

筑波大学

博士（医学）学位論文

上皮性卵巣癌患者の  
静脈血栓塞栓症の発生原因と  
過凝固状態に着目した新たな予後因子の解明

2017

筑波大学

櫻井 学

# 目次

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| <b>【1】</b> | 緒言および目的  | P 1 |
| <b>【2】</b> | 研究 1: 「上皮性卵巣癌患者の治療開始前静脈血栓<br>栓症の高頻度発生と卵巣癌組織での Tissue<br>Factor 発現に関する研究」 |     |
| 1.         | 方法   |     |
| 1)         | 対象   | P 6 |
| 2)         | 免疫染色方法および判定方法  | P 6 |
| 3)         | 血清 D-Dimer 値の測定と静脈血栓栓症の<br>スクリーニング                                       | P 9 |
| 4)         | 統計学的解析   | P10 |
| 2.         | 結果   |     |
| 1)         | 対象の特性  | P11 |
| 2)         | 腫瘍組織での Tissue Factor の発現   | P11 |
| 3)         | 治療開始前静脈血栓栓症発生の危険因子   | P13 |
| 3.         | 考察   | P17 |
| <b>【3】</b> | 研究 2: 「予後因子としての卵巣癌患者での治療開始<br>前血清 D-Dimer 値の有用性に関する研究」                   |     |
| 1.         | 方法   |     |
| 1)         | 対象   | P22 |
| 2)         | 治療開始前血清 D-Dimer 値の測定   | P22 |
| 3)         | 卵巣癌の治療   | P22 |
| 4)         | 治療開始前静脈血栓栓症の管理   | P25 |
| 5)         | 統計学的解析   | P26 |
| 2.         | 結果   |     |
| 1)         | 対象の特性  | P27 |
| 2)         | 生存率  | P27 |
| 3)         | 治療開始前血清 D-Dimer 値と予後の関係および単  |     |

|  |     |
|--|-----|
| 変量解析 . . . . .                               | P28 |
| 4) 静脈血栓塞栓症の有無と予後の関係 . . . . .                | P30 |
| 5) 治療開始前血清 D-Dimer 値以外の<br>予後因子の解析 . . . . . | P31 |
| 3. 考察 . . . . .                              | P34 |
| <b>【4】</b> 結論 . . . . .                      | P39 |
| <b>【5】</b> 今後の展望 . . . . .                   | P39 |
| <b>【6】</b> 謝辞 . . . . .                      | P40 |
| Reference . . . . .                          | P41 |

## 【1】 緒言および目的

静脈血栓塞栓症（venous thromboembolism: VTE）は、深部静脈血栓症（deep vein thrombosis: DVT）と肺塞栓症の総称で、脊髄損傷、脳卒中後など ADL が低下した患者のほか、股関節手術や骨盤内、腹腔内の手術後に好発する合併症として知られている [1]。また、Trousseau は悪性腫瘍自体が VTE の原因となることを 1865 年に報告した [2]。婦人科悪性腫瘍では骨盤内、腹腔内の手術を行うため、術後に VTE の発生が多いことは以前から知られていた [3,4]。我々のグループは婦人科悪性腫瘍患者では治療開始前、すなわち手術に起因しない VTE が卵巣がんで 25.0%、子宮体がんで 9.9%、子宮頸がんで 4.8%と高頻度に発生していることを報告してきた [5-7]。また、卵巣の明細胞癌で 50%と特に高頻度に発生していることも判明し [5]、我々のグループはその原因として組織因子（tissue factor: TF）の関与を 2007 年に報告した [8]。しかし、この研究には後述する欠点があり、これを補って TF の関与を再度探求するべきであると考えた。また、治療開始前 VTE のスクリーニングには血清 D-Dimer（DD）値を用いてきた。フィブリンの分解産物である DD は、凝固亢進状態に対する線溶亢進の結果として高値を示し、DVT のスクリーニングでは、陽性的中率は 36-44%、陰性的中率は 96-100%と言われている [9-12]。DD は VTE の存在を疑う血栓マーカーの性質を持つ一方で、その値が高いことは乳腺、肺、胃などの悪性腫瘍では予後不良因子として報告されている [13]。しかし、婦人科悪性腫瘍では DD 値と予後の関係を明示した報告はない。

そこで、婦人科悪性腫瘍での DD 値と予後の関係を後方視的に探索することとした。以上により、本論文は研究 1 「卵巢癌患者の治療開始前静脈血栓塞栓症の高頻度発生と卵巢癌組織での Tissue Factor 発現に関する研究」と研究 2 「予後因子としての卵巢癌患者での治療開始前血清 D-Dimer 値の有用性に関する研究」により構成した。以下に各々の研究の目的を示す。

## 研究 1 「卵巢癌患者の治療開始前静脈血栓塞栓症の高頻度発生と卵巢癌組織での Tissue Factor 発現に関する研究」の目的

私は卵巢・卵管・腹膜癌（以下、卵巢がん [卵巢・卵管・腹膜癌はミューラー管由来の悪性腫瘍で現時点ではガイドライン上同一の疾患として取り扱われており、本論文では統一して「卵巢がん」と記載することとした]）、子宮体がん、子宮頸がん患者の治療開始前に DD 値と下肢静脈血管超音波検査を組み合わせた VTE のスクリーニングを行った。その結果として、卵巢がん患者（境界悪性腫瘍を含む）の 25.0% [5]、子宮体がん患者の 9.9% [6]、子宮頸がん患者の 4.8% [7] に、主に不顕性の VTE が発生していることを報告した。また、卵巢明細胞癌の治療開始前の VTE 発生頻度は 50%で、非明細胞癌の 19%に比して有意 ( $P=0.02$ ) に高いことを明らかにした [5]。これまでの報告で、悪性腫瘍患者の過凝固状態には TF とトロンボプラスチンが関係していることが解明されている [14-16]。TF は血液凝固の第Ⅲ因子で、組織の損傷などの際、血管

内皮細胞や単球の表面に発現が誘導され、外因系の血液凝固経路の起点となる。我々のグループは、32名の卵巣悪性腫瘍患者から得た腫瘍組織の免疫組織学的検索を行いTFの発現を調べ、TFが治療開始前の卵巣悪性腫瘍患者のVTE発生に関与している可能性を2007年に報告した[8]。しかし、この報告では術前化学療法後に摘出した検体を用いた患者が15名含まれていたこと、非上皮性卵巣悪性腫瘍患者1名が含まれていたこと、対象患者が少なく多変量解析ができなかったことが欠点として挙げられた。このため、これらの欠点を補う研究を行う必要があった。

そこで研究1の目的は、対象から術前化学療法により腫瘍組織が化学療法に暴露されTFの産生に何らかの影響を受けていた可能性がある患者を除き、対象を上皮性の卵巣癌に限定し、かつ、対象患者を増やした探求により、卵巣癌患者、特に卵巣明細胞癌患者に治療開始前VTEが高頻度に発生していることと卵巣癌組織でのTF発現との関連性を、以前の報告と比べてより明確に示すこととした。

## 研究2「予後因子としての卵巣癌患者での治療開始前血清D-Dimer値の有用性に関する研究」

前述したように、私は治療開始前VTEのスクリーニング時に血清D-Dimer (DD)値を指標とした。このDD値と予後の関連について、後方視的調査研究がいくつかの癌腫で行われている。乳腺では、84名の転移を伴う乳がん患者を対象として、病変の数を

3個以上有するものや、3ヶ月未満で腫瘍の進展がみられるもの、腫瘍径が大きいもので有意にDD高値 ( $P=0.002$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ) であるとするほか、DD高値の群で予後が不良であったと報告 [17]、肺では78名のⅢ/Ⅳ期肺がん患者を対象とし、多変量解析でDD値 ( $>0.65 \mu\text{g/mL}$ )、進行期 (Ⅳ期)、PS (Karnofsky performance status 90-100)が独立した予後不良因子であったとの報告 [18]、大腸では96名の大腸がん患者を対象とし、多変量解析でCEA高値、リンパ節転移とともに初回治療前のDD高値 ( $>0.85 \mu\text{g/mL}$ ) が独立した予後不良因子であったとの報告がある [19]。さらに、1178名のがん患者を対象とした前方視的なコホート研究では、乳腺、肺、胃、下部消化管、膵臓、前立腺、脳、リンパ腫で、DDが高値の患者は予後が不良なことが報告されている [13]。

婦人科領域では卵巣がん患者45名を対象として、部分寛解の患者のDD値 ( $0.14 \pm 0.033 \mu\text{g/mL}$ ) は、完全寛解の患者のDD値 ( $0.09 \pm 0.022 \mu\text{g/mL}$ ) よりも高値だったとの報告がある [20] ほか、second look laparotomy 時のDD値を測定した卵巣癌26名で、卵巣癌の腫瘍マーカーであるCA125の値と残存病変の有無には差がなかった一方で、DD値が0.5から  $1.0 \mu\text{g/mL}$  (正常上限  $0.5 \mu\text{g/mL}$ ) と高値を示した3人では病変の残存が確認できたと報告している [21]。しかし、卵巣癌ではDD値と予後の関連を直接的に調べた報告はない。

そこで研究2の目的は、卵巣癌患者を対象とし、後方視的にDD値を含む臨床病理学



的な情報を予後と比較することで、治療開始前 DD 値が予後因子である可能性を探索することとした。

## 【2】研究 1：「卵巢癌患者の治療開始前静脈血栓塞 栓症の高頻度発生と卵巢癌組織での Tissue Factor 発現に関する研究」

### 1. 方法

#### 1) 対象

本研究のプロトコールは筑波大学附属病院の倫理委員会により承認を得ている。2004年11月から2010年12月までに当院で初回治療を行い、病理学的に卵巢癌と診断され、同意（包括同意）を得て試料を保管したものを対象とした。

対象患者は191名であるが、同意（包括同意）を得られなかった患者10名と研究に用いる腫瘍組織が採取された時点で抗がん剤に暴露されている術前化学療法を受けた患者53名の試料は、治療開始前の静脈血栓塞栓症（venous thromboembolism: VTE）発生の原因を評価するには不相当と判断し除外した。化学療法を行う前に開腹術ないし試験開腹が施行され、検体を得ることができた128名を対象とし、治療開始前VTEの有無にかかわらず、すべての患者で免疫組織学的に tissue factor (TF) 発現の評価を行った。臨床進行期は、FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) 2014により決定し直した。

#### 2) 免疫染色方法および判定方法

免疫染色は我々のグループが2007年に報告した論文と同様の方法で行った [8]。すなわち、手術により得られた試料は10%ホルマリンに固定し、パラフィンブロックとした。腫瘍組織を含むパラフィンブロックを選別し患者1人につき3カ所、厚さ3  $\mu$ mの切片を作成した。

キシレンで脱パラフィン化を行い、100%エタノールで再水和を行った。抗原賦活化のため、10 mM のクエン酸緩衝液 (pH6.0) を用いて500 W の電子レンジで5分間のマイクロウェーブ処理をしたあと、氷水で約20分間冷却した。内因性ペルオキシダーゼ活性除去のため0.3%過酸化水素含有メタノール溶液にて室温で15分間ブロッキングした。免疫染色は酵素抗体法 (免疫ペルオキシダーゼ法) を用いた。一次抗体には tissue factor (TF) に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (希釈1:50, Cedarlane Laboratories, Burlington, NC) を用いた。41  $^{\circ}$ Cで15時間インキュベートして、抗原抗体反応を行った後、ビオチン化二次抗体を用いたABC法で標識酵素を結合させDABで発色、ヘマトキシリンで核染色を行った。

免疫染色を実施する度、positive と negative の両 control を設定した。positive control には、TF が染色される臍帯を [22]、negative control には一次抗体として、TF に対する抗ヒトマウスモノクローナル抗体の代わりに正常マウス血清を反応させた切片を用いた。

TF の発現強度は、腫瘍細胞に占める TF 陽性細胞の割合と発現強度に基づいて、

negative, weakly positive (<50% positive tumor cells) , moderately positive ( $\geq$ 50% positive tumor cells with weak intensity) , strongly positive ( $\geq$ 50% positive tumor cells with strong intensity) の4つに分類した [23]。それぞれの例を Figure 1 に示した。すべての免疫組織学的評価は、患者のすべての臨床病理学的情報は伏せた上で、2人の独立したオブザーバーによって行った。

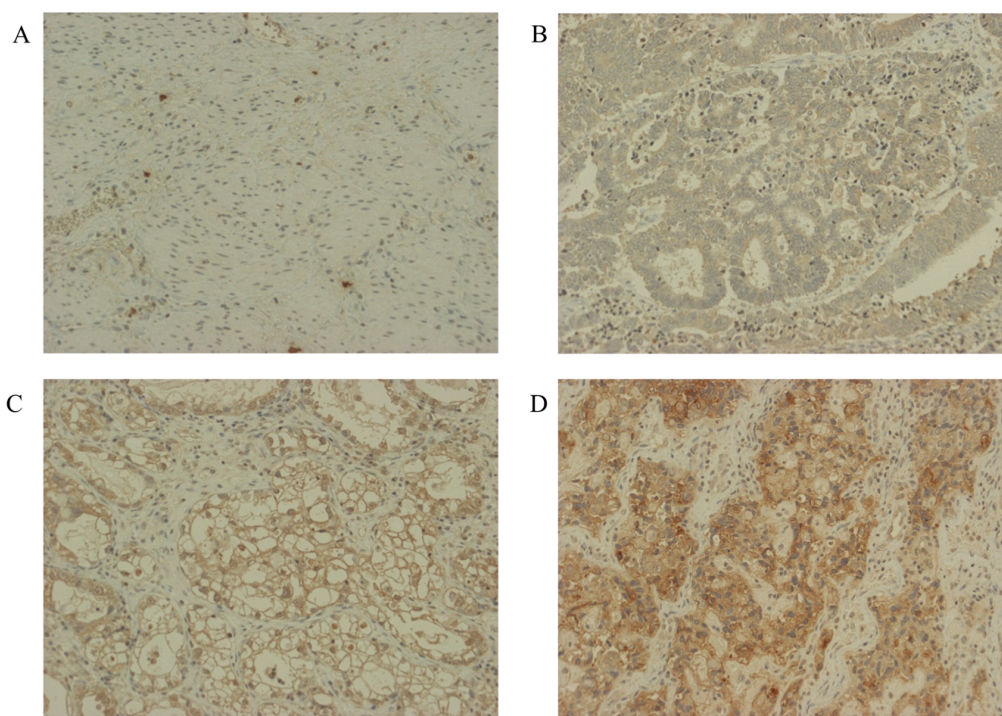


Figure 1. 上皮性卵巣癌での Tissue Factor の免疫組織化学染色

A. negative, B. weakly positive (<50% positive tumor cells) , C. moderately positive ( $\geq$ 50% positive tumor cells with weak intensity) , D. strongly positive ( $\geq$ 50% positive tumor cells with strong intensity)

### 3) 血清 D-Dimer 値の測定と静脈血栓塞栓症のスクリーニング

治療開始前にすべての患者から末梢血を採取し、血清 D-Dimer (DD) 値を測定した。

血液の採取は肘静脈から無傷針を用いて行った。測定はラテックス凝集比濁法で行った。

静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) の検索方法は、すでに publish されている我々の論文と同様の方法で行った [5-8]。すなわち、深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis: DVT) を検出するために、すべての患者で下肢静脈超音波検査を施行した。超音波検査には、3-7.5 MHz の変換器を備えている ATL HDI5000 システム (フィリップス Medical Systems、Bothell、WA、USA) を用いた。両側の腸骨静脈、大腿静脈、大伏在静脈、膝窩静脈、腓骨静脈、後脛骨静脈およびヒラメ筋静脈で DVT の有無を評価した。腸骨静脈と大腿静脈は仰臥位で、その他の静脈は直立座位で評価した。プローベによる用手的圧迫法とカラードップラー法を用いて静脈の内腔を観察し、血栓の有無を探索した。骨盤内静脈の評価は、バルサルバ法による観察を行った。また、すべての患者は骨盤内腫瘍の広がりや腸骨静脈および下大静脈での血栓を把握するために CT (computed tomography) と MRI (magnetic resonance imaging) を用いた広範囲での画像的検索が行われた。

下肢静脈超音波検査で DVT が検出されたすべての患者は胸部造影 CT もしくは Tc-99

を用いた肺血流シンチグラフィによって、肺塞栓症の有無を調べた。

#### 4) 統計学的解析

カテゴリーデータは頻度と割合、連続データは平均値と標準偏差を用いて要約した。

カテゴリーデータの解析には、Fisher の正確確率検定を用いた。連続データの 2 群間差は、student の t 検定、3 群以上の比較には分散分析を用いた。

静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) 発生の潜在的な危険因子の探索のために、年齢、body mass index、進行期、治療開始前 D-Dimer 値、組織型、tissue factor (TF) の発現強度を単変量解析の変数とした。単変量解析で有意差を示した因子を対象に多変量解析を行った。強い相関を示す因子は、P 値が低いものを選び、多変量解析に用いた。

進行期毎の TF の発現強度および組織型と VTE 発生の関与を評価するため、TF の発現強度と進行期を含んだ多変量モデル (TF の発現強度と進行期の相互影響、組織型と進行期の相互影響) を追加した。

全ての解析は SAS version 9.4 software (SAS Institute, Cary, NC) を用いて解析し、 $P < 0.05$  を有意差ありと判断した。

## 2. 結果

## 1) 対象の特性

初回治療時の患者 (n=128) の平均年齢は  $56.6 \pm 11.3$  歳、body mass index の平均値は  $22.4 \pm 3.4 \text{ kg/m}^2$ 、治療開始前血清 D-Dimer 値の平均値は  $4.2 \pm 5.6 \mu\text{g/mL}$  であった。

FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) 2014 分類による進行期は I 期 55 人、II 期 22 人、III 期 37 人、IV 期 14 人で、組織型の内訳は、漿液性癌 42 人、明細胞癌 53 人、類内膜癌 15 人、粘液性癌 12 人、未分化癌 6 人であった (Table 1)。

**Table 1. Stage and Histology (n=128)**

| FIGO stage | Histology |            |              |          |                  | n (%)    |
|------------|-----------|------------|--------------|----------|------------------|----------|
|            | Serous    | Clear cell | Endometrioid | Mucinous | Undifferentiated |          |
| I          | 1         | 34         | 8            | 9        | 3                | 55 (43)  |
| II         | 7         | 9          | 4            | 2        | 0                | 22 (17)  |
| III        | 24        | 7          | 3            | 1        | 2                | 37 (29)  |
| IV         | 10        | 3          | 0            | 0        | 1                | 14 (11)  |
|            | 42(33)    | 53(41)     | 15(12)       | 12(9)    | 6(5)             | 128(100) |

FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics

## 2) 腫瘍組織での Tissue Factor の発現

免疫染色は、初回治療として付属器摘出を含む開腹手術を受けた 126 名から得られた手術検体と術前化学療法の施行前に試験開腹が行われた 2 名の生検組織を用いて行った。

tissue factor (TF) は 128 名中 71 名 (weakly positive 23 名、moderately positive 32 名、strongly positive 16 名)、55.5% で発現していた。TF の発現強度と年齢、body mass index、治療開始前血清 D-Dimer 値には相関が見られなかった。進行期別の発現は、I

期が 81.8%、II 期が 45.4%、III 期が 29.7%、IV 期が 35.7% と進行癌で有意に TF の発現が低くなっていた ( $P < 0.001$ )。組織型別では、明細胞癌で 94.3% (50/53)、漿液性癌で 23.8% (10/42)、類内膜癌で 26.7% (4/15)、粘液性癌で 58.3% (7/12)、未分化癌で 0% (0/6) の発現だった。TF の発現頻度は、明細胞癌のほうが非明細胞癌よりも有意に高率で、かつ、発現強度が強かった ( $P < 0.001$ ) (Table 2)。TF の発現強度が、negative から weakly、moderately、strongly へと強くなるに従って、治療開始前の静脈血栓塞栓症の発生率も 15.8%、17.4%、37.5%、37.5% と有意に上昇した ( $P = 0.0014$ ) (Table 3)。

**Table 2. Patient characteristics according to intensity of TF expression in cancer tissues**

|                                  | Intensity of TF expression |                              |                                  |                                | <i>P</i> * |
|----------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|------------|
|                                  | Negative<br>(n=57)         | Weakly<br>positive<br>(n=23) | Moderately<br>positive<br>(n=32) | Strongly<br>positive<br>(n=16) |            |
| Age, years (mean±SD)             | 56.4±11.8                  | 55.6±13.6                    | 58.3±9.9                         | 55.5±9.6                       | 0.797      |
| BMI, kg/m <sup>2</sup> (mean±SD) | 22.8±3.6                   | 22.7±3.9                     | 21.9±2.8                         | 21.4±2.6                       | 0.376      |
| D-dimer, µg/mL (mean±SD)         | 4.3±5.6                    | 3.1±4.6                      | 4.8±6.1                          | 4.5±6.6                        | 0.723      |
| FIGO stage, n (%)                |                            |                              |                                  |                                |            |
| I                                | 10 (18.2)                  | 16 (29.1)                    | 18 (32.7)                        | 11 (20.0)                      | <0.001     |
| II                               | 12 (54.5)                  | 2 (9.1)                      | 5 (22.7)                         | 3 (13.6)                       |            |
| III                              | 26 (70.3)                  | 5 (13.5)                     | 5 (13.5)                         | 1 (2.7)                        |            |
| IV                               | 9 (64.3)                   | 0 (0)                        | 4 (28.6)                         | 1 (7.1)                        |            |
| Histology, n (%)                 |                            |                              |                                  |                                |            |
| Clear cell carcinoma             | 3 (5.7)                    | 10 (18.9)                    | 25 (47.2)                        | 15 (28.3)                      | <0.001     |
| Non-Clear cell carcinoma         | 54 (72.0)                  | 13 (17.3)                    | 7 (9.3)                          | 1 (1.3)                        |            |

\* Analyzed using Student's t-test for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables

BMI, body mass index; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics;

SD, standard deviation; TF, tissue factor.



**Table 3. Incidence of VTE for each intensity of TF expression**

|                            | Incidence of VTE | <i>P</i> |
|----------------------------|------------------|----------|
| Intensity of TF expression | n (%)            |          |
| Negative                   | 9/57 (15.8)      | 0.014    |
| Weakly positive            | 4/23 (17.4)      |          |
| Moderately positive        | 12/32 (37.5)     |          |
| Strongly positive          | 6/16 (37.5)      |          |

P for trend=0.014

TF, tissue factor; VTE, venous thromboembolism.

### 3) 治療開始前静脈血栓塞栓症発生の危険因子

治療開始前の静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) は 31 名 (24.2%) に発生しており、深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis: DVT) のみ 20 名、DVT および肺塞栓症 (pulmonary embolism: PE) 8 名、PE のみ 3 名で 96.8%が無症候性だった。

治療開始前 VTE 発生の危険因子を探索するために、単変量解析を行ったところ、VTE 発生患者の血清 D-Dimer (DD) 値は  $7.4 \pm 6.4 \mu\text{g/ml}$ 、発生していない患者では  $3.2 \pm 5.0 \mu\text{g/ml}$  と VTE 発生患者で有意に高値だった ( $P < 0.001$ )。また、VTE は明細胞癌の 34.0% (18/53) に発生しており非明細胞癌の 17.3% (13/75) よりも有意に高率だった ( $P = 0.03$ )。

さらに、tissue factor (TF) 陽性群では、31.0% (22/71) に VTE が発生しており TF 陰性群の 15.8% (9/57) よりも有意に高率だった ( $P = 0.049$ )。TF 発現強度に注目すると、moderately/strongly positive 群の 37.5% (18/48) に発生しており、negative/weakly positive 群の 16.3% (13/80) よりも有意に高率だった ( $P = 0.008$ )。

多変量解析は、治療開始前 DD 値と TF の発現強度 (negative/weakly positive 群対 moderately/strongly positive 群) の 2 つの因子で行った。TF 発現に関しては「TF 陽性と陰性群」「TF の発現強度」で  $P < 0.05$  であったが、より P 値が低い後者を選択した。また、「TF の発現強度」と「明細胞癌/非明細胞癌」の Spearman 相関係数は 0.66 で、多重共線性があり、多変量解析モデルに明細胞癌と TF の発現強度を同時に用いることは統計学的に不適當であるため P 値がより低い前者を選択した。多変量解析の結果、治療開始前 VTE 発生に関して、治療開始前 DD 値と TF の発現強度が、それぞれ独立した危険因子であることが示された ( $P < 0.0001$ 、 $P < 0.007$ ) (Table 4)。

**Table 4. Logistic regression analysis for venous thromboembolism**

| Characteristics               | Univariate       |                  | Multivariate |                  |          |
|-------------------------------|------------------|------------------|--------------|------------------|----------|
|                               | Incidence (%)    | OR (95%CI)       | <i>P</i>     | Adj. OR (95%CI)  | <i>P</i> |
| <b>Age (years)</b>            |                  |                  |              |                  |          |
| <60                           | 17/81<br>(21.0)  | Reference        | 0.26         |                  |          |
| ≥60                           | 14/47<br>(29.8)  | 1.60 (0.70-3.64) |              |                  |          |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b> |                  |                  |              |                  |          |
| <25                           | 28/108<br>(25.9) | Reference        | 0.30         |                  |          |
| ≥25                           | 3/20<br>(15.0)   | 0.50 (0.14-1.85) |              |                  |          |
| <b>Expression of TF</b>       |                  |                  |              |                  |          |
| Negative                      | 9/57<br>(15.8)   | Reference        | 0.014        |                  |          |
| Weakly positive               | 4/23<br>(17.4)   | 1.60 (1.10-2.32) |              |                  |          |
| Moderately positive           | 12/32<br>(37.5)  | -                |              |                  |          |
| Strongly positive             | 6/16<br>(37.5)   | -                |              |                  |          |
| Negative                      | 9/57<br>(15.8)   | Reference        | 0.049        |                  |          |
| Positive                      | 22/71<br>(31.0)  | 2.39 (1.00-5.73) |              |                  |          |
| Negative/weakly positive      | 13/80<br>(16.3)  | Reference        | 0.008        | Reference        | 0.007    |
| Moderately/strongly positiv   | 18/48<br>(37.5)  | 3.09 (1.34-7.11) |              | 3.59 (1.43-8.99) |          |
| <b>Stage (FIGO)</b>           |                  |                  |              |                  |          |
| Stage I/II                    | 19/77<br>(24.7)  | Reference        | 0.88         |                  |          |
| Stage III/IV                  | 12/51<br>(23.5)  | 1.00 (0.96-1.04) |              |                  |          |

**Histology**

|                          |                 |                  |      |
|--------------------------|-----------------|------------------|------|
| Non-Clear cell carcinoma | 13/75<br>(17.3) | Reference        | 0.03 |
| Clear cell carcinoma     | 18/53<br>(34.0) | 2.45 (1.07-5.60) |      |
| Serous carcinoma         | 7/42<br>(16.7)  | Reference        | 0.17 |
| Non-serous carcinoma     | 24/86<br>(27.9) | 1.94 (0.76-4.95) |      |

**Pretreatment plasma  
D-dimer level (µg/mL)**

|      |                 |                  |         |                  |         |
|------|-----------------|------------------|---------|------------------|---------|
| <2.0 | 8/74<br>(10.8)  | Reference        | <0.0001 | Reference        | <0.0001 |
| ≥2.0 | 23/54<br>(42.6) | 6.25 (2.44-14.3) |         | 3.59 (1.43-8.99) |         |

BMI, body mass index; CI, confidence interval; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics; OR, odds ratio; TF, tissue factor.

early stage (I/II) と advanced stage (III/IV) に分けて、明細胞癌と TF が治療開始前 VTE 発生の危険因子になっているかを調べたところ、early stage では TF の moderately/strongly positive 群の治療開始前 VTE 発生頻度は 32.4% (12/37) で、negative/weakly positive 群の 17.5% (7/40) と比して統計学的には有意ではないものの、VTE の発生リスクは高まる傾向があった。advanced stage では、moderately/strongly positive 群の治療開始前 VTE 発生頻度は 54.5% (6/11) で、negative/weakly positive 群の 15.0% (6/40) と比して VTE の発生リスクが有意 (P=0.021) に上昇した (Table 5)。また、early stage では明細胞癌の治療前 VTE 発生頻度は 30.2% (13/43)、非明細胞癌では 17.6% (6/34)、advanced stage では明細胞癌の治療開始前 VTE 発生頻度は 50.0% (5/10)、非明細胞癌では 17.1% (7/41) と双方で明細胞癌患者では高頻度に治療開始前 VTE が発生している傾

向が確認された (Table 5)。

**Table 5. Effect of TF and histological type on risk of VTE in early and advanced stage disease**

| Factor   | Stage           | Adj OR (95%CI)     | P     |
|--|-----------------|--------------------|-------|
| <b>TF</b>  | Early (n=77)    | 2.21 (0.69, 7.13)  | 0.184 |
| Moderately/strongly positive(n=48) vs Negative/weakly positive(n=80) | Advanced (n=51) | 6.44 (1.32, 31.36) | 0.021 |
| <b>Histological type</b>   | Early (n=77)    | 2.48 (0.74, 8.37)  | 0.143 |
| CCC(n=53) vs non-CCCn=(75)   | Advanced (n=51) | 3.69 (0.77, 17.81) | 0.104 |

CCC, clear cell carcinoma; CI, confidence interval; OR, odds ratio; TF, tissue factor  
Advanced (III or IV), Early (I or II)

### 3. 考察

我々のグループは2007年に卵巣悪性腫瘍患者32名(明細胞癌患者11名)を対象とした研究を行い、tissue factor (TF) の腫瘍組織内での発現と治療開始前 (venous thromboembolism: VTE) 発生には関連性があること、明細胞癌患者の45.5% (5/11) に治療開始前VTEが発生しており、非明細胞癌患者と比較して有意に高率であることを示した報告している [8]。しかし、この報告には前述のように、術前化学療法 (neoadjuvant chemotherapy: NAC) 後の検体を用いた患者、非上皮性卵巣悪性腫瘍の患者が含まれていたこと、また、対象患者が少ないという欠点があった。今回の研究ではこれを補い、以前の報告と比べて卵巣癌に併発するVTEには腫瘍が産生するTFが関連しており、特に明細胞癌患者で顕著であることをより明確に示すことができた。

本研究では卵巣癌患者において、腫瘍組織のTFの発現強度が高いほど治療開始前VTEの併発率が高いことを示した。また、明細胞癌患者の34.0% (18/53) が治療開始前にVTEが発生しており、非明細胞癌患者と比較し有意に高率であることが再確認さ

れた。TF は卵巣癌の中でも明細胞癌の 94.3% (50/53) に発現していて、非明細胞癌の 28% (21/75) に比し有意 ( $P<0.001$ ) に高発現していることも再確認された (Table 2)。

我々のグループ以外からも明細胞癌患者の VTE 発生割合は 15-42% [24-26] で、非明細胞癌患者より発生率が高いことが報告されている。我々のグループは 2007 年の論文で、明細胞癌患者の VTE は癌組織が産生する TF に起因する可能性を指摘していた。

本研究では、TF は I/II 期で高発現していた。これは、95% 近くの患者に TF が発現していた明細胞癌の 81.1% (43/53) が I/II 期であることに起因する。

TF は、血管内皮細胞の障害などにより放出され第 VII 因子と結合し外因系の凝固を促進する [27]。本研究結果からも卵巣癌、特に明細胞癌では腫瘍内に存在する TF が血管内に放出されることで外因系凝固経路が活性化され VTE の発生頻度が高くなるという機序が推定される。

今回の多変量解析の結果、卵巣癌の治療開始前 VTE 発生のリスク因子は、TF の発現強度と治療開始前 DD 値が独立した有意な因子として抽出された。TF は外因系凝固過程を経て血栓を形成する過程の早い段階に関わり、VTE の原因と見なすことができ、D-Dimer はフィブリン形成を経た後の分解産物 [28] で血栓が形成された結果に過ぎないと見なすことができる。従って、TF を卵巣癌が産生することが卵巣癌の治療開始前 VTE 発生の本質的なリスク因子と考えられる。ただし、TF の発現強度は腫瘍摘出後には分からないため、治療開始前 DD 値が臨床的には有用である。また、明細胞癌は単

変量解析では有意なリスク因子として抽出されたが、TF の発現強度と交絡していると考えられ P 値がより低い TF の発現強度を多変量解析の対象因子とした。しかし、前述のように TF 発現強度は治療開始前には評価できない。試みに明細胞癌と治療開始前 DD 値による多変量解析を行うと、どちらも独立した有意な危険因子（明細胞癌：P=0.014；治療開始前 DD 値：P<0.0001）として抽出された。明細胞癌の最終診断は病理結果を待つ必要があるが、明細胞癌であろうことは病歴、治療開始前の画像診断や腫瘍マーカーの値などから高確率に推定可能である。臨床的には治療開始前 VTE 発生のリスク評価は明細胞癌の可能性の程度と治療開始前 DD 値で行うことになる。

本邦での一般的な卵巣癌の患者分布は I/II 期が 40-50%、III/IV 期が 50-60%で、組織型では明細胞癌：非明細胞癌=1:3 であるが、本研究の対象は、I/II 期が 60%と多く、明細胞癌が 41%と多い。これは 2007 年の我々の研究で約半数を占めていた NAC を行った患者を、本研究では対象から除外したことによる。NAC は抗がん剤治療が奏効する可能性が高い組織型が推定され、III/IV 期で最初に手術を行っても完治を望めるほどには腫瘍を摘出しきれないような患者に選択される。また、本試験の対象患者の中には III/IV 期卵巣癌患者を対象とした NAC 療法の手術先行治療に対する非劣勢ランダム化比較試験 JCOG (Japan Clinical Oncology Group) 0602 [29] に参加した患者が含まれている。NAC 後の腫瘍組織を用いた場合、腫瘍細胞の性格が治療前から変化している可能性があり、治療後の検体で免疫染色を行った結果を治療開始前 VTE の発生原因

の評価に用いることは不適當であるため NAC 患者は本研究から除外する必要があった。NAC 患者の 84.9% (45/53) は漿液性癌で、96.2% (51/53) は III/IV 期であるため、この組織型と進行期の患者の割合が連動して低くなり、相対的に I/II 期と明細胞癌の患者を多く含むこととなった。一般と異なる患者背景となったため、I/II 期と III/IV 期のおのおので TF の発現強度および組織型と治療開始前 VTE の発症を検討したところ、TF 発現が VTE 発生に与える影響は、advanced stage でより明らかであることが示唆された。

本研究では、(1) 腫瘍での TF 発現は、治療開始前 VTE 発生に関して、独立した有意な危険因子で、advanced stage でより強く影響すること、(2) TF の発現強度が強くなるほど、治療開始前 VTE の発生率が高くなること、(3) TF の発現率および発現強度は共に、非明細胞癌よりも明細胞癌でより高くなること、(4) 明細胞癌では非明細胞癌よりも治療開始前 VTE の発生率が高いことが確認できた。これにより、明細胞癌の TF 産生能が、明細胞癌での治療開始前 VTE の発生に関与していることが強く示唆された。

国立がん研究センターによると、本邦での卵巣癌の年間罹患者数は 2000 年には 7500 人程度であったが、近年増加傾向で 2016 年の罹患者数予測は 10,000 人を超えている [30]。本邦での卵巣癌に占める明細胞癌の割合は 1998 年 18.5%であったのに対し、2014 年では 24.8%と増加している [31]。明細胞癌には子宮内膜症からの発生経路があり、明



細胞癌の頻度が高くなった一因としてライフサイクルの変化による子宮内膜症患者の増加が指摘されている。子宮内膜症はエストロゲン依存性の疾患で、性成熟期女性において月経回数が多いと発症・悪化の頻度が増すが、妊娠、出産、授乳期間にエストロゲン活性が低くなると病勢が改まる。本邦での晩婚化、これに伴う初産年齢の高齢化、出生数の低下などは子宮内膜症の罹患率をあげる要因であり、これに伴い、今後、明細胞癌の発生はさらに増加し、婦人科悪性腫瘍での治療開始前VTEの発生件数も増加することが懸念される。

### 【3】研究 2：「予後因子としての卵巣癌患者での治療開始前血清 D-Dimer 値の有用性に関する研究」

#### 1. 方法

##### 1) 対象

本研究のプロトコールは筑波大学附属病院の倫理委員会により承認を得ている。2004年11月から2010年12月までに当院で初回治療を行い、病理学的に卵巣癌と診断された191名のうち、進行期I期57名を除いた134名を対象とした。進行期はFIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) 2014により決定し直した。研究開始時、進行期I期も対象にしていたが、2004年時点での5年生存率が90.4%[32]と予後良好な群が対象の3分の1を占めることは妥当ではないと判断した。

##### 2) 治療開始前血清 D-Dimer 値の測定

治療開始前 D-Dimer の測定は、研究 1 と同様に行った。

##### 3) 卵巣癌の治療

卵巣癌に対する治療法の内訳を示す。

134名のうち74名には手術 (primary debulking surgery: PDS [初回治療として病巣

の完全摘出または可及的に最大限の腫瘍減量を行う術式] および術後化学療法が行われていた。60名には術前化学療法 (neoadjuvant chemotherapy: NAC) が選択され、58名では手術 (interval debulking surgery; IDS) を化学療法の中に挟み、前後で化学療法が施行され、2名は手術は行われず化学療法のための治療だった。手術を先行した場合も NAC の場合も、ともに術式は単純子宮全摘術+両側付属器摘出術+大網切除術+骨盤内および傍大動脈リンパ節廓清ないし生検の標準術式を基本とし、必要に応じて播種巣切除などが追加されていた。II 期以上の卵巣癌患者の 5 年生存率は一般に、complete surgery (肉眼的に残存腫瘍なしとなった手術) で 65%、optimal surgery (最大残存腫瘍径<1 cm となった手術) の場合は 33%、suboptimal surgery (最大残存腫瘍径<1 cm を達成できなかった手術) では 24% [33] であり、本研究の対象者も可能な限り complete surgery、少なくとも optimal surgery を目標に腫瘍減量術を行った。

全患者の 95.5% で初回化学療法には、レジメンにパクリタキセル・カルボプラチン併用 (TC) 療法が選択されていた。残りの 4.5% はドセタキセル・カルボプラチン併用 (DC) 療法が 3 名、イリノテカン・シスプラチン (CPT-P) 療法が 1 名、カルボプラチン (C) 単剤療法が 2 名であった。

手術を先行した 74 名中 65 名は一期的な手術が選択され、II から IIIB 期の 20 名は全員が complete surgery であった。IIIC ないし IV 期の 45 名中 19 名は complete surgery、18 名は optimal surgery、8 名は suboptimal surgery だった。残りの 9 名には組織学的

な診断確定のため、まず付属器摘出術（±単純子宮摘出術）が施行され、卵巣癌の診断確定後に標準術式を完遂するため二期的にリンパ節廓清もしくは生検を含む手術が行われた。

手術を先行した74名全員に後療法として化学療法を行った。その内訳はTC療法が68名、DC療法が3名、CPT-P療法が1名、C単剤療法が2名だった。

NACを施行した60名の初回化学療法はTC療法だった。化学療法を3ないし4サイクル施行した後、58名にIDSが行われ、complete surgeryが35名、optimal surgeryが16名、suboptimal surgeryが7名だった。術後の化学療法は52名がTC療法を継続、1名がカルボプラチンのアレルギーのためパクリタキセル・ネダプラチン(TN)療法へ、1名がGrade 4の好中球減少のためカルボプラチンをシスプラチンの腹腔内投与へ、1名がカルボプラチンのアレルギーおよびNACの効果がstable disease (SD)のためドセタキセル・ネダプラチン(DN)療法へ、1名がパクリタキセルによるGrade 3の肝障害のためDC療法へ、1名がGrade 2の中毒疹様紅斑のためイリノテカン・ネダプラチン(CPT-N)療法へ、1名がNACの効果がSDのためイリノテカン・カルボプラチン(CPT-C)療法へとレジメンが変更されていた。

NACを選択した患者のうち手術が行われなかった2名は、IDSを行う前に病勢が進行しNACを完遂せず死亡していた (Table 6)。

**Table 6. Primary treatments and chemotherapy regimens (n=134)**

| <b>Treatments</b>                 | <b>Number (%)</b> |
|-----------------------------------|-------------------|
| Primary treatments                |                   |
| PDS+adjuvant CT                   | 53 (40.0%)        |
| PDS+adjuvant CT+IDS               | 21 (15.7%)        |
| NAC+IDS                           | 58 (43.3%)        |
| CT                                | 2 (1.5%)          |
| Regimens during primary treatment |                   |
| TC                                | 128 (95.6%)       |
| DC                                | 3 (2.2%)          |
| CPT-P                             | 1 (0.7%)          |
| C                                 | 2 (1.5%)          |

PDS, primary debulking surgery; CT, chemotherapy; IDS, inter debulking surgery; NAC, neo-adjuvant chemotherapy; TC, paclitaxel + carboplatin; DC, docetaxel + carboplatin; CPT-P, irinotecan + cisplatin; C, carboplatin alone.

#### 4) 治療開始前静脈血栓塞栓症の管理

血液検査で血清 D-Dimer (DD) 値を測定したあと、下肢静脈超音波検査もしくは造影 CT を施行した。134 名中 33 名 (24.6%) で静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) が発見された。深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis: DVT) のみが 23 名、DVT と肺塞栓症 (pulmonary embolism: PE) の併発が 8 名、PE のみが 1 名であった。32 名は無症候性 VTE で 1 名のみ症候性 DVT であった。VTE 発見時から、全患者に対して卵巣癌の治療前に未分画ヘパリンによる抗凝固療法 (anticoagulant therapy: ACT) を開始、中枢型の DVT がある場合、抹消型でも浮遊血栓がある場合、肺塞栓がある場合には下大静脈フィルター (inferior vena cava filter: IVCF) の留置を考慮した。

卵巣癌に対する治療は、DVT がヒラメ筋静脈など抹消に局限し器質化している場合な

ど術後症候性 VTE 発症のリスクが低い場合には標準手術を行った。標準手術を行うことでの手術侵襲により術後症候性 VTE 発症のリスクが高く、かつ、漿液性癌など化学療法が奏効する可能性が高い組織型が推定される場合には NAC を施行した。また、VTE の原因が、巨大腫瘍による静脈の圧迫や明細胞癌によるものと推定され、腫瘍の存在自体と考えられる場合には主病変のみを摘出し、VTE の軽快あるいは消失後に二期的に標準術式を完遂させることとしていた。術前に VTE を発見した 33 名は primary debulking surgery (PDS) もしくは interval debulking surgery (IDS) の後にも ACT を行った。結果として、PDS+ACT が 7 名、PDS+IVCF+ACT が 5 名、NAC+ACT が 18 名、二期的手術+ACT が 3 名であった。

初回治療中に、症候性 VTE を発症した患者はいなかった。

## 5) 統計学的解析

生存率は Kaplan-Meier 法にて解析し、log-rank 検定を行った。予後因子は、治療開始前 D-Dimer 値、治療開始前の静脈血栓塞栓症の有無、年齢、body mass index、遠隔転移の有無、組織型、進行期、初回手術後の残存腫瘍の有無、CT で短径 10 mm を超えるリンパ節腫大の有無、画像診断上の大量腹水の有無、CA125 値、MRI で 100 mm を超える腫瘍径の有無について単変量解析を行い解析した。単変量解析で  $P < 0.05$  の因子を抽出し、交絡がある因子は最も P 値が低い因子を選択した上で多変量解析を行った。

多変量解析はCoxのハザードモデルで行った。データの解析は、JMP 9.0 software (SAS Institute, Cary, NC)で行った。観察期間の最終日は2013年2月28日とした。

## 2. 結果

### 1) 対象の特性

134名の平均年齢は、 $57.8 \pm 11.3$ 歳、body mass indexの平均値は、 $22.5 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup>だった。治療開始前D-Dimerの平均値は、 $7.4 \pm 6.8$  μg/mLだった。FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) 2014による進行期分類はII期24名、III期75名、IV期35名で、組織型の内訳は、漿液性癌94名、明細胞癌24名、類内膜癌7名、粘液性癌5名、未分化癌4名だった (Table 7)。

**Table 7. Patient Characteristics (n=134)**

|                                    | No. Patients (%) or Mean (SD) |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Age at diagnosis, y                | 57.8 (±11.3)                  |
| Body mass index, kg/m <sup>2</sup> | 22.5 (±3.9)                   |
| FIGO stage                         |                               |
| II                                 | 24 (17.9%)                    |
| III                                | 76 (56.7%)                    |
| IV                                 | 34 (25.4%)                    |
| Histology                          |                               |
| Serous                             | 94 (70.1%)                    |
| Clear cell                         | 24 (17.9%)                    |
| Endometrioid                       | 7 (5.2%)                      |
| Mucinous                           | 5 (3.8%)                      |
| Undifferentiated                   | 4 (3.0%)                      |

FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics.

## 2) 生存率

観察期間中央値は 47 (23-100) ヶ月だった。134 名全員の 5 年生存率は 61.6%で、進行期別ではⅡ期 90.7%、Ⅲ期 62.8%、Ⅳ期 35.2%だった。

## 3) 治療開始前血清 D-Dimer 値と予後の関係および単変量解析

全対象の治療開始前 D-Dimer (DD) 値の平均値は  $7.4 \pm 6.8 \mu\text{g/mL}$  だった。単変量解析では、DD の cut off 値を 1.5、2.0、2.5  $\mu\text{g/mL}$  とした際、 $\text{DD} \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  の群では、未満の群よりも 5 年生存率が有意 ( $P=0.039$ ) に低かった。Figure 2 に、 $\text{DD} \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  群と  $\text{DD} < 2.0 \mu\text{g/mL}$  群の生存曲線を示した (Figure 2)。 $\text{DD} \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  と未満で比較したハザード比は 2.01 (95% confidence interval; CI, 1.07-4.64) で、5 年生存率は、 $\text{DD} \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  の群で 53.6%、2.0  $\mu\text{g/mL}$  未満の群で 72.2%だった。単変量ロジスティックモデルに基づく、Youden index による ROC (receiver operating characteristic) 曲線の副解析では対象の DD 値の cut off 値は 2.2  $\mu\text{g/mL}$  で AUC (area under the curve) は 0.55 だった (Figure 3)。臨床上用いる cut off 値としては、区切りのよい数字が好ましいため、本研究では 2.0  $\mu\text{g/mL}$  を用いた。



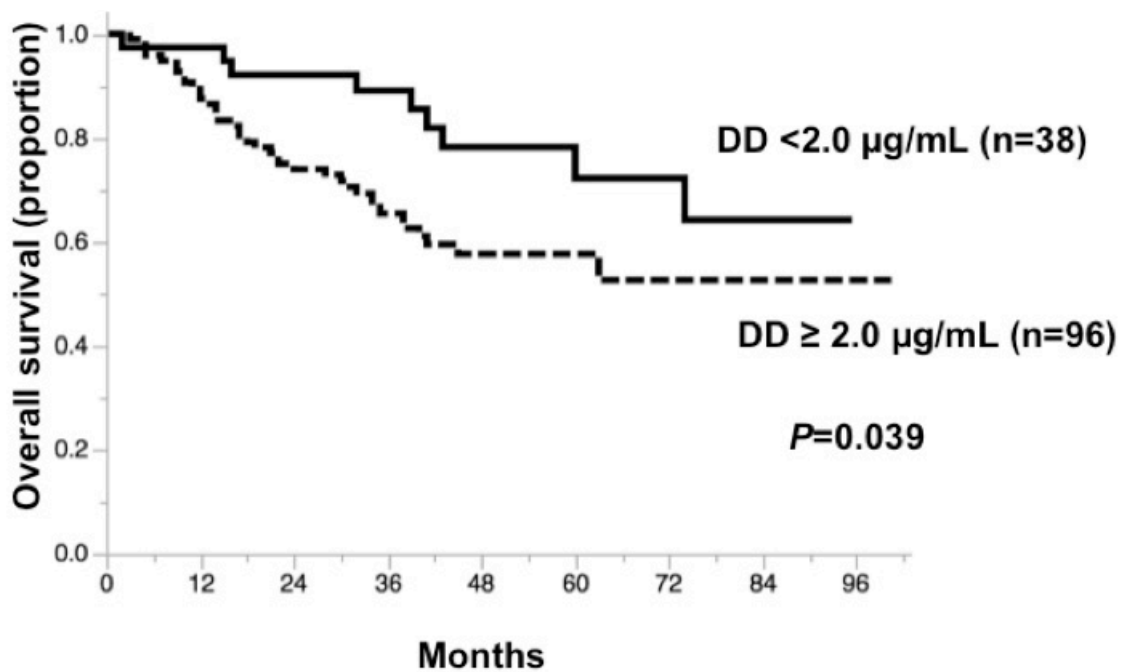
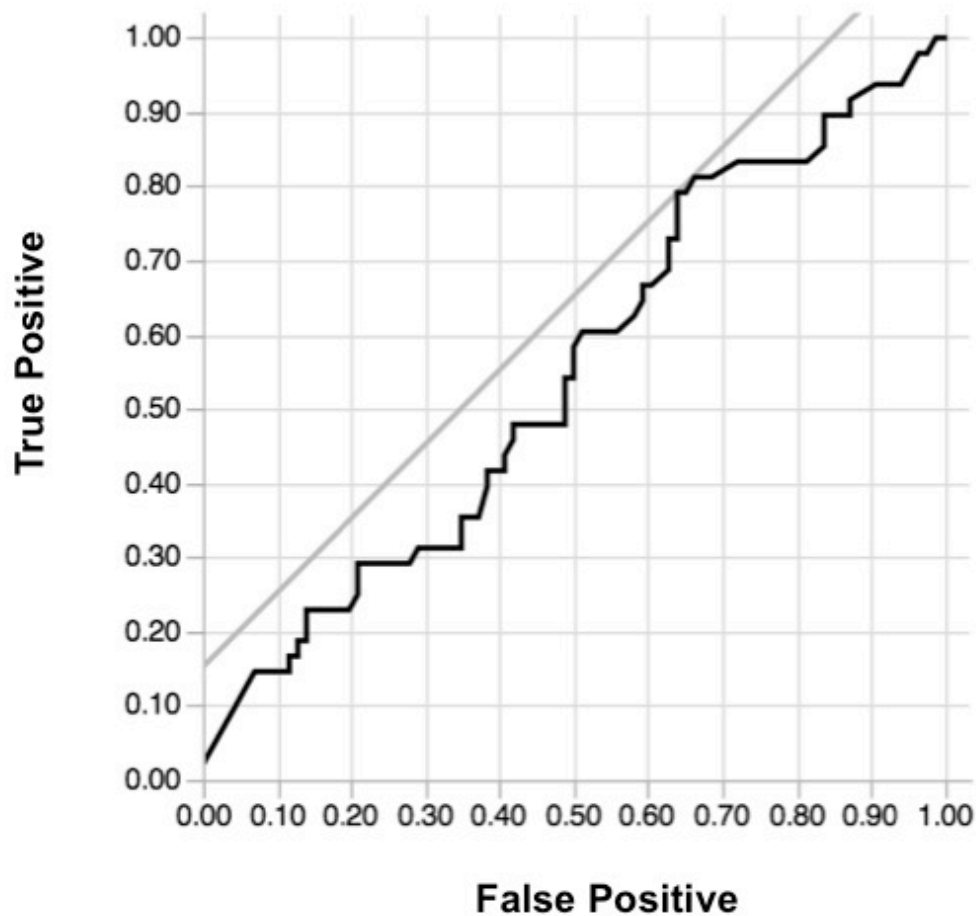


Figure 2. 治療開始前 D-Dimer (DD) 値毎の卵巣癌患者の Kaplan-Meier 生存曲線

DD $\geq$ 2.0  $\mu$ g/mL (n=96) の群では、DD<2.0  $\mu$ g/mL (n=38) に比べて、有意に予後が不良だった (P=0.039)。

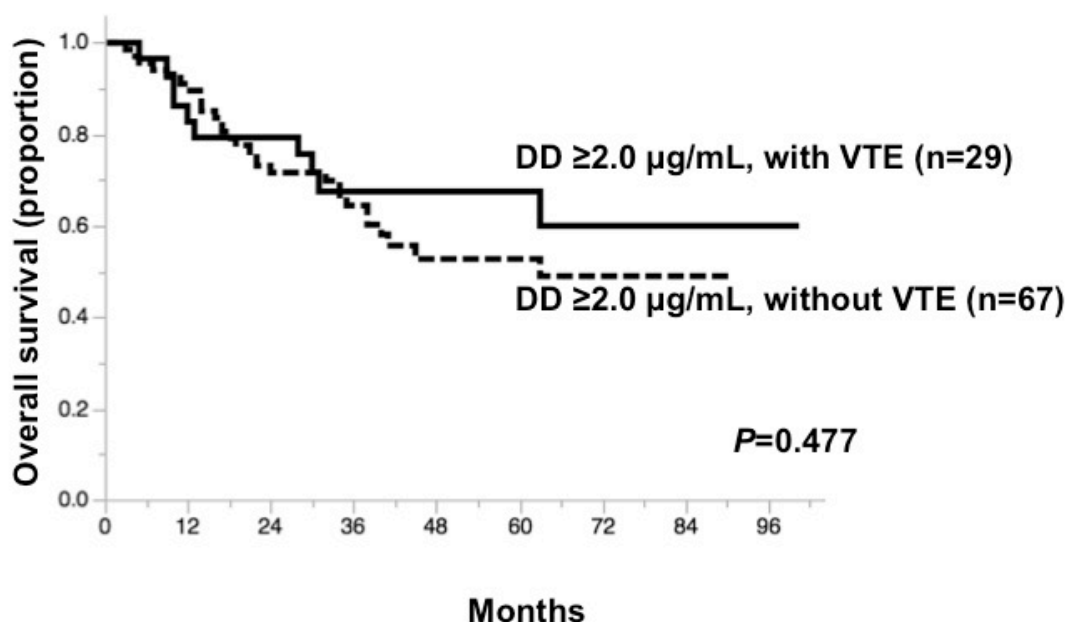


**Figure.3.** 治療開始前 D-Dimer 値の cut off 値は  $2.2 \mu\text{g/mL}$  で、AUC (area under the curve) は 0.55 だった。

#### 4) 静脈血栓塞栓症の有無と予後の関係

治療開始前 D-Dimer (DD) 値の平均値は、治療開始前の静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) が無い群で  $6.6 \pm 6.7 \mu\text{g/mL}$  と VTE のある群の  $9.8 \pm 6.3 \mu\text{g/mL}$  よりも有意に低値だった ( $P = 0.0007$ )。単変量解析で VTE の有無は有意な予後因子ではなかった ( $P = 0.592$ )。Figure 4 に、 $DD \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  の患者を治療開始前

VTE 合併群と非合併群に分けた生存曲線を示した。治療開始前の VTE があり、かつ、 $DD \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  だった 29 名の 5 年生存率は 60%、治療開始前の VTE がなく、かつ、 $DD \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  以上だった 67 名の 5 年生存率は 49%で ( $P=0.477$ ) 有意な差は認めなかった。これらのことから、治療開始前 VTE の有無に関わらず、DD 高値は予後不良因子であると判定した。



**Figure.4.** 治療開始前 D-Dimer (DD) 値 $\geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  の患者での、静脈血栓塞栓症 (VTE) の有無でみた Kaplan-Meier 生存曲線

## 5) 治療開始前血清 D-Dimer 値以外の予後因子の解析

治療開始前 D-Dimer (DD) 値以外の予後因子でも単変量解析を行った結果、腫瘍マ

一カーの CA125 $\geq$ 200 U/mL (P=0.011)、遠隔転移あり (P=0.0004)、手術後の残存病変あり (P=0.0001)、FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) III/IV期 (P=0.003) が有意な予後不良因子として検出された (Table 8)。

**Table 8. Univariate analysis of prognostic factor respectively with epithelial ovarian cancer**

| Prognostic factor                         | Number | 5-year overall survival rate(%) | P     |
|---|--------|---------------------------------|-------|
| Age (years)                               |        |                                 |       |
| <60                                       | 76     | 55.0                            | 0.334 |
| $\geq$ 60                                 | 58     | 65.8                            |       |
| Body mass index                           |        |                                 |       |
| <25                                       | 109    | 57.9                            | 0.847 |
| $\geq$ 25                                 | 25     | 58.8                            |       |
| Deep Vein Thrombosis (before treatment)   |        |                                 |       |
| Positive                                  | 30     | 61.0                            | 0.657 |
| Negative                                  | 104    | 59.4                            |       |
| Pulmonary Embolism (before treatment)     |        |                                 |       |
| Positive                                  | 10     | 90.0                            | 0.089 |
| Negative                                  | 124    | 59.2                            |       |
| Venous thromboembolism (before treatment) |        |                                 |       |
| Positive                                  | 32     | 62.9                            | 0.592 |
| Negative                                  | 102    | 58.5                            |       |
| D-dimer ( $\mu$ g/mL)                     |        |                                 |       |
| <2.0                                      | 38     | 72.2                            | 0.039 |
| $\geq$ 2.0                                | 96     | 52.6                            |       |
| LN swelling>10 mm (CT) <sup>a</sup>       |        |                                 |       |
| Not swelling                              | 69     | 66.5                            | 0.141 |
| Swelling                                  | 65     | 57.0                            |       |
| CA125 (U/mL)                              |        |                                 |       |
| <200                                      | 33     | 79.1                            | 0.011 |
| $\geq$ 200                                | 101    | 51.3                            |       |
| Size of ovarian tumour on MRI (mm)        |        |                                 |       |
| $\geq$ 100                                | 66     | 58.8                            | 0.920 |
| <100                                      | 68     | 61.1                            |       |

|  |     |      |         |
|--|-----|------|---------|
| Massive ascites (image) <sup>b</sup>     |     |      |         |
| Yes                                      | 48  | 48.7 | 0.368   |
| No                                       | 86  | 63.3 |         |
| Distant metastases                       |     |      |         |
| Yes                                      | 35  | 34.0 | 0.0004  |
| No                                       | 99  | 66.8 |         |
| Residual tumours (after primary surgery) |     |      |         |
| Yes                                      | 52  | 32.8 | <0.0001 |
| No                                       | 82  | 78.0 |         |
| Histology                                |     |      |         |
| serous and non-serous                    |     |      |         |
| serous                                   | 94  | 60.6 | 0.417   |
| non-serous                               | 40  | 64.1 |         |
| ccc and non-ccc                          |     |      |         |
| ccc                                      | 24  | 61.0 | 0.836   |
| non-ccc                                  | 110 | 61.8 |         |
| FIGO stage                               |     |      |         |
| II                                       | 24  | 89.8 | 0.003   |
| III/IV                                   | 110 | 55.5 |         |

CCC, clear cell carcinoma; CT, computed tomography; FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics;

LN, lymph node; MRI, magnetic resonance imaging.

a LN swelling was defined over 10 mm in the short axis diameter by CT before treatment in this study.

b Massive ascites was defined as centralization detected by CT in this study.

単変量解析で有意差があった因子でIII/IV期は遠隔転移との相関があるため、より P 値の低い遠隔転移を用い、その他、DD $\geq$ 2.0  $\mu$ g/mL、CA125 $\geq$ 200 U/mL、手術後の残存病変で多変量解析を行った結果、DD $\geq$ 2.0  $\mu$ g/mL (P=0.041) と遠隔転移あり (P=0.013)、残存病変あり (P=0.0001) が互いに独立した予後不良因子として抽出された (Table 9)。

**Table 9. Multivariate analysis for the four representative risk factors of ovarian cancer**

| <b>Prognostic factors</b>    | <b>HR (95% CI)</b> | <b>P</b> |
|------------------------------|--------------------|----------|
| D-dimer ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Reference          |          |
| <2.0 vs $\geq 2.0$           | 2.11 (1.02 – 4.78) | 0.041    |
| Distant metastases           | Reference          |          |
| Yes vs No                    | 2.20 (1.19 – 4.01) | 0.013    |
| Residual tumours             | Reference          |          |
| Yes vs No                    | 4.12 (2.24 – 7.92) | <0.0001  |
| CA125 (U/mL)                 | Reference          |          |
| <200 vs $\geq 200$           | 0.68 (0.25 – 1.54) | 0.373    |

### 3. 考察

単変量解析で、治療開始前 D-dimer (DD) 値 $\geq 2.0 \mu\text{g/mL}$ は卵巣癌患者の有意な予後不良因子として抽出された。しかしこれは DD 値が高値の場合、より高率に静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) が存在し VTE に起因する死亡例が DD 値高値群により高率に含まれていることが要因である可能性が考えられた。そこで、DD $\geq 2.0 \mu\text{g/mL}$ 以上の患者の中で VTE が治療開始前に発生していた患者と発生していない患者で予後を比較した結果、DD 高値と予後不良の関係性は VTE の存在とは独立していることがわかった。また、DD 高値のほか、単変量解析では、CA125 $\geq 200 \text{ U/mL}$  (P=0.011)、遠隔転移あり (P=0.0004)、手術後の残存病変あり (P=0.0001)、FIGO

(International Federation of Gynecology and Obstetrics) III/IV期 (P=0.003) が有意な予後不良因子として抽出された。これらを含む多変量解析では、 $DD \geq 2.0 \mu\text{g/mL}$  (P=0.041) と遠隔転移あり (P=0.013)、手術後の残存病変あり (P=0.0001) が互いに独立した予後不良因子であった。これらのことは、治療開始前 VTE の有無に関わらず、DD 高値が予後不良因子で、DD 値の評価により直接的に予後を推測できる可能性を示した。一般的な悪性腫瘍の集団での VTE の存在は予後不良に関連し、死亡率が 3 倍になると報告されている [34-36]。しかし、これらの報告は治療開始前の VTE を検討したのではない。今回の検討では、治療開始前に VTE を発見し適切に対応している結果として、治療前 VTE の存在が予後に影響しなかったのかもしれない。

卵巣悪性腫瘍と DD 値の関連に関しては、DD 値が CA125 よりも卵巣悪性腫瘍の病勢の進展を効果的に反映している [20]、second look laparotomy の際の残存の有無と DD 値の上昇が関連する [21] という報告がある。しかし、DD 値が予後を予測する因子であることの直接の言及はされていない。本研究では、治療開始前の DD 値が卵巣癌患者の生存率に関連する有効なバイオマーカーであることを示した。

DD 値の上昇が予後不良因子となる要因は、悪性腫瘍における過凝固状態により説明が可能である。悪性腫瘍では、tissue factor (TF) が過剰に発現しているほか、TF の活性化により凝固カスケードに従い産生される Xa、トロンビン、フィブリン等の産生物が腫瘍の進展と転移を引き起こすとされる [37]。その機序は、TF の発現増強に伴い、

腫瘍細胞がフィブリンによりコーティングされることで、微小循環系において腫瘍細胞が捕獲され易くなり血行性転移を誘発されることによると考えられている [14]。TF が抑制されたマウスでは肺転移が減少することも、TF の発現増強が腫瘍の転移を促進していることを示唆している [38]。さらに、循環血中腫瘍細胞が血小板やフィブリンなどにより集塊を形成することで Natural Killer (NK) 細胞からの干渉を減らすという報告もある [39] DD はフィブリンの分解産物であるので、フィブリンの増加とともに上昇する。よってフィブリン増加が腫瘍細胞の転移や腫瘍細胞に対する NK 細胞の干渉を減らすのであれば、過凝固状態により、最終的にフィブリンが増加してその分解産物の DD の上昇が、予後を反映している要因の一つとなり得る。

前述のように、腫瘍細胞による過凝固状態が、病勢を進行させる可能性が報告されているほか、抗凝固療法が腫瘍細胞の凝固能活性に伴う病勢の進展を抑制する可能性が指摘されている。11 の臨床試験をまとめた meta-analysis では、VTE のない悪性腫瘍患者に対して、低分子量ヘパリン (low-molecular-weight heparin: LMWH)、未分画ヘパリン、ワーファリンを投与した場合、LMWH 投与群でのみ、1年後の全死亡率が非投与群と比較して有意に低下したと報告されている (RR 0.88, 95%CI, 0.79-0.98; P=0.015) [40]。また、遠隔転移もしくは局所で進行している固形腫瘍を伴った悪性腫瘍患者 302 名を対象としたランダム化比較試験では、LMWH の nadroparin を 6 週間投与 (皮下注射) した群の生存期間中央値が 8 ヶ月でプラセボ群の 6.6 ヶ月よりも有



意に生存期間を延長したと報告されている (HR 0.75, 95%CI, 0.59 -0.96; P=0.021) [41]。385 人の進行した悪性腫瘍患者で LMWH であるフラグミン投与の有効性を検証した臨床試験では、対象全体の生存期間に関しては有意差がでなかった (P=0.19) もの、17 ヶ月を超えて生存した予後良好な患者では、フラグミン投与群の生存期間が 43.5 ヶ月 (非投与群 24.3 ヶ月) と有意に生存期間が長かった (P=0.03) [42]。また、84 名の肺小細胞癌患者を対象としたランダム化比較試験では、化学療法単独群での生存期間 8 ヶ月に対して、化学療法と LMWH の dalteparin 併用群での生存期間が 13 ヶ月と有意に延長した(P=0.01)と報告されている [43]。

基礎研究では、LMWH が血管形成の抑制や血管内皮へのがん細胞の吸着、侵入を妨げることが証明されている [44]。これらの報告から、LMWH による抗凝固療法が、全ての悪性腫瘍患者の予後を改善しないまでも、特定の対象では、生存期間の延長に寄与していることが分かり、VTE 治療だけでなくがん治療でのドラッグリポジショニングになり得る可能性があると言える。

私は、治療開始前 VTE 発生患者に対し、VTE の存在を鑑みた適切な卵巣癌治療法の選択と、手術前後にヘパリンを用いた適切な VTE 治療・悪化予防を行っている。私の研究で VTE 合併患者と非合併患者の生存率に差がなかった理由として卵巣癌への適切な治療法選択の他、VTE に対してヘパリンを含めた抗凝固療法を手術前後に行ったこともあるかも知れない。

本研究では、治療開始前 DD 高値が卵巣癌患者の予後に関して、VTE の有無や腫瘍の進展に関係なく、独立した予後不良因子であることが判明し、卵巣癌患者で有効な予後バイオマーカーになる可能性が示唆された。

## 【4】 結論

今回の研究で、卵巣癌での tissue factor (TF) 発現が静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) の発生に関連し、TF 発現は明細胞癌で有意に高いことが確認できた。また、治療開始前 D-Dimer 高値は、既に報告されている他臓器の悪性腫瘍患者と同様に、卵巣癌患者でも独立した有意な予後不良因子であることが判明した。

卵巣癌において、TF を起点とした過凝固状態は VTE 発生のほか、腫瘍の進展にも関与している可能性がある。

## 【5】 今後の展望

1. がん細胞の細胞膜で増殖している tissue factor (TF) は、 $0.1\sim 1.0\mu\text{m}$  ほどの microparticles (MPs) として血中に遊離する。腫瘍細胞由来の MPs には、TF や phosphatidylserine などの凝固活性を有した成分のみならず、接着因子や腫瘍細胞特異的成分も存在していて、静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism: VTE) の発症や悪性腫瘍の進展に関わっているとされる [45]。また、TF に関連する MPs の循環血液中の活性は、進行した乳癌患者で上昇しているという報告や、膀胱癌の進行度が相関するという報告がある [46、47]。

今後、卵巣癌での TF 関連 MPs の活性を調べ、病変の進展や VTE 発症での他癌腫との類似点および相違点の解明や、バイオマーカーとしての有用性を検討していきたい。

2. 悪性腫瘍患者での過凝固状態が腫瘍の進展に関連し、抗凝固療法が抗腫瘍効果も示すことが証明されれば、ドラッグリポジショニングにつながる可能性がある。新規薬剤の開発には多額の予算と長い年月が必要となるため、既存薬から新たな薬効を見いだすドラッグリポジショニングという概念がある。古くは解熱鎮痛剤として開発されたアスピリンが抗血小板薬として、最近ではアルツハイマー病薬として用いられていたドネペジルがレビー小体型認知症の治療薬として新規適応が追加となっている。

現在、私は、周術期のVTEの発生予防に、低分子量ヘパリンを用いているほか、VTE合併患者にはXa阻害薬の直接経口抗凝固薬であるエドキサバンの内服投与を行っている。そうした患者を後方視的に解析し、抗凝固療法と予後の改善や病変の抑制との関連を調べたい。そして、抗凝固療法が悪性腫瘍の治療や再発抑制に有用なことが判明したならば、前方視的臨床試験を計画していきたい。

## 【6】謝辞

本研究は、文部科学省の科学研究費助成事業からの助成金により行われました（No. 26861310、No. 26462513）。本研究を遂行するにあたり、直接ご指導、ご助言をいただきました佐藤豊実教授（筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻婦人周産期医学）、吉川裕之前教授（茨城県立中央病院病院長）に感謝の意を表します。

## Reference

- 1) Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, et al. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. 2008;133:381-453.
- 2) Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. *Clinique medicale del'Hotel-Dieu de Paris*, 3rd edition. Paris: J-B Balliere et Fils, 1865:654-712.
- 3) von Tempelhoff GF, Heilmann L, Hommel G, et al. Hyperviscosity syndrome in patients with ovarian carcinoma. *Cancer*. 1998;82:1104-1111.
- 4) Sakon M, Maehara Y, Yoshikawa H, et al. Incidence of venous thromboembolism following major abdominal surgery: a multi-center, prospective epidemiological study in Japan. *J Thromb Haemost*. 2006;4:581-586.
- 5) Satoh T, Oki A, Uno K, et al. High incidence of silent venous thromboembolism before treatment in ovarian cancer. *Br J Cancer*. 2007;97:1053-1057.
- 6) Satoh T, Matsumoto K, Uno K, et al. Silent venous thromboembolism before treatment in endometrial cancer and the risk factors. *Br J Cancer*. 2008;99:1034-1039.
- 7) Satoh T, Matsumoto K, Tanaka YO, et al. Incidence of venous thromboembolism before treatment in cervical cancer and the impact of management on venous thromboembolism after commencement of treatment. *Thromb Res*. 2013;131:127-132.
- 8) Uno K, Homma S, Satoh T, et al. Tissue factor expression as a possible determinant of thromboembolism in ovarian cancer. *Br J Cancer*. 2007;96:290-295.
- 9) Bounameaux H, Cirafici P, de Moerloose P, et al. Measurement of D-dimer in plasma as diagnostic aid in suspected

- pulmonary embolism. *Lancet*. 1991;337:196-200.
- 10) Harrison KA, Haire WD, Pappas AA, et al. Plasma d-dimer a useful tool for evaluating suspected pulmonary embolus. *J Nucl Med*. 1993;34:896–898.
  - 11) Wells PS, Anderson DR, Rodger M, et al. Evaluation of d-dimer in the diagnosis of suspected deep vein thrombosis. *N Engl J Med*. 2003;349:1227-1235.
  - 12) Righini M, Gal GL, Lucia SD, et al. Clinical usefulness of D-dimer testing in cancer patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost*. 2006;95:715-719.
  - 13) Ay C, Dunkler D, Pirker R, et al. High D-dimer levels are associated with poor prognosis in cancer patients. *Haematologica*. 2012;97:1158-64.
  - 14) Kasthuri RS, Taubman MB, Mackman N. Role of tissue factor in cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:4834-4838.
  - 15) Callander NS, Varki N, Rao LV. Immunohistochemical identification of tissue factor in solid tumors. *Cancer*. 1992; 70:1194-1201.
  - 16) Ueno T, Toi M, Koike M, et al. Tissue factor expression in breast cancer tissues: its correlation with prognosis and plasma concentration. *Br J Cancer*. 2000;83:164-170.
  - 17) Dirix LY, Salgado R, Weytjens R, et al. Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumour volume, progression rate And survival in patients with metastatic breast cancer. *Br J Cancer*. 2002;86:389-395.
  - 18) Altiay G, Ciftci A, Demir M, et al. High plasma D-dimer level is associated with decreased survival in patients with lung cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2007;19:494-498.
  - 19) Oya M, Akiyama Y, Okuyama T, et al. High preoperative plasma D-dimer level is associated with advanced tumor stage and short survival after curative resection in patients with colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2001;31:388-394.

- 20) Rella C, Coviello M, De Frenza N, et al. Plasma D-dimer measurement as a marker of gynecologic tumors: comparison with Ca 125. *Tumori*. 1993;79:347-351.
- 21) Rose PG, Terrien JM, Baker S. Plasma D-dimer and peritoneal CA-125 levels as predictors of disease status in ovarian carcinoma. *J Surg Oncol*. 1994;56:168-171.
- 22) Callander NS, Varki N, Rao LV. Immunohistochemical identification of tissue factor in solid tumors. *Cancer*. 1992;70:1194-1201.
- 23) Hamada K, Kuratsu J, Saitoh Y, et al. Expression of tissue factor correlates with grade of malignancy in human glioma. *Cancer*. 1966;77:1877-1883.
- 24) Matsuura Y, Robertson G, Marsden DE, et al. Thromboembolic complications in patients with clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol*. 2007;104:406-410.
- 25) Diaz ES, Walts AE, Karlan BY, et al. Venous thromboembolism during primary treatment of ovarian clear cell carcinoma is associated with decreased survival. *Gynecol Oncol*. 2013;131:541-545.
- 26) Duska LR, Garrett L, Henretta M, et al. When 'near-events' occur despite adherence to clinical guidelines: the case of venous thromboembolism in clear cell cancer of the ovary compared with other epithelial histologic subtypes. *Gynecol Oncol*. 2010;116:374-377.
- 27) Furie B, Furie BC. The molecular basis of blood coagulation. *Cell*. 1988;53:505-518.
- 28) Wells PS, Anderson DR, Rodger M, et al. Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis. *N Engl J Med*. 2003;349:1227-1235.
- 29) Onda T, Matsumoto K, Shibata T, et al. Phase III trial of upfront debulking surgery versus neoadjuvant chemotherapy for stage III/IV ovarian, tubal and peritoneal cancers. *Japan*

Clinical Oncology Group Study JCOG0602. *Jpn J Clin Oncol.* 2008;38:74-77.

- 30) 国立がん研究センター がん登録・統計  
[http://ganjoho.jp/reg\\_stat/index.html](http://ganjoho.jp/reg_stat/index.html)
- 31) 日本産科婦人科学会 婦人科腫瘍委員会報告 1998 年、2014 年度患者年報
- 32) 日本産科婦人科学会 婦人科腫瘍委員会報告 2004 年度患者年報
- 33) du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, et al. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer:a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials:by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom(AGO—OVAR)and the Groupe d' Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l' Ovaire( GINECO ) . *Cancer.* 2009;115: 1234-1244.
- 34) Chew HK, Wun T, Harvey D, et al. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med.* 2006;166:458-464.
- 35) Chew HK, Wun T, Harvey DJ, et al. Incidence of venous thromboembolism and the impact on survival in breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2007;25:70-76.
- 36) Alcalay A, Wun T, Khatri V, et al. Venous thromboembolism in patients with colorectal cancer: incidence and effect on survival. *J Clin Oncol.* 2006;24:1112-1118.
- 37) Falanga A, Panova-Noeva M, Russo L. Procoagulant mechanisms in tumour cells. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2009;22:49-60.
- 38) Amirkhosravi A, Meyer T, Chang JY, et al. Tissue factor pathway inhibitor reduces experimental lung metastasis of B16 melanoma. *Thromb Haemost.* 2002;87: 930-936.



- 39) Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, et al. Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood*. 2005;105: 178-185.
- 40) Kuderer NM, Ortel TL, Francis CW. Impact of venous thromboembolism and anticoagulation on cancer and cancer survival. *J Clin Oncol*. 2009;27:4902-4911.
- 41) Klerk CP, Smorenburg SM, Otten HM, et al. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy. *J Clin Oncol*. 2005;23:2130-2135.
- 42) Kakkar AK, Levine MN, Kadziola Z, et al. Low molecular weight heparin, therapy with dalteparin, and survival in advanced cancer: the Fragmin Advanced Malignancy Outcome Study (FAMOUS). *J Clin Oncol*. 2004;22:1944-1948.
- 43) Altinbas M, Coskun HS, Er O, et al. A randomized clinical trial of combination chemotherapy with and without low-molecular-weight heparin in small cell lung cancer. *J Thromb Haemost*. 2004;2:1-6.
- 44) Smorenburg SM, Van Noorden CJ. The complex effects of heparins on cancer progression and metastasis in experimental studies. *Pharmacol Rev*. 2001;53:93-105.
- 45) Geddings JE, Mackman N. Tumor-derived tissue factor-positive microparticles and venous thrombosis in cancer patients. *Blood*. 2013;122:1873-1880.
- 46) Tesselaar ME, Romijn FP, Van Der Linden IK, et al. Microparticle associated tissue factor activity: a link between cancer and thrombosis? *J Thromb Haemost*. 2007; 5: 520-527.
- 47) Thaler J, Ay C, Mackman N, et al. Microparticle associated tissue factor activity in patients with pancreatic cancer: correlation with clinicopathological features. *Eur J Clin Invest*. 2013;43:277-285.