveness of chemotherapy and six patients into effective group designated as grade III or IV.

5 year survival rate significantly improved recently and reached to 57%. Au of Six patients classified into effective group have been alive, whereas only seven out of thirteen patients who were classified into non-effective group have survived.

In preoperative biopsy materials, mean nuclear size of tumor cells which belonged

Reprint request to: Takashi TAKIZAWA,  
Department of Orthopaedic Surgery,  
Niigata University, School of Medicine,  
1 Bancho Asahimachi-Dori, Niigata City,  
Niigata 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通 1 番町  
新潟大学医学部整形外科

滝沢隆史

to non-effective group was  $43.0 \mu\text{m}^2$ , however that belonging to effective group was  $63.8 \mu\text{m}^2$ , larger than that of the former group.

Mean nuclear size of the tumor cells in the resected materials has become larger than that in preoperative biopsy materials in non-effective group, but has become smaller in effective group.

Based on the results above described, we recommend use of the same drugs in postoperative chemotherapy as preoperative chemotherapy in cases where average nuclear sizes have been stationary or become larger. However drugs to be used in postoperative chemotherapy should be changed in cases where their average nuclear sizes have been stationary or become larger.

Key words: Osteosarcoma, Nuclear size, Preoperative chemotherapy.

骨肉腫, 核面積, 術前化学療法.

## I. はじめに

骨肉腫の治療成績は近年めざましく向上し5年生存率で70%を越す報告もみられるようになってきている. このことは, computed tomography (CT), magnetic resonance imaging system (MRI) 等により病変を的確に把握できるようになったこと, surgical staging systemの確立により必要かつ十分な手術療法が施行されていること, 強力な術前, 術後の化学療法により骨肉腫の転帰に決定的に関与する肺転移を低下させうる結果であると考えられている.

特に adriamycin (以下 ADR), methotrexate (以下 MTX), cisplatin (以下 CDDP) の開発により飛躍的に治療成績が改善されている. しかし, 骨肉腫に対する化学療法施行前の有効な制癌剤の選択は現在のところ困難で, 種々の施設でさまざまな protocol に準拠して実施されているのが現状である. それに関連して制癌剤の感受性試験が種々開発されているが, 培養細胞を使用する判定法については骨肉腫細胞の培養の困難性や, 培養細胞の変化により, 培養細胞に対する制癌剤の効果を臨床例に対する効果と必ずしも判定できないことから問題であり, 実際の臨床応用はまだ確立されていない. In vivo での最もよい化学療法の効果判定方法は化学療法を実施した臨床症例の腫瘍組織標本の検索である. Apel<sup>3)</sup> は生検時腫瘍細胞の核面積が大きいものほど化学療法が有効であったと発表している. しかし, この方法では個々の症例で核面積の大きさの絶対値の大小の判断が困難である. そのため, 今回著者は生検時と腫瘍切除時の標本における腫瘍細胞の核面積を測定し, 化学療法

法の効果と核面積の変化の関連について検討した.

## II. 研究材料と方法

### A. 症例と治療法の概要

#### 1. 検討症例の概要

1974-1988年の15年間に新潟大学整形外科において生検により診断を確定し術前化学療法 (主として ADR と MTX 大量療法) を施行した男性15例, 女性4例の計19例の骨肉腫例を対象として検討した.

年齢別では10歳未満2例, 10歳代13例, 20歳代2例, 30歳代2例であった.

発生部位は大腿骨11例, 下腿骨3例, 上腕骨3例, 肋骨1例, 坐骨1例で大腿骨が60%を占めていた.

組織学的亜分類では osteoblastic type 12例, fibroblastic type 5例, chondro-blastic type 2例で経過観察期間は最短5カ月から最長153カ月, 平均85カ月であった.

#### 2. 検討症例に対する治療法の概要

##### a. 組織生検並びに術前化学療法

症例はすべて診断確定のための open biopsy を施行し腫瘍の表層部より約  $1 \text{ cm}^3$  の組織を採取した.

診断を確定したのち, 術前化学療法として ADR 投与例では動脈注入用カテーテルを留置し 40-120mg 持続注入し, MTX 投与例では 100-250mg/kg 点滴静脈内投与を1-6クール施行した. MTX 投与例では bleomycin, cyclophosphamide, dactinomycin (以下 BCD) または CDDP を併用した症例も含まれている.

化学療法の副作用により, 白血球の減少, 肝機能の低下が認められた症例も多かったが, 大部分の症例は約1

週間で正常にもどった。しかし、そのため術前化学療法が予定通り施行されず途中で手術にふみきったものが3症例あった。

b. 手術療法

手術は原則として、Enneking の surgical staging system に従い wide margin 以上になるように施行した。切断術が14例に患肢温存手術が5例施行されていた。

切断は大腿骨9例、脛骨2例、上腕骨2例、坐骨1例の骨肉腫に対して、患肢温存手術は大腿骨2例、脛骨1

例、上腕骨1例、腓骨1例に対して施行された。患肢温存手術例のうち大腿骨1例と脛骨1例は血管茎付き腓骨移植で、大腿骨1例と上腕骨1例ではセラミック製の人工関節により再建した。腓骨1例では切除術のみであった。

合併症としては人工関節を用いた大腿骨発生例の1例に感染を認め切断術を施行し、脛骨1例と腓骨1例の広範切除術に、装具装着を要する膝関節の動揺性を来とし、延長術を要した大腿骨の1例に脚長差を来した(Table. 1)。

c. 術後化学療法

ADR 投与例では1例のみ MTX 療法に切り変えたが、他は術前化学療法と同様に、ADR を主体として行った。MTX 投与例では、化学療法有効群では術前と同様に MTX を主体とし、無効群に対しては CDDP, ADR を投与する Rosen<sup>4)</sup> の T<sub>12</sub> protocol に準じて加療を行った (Table. 2, 3)。

B. 研究方法

1. 生存率

化学療法別に ADR 投与例と MTX 投与例にわけ、Kaplan-Meier<sup>2)</sup> 法に従って比較した。次に、化学療法

Table 1 Complications after limb salvage procedures

	Procedures	Complication
Femur	TKR 1, VFG 1	Infection, Discrepancy
Tibia	VFG 1	Instability
Humerus	TER 1	
Fibula	Resection 1	Instability
No. of cases	5 cases	

TKR : total knee replacement  
VFG : vascularized fibula graft  
TER : total elbow replacement

Table 2 Cases with non effective chemotherapy

Case No.	Age	Sxe	Location	Grade	Preop. Chemotherapy	Postop. Metastasis	Lung op.	Nuclear Size		Postop. Chemotherapy	Outcome
								Biopsy	Resection		
1	19	F	L. tibia	I	ADR 80mg	+	+	36.3±13.1	39.3±18.4	ADR 60mg	24 Death
2	17	M	L. femur	I	MTX 23g	+	+	40.7±18.0	50.8±16.0	MTX 20g ADR 90mg	12 Death
3	9	M	L. humerus	I	ADR 40mg	+	-	37.9±20.3	35.0±13.6	ADR 120mg	24 Death
4	12	F	R. femur	I	ADR 180mg	+	-	33.4±11.5	60.3±22.2	ADR 200mg	40 Death
5	12	F	R. femur	I	ADR 110mg	-	-	53.8±20.4	64.3±31.9	MTX 40g ADR 480mg	125 Alive
6	25	M	R. femur	I	ADR 40mg	-	-	35.6±14.6	34.2±15.5	ADR 120mg	153 Alive
7	17	M	L. femur	I	ADR 60mg	+	-	37.4±14.4	53.1±14.7	ADR 200mg	20 Death
8	36	M	R. ischium	I	ADR 60mg	-	-	47.9±16.9	48.6±26.4	ADR 120mg	146 Alive
9	20	M	L. femur	II	ADR 60mg	+	+	23.3± 8.3	159.5±127.8	MTX 22g	7 Death
10	7	M	R. femur	II	MTX 20g	-	-	40.0±13.4	44.6±18.2	MTX 24g	68 Alive
11	18	M	L. humerus	II	MTX 51g	+	+	74.1±22.2	58.0±28.2	CDDP 1200mg ADR600	57 Alive
12	14	M	L. femur	II	MTX 15g CDDP200mg	+	+	61.9±18.8	51.1±63.5	MTX 35g CDDP 525mg	35 Alive
13	13	M	R. tibia	II	ADR 200mg			41.4±15.6	74.1±37.4	ADR 200mg	149 Alive
									( $\mu\text{m}^2$ )		(Month)

ADR: adriamycin, MTX: methotrexate, CDDP: cisplatinum, BCD: bleomycin, cyclophosphamide, dactinomycin

Table 3 Cases with effective chemotherapy

Case No.	Age	Sex	Location	Grade	Preop. Chemotherapy	Postop. Metastasis	Lung op.	Nuclear Size		Postop. Chemotherapy	Outcome
								Biopsy	Resection		
1	22	M	L. femur	III	MTX 3g	—	—	51.8±24.8	36.7±12.4	MTX 61g	88 Alive
2	11	M	L. tibia	III	MTX 31g	—	—	80.7±47.2	42.2±19.5	MTX 58g	62 Alive
3	16	M	L. femur	III	MTX 30g BCD×1	—	—	88.5±32.7	70.8±61.7	MTX 40g BCD×2	19 Alive
4	18	M	L. humerus	III	MTX 65g BCD×2	—	—	55.4±13.6	25.2± 8.4	MTX 52g BCD×2	5 Alive
5	18	M	R. femur	III	ADR 200mg	—	—	58.5±22.1	20.1±10.5	ADR 180mg	122 Alive
6	16	F	L. fibula	IV	MTX 10g CDDP100mg	—	—	47.6±14.0	( $\mu\text{m}^2$ )		34 Alive (Month)

ADR: adriamycin, MTX: methotrexate, CDDP: cisplatinum, BCD: bleomycin, cyclophosphamide, dactinomycin

効果別に無効群と有効群にわけて比較した。

#### 2. 転移及び局所再発

化学療法無効群と有効群別に比較した。

#### 3. Alkaline phosphatase 値 (以下 ALP) と核分裂数

入院時の ALP を測定し、新潟大学検査部で測定した各年齢別の正常値の上限を上まわるものを上昇とした。

また、核分裂数は 200倍顕微鏡下で10視野測定し、その総数とした。

#### 4. 化学療法効果の判定

切除標本の腫瘍の最大断面が含まれるように切り出し、hematoxylin-eosin (HE) 染色した。腫瘍の壊死率を顕微鏡下で測定し、Rosen の化学療法判定基準により I 群は壊死率50%以下、II 群は50%以上90%未満、III 群は90%以上100%未満、IV 群は100%に分類した。それらの I、II 群は無効群、III、IV 群を有効群とした。

#### 5. 生検標本と切除標本の腫瘍細胞の核面積測定と比較

生検標本を formalin 固定後 HE 染色し、1000倍顕微鏡下で観察し、random に100個腫瘍細胞の核面積をコンピューター解析 CX-1 で測定し、その平均値と標準偏差をもとめた。切除標本は腫瘍の最も残存している部分を1000倍顕微鏡下で CX-1 を用いて生検標本と同様に100個測定した。生検時と切除時の核面積の比較を下記の検討項目に従って行った。

a. 化学療法無効群と有効群の間で腫瘍の核面積の平均値と標準偏差の差の有無を検討した。

b. 死亡例と生存例間の差の有無を検討した。

c. 肺転移手術例の死亡例と生存例を比較した。

d. 術前化学療法の投与薬剤別に2群 (ADR 投与例

と MTX 投与例) にわけて下記の3項目について検討した。

(1) ADR 投与例と MTX 投与例との比較

(2) ADR 投与例での化学療法無効群と有効群、死亡例と生存例での比較

(3) MTX 投与例での化学療法無効群と有効群、死亡例と生存例での比較

### III. 結 果

#### A. 生 存 率

##### 1. 術前化学療法別の生存率

ADR 投与群は10例で死亡5例、生存5例であり、MTX 投与群は9例中死亡1例、生存8例であり、Kaplan-Meier 法による生存率は図1のようになった (Fig. 1)。

5年生存率は ADR 投与例で50% (5/10)、MTX 投与例で75% (3/4) であり、全体の5年生存率は57% (8/14) であった。症例が少ないため5年生存率で有意差検定 ( $P=0.05$ ) で差はなかったが、3年以内に ADR 群では40%死亡し、MTX 例11%に比して成績が劣る傾向にあった。

##### 2. 化学療法効果別の生存率

化学療法の効果別の無効群 (I + II) 13例と有効群 (III + IV) 6例にわけてみると、無効群では13例中6例死亡し、有効群では死亡例はなく、Kaplan-Meier 法による生存率は図2のようになった (Fig. 2)。5年生存率は無効群で46% (5/11)、有効群で100% (3/3) であった。

#### B. 転移及び局所再発

肺転移は8例に認められ、すべて化学療法無効群に属していた。このうち5例に開胸術が施行され3例が死亡

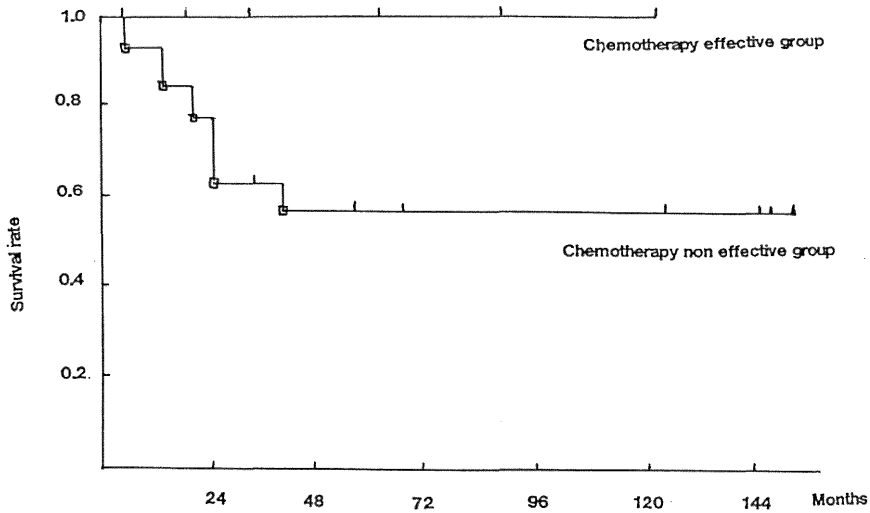


Fig. 1 Actuarial survival rate of 13 patients with effective chemotherapy and of 6 patients with non effective chemotherapy.

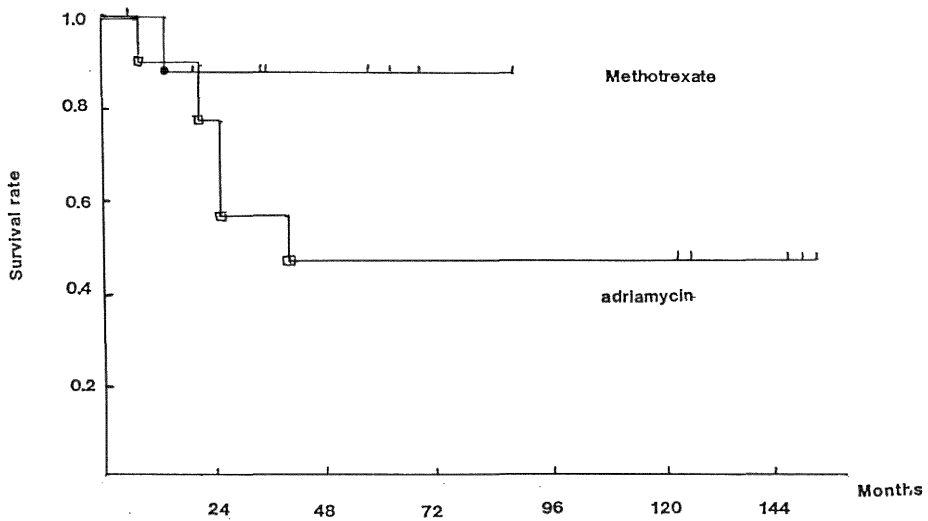


Fig. 2 Actuarial survival rate of 10 patients treated with adriamycin and of 9 patients with methotrexate.

(平均生存期間9M)し2例が生存(平均生存期間33M)していた。3例の非手術例はすべて死亡していた。原発巣手術から転移までの期間は5～19カ月, 平均12.4カ月, 開胸術までの期間は6～19カ月, 平均13.8カ月であった。

局所再発は切断例で坐骨例で1例認められたが, 患肢温存例では認められなかった。

### C. ALP 値と核分裂数

ADR 投与例で10例中5例で, MTX 投与例では9例中4例で高値をとり, すべて無効群に属していた。核分裂数は化学療法無効群では0～41個(平均6.9個), 有効群で1～49個(平均18.3個)であり, 核分裂が多い程化学療法が有効であった (Table. 4)。

**Table 4** Relation between groups with non effective and effective chemotherapy and a level of alkaline phosphatase and number of mitoses

	Non effective	Effective
Alkaline phosphatase	High(9/13)	Normal
Mitoses	0-41(Mean 6.8)	1-49(Mean 18.3)

**D. 化学療法効果の判定**

I 群が ADR 投与例 7 例, MTX 投与例 1 例計 8 例, II 群が ADR 投与例 2 例, MTX 投与例 3 例計 5 例, III 群 ADR 投与例 1 例, MTX 投与例 4 例計 5 例, IV 群が ADR 投与例にはなく, MTX 投与例 1 例のみだった。

I, II 群を合計した無効群は ADR 投与例 9 例, MTX 投与例 4 例, 合計 13 例であり, III, IV を合計した有効群は ADR 投与例 1 例, MTX 投与例 5 例合計 6 例であった (Table. 5). ADR 使用量は無効群で平均 90mg, 無効群で平均 200mg で MTX 使用量は無効群で 27 g, 有効群で平均 28 g であった。

**Table 5** Histological response to chemotherapy

		ADR	MTX	Total
Non effective group 13 cases	Grad I	7	1	8
	Grade II	2	3	5
Effective group 6 cases	Grade III	1	4	5
	Grade IV	0	1	1
Total		10	9	19

**E. 核面積の比較****1. 化学療法無効群と有効群の比較**

化学療法無効群が生検時平均  $43.0\mu\text{m}^2 \pm 15.6\mu\text{m}^2$  が切除時平均  $57.9\mu\text{m}^2 \pm 32.0\mu\text{m}^2$  となり, 有効群では生検時  $63.8\mu\text{m}^2 \pm 25.7\mu\text{m}^2$  が切除時  $39.0\mu\text{m}^2 \pm 22.5\mu\text{m}^2$  であり, 化学療法後に無効群は核面積が拡大し有効群では縮小していた (Table. 6).

**Table 6** Nuclear sizes in patient with non effective and effective chemotherapy

	Biopsy	Resection
Non effective group	$43.0 \pm 15.6$	$57.9 \pm 32.0$
Effective group	$63.8 \pm 25.7$	$39.0 \pm 22.5$

( $\mu\text{m}^2$ )

**2. 死亡例と生存例の比較**

死亡例では生検時  $35.0\mu\text{m}^2 \pm 14.0\mu\text{m}^2$  が切除時には  $66.3\mu\text{m}^2 \pm 35.5\mu\text{m}^2$  となり, 生存例では  $56.9\mu\text{m}^2 \pm 21.1\mu\text{m}^2$  が切除時に  $43.8\mu\text{m}^2 \pm 25.7\mu\text{m}^2$  となり, 生存例で核面積が縮小する傾向にあった (Table. 7).

**Table 7** Nuclear sizes in patients with dead and alival cases

	Biopsy	Resection
Dead cases	$35.0 \pm 14.0$	$66.3 \pm 35.5$
Alival cases	$56.9 \pm 21.1$	$43.8 \pm 25.7$

( $\mu\text{m}^2$ )

3. 肺転移手術例では死亡例で生検時  $33.4\mu\text{m}^2 \pm 13.1\mu\text{m}^2$  が切除時  $83.2\mu\text{m}^2 \pm 54.1\mu\text{m}^2$  となり, 生存例では  $68.0\mu\text{m}^2 \pm 20.5\mu\text{m}^2$  が  $51.3\mu\text{m}^2 \pm 45.8\mu\text{m}^2$  となり, 核面積は死亡例で著明に拡大し, 生存例では縮小していた (Table. 8).

**Table 8** Nuclear size in cases with pulmonary metastases which were operated

	Biopsy	Resection
Dead cases	$33.4 \pm 13.1$	$83.2 \pm 54.1$
Alive cases	$68.0 \pm 20.5$	$51.3 \pm 45.8$

( $\mu\text{m}^2$ )

**4. 投与薬剤別の比較****(a) ADR 投与例と MTX 投与例での比較**

術前化学療法の投与薬剤別の核面積を ADR 投与例と MTX 投与例にわけて比較してみると, 生検時前者では平均  $40.8\mu\text{m}^2 \pm 15.2\mu\text{m}^2$ , 後者では平均  $56.1\mu\text{m}^2 \pm 21.0\mu\text{m}^2$  であり, 化学療法後はそれぞれ  $61.5\mu\text{m}^2 \pm 33.9\mu\text{m}^2$ ,  $45.2\mu\text{m}^2 \pm 25.6\mu\text{m}^2$  となり, ADR 投与例では核面積が拡大し MTX 投与例では縮小する傾向にあった (Table. 9).

**Table 9** Nuclear sizes in 10 cases treated with adriamycin and in 9 cases with methotrexate

	Biopsy	Resection
ADR	$40.8 \pm 15.2$	$61.5 \pm 33.9$
MTX	$56.1 \pm 21.0$	$45.2 \pm 25.6$

( $\mu\text{m}^2$ )

(b) ADR 投与例の化学療法無効群と有効群および生存例、死亡例間の比較

無効群では生検時平均  $38.6\mu\text{m}^2 \pm 13.9\mu\text{m}^2$  が切除時平均  $63.1\mu\text{m}^2 \pm 34.2\mu\text{m}^2$  となり、有効群では生検時  $58.5\mu\text{m}^2 \pm 22.1\mu\text{m}^2$  が切除時  $20.1\mu\text{m}^2 \pm 10.5\mu\text{m}^2$  となり無効群で核面積が拡大し、有効群で縮小していた。

死亡例と生存例別の核面積は、死亡例で生検時  $32.6\mu\text{m}^2 \pm 11.8\mu\text{m}^2$  が切除時  $78.1\mu\text{m}^2 \pm 45.8\mu\text{m}^2$  に、生存例では  $47.4\mu\text{m}^2 \pm 17.9\mu\text{m}^2$  が切除時  $48.3\mu\text{m}^2 \pm 24.3\mu\text{m}^2$  となり、死亡例で拡大し、生存例で変化がなかった (Table. 10)。

**Table 10** Nuclear sizes in cases with adriamycin chemotherapy

	Biopsy	Resection
Non effective	$38.6 \pm 13.9$	$63.1 \pm 34.2$
Effective	$58.5 \pm 22.1$	$20.1 \pm 10.5$
Dead cases	$32.6 \pm 11.8$	$78.1 \pm 45.8$
Alival cases	$47.4 \pm 17.9$	$48.3 \pm 24.3$

( $\mu\text{m}^2$ )

(c) MTX 投与例の化学療法無効群と有効群および生存例、死亡例間の比較

無効群では、生検時  $54.7\mu\text{m}^2 \pm 17.7\mu\text{m}^2$  が  $51.1\mu\text{m}^2 \pm 31.4\mu\text{m}^2$  となり、有効群では生検時  $64.8\mu\text{m}^2 \pm 26.5\mu\text{m}^2$  が切除時  $43.7\mu\text{m}^2 \pm 25.5\mu\text{m}^2$  と無効群で核面積に変化なく、有効群では化学療法後に縮小していた。

また死亡例では生検時  $38.2\mu\text{m}^2 \pm 16.8\mu\text{m}^2$  が切除時  $40.9\mu\text{m}^2 \pm 14.8\mu\text{m}^2$  となり、生存例では生検時  $62.8\mu\text{m}^2 \pm 23.1\mu\text{m}^2$  が切除時  $46.9\mu\text{m}^2 \pm 30.3\mu\text{m}^2$  となり死亡例で変化がなく、生存例で縮小していた (Table. 11)。

**Table 11** Nuclear sizes in cases with methotrexate chemotherapy

	Biopsy	Resection
Non effective	$54.7 \pm 17.7$	$51.1 \pm 31.4$
Effective	$64.8 \pm 26.5$	$43.7 \pm 25.5$
Dead cases	$38.2 \pm 16.8$	$40.9 \pm 14.8$
Alival cases	$62.8 \pm 23.1$	$46.9 \pm 30.3$

( $\mu\text{m}^2$ )

## IV. 考 察

### A. 化学療法による生存率の改善

骨肉腫は非常に稀な腫瘍であり、しかも以前は生存率が10—20%と極めて低かった腫瘍の1つである。また、有効な化学療法剤が少なかったため、早期に肺転移をきたして死亡する例が多かった。

しかし、術前化学療法の発達により遠隔転移、特に肺転移を予防し生存率は著明に改善されてきた。骨肉腫に対する化学療法の有効性は Rosen<sup>4)</sup>, Link<sup>7)</sup>, Edmonson<sup>8)</sup> 等により種々報告されており、現在は生存率70%とする報告もでてきている。今回の検討でも5年生存率が57%であり、その有効性は明らかである。しかし、いかなる薬剤をいかなる量使用するかについては明確ではなく、腫瘍細胞に有効に作用する薬剤やその量は個々の症例で違いがあると思われる。

### B. 化学療法前生検と術前化学療法

化学療法の前に組織生検をすることは、治療後の効果を検討するには重要であり的確になされる必要がある。今回の生検標本はすべて腫瘍の表層から採取され、この部分には壊死はなく豊富な腫瘍細胞が認められ、充分腫瘍の性質を判断できた。また採取量は1cm<sup>2</sup>で十分と思われた。

術前化学療法は ADR 投与例では無効群で平均 90mg とこの使用量では不十分で、有効な使用量として 200mg は必要と思われる。MTX 投与例では化学療法無効群と有効群に使用量の差はなく BCD 療法を併用した Rosen T<sub>12</sub> protocol 施行例で有効例が多い事は注目すべき結果であった。

### C. 手術療法

手術療法は5例に患肢温存手術が施行され再発は認められなかった。しかし、5例とも生存しており、症例を選び十分な切除を行えば、患肢温存が可能であると考えられる。しかし、人工関節により再建した大腿骨の1例で感染のため切断せざるを得なかった。骨肉腫の場合術後の化学療法が不可欠であり、その副作用である白血球の減少を含めた免疫機構の低下に対する対策が必要である。また、成長期の患者に対しては患肢温存術後の脚長差の調節が留意すべき問題点であった。

### D. 術後化学療法

術前化学療法有効群では術前化学療法に準じた化学療法を実施してよいと思われるが、無効群では13例中6例(46%)が死亡しているので、躊躇なく他の薬剤に変更すべきであると思われた。

### E. ALP 値と核分裂数

ALP 活性の上昇は8例ですべて化学療法無効群であり、骨肉腫の悪性度を表す1つの指標になるものと考えられる。次に核分裂数については多い程化学療法の効果があり、化学療法剤は細胞回転期にある細胞に効果があるという報告<sup>5)</sup>と一致していた。

### F. 化学療法効果判定、転帰と核面積

化学療法効果判定を Rosen の判定基準に従って分類した結果から、gradeⅣは1例のみで gradeⅢを加えても19例中6例のみであったが、すべて肺転移なく生存しており、効果判定としては優れているものと思われた。

生検時の核面積の比較では無効群では平均  $43.0\mu\text{m}^2$ 、有効群では平均  $63.8\mu\text{m}^2$  と有効群で大きく、ある程度術前に化学療法の有効性を推定することが可能であると思われた。同様の結果を16例の骨肉腫についての検討で Apel<sup>3)</sup>も報告している。

また、切除標本の核面積は無効例  $57.9\mu\text{m}^2$ 、有効例  $39.0\mu\text{m}^2$  と化学療法後には逆になり、無効群では核面積が拡大し、有効群で縮小していた。

腫瘍の細胞集団を考えると cell cycle を回転している動的な細胞 ( $G_1$ , S,  $G_2$ , M) と静止細胞 ( $G_0$ ) に分類<sup>5)</sup>される。化学療法剤は、ほとんど DNA の合成阻害<sup>6)</sup>により、効果を発揮しており、そのため細胞回転上にある前者の細胞群に効果があり、後者の細胞には無効と考えられている。化学療法無効群には静止細胞が多いことが予想され、核面積の小さい細胞は静止細胞と考えられる。

また、核面積の縮小は DNA の合成阻害によって生ずることも考えられ、逆に拡大することは活性を高めている可能性が考えられる。

#### 1. 生存例と死亡例の比較

次に死亡例と生存例の比較では生検時  $35.0\mu\text{m}^2$ 、 $56.9\mu\text{m}^2$  であった核面積が切除時の標本でそれぞれ  $57.9\mu\text{m}^2$ 、 $39.0\mu\text{m}^2$  となり死亡例で拡大し、生存例では縮小していた。このことにより上記と同様に核面積が大きく化学療法により縮小する場合には、予後がよく化学療法の効果ともよく相関していた。

#### 2. 肺転移例

肺転移手術例はすべて無効群で5例中3例が平均9カ月で死亡し2例は平均38カ月で生存していた。核面積は死亡例で生検時  $33.4\mu\text{m}^2$  が切除時  $83.2\mu\text{m}^2$  となり、生存例では生検時  $68.0\mu\text{m}^2$  が、切除時  $51.3\mu\text{m}^2$  であり、核面積の大きい症例でしかも化学療法後に核面積が縮小する症例は Rosen 分類のⅠ、Ⅱの化学療法無効群

でも転帰のよい傾向にあった。このことは、核面積の大きな骨肉腫は肺転移しても予後がよいことを示唆している。

#### 3. 化学療法剤別の比較

投与薬剤別にみた核面積に比較では、ADR 投与例では生検時  $40.8\mu\text{m}^2$  が切除時  $61.5\mu\text{m}^2$  と拡大していた。これは、ADR が酵素に対して直接作用するのではなく、DNA と直接変化を生じせしめるという薬理作用<sup>6)</sup>と関係があるものと思われる。

次に MTX 投与例についてみると、生検時  $56.1\mu\text{m}^2$  が切除時  $45.2\mu\text{m}^2$  となり縮小していた。これは、MTX がチミジンやプリン体の生合成に関与する還元酵素 (Dehydrofolate reductase) の作用を抑制<sup>6)</sup>して DNA の合成を阻害し、そのことが核面積に反映されと考えられる。また、ADR が DNA 合成期から DNA 合成後期に作用するのに対して、MTX が DNA 合成前期から DNA 合成後期にまで広く作用<sup>5)</sup>すると考えられていることより、MTX がより DNA の合成阻害に関与し、核面積に反映されている可能性もあると考えられる。

ADR 投与例、MTX 投与例共に、有効群では核面積は縮小しており、このことにより、化学療法剤が Rosen 分類の gradeⅢ、Ⅳ相当する90%以上の腫瘍細胞の壊死を起こす程有効に作用すれば、核面積は縮小するものと思われた。

ADR 投与例では無効群で核面積が拡大していることは細胞の活性化がおり、さらに悪性化している危険性があり、このような場合には術後化学療法剤は他の薬剤に変更すべきと思われた。MTX 投与例では無効群で核面積の変化はほとんどなく、この場合には BCD 療法を併用するか、CDDP か ADR に変更すべきと考える。

次に死亡例と生存例を比較すると、ADR 投与例では死亡例で著明に核面積が拡大しており、MTX 投与例でもやや拡大傾向にあった。したがって核面積の拡大は骨肉腫の予後を推定できると思われた。

## V. ま と め

A. 今回の検討で骨肉腫の5年生存率は57%と著明に改善されてきており、これは化学療法の改善のためと思われた。

B. 術前化学療法は ADR では 200mg 必要であり、MTX では BCD 療法の併用で効果があった。

C. 患肢温存手術は19例中5例に施行され再発はなく、症例を選べば今後も積極的に施行できると思われた。

D. 化学療法有効群は19例中6例ですべて生存して



おり、Rosen の判定基準は骨肉腫の予後を推定できると思われた。

E. 生検時の核面積の大きい症例では、化学療法が有効と考えられた。

F. 切除標本で生検時の核面積より小さくなっている場合には、化学療法剤が有効であり術後も継続して術前と同様の治療をし、核面積に変化がない場合には、化学療法を術前と異なる薬剤に変更すべきである。また、特に切除時の核面積が生検時の核面積より大きくなった場合には、腫瘍の性質が変化し悪性化を示唆すると思われる、術後化学療法は術前とは変更する必要がある、以後も十分な経過観察が必要である。

稿を終わるにあたり御校閲を賜った新潟大学整形外科教室田島達也教授と直接御指導下さった手術部齋藤英彦助教授に深甚なる感謝の意を表します。

#### 参 考 文 献

- 1) Enneking, W.: *Mustuloskeletal tumor surgery*  
New York: Churchill Livingstone: 69~88, 1983.
- 2) Kaplan, E.L. and Meier, P.: Nonparametric estimation for incomplete observation. *J. Am. Stat. Assoc.* **53**: 457~481, 1958.
- 3) Apel, R. et al.: Nuclear polymorphism in osteosarcoma as a prognostic factor for the effect of chemotherapy, *A quantitative study. Virchows Arch*, **405**: 215~223, 1985.
- 4) Rosen, G.: Neoadjuvant chemotherapy for osteogenic sarcoma. A model for the treatment of other highly malignant neoplasms. *Recent results in cancer reserach*, Vol. **103**: 148~157, 1986.
- 5) 土屋 純, 前川 正: 癌と化学療法, **5**: 717~726, 1978.
- 6) 藤田 浩: 抗癌剤の薬理動態: 37~49, 129~143, 1986.
- 7) Link, M. et al.: The effect of adjuvant chemotherapy on relapse-free survival in patients with osteosarcoma of the extremity. *The new England journal of medicine*, **314**: 1600~1606, 1986.
- 8) Edmonson, J. et al.: A controlled pilot study of high-dose methotrexate as postsurgical adjuvant treatment for primary osteosarcoma. *Journal of clinical oncology*, Vol. **2**: 152~156, 1984.