金沢大学十全医学会雑誌　第99巻　第6号　1068－1079（1990）

受精鶏卵漿尿膜法を用いたヒト肺癌に対する抗癌剤感受性試験法の研究

金沢大学がん研究所化学療法部（主任：佐々木琢磨教授）
金沢大学医学部外科学第一講座（主任：岩　　喬教授）
龍　沢　泰　彦

（平成2年11月21日受付）

肺癌に対して，現在，種々の薬剤を用いた多剤併用化学療法が施行されているが，広く一般的に有効なプロトコールは未だ確立されていないのが現状である．肺癌は，他臓器癌と異なり，その組織像が多様であり，かつ異質性 (heterogeneity) が強い特異性を有している．このため，個々の症例に対して最も感受性の高く適切な抗癌剤が選択できれば，肺癌治療に大きく貢献できると考えられ，臨床予言性の高い抗癌剤感受性試験法の開発研究の必要がある．本研究は，既存の抗癌剤感受性試験法の欠点を補う方法として，受精鶏卵漿尿膜法を肺癌に対する抗癌剤感受性試験として確立することを意図し，検討を行った．さらに本法を用いて現在臨床で施行されている多剤併用化学療法の有用性を基礎的に検討した．対象は1987年1月から1989年12月までに金沢大学医学部第一外科において手術を施行された原発性肺癌症例のうちの107例 (男83例，女24例，平均64.3歳) で，腺癌44例，扁平上皮癌43例，腺扁平上皮癌7例，大細胞癌5例，小細胞癌7例，カルチノイド1例である．これら107例中105例 (98.1%) ときわめて高率に感受性の判定が可能であった．cisplatin (CDDP) と vindesine (VDS) の併用療法 (以下 PV 療法と略す) は15.4% (8/52例)，CDDP と adriamycin (ADM) と mitomycin C (MMC) の併用療法 (以下 PAM 療法と略す) は8.3% (2/24例)，cyclophosphamide (CPA) と ADM と CDDP の併用療法 (以下CAP 療法と略す) は0% (0/8例)，MMC と VDS と CDDP の併用療法 (以下 MVP 療法と略す) は16.7% (3/18例) に有効であった．組織型別では扁平上皮癌，小細胞癌，腺癌，大細胞癌，腺扁平上皮癌の順に有効率が高かった．症例数の多かった腺癌と扁平上皮癌では，扁平上皮癌に対して MVP 療法の有効率が有意に高かった．また分化度の違い・術前化学療法の有無の検討では抗癌剤感受性に有意な差は認められなかった．臨床効果との相関関係が評価可能と考えられた症例は18例あり，真陽性率 (true positive rate) が100%，真陰性率 (true negative rate) が82%，全体的な予測率は83.3%と高い関連性が認められた．本研究により受精鶏卵漿尿膜法は肺癌に対する抗癌剤感受性試験として精度が高く，きわめて有用な方法であると考えられた．

Key words chemosensitivity test, chorioallantoic membrane, chick embryo, lung cancer

本邦における肺癌患者の数は年々増加の傾向にあり，外科療法，放射線療法，化学療法を組み込んだいわゆる集学的治療が積極的に行われているが，その治療成績は未だ不良である[1)2)]．最も確実に治癒を期待できるのは外科療法であるが，切除可能な症例は全肺癌例の30～40%にすぎず，治癒と考えられる症例はそのうちの半数以下にすぎない[3)]．さらに早期と考えられるⅠ期で絶対治癒切除がなされた症例でもその5年生

Abbreviations: ADM, adriamycin ; CAM, chorioallantoic membrane ; CAP, combination of cyclophosphamide-adriamycin-cisplatin ; CDDP, cisplatin ; CPA, cyclophosphamide ; CR, complete response ; DMSO, dimethyl sulfoxide ; FBS, fetal bovine serum ; HTCA, human

存率は約70%であり，30%以上の症例に再発が認められている[1)2)4)~6)].

このように肺癌の予後が不良であることの大きな原因として，早期から血行性の遠隔転移を生じやすいという臓器特異性があげられる．Matthews ら[7)]によれば，肺癌で治癒切除された症例でもその24%には，手術時すでに潜在性の遠隔転移が存在するという．また Muggia ら[8)]によれば，最も手術予後の良好なI期扁平上皮癌の治癒切除例であっても，その3分の2の症例で10^6〜10^{11}の癌細胞が遺残している可能性があるとしている．これらの事実は，肺癌では局所療法としての外科的切除がなされても，術後には全身的補助療法の併用が不可欠であることを示している．

このようなことから，肺癌術後補助療法に関して古くから多くの試行がなされてきたが，いずれも満足すべき結果が得られていないのが現状である．なかでも全身的補助療法としての化学療法のもつ意義，期待は大きいが，いずれの臨床比較試験でもその有用性を示す結果が得られていない[2)4)~6)]．このような中で，近年 cisplatin (CDDP) の出現により，肺癌化学療法は著しく進歩した．しかし，化学療法に感受性の高い小細胞癌であっても，その完全寛解率は20〜40%にすぎず，非小細胞癌では5%前後にとどまっている．また，完全寛解が得られたと考えられる症例であっても，その多くに再発を認めている[9)]．CDDP による化学療法には，その投与形式，適切な併用薬剤，薬剤感受性など，未解決の多くの問題が残されている．また最近，化学療法を進行肺癌症例の術前に試行して，腫瘍の縮小を図り，切除根治度の改善，手術成績の向上を期待する，いわゆる術前化学療法 (neoadjuvant chemotherapy) の試行もなされている[10)~12)]．この場合にも，適切な併用薬剤の組合せ，その使用薬剤感受性などについての基礎的研究より臨床試行が先行している．

現在臨床で各種固形癌に対し様々な多剤併用化学療法が施行されているが，そのプロトコールの多くは臨床的経験から考え出されたもので，基礎的研究の裏付けに乏しい．一定の治療計画が立てられ，臨床試行され，有効性が認められなければ，また新しい併用療法へ変わっていくのが現状である．抗癌剤感受性は，同一臓器，同一組織像を示す腫瘍であってもそれぞれ異なることはよく知られており[13)14)]，個々の症例に対し抗癌剤感受性試験を行い有効な薬剤を選択するのが理想的である．したがって抗癌剤感受性試験は臨床上きわめて重要な検査法であり，これまで数多くの試験管内 (in vitro) および生体を用いた試験管外 (in vivo) 抗癌剤感受性試験法が開発されてきた．しかし，簡便で安価にかつ迅速に結果が得られ，かつ潜在活性型薬剤を含む薬剤にも適応可能で，臨床効果との相関性が高いといった条件を満たす試験法は未だ確立されていない．

そこで著者は受精鶏卵の漿尿膜上にヒト腫瘍が移植可能であるという Murphy[15)] の報告に注目し，その抗癌剤感受性試験法としての応用を試みた．即ち，受精鶏卵漿尿膜を用いる方法をヒト肺癌に対して施行し，上記の条件を満たす信頼性の高い抗癌剤感受性試験法として確立すべく検討を行った．同時に，現在臨床で施行されている多剤併用化学療法の有用性を基礎的に検討した．

材料および方法

I．材　料

1987年1月から1989年12月までに金沢大学医学部第一外科 (以下一外) において手術を施行された原発性肺癌症例のうち107症例に対し，その切除材料を用いて抗癌剤感受性試験を行った．その内訳は男83例，女24例で，年齢は41歳から84歳まで平均64.3歳であり，病期別にみるとI期が26例，II期が6例，III期が57例，IV期が18例，また組織型別では腺癌が44例，扁平上皮癌が43例，腺扁平上皮癌が7例，大細胞癌が5例，小細胞癌が7例，カルチノイドが1例であった．これらの切除材料は，採取後直ちに感受性試験を行うか，または凍結保存して後日感受性試験を行った．凍結保存する場合は，組織培養液〔(Roswell Park Memorial Institute Media-1640, RPMI-1640)+(penicillin-streptomycin, PS)+(fetal bovine serum, FBS), Gibco, Grand Island, New York, USA〕にジメチルスルフォキシド〔(dimethyl sulfoxide, DMSO) (Sigma, St. Louis, Missouri, USA)〕を10%加えて作成した凍結保存液中に，材料を小指頭大に分割して浸し，−80°Cで保存した．

II．実験手技

受精鶏卵 (Plymouth Rock×White Leghorn) は後藤孵卵場 (岐阜) より購入後，加湿した孵卵器内で37°Cで孵卵した．孵卵11日目の鶏卵を candling し，漿尿

tumor clonogenic assay ; IFO, ifosphamide ; MMC, mitomycin C ; MTT, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide ; MTX, methotrexate ; MVP, combination of mitomycin C-vindesine-cisplatin ; PAM, combination of cisplatin-adriamycin-mitomycin C ;

膜の血管の発達した所を見出し，回転式のヤスリを用いて卵殻膜に約1cm四方の傷を付け．ピンセットで卵殻を除去した．露出した卵殻膜に小さな傷を付けた(この際すぐ下にある漿尿膜に傷を付けないように注意する)．気室中央の卵殻にあらかじめ開けておいた小孔より気室内の空気を弱く吸引することによって卵殻膜と漿尿膜とを剝離させ，人工的に気室を作成した．この部の卵殻膜を除去し，露出した漿尿膜の血管の発達した所に腫瘍を移植した(図1)．新鮮材料の場合は直ちに，凍結保存材料の場合は37°Cで解凍後，鋏でペースト状に細切し，組織培養液(RPMI-1640＋PS＋FBS)で3回洗浄・遠沈後，50μlずつ漿尿膜上に移植した．

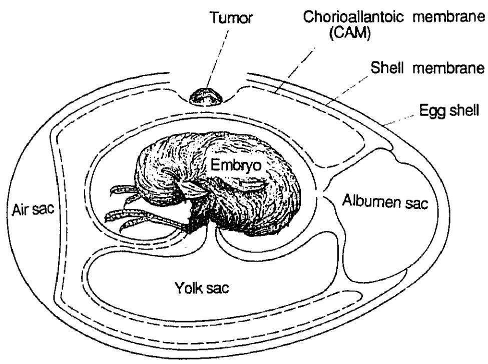

Fig. 1. Illustration of the fertilized egg.

腫瘍移植後3日目に，腫瘍の周囲に血管新生が起きていることで腫瘍の生着を確認したうえで，抗癌剤を漿尿膜の血管内に投与した．その際受精鶏卵を光にあて透視し血管の位置を定め，約5mm×10mmの長方形の傷を付け卵殻のみを除去し，露出した卵殻膜に流動パラフィン(Merck, Darmstadt, West Germany)を塗布して血管を見やすくして，30ゲージ針を付けた注射器を用いて抗癌剤を漿尿膜の血管内に投与した．投与量は，臨床投与量を鶏卵胎児の平均体重(孵卵14日目で約6.5g)に換算して決定し，総投与量が0.1mlとなるように濃度を調整した．対照群の鶏卵には生理的食塩水0.1mlを同様に投与した．

抗癌剤投与後4日目，すなわち腫瘍移植後7日目に漿尿膜上の生育した腫瘍塊を摘出し，その重量を測定した．抗腫瘍効果は下記に示した計算式を用いて腫瘍増殖阻止率(%)で示した．

腫瘍増殖阻止率(%) ＝ $(1-W_T/W_C)\times 100$

W_T: 抗癌剤投与群の平均腫瘍重量(mg)

W_C: 対照群の平均腫瘍重量(mg)

t検定(Student's t-test)により対照群との比較を行い，$p<0.05$の危険率で有意となった場合，病理組織学的判定も含めて「感受性あり」と判定し，それ以外の場合は「感受性なし」と判定した．

III．抗癌剤の組合せと投与量

Table 1. Applied doses in therapeutic treatment

Protocol	Combination	Clinical dose (mg/m^2)	Dose for chick embryo assay(μg/egg)
PV	CDDP	80	12.0
	VDS	3	0.45
PAM	CDDP	50	7.5
	ADM	30	4.5
	MMC	8	1.2
CAP	CPA	350	52.5
	ADM	35	5.25
	CDDP	35	5.25
MVP	MMC	8	1.2
	VDS	3	0.45
	CDDP	80	12.0
CV	CPA	300	45.0
	VCR	2	0.3

PCZ, procarbazine; PS, penicillin-streptomycin; PV, combination of cisplatin-vindesine; RPMI-1640, Roswell Park Memorial Institute Media-1640; SRCA, subrenal capsule assay; VCR, vincristine; VDS, vindesine; VLB, vinblastine; VP-16, etoposide

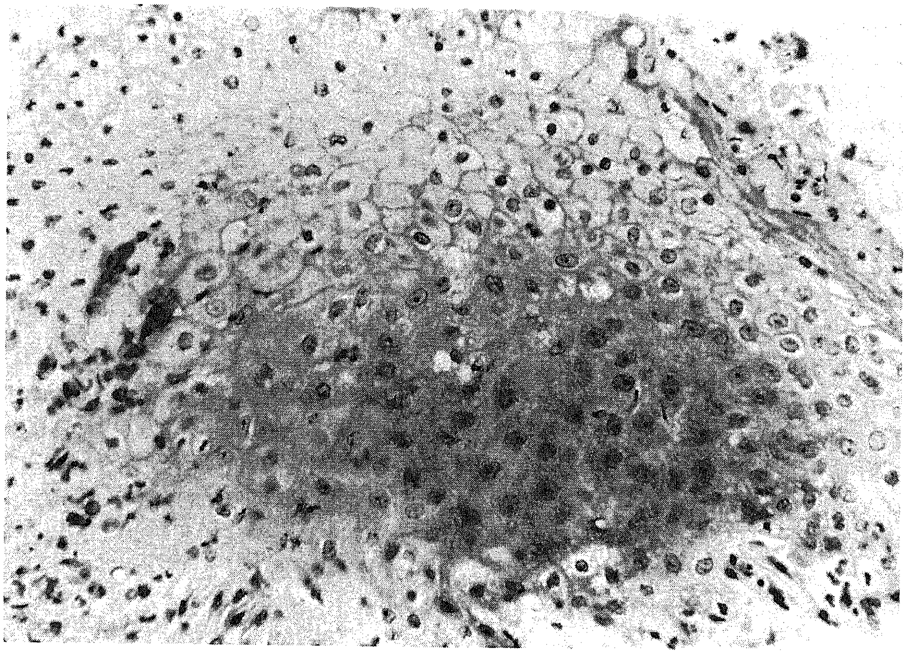

Fig. 2.　Histological examination of the human lung cancer on the chorioallantoic membrane (CAM). Epidermoid carcinoma obtained surgically was implanted onto the CAM of 11-day-old chick embryo. A grown tumor on the CAM was observed 7 days later. Hematoxyline-eosin stain, ×400.

抗癌剤としては CDDP, vindesine (VDS), adriamycin (ADM), mitomycin C (MMC), cyclophosphamide (CPA), vincristine (VCR) などを使用した．これらの抗癌剤を臨床で実際に施行されている多剤併用化学療法のプロトコールに従って，表１に示すような組合せおよび投与量で投与した．単剤ごとの投与量は，下記に示した計算式を用いて投与日の鶏卵胎児の平均体重に換算した量とした．

$X = Y \times 0.15$

X：抗癌剤の鶏卵への投与量 (μg/egg)

Y：抗癌剤の臨床投与量 (mg/m^2)

0.15：換算係数 (身長160cm，体重50kg の成人の体表面積は 1.45m^{2}で，これをヒトのモデルと想定して，孵卵14日目の鶏卵胎児平均体重が 6.5g であることより算出した)

抗癌剤は表１に示した組合せに従い，混合後直ちに投与したが，その際投与総量が0.1ml になるように濃度を調整した．

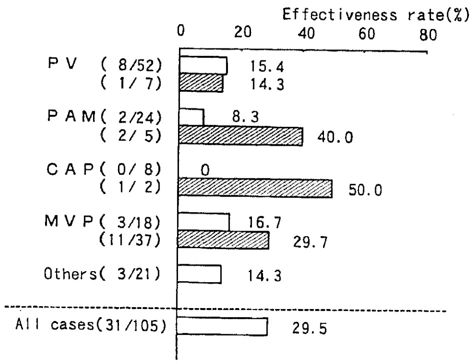

Fig. 3.　Effectiveness rate of each protocol. PV: CDDP+VDS, PAM: CDDP+ADM+MMC, CAP: CPA+ADM+CDDP, MVP: MMC+VDS+CDDP. Figures in parentheses are effective cases/tested cases. The doses used correspond to clinical dose (□) and its 2 times doses (▨).

成　　　績

I．組織標本

図２は，孵卵11日目の受精鶏卵漿尿膜上へペースト状にしたヒト肺扁平上皮癌 50μl を移植し，孵卵18日目に摘出した腫瘍の hematoxylin-eosin (H-E) 染色組織像 (×400) である．本症例は凍結保存材料を用いたものであるが，このように漿尿膜組織内に原発巣の形態をとどめた腫瘍の増殖が認められた．

II．評価可能率

感受性試験を施行した107例中105例（98.1%）に抗癌剤感受性判定が可能であった．抗癌剤感受性判定不能例は2例（扁平上皮癌1例，大細胞癌1例）あり，1例は感染の合併，他の1例は感受性試験に用いた腫瘍そのものが小さすぎたため十分な腫瘍の生育が認められなかったことがその原因であった．

III．抗癌剤感受性試験の結果

感受性判定可能であった105例に対するプロトコール別の有効率を図3に示す．CDDP と VDS の併用療法（以下 PV 療法）は 15.4%（8/52例），CDDP と ADM と MMC の併用療法（以下 PAM 療法）は8.3%（2/24例），CPA と ADM と CDDP の併用療法（以下 CAP 療法）は 0%（0/8例），MMC と VDS と CDDP の併用療法（以下 MVP 療法）は 16.7%（3/18例）であった．また薬剤の投与量を臨床対応量の2倍にすると，各々有効率は PV 療法：14.3%（1/7例），PAM 療法：40.0%（2/5例），CAP 療法：50.0%(1/2例)，MVP 療法：29.7%（11/37例）となった．いずれか1つ以上のプロトコールが有効であったのは，全105例中31例（29.5%）であった．

次に組織型別の有効率をみると（図4），扁平上皮癌：35.7%（15/42例），小細胞癌：28.6%（2/7例），腺癌：27.3%（12/44例），大細胞癌：25.0%（1/4例），腺扁平上皮癌：14.3%（1/7例）の順に有効率が高かった．しかし各組織型の症例数にバラツキがあり，有意な差は認められなかった．

この中で症例数の多かった腺癌と扁平上皮癌について，プロトコール別に有効率をみたものを図5に示す．PV 療法は腺癌に対し 17.4%（4/23例），扁平上皮癌に対し21.1%（4/19例）と，組織型が異なっても有効率に有意な差は認められなかった．また PAM，CAP 療法とも腺癌，扁平上皮癌の両方にほとんど有効例を認めなかった．これらに比べ，MVP 療法は腺癌に対する有効率は 0%（0/6例）であったのに対し，扁平上皮癌には 30.0%（3/10例）と高率に有効例を認めた．また薬剤の投与量を2倍にした場合でも，腺癌では 12.5%（2/16例），扁平上皮癌では 44.4%（8/18例）と，扁平上皮癌に対する有効率が有意に高かった（$p<0.05$）．

さらに腺癌と扁平上皮癌について分化度と抗癌剤感受性との関連を検討した．腺癌では44例中4例，扁平上皮癌では42例中1例に分化度の不明な症例があり，これらを除いた腺癌40例，扁平上皮癌41例について検討を行った．腺癌では高分化が 27.1%（5/17例），中分

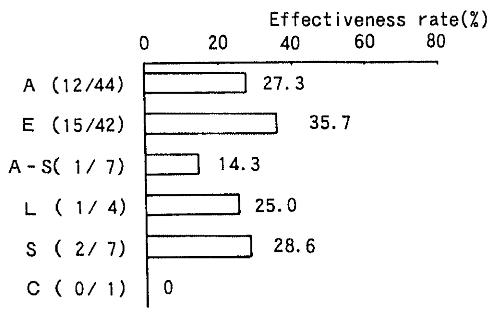

Fig. 4. Effectiveness rate classified according to the histopathological characteristic of the cancers tested. A: Adenocarcinoma, E: Epidermoid carcinoma, A-S: Adenosquamous carcinoma, L: Large cell carcinoma, S: Small cell carcinoma, C: Carcinoid. Figures in parentheses are effective cases/tested cases.

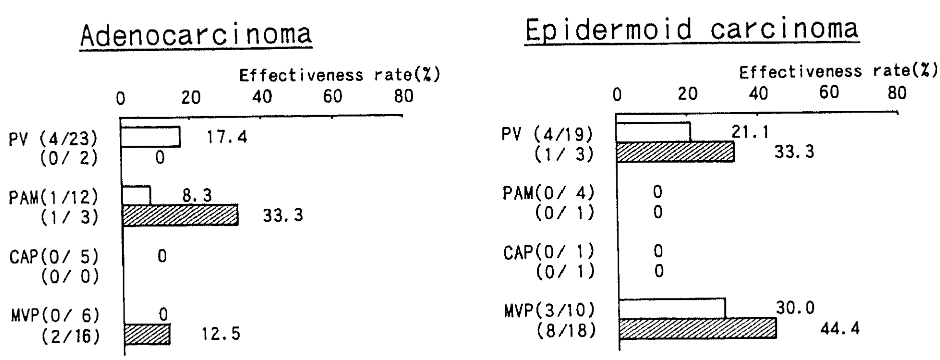

Fig. 5. Effectiveness rates of adenocarcinoma and epidermoid cadrcinoma classified according to the protocol. PV: CDDP+VDS, PAM: CDDP+ADM+-MMC, CAP: CPA+ADM+CDDP, MVP: MMC+VDC+CDDP. Figures in parenthese are effective cases/ tested cases. The doses used correspond to clinical dose (□) and its 2 times doses (▨).

化が33.3% (3/9例), 低分化が28.6% (4/14例), 扁平上皮癌では高分化が50.0% (3/6例), 中分化が36.4% (8/22例), 低分化が30.8% (4/13例) であり, いずれの組織型でも分化度の違いによる抗癌剤の感受性に有意な差は認められなかった.

また術前に全身化学療法や気管支動脈内注入療法 (bronchial artery infusion, BAI) などの化学療法を既に受けていた症例は12例あり, そのうち4例 (33.3%) が「感受性あり」と判定された. しかし, 未治療例における有効率 (29.0%, 27/93例) との間に有意差はなかった.

IV. 抗癌剤感受性試験の結果と臨床効果との相関

感受性判定可能であった症例のうち, 臨床効果との関連について検討可能と考えられた症例は25例であった (表2). その内訳は, 組織型別では腺癌12例, 扁平上皮癌7例, 腺扁平上皮癌4例, 小細胞癌1例, 病期別ではII期が1例, III期が17例, IV期が7例, また手術根治度別では絶対治癒が1例, 相対治癒が10例, 相対非治癒が3例, 絶対非治癒が11例であった. この25症例はいずれも手術によって腫瘍を切除したため, 術後の追跡 (follow up) を参考にした. 便宜的にIV期あるいは絶対非治癒切除例では1年, 絶対非治癒切除以外のIII期では2年, II期では3年以内に死亡した場合その化学療法は「無効」であったとし, それ以上生存した場合は「有効」とした.

その結果, 25例中本感受性試験で「感受性あり」と判定され, 臨床的にも「有効」と判定された症例 (S/S, true positive) は1例, 本法で「感受性なし」と判定され, 臨床的にも「無効」と判定された症例 (R/R, false negative) は14例であった. また本法にて「感受性なし」と判定されたが, 臨床的には「有効」と判定された症例 (R/S, false negative) は3例あり, 本法にて「感受性あり」と判定されたが, 臨床的には「無効」であった症例 (S/R, false positive) は1例もなかった. さらにこれらを除いた残りの7例は観察期間がまだ短く, 臨床的に判定保留となった. 以上より判定保留の7例を除く18例について検討すると, 本法の臨床的な感受性に対する予測率 (true positive rate) は100%で, 耐性に対する予測率 (true negative rate) は82.4%であった. また全体としての予測率も83.3%と高いものであった. 臨床との相関例が少ないのでさらに詳細な検討を必要とするが, 現時点においても本法の有用性が示唆された.

考　　察

現在非小細胞肺癌に対し単剤で15%以上の奏効率を示している有効な抗癌剤については, Bakowskiら[16]の報告にみられるように, ifosphamide (IFO),

Table 2. Chick embryo assay and clinical response in lung cancer

Case	Name	History of tumor[a]	Stage	Operative radicality[b]	Assay (inhibition ratio %)							Clinical		Correlation[d]
					PV	2PV[c]	PAM	2PAM[c]	MVP	2MVP[c]	CV	Therapy	Prognosis	
1	S.K.	A	IV	A.N.	−38.0		4.5					PAM	6M, Dead	TN
2	Y.D.	A	IIIA	A.N.	−11.3							PV	9M, Dead	TN
3	M.K.	A-S	IV	A.N.	−14.2		−8.2					PAM	6M, Dead	TN
4	M.I.	A-S	IIIA	A.N.	−12.7		−33.8					PAM	11M, Dead	TN
5	A.Y.	E	IIIA	A.N.	4.7		10.2					PAM	7M, Dead	TN
6	J.K.	A	IV	A.N.	6.8		11.2					PAM	11M, Dead	TN
7	T.Y.	A	IV	A.N.	16.4		−26.6					PAM	12M, Dead	TN
8	T.T.	A	IV	A.N.	−31.9	−6.3	−40.4	−54.4				PAM	8M, Dead	TN
9	K.N.	A	IV	A.N.				3.4		11.9		PAM	11M, Dead	TN
10	F.M.	A	IIIA	R.N.	−2.6		−2.6					PV	7M, Dead	TN
11	K.K.	E	IIIA	R.N.	4.6		−43.3					PV	9M, Dead	TN
12	S.M.	A-S	IIIA	R.N.	1.3	−85.3						PV	4M, Dead	TN
13	G.N.	A-S	IIIA	R.C.	−3.7	1.7						PV	4M, Dead	TN
14	D.Y.	E	IIIB	R.C.	−22.6	−58.2						PV	7M, Dead	TN
15	K.Y.	S	IIIA	R.C.							11.1	CV	34M, Alive	FN
16	S.N.	A	IIIA	R.C.	−46.1							PV	27M, Alive	FN
17	R.O.	A	IIIA	R.C.	15.2				−17.8	37.4[e]		PV	27M, Dead	FN
18	T.M.	E	IIIA	R.C.						59.8[e]		MVP	30M, Alive	TP
19	T.F.	A	IV	A.N.				6.6		−9.0		PAM	10M, Alive	−
20	M.N.	A	IIIB	R.N.						7.6		MVP	17M, Alive	−
21	K.K.	E	IIIA	R.C.	−13.7				−17.5	17.5		PV	22M, Alive	−
22	T.S.	A	IIIA	R.C.			−29.7			17.9		MVP	12M, Alive	−
23	M.Y.	E	IIIA	R.C.		61.2[e]				42.1[e]		MVP	9M, Alive	−
24	M.K.	E	IIIA	R.C.		17.2				16.5[e]		PV	9M, Alive	−
25	M.N.	A	II	A.C.	−26.3				11.5			MVP	25M, Alive	−

a) A, Adenocarcinoma; E, Epidermoid carcinoma; A-S, Adenosquamous carcinoma; S, Small cell carcinoma.
b) A.C., Absolute curative; R.C., Relative curative; R.N., Relative noncurative; A.N., Absolute noncurative.
c) 2PV: 2PAM: 2MVP, 2 times doses of PV: PAM: MVP, respectively.
d) TP, true postive; TN, true negative; FN, false negative.
e) $P<0.05$ compared with control by Student's t-test.

CDDP, MMC, VDS, vinblastine (VLB), procarbazine (PCZ) の6剤があり，また ADM, methotorexate (MTX), etoposide (VP-16) の3剤は，10～15%の奏効率である．現在これらの薬剤が非小細胞肺癌に対する多剤併用化学療法に組みこまれており，臨床的にいくつかのプロトコールが試みられている．しかし奏効率の多少の向上は見られるものの，いずれの治療法も著効 (complete response,CR) 率が10%以下と低く，生存期間の延長への寄与は少ない[3]．

日常しばしば経験されるように，ある薬剤を同じ臓器から発生した同一組織型の癌に投与しても，その効果は必ずしも一定しない．このことは，個々の個体に発生した腫瘍がそれぞれに異なる薬剤感受性を有することを示すものである[17]．また抗癌剤は腫瘍細胞のみならず正常細胞にも同時に障害を及ぼすため副作用が強く，もしその患者の腫瘍に感受性のない薬剤が投与されれば全身状態が悪化し，そのために生命の危険性も生じる．さらに初期治療においても耐性薬剤を使用すれば，その薬剤のみならず他の薬剤にも耐性が出現することが知られている[18][19]．したがって感受性のある薬剤を特に初期治療において十分量使うことが重要であり，抗癌剤の臨床効果を予知するための薬剤感受性試験の必要性が示唆される．予知性に優れた感受性試験は，効果的な薬剤を十分量投与し，無用な薬剤の投与を回避することにより，治療効果の向上に大きく寄与するものと思われる．

悪性腫瘍に対する抗癌剤の感受性を知ろうとする試みは1930年代後半から行われてきたが，系統的研究が始まったのは1950年代に入ってからである．その方法としては，癌細胞を培養し試験管内で抗癌剤の感受性を評価しようとするものと，マウスなどに腫瘍を移植し抗癌剤投与後の腫瘍増殖の状態から感受性を判定しようとする試験管外の感受性試験に大別される[9]．前者として1977年 Hamburger と Salmon らにより開発されたヒト癌コロニー形成法 (human tumor clonogenic assay, HTCA)[20]は，二重軟寒天培地を用いることにより腫瘍細胞の選択的な増殖に成功し，精度の高い抗癌剤感受性試験として臨床での実用化が期待されてきたが，広く普及するに至っていない[9][21]．その最も大きな原因は感受性を評価するのに十分なコロニー形成が得られないことであり，その他の問題として薬剤濃度と接触時間，潜在活性型薬剤の取り扱い方，感受性判定の基準，癌細胞の異質性 (heterogeneity) などがある[9]．またトリチウムチミジンの取り込みを利用した感受性試験 (sincilation assay) やテトラゾリウム塩を基質とした感受性試験〔3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide assay, MTT assay〕ではすべての cell population を対象としているために，cell line を用いる限りは問題がないものの線維芽細胞 (fibroblast) などの正常細胞が混在する初代培養系での妥当性は明確にされていない[22]．一方後者としては従来のヌードマウス法に加えて，1979年 Bogden らにより開発された腎被膜下移植法 (subrenal capsule assay, SRCA)[23]が注目されており，臨床での実用化が期待されている．しかし，移植腫瘍片に対する宿主の反応が現在最も問題となっている．このため，CPA, cyclosporine A, bredinin などの免疫抑制剤を用いて宿主の反応を抑制する試みがなされているが，免疫抑制剤そのものの宿主への影響，抗腫瘍効果の修飾などが示唆されており臨床応用まで至っていない[24]．また抗腫瘍効果を目視的腫瘍径の測定から判定しているために測定値にバラツキが大きく，再現性に乏しいこと，手技的に複雑であること，移植する各腫瘍片の大きさ，組織特性に均一性が保ち得るかどうか，などの問題点が残っている[21]．肺癌領域でも HTCA, SRCA などの方法を用いて抗癌剤感受性試験が試みられている[17][25]~[28]が，上記の問題点は克服されておらず，臨床上あまり普及していない．

理論的な抗癌剤感受性試験法としての条件は，①簡便で再現性のあること，②高い感受性と特異性を有すること，③安価にかつ迅速に結果の得られること，④潜在活性型薬剤を含むすべての薬剤に適応できること，⑤臨床効果との相関があること，などが考えられる[29]．しかしこれらの条件を完全に満たす試験法は未だ見出されていない．

佐々木は，1912年 Murphy によって報告された受精鶏卵の漿尿膜上にヒト腫瘍が移植可能であることに注目し，この方法を上記の条件を満たす信頼性の高い薬剤感受性試験法や癌の悪性度の判定法，抗癌剤スクリーニング法などに応用できる可能性について報告している[29][30]．そこで著者はこの方法に着目し，現在まだあまり多くの報告がなされていない肺癌に対して，従来法の欠点を補える抗癌剤感受性試験法として確立すべく検討を行った．

孵卵開始後まだ鶏卵胎児が幼弱な時には，移植操作によって鶏卵胎児が死亡しやすく，移植腫瘍の生存に適した脈管や間質も未発達であるために，孵卵8日目以前に漿尿膜上に腫瘍を移植しても生着しないものが多い[31]．また受精鶏卵は免疫学的に未発達な状態にあり，わずかに免疫学的な特徴を示すものとしては母体由来の7Sグロブリン[32]と，孵卵15日目より外来の細胞を認知できるリンパ球が出現するにすぎない[31]．孵

卵17日目から18日目においては腫瘍組織へのリンパ球に浸潤はあるものの，健常な状態で腫瘍は摘出できる．それ以後は漿尿膜の血管が収縮して移植した腫瘍は壊死をおこしてしまい，通常孵卵21日目に孵化(hatching)する[33]．そこで著者は孵卵11日目の受精鶏卵漿尿膜上に腫瘍を移植し，その1週間後の18日目に腫瘍を摘出するというスケジュールを設定した．このスケジュールで漿尿膜上にヒト肺癌組織を移植し，生着を確認した(図2)．抗癌剤の投与時期は，薬剤の腫瘍組織への移行を考慮し，腫瘍移植後3日目の腫瘍血管が十分に発達した時期，つまり孵卵14日目を選んだ．

薬剤の投与経路については，卵黄内投与と血管内投与の2通りがある．しかしUchidaらは[34]，生体内の組織もしくは高分子性のものと結合すると言われているADMやCDDPは卵黄内投与では効果を示さず，血管内投与で初めて抗腫瘍効果を示したと報告している．また杉原は[35]卵黄内投与で宿主である鶏卵胎児に対し毒性を示さなかった投与量でも，MTX, ADM, VCR, CDDPは血管内投与では毒性を示すが，MTX以外は臨床相当量で毒性を示すものはなかったことから，受精鶏卵漿尿膜法における抗癌剤の投与には血管内投与が適切であるとしている．そこで著者は全例血管内に抗癌剤を投与した．さらに生体内で活性化されて薬効を示すいわゆる潜在活性型薬剤であるCPAも抗腫瘍効果を示し，そのままの形で効果判定できることが確認されており，本法は広範な薬剤が臨床に近い投与経路と薬剤量で使用できることが示唆された．

また本法は多剤併用療法を行えることも特徴の1つである．抗癌剤の抗腫瘍効果を評価する場合，単剤では一般的に奏効率が20%以上の場合を有効と判断するが，特に非小細胞肺癌の場合有効な薬剤がほとんどなく，前述のごとく奏効率が15%以上のものが6剤，10%以上のものが3剤ある程度である．そこで抗癌スペクトラムの拡大や相乗効果さらには副作用の分散を目的として，臨床では作用機序の異なった抗癌剤を組み合わせる多剤併用化学療法が主体となっている[36]．単剤のみの感受性試験を行い，その結果有効であった薬剤をいくつか組み合わせて実際に臨床で使用したとしても，お互いの薬効を相殺してしまう場合も考えられる．従って多剤併用した感受性試験を行うことが肝要であり，この点からも本法は有用な実験系であると考えられた．

佐々木は，受精鶏卵の漿尿膜上に腫瘍を移植したところ，癌腫・肉腫を問わず全例生着したと報告している[29][30]．その他にも骨軟部悪性腫瘍[35]，悪性グリオーマ[37]でもほぼ全例に生着したとの報告がある．著者の場合も，感染を起こした1例と術後得られた腫瘍そのものが小さすぎ十分な生育が認められなかった2例を除く全例生着し，感受性試験を施行できた．

多剤併用療法で感受性試験を行った結果，PV療法は15.4%，PAM療法は8.3%，CAP療法は0%，MVP療法は16.7%といずれもあまり有効率は高くなかった．PV療法は現在臨床で最も多く試みられている治療法のひとつであり[3]，一外ではIII期非小細胞癌の術後化学療法として施行されている．この療法に関しては，1981年のGrallaらの報告[38]以後23〜46%の奏効率が再現性をもって得られているものの，CR率は10%前後で明らかな生存率の延長は認められていない[3]．PAM療法はIV期あるいは絶対非治癒切除に終わった非小細胞癌の術後化学療法として一外で施行されているが，臨床での詳細な成績は現在のところ不明である．CAP療法は一外では施行されておらず，他施設でも現在はあまり施行されていない．MVP療法は最近特に注目を集めている治療法であり，多施設で臨床試行が進行中である[3]．中間報告ではPV療法より奏効率が上回っているものの生存率では有意な差は認められていない．一外ではII期非小細胞癌の術後化学療法，および臨床病期N2III期非小細胞癌の術前化学療法(Neoadjuvant chemotherapy)として試行されている．また少数例にのみ試行した「その他」のプロトコールの中ではCPA+VCRが66.7%(2/3例，そのうち小細胞癌が1/2例)に有効であった．このプロトコールは一外では小細胞癌に対する化学療法の一つとして施行されている．全体的に鶏卵法による感受性試験の結果は臨床と同様の傾向が認められた．

組織型では扁平上皮癌，小細胞癌，腺癌の順に有効率が高く，小細胞癌の有効率がやや低かったものの，臨床と同様の傾向が見られた．さらに腺癌と扁平上皮癌についてプロトコール別の有効率を見ると，扁平上皮癌に対するMVP療法の有効率が他に比べ有意に高かった．現在MVP療法は非小細胞癌全般に対して施行されているが，今回の結果からは症例に応じた化学療法を施行することの重要性が示唆された．

分化度では低分化のものほど抗癌剤感受性が高いことが予想されたが，腺癌，扁平上皮癌ともに分化度の違いで感受性に有意な差は認められなかった．

一般に術前既に化学療法を受けている場合，感受性試験での有効率が低くなることが言われているが，今回の検討では既治療例・未治療例間で有効率に有意な差は見られなかった．これは術前療法の投与量が少なかったり，あるいは濃厚治療をした後でも腫瘍が再増

殖している活動的な状態の時などでは，たとえ前治療を受けていても抗癌剤感受性は保持されている可能性があるためと考えられる．未治療例に比し既治療例の数はかなり少ないが，既に化学療法が行われている場合でも，感受性試験は次の化学療法を決定する有力な根拠を与えてくれることが示唆された．

抗癌剤感受性試験において臨床との相関をみることは，それを評価する上において欠かすことができない．臨床相関について検討可能と考えられた症例は現時点で25例であり，全症例の約25％であった．このように検討可能症例の少なかった理由としては，前述のごとく一外では各病期ごとに術後の化学療法のプロトコールが決められており，I期および76歳以上の場合このプロトコールのような化学療法を行わないこと，II・III期では無作為比較試験を行っており，化学療法を施行する症例としない症例が約半数ずつあること，術中病期に従って感受性試験を行っても術後病理病期が異なる場合がしばしばあること，術前の組織診断と術後の組織診断が異なる場合も時々あることなどがあげられる．

臨床効果の判定は，通常肺癌取扱い規約に収録されている「原発性ならびに転移性肺腫瘍の肺所見に対する化学療法および放射線療法の腫瘍効果判定基準」[39]に基づいて行われるが，前述の25例はいずれも手術によって腫瘍を切除されてしまったため，この判定基準を適用できなかった．そこで術後の化学療法が奏効すれば生存期間が延びるはずとの考えから，便宜的にIV期あるいは絶対非治癒切除例では1年，絶対非治癒切除以外でIII期では2年，II期では3年以内に死亡した場合その化学療法は「無効」であったとし，それ以上生存した場合は「有効」とした．

観察期間の短い7例を除く18例について検討した結果，真陽性例が1例，真陰性例が14例，偽陰性例が3例あり，偽陽性例は1例もなかった．結局，真陽性率 (true positive rate) が 100％，真陰性率 (true negative rate) が82.4％であり，全体的な臨床効果の予測率が83.3％と，臨床効果との高い関連性を有することが確認された．

一方，試験管内の薬剤感受性試験法である HTCA の肺癌に対する真陽性率は57～67％，真陰性率は85～100％と報告されている[9]．この成績は，少なくとも臨床的に無効な薬剤をほぼ正確に予測できることを示しており，無効な抗癌剤の投与により，患者がその薬剤の副作用のみを被るといった事態を回避できることを意味している[22]．しかし，試験管内法で有効と判断された薬剤が臨床的にも有効となる確立はせいぜい50～60％であり，わざわざ感受性試験を行う必要があるのかという疑問がでてくる[22)28]．しかし藤本[40]は，真陽性率は使用する薬剤の有効率にも大きく影響されることを報告している．たとえば臨床効果の有効率が20％の薬剤を用いて感受性試験と臨床効果との相関を調べた場合，この薬剤の真陽性率は理論的に69％を越えないことになる．そしてたとえ20％の臨床有効率しか示さない薬剤でも，真陽性率60％の実験系で有効性が予言された場合には，患者にとっては60％の有効性をもつ薬剤が投与されることになる．したがって感受性試験で有効となる薬剤が少ないからといって，一概に個々の患者における抗癌剤の臨床効果を予測するという感受性試験の意義を否定すべきではない．

今回の検討では18例中感受性試験で有効と判定された症例が1例しかなかったため，この HTCA の例とは比較しにくい．しかし，観察期間の短かった7例のうちに感受性試験有効例が2例あるので，これらを含め今後ともさらに検討を重ねたい．

本法の利点として簡便で費用が安いこと，生着率が高いこと，効果判定が7日間と短期間であるため，術後化学療法の開始時期までに有効な抗癌剤の選択が可能であること，多剤併用療法の評価が可能であること，凍結保存した材料を使用することができ，その材料を用い随時繰り返して感受性試験を行え，より有効と思われる化学療法を検討することができること，試験管内の感受性試験では評価できない，いわゆる潜在活性型薬剤である CPA などを含めた広範囲の薬剤に適応可能であることなどがあげられる．このように本法は，臨床に近いモデルとして抗癌剤の多剤併用療法を反映できる実験系であると考えられる．

本法の原理的な欠点としては，人工気室の作成にある程度の手技的習熟が要求されること，鶏卵が孵化するまでの21日間に実験が限定され，実際には漿尿膜の発達する孵卵10日目以降に実験が可能なため，観察期間が10日間と短く，効果判定を腫瘍重量で行っているため，腫瘍増殖の遅いものは効果判定が不正確になる恐れがあることなどがある．

これらの欠点があり得るとしても，受精鶏卵漿尿膜法は肺癌に対する抗癌剤感受性試験として有用であり，十分臨床応用に耐えうる方法であると考える．今後さらに実験手技自体の改善を行いつつ，臨床経過との関連を追及し，本法の一層の実用化を目指していきたい．

結　　論

肺癌に対する新しい抗癌剤感受性試験として受精鶏

卵漿尿膜法を検討すると同時に，現在臨床で施行されている多剤併用化学療法の有用性を検討し，以下の結論を得た．

1．手術材料を用いて受精鶏卵漿尿膜法による抗癌剤感受性試験を行った．孵卵11日目の受精鶏卵漿尿膜上にペースト状にした腫瘍50μ 1を移植し，腫瘍血管が発達した孵卵14日目に抗癌剤を漿尿膜の血管内に投与し，孵卵18日目に腫瘍を摘出して，抗癌剤投与群と対照群の腫瘍重量を比較した．その結果，生体内で活性化され効力を発揮するいわゆる潜在活性型薬剤を含めた広範な薬剤が，臨床相当量で投与できた．また効果判定が7日間という短期間で行え，その高い再現性と簡便で安価に行えることからも，有用な試験管外の実験系であることが示された．

2．全107症例中，感染を起こした症例と感受性試験に供された腫瘍がごく少量しかなかった2例を除く105例（98.1%）が生着し，抗癌剤感受性試験の判定が可能であった．新鮮材料のみならず，凍結保存材料も使用でき，生着率・試験成功率が高いことも本法の特徴である．

3．105例に対し，CDDP, VDS, ADM, MMC, CPA, VCRなどの抗癌剤を種々の組合せで使用し，その有効率を検討した結果，扁平上皮癌に対するMMCとVDSとCDDPの併用療法（MVP療法）の有効率が有意に高かった．

4．臨床効果との関連性について検討可能な症例は25例であった．術後の追跡を参考にして，25例中観察期間の十分な18例について検討した結果，真陽性率は100%，真陰性率は82.4%，全体としての予測率は83.3%であり，臨床効果との高い関連性が認められた．このように，ヒト肺癌に対する多剤併用化学療法の臨床効果の予測に，受精鶏卵漿尿膜法は信頼性が高く有用な方法である．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜りました金沢大学がん研究所化学療法部佐々木琢磨教授ならびに同医学部第一外科岩　喬教授に心から深謝いたします．終始御指導御助言を賜りました渡辺洋宇助教授に深く感謝いたします．また直接御指導いただきましたがん研究所化学療法部田中基裕先生に感謝いたします．

なお，本論文の要旨は，第30回日本肺癌学会，第23回制癌剤適応研究会，第90回日本外科学会総会，第1回北陸臨床癌化学療法研究会，第49回日本癌学会総会，第28回日本癌治療学会総会において発表した．

文　　献

1）渡辺洋宇，清水淳三，村上真也，木元春生，市橋匠，吉田政之，小田　誠，坪田　誠，岩　喬：教室における肺癌手術例の年代別にみた手術術式の変遷とその成績の比較．日胸外会誌，**38,** 867-870 (1990).

2）渡辺洋宇，佐藤日出夫，飯田茂穂，小林弘明，木元春生，市橋　匠，清水淳三，村上真也，岩　喬：肺癌長期生存例の臨床背景因子の検討による外科療法の再評価，日胸外会誌，**37,** 878-879 (1989).

3）湊　浩一，西條長宏：非小細胞肺癌の化学療法．Annual Review 呼吸器 **1988,**第1版，262-270頁，中外医学社，東京，1988.

4）渡辺洋宇，山田哲司，市橋　匠，橋爪泰夫，岩　喬：肺癌に対する surgical adjuvant therapy．日癌治，**21,**164-165 (1986).

5）渡辺洋宇，佐藤日出夫，飯田茂穂，山田哲司，小林弘明，木元春生，綱村幸夫，市橋　匠，清水淳三，橋爪泰夫，岩　喬：肺癌（非小細胞癌）に対する術後化学療法の意義．癌と化学療法，**12,** 21-35 (1985).

6）渡辺洋，山田哲司，市橋　匠，橋爪泰夫，岩　喬：肺癌（非小細胞癌）に対する surgical adjuvant therapy．癌と化学療法，**13,** 1534-1546 (1986).

7）**Matthws,M.J., Kanhouwa,S., Pickren, J. & Robinette, D.:** Frequency of residual and metastatic tumor in patients undergoing curative surgical resection for lung cancer. Cancer Chemother. Rep. Part 3, **4,** 63-67 (1973).

8）**Muggia, F. M. & McGuire, W. P.:** Adjuvant systemic therapy of lung cancer. Cancer Clin. Trials, Fall, 235-241 (1978).

9）原　信之，大田満夫：抗癌剤感受性テストー肺癌を中心にしてー．Annual Review 呼吸器 **1989,**第1版，224-233頁，中外医学社，東京，1989.

10）渡辺洋宇，龍沢泰彦，清水淳三，岩　喬：進行肺癌に対する neoadjuvant therapy．臨床外科，**45,** 77-84 (1990).

11）**Frei, III.:** Clinical cancer research: An embattled species. Cancer, **50,** 1979-1992 (1982).

12）**Einhorn, L. H.:** Neoadjuvant therapy of stage III non-small cell lung cancer. Ann. Thorac. Surg., **46,** 361-365 (1988).

13）**Kondo, T., Imamura, T. & Ichihashi, H.:** In vitro test for sensitivity of tumor to carcinostatic agents. Gann, **57,** 113-121 (1966).

14）**Karnofsky, D. A.:** Differences between cancers in terms of therapeutic responses. Cancer Res., **16,** 684-697 (1956).

15）**Murphy, J. B.:** Transplantability of malignant tumors to the embryos of a foreign species. J. Am. Med. Assoc., 59, 874-875 (1912).

16) **Bakowski, M. T. & Crouch, J. C.:** Chemotherapy of nonsmall cell lung cancer: a reappraisal and a look to the future. Cancer Treat. Rev., 10, 159-172 (1983).

17) **大熨泰亮, 平木俊吉**: Human Tumor Clonogenic Assay による制癌剤感受性試験−肺癌症例における検討−. 癌と化学療法, 12, 1582-1587 (1985).

18) **井上雄弘**: 卵巣癌の In Vitro Colony Assay. 癌と化学療法, 12, 1593-1598 (1985).

19) **西條長宏**: 肺癌の抗癌剤感受性テスト (臨床). 治療, 67, 43-49 (1985).

20) **Hamburger, A. W. & Salmon, S. E.:** Primary bioassay of human tumor stem cells. Science, 197, 461-463 (1977).

21) **佐々木康綱**: In vitro, in vivo 感受性テストの臨床的意義. 図説臨床「癌」シリーズ No. 1 癌化学療法の進歩 (山村雄一, 杉村 隆監修), 第一版, 38-46頁, メジカルビュー社, 東京, 1986.

22) **佐々木康綱**: 感受性試験によって肺癌化学療法は進歩するか?. 肺癌化学療法−将来への挑戦 (太田和雄, 西條長宏監修), 第一版, 4-16頁, 癌と化学療法社, 東京, 1988.

23) **Bogden, A. E., Haskell, P. M. & Lepage, D. J.:** Growth of human tumor xenografts implanted under the renal capsule of normal immunocompetent mice. Exp. Cell Biol., 47, 281-293 (1979).

24) **井上雄弘**: Subrenal Capsule Assay (6日法) による化学療法効果の評価. 癌と化学療法. 14, 2423-2430 (1987).

25) **宮澤文彦**: 人肺癌における Human tumor clonogenic assay. 癌と化学療法, 12, 1552-1559 (1985).

26) **青垣内龍太, 坪田紀明, 石井 昇, 前田 盛, 杉山武敏, 中村和夫**: コロニーアッセイ法による肺癌手術例の抗癌剤感受性テスト. 肺癌, 27, 679-686 (1987).

27) **工藤新三, 栗原直嗣, 溝口清二, 上田洋子, 足立規子, 平賀 通, 山本益也, 平田一人, 太田勝康, 藤本繁夫, 武田忠直**: 肺癌組織による Subrenal Capsule Assay-SRCA の検討. 癌と化学療法, 15, 2743-2749 (1988).

28) **西尾和人, 西條長宏**: 肺癌における抗癌剤感受性試験. 日胸疾会誌, 28, 225-231 (1990).

29) **佐々木琢磨**: 鶏卵法の抗癌剤感受性試験への応用. 実験医学, 5, 562-564 (1987).

30) **佐々木琢磨**: 鶏卵法による癌悪性度の判定と薬剤感受性試験. ファルマシア, 23, 58-62 (1987).

31) **Leighton, J.:** The Spread of Cancer, 1st ed., p115-191,Academic Press, New York, 1967.

32) **Green, H. & Lorincz, A. L.:** The role of a natural antibody in the rejection of mouse tumor cells by the chick embryo. J. Exp. Med., 106, 111-129 (1957).

33) **西川耕平**: 鶏卵漿尿膜移植腫瘍に対する抗癌剤感受性テストの試み. 厚生省癌研究助成金によるシンポジウム 第8回 (1984) 抗癌剤感受性テストの基礎と臨床 (末栁恵一, 西條長宏監修), 101-108頁, 協和企画通信, 東京, 1985.

34) **Uchida, H., Sasaki, T., Tanaka, M., Endo, Y., Nitta, K., Nishikawa, K., Chuman, H., Fukuma, H. & Matsumoto, K.:** Response to Antitumor Agents of Murine Transplantable Tumors Implanted onto Chorioallantoic Membrane of Chick Embryo. Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 78, 729-736 (1987).

35) **杉原 信**: 受精鶏卵漿尿膜法を用いた骨軟部悪性腫瘍に対する抗癌剤感受性試験法の研究. 十全医会誌, 97, 1032-1043 (1988).

36) **古江 尚, 太田和雄, 田口鐵男, 仁井谷久暢, 藤田 浩, 塚越 茂**: 癌化学療法の基礎と臨床. 第4版, 272-310頁, 癌と化学療法社, 東京, 1986.

37) **中村 治, 松谷雅生, 野村和弘, 高倉公明**: 悪性グリオーマに対する薬剤感受性テスト. 癌と化学療法, 17, 1151-1156 (1990).

38) **Gralla, R. J., Casper, E. S., Kelsen, D. P., Braun, D. W. Jr., Dukeman, M. E., Martini, N., Young, C. W. & Golbey, R. B.:** Cisplatin and Vindesine Combination Chemotherapy for Advanced Carcinoma of the Lung: A Randomized Trial Investigating Two Dosage Schedules. Ann. Intern. Med., 95, 414-420 (1981).

39) **日本肺癌学会編**: 原発性ならびに転移性肺腫瘍の肺所見に対する化学療法および放射線療法の腫瘍効果判定基準. 肺癌取扱い規約, 改訂第3版, 117-130頁, 金原出版, 東京, 1987.

40) **藤本修一**: 癌の化学療法−治療成績向上のためのアプローチ (I)−. 薬事新報, 1424, 261-265 (1987).

Chemosensitivity Test for Human Lung Cancer Using the Chick Embryo Yasuhiko Tatsuzawa, Department of Experimental Therapeutics, Cancer Research Institute, Kanazawa University, Kanazawa 920 — J. Juzen Med. Soc., **99**, 1068 — 1079 (1990)

Key words Chemosensitivity test, chorioallantoic membrane, chick embryo, lung cancer

Abstract

Although many clinical trials for the treatment of lung cancer are now performed using combination chemotherapy with various drugs, an effective general regimen has not yet been established. Unlike other carcinomas, lung cancer has histologically manifold characteristics and shows a high degree of heterogeneity. Therefore, if an assay which could select suitable drugs for individual patients were available, it could greatly improve the response rate and survival of the patients. The present study evaluated the usefulness of the chick embryo assay as a chemosensitivity test for human lung cancer and also the effect of combination chemotherapy under clinical trials. One hundred and seven surgical specimens, 44 adenocarcinomas, 43 epidermoid carcinomas, 7 adenosquamous carcinomas, 5 large cell carcinomas, 7 small cell carcinomas, and 1 carcinoid (83 males, 24 females ; mean age, 64.3 years old) provided from the 1st Department of Surgery of Kanazawa University from January 1987 to December 1989 were examined by this assay. One hundred and five of the specimens grafted on the chorioallantoic membranes of chick embryos ; the evaluated ratio was 98.1%. The effectiveness rates of CDDP+VDS (PV therapy), CDDP+ADM+MMC (PAM therapy), CPA+ADM+CDDP (CAP therapy), and MMC+VDS+CDDP (MVP therapy) were 15.4% (8/52), 8.3% (2/24), 0% (0/8), and 16.7% (3/18), respectively. The effectiveness of the therapy was classified into histopathological characteristics in the following order : epidermoid carcinoma>small cell carcinoma>adenocarcinoma>large cell carcinoma>adenosquamous carcinoma. Interestingly, the effect of MVP therapy on epidermoid carcinoma was significantly high. Chemosensitivity was not affected by the degree of their differentiation and there was no difference between the groups with or without prior chemotherapy. Eighteen specimens were evaluated making a correlation between the chemosensitivity test and the clinical effect. There was 1 true positive, 14 true negatives, and 3 false negatives. The overall predictive accuracy was 83.3%. Thus, a high-degree of positive association exists between the chick embryo assay and the clinical outcome. These results show that this assay system can predict the effect of combination chemotherapy for lung cancer *in vivo* with a high accuracy. Therefore, this assay system could be a useful chemosensitivity test for human lung cancers.