

FZD10 をターゲットとした子宮頸癌に対する
放射免疫療法の開発

日本大学大学院医学研究科博士課程

外科系産婦人科学専攻

大熊 勇気

修了年 2021 年

指導教員 川名 敬

FZD10 をターゲットとした子宮頸癌に対する
放射免疫療法の開発

日本大学大学院医学研究科博士課程

外科系産婦人科学専攻

大熊 勇気

修了年 2021 年

指導教員 川名 敬

目次

略語	1
1. 概要	2
2. 緒言	5
2-1. 子宮頸癌の疫学・診断	5
2-2. 子宮頸癌と放射線療法	6
2-3. 放射免疫療法	6
2-4. FZD10 (Frizzled homologue 10)	7
2-5. OTSA101	8
3. 目的	10
4. 材料と方法	11
4-1. 子宮頸癌における FZD10 の発現	11
4-2. Tissue microarray	11
4-3. 免疫組織化学染色	12
4-4. リアルタイム PCR	12
4-5. Flow cytometry	13

4-6. 担癌マウスモデルの作成	13
4-7. 抗体放射性同位元素標識	14
4-8. 90Y-OTSA101 による放射免疫療法	14
4-9. 摘出腫瘍の免疫組織化学染色	15
4-10. 統計処理	16
5. 結果	17
5-1. パブリックオンラインリソースでの <i>FZD10</i> 発現の評価	17
5-2. 臨床検体における <i>FZD10</i> 発現の評価	17
5-3. 子宮頸癌細胞株における <i>FZD10</i> 発現の評価	19
5-4. マウスを用いた 90Y-OTSA101 の抗腫瘍効果の評価	20
5-5. 体重推移	21
5-6. 摘出腫瘍の免疫組織化学染色	22
6. 考察	23
7. 今後の展望	26
8. まとめ	27
9. 謝辞	28

10. 利益相反	28
11. 表	29
12. 図	32
13. 図説	44
14. 引用文献	48
15. 研究業績目録	50

略語一覧

FZD10 (Frizzled homologue 10) . . . フリズルド ホモログ 10

HPV (Human Papilloma Virus) . . . ヒトパピローマウイルス

NCCN (The National Comprehensive Cancer Network) . . . 全米総合癌センターネットワーク

90Y (Yttrium-90) . . . イットリウム 90

SS (synovial sarcoma) . . . 滑膜肉腫

TMA (Tissue microarray) . . . ティッシュマイクロアレイ

PBS (Phosphate Buffered Saline) . . . リン酸緩衝食塩水

HE (Hematoxylin Eosin) . . . ヘマトキシリン・エオジン

1.概要

【背景】子宮頸癌は放射線感受性が高いが、放射線療法での治療領域は局所的であり、遠隔転移のあるIVb期の症例において治療の第一選択は化学療法となる。放射線療法の適応とならないStage IVb期の5年生存率は20.8%と予後不良であり、新たな治療法の開発が望まれている。近年特定の免疫抗体に放射性同位元素を結合させることで標的細胞に限りなく近位から放射線を照射し細胞傷害を与える新しい治療法（放射免疫療法）が注目されている。

固形腫瘍を対象とした放射免疫療法として、Frizzled homologue 10(FZD10)に対する抗体に放射性同位元素であるイットリウム（⁹⁰Y）が結合された⁹⁰Y-OTSA101がある。OTSA101はFZD10の強発現を認める滑膜肉腫を対象とした前臨床試験において高い抗腫瘍効果を呈し、既にフランスにおいてPhase Iが終了している。

【目的】本研究では子宮頸癌に対してFZD10が放射免疫療法の治療標的となるか、そして⁹⁰Y-OTSA101が有用かを検討する事を目的とした。

【実験方法】倫理委員会承認の元、当院で手術を行った子宮頸癌患者84例のホルマリン固定パラフィンブロックからTissue microarrayを作成し、比較対象として正常子宮頸部10例、正常卵巣10例、子宮体癌10例、子宮肉腫9例のホルマリン固定パラフィン包埋された組織標本を用いて免疫組織化学染色を行い

FZD10 のタンパク発現を評価した。子宮頸癌細胞株 SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞の *FZD10* の mRNA 発現をリアルタイム PCR(qPCR)を用いて評価した。さらに細胞表面での FZD10 の蛋白発現を flow cytometry を用いて評価した。*in vivo* の実験として、マウスの皮下に子宮頸癌細胞株を移植した担癌マウスモデルを使用し、90Y-OTSA101 (1.85MBq) 投与群、90Y (1.85MBq) 投与群、OTSA101 投与群、PBS 投与群の計 4 群間で腫瘍増殖を比較した。マウスを安楽死させた後、腫瘍を摘出し免疫組織化学染色を用いて FZD10、Ki67 の発現を評価した。

【結果】免疫組織化学染色を用いた臨床検体における FZD10 の発現評価では、正常子宮頸部、正常卵巣、子宮体癌、子宮肉腫で 3 例 (30%)、1 例(10%)、2 例(20%)、0 例(0%)であるのに対し子宮頸癌では 70 例(91%)で高い発現を認めた。子宮頸癌細胞株において SiHa 細胞において最も高い *FZD10* の mRNA の発現を認め、また、細胞膜表面の FZD10 タンパクの発現が確認された。

SiHa 細胞を皮下移植したマウスを用いた実験では、90Y-OTSA101 を投与した群で投与後 3 週間後に比較群から優位に腫瘍抑制効果を認めた (P=0.001)。また観察期間に各群での体重の有意差を認めなかった。

摘出した腫瘍の免疫組織化学染色における FZD10 はいずれの群でも発現を認めた。

【結論】本研究では子宮頸癌患者の臨床検体における *FZD10* の高率な発現を確認することができた。さらに子宮頸癌細胞株の担癌マウスに対して、⁹⁰Y-OTSA101 が抗腫瘍効果を示した。このことから放射性同位元素と結合した *FZD10* 抗体による、子宮頸癌に対する放射免疫療法の可能性が示唆された。

2.緒言

2-1. 子宮頸癌の疫学・診断

子宮頸癌は乳癌に次いで多く報告される女性特有の癌である。先進国での子宮頸癌の発生率と死亡率は過去 30 年間で低下しているが[1]、本邦では 1990 年代後半より横ばいに推移していたが近年は増加傾向にある[2]。国立癌研究センターがん対策情報センターの 2018 年の推定では、子宮頸癌の罹患数は約 11,200 人、死亡数は約 2,900 人とされ、20～30 歳代で罹患率・死亡率が増加している。

子宮頸癌は HPV との関連性が最も深く、HPV 発癌としての罹患者数が最も多い。その 96%以上が高リスク HPV に関連し特に HPV16 型が陽性であることが多く、HPV 感染は子宮頸癌の主な原因と考えられている[3]。我が国においては HPV ワクチン接種の公費助成が 2010 年 11 月に開始された。しかしワクチン摂取後の副反応が多数報告されたことにより 2013 年 6 月から政府はワクチンの積極的摂取の推奨を中止している。そのため HPV ワクチンの接種率は諸外国に比べ低く、今後罹患者数の増加が予想される[4-6]。

子宮頸癌の診断および進行期の決定は内診、コルポスコピー、組織生検、頸管内搔把、子宮頸部円錐切除術、膀胱鏡、直腸鏡、CT、MRI などにより行われる。以上の所見から臨床進行期分類は、一般的に FIGO 分類（International Federation of Gynecology and Obstetrics）が適用され、治療前に決定される。

2-2. 子宮頸癌と放射線療法

子宮頸癌はその進行期に準じて治療法が決定されるが、子宮頸癌は放射線感受性が高く、放射線療法が標準治療に広く用いられている。一般的に初期ステージ（Ⅰ、Ⅱ期）においては外科的治療が基軸となるが、根治的放射線療法は手術療法に対する非劣勢を示し[7]、NCCN ガイドライン 2016 年版では、外科的治療とともに同時化学療法も標準療法とされている[8]。[7]また手術適応のない進行子宮頸癌（Ⅲ、Ⅳ期）においては、放射線療法、ならびに同時放射線化学療法が[9, 10]標準治療となる[9]。しかし放射線療法は局所的治療法であり、遠隔転移のあるⅣb 期においては適応とならない。つまり放射線感受性が非常に高い癌腫にも関わらず、制御不可の病変がある際の治療は化学療法に限定される。その結果 Stage Ⅳb 期の 5 年生存率は 20.8%と予後不良であり、新たな治療法の開発が望まれる。

2-3. 放射免疫療法

近年 CD20 陽性の非ホジキンリンパ腫に対する新薬としてゼヴァリン®（イブリツモマブチウキセタン）が用いられるようになった。この薬剤はマウス型抗 CD20 モノクローナル抗体であるイブリツモマブチウキセタンに β 線を放射する放射性同位元素のイットリウム（Y-90）で標識した薬剤である。[10,

11]。即ちこの薬剤は細胞障害性の高い放射性同位元素を抗体に結合させて投与することで、標的となる細胞の極めて近位から放射線治療を行うことができる（図 1）。がん細胞の殺細胞能という観点から抗癌剤に比し放射線が優れているものがあり、食道がんや本研究の対象疾患である子宮頸癌に代表される放射線感受性の高い腫瘍に対しては、検査で捉えることのできない微小な遠隔転移に対しても有効に細胞障害を与えることが可能である[10]。また放射性同位元素は、標的の近傍の細胞にも放射線を照射する効果があり（cross fire effect）、まだ抗原を発現していない近傍の癌細胞にも同様に照射することで抗腫瘍効果を高めることが可能である点も長所と考えられている。このような治療を放射免疫療法と呼ぶ。しかし、CD20 は B 細胞分化抗原であり、イブリツモマブチウキセタンは固形腫瘍への応用は困難である。

2-4. FZD10 (Frizzled homologue 10)

長山らの研究で、23 040 個の遺伝子からなる cDNA マイクロアレイを使用して 47 個の軟部肉腫の遺伝子発現を分析したところ、Frizzled homolog10 (FZD10) が滑膜肉腫で非常に高いレベルで特異的にアップレギュレートされることが発見された[12]。FZD10 は、Frizzled ファミリーのメンバーであり、Frizzled ファミリーは、アミノ酸組成に基づいて分けられた 10 の異なる 7 回膜

貫通型受容体で構成されている（図2）。FZD10 タンパク質は、Wnt タンパク質によって活性化され、細胞機能の調節に関与する細胞表面受容体である [13]。

また、既報では、胎盤以外の正常な臓器では FZD10 の蛋白発現は非常に低い、もしくは認めないとなっており、FZD10 を標的とする治療薬における正常細胞ないし組織への副作用が限定的である可能性を示唆している [14]。

FZD10 の機能は完全には明らかになってないが、近年の研究では胃癌や結腸直腸癌における進行期と相関するとの報告もあり [15]、また、細胞内で癌活性化のメッセンジャーとして働く可能性があるとの報告もある [16]。

FZD10 はまた、小池らの研究では複数の子宮頸癌細胞株において *FZD10* の mRNA が高発現していることが報告されている [17]。

2-5. OTSA101

滑膜肉腫での FZD10 の発見に基づいて、FZD10 の N 末端細胞外ドメインを標的とするモノクローナル抗体（MAb 92-13）が、滑膜肉腫の抗体療法の開発に向けた最初のステップとして開発された [18]。 *In vitro* では、MAb 92-13 は細胞増殖に対して弱い拮抗作用しかなく、抗体依存性の細胞毒性および補体依存性細胞毒性はほとんどなかった。MAb 92-13 をインジウム-111（¹¹¹In）で

標識した試薬を、FZD10 (SYO-1) が過剰発現している SS 腫瘍細胞の担癌マウスに静脈注射すると 48 時間後に最大の蓄積を示したが、FZD10 陰性 SS 腫瘍細胞には蓄積しなかった[18]。また、MAb 92-13 は、共焦点顕微鏡および flow cytometry を用いた分析により、FZD10 に結合した後に腫瘍細胞に内在化することが確認された[18]。イットリウム 90 で標識した実験では、イットリウム 90 の高エネルギーの β 線がマウスに移植された FZD10 陽性の SS 腫瘍細胞 (SYO-1 細胞株) を照射し腫瘍を縮小させた。また重大な毒性は認めなかった[18]。腫瘍進行までの時間の中央値は、治療群で 58 日、対照群で 9 日であった。

これらの前臨床データは、滑膜肉腫細胞への放射免疫療法にあたり、FZD10 を標的とする新薬の可能性を示唆している[18]。

オンコセラピーサイエンス株式会社は、FZD10 に対する高い親和性を示す抗 FZD10 抗体 (OTSA-101) を開発し、さらにイットリウム 90 を標識させた ⁹⁰Y-OTSA101 は滑膜肉腫患者に対し *in vivo* での試験で高い抗腫瘍効果を示し、既にフランスにおいて Phase I が終了している。重篤な合併症は報告されず、最も多くの Grade ≥ 3 以上の有害事象としては一時的な血球減少に留まった[19]。このことから FZD10 を標的とする放射免疫療法が滑膜肉腫患者において実現可能であることが示唆されている。

3. 目的

本研究では子宮頸癌での FZD10 の発現を、臨床検体及び子宮頸癌細胞株を用いて評価すること、放射免疫療法として ^{90}Y -OTSA101 の子宮頸癌への効果についてマウスを用いて検討する事を目的とした。

4. 材料と方法

本研究は、日本大学医学部附属板橋病院倫理委員会の承認を得て行った。

(承認番号：RK-170711-6)

4-1. 子宮頸癌における FZD10 の発現

FZD10 の発現を、パブリックオンラインリソースである Oncomine (<https://www.oncomine.org>) にて確認した。Oncomine は 715 のデータセットにおける 86733 サンプルにおける特定の遺伝子発現を評価出来るツールであり、今回は子宮頸癌を含む 16 癌腫が含まれる Bittner M らの microarray のデータセットを用いた。

4-2. Tissue microarray (TMA)

当院で手術を施行された子宮頸癌 84 症例の病理標本のヘマトキシリン・エオジン染色スライドを病理医と共に鏡検を行い、腫瘍の最も描出される位置を決定した。テッシューマイクロアレイヤー (KIN-1、東屋医科器械) を用い、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックの上記決定した部位より 5mm 径の組織片を抜き出し、TMA を作成した。

4-3. 免疫組織化学染色

子宮頸癌 TMA と比較対象として正常子宮頸部 10 例、正常卵巣 10 例、子宮体癌 10 例、子宮肉腫 9 例の各臨床検体のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより 4 μ m の切片を作成し、シランコーティングしたスライドガラスに貼付しプレパラートを作成した。脱パラフィン、脱キシロールを行い、抗原賦活化 (pH9.0、100°C、30 分) を行った。一次抗体として抗 FZD10 抗体 (オンコセラピーサイエンス株式会社より提供)、二次抗体として Histofine Simple Stain MAX PO(ニチレイ、東京)を用い、過酸化水素加 DAB 水溶液中で反応物を可視化し、ヘマトキシリンによる対比染色を行い封入した。陽性コントロールとして滑膜肉腫細胞株の SYO-1 細胞を、陰性コントロールとして結腸腺癌の LoVo 細胞を使用した。判定は組織の 10%を超える染色を認めるものを陽性と定義した。

4-4. リアルタイム PCR

細胞株における *FZD10* の mRNA 発現を評価した。子宮頸癌細胞株として SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞、陰性コントロールとして前立腺細胞株 LiNCap 細胞の各細胞株より抽出した total RNA を吸光度プレートリーダー(Thermo Fisher Scientific)で濃度計測し complementary DNA(cDNA)

を合成した後、Applied Biosystem 7500 standard Real-Time PCR System (Applied Biosystems) を用いてリアルタイム PCR 解析を行った。Primer set として Hs00273077_s1 (Thermo Fisher Scientific) を用い、内因性コントロールは β -アクチン TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems、マサチューセッツ) を用いた。

4-5. Flow cytometry

細胞表面の FZD10 の蛋白発現を評価した。SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞、陽性コントロールとして A14 細胞 (FZD10 を導入した細胞株：オンコセラピーサイエンス株式会社より提供) を 10cm dish に播種し処理前に 37°C で一晩接着させた。

細胞を回収した後、1 次抗体、2 次抗体を反応させ 4°C で 1 時間置いた後、BD FACS Verse (BD Bioscience) を使用して解析した。Flow Jo ソフトウェアバージョン 10.0.7r2 (Tree Star, Inc., Ashland, OP, USA) を用いてデータ分析した。

4-6. 担癌マウスモデルの作成

すべての動物実験は日本大学動物実験運営内規に則り、医学部動物実験委員

会の承認の下で行った。(動物実験番号：AP19MED061-2)

BALB-c nu/nu (雌、4週) 24頭 (三協ラボサービス株式会社、東京) からマウスを購入し、無菌条件下で飼育した。無菌餌と水を自由に供給された。週齢5週のマウスに 5×10^6 個の SiHa 細胞を含む 0.1mlBPS をマウスの左側腹部に皮下摂取し、腫瘍の生着をモニタリングした。

4-7. 抗体放射性同位元素標識

^{90}YCl 溶液 (パーキンエルマー・ジャパン株式会社) を 1M 酢酸溶液 (pH5.5) と室温で 5 分間インキュベートした。標識率はセファデックス G-50(Sigma-Aldrich)を用いた後、液体シンチレーションカウンターで線量を 3 回計測し確認した。

4-8. ^{90}Y -OTSA101 による放射免疫療法

細胞移植後 3 週間後にマウスをランダムに 4 群に分け (各グループ $n=5$)、それぞれ PBS、OTSA101 単体、 ^{90}Y 単体 (1.85MBq)、 ^{90}Y -OTSA-101(1.85 MBq)を含んだ PBS 溶液 1ml をマウスの尾静脈に静脈内投与した。腫瘍の体積の推移をモニターするためにノギスを用いて毎週計測を行い、体積(mm^3)=(長径) × (短径)²/2 の式を用いて計算した。相対腫瘍体積は治療開始前の体積で割った

ものとして計算した。同時にマウスの体重を秤で計測した。人道的エンドポイントの観点から試薬投与後6週目までを観察期間とした。

4-9. 摘出腫瘍の免疫組織化学染色

各群における結果が腫瘍の FZD10 発現の有無の差によるものではないことを確認する目的で、6週目の各群のマウスから摘出した腫瘍を用いて免疫組織化学染色を行った。またその時点での腫瘍の増殖能を比較するため Ki67 での免疫組織化学染色を施行した。

6週間の観察後、炭酸ガスを用いてマウスを安楽死させた後、腫瘍を摘出しホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを作成し、4 μ m の切片プレパラートを作成した。FZD10 及び Ki67 の発現を免疫組織化学染色を用いて確認した。

FZD10 の染色は上記プロトコールに準ずるが二次抗体としてヒストファインマウスステインキット（ニチレイ、東京）を使用した。

Ki67 の染色は脱パラフィン、脱キシロールを行い、抗原賦活化（pH6.0、100°C、30分）を行った。一次抗体として Anti-Ki67 抗体 [SP6] (ab16667) (abcam、ケンブリッジ)、二次抗体として Histofine Simple Stain MAX PO(ニチレイ、東京)を用い、過酸化水素加 DAB 水溶液中で反応物を可視化し、ヘマトキシリンによる対比染色を行い封入した。

4-10. 統計処理

グループ間の比較は Kruskal-Wallis 検定および Steel 法を用いた。P 値 <0.05 を有意差ありとした。

5.結果

5-1. パブリックオンラインリソースでの *FZD10* 発現の評価

FZD10 の mRNA 発現を、Oncomine を用いて評価した。Oncomine では 715 のデータセットにおける 86733 サンプルにおける特定の遺伝子発現を評価でき、今回は子宮頸癌を含む 16 癌腫が含まれる Bittner M らの microarray のデータセットを用いた。16 癌腫における全 mRNA 発現の中央値と比較した際、癌腫の中央値が全中央値を超える癌腫は 5 癌腫（膀胱癌、子宮頸癌、胃癌、卵巣癌、膵臓癌）のみであり、その中でも子宮頸癌の *FZD10* の発現は最も高いものであった。（図 2）。この事から、子宮頸癌において *FZD10* が治療標的となり得る可能性が示された。

5-2. 臨床検体における *FZD10* 発現の評価

続いて、実際の臨床検体を用いて *FZD10* の発現の評価を行った。Tissue Microarray 及びパラフィン固定ブロック薄切切片を用いて、免疫組織化学染色を行った（図 3a）。子宮頸癌検体の TMA 84 症例のうち 7 例は薄切切片の状態が不適であったため除外し 77 症例を評価として用いた。子宮頸癌及び比較対象の臨床検体における患者背景を表 1 に示す。子宮頸癌患者 77 例の平均年齢は 46.8 歳で、組織型は扁平上皮癌が最も多く 55 例、次いで類内膜癌が 13 例、粘

液性腺癌が 5 例、神経内分泌腫瘍が 3 例、漿液性腺癌が 1 例であった。進行期は Stage I が 60 例、Stage II が 17 例であった。Stage III と Stage IV の症例が存在しない理由は、子宮頸癌において Stage III 以上の進行期には手術適応がなく、検体を得る事が困難であったためである。また、正常子宮頸部及び正常卵巣の標本 10 例は子宮筋腫の患者から作成され、平均年齢は 53.9 歳であった。子宮体癌患者 10 例の平均年齢は 54.8 歳で、組織型は類内膜癌が 7 例、漿液性腺癌が 3 例であった。進行期は Stage I が 1 例、Stage II が 3 例、Stage III が 4 例 Stage IV が 2 例であった。子宮肉腫患者 9 例の平均年齢は 58.8 歳であり、組織型は癌肉腫が 8 例、子宮内膜間質肉腫が 3 例であった。進行期が Stage I が 8 例、Stage III が 1 例であった。

FZD10 の免疫組織化学染色にて発現を認めた一例 (図 3b, 3c)、および発現を認めなかった一例 (図 3d, 3e)、および代表的な各サンプルでの免疫組織化学染色の結果を示す (図 4)。子宮頸癌において全 77 例中、70 例(91%)に FZD10 の発現を認めた。一方、子宮体癌で 2 例(20%)、子宮肉腫で 0 例(0%)であり、子宮癌の中でも子宮頸癌に特異的に発現が高い事が伺えた。続いて正常組織について評価した。正常子宮頸部では 3 例 (30%)、正常卵巣で 1 例(10%)のみに発現を認めた (表 2)。すなわち FZD10 は正常頸部および卵巣にも発現はわずかに認めるものの、子宮頸癌に特に特異的に発現がみられる蛋白であるという事

が本実験により明らかとなり、子宮頸癌に対する放射免疫療法を検討する際に、適した治療標的となると考えられた。

5-3. 子宮頸癌細胞株における FZD10 発現の評価

続いて *in vivo* で用いる子宮頸癌細胞株を決定する目的で各細胞株の FZD10 発現を評価した。

まずリアルタイム PCR を用いて各細胞株の *FZD10* の mRNA 発現を評価した。陰性コントロールとして用いた前立腺癌細胞株の LNCap では *FZD10* の mRNA 発現を認めなかったのに対して、子宮頸癌株の SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞においてはいずれも *FZD10* の mRNA 発現を認めた。その中でも特に SiHa 細胞において発現を認め、その発現は Caski の 1.7 倍、C33A の 2.9 倍、Hela の 4.7 倍であった。(図 5)

続いて、抗体薬を検討する際、蛋白が細胞膜表面に存在する事を確認する必要がある、Flow cytometry を用いて細胞表面の FZD10 タンパクの発現を評価した。その結果、明らかな差を Flow cytometry にて検出出来た子宮頸癌細胞株は SiHa のみであった。(図 6) 抗体薬を用いる際には細胞表面へ標的となる蛋白が発現してる必要がある、以上のことから *in vivo* での検討に用いる細胞株は SiHa 細胞とした。

5-4. マウスを用いた 90Y-OTSA101 の抗腫瘍効果の評価

子宮頸癌細胞株の担癌マウスに対して、90Y-OTSA101 が抗腫瘍効果を示すか検討した。OTSA101、つまり FZD10 抗体のみでは抗腫瘍効果を示さないこと、またイットリウム 90 の全身投与のみでは抗腫瘍効果を示さないことを示す目的で、比較群として PBS 投与群、OTSA101 単体投与群、イットリウム 90 単体投与群の 3 群とし、90Y-OTSA101 含め 4 群で比較検討した。

週齢 5 週のマウスに 5×10^6 個の SiHa 細胞を含む 0.1mlBPS をマウスの左側腹部に皮下摂取し、腫瘍の発育を確認されたものに関し、3 週間後に PBS、OTSA101 単体、イットリウム 90 単体、90Y-OTSA101 を投与した。

90Y-OTSA101 投与にあたり投与前に OTSA101 と 90Y の標識率を確認した。セファデックス G-50(Sigma-Aldrich)を用いた後、液体シンチレーションカウンターで線量測定を 3 回行いそれぞれ 96.7%、96.7%、96.4%であり、平均が 96.6%であった。(表 3) 投与に当たっては 95%以上を投与条件とし、検定 3 回全てにおいて基準を満たしたことを確認した。

試薬投与において PBS 投与群、OTSA101 単体投与群、イットリウム 90 単体投与群、90Y-OTSA101 投与群の 4 群、各 5 頭に振り分け、試薬をマウスの尾静脈より投与した。その後腫瘍体積を算出し、試薬投与時点との腫瘍体積との比を記録した (図 8)。

投与後3週目において、試薬投与日からの腫瘍体積比はPBS投与群で4.3倍、OTSA101単体投与群で4.7倍、イットリウム90単体投与群で3.4倍であったのに対し、90Y-OTSA101投与群では1.9倍と90Y-OTSA101投与群において有意に腫瘍増殖が抑制されていた ($P=0.001$)。

投与後6週目においてはPBS投与群で17.6倍、OTSA101単体投与群で15.7倍、イットリウム90単体投与群で13.5倍であったのに対し、90Y-OTSA101投与群では7.0倍と、以前として著明な腫瘍増殖抑制効果を認めていた。

5-5. 体重推移

90Y-OTSA101、及びOTSA101またはイットリウム90がマウスに与える影響及び体重推移を評価した。

投与後4週目に90Y群の1匹が死亡した。下血、吐血等は認めず、死亡要因は90Y投与によるものに起因せず、癌死の可能性が高いと考えられた。また、観察期間中に各群において体重推移に優位差を認めなかった (図8)。このことから90Y-OTSA101、またはOTSA101やイットリウム90がマウスに体重減少を来すような毒性は示さなかったと考えられた。

5-6. 摘出腫瘍の免疫組織化学染色

各群におけるマウスの腫瘍に FZD10 発現の有無を評価する目的で摘出腫瘍の免疫組織化学染色を行った。また摘出時の増殖能を評価するため Ki67 の発現も評価した。

試薬投与後 6 週目でマウスを安楽死させ腫瘍を摘出した。摘出した腫瘍の FZD10 の発現を免疫組織化学染色を用いて評価したところ、すべて群において FZD10 及び Ki67 の発現が確認された。

実験後において各群の腫瘍の FZD10 発現量に差がなく、このことは Y90-OTSA101 群において抗腫瘍効果を示したことが FZD10 の発現の差によるものでないことが示された。。また全ての群の Ki67 の発現は 6 週目の腫瘍において腫瘍が増殖していることを示した。

6. 考察

本研究から *FZD10* をターゲットとした子宮頸癌への放射免疫療法の実現の可能性を見いだせた。

まず、子宮頸癌患者の臨床検体による免疫組織化学染色から、*FZD10* の高率な発現を確認することができた。それに対し正常子宮頸部、正常卵巣、子宮体癌、子宮肉腫ではほとんど発現していないことも確認できた。

次いで、子宮頸癌細胞株のリアルタイム PCR より、子宮頸癌細胞株の SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞で *FZD10* の mRNA での発現が確認でき、特に SiHa 細胞において最も高い発現が確認できた。そのうえで Flow cytometry の結果から SiHa 細胞における細胞表面の *FZD10* タンパクの発現を確認できた。

SiHa 細胞を皮下移植したマウスを用いた実験では試薬投与 3 週間後に 90Y-OTSA101 群において優位に腫瘍増殖抑制の効果が示唆された。以下その詳細について考察する。

がん治療における化学療法や抗体療法において正常組織への障害を最小限にすることは常に求められる課題であり、前述した通り *FZD10* は胎盤を除く正常のヒト組織で発現が認められていない[17]。そのため治療ターゲットとしての利用価値が高い。本研究において臨床検体における子宮頸癌に高頻度の *FZD10*

発現を認め、正常組織は発現を認めないまたは低発現であった結果は既知の報告と矛盾せず、子宮頸癌に対する新たな抗体療法の開発の可能性を示唆している。そして放射性感受性の高い子宮頸癌の特徴と併せると FZD10 をターゲットとする放射免疫療法は、今後発展し得る分野であることが確認できた。

放射免疫療法を含め、抗体療法はターゲットとなるタンパクが細胞表面に発現していることで効力を発揮する[20]。また膜貫通蛋白である FZD10 に結合した抗体は細胞内部へ取り込まれる。すなわち FZD10 の抗体試薬は細胞内へ蓄積することが確認されている[18]。この特徴は放射免疫療法において細胞内部からの放射線照射を行うことができることを示しており、FZD10 を放射免疫療法の治療標的とすることの利点である。そのため細胞表面の FZD10 発現は放射免疫療法の効果を予測するのに特に重要な要素である。本試験において SiHa 細胞、HeLa 細胞、Caski 細胞、C33A 細胞の 4 種の子宮頸癌細胞株の Flow cytometry の結果では、SiHa 細胞において細胞表面の FZD10 発現を確認できたため *in vivo* で使用する細胞株として適切と判断された。

放射免疫療法では抗体試薬と放射性同位元素の標識を投与前に行う必要があり、イットリウムを用いた既存薬のイブリツモマブでは標識率 95%以上が投与条件となっている[21]。本研究においても試薬投与直前に、OTSA101 とイットリウムを標識させ、3 回の検定で平均 96.6%の標識率であったため試薬投与の条

件を満たしたと判断できた。

イットリウム 90 は半減期 64.1 時間の高エネルギー β 線放出核種である [22]。イットリウム 90 を用いた放射免疫療法の研究はいくつかの癌腫において報告があるが子宮頸癌においての報告は極めて少ない。他の癌腫における研究では、本研究と同量の 1.85MB q で抗腫瘍効果を示すものや、3.7MB q で効果を表すものなど癌腫において様々である [23-28]。本研究において、SiHa 細胞を皮下移植したマウスでの実験では 90Y-OTSA101 (1.85MBq) が投与された群では試薬投与後 3 週間、他の群と比較し増殖速度を抑えることができたと考えられる。しかし、4 週目以降は腫瘍増殖速度は緩徐に上昇傾向にあり、事実摘出腫瘍の免疫組織化学染色にて細胞増殖の指標となる Ki67 は 90Y-OTSA101 群においても陽性であった。このような 3~4 週間程度に限定された腫瘍抑制は以前の研究においても報告があり [26]、イットリウムの半減期が 64.1 時間であることからその際の投与量では一時的な抗腫瘍効果に留まったことが推察され、線量や投与プランの変更で改良が期待できる点と考えられる。

また緒言に示したように本研究は子宮頸癌IV期への応用が期待できると考えているが、人体内における癌の進行の過程で FZD10 の発現強度が低下する可能性や、本治療による FZD10 陰性のサブクローンが増殖する可能性は検討しておらず、本研究の限界として今後の研究における課題と考えられる。

7. 今後の展望

今回の研究では FZD10 を治療標的とした放射免疫療法として、腫瘍抑制効果を呈することが確認することができた。腫瘍に抗体が集積していることを客観的に評価すること、そして腫瘍縮小に足る抗腫瘍効果を得るための投与線量や投与時期及び投与回数などの追従研究が今後期待される。さらに、この研究は最終的に実臨床での使用を目標としており、この研究結果を基盤とした Phase I の臨床試験が計画できることを望んでいる。

また、抗体療法はそのターゲットとデリバリーする物質により多岐に渡る発展の余地がある分野である。抗がん剤を結合させた抗体試薬を今回の放射免疫療法に併用させ、抗体療法としての同時放射線化学療法を行うことで効果を倍増させる可能性もあれば、試薬を細胞内へ内在化させる物質を同時にデリバリーすることで効果を飛躍的に上昇させる可能性もある。その組み合わせや新技術との融合はあらゆる研究展開の余地があると考えている。

8. まとめ

本研究では子宮頸癌患者の臨床検体における FZD10 の高率な発現を確認することができた。さらに子宮頸癌細胞株の担癌マウスに対して、⁹⁰Y-OTSA101 が抗腫瘍効果を示した。このことから放射性同位元素と結合した FZD10 抗体による、子宮頸癌に対する放射免疫療法の可能性が示唆された。FZD10 をターゲットとした子宮頸癌に対する放射免疫療法の研究は報告がなく今後の子宮頸癌の新たな治療開発の一端に貢献すると考えられる。

9. 謝辞

本研究の機会を与えてくださりご指導ご鞭撻をいただきました日本大学医学部産婦人科学系産婦人科学分野 川名 敬先生、終始親身なご指導を賜りました池田 悠至先生に深く感謝いたします。また試薬提供、貴重な助言を頂いたオンコセラピーサイエンス株式会社 原田 陽介氏、藤澤 淑子氏に感謝申し上げます。病理学分野の指導及び助言をいただきました日本大学医学部病理学分野 増田 しのぶ先生、西川 陽子先生に感謝申し上げます。動物実験の指導、RI 施設の新規核種の使用申請及び飼育環境の新設に尽力いただきました日本大学医学部総合医学研究所 高橋 理恵氏、谷口 由樹氏、渡部 和浩氏に感謝いたします。本研究にご指導ご協力頂いた日本大学医学部産婦人科研究室 丸山 理恵 研究員、富田 直子氏に心から感謝申し上げます。最後に本論文を完成するに当たり協力していただいた友人、家族、そして家庭でのサポートをしてくれた妻と子供に感謝いたします。

10. 利益相反

本研究はオンコセラピーサイエンス株式会社より同社開発の試薬の譲渡を受け使用した。また同社より *in vivo* 研究における放射性同位元素物質の取り扱い操作に関する指導を受けた。

11. 表

表 1 : 臨床検体の患者背景

	子宮頸癌 (n=77)	正常子宮頸部 正常卵巣 (n=10)	子宮体癌 (n=10)	子宮肉腫 (n=9)
平均年齢	46.8	53.9	54.8	58.8
組織型				
扁平上皮癌	55	-	-	-
類内膜癌	13	-	7	-
粘液性腺癌	5	-	-	-
漿液性腺癌	1	-	3	-
神経内分泌腫瘍	3	-	-	-
癌肉腫	-	-	-	6
子宮内膜間質肉腫	-	-	-	3
子宮筋腫	-	10	-	-
Stage				
I	60	-	1	8
II	17	-	3	-
III	-	-	4	1
IV	-	-	2	-

表 2：免疫組織化学染色の陽性率

組織	陽性率
子宮頸癌(TMA)	70/77 (91%)
正常子宮頸部	3/10 (30%)
正常卵巣	1/10 (10%)
子宮体癌	2/10 (20%)
子宮肉腫	0/9 (0%)

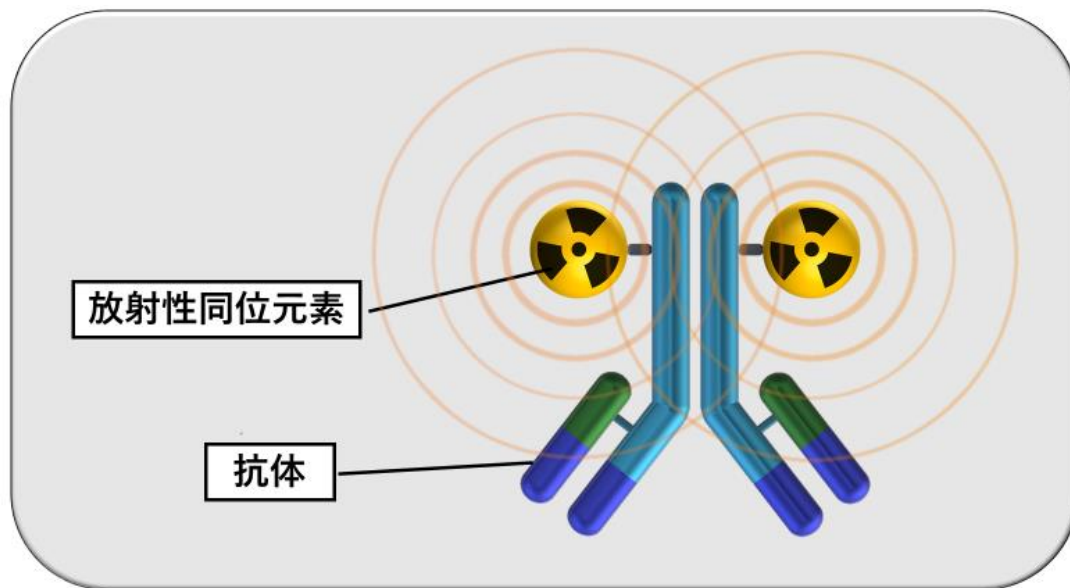
表 3：抗体試薬とのイットリウム標識率

	Count	標識率 %	Average	S.D
BG	1212			
試験紙 1	647381	96.7%	96.6%	0.2%
試験紙 2	22996			
試験紙 1	653670	96.7%		
試験紙 2	23233			
試験紙 1	742011	96.4%		
試験紙 2	28780			

12. 図

図 1 : 放射免疫療法的作用機序

(a)



(b)

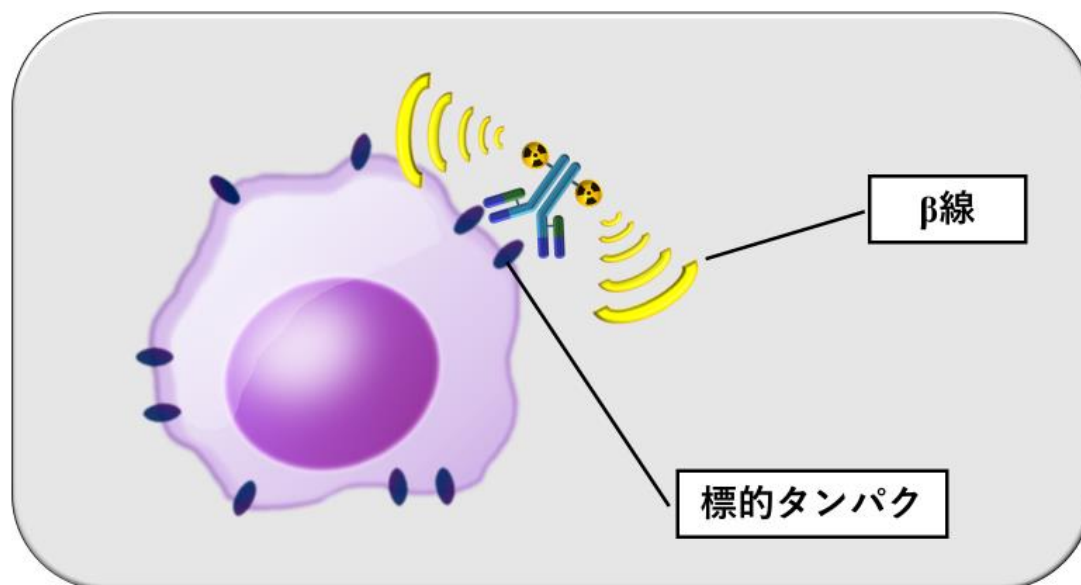
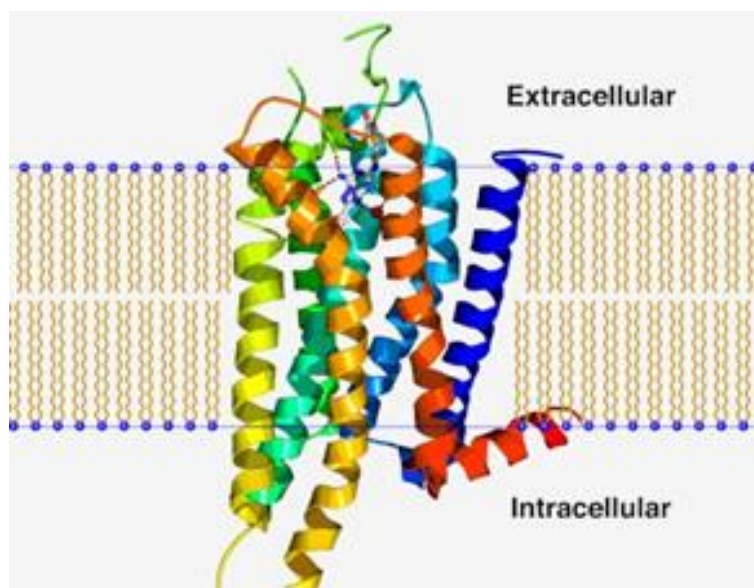
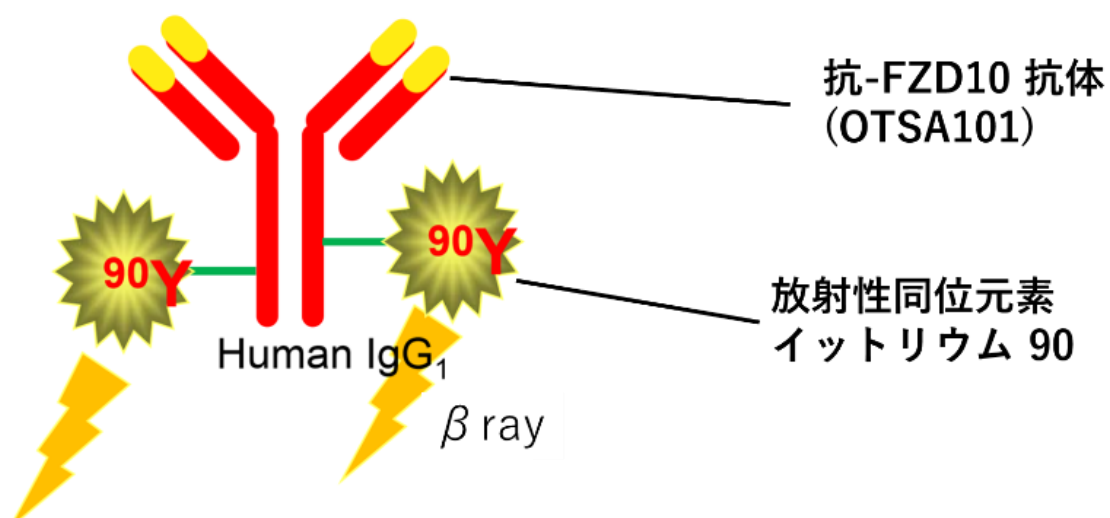


図 2 : FZD10 タンパク模式図



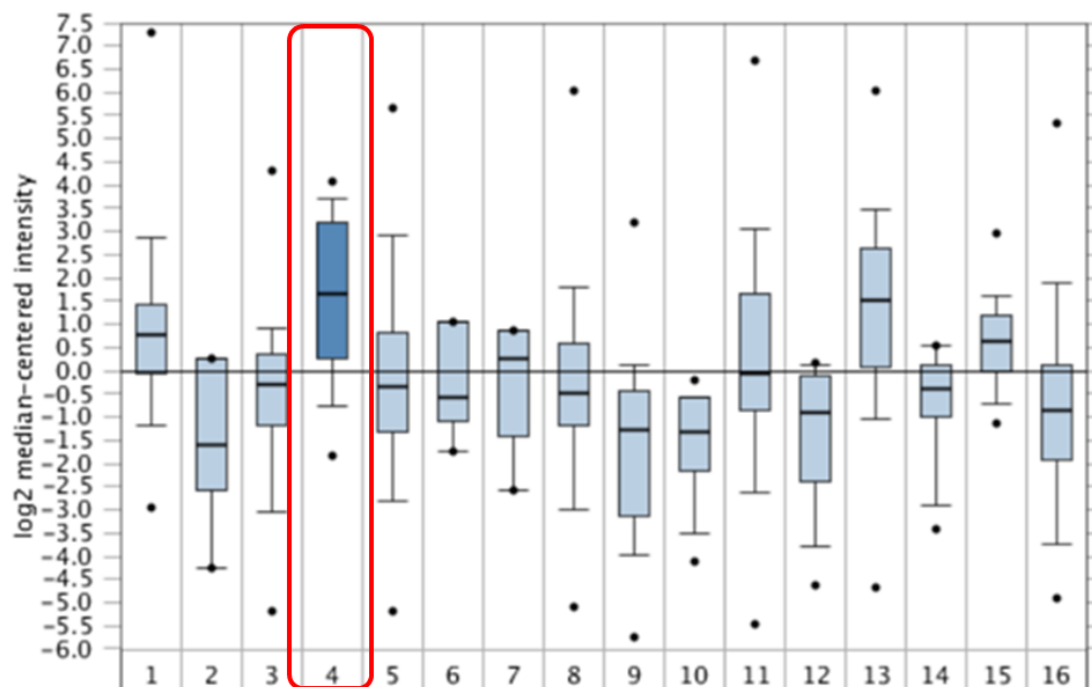
<https://www.creative-biolabs.com/fzd10-membrane-protein-introduction.html>

図 3 : ^{90}Y -OTSA101 模式図



<https://www.oncotherapy.co.jp/>

図4：オンラインデータベースにおける *FZD10* の mRNA 発現

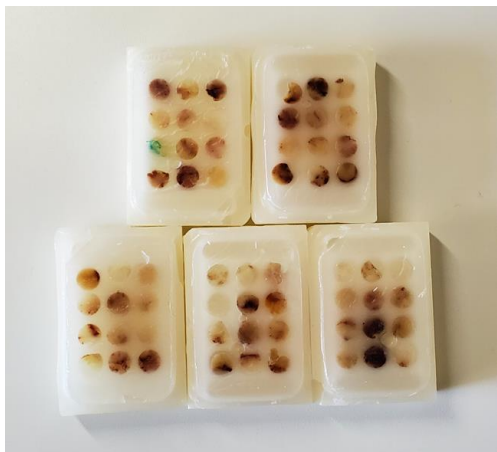


Legend

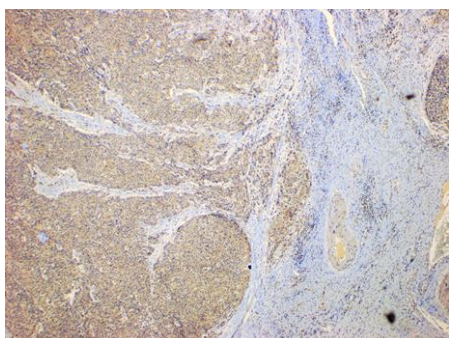
- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| 1. Bladder Cancer (32) | 9. Kidney Cancer (254) |
| 2. Brain and CNS Cancer (4) | 10. Liver Cancer (11) |
| 3. Breast Cancer (328) | 11. Lung Cancer (107) |
| 4. Cervical Cancer (35) | 12. Lymphoma (19) |
| 5. Colorectal Cancer (330) | 13. Ovarian Cancer (166) |
| 6. Esophageal Cancer (7) | 14. Pancreatic Cancer (19) |
| 7. Gastric Cancer (7) | 15. Prostate Cancer (59) |
| 8. Head and Neck Cancer (41) | 16. Sarcoma (49) |

図 5：臨床検体の TMA 作成及び免疫組織化学染色

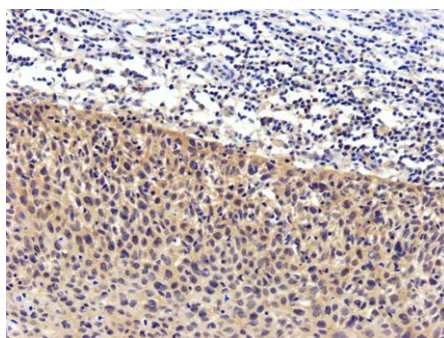
(a)



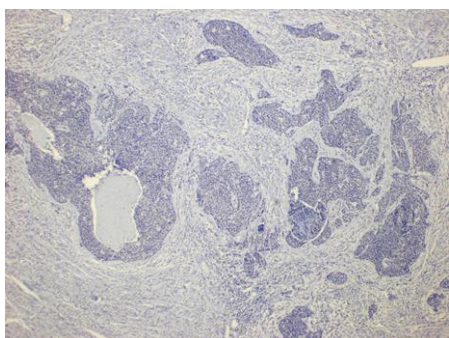
(b)



(c)



(d)



(e)

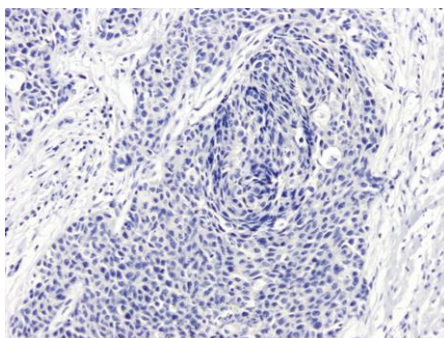


図 6：各組織の免疫組織化学染色

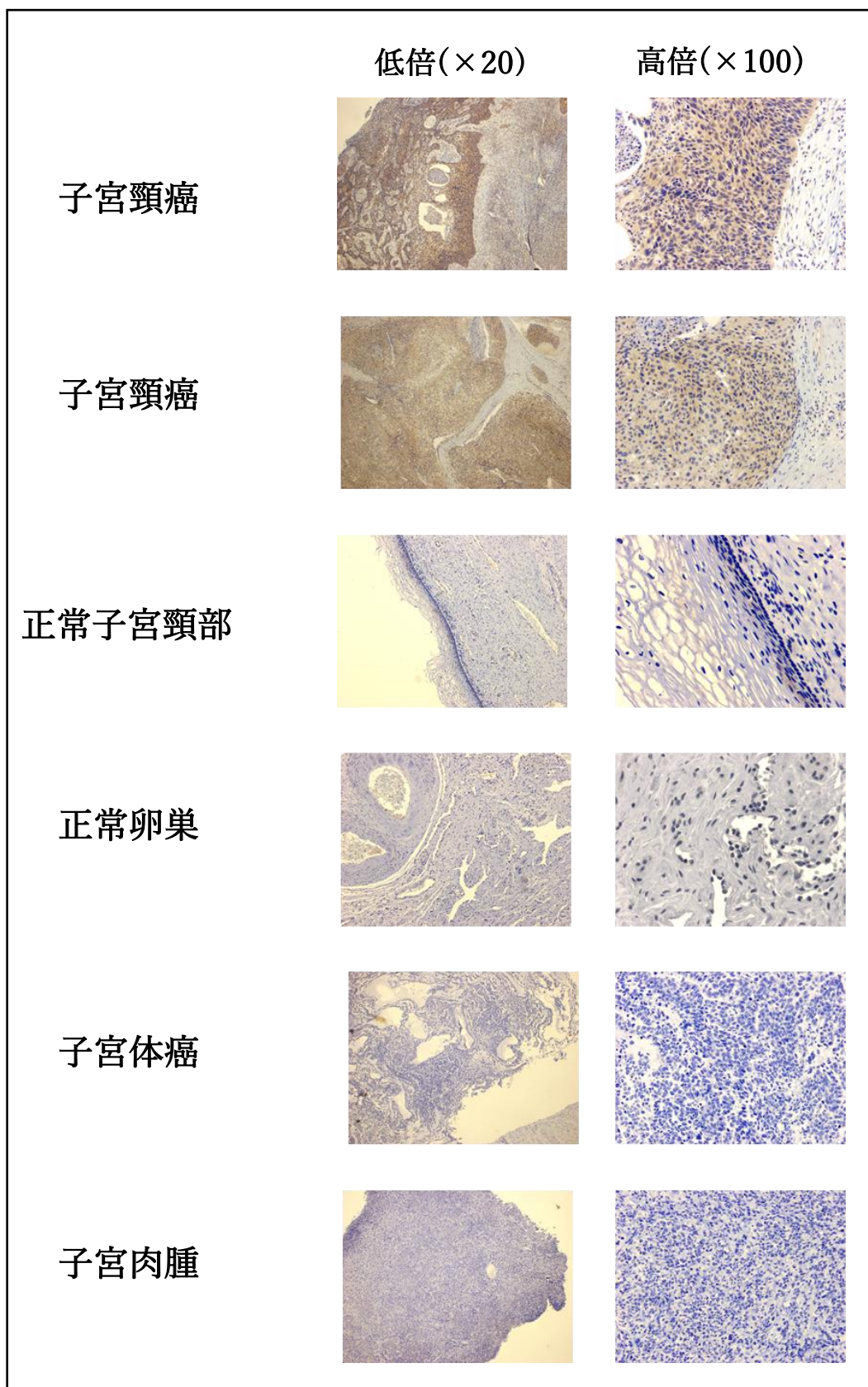


図7：リアルタイムPCRを用いたFZD10mRNAの発現の評価

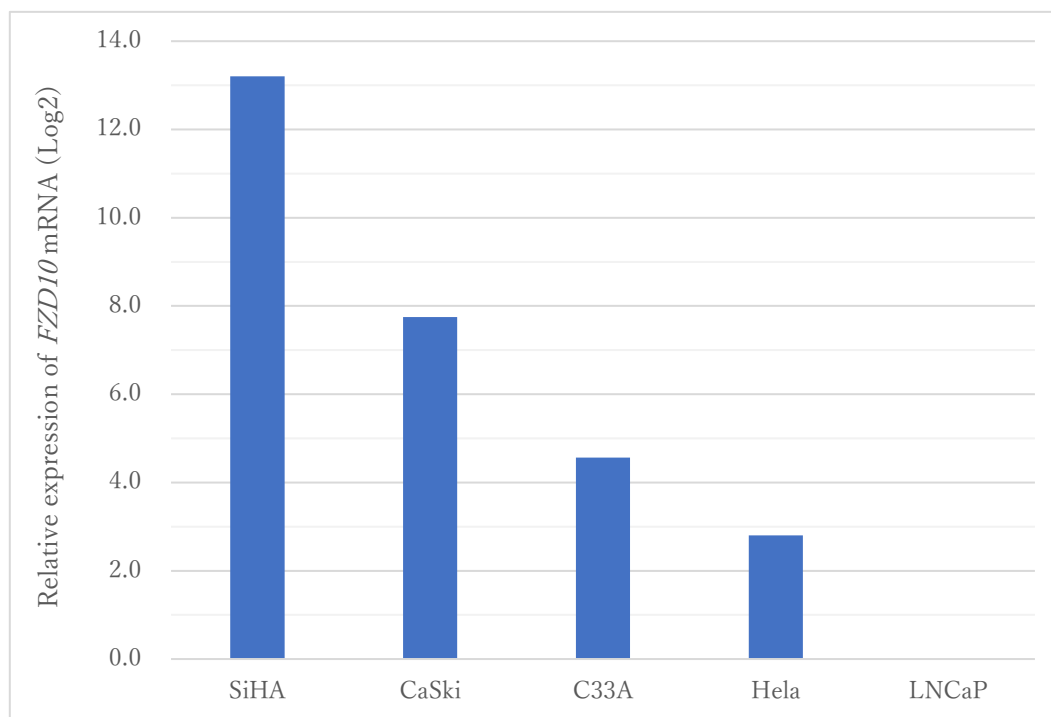


図 8 : flow cytometry を用いた FZD10 発現の評価

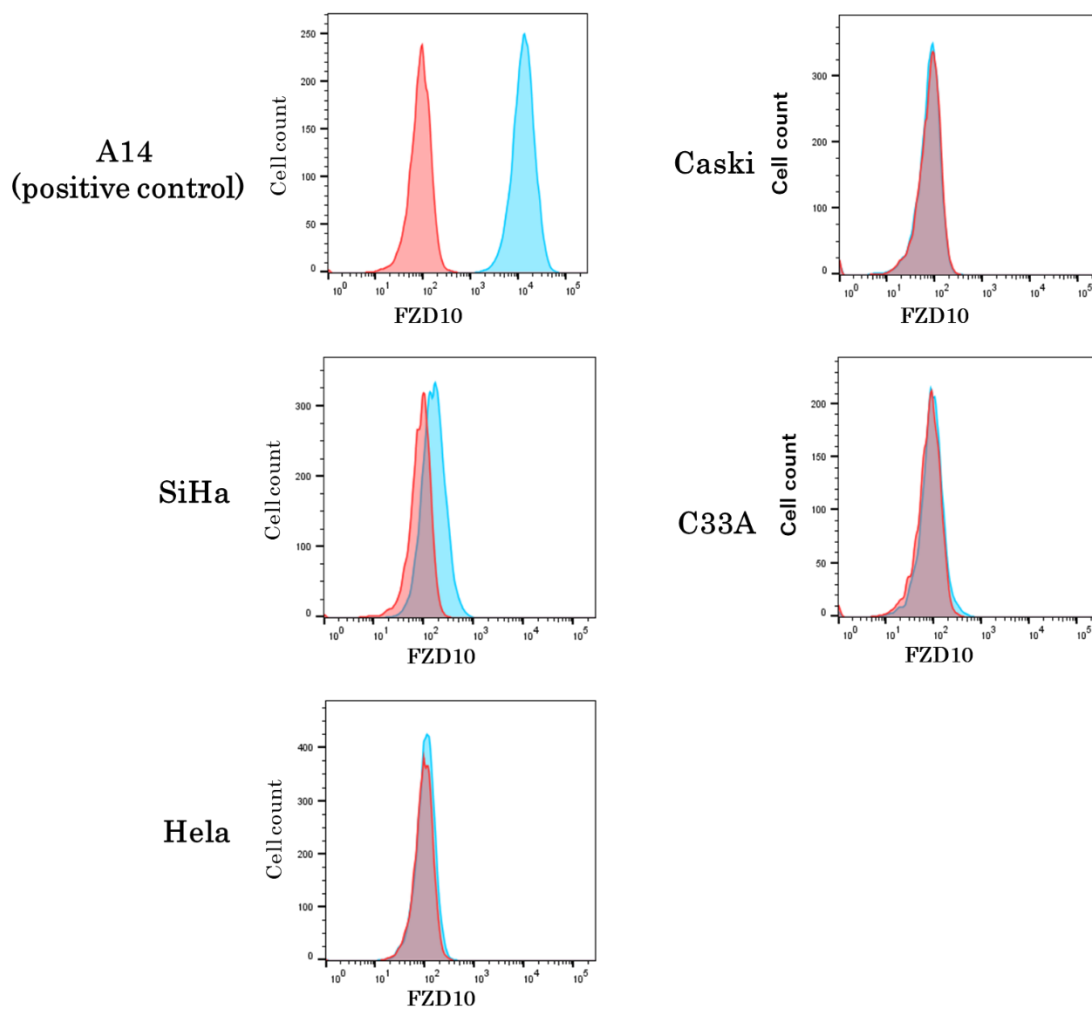


図 9：担癌マウスを用いた実験

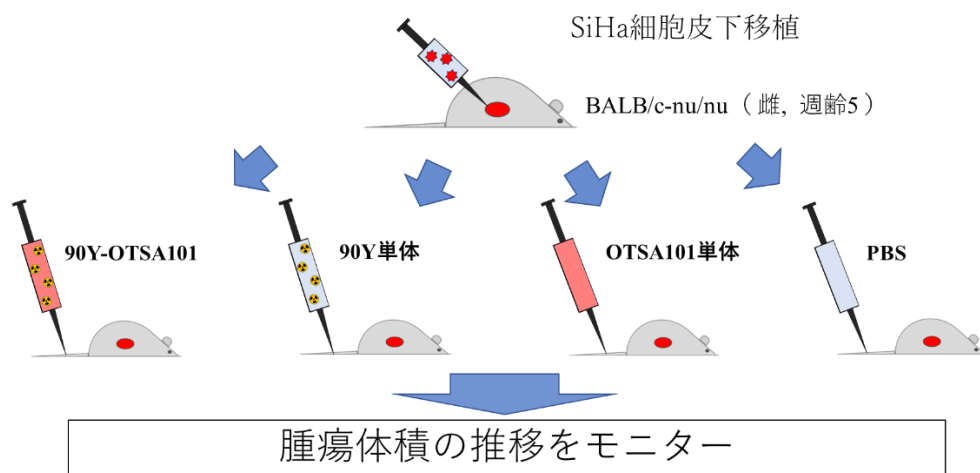


図 10：放射免疫療法の効果

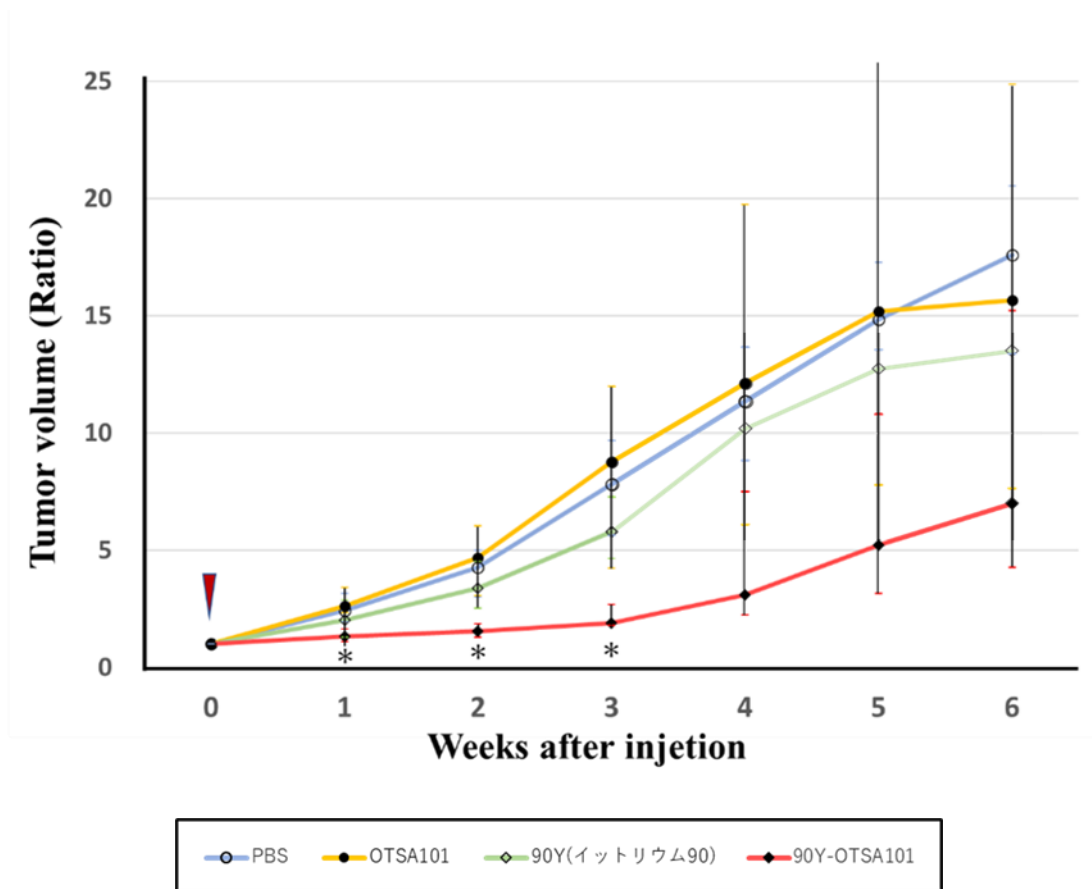


図 11：マウスの体重推移

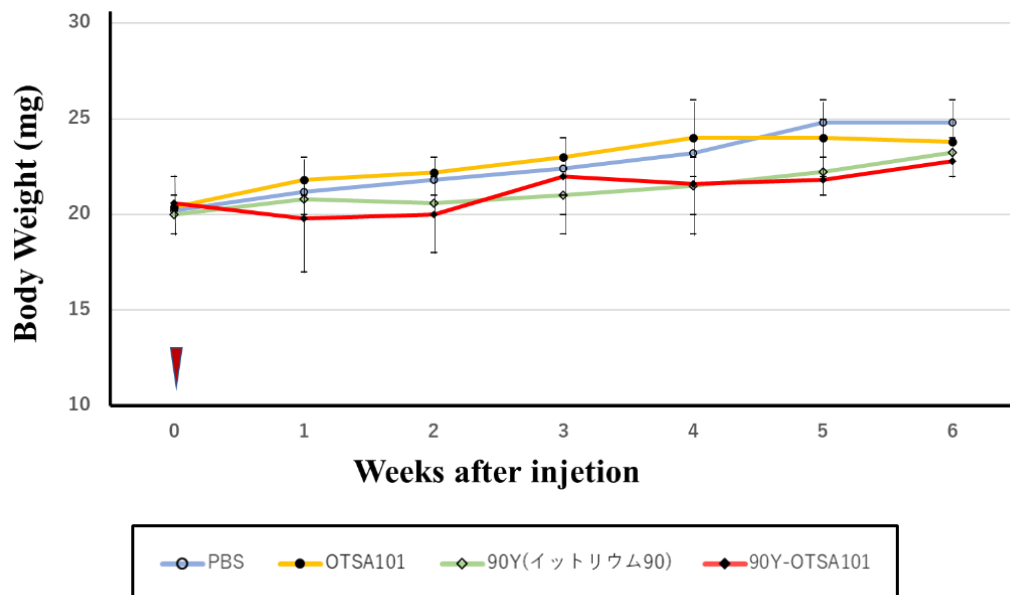
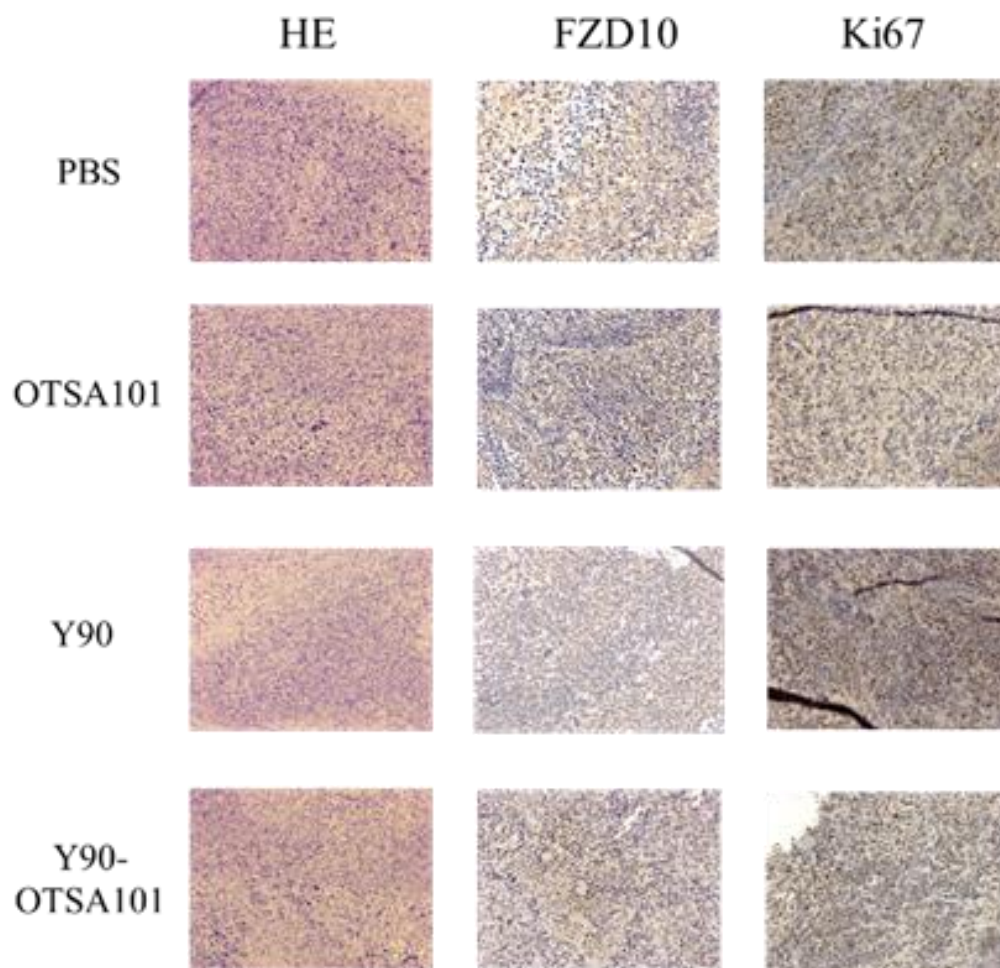


図 12：摘出腫瘍の免疫組織化学染色



13. 図説

図 1 : 放射免疫療法的作用機序

- (a)放射免疫療法では抗体と放射性同位元素が結合している試薬を用いる。
- (b)放射性同位元素が結合した抗体試薬が標的に結合することで細胞の極めて近位から放射線照射を行う。

図 2 : FZD10 模式図

FZD10 タンパク質は細胞機能の調節に関与する細胞表面の 7 回膜貫通型受容体である。

図 3 : 90Y-OTSA101 模式図

抗 FZD10 抗体である OTSA101 に放射性同位元素であるイットリウム 90 が結合した構造をとる。

図 4 : 子宮頸癌における FZD10mRNA の発現

FZD10 の各癌腫における発現をパブリックオンラインリソースである Oncomine 用いて検索した。

- ・(最大値、最小値)、誤差線 (90 パーセンタイル、10 パーセンタイル)

図 5 : 臨床検体の TMA 及び免疫組織化学染色

図 5 (a)は 1 片 5 mm 径で作成した TMA のパラフィンブロック

図 5 (b)(c)は FZD10 陽性例の検鏡写真 (b : ×20、 c : ×100)

図 5 (d)(e)は FZD10 陰性例の検鏡写真 (d : ×20、 e : ×100)

図 6 : 各組織の免疫組織化学染色

子宮頸癌 (2 例)、正常子宮頸部、正常卵巣、子宮体癌、子宮肉腫の代表的な染色画像を示す。子宮頸癌で FZD10 の高発現を認める。

図 7 : リアルタイム PCR を用いた FZD10mRNA の発現の評価

リアルタイム PCR により各種細胞株の FZD10mRNA の発現を比較した。Ct 値は初期閾値で決定し、サンプルの RNA 量は比較定量(Δ CT)を用いて評価した。

図 8 : flow cytometry を用いた FZD10 発現の評価

細胞表面の FZD10 蛋白発現を評価した。陽性コントロールの A14、子宮頸癌細胞株の SiHa、HeLa、Caski、C33A を評価した。

図 9 : 担癌マウスを用いた実験

週齢 5 週のマウスに 5×10^6 個の SiHa 細胞を含む 0.1mlPBS をマウスの左側腹部に皮下摂取する。細胞株移植 3 週間後に PBS 投与群、OTSA101 単体投与群、⁹⁰Y 単体 (1.85MBq) 投与群、⁹⁰Y-OTSA1-101(1.85 MB q)投与群の 4 群に分け、各種試薬を尾静脈より投与した。その後毎週ノギスを用いて腫瘍の大きさを計測した。

図 10 : 放射免疫療法の効果

各群の腫瘍体積の推移は試薬投与時の体積で割った比として表している。PBS 群 (青線)、OTSA101 群 (黄線)、⁹⁰Y 群 (緑線)、⁹⁰Y-OTSA101 群 (赤線) を表し、誤差線は各群の最大値と最小値を表す。
試薬投与日 (赤三角)、* (有意差あり) を表す。

図 11 : マウスの体重推移

試薬投与日からのマウスの体重推移を表す。PBS 群 (青線)、OTSA101 群 (黄線)、⁹⁰Y 群 (緑線)、⁹⁰Y-OTSA101 群 (赤線) を表し、誤差線は各群の最大値と最小値を表す。

図 12：摘出腫瘍の免疫組織化学染色

マウスから摘出した腫瘍切片で免疫組織化学染色を用いて FZD10 (×100)、
Ki67 (×100) 発現を評価した。

14.引用文献

1. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2019*. CA Cancer J Clin, 2019. **69**(1): p. 7-34.
2. Hori, M., et al., *Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2009: a study of 32 population-based cancer registries for the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project*. Jpn J Clin Oncol, 2015. **45**(9): p. 884-91.
3. Dürst, M., et al., *A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1983. **80**(12): p. 3812-5.
4. Takahashi, N., K. Ishitani, and S. Shimizu, *Characters of Local Governments as Predictors for Improving the HPV Vaccination Rate in Japan*. Tokyo Women's Medical University Journal, 2019. **3**: p. 20-28.
5. 宮城 悦子., et al., **【HPV ワクチンを改めて考える-接種勧奨の再開に向けて-】 HPV ワクチン接種の世界的状況**. 産婦人科の実際, 2018. **67**(9): p. 963-968.
6. 桐原 あづみ., **ヒトパピローマウイルスワクチン推奨世代の接種後の継続的な検診の必要性についての知識に関する研究**. 日本保健医療行動科学会雑誌, 2020. **34**(2): p. 118-125.
7. Landoni, F., et al., *Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage Ib-IIa cervical cancer*. Lancet, 1997. **350**(9077): p. 535-40.
8. Koh, W.J., et al., *Cervical Cancer, Version 3.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology*. J Natl Compr Canc Netw, 2019. **17**(1): p. 64-84.
9. Green, J.A., et al., *Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis*. Lancet, 2001. **358**(9284): p. 781-6.
10. 高橋 康幸., **放射免疫療法「ゼヴァリン」における検査方法と放射線安全管理**. 日本放射線技術学会雑誌, 2009. **65**(4): p. 471-475.
11. Eskian, M., et al., *Radioimmunotherapy as the first line of treatment in non-Hodgkin lymphoma*. Immunotherapy, 2018. **10**(8): p. 699-711.
12. Nagayama, S., et al., *Genome-wide analysis of gene expression in synovial sarcomas using a cDNA microarray*. Cancer Res, 2002. **62**(20): p. 5859-66.
13. Hutchings, C.J., et al., *Opportunities for therapeutic antibodies directed at G-protein-coupled receptors*. Nat Rev Drug Discov, 2017. **16**(9): p. 787-810.
14. Nagayama, S., et al., *Therapeutic potential of antibodies against FZD 10, a cell-surface protein, for synovial sarcomas*. Oncogene, 2005. **24**(41): p. 6201-12.
15. Scavo, M.P., et al., *Frizzled-10 Extracellular Vesicles Plasma Concentration Is Associated*

- with Tumoral Progression in Patients with Colorectal and Gastric Cancer*. J Oncol, 2019. **2019**: p. 2715968.
16. Scavo, M.P., et al., *FZD10 Carried by Exosomes Sustains Cancer Cell Proliferation*. Cells, 2019. **8**(8).
 17. Koike, J., et al., *Molecular cloning of Frizzled-10, a novel member of the Frizzled gene family*. Biochem Biophys Res Commun, 1999. **262**(1): p. 39-43.
 18. Fukukawa, C., et al., *Radioimmunotherapy of human synovial sarcoma using a monoclonal antibody against FZD10*. Cancer Sci, 2008. **99**(2): p. 432-40.
 19. Giraudet, A.L., et al., *A first-in-human study investigating biodistribution, safety and recommended dose of a new radiolabeled MAb targeting FZD10 in metastatic synovial sarcoma patients*. BMC Cancer, 2018. **18**(1): p. 646.
 20. 吉岡 孝志., 【最新がん薬物療法学-がん薬物療法の最新知見-】がん薬物治療薬の作用機序 分子標的治療薬 抗体治療薬 その他の細胞表面がん抗原に対する抗体薬. 日本臨床, 2014. **72**(増刊 2 最新がん薬物療法学): p. 259-262.
 21. 林 稔展., イットリウム 90 標識イブリツモマブチウキセタン(ゼヴァリン)の標識調製条件の最適化に向けた実態調査. 日本病院薬剤師会雑誌, 2010. **46**(7): p. 969-972.
 22. 朝永 博康., 医学・医療のトピックス 頭頸部がんに対する放射線治療の現状と展望 アイソトープ内用療法. 日本耳鼻咽喉科学会会報, 2019. **122**(3): p. 179-186.
 23. Aung, W., et al., *Radioimmunotherapy of pancreatic cancer xenografts in nude mice using 90Y-labeled anti- $\alpha 6\beta 4$ integrin antibody*. Oncotarget, 2016. **7**(25): p. 38835-38844.
 24. Frost, S.H., et al., *Comparative efficacy of 177Lu and 90Y for anti-CD20 pretargeted radioimmunotherapy in murine lymphoma xenograft models*. PLoS One, 2015. **10**(3): p. e0120561.
 25. Fujiwara, K., et al., *90Y-Labeled Anti-ROBO1 Monoclonal Antibody Exhibits Antitumor Activity against Small Cell Lung Cancer Xenografts*. PLoS One, 2015. **10**(5): p. e0125468.
 26. Sudo, H., et al., *Therapeutic efficacy evaluation of radioimmunotherapy with (90) Y-labeled anti-podoplanin antibody NZ-12 for mesothelioma*. Cancer Sci, 2019. **110**(5): p. 1653-1664.
 27. Sugyo, A., et al., *Efficacy Evaluation of Combination Treatment Using Gemcitabine and Radioimmunotherapy with (90)Y-Labeled Fully Human Anti-CD147 Monoclonal Antibody 059-053 in a BxPC-3 Xenograft Mouse Model of Refractory Pancreatic Cancer*. Int J Mol Sci, 2018. **19**(10).
 28. Sugyo, A., et al., *Evaluation of Efficacy of Radioimmunotherapy with 90Y-Labeled Fully Human Anti-Transferrin Receptor Monoclonal Antibody in Pancreatic Cancer Mouse Models*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0123761.

研究業績

大熊 勇気

I 発表 ①一般発表 18

②特別発表 なし

II 論文 ①原著論文 なし

②症例報告 1

③総説 なし

III 著書 なし

以上

I 発表

① 一般発表

1. 長谷川 怜美, 新屋 芳里, 大熊 勇氣, 橋本 恵里那, 小林 理, 仲尾 岳大, 春日 晃子, 林 忠佑, 東 裕福, 市川 剛, 小松 篤史, 千島 史尚, 高田 眞一, 川名 敬: クロウン病合併妊娠の経膈分娩後に長期間持続する外陰部膿瘍を伴った潜在的な直腸腔瘻の1例

第383回 東京産科婦人科学会例会, 東京, 2017年9月

2. 中島 隆広, 仲尾 岳大, 新屋 芳里, 春日 晃子, 小林 理, 大熊 勇氣, 長谷川 怜美, 千島 史尚, 高田 眞一, 前林 亜紀, 永石 匡司, 川名 敬: 術中腹腔内洗浄細胞診を併用した腹腔鏡下子宮体部悪性腫瘍手術に関する検討 開腹手術への移行例の抽出をめざして

第57回 日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会, 岡山, 2017年9月

3. 大熊 勇氣, 橋本 恵里那, 長谷川 怜美, 小林 理, 新屋 芳里, 仲尾 岳大, 春日 晃子, 小松 篤史, 千島 史尚, 宮川 康司, 高田 眞一, 川名 敬: 虫垂に波及した骨盤腔を占拠する付属器膿瘍に対して子宮内避妊具抜去と抗菌剤投与で寛解を得た1例

第 136 回 関東連合産科婦人科学会総会・学術集会, 東京, 2017 年 12 月

4. Okuma Yuki, Nakao Takehiro, Hashimoto Erina, Hasegawa Remi, Kasuga Akiko, Azuma Hiromitsu, Hayashi Chuyu, Komatsu Atsushi, Miyagawa Yasuji, Takada Shinichi, Chishima Fumihisa, Kawana Kei :

Limitation of postoperative adjuvant chemotherapy (paclitaxel and carboplatin) for treatment of cervical cancer stage I/II patients at high risk of recurrence

第 70 回 日本産婦人科学会学術講演会, 宮城, 2018 年 4 月

5. Shinya Kaori, Hayashi Chuyu, Kato Erina, Hasegawa Remi, Okuma Yuki, Hashimoto Erina, Kasuga Akiko, Komatsu Atsushi, Miyagawa Yasuji, Takada Shinichi, Chishima Fumihisa, Kawana Kei : Retrospective study on the clinical efficacy of single embryo transfer (SET) for IVF-adverse cases; a single IVF center

第 70 回 日本産婦人科学会学術講演会, 宮城, 2018 年 4 月

6. Hasegawa Remi, Hayashi Chuyu, Okuma Yuki, Hashimoto Erina, Kobayashi Osamu, Shinya Kaori, Kasuga Akiko, Nakao Takehiro, Komatsu Atsushi, Takada

Shinichi, Chishima Fumihisa, Kawana Kei : Treatment-free interval(TFI) is useful not only for choice of second-line agents but for prognostic factor in ovarian high-grade serous carcinoma cases stage III/IV

第 70 回 日本産婦人科学会学術講演会, 宮城, 2018 年 4 月

7. Kobayashi Osamu, Nakao Takehiro, Kasuga Akiko, Okuma Yuki, Hasegawa Remi, Hashimoto Erina, Shinya Kaori, Hayashi Chuyu, Komatsu Atsushi, Takada Shinichi, Chishima Fumihisa, Kawana Kei : Para-aortic lymphadenectomy at primary surgery is critical for treatment of endometrial cancer

第 70 回 日本産婦人科学会学術講演会, 宮城, 2018 年 4 月

8. 小林 理, 長谷川 怜美, 橋本 恵里那, 大熊 勇氣, 仲尾 岳大, 春日 晃子, 宮川 康司, 小松 篤史, 林 忠佑, 高田 眞一, 千島 史尚, 川名 敬 : SGLT2 阻害薬服用に関連しバルトリン腺膿瘍からフルニエ壊疽へと重症な転機を辿った一例

第 35 回 日本産婦人科感染症学会学術集会, 岐阜, 2018 年 5 月

9. 大熊 勇氣, 佐藤 美紀子, 橋本 恵里那, 長谷川 怜美, 小林 理, 春日 晃子,

仲尾 岳大, 林 忠佑, 小松 篤史, 千島 史尚, 高田 眞一, 川名 敬: バルトリン
腺膿瘍から進展した SGLT2 阻害薬カナグリフロジン服用中の糖尿病合併フル
ニエ壊疽の 1 例

第 386 回 東京産科婦人科学会例会, 東京, 2018 年 5 月

10. 星 絵璃子, 池田 悠至, 林 伸樹, 大熊 勇氣, 庄司 果野子, 春日 晃子, 仲
尾 岳大, 武谷 千晶, 佐藤 美紀子, 千島 史尚, 川名 敬, 石毛 俊幸: 有茎性漿
膜下筋腫より発生した子宮平滑筋肉腫の 1 例

第 136 回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会, 東京, 2018 年 11 月

11. 林 伸樹, 仲尾 岳大, 佐藤 美紀子, 大熊 勇氣, 星 絵璃子, 庄司 果野子,
春日 晃子, 池田 悠至, 武谷 千晶, 千島 史尚, 川名 敬: 子宮頸癌に対するパ
クリタキセル+シスプラチン+ベバシズマブ療法中に可逆性後頭葉白質脳症を発
症した一例

第 136 回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会, 東京, 2018 年 11 月

12. 大熊 勇氣, 池田 悠至, 小林 理, 中島 隆広, 仲尾 岳大, 東 裕福, 林 忠佑,
小松 篤史, 武谷 千晶, 千島 史尚, 佐藤 美紀子, 川名 敬: 子宮峡部に存在す

る悪性腫瘍はそのほかの子宮体癌や内頸部型子宮頸部腺癌と異なる臨床病理学的特徴を持つ

第 71 回 日本産婦人科学会学術講演会, 新潟, 2019 年 4 月

13. 米倉 星七, 小松 篤史, 河野 愛, 橋本 恵里那, 大熊 勇氣, 東 裕福, 林 忠佑, 池田 悠至, 武谷 千晶, 佐藤 美紀子, 千島 史尚, 川名 敬: 子宮頸部円錐切除術は腔内フローラ異常の修復機構を破綻させる 円錐切除術後妊娠の早産機序に関する研究

第 71 回日本産科婦人科学会学術集会, 名古屋, 2019 年 4 月

14. 大熊 勇氣, 林 伸樹, 星 絵璃子, 小林 理, 松野 孝幸, 東 裕福, 池田 悠至, 小松 篤史, 武谷 千晶, 佐藤 美紀子, 千島 史尚, 川名 敬: 帝王切開後に肺水腫が増悪し人工呼吸器管理を必要とした重症妊娠高血圧腎症の 1 例

第 137 回 関東連合産婦人科学会総会・学術集会, 東京, 2019 年 6 月

15. 米倉 星七, 谷口 彩, 大熊 勇氣, 河野 愛, 松野 孝幸, 東 裕福, 武谷 千晶, 池田 悠至, 小松 篤史, 佐藤 美紀子, 千島 史尚, 川名 敬: 妊娠中に発症した脾損傷の一例

第 137 回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会,東京,2019 年 6 月

16. 前林 亜紀, 永石 匡司, 加藤 果野子, 大熊 勇氣, 橋本 恵里那, 宮川 康司,
川名 敬: 子宮鏡手術における TCRis(Trans Cervical Resection in saline)の有用
性の検討

第 59 回日本産科婦人科内視鏡学会学術講演会,京都,2019 年 9 月

17. 加藤 果野子, 永石 匡司, 大熊 勇氣, 橋本 恵里那, 前林 亜紀, 宮川 康司,
川名 敬: 腹腔鏡下子宮筋腫摘出術から 12 年経過して発見されたポート部位
parasitic myoma の 1 例

第 392 回東京産科婦人科学会例会,東京,2019 年 12 月

18. 大熊 勇氣, 武谷 千晶, 谷口 彩, 小林 理, 中島 隆広, 仲尾 岳大, 川上 香
織, 池田 悠至, 小松 篤史, 佐藤 美紀子, 千島 史尚, 川名 敬: 婦人科癌骨盤リ
ンパ節郭清術時のリンパ管温存術におけるリンパ浮腫のリスク因子に関する検
討

第 72 回日本産科婦人科学会学術講演会,東京、2020 年,4 月

②特別発表 なし

II 論文

①原著論文 なし

②症例報告

1. 大熊 勇気, 佐藤 美紀子, 橋本 恵里那, 長谷川 怜美, 小林 理, 春日 晃子,
仲尾 岳大, 林 忠佑, 小松 篤史, 千島 史尚, 高田 眞一, 川名 敬: バルトリン
腺膿瘍から進展した SGLT2 阻害薬カナグリフロジン服用中の糖尿病合併フル
ニエ壊疽の 1 例

東京産科婦人科学会会誌 (2186-0599)68 巻 1 号 Page42-47(2019.01)