

博士論文

論文題目 子宮頸癌根治的放射線治療の
long non-coding RNA 発現を含めた臨床予後解析

氏 名 小林 伶子

子宮頸癌根治的放射線治療の
long non-coding RNA 発現を含めた臨床予後解析

東京大学大学院 医学系研究科 生体物理医学専攻

指導教員 中川 恵一

小林 伶子

目次

1	要旨	4
2	序文	5
2.1	子宮頸癌の基礎知識	5
2.1.1	疫学	5
2.1.2	病期および治療	6
2.2	子宮頸癌に対する根治的放射線治療の進歩と課題	9
2.2.1	放射線治療方法	9
2.2.2	画像誘導放射線治療と化学放射線療法	12
2.2.3	今後の課題 その1：再発部位の詳細を調べる	13
2.2.4	今後の課題 その2：新たな予後因子を探索する	15
3	目的	19
4	方法	20
4.1	対象とした症例	20
4.2	治療前評価	22
4.3	治療内容	25
4.4	フォローアップと治療効果・再発の判定および有害事象の評価	33
4.5	組織サンプルからの total RNA 抽出と逆転写反応および Q-PCR による 発現解析	34
4.6	対象とした long non-coding RNA	40
4.7	統計学的解析	43
5	結果	45
5.1	症例の背景	45
5.2	生存解析	47
5.3	臨床病理学的予後因子	49
5.4	有害事象	62
5.5	再発様式	65
5.6	再発部位の詳細	66
5.7	予後因子としての long non-coding RNA の探索	81
5.7.1	症例の背景	81
5.7.2	long non-coding RNA 発現解析 (Q-PCR)	82

6	考察	96
7	研究のまとめ	111
8	謝辞	112
9	参考文献	113
10	略称.....	136

1 要旨

子宮頸癌放射線治療の個別化を見据え再発部位の詳細を調べた。また分子レベルの予後因子を発見すべく long non-coding RNA に着目し、発現量と予後との相関を解析した。再発部位は照射野外が多く、照射野内では原発巣、照射野外では肺が多かった。原発巣線量増加や全身療法強化が課題である一方、リンパ節の追加照射や予防照射の利益は限定的であった。将来の、リスクによる照射範囲・線量調整の可能性も示唆された。一方、X 染色体不活性化に関与する XIST の発現量が予後因子となった。XIST 異常発現による X 染色体上遺伝子の異常発現がメカニズムとして考えられる。本結果が核酸医薬の開発につながることを期待する。

2 序文

2.1 子宮頸癌の基礎知識

2.1.1 疫学

国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer (IARC)）は、2013 年 12 月に、世界の癌の罹患、死亡、有病に関する統計資料を発表し、乳癌と子宮頸癌の増加が著しく、最優先の対策が必要であるとした [1]。

子宮頸癌の発生には、性行為によるヒトパピローマウイルス（Human papillomavirus (HPV)）の感染が関与している。従ってその罹患率は途上国で高いという傾向を示す [2]。しかし、我が国では近年、性行為習慣の欧米化により、若年層の罹患率の増加が問題となっている。国立がん研究センターがん対策情報センターによる 2011 年の年齢階級別罹患率をみると、子宮頸癌（上皮内癌を除く）の罹患率は、20 歳代後半から 40 歳前後まで高くなった後横ばいになる [3]。また、20 年前（1991 年）との比較でも、50 歳以上では減少傾向にあるものの、20 歳から 29 歳では急激に増加している [3]。さらに、子宮頸癌検診の普及による罹患の若年化と初期癌の増加傾向もみられる。子宮頸癌（上皮内癌を除く）症例の年齢分布は、1982 年では 50 歳代にピークがあったのに対し、2005 年では 40 歳代を中心に 30～50 歳代にかけてピークがみられ、20 歳代、30 歳代では I 期の症例が大幅に増加している [4, 5]。さらに、予後不良とされている腺癌の増加傾向もみられ、2012 年には全体の 23.4% を占めている [6, 7]。

子宮頸癌の罹患率の上昇は、世界でも、そして我が国でも、重要な問題である。

罹患率を下げ、死亡率を下げることは、引き続き重要な課題である。

2.1.2 病期および治療

子宮頸癌の進行期分類としては、国際臨床進行期分類（International Federation of Gynecology and Obstetrics（FIGO））が用いられる（表 2-1）[8–10]。病期別に治療方法が決められており、手術、放射線治療、化学療法が、単独で、あるいは併用して用いられる。米国 National Comprehensive Cancer Network（NCCN）や欧州臨床腫瘍学会 European Society for Medical Oncology（ESMO）がガイドラインを作成しているほか、我が国でも日本婦人科腫瘍学会より子宮頸癌治療ガイドラインが発刊されている [10–13]。

I	頸部に限局する腫瘍(体部への進展は考慮に入れない)		
	A	顕微鏡によってのみ診断可能な浸潤癌 上皮基部から測定した深達度が 5.0 mm 以下で水平方向進展が 7.0 mm 以下の間質性浸潤	
		1	上皮基部から測定した深達度が 3.0 mm 以下、水平方向進展が 7.0 mm 以下の間質性浸潤
		2	上皮基部から測定した深達度が 3.0 mm をこえるが 5.0 mm 以下で、水平方向進展が 7.0 mm 以下の間質性浸潤 静脈、またはリンパ管の脈管侵襲は本文類に関連しない
	B	子宮頸部に限局する臨床的肉眼的病変、または IA2 より大きい顕微鏡的病変	
		1	最大径が 4.0 cm 以下の臨床的肉眼的病変
2		最大径が 4.0 cm をこえる臨床的肉眼的病変	
II	子宮頸部をこえるが、骨盤壁または腔の下 1／3 に浸潤しない腫瘍		
	A	子宮傍組織浸潤なし	
		1	最大径が 4.0 cm 以下の臨床的肉眼的病変
		2	最大径が 4.0 cm をこえる臨床的肉眼的病変
	B	子宮傍組織浸潤あり	
III	骨盤壁に進展、および／または腔の下 1／3 に浸潤、および／または水腎症または無機能腎をきたす腫瘍		
	A	腔の下 1／3 に浸潤する腫瘍	
	B	骨盤壁に進展、および／または水腎症または無機能腎をきたす腫瘍	
IV	膀胱粘膜、または直腸粘膜に浸潤、および／または小骨盤をこえて進展する腫瘍		
	A	膀胱粘膜、または直腸粘膜に浸潤する腫瘍	
	B	小骨盤をこえて進展する腫瘍	

表 2-1 FIGO 分類 (2008 年) [10]

IA 期は子宮頸部円錐切除術により診断され、IA1 期か IA2 期か、脈管侵襲、切除断端、妊孕性温存希望などを考慮して、個別に治療法が決定される。IA1 期で妊孕性温存を希望する症例では、脈管侵襲なし、切除断端陰性を満たす場合、子宮頸部円錐切除術による保存的治療が選択肢のひとつとなる。脈管侵襲が認められない場合は、単純子宮全摘出術が推奨される。脈管侵襲が認められる場合は、リンパ節転移のリスクが高いと考えられ、準広汎子宮全摘出術と骨盤リンパ節郭清を行う場合もある。一方、IA2 期では、骨盤リンパ節郭清を含む準広汎子宮全摘出術以上の手術が推奨される。ただし、診断的子宮頸部円錐切除術で脈管侵襲のみられない症例についてはリンパ節郭清の省略も考慮できる。

IB～IIA 期では、手術と放射線治療が並列した治療オプションとなる。イタリ

アのランダム化比較試験において、IB～IIA 期の患者を対象とした放射線治療単独と広汎子宮全摘出術＋リンパ節郭清との比較が行われ、同等の生存率が得られている [14]。

初回治療で手術が選択された場合、手術摘出標本の病理組織学的所見から術後再発リスク因子をもつ症例には、再発予防目的に補助療法が行われる [15–17]。補助療法の適応因子として、骨盤内リンパ節転移、子宮傍組織浸潤、深い頸部間質浸潤、大きな腫瘤、脈管侵襲、手術断端陽性などがあげられる。補助療法としては、放射線治療または化学放射線療法（chemoradiation therapy (CRT)）が行われる。

IIIB 期では、NCCN ガイドラインでは手術という選択肢は示されておらず、同時併用 CRT が行われる。しかし、日本産科婦人科学会・婦人科腫瘍委員会の 2008 年度子宮頸癌患者年報によると、日本では 48% に手術が選択されており、そのうち 89% で補助療法が施行されている [18]。

III・IVA 期に対しては、手術は非適応となり、放射線治療が唯一の根治的治療法となる。IB2～IVA 期を対象とした欧米での複数のランダム化比較試験により、CRT は放射線単独治療よりも生存率を改善することが示されている（2.2.2 にて詳細を述べる） [19–21]。

IVB 期は、孤立性の転移が認められるのみであれば、化学療法や転移病巣の手術・放射線治療が行われ、これらの治療が有効な場合には局所治療として CRT が

追加される。鎖骨上リンパ節や鼠径リンパ節などの孤立性リンパ節転移であれば、初期治療の段階でそれらも含めて治療を行い、長期生存が得られることもある。一方、多発遠隔転移が認められる場合には、症状緩和による quality of life (QOL) 向上が治療の第一選択となる。

2.2 子宮頸癌に対する根治的放射線治療の進歩と課題

2.2.1 放射線治療方法

放射線治療方法については、日本放射線腫瘍学会が治療計画ガイドラインを発売している [22]。子宮頸癌の放射線治療は、外照射および腔内照射の併用で行われる。外照射では原発巣と骨盤内リンパ節領域を含めた全骨盤領域を治療し、腔内照射では原発巣を治療する。通常では、まず外照射を開始し、原発巣の縮小を図ってから、腔内照射を併用する。

放射線治療では、腫瘍に線量を集中させ、周囲の正常組織への線量を極力低減させる必要がある。そのため、症例ごとに個別化された放射線治療計画を作成しなければならない。外照射では、従来は X 線透視画像をもとにした 2 次元治療計画が行われていたが、現在は computed tomography (CT) 画像に標的および正常組織の輪郭を入力し、ビームを設定し、線量分布を取得する 3 次元治療計画が主流となっている。標的として設定するものは、肉眼的腫瘍体積 (gross tumor volume (GTV))、臨床的標的体積 (clinical target volume (CTV))、計画標的体積

(planning target volume (PTV))、一方、正常組織として設定するのは危険臓器 (organs at risk (OAR)) である。GTV は、肉眼的および画像上確認できる腫瘍の体積で、原発巣と転移リンパ節が該当する。CTV は、GTV に加えて、臨床的に進展が疑われる部分を含む。PTV は、CTV に体内の生理的な動きを代償する体内マージン (これを含んだものを体内標的体積 (internal target volume (ITV)) という) や、位置の再現性を担保するためのセットアップマージンを付加した体積である (図 2-1)。OAR はその放射線感受性が治療計画や処方線量に影響するかもしれない正常組織を指す [22, 23]。原発巣と骨盤内リンパ節領域を CTV として設定し、PTV を設定したら、これを含むようにビームを設定し、線量分布を計算する。そして、PTV が処方線量でカバーされているか、OAR の線量は許容範囲内かなど、dose-volume histogram (DVH) にて計画の評価をする。

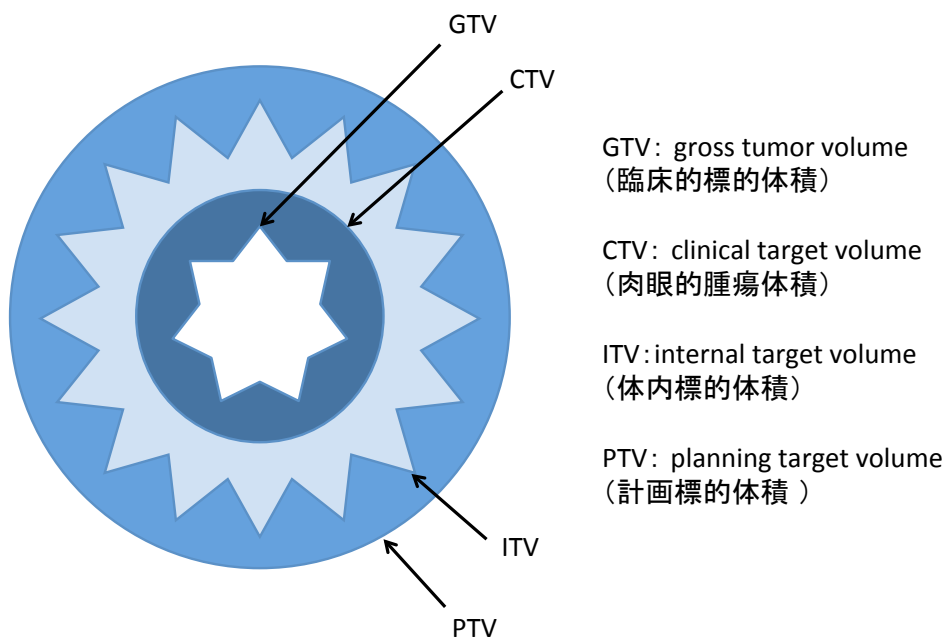


図 2-1 標的設定

一方、腔内照射は、原発巣周囲に留置したアプリケータに小線源を送り込み、近距離から高線量を照射する治療であり、医師は線源の停留位置と停留時間を設定する（図 2-2）。原則として外子宮口を基準として設定した A 点を基準点として線量を計算・投与する [24, 25]。腔内照射においても、従来は 2 次元画像をもとに治療計画が行われていたが、近年は、CT や magnetic resonance imaging (MRI) 等の画像を用いて標的体積と OAR を設定し、3 次元的に治療計画・評価を行う方法が提唱されている（2.2.2 にて詳細を述べる） [26, 27]。

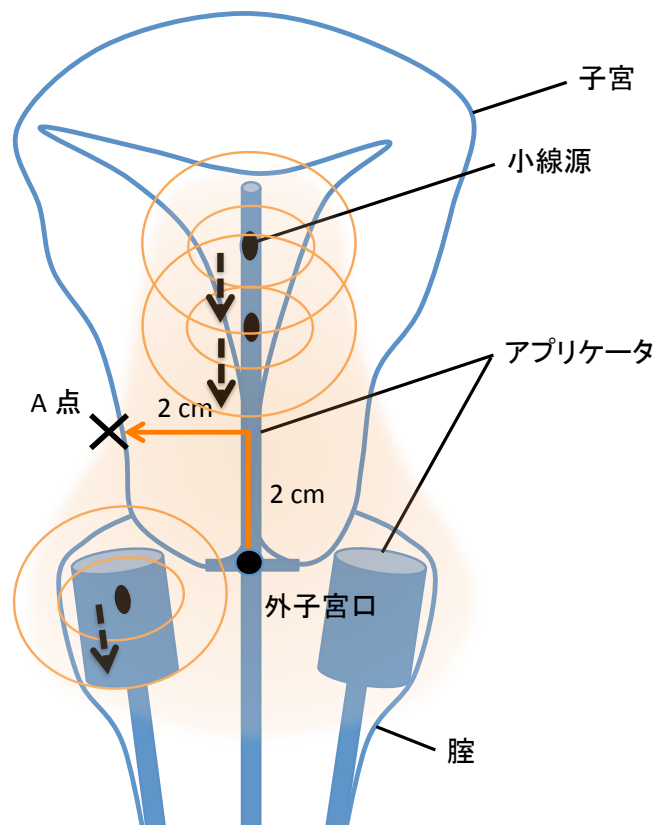


図 2-2 腔内照射

アプリケータ内の線源の停留位置と停留時間を設定し、その設定通りに線源が点線矢印のように移動していくことで線量投与が行われる。外子宮口を基準とし、子宮腔長軸に沿って上方 2 cm の高さを通る垂線上外側 2 cm の点を A 点と設定する。A 点を基準点として線量を計算・投与する。線源周囲の橙色の実線は線源からの放射線、塗りつぶしは一般的な線量分布のイメージである。

2.2.2 画像誘導放射線治療と化学放射線療法

子宮頸癌に対する根治的放射線治療は、この数十年間で、2つの大きな発展、すなわち、放射線治療技術の進歩と CRT の導入により、劇的に変化した。

放射線治療技術は、特に小線源治療の分野で大きく進歩した。小線源治療においても、3次元画像を取得し、CTV や OAR の輪郭形成が可能となり、点ではなく標的体積に対する線量処方と線量評価が可能となった（画像誘導小線源治療（image-guided brachytherapy (IGBT)））[26, 27]。さらに近年は、腫瘍の縮小を考慮した上で、治療時点の腫瘍の形状に合わせた線量分布が得られるようになり、より安全で効果的な治療が可能になっている [28]。こうして、腫瘍の線量増加が可能となり、局所制御が向上した [27]。今後、放射線治療はさらに高精度化し、症例背景や病変部位に応じた治療戦略や治療強度の調整が可能になると考えられる。

時を同じくして、1990 年代、放射線単独治療と CRT とのランダム化比較試験が複数行われ、CRT が良好であったという結果を受けて、1999 年、米国国立がん研究所（National Cancer Institute (NCI)）より、「放射線治療を必要とする子宮頸癌患者においては、CRT の適用を考慮するべきである」という主旨の勧告が出された [19]。以来、III～IVA 期の局所進行子宮頸癌に対しては、CRT が標準治療として広く普及している [11, 19]。その後、CRT と放射線単独治療とを比較した 13 のランダム化比較試験をまとめたメタアナリシスでも、CRT の優勢が証明

され、5 年生存率で 6% の改善（ハザード比（hazard ratio (HR)) : 0.81、 $P<0.001$ ）

が確認された [20, 21]。さらに、CRT は局所再発も遠隔再発も減らし、無病生存率を改善することも証明された [20]。化学療法は、放射線感受性を高める増感剤としてのはたらきを持つと同時に、局所病変のみならず照射野外の潜在的遠隔転移に対する殺細胞効果を持つと考えられる [29]。

こうした背景から、2 つの課題を設定した。

2.2.3 今後の課題 その 1：再発部位の詳細を調べる

放射線治療技術の進歩は、将来の、照射範囲や照射線量の観点での治療の高精度化・個別化につながると予測される。それには、まず再発リスクの高い部位と低い部位を把握しなければならない。

CRT が普及する前、放射線単独治療では、遠隔再発同様に局所領域再発が多いとされてきた。1990 年代に行われた放射線単独治療と CRT とのランダム化比較試験でも、放射線単独治療群では、遠隔再発（5 年 33%）よりも局所領域再発（5 年 39%）の方が多かった [30]。しかし、CRT により局所制御、遠隔制御が、そして IGBT などの放射線治療技術の進歩により局所制御が改善した [20, 21, 27]。それと同時に、再発様式も変化していると予想される [31]。

再発様式を報告した文献は少ない。局所制御や遠隔制御を報告したいいくつかの文献を表 2-2 に示す [28, 32–34]。

筆頭著者	発表年	症例数	治療法	FIGO 病期 内訳 (%)	観察期間 中央値 (月)	局所/骨盤内/遠隔制御率	参考文献 番号
Mazeron	2013	163	CRT	I: 28 II: 57 III: 12 IVA: 3	36	3y 局所制御率 = 92% 3y 骨盤内制御率 = 86% 再発 45 例中、初回再発部位が遠隔であったのが 32 例(そのうち半数は遠隔のみ)	[28]
Teh	2010	120	CRT	I: 7 II: 53 III: 36 IVA: 4	50	5y 局所制御率 = 82% 5y 遠隔制御率 = 71%	[32]
Parker	2009	92	CRT	I: 8 II: 63 III: 26 IVA: 3	26	5y 局所制御率 = 67% 5y 遠隔制御率 = 48%	[33]
Chen	2006	70	CRT	I: 0 II: 69 III: 31 IVA: 0	43	4y 骨盤内制御率 = 87% 4y 遠隔制御率 = 75%	[34]

表 2-2 局所制御率および遠隔制御率についての報告

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），y = year（年）。

Mazeron らは、163 例の FIGO IB～IVA 期 CRT 症例（観察期間中央値 36 ヶ月）を解析し、初回再発部位に占める割合は遠隔転移が 68.7% と優勢で、しかもその半数は孤立性転移であったと報告している [28]。Teh らも、120 例の CRT 症例の解析で、5 年無局所再発生存率 81.7% に対し、5 年無遠隔転移生存率 70.8 % と報告している [32]。このように、近年の局所領域制御の向上に伴い、遠隔転移が主要な再発様式になりつつある。しかし、再発部位をより詳細に解析した文献はない。特に、CRT 普及前の従来の認識では、傍大動脈リンパ節 (para-aortic lymph node (PALN)) が主要な遠隔転移部位とされ、PALN 拡大予防照射について多数議論されてきた [35, 36]。また近年、骨盤内リンパ節転移に対し、同部位の再発

を予防する目的で、追加外照射を行っているという報告もみられる [37–42]。このような、照射範囲や照射線量の拡大・追加の妥当性についても議論したいと考えた。

2.2.4 今後の課題 その2：新たな予後因子を探索する

CRT の普及により治療成績は上がった [20, 21]。しかし、進行例では放射線単独治療に対する CRT の治療成績の上乗せ効果が小さい [21, 43]。一方で、CRT は時に重篤な有害事象を引き起こす。従って、CRT が奏功するかどうかの見極めや、正確な予後の推測が重要となる。

臨床病理学的な予後因子はすでに多数報告されている。代表的なものは、病期、腫瘍径、骨盤内リンパ節転移、血清ヘモグロビン値、病理組織型、年齢などである [44]。近年は、これらに加え、組織や血清サンプル中のタンパク質の発現をみる予後研究が増えてきている [45, 46]。Noordhuis らのレビューによれば、hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) や血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor (VEGF)) などの血管新生マーカーや低酸素マーカー、上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor (EGFR)) のシグナル伝達経路内のマーカー、シクロオキシゲナーゼ-2 (cyclooxygenase-2 (COX-2)) などが、主に免疫組織化学的手法により予後因子として報告されている [45]。さらに最近の予後研究は、タンパク質にとどまらず、non-coding RNA (ncRNA) の分野にも広がっている。

ncRNA とは、ゲノム領域から転写はされるが、タンパク質に翻訳されない RNA である [47]。DNA 内の non-coding 領域の割合は高等生物ほど高く、ヒトでは 98% にものぼる (図 2-3) [48]。そしてこれらの領域から膨大な数の ncRNA が転写されている。さらに最近、coding 領域からも ncRNA が転写されているとの報告もある [49]。ncRNA は、高等生物の複雑さや生理的現象を決定する上で重要な役割を持っていると考えられる。その機能は十分に分かっていないが、細胞の進化、生理だけでなく、がんを含めた病理においても機能していると考えられている。

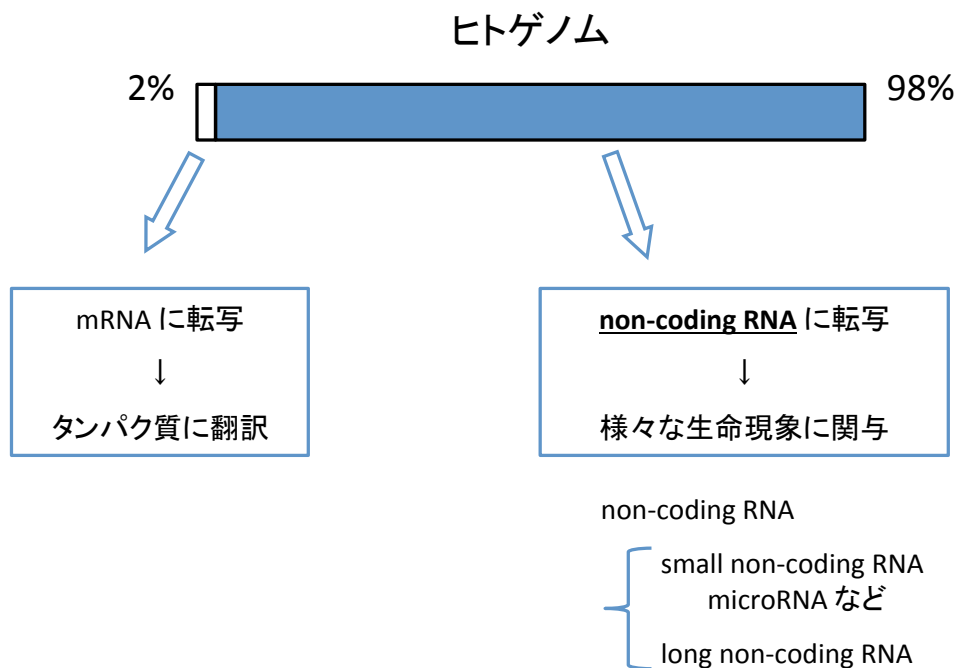


図 2-3 non-coding RNA

DNA 内の non-coding 領域の割合は高等生物ほど高く、ヒトでは 98% にものぼる。これらの領域から膨大な数の non-coding RNA (ncRNA) が転写され、様々な生命現象に関与している。塩基の長さにより small ncRNA と long ncRNA に分けられる。

ncRNA は、その塩基長によって small ncRNA と long ncRNA (lncRNA) に分類される。small ncRNA では、micro RNA が代表的で、研究も進んでおり、子宮頸癌においても miR-200a、miR-9、miR-224、miR-145、miR-497 が予後因子になり得ると報告されている [50–53]。一方、200 ヌクレオチド以上の長さの lncRNA は、研究が進んでいない。それでも、いくつかの癌で発現異常が確認されており、発癌や癌抑制との関与が推測され始めている [54–56]。最近は、臨床的予後との相関について報告したものもある。例えば、lncRNA のうちのひとつ、HOTAIR (Hox transcript antisense intergenic RNA) は、乳腺、食道、肺、肝臓、子宮内膜などの癌の予後と関連していると報告されている [57–63]。また、MALAT-1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript-1) も、非小細胞肺癌や大腸癌などの予後との関連が示唆されている [64]。しかし、ほとんどの lncRNA は未解明であり、子宮頸癌の予後との関連についての報告は存在しない(研究開始時点)。

micro RNA と同じように、lncRNA の中にも、子宮頸癌の予後と相関するものが存在する可能性がある。

先にあげた、これまでに報告されている lncRNA の発現量と予後との相関の研究では、凍結サンプルが用いられていた [57–63]。しかし、核酸の発現量解析を目的とした場合、凍結サンプルは、採取・処理・保存が困難であるほか、臨床データと照らし合わせ、信憑性の高い結果を得るためのサンプル数と観察期間の確保が困難である。一方、一般的に組織サンプルはホルマリン固定パラフィン包埋

(formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE)) 処理をして保存される。FFPE 処理により、サンプルに含まれる核酸の質の低下が懸念されていたが、近年、FFPE サンプルから抽出した RNA をもとに遺伝子発現を調べるための手法が確立され、その信憑性についても多数報告されている [65–68]。FFPE サンプルであれば、サンプル数と観察期間の確保も可能であり、多くの臨床データと照らし合わせた信頼できる解析が可能であろう。

子宮頸癌の予後に関与する lncRNA が同定されれば、より個別化した治療適応判断やより正確な予後の推測が可能になるかもしれない。しかもそれが多くの施設で保存されている FFPE サンプルにより可能になれば、実臨床への普及も夢ではない。また、このような lncRNA は、治療の標的となる可能性があり、将来の核酸医薬の開発に貢献できるかもしれない。

3 目的

前述したような子宮頸癌に対する放射線治療の変化を受け、東京大学医学部附属病院放射線科では、2001 年に腔内照射における CT 撮像および CRT を導入した。2014 年までに根治的放射線治療を施行した症例数は約 300 例にものぼる。その治療成績、予後因子、有害事象を明らかにするとともに、放射線治療技術の進歩に合わせ、将来、より高精度化・個別化した照射範囲や照射線量を検討していくために、現行の治療内容での再発様式および部位を詳細に調べることとした。

さらに、治療適応を判断したり、治療への反応や予後を推測したりする上で、分子レベルの予後因子を発見すべく、未だ研究段階である lncRNA に着目した。治療前の生検サンプルに含まれている lncRNA の発現量と臨床的予後との相関を解析することとした。特に、実臨床への普及を見据えて、一般的な保存形式である FFPE サンプルを用いて解析を行うこととした。

4 方法

4.1 対象とした症例

一般的に、子宮頸癌治療後の再発は 2 年以内に多いといわれている [69]。従って、予後解析の対象としては、治療開始から 2 年以上経過している症例が望ましいと考えられる。そのため、観察終了および解析日を 2015 年 3 月とし、対象を 2 年前の 2013 年 3 月までの症例に限定した。2001 年から 2013 年 3 月の間に、東京大学医学部附属病院放射線科で子宮頸癌に対して根治的放射線治療を受けた連続症例のうち、以下の規準を満たす症例をリストアップした；(a) 病理学的に子宮頸癌と診断されている、(b) FIGO IB~IVA 期である、(c) 東京大学医学部附属病院で外照射と高線量率腔内照射または組織内照射による根治的放射線治療を受けている。なお、リストには PALN 転移症例も含めた。一方、以下に該当する症例は除外した；(a) 予定された放射線治療を完遂できなかった (1 例)、(b) 子宮頸癌に対する治療歴（円錐切除を除く）があった (8 例)、(c) 同時性重複癌が存在していた (4 例)、(d) 東京大学医学部附属病院でフォローアップされなかった (7 例)。その結果、125 例が該当した。この 125 例の生存解析、臨床予後解析、有害事象評価、および再発様式・部位の解析を行うこととした。

一方、lncRNA 発現解析では、病理検体を用いた解析となるため、同リストのうち、(a) 扁平上皮癌である、(b) 治療前に原発巣の組織が採取され、FFPE サンプルとして当院に保存されている、の 2 点も満たす症例に限定した。また、

PALN 転移の予後への影響が大きいこと、PALN 転移陽性症例では照射範囲が PALN にまで拡大されており、治療内容のばらつきが生じることから、全骨盤照射症例での解析とすべく、PALN 転移症例は除外した。その結果、90 例が該当した。この 90 例の FFPE ブロック 90 サンプルについて、腫瘍が十分に含有されているかどうか評価するため、切片のヘマトキシリン・エオジン (haematoxylin and eosin (H&E)) 染色を行い、2 名の病理学専門医が判定した (図 4-1)。その結果、90 サンプルのうち 75 サンプルが適切なサンプルと判定された。

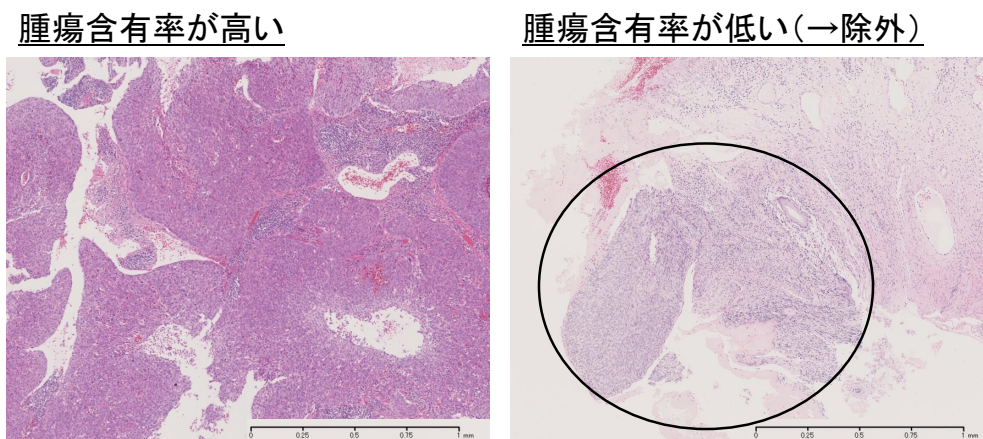


図 4-1 腫瘍含有率の高いサンプル (左) と低いために除外したサンプル (右) の例

本研究は東京大学医学部附属病院倫理委員会により承認された (審査番号 : 10152、10152-(1) および 10152-(2) 「放射線治療前の ncRNA の発現と放射線治療奏効との相関」)。

4.2 治療前評価

全例に、内診（麻酔なし）、原発巣の組織診、血算・生化学検査、胸腹骨盤部 CT、骨盤部 MRI による評価が行われた。静脈性腎盂造影、膀胱鏡、直腸鏡は可能な限り施行された。それぞれ、76 例（61%）、95 例（76%）、82 例（66%）で施行されていることが確認された。[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography（FDG-PET）は、2008 年までは可能な症例に行われ（54 例中 10 例（19%）で施行されていることが確認された）、2008 年以降は可能な限り全例に行われた（71 例中 57 例（80%）で施行されていることが確認された）。骨盤内リンパ節は、CT または MRI で短径 10mm 以上の場合、またはそれより小さくても放射線診断専門医により転移が疑わしいと判断された場合、または FDG-PET にて異常集積増加（核医学診断専門医による診断）が認められた場合に、転移と判定された。全例が FIGO 病期に基づいて分類された。

骨盤内リンパ節領域について解析する上で、過去の文献を参考に、総腸骨、外腸骨、内腸骨、閉鎖、仙骨前領域を定義し、さらに、Kasuya ら、Taylor らの報告を参考に、外腸骨領域を外腸骨領域内側、外腸骨領域中間、外腸骨領域外側の 3 つに、閉鎖領域を閉鎖領域頭側、閉鎖領域尾側の 2 つに分類した [70–72]。それぞれの境界構造物を表 4-1 に、CT 画像の例を図 4-2 に示す。

リンパ節領域	頭側方	尾側方	前方	後方	外側方	内側方
総腸骨	腹部大動脈分岐部または L4～5 間	総腸骨動脈分岐部	総腸骨動静脈前方 7 mm	L5～仙骨	総腸骨動静脈側方 7 mm (大腰筋まで)	—
外腸骨	総腸骨動脈分岐部	大腿骨頭頭側縁	外腸骨動静脈前方 7 mm	外腸骨動静脈後方 7 mm (閉鎖領域に連続)	外腸骨動静脈側方 7 mm (大腰筋, 腸骨筋まで)	外腸骨動静脈内方 7 mm: 子宮, 卵巣, 腸管, 尿管, 膀胱
	外腸骨領域を, 内側, 中間, 外側に分類. 内側: 外腸骨静脈の後方. 中間: 外腸骨動静脈の間および外腸骨動脈前内方. 外側: 外腸骨動脈の外側方.					
内腸骨	総腸骨動脈分岐部	尾骨筋頭側縁, 座骨棘, 子宮動静脈(子宮傍部に連続)	—	頭側レベル: 仙骨翼中位 尾側レベル: 梨状筋前縁, 下腎動静脈	頭側レベル: 腰筋, 腸骨筋, 仙腸関節外側縁 中位レベル: 腸骨, 腰筋, 腸骨筋内側縁 尾側レベル: 内閉鎖筋, 梨状筋	内腸骨動静脈内方 7 mm: 腸管, 子宮, 卵巣
閉鎖	仙腸関節頭側縁(内腸骨領域に連続)	閉鎖孔上部	頭側～中位レベル: 外腸骨領域に連続 尾側レベル: 恥骨後縁	頭側～中位レベル: 内腸骨領域に連続 尾側レベル: 内閉鎖筋後縁	内閉鎖筋, 腸骨筋, 腰筋, 腸骨	膀胱, 子宮, 腸管
	閉鎖領域を, 頭側, 尾側に分類. 頭側: 大腿骨頭上縁より頭側. 尾側: 大腿骨頭上縁より尾側.					
仙骨前	総腸骨動脈分岐部	S2 下縁または梨状筋上縁	仙骨前面より 10 mm	L5～仙骨前面	梨状筋(内外腸骨領域に連続)	—

表 4-1 骨盤内リンパ節領域の分類と境界構造物 [70-72]

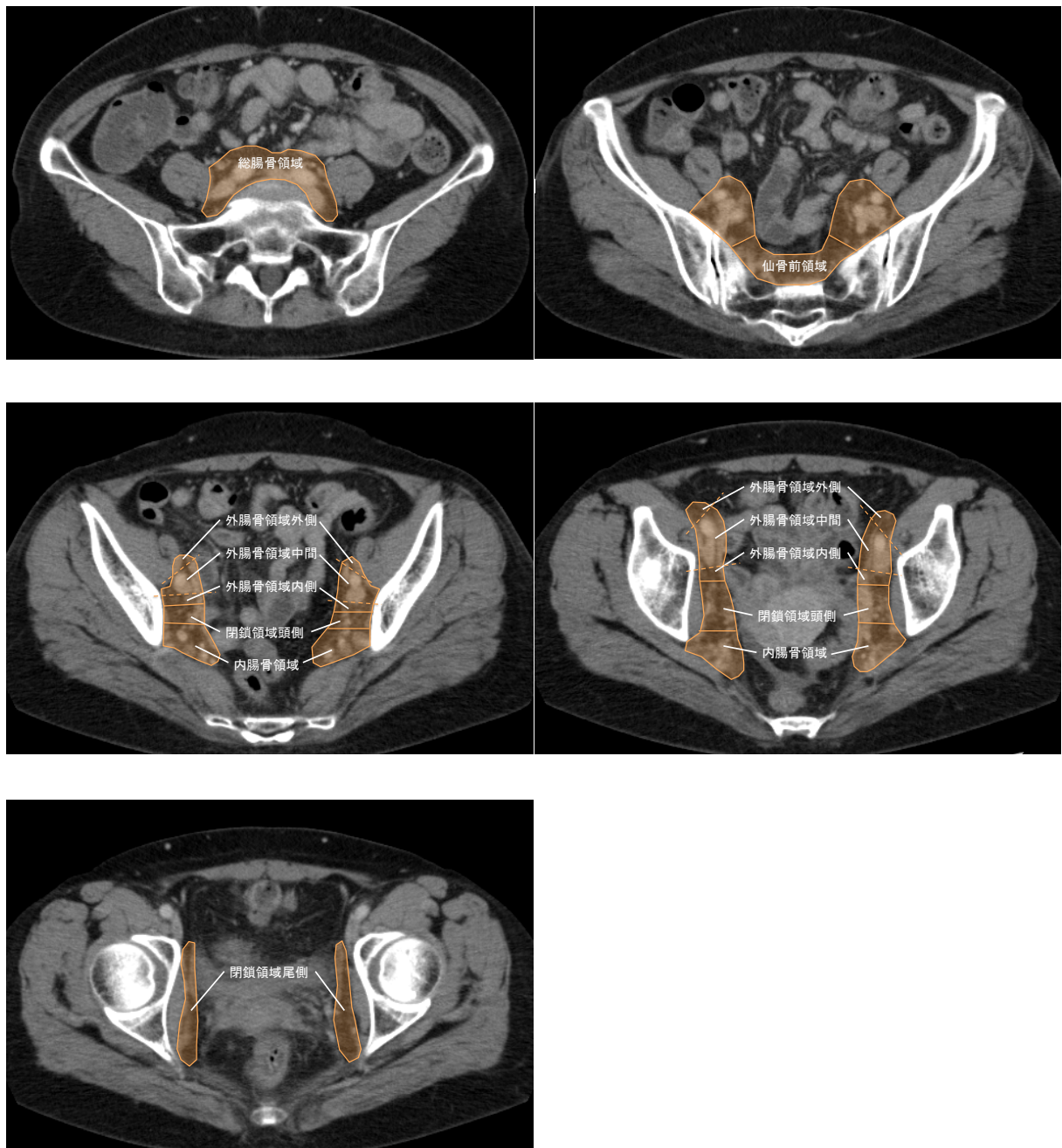


図 4-2 骨盤内リンパ節領域

4.3 治療内容

放射線治療は、全骨盤への外照射と高線量率腔内照射により施行された。代表的な放射線治療スケジュールを図 4-3 に示す。総治療期間の延長により治療成績が低下することが報告されており、総治療期間は 8 週間を超えないように設定された [73, 74]。

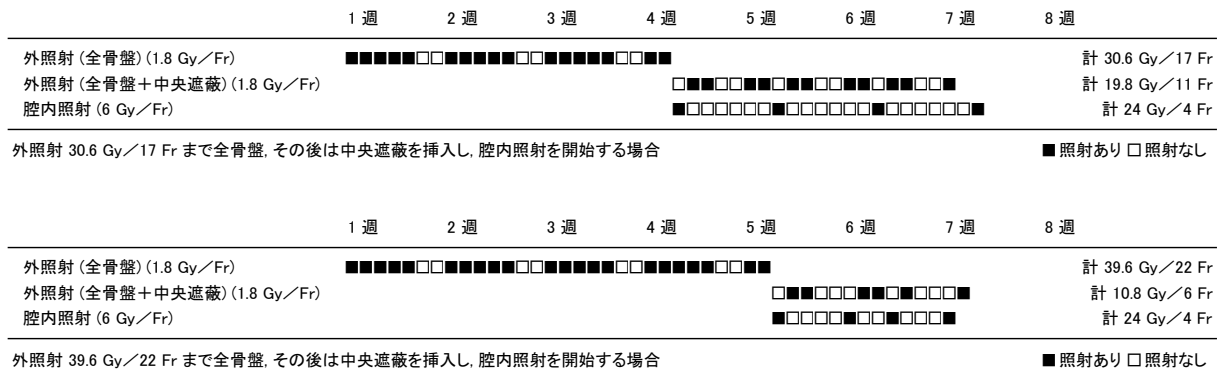


図 4-3 放射線治療スケジュール

外照射 1 回 1.8 Gy の場合のスケジュール。全骨盤外照射が開始され、FIGO 病期や腫瘍サイズにより 30.6 Gy (17 回) ~ 39.6 Gy (22 回) 施行されたところで、中央遮蔽が挿入されると同時に、腔内照射が開始された。

外照射は、6 または 10 MV の X 線を用いた 4 門ボックス法による全骨盤照射で、CTV は子宮、膣、子宮傍組織、骨盤内リンパ節領域とし、PALN 転移症例では PALN 領域も照射された（上縁は第 12 胸椎／第 1 腰椎境界レベル）[72, 75–78]。PTV は CTV に 0.5～1.0 cm のマージンを加えた容積とされた（図 4-4）。線量分割法は、1 日 1 回 1.8～2.0 Gy、週 5 回法とされた。腫瘍サイズにより、全骨盤への線量は 20～40 Gy とされ、後述する腔内照射開始と同時に、4 cm 幅の中央遮蔽を挿入した前後対向 2 門法による追加照射（図 4-5）が行われ、合計線量が 50～50.4 Gy となるように設定された（表 4-2）。これは、腔内照射による膀胱、直腸の高線量照射を考慮して同部分を遮蔽するとともに、骨盤内リンパ節領域と子宮傍組織を継続して照射するための技法である。CT または MRI にて短径 10 mm 以上のリンパ節に対し、主治医の裁量により、10 Gy／5 Fr の追加外照射が行われた症例が 8 例存在した。

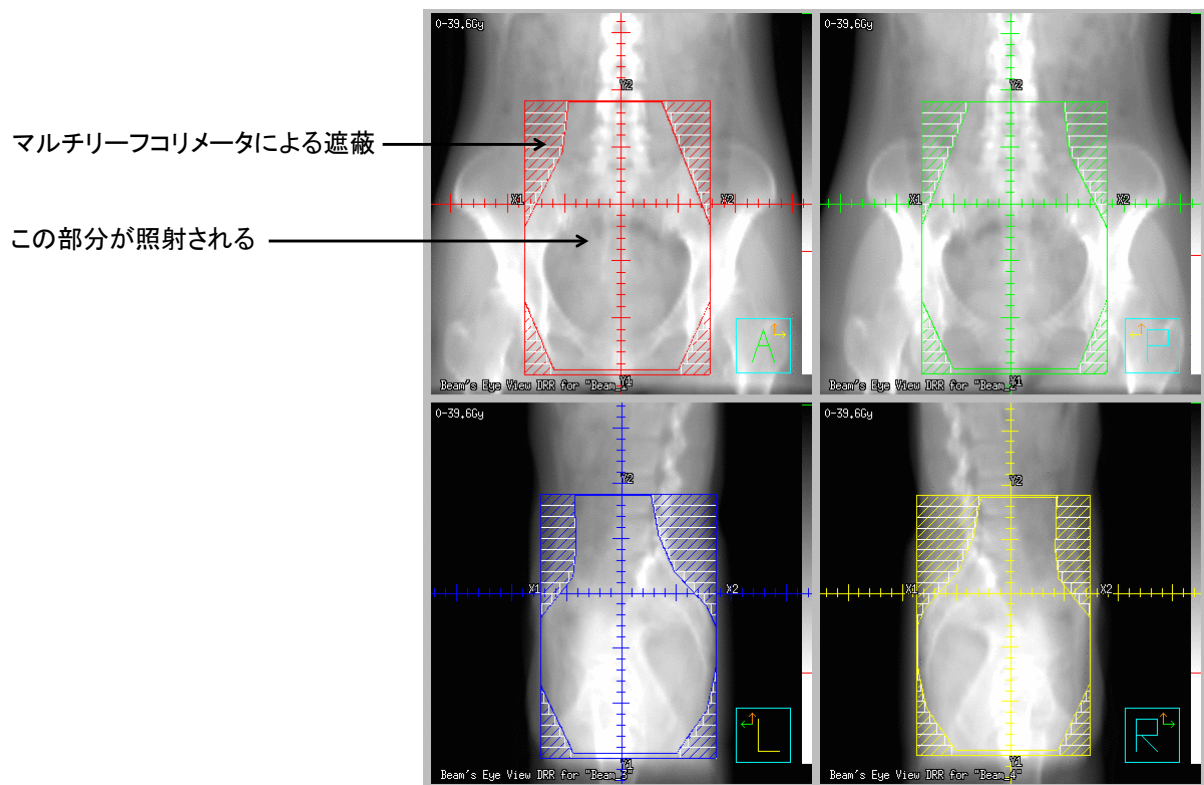


図 4-4 全骨盤外照射（4 門ボックス法）の Beams' eye view

赤色：前方 Beam，緑色：後方 Beam，青色：左側方 Beam，黄色：右側方 Beam.

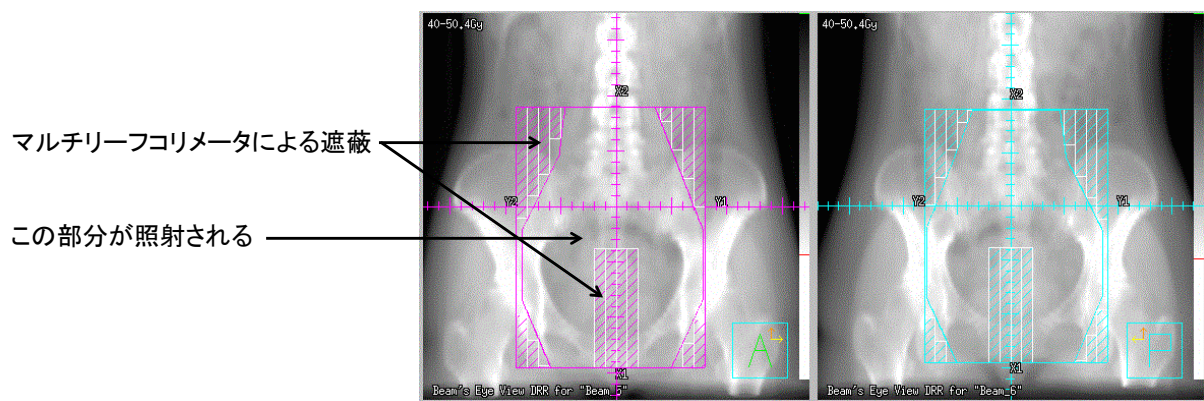


図 4-5 中央遮蔽挿入後（前後対向 2 門照射）の Beams' eye view

中央部に 4 cm 幅の遮蔽が挿入される．桃色：前方 Beam，水色：後方 Beam.

FIGO 進行期	外照射		腔内照射 (HDR, A 点線量)
	全骨盤	中央遮蔽	
IB1・IIA1	19.8～20 Gy	30～30.6 Gy	24 Gy/4 Fr
IB2・IIA2・IIB・III・IVA	30～30.6 Gy	19.8～20 Gy	24 Gy/4 Fr
	39.6～40 Gy	10～10.8 Gy	24 Gy/4 Fr

表 4-2 進行期別の外照射（全骨盤および全骨盤＋中央遮蔽）および腔内照射線量
外照射は 1 回 1.8 Gy と 1 回 2.0 Gy とで全骨盤および全骨盤＋中央遮蔽の合計線量が異なる。略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, HDR = high dose rate（高線量率）。

外照射で中央遮蔽が挿入されるタイミングで腔内照射が開始された。イリジウム-192 線源のリモートアフターローディング法により、1 回 6 Gy、週 1～2 回、合計 3～4 回施行された（microSelectron HDR, Elekta AB, Stockholm, Sweden）。アプリーケーター挿入時は鎮静薬や鎮痛薬の投与などの十分な前処置が行われた。アプリーケーターを挿入した状態で CT を撮影し、CT 画像の参照または IGBT が行われた。ほとんどの症例で、タンデムとオボイドアプリーケーター（Elekta AB）（図 4-6）を用いた A 点処方（図 4-7）が採用された [24, 25]。膣の下方進展のある症例では、タンデムとシリンダー（Elekta AB）（図 4-8）が用いられ（12 例）、標的が完全にカバーされるように、子宮腔内ではタンデムから 2 cm ライン、膣内ではアプリーケーター表面から 5 mm ラインにそれぞれ処方された（図 4-9）。4 回目の治療時にも明らかな残存腫瘍がみられたため、1 回 4～6 Gy の追加照射が行われた症例が 31 例存在した。また、腔内照射では腫瘍のカバーが不十分と考えられる症例には組織内照射が行われた（1 例）。その場合、外照射では中央遮蔽が挿入さ

れることなく全骨盤に 45 Gy まで照射され、その後、組織内照射が開始された。

組織内照射では、アプリータの挿入は、静脈麻酔および硬膜外麻酔下で、Martinez Universal Perineal Interstitial Template (MUPIT) (Elekta AB) を用いて行われた (図 4-10)。線量分割法は、原発巣に 1 日 2 回、2 回の治療の間は最低 6 時間はあけられ、合計 24 Gy/4 Fr とされた。治療計画機は、2013 年までは PLATO® (software v. 14. 2. 6, Elekta AB)、2013 年以降は Oncentra® Brachy Treatment Planning (Elekta AB) が用いられた。

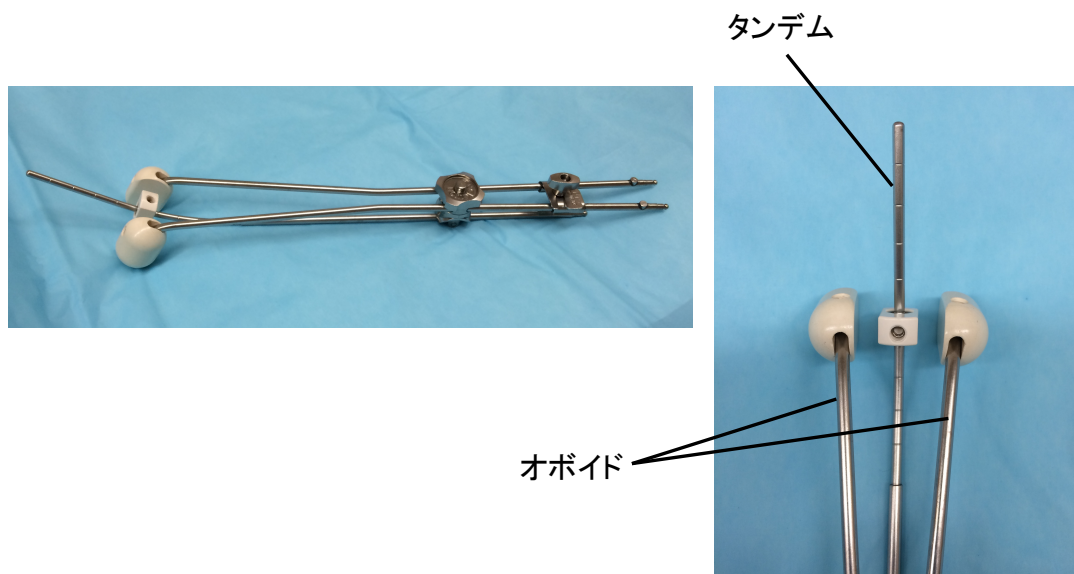


図 4-6 タンデムとオボイドアプリーケーター

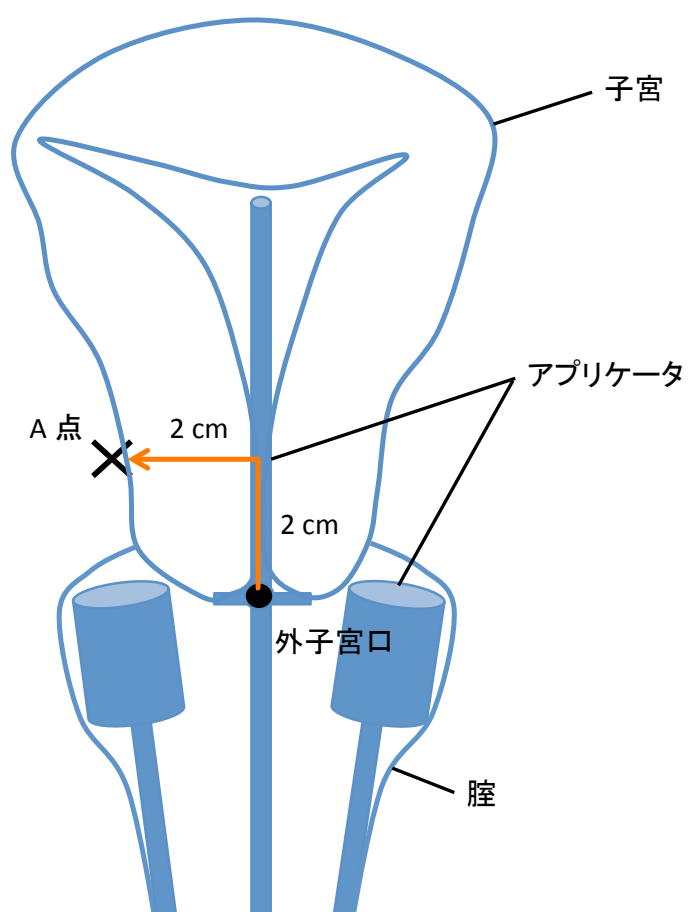


図 4-7 タンデムとオボイドによる腔内照射の A 点

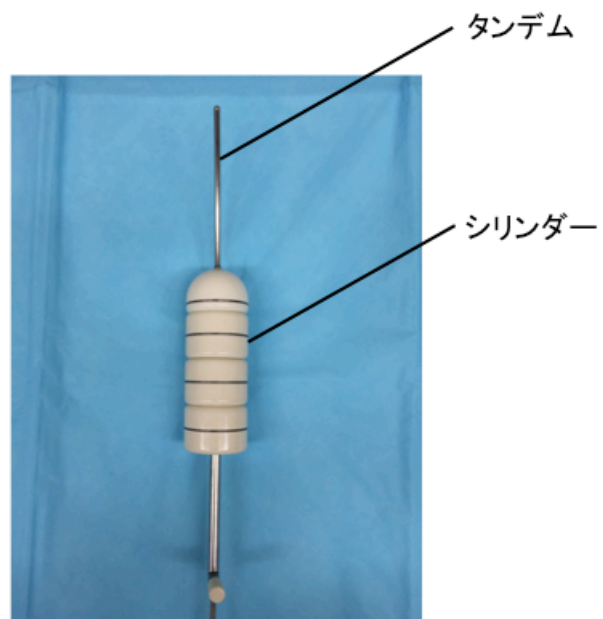


図 4-8 タンデムとシリンダーアプリーケーター

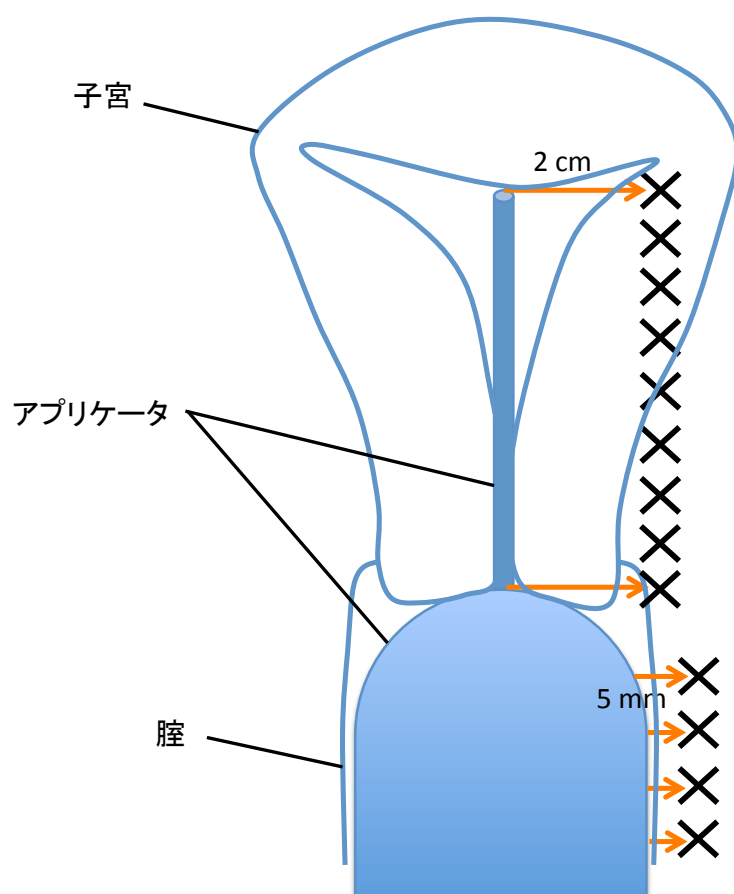


図 4-9 タンデムとシリンダーによる腔内照射の処方点

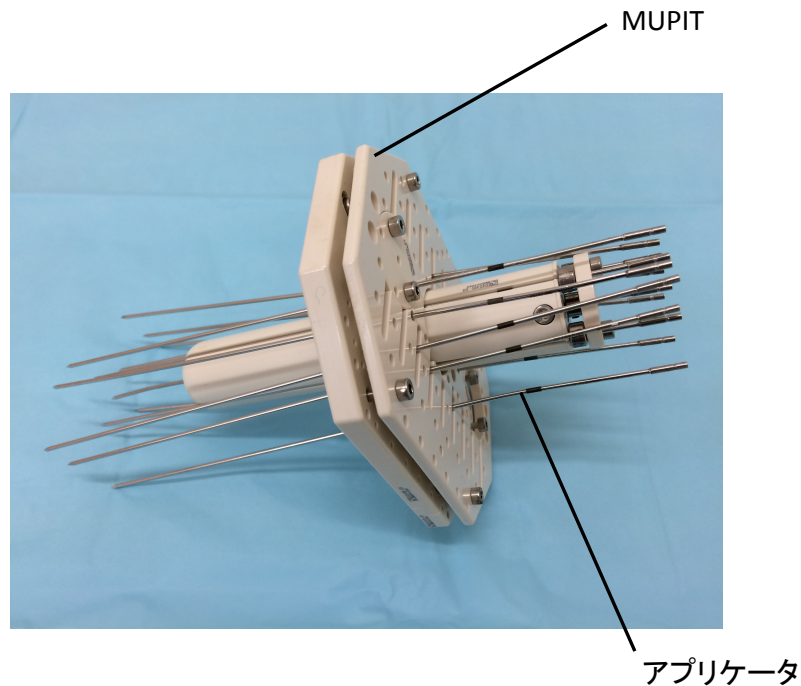


図 4-10 MUPIT

略称：MUPIT = Martinez Universal Perineal Interstitial Template.

外照射と腔内照射（または組織内照射）の線量を、 $\alpha/\beta = 10 \text{ Gy}$ の linear-quadratic モデルに基づき、1 回線量 2 Gy の生物学的等価線量に換算した後、合算して評価に用いた [26, 79]。

CRT は、局所進行期（IIB～IVA 期）、短径 4 cm を超える巨大腫瘍、リンパ節転移のいずれかに該当する症例で施行された。化学療法は放射線治療と同時に開始された。2001～2007 年は、シスプラチン 75 mg/m^2 を 3 週おきに 3 サイクル、2007 年からはシスプラチン 40 mg/m^2 を毎週 6 サイクル、またはネダプラチン $75\sim 100 \text{ mg/m}^2$ を 3 週おきに 3 サイクルが主な化学療法レジメンとなった。高年齢や全身状態不良例、腎機能低下例では 80% の量に減量された。

4.4 フォローアップと治療効果・再発の判定および有害事象の評価

フォローアップは、治療後 1 年目は毎月、2 年目は 2～3 ヶ月おき、その後は 3～6 ヶ月おきに行われた。内容は、全身の診察および内診、子宮頸部細胞診、腫瘍マーカー測定であった。胸部～骨盤部の CT は最初の 2 年間は 3～6 ヶ月おきに、その後は 6～12 ヶ月おきに撮像された。骨盤部 MRI や FDG-PET は必要時に撮像された。

初期効果として、完全奏功（complete response（CR））を、放射線治療終了から 3 ヶ月の時点で理学的にも画像検査上も病変が存在しない状態と定義した。一方、同時点で残存や増悪が認められた場合を、非完全奏功（non-CR）と定義した。CR 判定後に病変がみられた場合を再発と判断した（表 4-3）。残存、増悪、および再発は、理学的に、画像検査にて（放射線診断専門医による診断）、あるいは病理学的に確定された。

CR	放射線治療終了から 3 ヶ月の時点で病変が存在しない状態
non-CR	放射線治療終了から 3 ヶ月の時点で病変が存在する状態 残存: 治療前より認められ治療の対象となった病変が消退していない状態 増悪: 治療前に認められなかった新出病変が出現している状態
再発	CR 判定後の病変の出現

表 4-3 治療効果・再発の判定

略称：CR = complete response（完全奏功）, non-CR = non-complete response（非完全奏功）。

有害事象の評価には、米国 NCI の Cancer Therapy Evaluation Program (CTEP) が公表した Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0 を用いた [80]。治療終了日から 90 日以内に発生したものを急性期有害事象、90 日を超えてから発生したものを晩期有害事象と定義した。

4.5 組織サンプルからの total RNA 抽出と逆転写反応および Q-PCR による発現解析

実験のプロトコルを図 4-11 に示す。

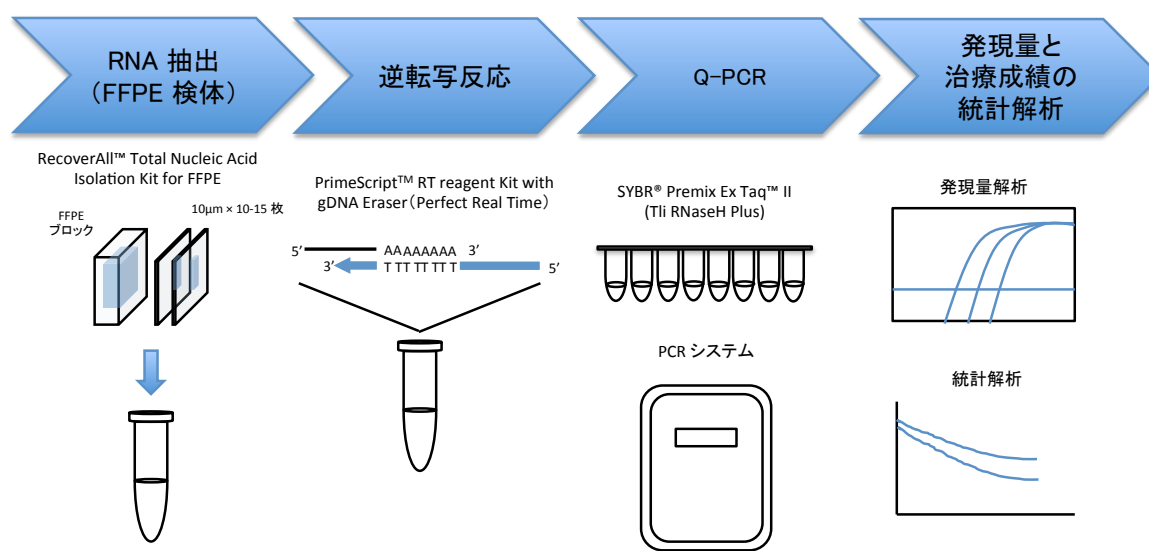


図 4-11 実験のプロトコル

略称：FFPE = formalin-fixed, paraffin-embedded , Q-PCR = quantitative polymerase chain reaction.

FFPE サンプルからの total RNA 抽出は、RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE (Life technologies, Carlsbad, CA, USA) を用いて、付属の説明書に従い、以下の通りに行った。

あらかじめ、Wash 1 Concentrate に 100% エタノール 42 mL を加え、Wash 1 とする。また、Wash 2/3 Concentrate に 100% エタノール 48 mL を加え、Wash 2/3 とする。

① 脱パラフィン処理

1. FFPE ブロックより、厚さ 10 μ m の切片を 10~15 枚用意し、マイクロチューブに入れる。
2. 100% キシレン 1mL を入れ、50℃ で 5 分おく。
3. 遠心 (10,000 rpm、室温、2 分) し、キシレンを除去する。
4. 100% エタノール 1mL を入れる。
5. 遠心 (10,000 rpm、室温、2 分) し、エタノールを除去する。
6. 4-5 をさらに 2 回繰り返す。これらの処理により、パラフィンを除き組織だけの状態にすることができる。
7. 脱パラフィン処理した組織を乾燥させ、エタノールを完全に除く (室温、30 分以上)。

② タンパク質分解酵素 (プロテアーゼ) 処理

1. ①のサンプルに Digestion Buffer 200 μ L と Protease 4 μ L を加える。
2. プロテアーゼ処理 (50°C、15 分) を行ったのち、80°C で 15 分加温し、
プロテアーゼを失活させる。これらの処理により組織を完全に破壊する。

③ 核酸の分離

1. Isolation Additive 240 μ L と 100% エタノール 550 μ L を混合する。その
混合液を②のサンプルに加え、よく攪拌する。
2. 1 を Filter Cartridge に入れ、1 分間待った後、遠心 (10,000 rpm、室温、
30 秒) して下液を廃棄し、核酸を分離する。
3. 2 をもう一度繰り返す。これらの処理によって核酸のみを Filter Cartridge
上に結合させる。
4. Filter Cartridge 上に Wash 1 600 μ L を加え、遠心 (10,000 rpm、室温、30
秒) して洗浄する。
5. さらに、Wash 2/3 400 μ L を加え、遠心 (10,000 rpm、室温、30 秒) して
洗浄する。

④ DNA 分解酵素 (DNase) 処理と total RNA 抽出

1. 10× DNase Buffer 6 μ L、DNase 4 μ L、Nuclease-free Water 50 μ L、合計 60
 μ L の DNase mix をあらかじめ混合しておき、その混合液を③の Filter
Cartridge に加え、室温で 30 分おく。これらの処理によって Filter
Cartridge 上の核酸のうち DNA を分解する。

2. Filter Cartridge 上に Wash 1 600 μ L を加え、室温で 1 分おいたのち、遠心 (10,000 rpm、室温、30 秒) して洗浄する。
3. さらに、Wash 2/3 400 μ L を加え、遠心 (10,000 rpm、室温、30 秒) して洗浄する。
4. 6 をもう一度繰り返す。これらの処理によって精製された RNA だけが Filter Cartridge 上に存在する状態となる。
5. total RNA がのった Filter Cartridge を Collection Tube に入れ、Nuclease-Free Water 70 μ L を加え、室温で 1 分おいたのち、遠心 (15,000 rpm、室温、1 分) して、精製された total RNA のみを抽出する。

続いて、下記のように、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) (TAKARA BIO INC., Otsu, Japan) を用いて、付属の説明書に従い、total RNA の逆転写反応により相補的 DNA (complementary DNA (cDNA)) を得た。

- ① total RNA (1 μ g 分) を 65°C で 5 分間保温した後、氷上で急冷する。この処理によって複雑な立体構造を取ることが多い RNA を一本鎖にほどき、逆転写反応の効率を上げる。

② マイクロチューブ内で以下の液を混合し、 $10\ \mu\text{L}$ とする。

試薬	使用量
$5\times$ gDNA Eraser Buffer	$2\ \mu\text{L}$
gDNA Eraser	$1\ \mu\text{L}$
total RNA ($1\ \mu\text{g}$ 分)	(サンプル濃度によって異なる)
RNase Free dH ₂ O	(サンプル濃度によって異なる)
Total	$10\ \mu\text{L}$

③ 42°C で 2 分間保温したのち、 4°C でおく。これらの処理により、混入しているゲノム DNA (gDNA) を除く。

④ 以下の反応液を加え、全量を $20\ \mu\text{L}$ にする。

試薬	使用量
③の反応液	$10\ \mu\text{L}$
$5\times$ PrimeScript Buffer 2 (for Real Time)	$4\ \mu\text{L}$
PrimeScript RT Enzyme Mix I	$1\ \mu\text{L}$
RT Primer Mix	$1\ \mu\text{L}$
RNase Free dH ₂ O	$4\ \mu\text{L}$
Total	$20\ \mu\text{L}$

⑤ 穏やかに攪拌し、 37°C で 15 分間保温、 85°C で 10 秒間保温したのち、 4°C でおく。

⑥ Nuclease-Free Water 180 μ L を加え、全量 200 μ L にする (1 μ g/200 μ L)。

さらに、下記のように、SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (TAKARA BIO INC., Otsu, Japan) を用いて、付属の説明書に従い、定量ポリメラーゼ連鎖反応 (quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR)) を行った (The LightCycler® Nano Real-Time PCR System, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)。Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を内在性コントロールとして用い、lncRNA の発現量を GAPDH により標準化した。75 サンプルのうちの特定の 1 例をコントロールとした相対定量を行った。

① 下記に示す PCR 反応液を調製する。

<1 反応あたり>

試薬	使用量
SYBR® Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (2×)	5 μ L
プライマー mix (5 μ M)	1 μ L
cDNA 溶液	1 μ L
Nuclease-Free Water	3 μ L
Total	10 μ L

② 反応を開始する。

Hold (初期変成)

95°C 30 秒 (Ramp Rate 5°C/秒)

1 サイクル

2 STEPS PCR

95°C 10 秒 (Ramp Rate 5°C/秒)

60°C 30 秒 (Ramp Rate 4°C/秒)

45 サイクル

Hold

95°C 15 秒 (Ramp Rate 5°C/秒)

1 サイクル

Melting

60°C 30 秒 (Ramp Rate 4°C/秒)

95°C 15 秒 (Ramp Rate 0.1°C/秒)

1 サイクル

4.6 対象とした long non-coding RNA

過去の文献をもとに、癌との関連が報告されている lncRNA に焦点を当てた [54–56]。癌との関連が報告されている lncRNA は 60 種類ほどあるが [55]、1 症

例の FFPE サンプルが少量なため、解析できる lncRNA の種類には限度がある。

今回はランダムに選択した以下の 5 種類をターゲットとした。

XIST XIST (X inactive-specific transcript) は女性の体細胞の X 染色体不活性化に関与しており、男性と女性の X 染色体の遺伝子量補償を可能にする。XIST の発現異常はいくつかの癌で報告されている。例えば、XIST 発現の低下は、basal-like 乳癌、breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) -null (機能喪失) のトリプルネガティブ乳癌 [81–87]、卵巣癌 [88, 89] など認められる。卵巣癌の細胞株では、XIST の発現が化学療法への反応に関する予後因子となる可能性があるとされている [90]。

Tsix Tsix は XIST の塩基配列に相補的な RNA として転写され、XIST に完全にオーバーラップしている [91]。Tsix は様々なメカニズムにより cis に XIST 発現を抑制する。

TERC TERC (telomerase RNA component) は、テロメラーゼ (真核生物の染色体末端 (テロメア) の特異的反復配列を伸長させる酵素) の構成成分である [92]。TERC の増幅は子宮頸癌、肺癌、卵巣癌などで報告されている [93]。さらに TERC の増幅とテロメラーゼの過剰発現は子宮頸癌の発生に関与していることも報告されている [94]。従って、TERC 増幅の検査は、特にハイリスク症例において、細胞診スクリーニングや HPV 検査の補助となり得るといわれている。

DHFR upstream transcripts DHFR upstream transcripts は、ジヒドロ葉酸レダクターゼ (dihydrofolate reductase (DHFR)) 遺伝子上流から転写され、プロモーターと 3 重らせん構造をとり、転写開始前複合体を解離することで、DHFR の発現を調節する [95]。この lncRNA もまた癌との関連が示唆されている [55]。しかし分子レベルでのメカニズムについては不明である。DHFR はジヒドロ葉酸をテトラヒドロ葉酸に還元する酵素であり、この反応は核酸合成に必須である。DHFR upstream transcripts は何らかの形で核酸合成に関与しており、この代謝異常が発がんにつながるのかもしれない。

Air マンノース 6 リン酸／インスリン様成長因子 II 受容体 (mannose 6-phosphate／insulin-like growth factor-II receptor (M6P／IGF-IIR)) は、乳癌や肝細胞癌などいくつかの癌において腫瘍増殖抑制因子として機能すると考えられている [96]。Air (antisense Igf2r RNA) は、マウスの 17 番染色体において、Igf2r を含む常染色体遺伝子群のゲノムインプリンティングを cis に調節していることがわかっている [97]。ヒトではまだ不明な点が多いが、この lncRNA もまた癌に関連していると考えられる [55]。がん関連の遺伝子の発現をエピゲネティックなレベルで調節している可能性がある。

GAPDH と 5 種類の lncRNA の増幅のために用いたプライマーのシーケンスを表 4.4 に示す。サンプルの FFPE 処理と保存による RNA 損傷 (断裂) が

懸念されるため、PCR 産物の塩基長は可能な限り短くなるようにした。プライマーは、過去の文献 [95, 98–100] を参考にしたり、ソフトウェアプログラム (GENETYX-MAC ver.13 (GENETYX CO. INC., Tokyo, Japan)) を用いて作成したりした。

オリゴヌクレオチド	シーケンス	増幅産物の塩基長 (bp)	参考文献
GAPDH	F: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC R: TGGTGAAGACGCCAGTGGA	138	[98]
XIST	F: AATGGAACGGGCTGAGTTTTAG R: TCATCCGCTTGCGTTCATAG	70	[99]
Tsix	F: AGTTGTGACCGATTTGGAGGGCTTACG R: GTATGGAGTCACCAGGTTCCCAGAGAAAGAC	86	[99]
TERC	F: TTCAGGCCGCGAGGAAGAGGA R: ACGTCCCACAGCTCAGGGAA	68	*
DHFR upstream transcripts	F: ACCTGGTCGGCTGCACCT R: TTGCCCTGCCATGTCTCG	150	[95]
Air	F: GCAGCAAGAAGCACAGCAC R: GATGTCTGCGTGGTAACTGG	79	[100]

表 4-4 プライマーのシーケンス

* : ソフトウェアプログラム (GENETYX-MAC ver.13) を用いて作成した. 略称 : F = Forward, R = Reverse.

4.7 統計学的解析

統計学的解析には JMP® 11.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。放射線治療開始日より、死亡、または観察終了日までを全生存期間とし、放射線治療開始日より、増悪、死亡、または観察終了日までを無増悪生存期間とした。臨床病理学的予後解析では、年齢 (<40 歳 vs. ≥40 歳) [101]、FIGO 病期 (IB～II 期 vs. III～IVA 期)、骨盤内リンパ節転移 (陰性 vs. 陽性)、PALN 転移 (陰性 vs. 陽

性)、最大腫瘍径 (≤ 4 cm vs. > 4 cm) [8–10]、治療前ヘモグロビン値 (≤ 10 g/dL vs. > 10 g/dL) [102]、病理組織型 (扁平上皮癌 vs. 非扁平上皮癌)、治療内容 (CRT vs. 放射線単独治療)、腫瘍線量 ($<$ 線量中央値 vs. \geq 線量中央値)、放射線治療期間 (≤ 56 日 vs. > 56 日) [73, 74]、化学療法剤 (シスプラチン vs. ネダプラチン) について解析した。Kaplan-Meier 法を用いて生存曲線を得たのち、log-rank 検定を用いてその差を比較した。連続変数としての治療前ヘモグロビン値や最大腫瘍径と各臨床病理学的背景因子との相関解析には、Pearson の積率相関分析および Student の t 検定を用いた。CR 症例と non-CR 症例の臨床病理学的背景因子の比較にはカイ二乗検定または Fisher の正確確率検定を用いた。lncRNA の発現量の解析では、各 lncRNA の発現量を GAPDH により標準化すると同時に、あるサンプルをコントロールとし、そのコントロールサンプルの発現量を 1 とした相対定量を行った。75 サンプルの発現量相対値の中央値により高発現群と低発現群の 2 群に分け予後解析を行った。統計学的に有意な傾向が認められた場合、複数の発現量値で 2 群に分けた予後解析を繰り返し、最適なカットオフ値を導いた。lncRNA 発現量 2 群間の各臨床病理学的背景因子の比較にはカイ二乗検定または Fisher の正確確率検定を用いた。多変量解析では Cox の比例ハザードモデルを用いた。 $P < 0.05$ で有意差ありと判定した。

5 結果

5.1 症例の背景

解析日は 2015 年 3 月とした。観察期間中央値は、全例 51.8 (範囲:4.0~155.1) ヶ月、生存例 (81 例) 64.1 (範囲:5.2~155.1) ヶ月であった。表 5-1 に症例腫瘍背景を示す。年齢中央値は 57 (範囲:28~89) 歳、最も多くみられた病期は IIIB 期 (48 例 (38%))、MRI T2 強調画像で計測された最大腫瘍径中央値は 4.7 (範囲:検出不能~9.7) cm であった。骨盤内リンパ節転移陽性症例が 41 例 (33%)、PALN 転移陽性症例が 17 例 (14%) であった。通常腔内照射はタンデムとオボイドアプリータにより行われたが、12 例でタンデムシリンドーアプリータが用いられたほか、1 例で組織内照射が行われた。41 例の骨盤内リンパ節転移陽性症例のうち、8 例は追加外照射を施行された。

背景因子	数	%
症例数	125	
年齢(歳)	28～87(中央値:57)	
病理組織型		
扁平上皮癌	106	85%
腺癌	10	8%
腺扁平上皮癌	9	7%
FIGO 病期		
IB	27	22%
IIA	9	7%
IIB	18	14%
IIIA	9	7%
IIIB	48	38%
IVA	14	11%
骨盤内リンパ節転移		
陽性	41	33%
陰性	84	67%
PALN 転移		
陽性	17	14%
陰性	108	86%
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	4.4～15.1(中央値:12.1)	
最大腫瘍径(cm)	検出されず～9.7(中央値:4.7)	
CRT/RT と化学療法レジメン		
CRT	102	82%
CDDP 75 mg/m ² 3 週おき 3 サイクル	36	29%
CDDP 40 mg/m ² 毎週 6 サイクル	19	15%
NDP 75～100 mg/m ² 3 週おき 3 サイクル	44	35%
その他	3	2%
RT	23	18%
原発巣の RT 線量(GyEQD ₂)	40～91.1(中央値:63.9)	
RT 期間(日)	35～89(中央値:46)	

表 5-1 症例腫瘍背景

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節), CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), CDDP = cisplatin (シスプラチン), NDP = nedaplatin (ネダプラチン)。

41 例の骨盤内リンパ節転移陽性症例の、リンパ節転移の部位を表 5-2 に示す。

最も頻度の高かった領域は、閉鎖領域頭側であった。

リンパ節領域	総腸骨	外腸骨			内腸骨	閉鎖		仙骨前	その他 (基靱帯など)
		内側	中間	外側		頭側	尾側		
症例数	13	16	1	1	8	33	2	1	2

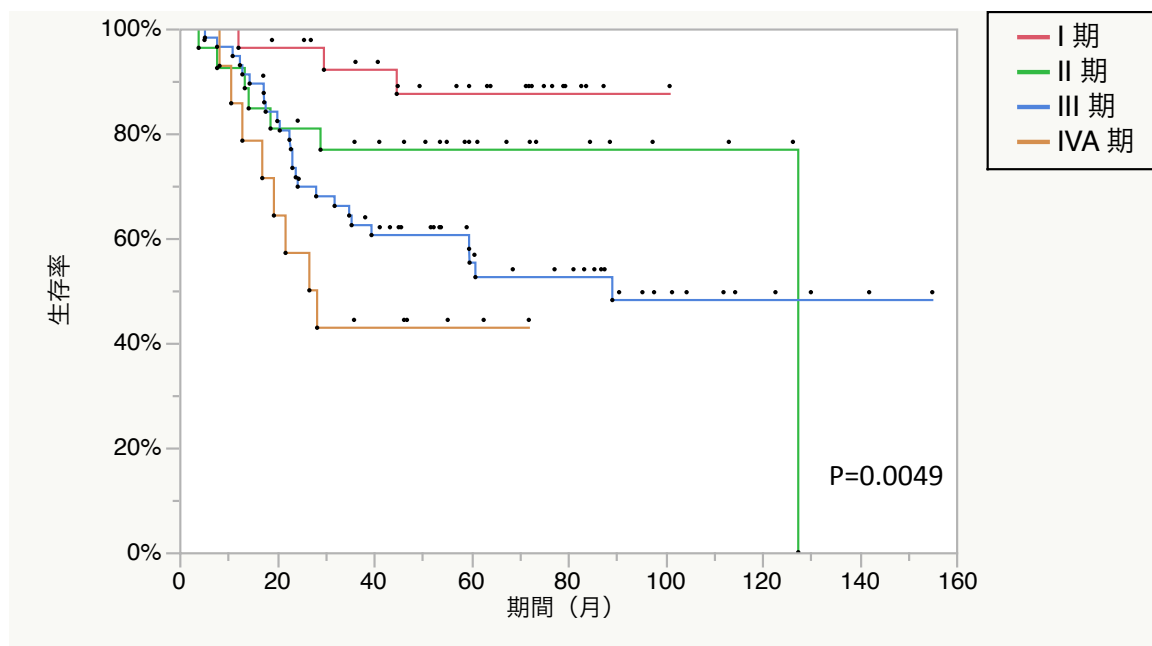
表 5-2 骨盤内リンパ節領域別の治療前転移陽性症例数

5.2 生存解析

解析時、125 例中、81 例（65%）が生存、44 例（35%）が死亡（そのうち 39 例（31%）が原病死、5 例（4%）が他因死）していた。

図 5-1 に FIGO 病期別の全生存率（overall survival (OS)）の生存曲線を示す。

5 年 OS は、I 期 87.5 (±6.8) %、II 期 76.8 (±8.3) %、III 期 55.3 (±7.0) %、IVA 期 42.8 (±13.2) %であった (P=0.0049)。生存期間中央値 (median survival time (MST)) は、I 期 到達せず (not arriving (NA))、II 期 127.5 ヶ月、III 期 89.2 ヶ月、IVA 期 27.6 ヶ月であった。



Patient at risk

I 期	27	26	22	16	5	2	0	0	0
II 期	27	22	19	12	8	4	3	0	0
III 期	57	48	33	22	18	9	5	3	0
IVA 期	14	10	6	3	0	0	0	0	0

図 5-1 FIGO 病期別の OS 生存曲線

図 5-2 に FIGO 病期別の無増悪生存率 (progression-free survival (PFS)) の生存曲線を示す。5 年 PFS は、I 期 85.2 (± 6.8) %、II 期 69.4 (± 9.1) %、III 期 50.5 (± 6.7) %、IVA 期 35.7 (± 12.8) %であった (P=0.0024)。無増悪期間中央値は、I 期 NA、II 期 NA、III 期 NA、IVA 期 10.9 ヶ月であった。

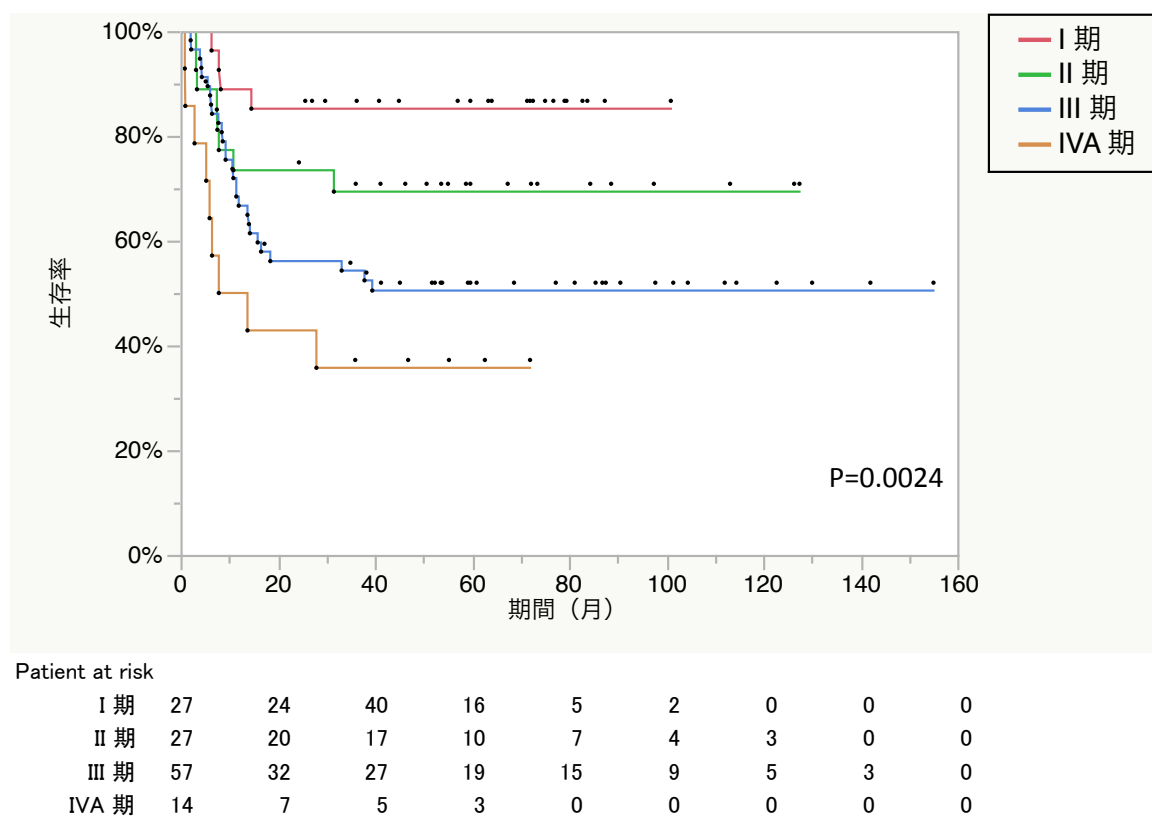


図 5-2 FIGO 病期別の PFS 生存曲線

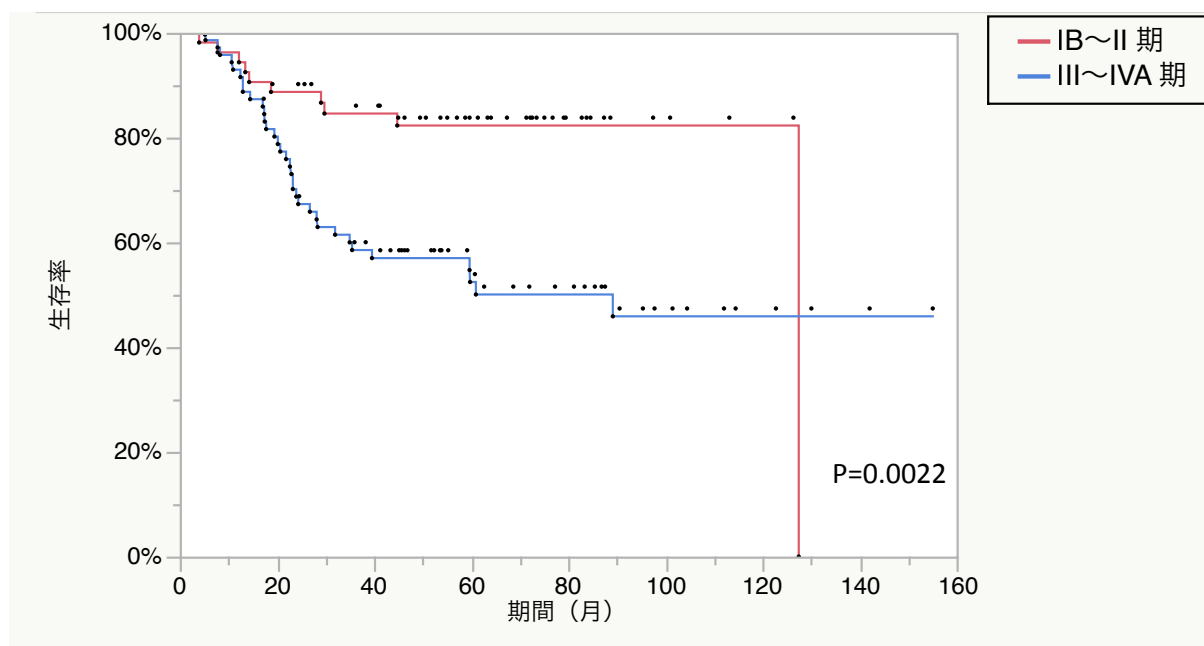
5.3 臨床病理学的予後因子

一般的に予後因子とされているいくつかの臨床病理学的因子について予後解析を行った。表 5-3 に OS に関する予後解析の結果を示す。単変量解析では、FIGO 病期 ($P=0.0022$)、骨盤内リンパ節転移 ($P=0.0008$)、PALN 転移 ($P=0.0002$)、最大腫瘍径 ($P<0.0001$)、治療前ヘモグロビン値 ($P<0.0001$) が有意な予後因子となった。多変量解析では、最大腫瘍径 ($P=0.015$ 、HR : 3.08、95% 信頼区間 (confidence interval (CI)) : 1.23~8.89) と治療前ヘモグロビン値 ($P=0.0053$ 、HR : 2.70、95% CI : 1.36~5.19) が有意な予後因子となった。有意差のついた因子についての生存曲線を図 5-3、図 5-4、図 5-5、図 5-6、図 5-7 に示す。

因子	数	OS					
		5 年 OS(%)	Log rank P 値	Cox モデル			
				P 値	HR	95% CI	
年齢(歳)							
<40	18	83.3 ± 8.8	0.15				
≥40	107	62.1 ± 5.0					
FIGO 病期							
IB~II	54	82.3 ± 5.4	0.0022	0.60	1.24	0.57~2.97	
III~IVA	71	52.4 ± 6.3					
骨盤内リンパ節転移							
N0	84	74.6 ± 5.2	0.0008	0.53	1.28	0.58~2.73	
N1	41	46.0 ± 7.8					
PALN 転移							
陰性	108	71.0 ± 4.7	0.0002	0.21	1.70	0.73~3.92	
陽性	17	29.4 ± 11.1					
最大腫瘍径(cm)							
≤4	46	88.8 ± 4.7	<0.0001	0.015	3.08	1.23~8.89	
>4	79	50.9 ± 6.1					
治療前ヘモグロビン値(g/dL)							
≤10	23	34.8 ± 9.9	<0.0001	0.0053	2.70	1.36~5.19	
>10	102	72.2 ± 4.7					
病理組織型							
扁平上皮癌	106	64.7 ± 4.9	0.59				
非扁平上皮癌	19	67.5 ± 11.0					
CRT/RT							
CRT	102	64.1 ± 5.1	0.99				
RT	23	69.3 ± 9.7					
腫瘍線量(GyEQD ₂)							
<63.9	60	71.5 ± 6.1	0.058				
≥63.9	65	60.1 ± 6.2					
RT 期間(日)							
≤56	111	66.3 ± 4.8	0.11				
>56	14	57.1 ± 13.2					
化学療法剤							
CDDP	55	60.1 ± 6.7	0.31				
NDP	44	69.3 ± 7.5					

表 5-3 OS についての臨床予後因子

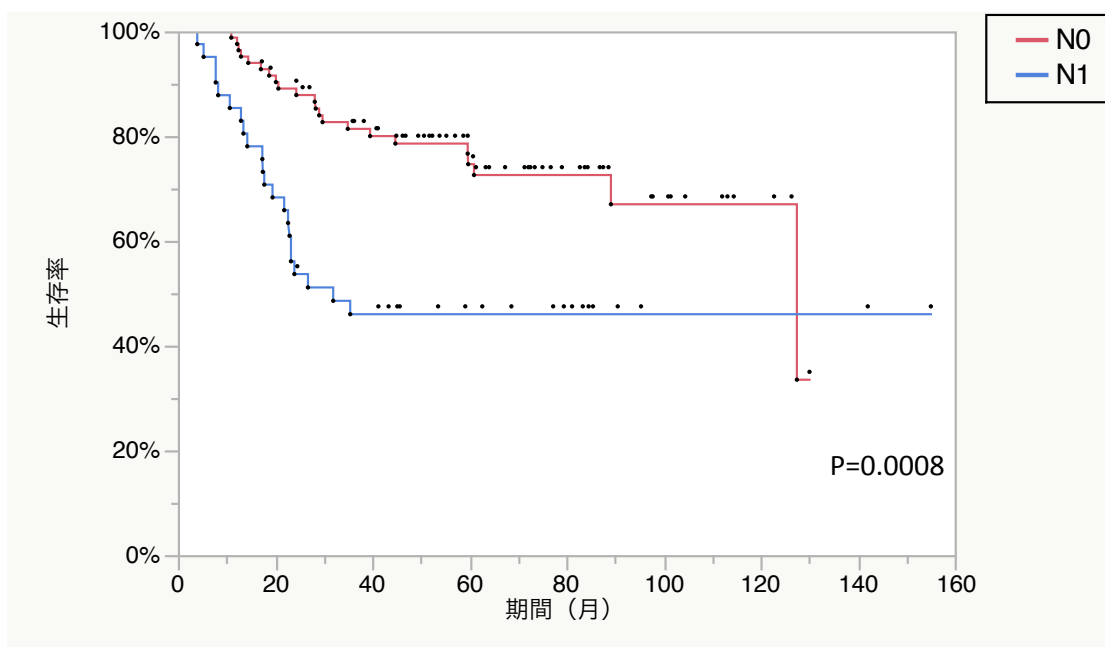
略称：OS = overall survival (全生存率)，HR = hazard ratio (ハザード比)，CI = confidence interval (信頼区間)，FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics，PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節)，CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法)，RT = radiation therapy (放射線治療)，CDDP = cisplatin (シスプラチン)，NDP = nedaplatin (ネダプラチン)。



Patient at risk

IB~II 期	54	47	40	28	12	5	3	0	0
III~IVA 期	71	57	38	24	18	9	5	3	0

図 5-3 FIGO 病期についての OS 生存曲線



Patient at risk

N0	84	75	59	38	21	11	5	0	0
N1	41	29	19	13	9	3	3	3	0

図 5-4 骨盤内リンパ節転移についての OS 生存曲線

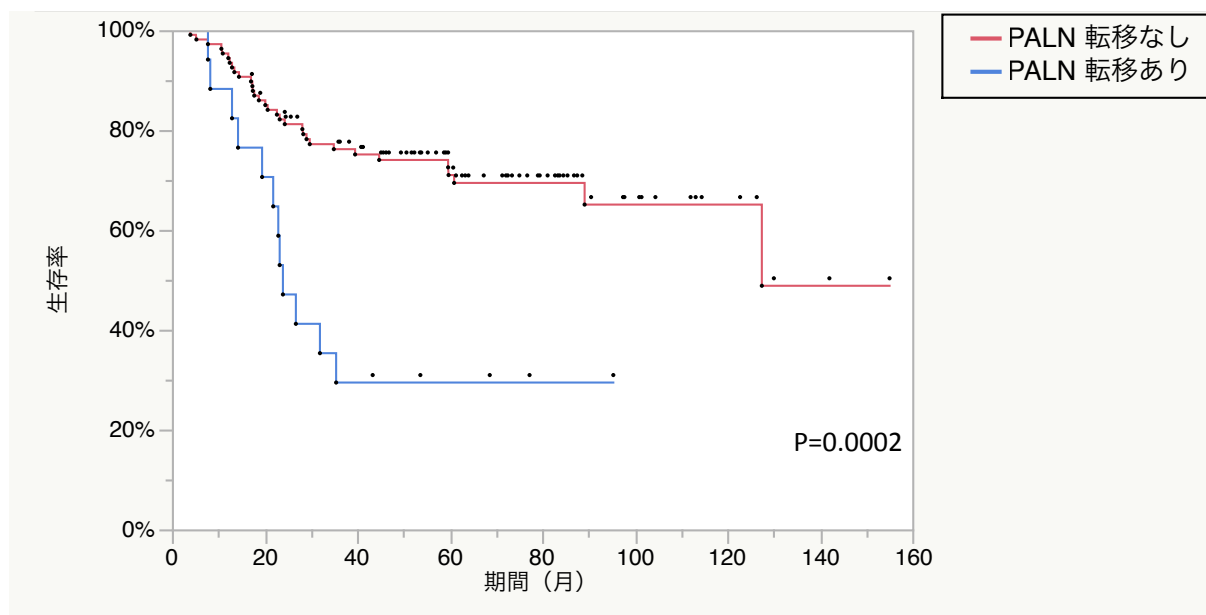


図 5-5 PALN についての OS 生存曲線

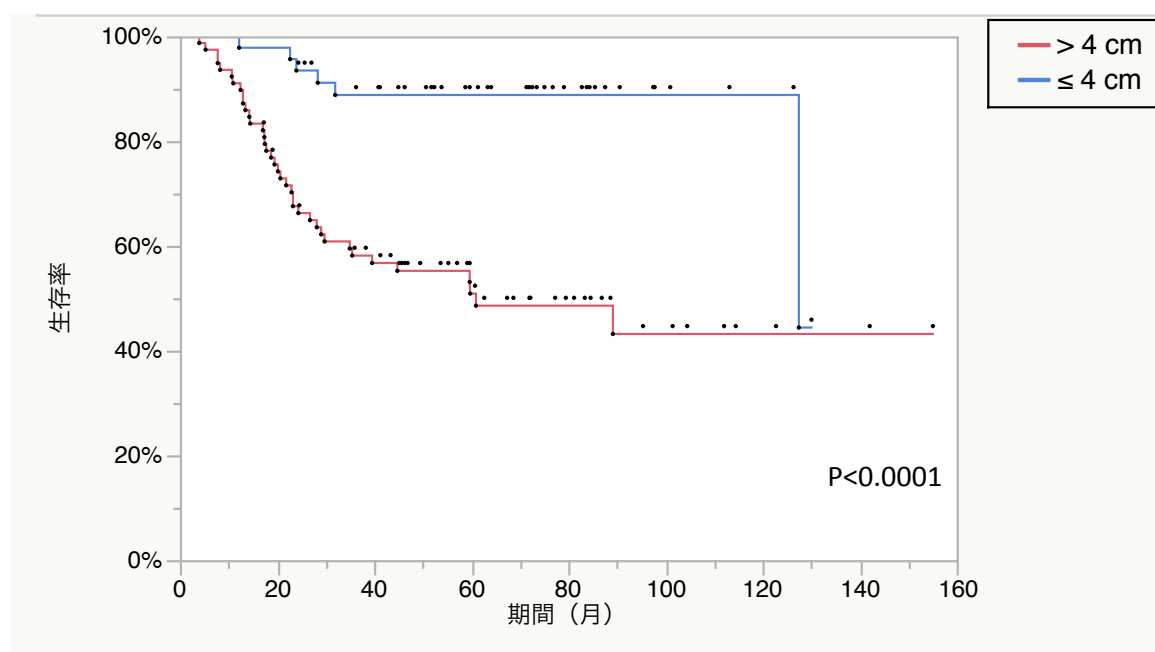


図 5-6 最大腫瘍径についての OS 生存曲線

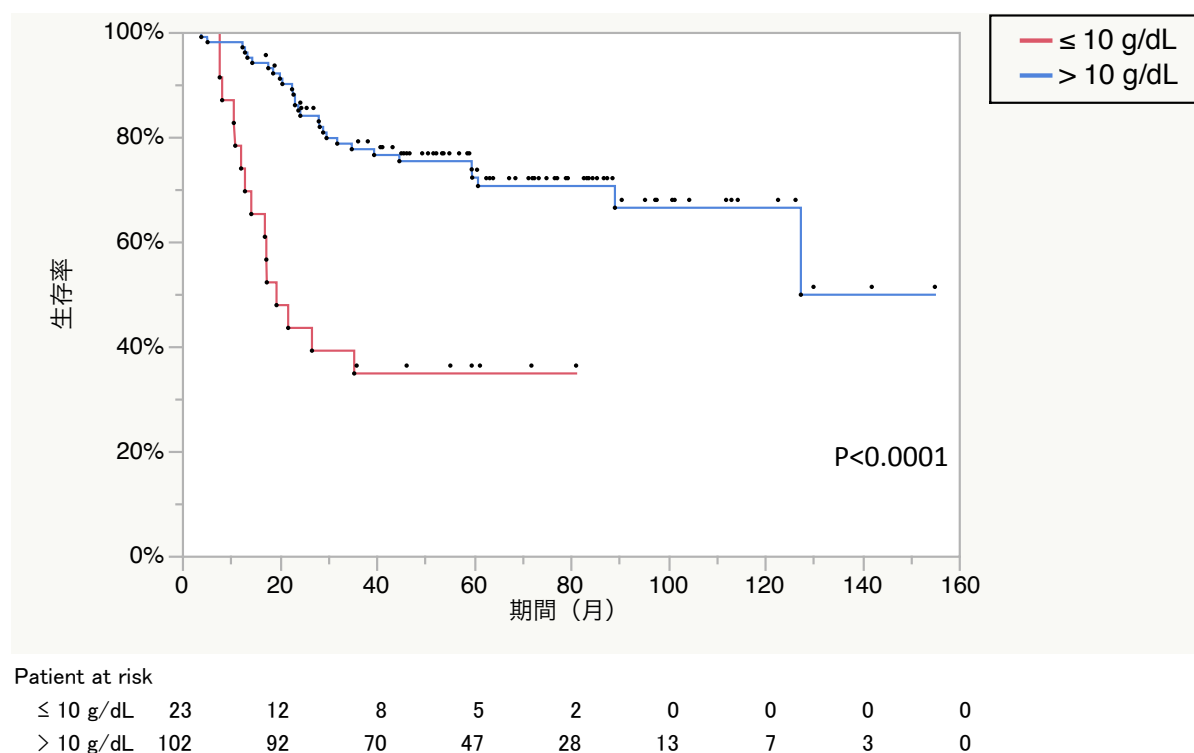


図 5-7 治療前ヘモグロビン値についての OS 生存曲線

表 5-4 に PFS に関する予後解析の結果を示す。単変量解析では、FIGO 病期 ($P=0.0016$)、骨盤内リンパ節転移 ($P<0.0001$)、PALN 転移 ($P<0.0001$)、最大腫瘍径 ($P<0.0001$)、治療前ヘモグロビン値 ($P<0.0001$)、腫瘍線量 ($P=0.0088$) が有意な予後因子となった。多変量解析では、最大腫瘍径 ($P=0.011$ 、HR : 3.18、95% CI : 1.29~9.08) と治療前ヘモグロビン値 ($P=0.0076$ 、HR : 2.40、95% CI : 1.27~4.39) が有意な予後因子となった。

因子		数	PFS					
			5 年 PFS (%)	Log rank P 値	Cox モデル			
					P 値	HR	95% CI	
年齢(歳)								
	<40	18	72.2 ± 10.6	0.37				
	≥40	107	58.0 ± 4.9					
FIGO 病期								
	IB～II	54	77.3 ± 5.8	0.0016	0.88	1.06	0.52～2.31	
	III～IVA	71	47.5 ± 6.0					
骨盤内リンパ節転移								
	N0	84	74.4 ± 4.8	<0.0001	0.072	1.91	0.94～3.86	
	N1	41	31.7 ± 7.3					
PALN 転移								
	陰性	108	67.1 ± 4.6	<0.0001	0.13	1.77	0.84～3.62	
	陽性	17	17.7 ± 9.3					
最大腫瘍径 (cm)								
	≤4	46	87.0 ± 5.0	<0.0001	0.011	3.18	1.29～9.08	
	>4	79	44.4 ± 5.7					
治療前ヘモグロビン値 (g/dL)								
	≤10	23	26.1 ± 9.2	<0.0001	0.0076	2.40	1.27～4.39	
	>10	102	68.0 ± 4.7					
病理組織型								
	扁平上皮癌	106	59.8 ± 4.8	0.72				
	非扁平上皮癌	19	62.2 ± 11.4					
CRT／RT								
	CRT	102	58.1 ± 5.0	0.45				
	RT	23	69.6 ± 9.6					
腫瘍線量 (GyEQD ₂)								
	<63.9	60	73.3 ± 5.7	0.0088				
	≥63.9	65	47.7 ± 6.4					
RT 期間(日)								
	≤56	111	61.5 ± 4.7	0.37				
	>56	14	50.0 ± 13.4					
化学療法剤								
	CDDP	55	54.6 ± 6.7	0.37				
	NDP	44	62.0 ± 7.5					

表 5-4 PFS についての臨床予後因子

略称：PFS = progression-free survival（無増悪生存率），HR = hazard ratio（ハザード比），CI = confidence interval（信頼区間），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node(傍大動脈リンパ節)，CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療），CDDP = cisplatin（シスプラチン），NDP = nedaplatin（ネダプラチン）。

表 5-5 に照射野内 PFS に関する予後解析の結果を示す。単変量解析では、FIGO 病期 ($P=0.0008$)、骨盤内リンパ節転移 ($P<0.0001$)、PALN 転移 ($P<0.0001$)、最大腫瘍径 ($P=0.0013$)、治療前ヘモグロビン値 ($P<0.0001$)、腫瘍線量 ($P=0.017$) が有意な予後因子となった。多変量解析では、骨盤内リンパ節転移 ($P=0.043$ 、HR : 2.55、95% CI : 1.03~6.41)、治療前ヘモグロビン値 ($P=0.0009$ 、HR : 3.72、95% CI : 1.74~7.92) が有意な予後因子となった。

因子		数	照射野内 PFS					
			5 年照射野内 PFS(%)	Log rank P 値	Cox モデル			
					P 値	HR	95% CI	
年齢(歳)								
	<40	18	83.3 ± 8.8	0.41				
	≥40	107	72.4 ± 4.5					
FIGO 病期								
	IB～II	54	90.6 ± 4.0	0.0008	0.20	1.95	0.72～6.40	
	III～IVA	71	61.8 ± 6.0					
骨盤内リンパ節転移								
	N0	84	86.3 ± 3.9	<0.0001	0.043	2.55	1.03～6.41	
	N1	41	48.9 ± 8.1					
PALN 転移								
	陰性	108	79.9 ± 3.9	<0.0001	0.31	1.59	0.65～3.86	
	陽性	17	35.3 ± 13.0					
最大腫瘍径 (cm)								
	≤4	46	91.3 ± 4.2	0.0013	0.42	1.62	0.53～6.12	
	>4	79	63.7 ± 5.7					
治療前ヘモグロビン値 (g/dL)								
	≤10	23	33.9 ± 11.0	<0.0001	0.0009	3.72	1.74～7.92	
	>10	102	82.9 ± 3.8					
病理組織型								
	扁平上皮癌	106	74.2 ± 4.4	0.90				
	非扁平上皮癌	19	73.7 ± 10.1					
CRT／RT								
	CRT	102	73.3 ± 4.5	0.78				
	RT	23	78.3 ± 8.6					
腫瘍線量 (GyEQD ₂)								
	<63.9	60	84.7 ± 4.7	0.017				
	≥63.9	65	64.2 ± 6.2					
RT 期間(日)								
	≤56	111	75.3 ± 4.2	0.33				
	>56	14	64.3 ± 12.8					
化学療法剤								
	CDDP	55	72.0 ± 6.2	0.57				
	NDP	44	74.9 ± 7.0					

表 5-5 照射野内 PFS についての臨床予後因子

略称：PFS = progression-free survival（無増悪生存率），HR = hazard ratio（ハザード比），CI = confidence interval（信頼区間），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node(傍大動脈リンパ節)，CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療），CDDP = cisplatin（シスプラチン），NDP = nedaplatin（ネダプラチン）。

表 5-6 に照射野外 PFS に関する予後解析の結果を示す。単変量解析では、FIGO 病期 ($P=0.0034$)、骨盤内リンパ節転移 ($P=0.0008$)、PALN 転移 ($P<0.0001$)、最大腫瘍径 ($P<0.0001$)、治療前ヘモグロビン値 ($P=0.0017$) が有意な予後因子となった。多変量解析では、最大腫瘍径 ($P=0.0038$ 、HR : 4.43、95% CI : 1.57~15.98) のみが有意な予後因子となった。

			照射野外 PFS				
因子		数	5 年照射野 外 PFS (%)	Log rank P 値	Cox モデル		
					P 値	HR	95% CI
年齢(歳)							
	<40	18	77.0 ± 10.1	0.44			
	≥40	107	65.4 ± 4.8				
FIGO 病期							
	IB～II	54	82.1 ± 5.4	0.0034	0.56	1.27	0.58～3.08
	III～IVA	71	56.1 ± 6.1				
骨盤内リンパ節転移							
	N0	84	76.5 ± 4.7	0.0008	0.62	1.22	0.55～2.63
	N1	41	46.8 ± 8.3				
PALN 転移							
	陰性	108	72.8 ± 4.4	<0.0001	0.084	2.11	0.90～4.85
	陽性	17	29.1 ± 12.4				
最大腫瘍径 (cm)							
	≤4	46	91.3 ± 4.2	<0.0001	0.0038	4.43	1.57～15.98
	>4	79	52.3 ± 5.9				
治療前ヘモグロビン値 (g/dL)							
	≤10	23	43.0 ± 11.3	0.0017	0.15	1.70	0.81～3.39
	>10	102	72.3 ± 4.6				
病理組織型							
	扁平上皮癌	106	67.5 ± 4.7	0.97			
	非扁平上皮癌	19	65.7 ± 11.5				
CRT／RT							
	CRT	102	64.9 ± 4.9	0.31			
	RT	23	78.0 ± 8.7				
腫瘍線量 (GyEQD ₂)							
	<63.9	60	76.1 ± 5.6	0.062			
	≥63.9	65	58.1 ± 6.5				
RT 期間(日)							
	≤56	111	69.5 ± 4.5	0.096			
	>56	14	50.0 ± 13.4				
化学療法剤							
	CDDP	55	62.7 ± 6.6	0.67			
	NDP	44	65.7 ± 7.5				

表 5-6 照射野外 PFS についての予後因子

略称：PFS = progression-free survival（無増悪生存率），HR = hazard ratio（ハザード比），CI = confidence interval（信頼区間），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node(傍大動脈リンパ節)，CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療），CDDP = cisplatin（シスプラチン），NDP = nedaplatin（ネダプラチン）。

OS、PFS についての多変量解析において、有意な予後因子となった治療前ヘモグロビン値とその他の背景因子との関係を、図 5-8、図 5-9、図 5-10、図 5-11 に示す。治療前ヘモグロビン値は、最大腫瘍径、FIGO 病期、骨盤内リンパ節転移、PALN 転移と有意に相関していた。同様に、最大腫瘍径とその他の背景因子との関係を、図 5-12、図 5-13、図 5-14 に示す。最大腫瘍径も、治療前ヘモグロビン値、FIGO 病期、骨盤内リンパ節転移、PALN 転移と有意に相関していた。

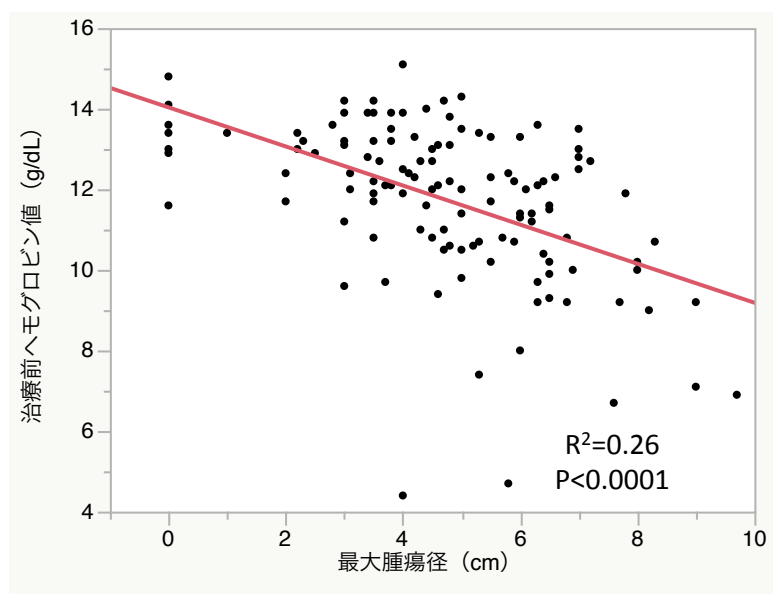


図 5-8 治療前ヘモグロビン値と最大腫瘍径の関係

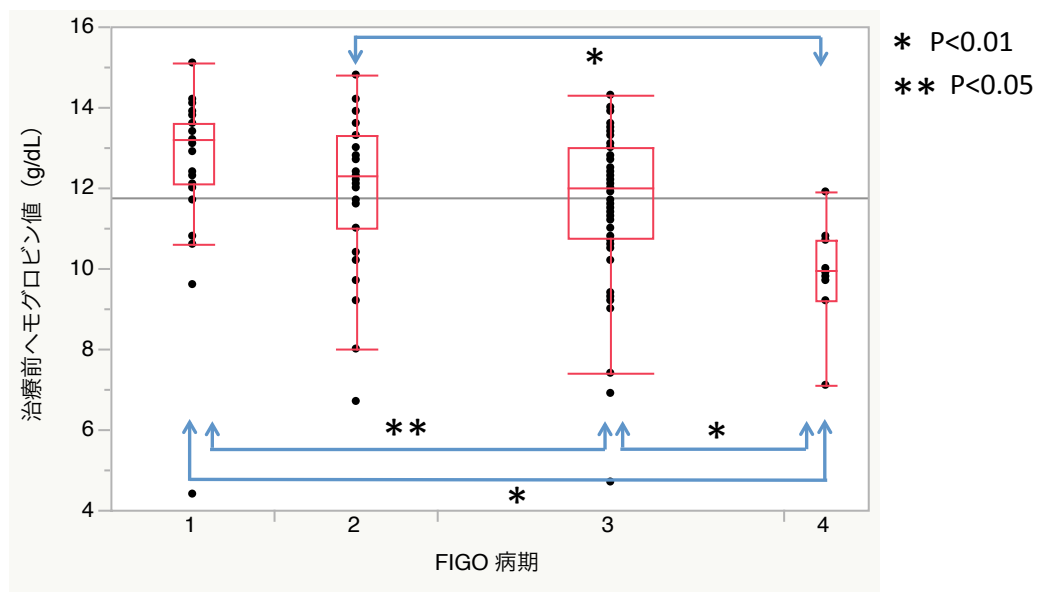


図 5-9 治療前ヘモグロビン値と FIGO 病期の関係

FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics

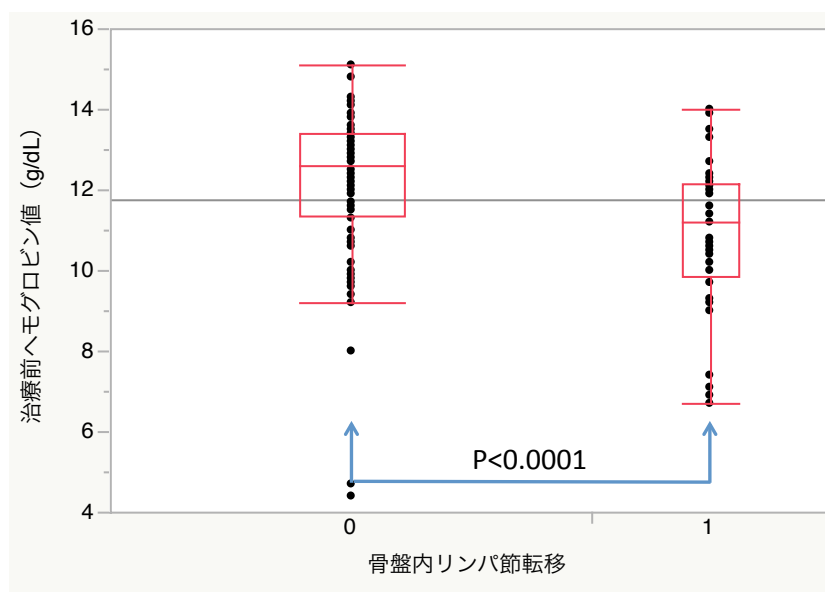


図 5-10 治療前ヘモグロビン値と骨盤内リンパ節転移の関係

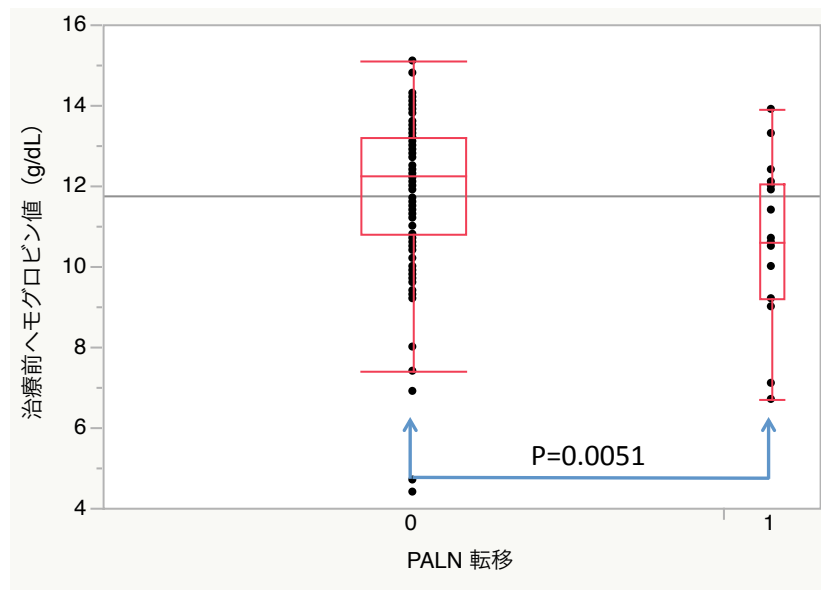


図 5-11 治療前ヘモグロビン値と PALN 転移の関係
PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節)

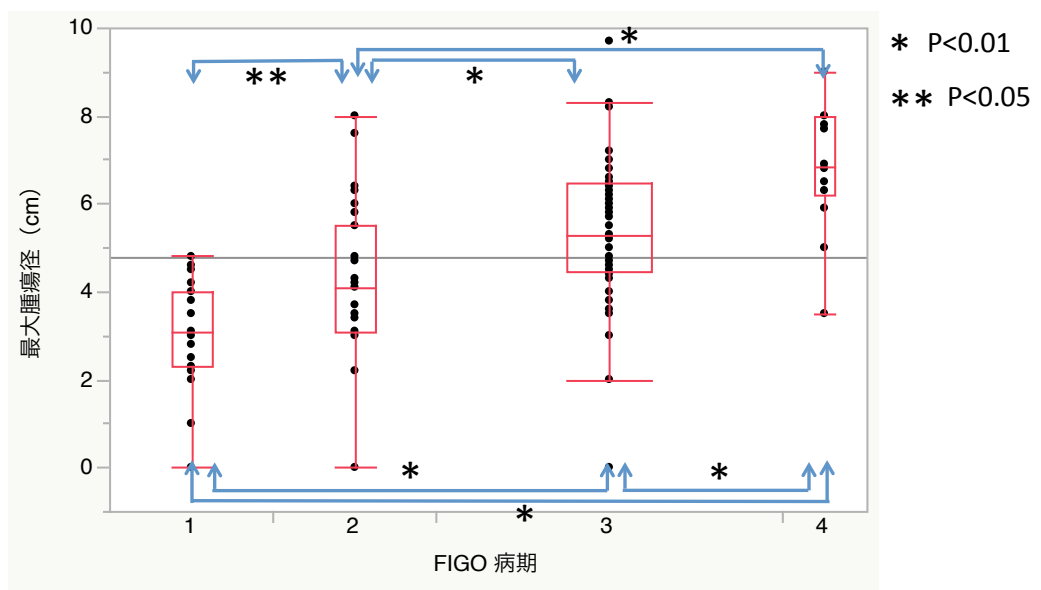


図 5-12 最大腫瘍径と FIGO 病期の関係

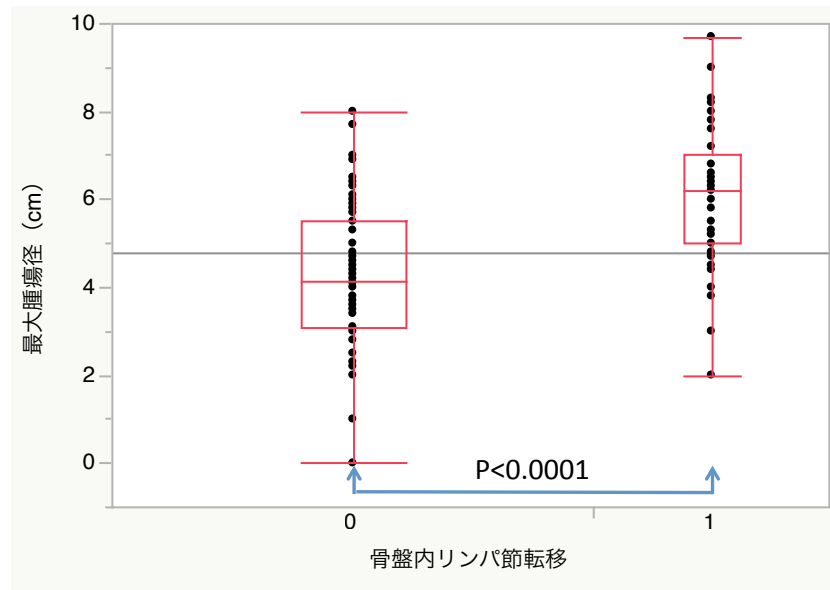


図 5-13 最大腫瘍径と骨盤内リンパ節転移の関係

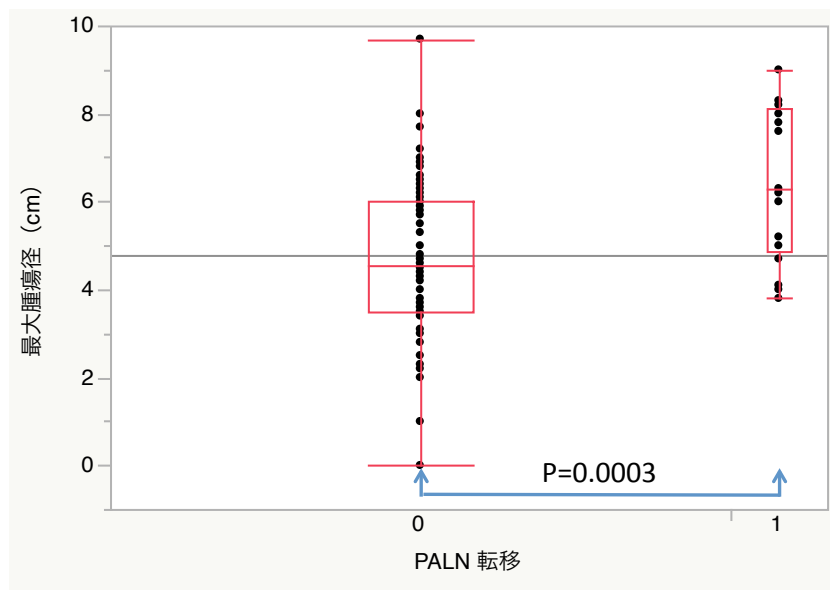


図 5-14 最大腫瘍径と PALN 転移の関係

5.4 有害事象

表 5-7 に Grade 3 以上の有害事象を示す。急性期には、白血球減少 (Grade 3 が 34%、Grade 4 が 3%)、好中球減少 (Grade 3 が 22%、Grade 4 が 2%)、

貧血 (Grade 3 が 21%、Grade 4 が 2%)、血小板減少 (Grade 3 が 6%、Grade 4 が 3%) などの血液学的毒性が比較的多くみられた。Grade 3 以上の非血液学的毒性はいずれも 3% 以下の頻度であった。なお、急性期に生じた直腸腔瘻 (Grade 4 が 2 例)、膀胱腔瘻 (Grade 4 が 4 例) は、FIGO IIIB~IVA 期の巨大腫瘍の直腸または膀胱浸潤とその縮小による瘻孔と考えられた。Grade 3 以上の晩期毒性は、消化管毒性として小腸穿孔 (Grade 4 が 3%)、結腸穿孔 (Grade 4 が 1%)、直腸腔瘻 (Grade 4 が 1%)、直腸炎 (直腸出血) (Grade 3 が 2%、Grade 4 が 0%)、腸閉塞 (Grade 3 が 2%、Grade 4 が 2%)、小腸出血 (Grade 3 が 1%、Grade 4 が 0%)、泌尿生殖器毒性として腎不全 (Grade 3 が 1%、Grade 4 が 0%)、膀胱炎 (膀胱出血) (Grade 3 が 1%、Grade 4 が 1%) が認められた。Grade 3 以上の晩期有害事象が認められた症例は合計 12 例 (10%) であった。また、Grade 5 (治療関連死) の有害事象は認められなかった。

毒性	Grade 3		Grade 4	
	数	%	数	%
急性期				
血液学的毒性				
白血球減少	42	34%	4	3%
好中球減少	28	22%	3	2%
発熱性好中球減少症	3	2%		
貧血	26	21%	3	2%
血小板減少	8	6%	4	3%
非血液学的毒性				
急性腎不全	1	1%		
低ナトリウム血症			1	1%
低カリウム血症	1	1%	1	1%
低カルシウム血症			2	2%
低マグネシウム血症	1	1%		
直腸膣瘻			2	2%
膀胱膣瘻			4	3%
晩期				
消化管毒性				
小腸穿孔			4	3%
結腸穿孔			1	1%
直腸膣瘻			1	1%
直腸炎(直腸出血)	2	2%		
腸閉塞	2	2%	3	2%
小腸出血	1	1%		
泌尿生殖器毒性				
腎不全	1	1%		
膀胱炎(膀胱出血)	1	1%	1	1%

表 5-7 有害事象

5.5 再発様式

初期効果および再発様式を図 5-15 に示す。125 例中、111 例（89%）において CR が得られた。一方、14 例（11%）は CR に至らず、残存あるいは治療中増悪となった（non-CR）。14 例の non-CR 症例は、解析日までに全例が原病死し、その MST は 12.0（95% CI : 7.8~14.5）ヶ月であった。

CR に至った 111 例のうち、35 例（32%）が経過観察中に再発した。再発までのインターバルは、35 例の中央値が 9.3 ヶ月、範囲が 5.6~37.9 ヶ月、また、24 例（69%）で 1 年以内であり、2 年を超えていたのはわずか 3 例（8.6%）であった。再発からの MST は 16.4（95% CI : 11.2~24.2）ヶ月であった。初回再発部位は、照射野内 9 例、照射野外 19 例、照射野内外 7 例であった。

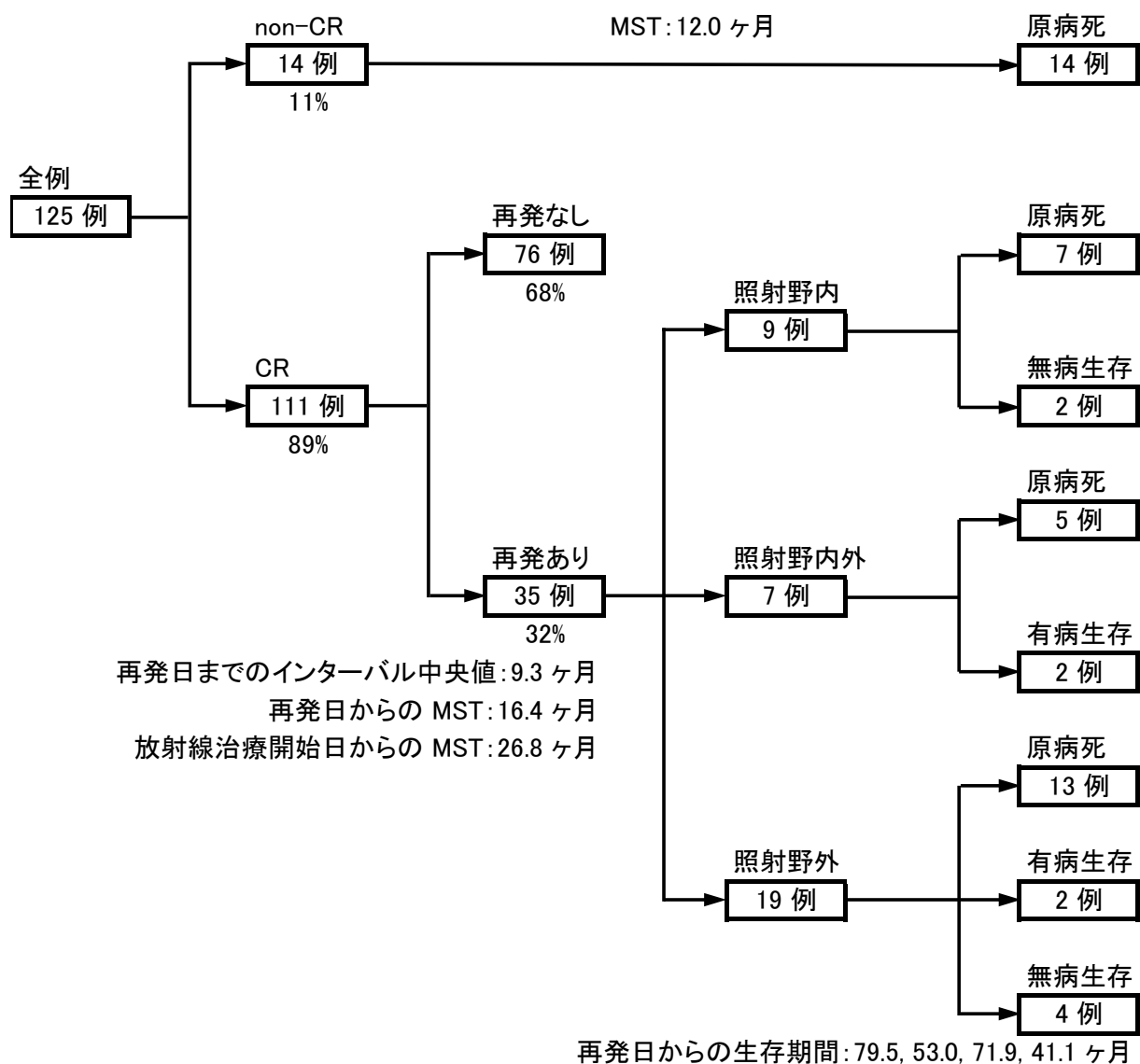


図 5-15 再発様式

略称 : non-CR = non-complete response (非完全奏功) , CR = complete response (完全奏功) , MST = median survival time (生存期間中央値) .

5.6 再発部位の詳細

non-CR 症例の残存／増悪部位および CR 後再発症例の再発部位の詳細を述べる。

14 例の non-CR 症例の残存／増悪部位の詳細を表 5-8 に示す。8 例では、照

照射野内の病変、特に局所病変が残存していた（そのうち 3 例では同時に遠隔転移が出現していた）。残りの 6 例では、照射野内の病変は消退したが、遠隔転移が出現していた（そのうち、新出の孤立性 PALN 転移は 2 例にみられた）。遠隔転移が出現した 9 例（照射野内病変残存かつ遠隔転移出現 3 例と、照射野内病変消退かつ遠隔転移出現 6 例）では、1 例が放射線単独治療、8 例が CRT を受けていた。non-CR 症例では、全例が FIGO IIB～IVA 期の局所進行期で、比較的若年の症例が目立っていた（年齢中央値：54.5 歳）。CR 症例と non-CR 症例の臨床病理学的背景因子の比較を表 5-9 に示す。non-CR 症例では、骨盤内リンパ節転移（陽性 vs. 陰性、 $P=0.0020$ ）、PALN 転移（陽性 vs. 陰性、 $P=0.024$ ）、最大腫瘍径（ $> 4\text{ cm}$ vs. $\leq 4\text{ cm}$ 、 $P=0.0020$ ）、治療前ヘモグロビン値（ $\leq 10\text{ g/dL}$ vs. $> 10\text{ g/dL}$ 、 $P=0.0006$ ）において、予後不良因子が有意に多く含まれていた。non-CR 症例では全例が原病死した。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT ／RT	骨盤内 リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 増悪まで の期間 (月)	残存／増悪部位				救済 治療	全生存		転帰
									局所	骨盤内リンパ節	PALN	遠隔(部位)		増悪 から	RT 開始 から	
56	扁平上皮癌	IIIB	CRT			4.6	9.4	4.3				肺	BSC	8.7	13.0	原病死
39	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		6.8	9.2	4.4	局所	閉鎖(頭側)(既)	PALN(新)	肺, 腎	CTx	3.4	7.8	原病死
69	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		6.2	11.2	4.0			PALN(新)		BSC	1.4	5.3	原病死
63	扁平上皮癌	IIIB	CRT			7.0	12.5	2.1				骨	RT	12.4	14.5	原病死
53	扁平上皮癌	IVA	CRT	+	+	7.8	11.9	0.9				副腎	BSC	12.1	13.0	原病死
38	扁平上皮癌	IIIB	RT			5.8	4.7	2.2			PALN(新)		S + CRT	8.8	11.0	原病死
76	腺癌	IIB	CRT	+		4.8	12.2	3.2	局所				BSC	0.9	4.0	原病死
51	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	8.2	9.0	33.2	局所				BSC	2.4	35.5	原病死
71	腺癌	IIIB	CRT			6.5	10.2	39.5	局所			肺	BSC	49.6	89.2	原病死
57	扁平上皮癌	IVA	CRT	+	+	8.0	10.0	2.9				リンパ節	CRT	19.0	21.9	原病死
28	扁平上皮癌	IIB	CRT	+	+	6.3	9.2	3.4	局所	内腸骨(既), 閉鎖(頭側)(既)			BSC	4.4	7.8	原病死
44	扁平上皮癌	IIB	CRT	+		5.8	12.4	3.2	局所	閉鎖(頭側)(既)			CTx	10.3	13.5	原病死
81	扁平上皮癌	IVA	RT	+		6.3	9.7	1.0	局所				BSC	9.7	10.7	原病死
40	扁平上皮癌	IVA	CRT	+	+	9.0	9.2	5.3	局所			肝, 骨, リンパ節	CTx	3.0	8.3	原病死
M: 54.5				R: 71%	R: 36%	M: 6.4	M: 9.9	M: 3.3						M: 8.8	M: 12.0	

表 5-8 non-CR 症例の残存／増悪部位の詳細

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節), (既) = 既存, (新) = 新出, BSC = best supportive care (支持療法), CTx = chemotherapy (化学療法), S = surgery (手術療法). 中央値 (M) または陽性率 (R) を最下行に示す.

因子		CR	non-CR	P 値
年齢(歳)	<40	15 例	3 例	0.42
	≥40	96 例	11 例	
FIGO 病期	IB～II	51 例	3 例	0.094
	III～IVA	60 例	11 例	
骨盤内リンパ節転移	陰性	80 例	4 例	0.0020
	陽性	31 例	10 例	
PALN 転移	陰性	99 例	9 例	0.024
	陽性	12 例	5 例	
最大腫瘍径(cm)	≤4	46 例	0 例	0.0020
	>4	65 例	14 例	
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	≤10	15 例	8 例	0.0006
	>10	96 例	6 例	
病理組織型	扁平上皮癌	94 例	12 例	1.00
	非扁平上皮癌	17 例	2 例	
CRT／RT	CRT	90 例	12 例	1.00
	RT	21 例	2 例	
腫瘍線量(GyEQD ₂)	<63.9	56 例	4 例	0.16
	≥63.9	55 例	10 例	
RT 期間(日)	≤56	100 例	11 例	0.19
	>56	11 例	3 例	

表 5-9 CR 症例と non-CR 症例との臨床病理学的背景因子の比較

略称：CR = complete response（完全奏功），non-CR = non-complete response（非完全奏功），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節），CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療）。

次に 9 例の CR 後照射野内再発症例の再発部位の詳細を表 5-10 に示す。全例が局所進行期であった。腫瘍線量は決して低くなかった（腫瘍線量中央値：照射野内再発症例 69.2 GyEQD₂, 無再発症例 62.1 GyEQD₂）が、全例で局所再発がみられた。興味深いことに、骨盤内リンパ節単独の再発はみられなかった（図 5-16）。また、PALN 照射後の PALN 再発はみられなかった。照射野内再発症例のうち、局所単独再発の 2 例が手術により救済された。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT ／RT	骨盤内リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 再発まで の期間 (月)	初回再発部位			救済 治療	全生存		転帰
									局所	骨盤内リンパ節	PALN		増悪 から	RT 開始 から	
67	扁平上皮癌	IIIB	CRT			7.0	13.5	10.9	局所			CTx	28.8	39.6	原病死
65	腺癌	IIIB	CRT			4.8	13.1	12.0	局所			CTx	8.8	20.7	原病死
66	扁平上皮癌	IIIB	RT	+		3.0	11.2	6.3	局所			BSC	16.4	22.7	原病死
72	扁平上皮癌	IVA	CRT	+	+	8.0	10.0	6.0	局所			CTx	13.5	19.5	原病死
72	扁平上皮癌	IVA	CRT			7.7	9.2	7.9	局所			BSC	9.2	17.1	原病死
79	扁平上皮癌	IIIB	CRT			5.9	12.2	13.8	局所	閉鎖(頭側)(新)		BSC	10.6	24.4	原病死
72	扁平上皮癌	IIB	RT			3.7	9.7	10.9	局所			S	50.5	61.4	無病生存
62	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		5.0	10.5	14.1	局所			S	31.6	45.7	無病生存
44	扁平上皮癌	IVA	CRT			3.5	11.9	13.8	局所			CTx	14.6	28.4	原病死
M:67				R:33%	R:11%	M:5.0	M:11.2	M:10.9					M:14.6	M:24.4	

表 5-10 CR 後照射野内再発症例の再発部位の詳細

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節), (新) = 新出, CTx = chemotherapy (化学療法), BSC = best supportive care (支持療法), S = surgery (手術療法). 中央値 (M) または陽性率 (R) を最下行に示す.

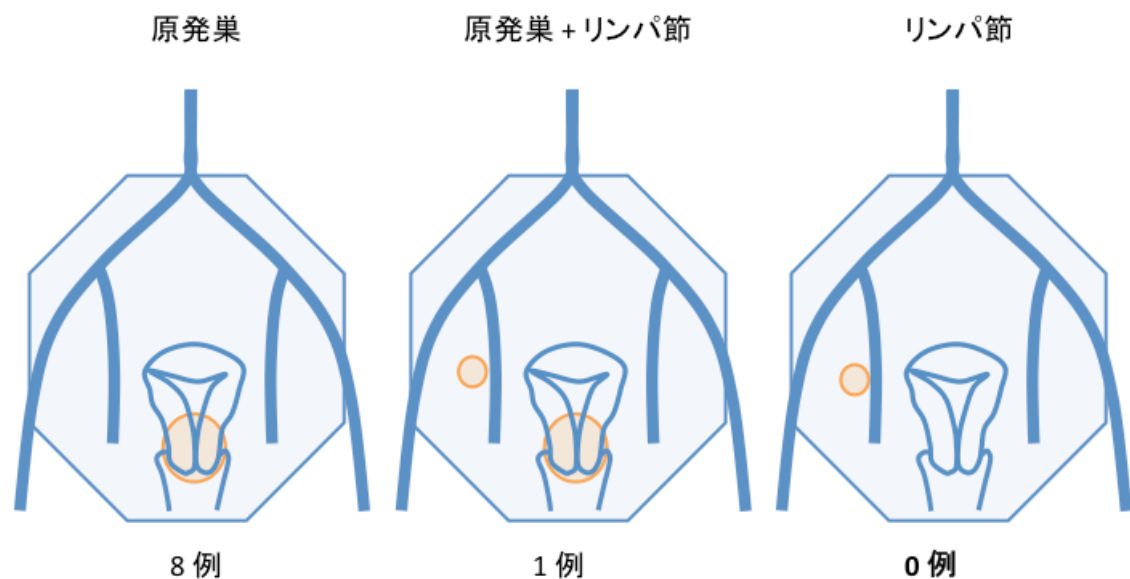


図 5-16 照射野内再発部位

全例に局所再発がみられた。骨盤内リンパ節単独の再発はみられなかった。

19 例の CR 後照射野外再発症例の再発部位の詳細を表 5-11、図 5-17 に示す。

19 例のうち、3 例が放射線単独治療、16 例が CRT を受けていた。最も多くみられた部位は肺であった（11 例（58%））。PALN の oligo-recurrence を来した症例は 2 例のみであった。照射野外再発症例のうち、4 例が救済され、解析時点で無病生存していた；肺の oligo-recurrence の 3 例が手術もしくは定位放射線治療により救済され、縦隔リンパ節の oligo-recurrence の 1 例が CRT により救済された。それぞれ生存期間は 53.0、71.9、41.1、79.5 ヶ月であった。また、照射野外再発症例 19 例のうち、引き続き照射野内にも再発が生じたのはわずか 4 例で、いずれも初回再発から 1 年以内であった。つまり、残りの 15 例では、照射野内は長期間制御され、照射野外再発のみが問題となっていた。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT /RT	骨盤内リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 再発まで の期間 (月)	初回再発部位		救済 治療	全生存		転帰
									PALN	遠隔(部位)		増悪 から	RT 開始 から	
61	扁平上皮癌	IIIB	CRT			5.0	14.3	8.7		肺	CTx	11.5	20.2	原病死
51	扁平上皮癌	IIIB	CRT			5.7	10.8	6.5	PALN(新)	肺	CTx	21.7	28.2	原病死
44	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	5.2	10.6	9.3		リンパ節	CRT	13.7	23.0	原病死
48	扁平上皮癌	IIIB	RT	+		5.3	7.4	9.3		肺	CTx	8.1	17.4	原病死
72	扁平上皮癌	IB1	RT			3.0	9.6	6.4		肺	BSC	5.7	12.2	原病死
57	扁平上皮癌	IIIB	CRT			7.0	12.8	10.7	PALN(新)		CTx	49.1	59.8	原病死
65	扁平上皮癌	IVA	CRT	+	+	9.0	7.1	6.5		脾, 腹膜	CTx	20.3	26.8	原病死
61	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	4.7	10.5	15.9		リンパ節	CRT	79.5	95.4	無病生存
77	扁平上皮癌 + 腺癌	IIIB	CRT	+		5.0	11.4	16.6	PALN(新)		RT	6.8	23.3	原病死
59	扁平上皮癌	IIB	CRT	+		6.4	10.4	31.6		肺	RT	53.0	84.6	無病生存
58	扁平上皮癌	IIIA	CRT	+		6.3	12.1	11.5		肺	S	71.9	83.4	無病生存
62	扁平上皮癌	IIB	CRT			4.7	11.0	7.6	PALN(新)	肝, リンパ節	CTx	11.2	18.8	原病死
77	扁平上皮癌	IIB	RT	+	+	7.6	6.7	7.9		肺	BSC	6.4	14.3	原病死
44	扁平上皮癌	IIB	CRT			5.5	11.7	7.5		肺	CTx	21.6	29.1	原病死
64	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	4.0	13.9	11.5		リンパ節	CTx	12.5	24.0	原病死
33	扁平上皮癌	IB2	CRT			4.2	12.3	8.3		肺	S + CTx	41.1	49.5	無病生存
70	扁平上皮癌	IVA	CRT			6.5	9.9	28.0		リンパ節	CTx	18.3	46.3	有病生存
63	扁平上皮癌 + 腺癌	IIIA	CRT			6.5	11.5	6.1	PALN(新)	肺	CTx	6.4	12.5	原病死
38	扁平上皮癌	IB2	CRT			4.6	12.1	7.9		肺	不明	11.2	19.1	有病生存
M:61				R:47%	R:26%	M:5.3	M:11.0	M:8.7				M:20.3	M:26.8	

表 5-11 CR 後照射野外再発症例の再発部位の詳細

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法）, RT = radiation therapy（放射線治療）, PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節）,（新） = 新出, CTx = chemotherapy（化学療法）, BSC = best supportive care（支持療法）, S = surgery（手術療法）。中央値（M）または陽性率（R）を最下行に示す。

肺が最多 (肺のみ／肺+他)

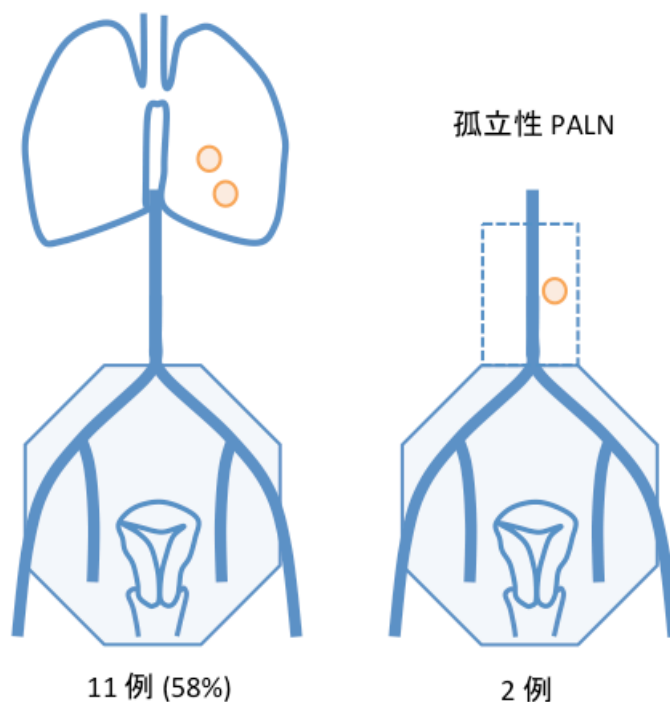


図 5-17 照射野外再発部位

最多部位は肺．孤立性 PALN 再発は 2 例と少なく、点線で囲われた範囲の拡大予防照射の利益は不明．照射野外単独再発のほとんどが、観察終了日まで照射野内は制御されたままであった．略称：PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節）．

7 例の CR 後照射野内外再発症例の再発部位の詳細を表 5-12 に示す。7 例の

うち、5 例は原病死した。残りの 2 例は、再発後救済化学療法中であった。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT ／RT	骨盤内リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 再発まで の期間 (月)	最終の 画像検査 から 再発までの 期間(月)	初回再発部位				救済 治療	全生存		転帰
										局所	骨盤内リンパ節	PALN	遠隔(部位)		増悪 から	RT 開始 から	
47	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		6.5	9.3	14.3	0.6	局所			肝	BSC	3.3	17.5	原病死
53	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		7.2	12.7	8.5	6.5		内腸骨(新), 閉鎖(頭側)(既)	PALN(新)		CTx	9.3	17.8	原病死
50	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	3.8	12.1	7.8	1.3	局所			リンパ節	RT	24.2	32.0	原病死
64	腺癌	IB2	CRT			4.6	13.1	14.6	5.0	局所		PALN(新)		BSC	30.2	44.8	原病死
42	腺癌	IIIB	CRT	+	+	6.0	13.3	5.6	2.6		総腸骨(既)		肺, 腹膜	CTx	17.7	23.3	原病死
73	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+	+	5.0	12.0	37.9	3.6			PALN(既, 新)	胸膜	CTx	5.5	43.4	有病生存
68	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		5.0	13.5	18.5	10.6		閉鎖(頭側)(新)	PALN(新)		CTx	6.1	24.6	有病生存
M:53				R:86%	R:43%	M:5.0	M:12.7	M:14.3							M:17.7	M:32.0	

表 5-12 CR 後照射野内外再発症例の再発部位の詳細

略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節), (新) = 新出, (既) = 既存, BSC = best supportive care (支持療法), CTx = chemotherapy (化学療法). 中央値 (M) または陽性率 (R) を最下行に示す.

残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移について述べる。治療前、125 例のうち 41 例が骨盤内リンパ節陽性、84 例が陰性であった。陽性 41 例のうち、8 例はリンパ節への追加外照射を受け、残りの 33 例は受けなかった（陽性 41 例のリンパ節の線量中央値は 49.6 GyEQD₂）。追加外照射を受けた 8 例のうち 2 例、受けなかった 33 例のうち 4 例で、残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移を来した。一方、陰性 84 例のうち、1 例で初回再発としての骨盤内リンパ節転移を来した。従って、残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移を来したのは、合計 7 例（125 例の 5.6%）であった（図 5-18）。

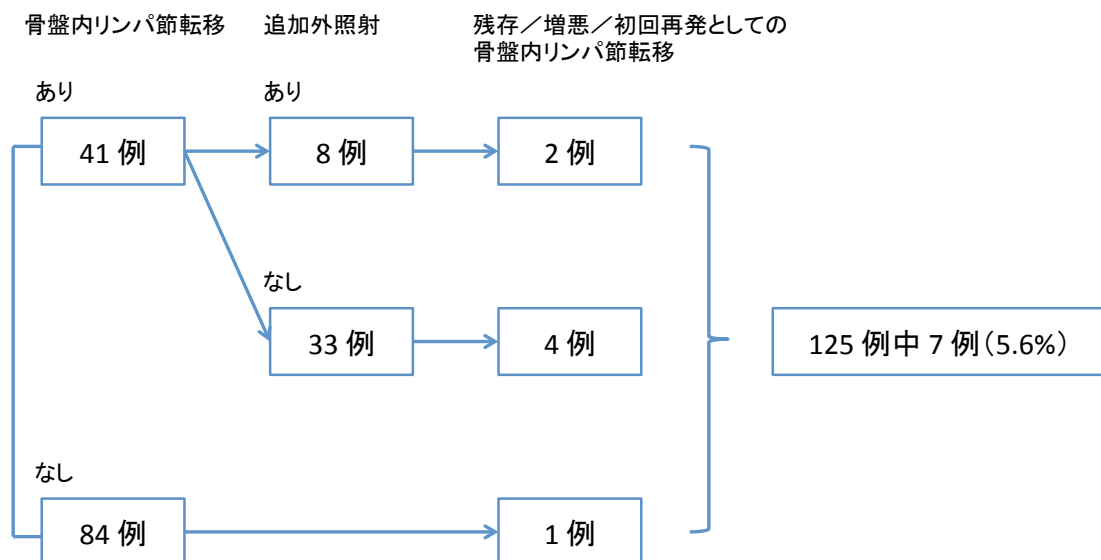


図 5-18 残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移を来した症例数

重要なことに、これら 7 例すべてにおいて、骨盤内リンパ節転移は孤立性病変ではなく、同時性他病変が存在していた（表 5-13）。また、残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移の部位は、閉鎖領域頭側（7 例中 6 例）に最も多く、総腸骨、内腸骨領域にも認められた。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT／ RT	骨盤内リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 増悪／ 再発まで の期間 (月)	残存／増悪／初回再発部位				救済 治療	全生存		転帰
									局所	骨盤内リンパ節	PALN	遠隔(部位)		増悪 から	RT 開始 から	
non-CR																
39	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		6.8	9.2	4.4	局所	閉鎖(頭側)(既)	PALN(新)	肺, 腎	CTx	3.4	7.8	原病死
28	扁平上皮癌	IIB	CRT	+	+	6.3	9.2	3.4	局所	内腸骨(既), 閉鎖(頭側)(既)			BSC	4.4	7.8	原病死
44	扁平上皮癌	IIB	CRT	+		5.8	12.4	3.2	局所	閉鎖(頭側)(既)			CTx	10.3	13.5	原病死
照射野内再発																
79	扁平上皮癌	IIIB	CRT			5.9	12.2	13.8	局所	閉鎖(頭側)(新)			BSC	10.6	24.4	原病死
照射野内外再発																
53	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		7.2	12.7	8.5		内腸骨(新), 閉鎖(頭側)(既)	PALN(新)		CTx	9.3	17.8	原病死
42	腺癌	IIIB	CRT	+	+	6.0	13.3	5.6		総腸骨(既)		肺, 腹膜	CTx	17.7	23.3	原病死
68	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		5.0	13.5	18.5		閉鎖(頭側)(新)	PALN(新)		CTx	6.1	24.6	有病生存

表 5-13 残存／増悪／初回再発として骨盤内リンパ節転移を来した症例の詳細

残存／増悪／初回再発として骨盤内リンパ節転移を来した症例は 125 例中 7 例。7 例すべてにおいて骨盤内リンパ節転移は孤立性病変ではなく，同時性他病変が存在していた。略称：FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法)，RT = radiation therapy (放射線治療)，PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節)，non-CR = non-complete response (非完全奏功)，(既) = 既存, (新) = 新出, CTx = chemotherapy (化学療法)，BSC = best supportive care (支持療法)。

残存／増悪／初回再発としての孤立性 PALN 転移について述べる。治療前 PALN 転移陽性の 17 例では、残存／増悪／初回再発としての孤立性 PALN 転移は認められなかった。17 例のうち 1 例で、初回再発としての PALN 転移が認められたが、孤立性でなく、同時性他病変も存在しており、他の 16 例では、残存／増悪／初回再発としての PALN 転移は認められなかった。一方、治療前 PALN 転移陰性の 108 例では、増悪として 2 例、初回再発として 2 例、合計 4 例（108 例の 3.7%）で、増悪／初回再発としての孤立性 PALN 転移が認められた（図 5-19, 表 5-14）。

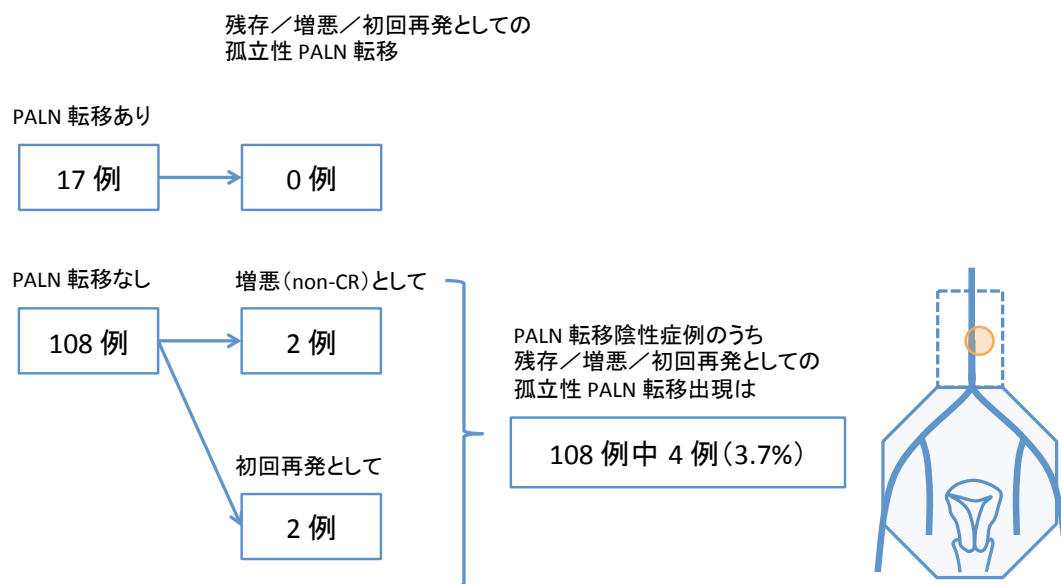


図 5-19 残存／増悪／初回再発としての孤立性 PALN 転移を来した症例数

略称：PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節），non-CR = non-complete response（非完全奏功）。

年齢 (歳)	病理組織型	FIGO 病期	CRT ／RT	骨盤内リンパ節 転移	PALN 転移	最大 腫瘍径 (cm)	治療前 ヘモグロ ビン値 (g/dL)	RT から 増悪／ 再発まで の期間 (月)	残存／増悪／初回再発部位				救済 治療	全生存		転帰
									局所	骨盤内リンパ節	PALN	遠隔(部位)		増悪 から	RT 開始 から	
non-CR																
69	扁平上皮癌	IIIB	CRT	+		6.2	11.2	4.0			PALN(新)		BSC	1.4	5.3	原病死
38	扁平上皮癌	IIIB	RT			5.8	4.7	2.2			PALN(新)		S + CRT	8.8	11.0	原病死
照射野外再発																
57	扁平上皮癌	IIIB	CRT			7.0	12.8	10.7			PALN(新)		CTx	49.1	59.8	原病死
77	扁平上皮癌 + 腺癌	IIIB	CRT	+		5.0	11.4	16.6			PALN(新)		RT	6.8	23.3	原病死

表 5-14 残存／増悪／初回再発として孤立性 PALN 転移を来した症例の詳細

略称： FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), PALN = para-aortic lymph node (傍大動脈リンパ節), non-CR = non-complete response (非完全奏功), (既) = 既存, (新) = 新出, BSC = best supportive care (支持療法), CTx = chemotherapy (化学療法)。

5.7 予後因子としての long non-coding RNA の探索

5.7.1 症例の背景

対象となった 75 例は、年齢中央値 57 (範囲: 29~87) 歳、最多 FIGO 病期 IIIB 期 (28 例)、MRI T2 強調画像で計測した最大腫瘍径中央値 4.5 (範囲: 検出されず~9.7) cm であった。骨盤内リンパ節転移陽性症例が 20 例 (27%) であった。症例腫瘍背景を表 5-15 に示す。解析時、54 例 (72 %) が生存、21 例 (28 %) が死亡し、そのうち原病死が 18 例 (24 %)、他因死が 3 例 (4 %) であった。全体の観察期間中央値は 55.3 (範囲: 5.2~142.1) ヶ月であった。

背景因子	数	%
症例数	75	
年齢(歳)	29～87(中央値:57)	
FIGO 病期		
IB	13	17%
IIA	8	11%
IIB	11	15%
IIIA	8	11%
IIIB	28	37%
IVA	7	9%
骨盤内リンパ節転移		
陽性	20	27%
陰性	55	73%
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	4.7～14.8(中央値:12.1)	
最大腫瘍径(cm)	検出されず～9.7(中央値:4.5)	
CRT/RT		
CRT	56	75%
CDDP 75 mg/m ² 3 週おき 3 サイクル	19	25%
CDDP 40 mg/m ² 毎週 6 サイクル	11	15%
NDP 75～100 mg/m ² 3 週おき 3 サイクル	24	32%
その他	2	3%
RT	19	25%
RT 線量(Gy)	44.1～85.6(中央値:62.1)	
RT 期間(日)	35～89(中央値:45)	

表 5-15 症例腫瘍背景

略称 : FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), CDDP = cisplatin (シスプラチン), NDP = nedaplatin (ネダプラチン) .

5.7.2 long non-coding RNA 発現解析 (Q-PCR)

図 5-20 に、ターゲットの 1 例として、Q-PCR における 8 例 (duplicate) のサンプルの GAPDH mRNA および XIST の増幅曲線と melting peak を示す。特異的な検出が可能であったことを意味している。

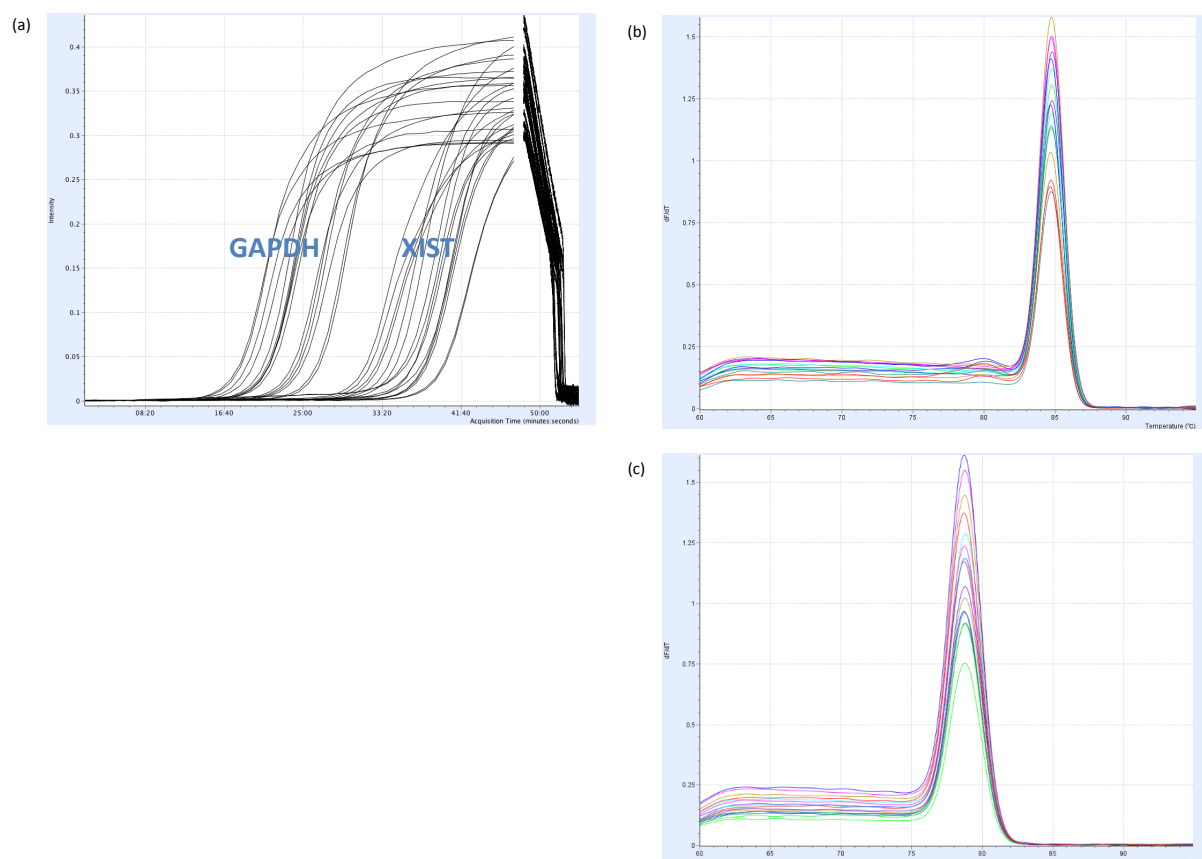


図 5-20 GAPDH mRNA, XIST の増幅曲線と melting peak

(a) GAPDH mRNA, XIST の PCR 増幅曲線. SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) による PCR では、合成された二本鎖 DNA に結合することで蛍光を発するインターカレーター (SYBR® Green I) の蛍光強度を測定することにより PCR 増幅産物の生成量をモニターしている. 縦軸が蛍光強度、横軸がサイクル数. (b) GAPDH mRNA の melting peak. PCR 反応後、反応液の温度を上昇させると、ある一定の温度 (T_m 値) で二本鎖の PCR 産物が一本鎖に解離すると共に蛍光値が急激に低下する. T_m 値は PCR 産物の長さや GC 含量により異なるので、目的の増幅産物と Primer dimer のような短い増幅産物を区別することができる (融解曲線分析). 本グラフは、蛍光値をモニタリングした元データを一次微分しプラスマイナスを反転させたグラフで、縦軸が蛍光強度、横軸が温度、蛍光強度のピーク位置が T_m 値である. シングルピークであり、特異的な検出が可能であったことを意味している. (c) XIST の melting peak. シングルピークで特異的な検出が可能であったことを意味している. 略称: GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, XIST = X inactive-specific transcript.

各 lncRNA の、コントロールサンプルの発現量を 1 とした発現量相対値の中央値は、XIST : 3.74、Tsix : 6.81、TERC : 5.52、DHFR upstream transcripts : 5.283、Air : 1.60 であった。各 lncRNA について、この発現量相対値の中央値をカットオフ値として 75 例を高発現群と低発現群に分けた OS および PFS についての単変量解析を行った。統計学的に有意傾向の認められた XIST と DHFR upstream transcripts では、複数のカットオフ値について解析を繰り返し、XIST : 3.1、DHFR upstream transcripts : 5.283 において最も統計学的有意差がついたため、このカットオフ値を採用した。OS に関する単変量解析の結果を表 5-16 に示す。

因子		数	5 年 OS(%)	P 値
年齢(歳)	<40	9	88.9 ± 10.5	0.31
	≥40	66	68.2 ± 6.2	
FIGO 病期	IB~II	32	86.9 ± 6.1	0.054
	III~IVA	43	58.4 ± 8.4	
骨盤内リンパ節転移	N0	55	72.7 ± 6.7	0.36
	N1	20	65.0 ± 10.7	
最大腫瘍径(cm)	≤4	31	90.2 ± 5.4	0.0072
	>4	44	55.4 ± 8.6	
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	≤10	12	50.0 ± 14.4	0.0083
	>10	63	75.0 ± 6.0	
CRT/RT	CRT	56	69.9 ± 6.7	0.64
	RT	19	73.7 ± 10.1	
腫瘍線量(GyEQD ₂)	<62.1	63	66.2 ± 6.6	0.12
	≥62.1	12	91.7 ± 8.0	
RT 期間(日)	≤56	68	72.0 ± 6.0	0.31
	>56	7	57.1 ± 18.7	
XIST	高発現	45	83.2 ± 5.9	0.0050
	低発現	30	50.1 ± 10.6	
Tsix	高発現	37	70.9 ± 7.9	0.93
	低発現	38	70.4 ± 8.2	
TERC	高発現	37	77.0 ± 8.0	0.16
	低発現	38	64.3 ± 8.0	
DHFR upstream transcripts	高発現	38	78.5 ± 7.4	0.087
	低発現	37	62.9 ± 8.2	
Air	高発現	37	65.6 ± 8.9	0.82
	低発現	38	75.3 ± 7.2	

表 5-16 OS に関する単変量解析

略称：OS = overall survival（全生存率），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節），CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療），XIST = X inactive-specific transcript, TERC = telomerase RNA component, DHFR = dihydrofolate reductase, Air = antisense Igf2r RNA.

5 種類の lncRNA のうち、XIST の発現量が有意に OS と相関していた。XIST 発現量を高発現群（45 例）と低発現群（30 例）に分けると、高発現群の OS が有意に良好であった。生存曲線を図 5-21 に示す。5 年 OS および MST は、高発現群 83.2 (± 5.9) %、NA、低発現群 50.1 (± 10.6) %、NA (P=0.0050) であった。

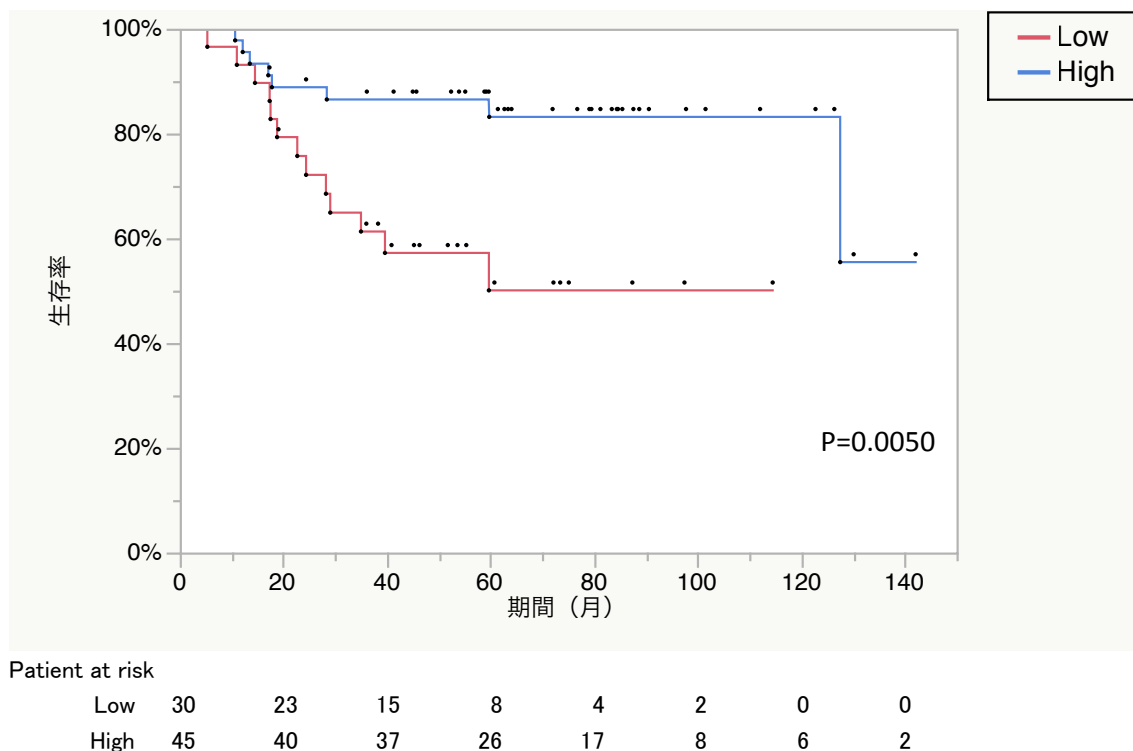


図 5-21 XIST 発現量別の OS 生存曲線

その他、最大腫瘍径 (P=0.0072)、治療前ヘモグロビン値 (P=0.0083) も OS に関する有意な予後因子となった。FIGO 病期 (P=0.054)、DHFR upstream transcripts (P=0.087) は境界域となった。続いて、PFS に関する単変量解析の結果を表 5-17 に示す。

因子		数	5 年 PFS(%)	P 値
年齢(歳)	<40	9	77.8 ± 13.9	0.56
	≥40	66	66.1 ± 5.9	
FIGO 病期	IB~II	32	77.4 ± 7.5	0.14
	III~IVA	43	60.4 ± 7.5	
骨盤内リンパ節転移	N0	55	74.0 ± 6.0	0.048
	N1	20	50.0 ± 11.9	
最大腫瘍径(cm)	≤4	31	87.1 ± 6.0	0.0031
	>4	44	53.5 ± 7.6	
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	≤10	12	33.3 ± 13.6	0.0025
	>10	63	74.2 ± 5.6	
CRT/RT	CRT	56	67.3 ± 6.3	0.89
	RT	19	68.4 ± 10.7	
腫瘍線量(GyEQD ₂)	<62.1	63	62.8 ± 6.2	0.074
	≥62.1	12	91.7 ± 8.0	
RT 期間(日)	≤56	68	68.6 ± 5.7	0.42
	>56	7	57.1 ± 18.7	
XIST	高発現	45	75.4 ± 6.4	0.057
	低発現	30	55.4 ± 9.2	
Tsix	高発現	37	64.6 ± 7.9	0.63
	低発現	38	70.4 ± 7.5	
TERC	高発現	37	75.7 ± 7.1	0.12
	低発現	38	59.4 ± 8.1	
DHFR upstream transcripts	高発現	38	81.4 ± 6.4	0.0058
	低発現	37	53.0 ± 8.3	
Air	高発現	37	70.3 ± 7.5	0.67
	低発現	38	64.8 ± 7.9	

表 5-17 PFS に関する単変量解析

略称：PFS = progression-free survival（無増悪生存率），FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, PALN = para-aortic lymph node（傍大動脈リンパ節），CRT = chemoradiation therapy（化学放射線療法），RT = radiation therapy（放射線治療），XIST = X inactive-specific transcript, TERC = telomerase RNA component, DHFR = dihydrofolate reductase, Air = antisense Igf2r RNA.

XIST の発現量による有意性は境界域となった。生存曲線を図 5-22 に示す。5 年 PFS および無増悪生存期間中央値は、高発現群 75.4 (± 6.4) %、NA、低発現群 55.4 (± 9.2) %、NA であった ($P=0.057$)。

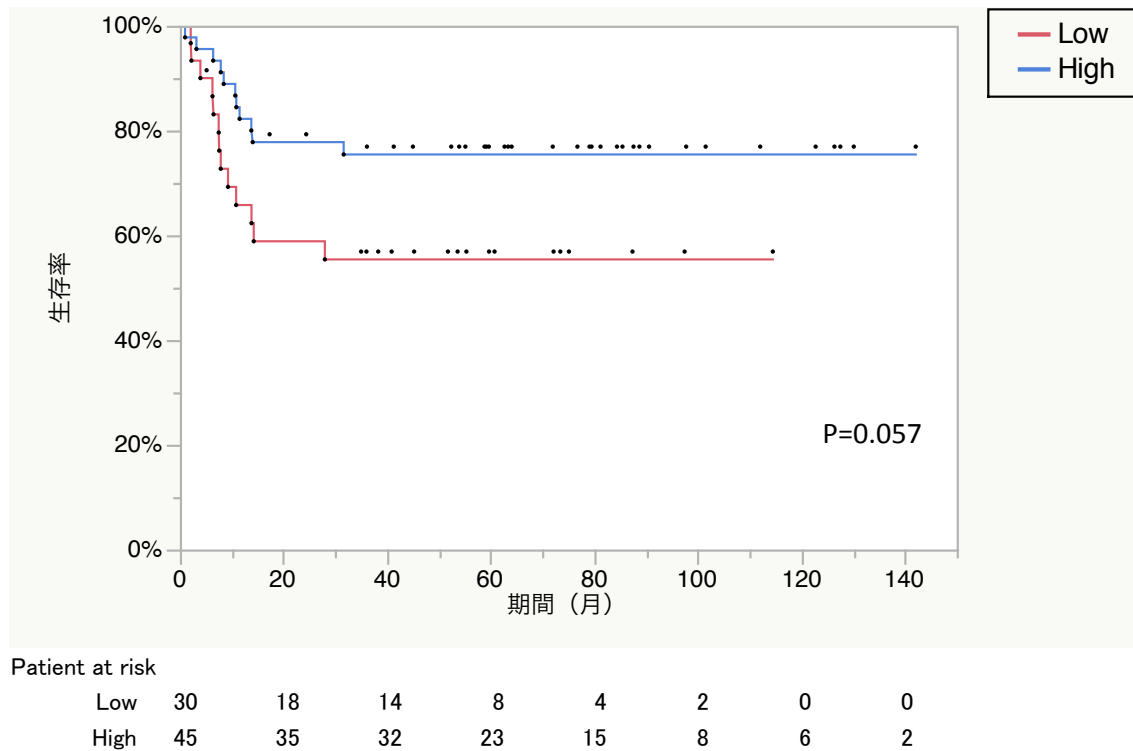


図 5-22 XIST 発現量別の PFS 生存曲線

一方、DHFR upstream transcripts の発現量が PFS に有意に関連していた。生存曲線を図 5-23 に示す。5 年 PFS および無増悪生存期間中央値は、高発現群 81.4 (± 6.4) %、NA、低発現群 53.0 (± 8.3) %、NA であった ($P=0.0058$)。

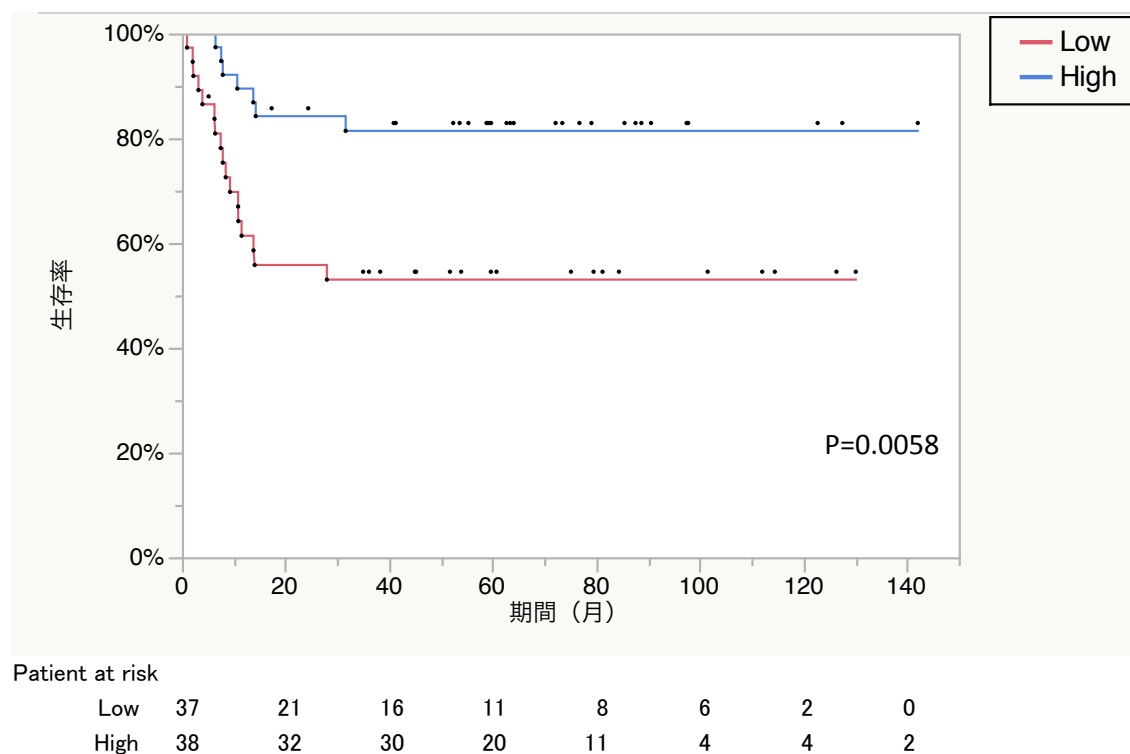


図 5-23 DHFR upstream transcripts 発現量別の PFS 生存曲線

その他、骨盤内リンパ節転移 ($P=0.048$)、最大腫瘍径 ($P=0.0031$)、治療前ヘモグロビン値 ($P=0.0025$) も PFS に関する有意な予後因子となった。他の lncRNA である、Tsix (OS : $P=0.93$ 、PFS : $P=0.63$)、TERC (OS : $P=0.16$ 、PFS : $P=0.12$)、Air (OS : $P=0.82$ 、PFS : $P=0.67$) はいずれも OS、PFS とともに予後との相関は見られなかった (図 5-24)。

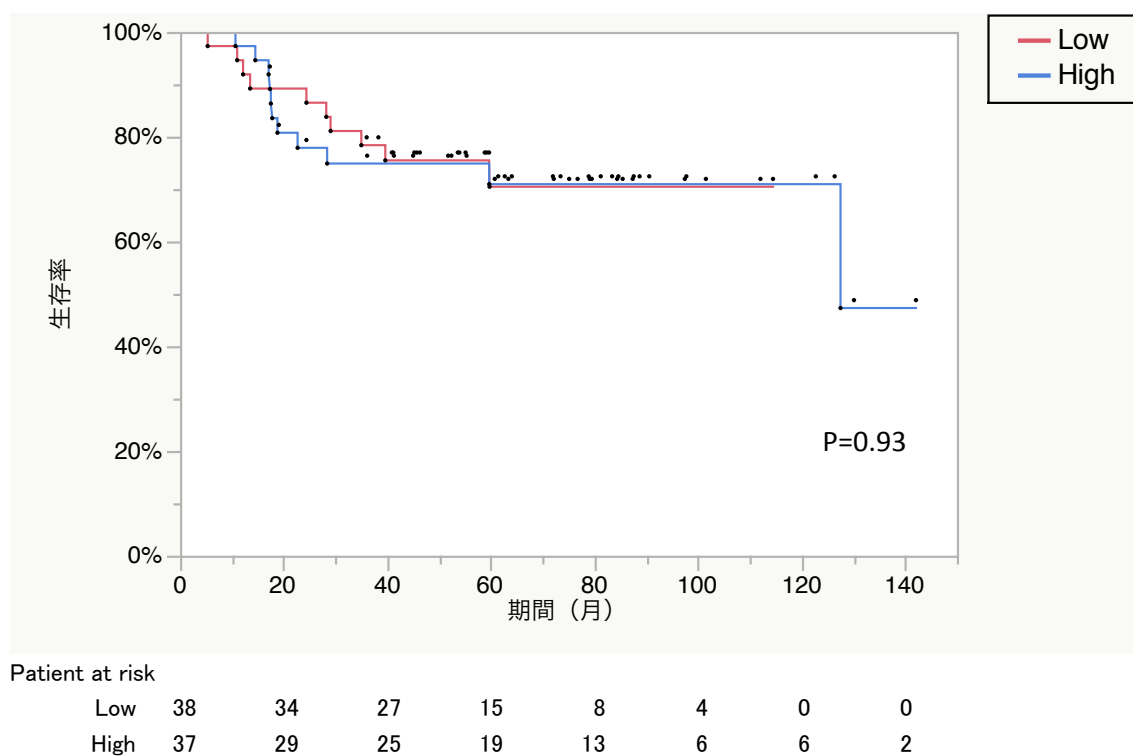


図 5-24 Tsix 発現量別の OS 生存曲線

次に、XIST 高発現群と低発現群とで、臨床病理学的背景因子に差があるかど

うか、カイ二乗検定および Fisher の正確検定を行った (表 5-18)。

因子		XIST		P 値
		高発現 (45 例)	低発現 (30 例)	
年齢(歳)	<40	5 例	4 例	1.00
	≥40	40 例	26 例	
FIGO 病期	IB~II	22 例	10 例	0.18
	III~IVA	23 例	20 例	
骨盤内リンパ節転移	N0	31 例	24 例	0.29
	N1	14 例	6 例	
最大腫瘍径(cm)	≤4	24 例	7 例	0.0097
	>4	21 例	23 例	
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	≤10	6 例	6 例	0.53
	>10	39 例	24 例	
CRT/RT	CRT	30 例	26 例	0.062
	RT	15 例	4 例	
腫瘍線量(GyEQD ₂)	<62.1	34 例	29 例	0.022
	≥62.1	11 例	1 例	
RT 期間(日)	≤56	44 例	24 例	0.015
	>56	1 例	6 例	
DHFR upstream transcripts	高発現	27 例	11 例	0.048
	低発現	18 例	19 例	

表 5-18 XIST 発現量と各背景因子とのカイ二乗検定または Fisher の正確検定
 略称 : XIST = X inactive-specific transcript, FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), DHFR = dihydrofolate reductase.

最大腫瘍径、腫瘍線量、放射線治療期間、DHFR upstream transcripts 発現量との検

定で $P < 0.05$ となった。また、CRT か RT かの検定で $P = 0.062$ と境界域となった。それぞれ、Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析を行った (表 5-19)。

いずれの組み合わせにおいても XIST の有意性が残った。

因子	P 値	HR	95% CI
XIST と最大腫瘍径			
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.032	2.73	1.09 ~ 7.45
最大腫瘍径 (cm) (≤ 4 vs. > 4)	0.026	3.21	1.14 ~ 11.4
XIST と CRT/RT			
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.0027	4.33	1.65 ~ 12.42
CRT/RT (CRT vs. RT)	0.18	2.08	0.70 ~ 5.57
XIST と腫瘍線量			
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.018	3.01	1.21 ~ 8.22
腫瘍線量 (GyEQD ₂) (< 62.1 vs. ≥ 62.1)	0.25	2.83	0.55 ~ 51.94
XIST と RT 期間			
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.010	3.41	1.34 ~ 9.34
RT 期間 (日) (≤ 56 vs. > 56)	0.86	1.12	0.25 ~ 3.53
XIST と DHFR upstream transcripts			
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.014	3.14	1.26 ~ 8.52
DHFR upstream transcripts (高発現 vs. 低発現)	0.22	1.74	0.72 ~ 4.48

表 5-19 XIST 発現量と他の変量との Cox 比例ハザードモデルのあてはめ

略称 : HR = hazard ratio (ハザード比), CI = confidence interval (信頼区間), XIST = X inactive-specific transcript, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), DHFR = dihydrofolate reductase.

同様に、DHFR upstream transcripts 高発現群と低発現群とで、臨床病理学的背景因子に差があるかどうか、カイ二乗検定および Fisher の正確検定を行った (表 5-20)。

因子		DHFR upstream transcripts		P 値
		高発現 (38 例)	低発現 (37 例)	
年齢(歳)	<40	4 例	5 例	0.74
	≥40	34 例	32 例	
FIGO 病期	IB~II	19 例	13 例	0.19
	III~IVA	19 例	24 例	
骨盤内リンパ節転移	N0	29 例	26 例	0.55
	N1	9 例	11 例	
最大腫瘍径(cm)	≤4	20 例	11 例	0.044
	>4	18 例	26 例	
治療前ヘモグロビン値(g/dL)	≤10	3 例	9 例	0.065
	>10	35 例	28 例	
CRT/RT	CRT	30 例	26 例	0.39
	RT	8 例	11 例	
腫瘍線量(GyEQD ₂)	<62.1	33 例	30 例	0.50
	≥62.1	5 例	7 例	
RT 期間(日)	≤56	36 例	32 例	0.26
	>56	2 例	5 例	
XIST	高発現	27 例	18 例	0.048
	低発現	11 例	19 例	

表 5-20 DHFR upstream transcripts 発現量と各背景因子とのカイ二乗検定または Fisher の正確検定

略称 : DHFR = dihydrofolate reductase, FIGO = International Federation of Gynecology and Obstetrics, CRT = chemoradiation therapy (化学放射線療法), RT = radiation therapy (放射線治療), XIST = X inactive-specific transcript.

最大腫瘍径、XIST 発現量との検定で $P<0.05$ となった。また、治療前ヘモグロビン値との検定で $P=0.065$ と境界域となった。それぞれ、Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析を行った（表 5-21）。いずれの組み合わせにおいても DHFR upstream transcripts の有意性は認められなかった。

因子	P 値	HR	95% CI
DHFR upstream transcripts と最大腫瘍径			
DHFR upstream transcripts (高発現 vs. 低発現)	0.21	1.77	0.73~4.55
最大腫瘍径 (cm) (≤ 4 vs. > 4)	0.011	3.67	1.33~12.95
DHFR upstream transcripts と治療前ヘモグロビン値			
DHFR upstream transcripts (高発現 vs. 低発現)	0.25	1.72	0.69~4.51
治療前ヘモグロビン値 (g/dL) (≤ 10 vs. > 10)	0.061	2.80	0.95~7.43
DHFR upstream transcripts と XIST			
DHFR upstream transcripts (高発現 vs. 低発現)	0.22	1.74	0.72~4.48
XIST (高発現 vs. 低発現)	0.014	3.14	1.26~8.52

表 5-21 DHFR upstream transcripts 発現量と他の変量との Cox 比例ハザードモデルのあてはめ

略称：HR = hazard ratio (ハザード比), CI = confidence interval (信頼区間), DHFR = dihydrofolate reductase, XIST = X inactive-specific transcript.

OS に関する多変量解析の結果を表 5-22 に示す。XIST 発現量の OS への影響が有意である可能性があった。XIST 発現量が予後推測因子となる可能性が示唆された。

因子		P 値	HR	95% CI
最大腫瘍径 (cm)	≤4	0.064	2.78	0.95～10.10
	>4			
治療前ヘモグロビン値 (g/dL)	≤10	0.12	2.28	0.78～5.94
	>10			
XIST	高発現	0.045	2.59	1.02～7.13
	低発現			

表 5-22 OS に関する多変量解析

略称：HR = hazard ratio (ハザード比), CI = confidence interval (信頼区間), XIST = X inactive-specific transcript.

6 考察

東京大学医学部附属病院放射線科では、子宮頸癌の放射線治療において、2001 年に腔内照射時の CT 撮像および CRT を導入して以降、2014 年までに 300 例余りの根治的放射線治療を施してきた。今回、125 例の FIGO IB～IVA 期（III～IVA 期が全体の 56%）、生存例の観察期間中央値 64.1 ヶ月の解析において、5 年 OS は、I 期 87.5%、II 期 76.8%、III 期 55.3%、IVA 期 42.8%、5 年 PFS は、I 期 85.2%、II 期 69.4%、III 期 50.5%、IVA 期 35.7% であった。PALN 転移陰性症例に限ると、2 年 OS 82.1%、5 年 OS 71.0%、2 年 PFS 70.1%、5 年 PFS 67.1% であった。また、Grade 3 以上の晩期有害事象をみると、各有害事象が発生したのはいずれも 5 例（4%）以下であった（最も多かったのは腸閉塞（5 例（4%））、次いで小腸穿孔（4 例（3%））が、全体では 12 例（10%）（そのうち 5 例では複数の有害事象が発生）にのぼっていた。他の報告をみると、日本で行われた、婦人科悪性腫瘍研究機構（Japanese Gynecologic Oncology Group（JGOG））の、局所進行子宮頸癌に対する高線量率腔内照射を用いた同時化学放射線療法に関する多施設共同第 II 相試験（JGOG 1066）では、71 例の FIGO III～IVA 期（PALN 転移陽性症例は除外）の観察期間中央値 28 ヶ月の解析で、2 年 OS が 90%、2 年 PFS が 66%、2 年の Grade 3 以上の晩期有害事象発生率が 3% であった [69]。JGOG 1066 では、PALN 転移陰性であること、治療前ヘモグロビン値が 10 g/dL 以上であること、などの適格規準が設けられていた。後ろ向き研究では、Teh らが、120 例（全例が CRT）の FIGO IB2～IVA 期（III～IVA

期が全体の 40%) (PALN 転移陽性症例も含む) の観察期間中央値 50 ヶ月の解析で、5 年 OS 65.0%、5 年無病生存率 57.3%、Grade 3 以上の晩期有害事象が 4% であったと報告している [32]。Chen らは、70 例 (全例が CRT) の FIGO IIB~III 期 (III 期が全体の 31%) (PALN 転移陽性症例は除外) の観察期間中央値 43 ヶ月の解析で、4 年 OS 74%、Grade 3 以上の晩期有害事象が 14.3% であったと報告している [34]。Parker らは、92 例 (全例が CRT) の FIGO IB~IVA 期 (III~IVA 期が全体の 29%) (PALN 転移陽性症例も含む) の観察期間中央値 26 ヶ月の解析で、5 年 OS 55%、Grade 3 以上の晩期有害事象が 4% であったと報告している [33]。Anker らは、65 例 (92%が CRT) の FIGO IB~IVA 期 (III~IVA 期が全体の 20%) (PALN 転移陽性症例も含む) の観察期間中央値 25 ヶ月の解析で、3 年 OS 97%、3 年無病生存率 76%、3 年の Grade 3 以上の晩期有害事象発生率が 17% であったと報告している [103]。

臨床病理学的予後因子の解析では、OS に関して、FIGO 病期、骨盤内リンパ節転移、PALN 転移、最大腫瘍径、治療前ヘモグロビン値が有意な予後因子となった。このうち、多変量解析では、治療前ヘモグロビン値と最大腫瘍径が独立予後因子であった。治療前ヘモグロビン値は、OS の他、PFS、照射野内 PFS においても、また最大腫瘍径は、OS の他、PFS、照射野外 PFS においても独立予後因子であった。

貧血がどのようなメカニズムで予後に影響するかは、正確には分かっておらず、いくつかの考察がある。以前は、低酸素による放射線抵抗性と説明されがちであり、治療中に高圧酸素やエリスロポエチンの投与、そして輸血などを試みる研究が存在して

いた [102]。しかし、その有用性を示したものはない。一方で、依然として予後改善を期待した輸血が行われることも珍しくない [102]。最近は、安易な輸血は否定されている [102, 104]。Barkati らは、貧血が体部浸潤やリンパ節転移などの腫瘍の浸潤性の強さと関連していたと述べている [104]。また、テキサス州立大学 MD アンダーソンがんセンターの大規模コホートの解析によれば、貧血は腫瘍径と有意相関があり、貧血単独では局所再発に影響しないとされている（しかしこの研究での腫瘍径は内診所見のみであり、画像を参照していないことに注意が必要である） [102]。確かに今回も、貧血は、腫瘍径の他、FIGO 病期、骨盤内リンパ節転移、PALN 転移と相関していた。貧血を背景に浸潤性の強い腫瘍が発生しているのか、あるいは、浸潤性の強い腫瘍が貧血を引き起こしているのかは不明であるが、多変量解析で有意性が残ったことから、予後への影響は独立しているといえる。

一方、腫瘍径は確立された予後因子であり、FIGO 病期決定にも組み込まれている [8–10]。近年は、治療前の腫瘍径のみならず、治療中の（外照射終了時点の）腫瘍の縮小率を重要視する報告も相次いでいる。Nam らは、治療開始から 4 週間時点で、MRI による腫瘍縮小率を算出し、75% 以上の症例で局所制御率や無病生存率が良好であったと報告している [105]。同様に Minkoff らも、腔内照射開始時 MRI 上の GTV が 7.5 cc を超えていた症例において、局所制御率、無病生存率、OS が不良であったと報告している [106]。MRI は FIGO 病期決定に影響してはならないとされているが、今や治療前のみならず、治療中にも撮像することで、治療方針決定や予後

推測における有用性が期待されている。

治療前ヘモグロビン値や MRI 上の腫瘍径は、施設や担当する医師によるばらつきが少なく、客観性に富んだ分かりやすい指標となる。また、治療前ヘモグロビン値は、FIGO 病期決定には影響しないものの、場合によってはそれ以上に着目すべき指標となり得る。近年は、これらの臨床病理学的予後因子をもとにした予後推測ノモグラムも報告されており、実臨床に有効に活用されることも期待したい [101, 107]。

再発様式について述べる。序文で述べた通り、子宮頸癌に対する根治的放射線治療後の再発様式については、すでにいくつか報告されている [28, 32–34]。Mazeron らは、CRT を施行した 163 例の観察期間中央値 36 ヶ月の後ろ向き解析で、再発した 45 例の初回再発部位に着目した。その結果、遠隔転移が全再発の 68.7% を占めており、そのうちの約半数が孤立性であったと報告している [28]。また、Teh らも、遠隔転移が局所再発を上回り、5 年無局所再発生存率 81.7% に対して、5 年無遠隔転移生存率 70.8% と報告している [32]。本解析でも、これらの報告と同様に、照射野外再発が照射野内再発を上回っていた（再発 35 例中、照射野内 9 例、照射野外 19 例）。CRT や IGBT が行われ、局所制御率が高くなり、遠隔再発が目立つようになったと考えられる。本研究では、さらに細かく再発部位を調べることでいくつかの見解を得た [108]。

まず、non-CR 症例では半数以上が、照射野内再発症例では全例が、原発巣に残存もしくは再発を来していた。このことから、原発巣への線量増加が望まれる症例が存

在していることが分かる。実際に、我が国の A 点への処方線量 (62~65 GyEQD₂) は、世界的に用いられている線量 (85 GyEQD₂) に比べて少ない設定となっている [69]。前述した同時併用 CRT の第 II 相臨床試験 JGOG 1066 では、この線量設定となっており、観察期間中央値 28 ヶ月の解析では、骨盤内制御率や PFS が過去の報告と同等に良好であり、晩期毒性は低率であったという結果が出ている [69]。しかし、その報告の中でも、局所制御率には改善の余地があると述べられており、それは特に、骨盤内再発を来しやすい巨大腫瘍の症例で検討されるべきと考察されている。

近年、IGBT など、小線源治療における近年の放射線治療技術の進歩がめざましい。Groupe Européen de Curiethérapie-European SocieTy for Radiotherapy & Oncology (GEC-ESTRO) は、従来の A 点にかわり、High risk CTV 体積の 90% に処方する (D90) 方法を推奨している [109]。欧米では、MRI ベースの IGBT における線量効果関係も報告され、90% の局所制御率を得るためには 86 GyEQD₂ が必要であるとされている [110]。また、外照射への反応不良症例では線量効果曲線が右にシフトすることも述べられている [110]。Pötter らは、さらにニードルアプリータの追加留置も行い、腫瘍の形状や縮小に応じた adaptive な腔内照射 (D90 > 85 Gy) を行い、局所進行期においても非常に良好な局所制御率であったと示している (3 年局所制御率 86%) [27]。現在、東京大学医学部附属病院放射線科では、局所進行期症例には MRI ベースの IGBT を行っており、1 回の腔内照射で D90 に 6 Gy 以上を処方するようになっている。今後、日本でも、特に局所進行期症例や外照射への反応が不良であった

症例では、IGBT を用いた原発巣の線量増加が必要と考えられる。

次に、治療前に骨盤内リンパ節転移が存在していても、骨盤内リンパ節制御は良好であることが分かった。41 例の骨盤内リンパ節転移陽性症例を含めた全 125 例中、骨盤内リンパ節に残存／増悪／初回再発が認められたのはわずか 7 例（5.6%）であった。そして、注目すべきことに、この 7 例全例において、骨盤内リンパ節転移は孤立性病変ではなく、同時に他の病変が存在していた。最近、治療前の骨盤内リンパ節転移に対し、同部位の再発を予防する目的で、追加外照射を行っているという報告が複数みられる [37–42]。しかし今回の解析からは、骨盤内リンパ節転移の制御は現行の線量（約 50 Gy）で良好であること、それでも制御不能な症例は存在するが、そのような症例では、必ず同時性他病変が存在しているため、追加照射よりも全身化学療法の強化が妥当であることが見いだされた。

さらに、本解析では、総腸骨、外腸骨、内腸骨、閉鎖、仙骨前領域を定義し、外腸骨領域を外腸骨領域内側、外腸骨領域中間、外腸骨領域外側の 3 つに、閉鎖領域を閉鎖領域頭側、閉鎖領域尾側の 2 つに分類している。治療前の骨盤内リンパ節転移が最も多く認められた領域は閉鎖領域頭側であった。残存／増悪／初回再発としての骨盤内リンパ節転移も、閉鎖領域頭側（7 例中 6 例）に多かった。Kasuya らの報告でも、子宮頸癌の治療前骨盤内リンパ節転移は、閉鎖領域頭側と外腸骨領域内側に多く、その他の領域には少なかったとされており、本解析と類似している [70]。現在は、これらすべてを CTV の中に含めた全骨盤領域を均一に照射している。しかし、本解

析の結果は、骨盤内リンパ節領域にも高リスク領域と低リスク領域が存在する可能性を示唆している。将来、骨盤内リンパ節領域を高リスク領域と低リスク領域に分け、強度変調放射線治療（intensity-modulated radiation therapy（IMRT））を用いて線量を調整することも検討されるべきかもしれない。

PALN 転移について述べる。治療前 PALN 転移陰性の 108 例のうち、増悪として 2 例、初回再発として 2 例、合計 4 例（108 例の 3.7%）で、増悪／初回再発としての孤立性 PALN 転移が認められた。これは、CRT 導入前に考えられていた頻度より低い頻度であった。子宮頸癌は、血行性転移よりもリンパ行性の進展が多く [35, 111]、初回遠隔再発部位は PALN であることが多いとされていた [35, 111]。また、孤立性 PALN 転移に対する放射線治療の有用性についても報告されている [112]。骨盤内リンパ節転移陽性症例では、潜在性 PALN 転移のリスクが存在するため、PALN 拡大予防照射について多数議論されてきた。しかし、化学療法の併用が普及して以降、その利益は不明である。今回の所見からは、その利益は限定的なのではないかと考えられる。Yap らも、228 例の CRT 症例の前向き試験で、PALN 照射を加えることによる無病生存率、OS、PALN 再発率の改善は見られなかったとしている [113]。彼らの研究では、骨盤のみの放射線治療でも、孤立性 PALN 再発率は 2.6% と低率であった。化学療法が、PALN へのリンパ流の微小転移を制御し、PALN 拡大照射による利益を打ち消していると考えられる [113]。CRT が標準治療となった現在、最多遠隔再発部位は、従来の PALN から肺へと変化していた。このことが確認できたという

点でも本解析の意義は大きい。

照射野外再発が照射野内再発を上回っていたこと、そして照射野外再発症例の大部分が、長期間に渡り照射野内が制御されていたことから、遠隔転移を抑えることが重要となる。遠隔転移を減らすことが、予後を改善させるための課題となる。近年、局所進行期などの選択された症例に対する地固め化学療法について議論されている [114]。地固め化学療法により利益を得る症例は一定数存在すると考えられる。

Gynecologic Oncology Group (GOG) でも、高リスク症例に対する地固め化学療法のランダム化比較試験を開始している (OUTBACK Trial) [115]。

最後に、孤立性再発であれば、放射線治療や手術などの積極的な局所治療±化学療法により救済され得るという認識も重要である。本解析では、2 例の原発巣再発単独症例が手術により救済されたほか、4 例の oligo-recurrence 症例でも放射線治療や手術により長期間救済可能となった。Oligo-recurrence は、Niibe らが提唱し、近年の腫瘍学のトピックスとなっている [111, 116, 117]。Oligo-recurrence では、原発巣が制御されているため、再発部位も局所治療により制御され得る。このような救済治療の機会を見逃さず、慎重に経過を追うことが重要である。

続いて、予後因子としての lncRNA の探索について考察する。本解析では、PALN 転移の予後への影響が大きいこと、PALN 転移陽性症例では照射範囲が PALN にまで拡大されており、治療内容のばらつきが生じることから、全骨盤照射症例での解析とすべく、PALN 転移症例は除外した。XIST 高発現が良好な予後と関連していたこ

とから、XIST が PALN 転移陰性子宮頸癌放射線治療後の予後推測因子となる可能性がある。本解析は XIST 発現量と子宮頸癌放射線治療後の予後との相関を示した最初の報告となった [118]。

lncRNA は、ゲノムの大変広い領域から産生されている。癌の分野でも鍵となる分子で、癌抑制や発癌において重要な働きを担うと考えられている。そのため、診断、治療への反応、予後の推測などのマーカーになる可能性を秘めている。序文で述べたように、代表的な lncRNA のひとつ、HOTAIR は、乳腺、食道、肺、肝臓、子宮内膜などの癌の予後と関連していると報告されており [57–63]、また、MALAT-1 も、非小細胞肺癌や大腸癌などの予後との関連が示唆されている [64]。他の lncRNA においても同様の報告は増えてきている。

XIST は、女性の体細胞において、男性との遺伝子量補償のために備わっている X 染色体不活性化に関与する lncRNA である。その遺伝子は、X 染色体不活性化中心 (X inactivation center (XIC)) 上に位置する。XIST は、不活性化 X 染色体 (inactive X chromosome (Xi)) から転写されると、その X 染色体を取り巻き、不活性化に導く (図 6-1) [119, 120]。X 染色体不活性化により、X 染色体上の多くの遺伝子が抑制されることになる。それらの中には、癌関連遺伝子や治療感受性／抵抗性遺伝子もあると考えられる。こうした背景が、XIST 発現異常が子宮頸癌の予後に影響しているメカニズムであるのかもしれない [120–122]。Yildirim らは、マウスの血液細胞の XIST を抑制させたところ、高悪性度骨髓増殖性疾患や骨髓異形成症候群が 100% の

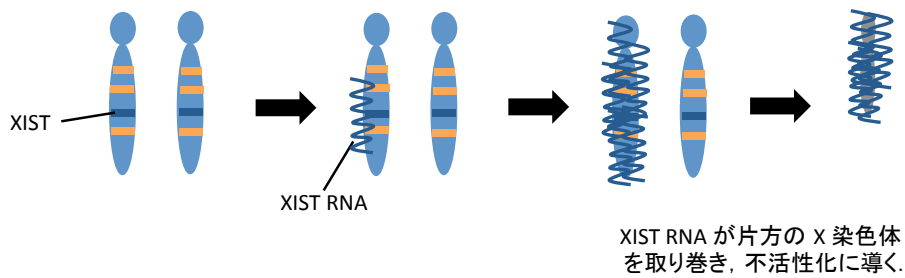


図 6-1 XIST と X 染色体不活性化

浸透率で発生したことを報告している [123]。XIST を消失させたことで、なんらかの X 染色体上遺伝子の高発現が起き、それがゲノムワイドな変化をもたらし、発癌へと導かれたと考えられる [123]。卵巣癌と正常卵巣上皮細胞の細胞株での比較でも、卵巣癌の細胞株において XIST が発現低下していたと報告されている [88]。XIST 低発現により、X 染色体不活性化機構が破綻したり、X 染色体再活性化が起きたりすると、X 染色体上の多くの癌関連遺伝子や治療感受性／抵抗性遺伝子の異常高発現が引き起こされることになると考えられる。本解析における XIST 低発現群では、X 染色体上のなんらかの癌遺伝子や治療抵抗性遺伝子が高発現しており、悪性度が高い、または治療に抵抗性であったのかもしれない (図 6-2)。また、視点を変えると、XIST 高発現では、同様の遺伝子の発現低下がもたらされ、治療の効果が増強されていたとも考えられる。さらに、XIST との関連が報告されている癌は、乳癌や卵巣癌など女性特有のものが多く、その全てにおいて、発現の低下がみられている [56, 81-90]。

XIST は女性の発癌や癌の悪性度において重要と考えられる。

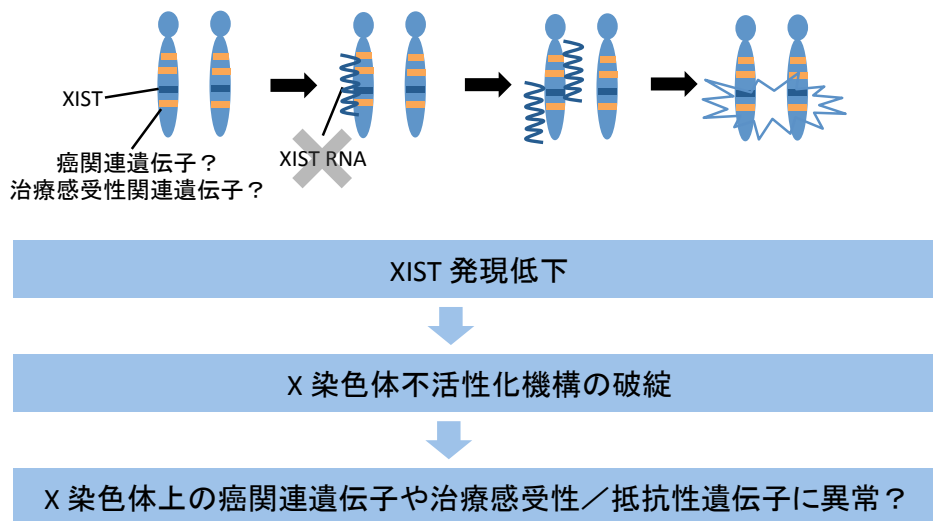


図 6-2 XIST 発現低下と X 染色体上遺伝子の発現異常

XIST が癌を制御している可能性がある以上、XIST の再活性化が癌の治療戦略になり得る。小分子により XIST 発現を再活性化するという方法は、腫瘍細胞内のエピジェネティックな機能性 lncRNA をターゲットとした新しい治療戦略として、現実のものになるかもしれない。今回の結果から、人為的に XIST 発現を増幅させる方法（例えば、XIST 発現上昇を起こす薬物の投与など）が見つかれば、予後を改善させることが可能になるかもしれない。

DHFR upstream transcripts の発現量が PFS に有意に相関していた。しかし、XIST 発現量と DHFR upstream transcripts 発現量とに有意な相関がみられ、OS に関する多変量解析では、XIST 発現量が有意な因子であった一方、DHFR upstream transcripts 発現量は有意な因子ではなかった。そのため、今回の結果で DHFR upstream transcripts 発現量が予後因子であるという結論は出せない。しかし、DHFR upstream transcripts は

核酸の新生に必須な DHFR の機能に関わることが予想される。そのため、この lncRNA が結果的に XIST 遺伝子の新生経路に影響するというつながりも考えられる。その場合、XIST の発現量に影響が出てくることもあろう。この所見については、さらなるデータが必要である。

さらに、XIST と Tsix の関連がみられなかったことも興味深い。Tsix は XIST のアンチセンス鎖から転写され、XIST の発現を制御しているか、または XIST と共にひとつの機能を発揮している [124]。しかし、本解析より、子宮頸癌の予後に関わる機能は XIST の独立した機能のようである。

これまで、多くの研究者により、多くのタンパク質マーカーが同定されてきた。今後は、先に述べた HOTAIR や MALAT-1、今回の XIST の他、多くの lncRNA が予後を推測する代替マーカーとして報告されるであろう。今回の実験のように、多くの施設で日常的に保管されている FFPE サンプルを用いることができれば、その研究の幅は広がるであろう。さらに、Q-PCR は定量性に優れており、データの信憑性は高い。本研究では、個々のサンプル量の問題により 5 種類の lncRNA しか解析できなかったが、子宮頸癌の予後と関連する lncRNA は他にも存在するかもしれない。実際に、2015 年 10 月時点で、HOTAIR [126–128]、MALAT-1 [129]、GAS5 (growth arrest-specific 5) [130]、XLOC_010588 [131] が報告されている。著者らは今後も他の lncRNA を解析したいと考えている。また、そのメカニズムが解明されることを望んでいる。

研究の限界について述べる。まず第一に、後ろ向き解析のため、症例背景や治療内容、有害事象の評価にばらつきが存在していた。生存解析、臨床病理学的予後解析、有害事象の評価、および再発様式の解析では、扁平上皮癌（106 例（85%））と非扁平上皮癌（19 例（15%））を共に対象とした。子宮頸癌では扁平上皮癌が圧倒的に多く、非扁平上皮癌（主に腺癌）に限定した解析を行うための症例数の確保が困難であることから、両者を区別せずに対象としている臨床研究も多い。しかし、病理組織型によって予後や再発様式が異なる可能性がある。本研究の対象は主に扁平上皮癌であり、非扁平上皮癌については本研究の結果が必ずしも当てはまらない可能性も考えられる。また、治療内容、特に化学療法レジメンも多様であった。現在、米国 NCCN の子宮頸癌に関するガイドラインでは、週 1 回投与のシスプラチン単剤あるいはシスプラチン+フルオロウラシルが推奨されており [10]、米国での臨床試験では、シスプラチン単剤（40 mg/m²/週、5～6 サイクル）が用いられている [115]。日本婦人科腫瘍学会の子宮頸癌治療ガイドラインでも、シスプラチンを含むレジメンが推奨されており [13]、JGOG 1066 でもシスプラチン単剤（40 mg/m²/週、5 サイクル）が用いられている [69]。一方、本解析の対象症例では、ネダプラチンが用いられている症例も含まれていた。ネダプラチンを用いた CRT については、我が国を中心に第 I/II 相試験が行われており、その有効性や安全性が確認されているものの [125]、第 III 相試験は行われておらず、現時点では標準的レジメンではない。再発様式の解析では、シスプラチンによる CRT 症例、ネダプラチンによる CRT 症例を含めたが、シスプラ

チンとネダブラチンとが局所および遠隔制御において同等の効果を持つかどうか明確には分かっていない。さらに、治療前検査のばらつき、フォローアップ間隔や画像検査間隔のばらつきにも懸念が残る。特に、照射野内外再発の 7 例では、再発診断時とその前の画像検査との間隔にばらつきがあり、最大 10.6 ヶ月空いていた。また、照射野外再発を来して以降、照射野内の評価が中断された症例も存在した。第二に、症例数が少なかった。特に、予後因子としての lncRNA の探索では、組織型を扁平上皮癌に限定し、2 名の病理学専門医が全てのサンプルを評価し、腫瘍含有率の低いサンプルを対象から除外するなど、適格規準を厳しく設けたため、75 例での解析となった。再発様式の解析を行った 125 例の臨床病理学的予後因子と、予後因子としての lncRNA の探索を行った 75 例の臨床病理学的予後因子とが、完全に一致していないのも、後者で症例数が少ないためと考えられる。第三に、予後因子としての lncRNA の探索では、ランダムに選択した 5 種類の lncRNA のみの解析となった。癌との関連が報告されている lncRNA は 60 種類ほどあるが [55]、1 症例の FFPE サンプルが少量なため、解析できる lncRNA の種類には限度がある。今回は、5 種類ずつ解析を進めていく予定で、5 種類での報告となってしまったが、前述の通り、この他にも予後と相関する lncRNA が存在する可能性はあり、実際にそのような報告が出始めている [126–131]。第四に、予後因子としての lncRNA の探索では、既に採取されている治療前の原発巣 FFPE サンプルを用いており、正常な子宮頸部組織での発現量の評価が不可能であった。また、病理学専門医が各サンプルの腫瘍含有率を

確認したが、非腫瘍部分がわずかながら不均一に含まれている可能性が考えられた。

本来であれば、まず、正常子宮頸部組織をコントロールとした場合の腫瘍組織の lncRNA 発現量を解析すべきであった。加えて、各 lncRNA について、高発現群と低発現群の発現量相対値のカットオフ値を、全サンプルの median 値あるいはその付近の値とした。カットオフ値の設定は他の報告でも同様に行われているが [59]、この方法ではサンプル数によってカットオフ値が変化し得ることとなる。さらに、XIST の発現量が腫瘍の悪性度や治療感受性、しいては予後に影響する原因であるかを確認するための XIST ノックアウトマウス実験や、XIST の発現量によって導かれる遺伝子異常を見いだすためのマイクロアレイを行うことが望ましい。

結論を述べる。再発部位の詳細な解析により、局所進行期症例や外照射への反応不良症例では、原発巣の線量増加と全身療法の強化が望まれることが分かった。一方、リンパ節転移への線量増加や拡大予防照射の利益が限定的である可能性も見いだせた。将来は、低リスク症例での照射範囲・線量の低減など、リスクによる治療調整が可能になるかもしれない。また、予後因子としての lncRNA の探索では、XIST の発現量が子宮頸癌の OS に相関していることが分かった。そこに存在するメカニズムは不明であり、それを解明するにはさらなる研究が求められるが、このような研究が、将来、子宮頸癌の治療戦略に変化をもたらすことになるかもしれない。

7 研究のまとめ

局所進行期や治療への反応不良症例では、原発巣に局限した線量増加と遠隔転移を考慮した全身療法強化が課題となった。一方、リンパ節転移への線量増加や（拡大）予防照射の利益は限定的であった。将来は、低リスク症例での照射範囲縮小や照射線量低減をはじめ、リスクによる治療の調整が期待できる。また、XIST 高発現は良好な予後と関連しており、XIST が予後推測因子になり得ると考えられた。

8 謝辞

本研究全般におよび、ご指導、ご鞭撻をいただきました、東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 放射線医学講座 准教授 中川恵一先生に、心より感謝申し上げます。また、実験室をお貸しくださいました、東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 人体病理学・病理診断学分野 教授 深山正久先生、研究にお借りしたサンプルをすべてご評価いただいただけでなく、論文執筆のご指導までいただきました、東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 人体病理学・病理診断学分野 講師 森川鉄平先生、研究のみならず、臨床においても、いつも近くでご指導くださいました、東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 放射線医学講座 助教 大熊加恵先生、実際の実験方法や技術をあたたくご指導いただきました、東京大学医学部附属病院 病理部 特任助教 宮川隆先生に、厚く御礼申し上げます。さらに、研究を進めていくにあたり、様々な場面でご協力、ご支援いただきました、東京大学医学部附属病院放射線治療部のスタッフの皆様に深謝申し上げます。最後に、研修医時代の同期であり、苦しいときにいつも同じ目線で支えてくれる夫の謙也と、かけがえのない娘の理紗、遠くから見守ってくれる両親に、心から感謝いたします。

9 参考文献

1. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (IARC). Press Release No 223. Latest world cancer statistics global cancer burden rises to 14.1 million new cases in 2012: Marked increase in breast cancers must be addressed. Accessed on August 20, 2015 at https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_E.pdf
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. Accessed on August 20, 2015 at <http://globocan.iarc.fr>
3. 国立がん研究センターがん対策情報センターがん情報サービス「がん登録・統計」
Accessed on August 20, 2015 at <http://ganjoho.jp/public/index.html>
4. 子宮癌登録委員会報告, 昭和 57 年度子宮頸癌患者年報. 日本産婦人科学会雑誌. 1984;36(3):467–482.
5. 婦人科腫瘍委員会報告, 2005 年度子宮頸癌患者年報. 日本産婦人科学会雑誌. 2007;59(3):901–927.
6. Eifel PJ, Morris M, Oswald MJ, Wharton JT, Delclos L. Adenocarcinoma of the uterine cervix. Prognosis and patterns of failure in 367 cases. Cancer. 1990;65(11):2507–2514.
7. Yamagami W, Aoki D. Annual report of the Committee on Gynecologic Oncology, the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. J Obstet Gynaecol Res. 2015;41(2):167–

177.

8. Pecorelli S, Zigliani L, Odicino F. Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;105(2):107–108.
9. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;105(2):103–104.
10. L.H. Sobin, M.K. Gospodarowicz, Ch. Wittekind. UICC 日本委員会 TNM 委員会. TNM 悪性腫瘍の分類. 東京, 金原出版株式会社, 2010, pp193–198.
11. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®). Cervical cancer version 1, 2016. Fort Washington, PA: National Comprehensive Cancer Network, Inc., 2015.
12. Colombo N, Carinelli S, Colombo A, Marini C, Rollo D, Sessa C; ESMO Guidelines Working Group. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 7:vii27–32.
13. 日本婦人科腫瘍学会. 子宮頸癌治療ガイドライン 2011 年版. 東京, 金原出版株式会社, 2011.
14. Landoni F, Maneo A, Colombo A, Placa F, Milani R, Perego P, Favini G, Ferri L, Mangioni C. Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage Ib-IIa cervical cancer. *Lancet.* 1997;350(9077):535–540.
15. Rotman M, Sedlis A, Piedmonte MR, Bundy B, Lentz SS, Muderspach LI, Zaino RJ. A

- phase III randomized trial of postoperative pelvic irradiation in stage IB cervical carcinoma with a poor prognostic features: follow-up of a Gynecologic Oncology Group Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;65(1):169–176.
16. Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W Jr, Alberts DS. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol*. 2000;18(8):1606–1613.
17. Monk BJ, Wang J, Im S, Stock RJ, Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, Berek JS, Souhami L, Grigsby PW, Gordon W Jr, Alberts DS; Gynecologic Oncology Group; Southwest Oncology Group; Radiation Therapy Oncology Group. Rethinking the use of radiation and chemotherapy after radical hysterectomy: a clinical-pathologic analysis of a Gynecologic Oncology Group/Southwest Oncology Group/Radiation Therapy Oncology Group trial. *Gynecol Oncol*. 2005;96(3):721–728.
18. 婦人科腫瘍委員会報告, 2008 年度子宮頸癌患者年報. 日本産婦人科学会雑誌. 2010;62(3):827–852.
19. NCI Press Office. NCI Issues Clinical Announcement on Cervical Cancer: Chemotherapy plus Radiation Improves Survival. Bethesda, MD: National Institutes of Health (NIH), 1999. Accessed on August 20, 2015 at

<http://nihprod.cit.nih.gov/news/pr/feb99/nci-22.htm>.

20. Chemoradiotherapy for Cervical Cancer Meta-analysis Collaboration (CCCMAC).
Reducing uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer:
individual patient data meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(1):CD008285.
21. Chemoradiotherapy for Cervical Cancer Meta-Analysis Collaboration. Reducing
uncertainties about the effects of chemoradiotherapy for cervical cancer: a systematic
review and meta-analysis of individual patient data from 18 randomized trials. *J Clin
Oncol*. 2008;26(35):5802–5812.
22. 公益社団法人 日本放射線腫瘍学会. 放射線治療計画ガイドライン 2012 年版.
東京, 金原出版株式会社, 2013, pp1–50.
23. International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) Report 62,
Prescribing, Recording and Reporting Photon Beam Therapy (Supplement to ICRU
Report 50), Bethesda, MD: ICRU, 1999.
24. Tod MC, Meredith WJ. A dosage system for use in the treatment of cancer of the uterine
cervix. *Br J Radiol*. 1938;11(132):809–824.
25. 小塚隆弘, 井上俊彦. 小線源放射線治療. 東京, 中山書店, 1993, pp94–103.
26. Pötter R, Haie-Meder C, Van Limbergen E, Barillot I, De Brabandere M, Dimopoulos J,
Dumas I, Erickson B, Lang S, Nulens A, Petrow P, Rownd J, Kirisits C; GEC ESTRO
Working Group. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working

- group (II): concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy–3D dose volume parameters and aspects of 3D image-based anatomy, radiation physics, radiobiology. *Radiother Oncol.* 2006;78(1):67–77.
27. Pötter R, Georg P, Dimopoulos JC, Grimm M, Berger D, Nesvacil N, Georg D, Schmid MP, Reinthaller A, Sturdza A, Kirisits C. Clinical outcome of protocol based image (MRI) guided adaptive brachytherapy combined with 3D conformal radiotherapy with or without chemotherapy in patients with locally advanced cervical cancer. *Radiother Oncol.* 2011;100(1):116–123.
 28. Mazon R, Gilmore J, Dumas I, Champoudry J, Goulart J, Vanneste B, Tailleur A, Morice P, Haie-Meder C. Adaptive 3D image-guided brachytherapy: a strong argument in the debate on systematic radical hysterectomy for locally advanced cervical cancer. *Oncologist.* 2013;18(4):415–422.
 29. Rose PG. Chemoradiotherapy for cervical cancer. *Eur J Cancer.* 2002;38(2):270–278.
 30. Morris M, Eifel PJ, Lu J, Grigsby PW, Levenback C, Stevens RE, Rotman M, Gershenson DM, Mutch DG. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N Engl J Med.* 1999;340(15):1137–1143.
 31. Mazon R, Castelnau-Marchand P, Dumas I, Del Campo ER, Kom LK, Martinetti F, Farha G, Tailleur A, Morice P, Chargari C, Lefkopoulos D, Haie-Meder C. Impact of

- treatment time and dose escalation on local control in locally advanced cervical cancer treated by chemoradiation and image-guided pulsed-dose rate adaptive brachytherapy. *Radiother Oncol*. 2015;114(2):257–263.
32. Teh J, Yap SP, Tham I, Sethi VK, Chua EJ, Yeo R, Ho TH, Tay EH, Chia YN, Soh LT, Khoo-Tan HS. Concurrent chemoradiotherapy incorporating high-dose rate brachytherapy for locally advanced cervical carcinoma: survival outcomes, patterns of failure, and prognostic factors. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(3):428–433.
 33. Parker K, Gallop-Evans E, Hanna L, Adams M. Five years' experience treating locally advanced cervical cancer with concurrent chemoradiotherapy and high-dose-rate brachytherapy: results from a single institution. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009;74(1):140–146.
 34. Chen SW, Liang JA, Hung YC, Yeh LS, Chang WC, Lin WC, Yang SN, Lin FJ. Concurrent weekly cisplatin plus external beam radiotherapy and high-dose rate brachytherapy for advanced cervical cancer: a control cohort comparison with radiation alone on treatment outcome and complications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;66(5):1370–1377.
 35. Niibe Y, Kazumoto T, Toita T, Yamazaki H, Higuchi K, Ii N, Suzuki K, Uno T, Tokumaru S, Takayama M, Sekiguchi K, Matsumoto Y, Michimoto K, Oguchi M, Hayakawa K. Frequency and characteristics of isolated para-aortic lymph node

- recurrence in patients with uterine cervical carcinoma in Japan: a multi-institutional study. *Gynecol Oncol*. 2006;103(2):435–438.
36. Rotman M, Choi K, Guse C, Marcial V, Hornback N, John M. Prophylactic irradiation of the para-aortic lymph node chain in stage IIB and bulky stage IB carcinoma of the cervix, initial treatment results of RTOG 7920. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1990;19(3):513–521.
37. Ariga T, Toita T, Kasuya G, Nagai Y, Inamine M, Kudaka W, Kakinohana Y, Aoki Y, Murayama S. External beam boost irradiation for clinically positive pelvic nodes in patients with uterine cervical cancer. *J Radiat Res*. 2013;54(4):690–696.
38. Wakatsuki M, Ohno T, Kato S, Ando K, Noda SE, Kiyohara H, Shibuya K, Karasawa K, Kamada T, Nakano T. Impact of boost irradiation on pelvic lymph node control in patients with cervical cancer. *J Radiat Res*. 2014;55(1):139–145.
39. Hata M, Koike I, Miyagi E, Numazaki R, Asai-Sato M, Kasuya T, Kaizu H, Matsui T, Hirahara F, Inoue T. Radiation therapy for pelvic lymph node metastasis from uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131(1):99–102.
40. Rash DL, Lee YC, Kashefi A, Durbin-Johnson B, Mathai M, Valicenti R, Mayadev JS. Clinical response of pelvic and para-aortic lymphadenopathy to a radiation boost in the definitive management of locally advanced cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013;87(2):317–322.

41. Vargo JA, Kim H, Choi S, Sukumvanich P, Olawaiye AB, Kelley JL, Edwards RP, Comerci JT, Beriwal S. Extended field intensity modulated radiation therapy with concomitant boost for lymph node-positive cervical cancer: analysis of regional control and recurrence patterns in the positron emission tomography/computed tomography era. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;90(5):1091–1098.
42. Grigsby PW, Singh AK, Siegel BA, Dehdashti F, Rader J, Zoberi I. Lymph node control in cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59(3):706–712.
43. Nakano T, Ohno T, Ishikawa H, Suzuki Y, Takahashi T. Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. *J Radiat Res.* 2010;51(1):1–8.
44. Mary K. Gospodarowicz, Brian O’Sullivan, Leslie H. Sobin. *Prognostic Factors in Cancer.* Third Edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2006, pp219–222.
45. Noordhuis MG, Eijsink JJ, Roossink F, de Graeff P, Pras E, Schuurung E, Wisman GB, de Bock GH, van der Zee AG. Prognostic cell biological markers in cervical cancer patients primarily treated with (chemo)radiation: a systematic review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;79(2):325–334.
46. Harima Y, Ikeda K, Utsunomiya K, Komemushi A, Kanno S, Shiga T, Tanigawa N. Apolipoprotein C-II is a potential serum biomarker as a prognostic factor of locally advanced cervical cancer after chemoradiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*

- 2013;87(5):1155–1161.
47. Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. *Cell*. 2014;157(1):77–94.
48. Elgar G, Vavouri T. Tuning in to the signals: noncoding sequence conservation in vertebrate genomes. *Trends Genet*. 2008;24(7):344–352.
49. Zhang Y, Yang L, Chen LL. Life without a tail: new formats of long noncoding RNAs. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;54:338–349.
50. Hu X, Schwarz JK, Lewis JS Jr, Huettner PC, Rader JS, Deasy JO, Grigsby PW, Wang X. A microRNA expression signature for cervical cancer prognosis. *Cancer Res*. 2010;70(4):1441–1448.
51. Shen SN, Wang LF, Jia YF, Hao YQ, Zhang L, Wang H. Upregulation of microRNA-224 is associated with aggressive progression and poor prognosis in human cervical cancer. *Diagn Pathol*. 2013;8:69.
52. Wang Q, Qin J, Chen A, Zhou J, Liu J, Cheng J, Qiu J, Zhang J. Downregulation of microRNA-145 is associated with aggressive progression and poor prognosis in human cervical cancer. *Tumour Biol*. 2015;36(5):3703–3708.
53. Luo M, Shen D, Zhou X, Chen X, Wang W. MicroRNA-497 is a potential prognostic marker in human cervical cancer and functions as a tumor suppressor by targeting the insulin-like growth factor 1 receptor. *Surgery*. 2013;153(6):836–847.

54. Hauptman N, Glavač D. Long non-coding RNA in cancer. *Int J Mol Sci*. 2013;14(3):4655–4669.
55. Spizzo R, Almeida MI, Colombatti A, Calin GA. Long non-coding RNAs and cancer: a new frontier of translational research? *Oncogene*. 2012;31(43):4577–4587.
56. Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS, Dinger ME. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. *Br J Cancer*. 2013;108(12):2419–2425.
57. Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature*. 2010;464(7291):1071–1076.
58. Chisholm KM, Wan Y, Li R, Montgomery KD, Chang HY, West RB. Detection of long non-coding RNA in archival tissue: correlation with polycomb protein expression in primary and metastatic breast carcinoma. *PLoS One*. 2012;7(10):e47998.
59. Chen FJ, Sun M, Li SQ, Wu QQ, Ji L, Liu ZL, Zhou GZ, Cao G, Jin L, Xie HW, Wang CM, Lv J, De W, Wu M, Cao XF. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis. *Mol Carcinog*. 2013;52(11):908–915.
60. Liu XH, Liu ZL, Sun M, Liu J, Wang ZX, De W. The long non-coding RNA HOTAIR indicates a poor prognosis and promotes metastasis in non-small cell lung cancer. *BMC*

Cancer. 2013;13:464.

61. Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(5):1243–1250.
62. Geng YJ, Xie SL, Li Q, Ma J, Wang GY. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression. *J Int Med Res*. 2011;39(6):2119–2128.
63. He X, Bao W, Li X, Chen Z, Che Q, Wang H, Wan XP. The long non-coding RNA HOTAIR is upregulated in endometrial carcinoma and correlates with poor prognosis. *Int J Mol Med*. 2014;33(2):325–332.
64. Zhu L, Liu J, Ma S, Zhang S. Long noncoding RNA MALAT-1 can predict metastasis and a poor prognosis: a meta-analysis. *Pathol Oncol Res*. 2015;21(4):1259–1264.
65. Ismailov S, Rashitov M, Kobayashi M, Shibata N, Kato Y, Omi Y, Iihara M, Okamoto T. Trefoil factor 3 (TFF3) mRNA expression level in follicular thyroid tumors using formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) blocks. *Open Journal of Pathology*. 2013;3(2):78–84.
66. von Ahlhen S, Missel A, Bendrat K, Schlumpberger M. Determinants of RNA quality from FFPE samples. *PLoS One*. 2007;2(12):e1261.
67. Sánchez-Navarro I, Gámez-Pozo A, González-Barón M, Pinto-Marín A, Hardisson D,

- López R, Madero R, Cejas P, Mendiola M, Espinosa E, Vara JA. Comparison of gene expression profiling by reverse transcription quantitative PCR between fresh frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded breast cancer tissues. *Biotechniques*. 2010;48(5):389–397.
68. Mittempergher L, de Ronde JJ, Nieuwland M, Kerkhoven RM, Simon I, Rutgers EJ, Wessels LF, Van't Veer LJ. Gene expression profiles from formalin fixed paraffin embedded breast cancer tissue are largely comparable to fresh frozen matched tissue. *PLoS One*. 2011;6(2):e17163.
69. Toita T, Kitagawa R, Hamano T, Umayahara K, Hirashima Y, Aoki Y, Oguchi M, Mikami M, Takizawa K; Cervical Cancer (Vulva Cancer) Committee of Japanese Gynecologic Oncology Group (JGOG). Phase II study of concurrent chemoradiotherapy with high-dose-rate intracavitary brachytherapy in patients with locally advanced uterine cervical cancer: efficacy and toxicity of a low cumulative radiation dose schedule. *Gynecol Oncol*. 2012;126(2):211–216.
70. Kasuya G, Toita T, Furutani K, Kodaira T, Ohno T, Kaneyasu Y, Yoshimura R, Uno T, Yogi A, Ishikura S, Hiraoka M. Distribution patterns of metastatic pelvic lymph nodes assessed by CT/MRI in patients with uterine cervical cancer. *Radiat Oncol*. 2013;8:139.
71. Taylor A, Rockall AG, Reznick RH, Powell ME. Mapping pelvic lymph nodes: guidelines for delineation in intensity-modulated radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol*

Phys. 2005;63(5):1604–1612.

72. Japan Clinical Oncology Group, Toita T, Ohno T, Kaneyasu Y, Uno T, Yoshimura R, Kodaira T, Furutani K, Kasuya G, Ishikura S, Kamura T, Hiraoka M. A consensus-based guideline defining the clinical target volume for pelvic lymph nodes in external beam radiotherapy for uterine cervical cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2010;40(5):456–463.
73. Chatani M, Matayoshi Y, Masaki N, Inoue T. High-dose rate intracavitary irradiation for carcinoma of the uterine cervix. The adverse effect of treatment prolongation. *Strahlenther Onkol*. 1997;173(7):379–384.
74. Nag S, Erickson B, Thomadsen B, Orton C, Demanes JD, Petereit D. The American Brachytherapy Society recommendations for high- dose-rate brachytherapy for carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;48(1):201–211.
75. Toita T, Ohno T, Kaneyasu Y, Kato T, Uno T, Hatano K, Norihisa Y, Kasamatsu T, Kodaira T, Yoshimura R, Ishikura S, Hiraoka M; JCOG Radiation Therapy Study Group. A consensus-based guideline defining clinical target volume for primary disease in external beam radiotherapy for intact uterine cervical cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2011;41(9):1119–1126.
76. Taylor A, Powell ME. Conformal and intensity-modulated radiotherapy for cervical cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2008;20(6):417–425.
77. Small W Jr, Mell LK, Anderson P, Creutzberg C, De Los Santos J, Gaffney D, Jhingran

- A, Portelance L, Schefter T, Iyer R, Varia M, Winter K, Mundt AJ. Consensus guidelines for delineation of clinical target volume for intensity-modulated pelvic radiotherapy in postoperative treatment of endometrial and cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008;71(2):428–434.
78. Lim K, Small W Jr, Portelance L, Creutzberg C, Jürgenliemk-Schulz IM, Mundt A, Mell LK, Mayr N, Viswanathan A, Jhingran A, Erickson B, De los Santos J, Gaffney D, Yashar C, Beriwal S, Wolfson A, Taylor A, Bosch W, El Naqa I, Fyles A; Gyn IMRT Consortium. Consensus guidelines for delineation of clinical target volume for intensity-modulated pelvic radiotherapy for the definitive treatment of cervix cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;79(2):348–355.
79. 大西 洋, 唐澤久美子, 唐澤克之. *がん・放射線療法* 2010. 東京, 株式会社 篠原出版新社, 2010, pp149–211.
80. Cancer Therapy Evaluation Program (CTEP). National Cancer Institute (NCI). Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0. Accessed on October 21, 2015 at http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_40.
81. Ganesan S, Silver DP, Greenberg RA, Avni D, Drapkin R, Miron A, Mok SC, Randrianarison V, Brodie S, Salstrom J, Rasmussen TP, Klimke A, Marrese C, Marahrens Y, Deng CX, Feunteun J, Livingston DM. BRCA1 supports XIST RNA concentration on the inactive X chromosome. *Cell*. 2002;111(3):393–405.

82. Pageau GJ, Hall LL, Lawrence JB. BRCA1 does not paint the inactive X to localize XIST RNA but may contribute to broad changes in cancer that impact XIST and Xi heterochromatin. *J Cell Biochem.* 2007;100(4):835–850.
83. Richardson AL, Wang ZC, De Nicolo A, Lu X, Brown M, Miron A, Liao X, Iglehart JD, Livingston DM, Ganesan S. X chromosomal abnormalities in basal-like human breast cancer. *Cancer Cell.* 2006;9(2):121–132.
84. Silver DP, Dimitrov SD, Feunteun J, Gelman R, Drapkin R, Lu SD, Shestakova E, Velmurugan S, Denunzio N, Dragomir S, Mar J, Liu X, Rottenberg S, Jonkers J, Ganesan S, Livingston DM. Further evidence for BRCA1 communication with the inactive X chromosome. *Cell.* 2007;128(5):991–1002.
85. Sirchia SM, Ramoscelli L, Grati FR, Barbera F, Coradini D, Rossella F, Porta G, Lesma E, Ruggeri A, Radice P, Simoni G, Miozzo M. Loss of the inactive X chromosome and replication of the active X in BRCA1-defective and wild-type breast cancer cells. *Cancer Res.* 2005;65(6):2139–2146.
86. Sirchia SM, Tabano S, Monti L, Recalcati MP, Gariboldi M, Grati FR, Porta G, Finelli P, Radice P, Miozzo M. Misbehaviour of XIST RNA in breast cancer cells. *PLoS One.* 2009;4(5):e5559.
87. Vincent-Salomon A, Ganem-Elbaz C, Manié E, Raynal V, Sastre-Garau X, Stoppa-Lyonnet D, Stern MH, Heard E. X inactive-specific transcript RNA coating and

- genetic instability of the X chromosome in BRCA1 breast tumors. *Cancer Res.* 2007;67(11):5134–5140.
88. Benoît MH, Hudson TJ, Maire G, Squire JA, Arcand SL, Provencher D, Mes-Masson AM, Tonin PN. Global analysis of chromosome X gene expression in primary cultures of normal ovarian surface epithelial cells and epithelial ovarian cancer cell lines. *Int J Oncol.* 2007;30(1):5–17.
89. Kawakami T, Zhang C, Taniguchi T, Kim CJ, Okada Y, Sugihara H, Hattori T, Reeve AE, Ogawa O, Okamoto K. Characterization of loss-of-inactive X in Klinefelter syndrome and female-derived cancer cells. *Oncogene.* 2004;23(36):6163–6169.
90. Huang KC, Rao PH, Lau CC, Heard E, Ng SK, Brown C, Mok SC, Berkowitz RS, Ng SW. Relationship of XIST expression and responses of ovarian cancer to chemotherapy. *Mol Cancer Ther.* 2002;1(10):769–776.
91. Lee JT, Davidow LS, Warshawsky D. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. *Nat Genet.* 1999;21(4):400–404.
92. Feng J, Funk WD, Wang SS, Weinrich SL, Avilion AA, Chiu CP, Adams RR, Chang E, Allsopp RC, Yu J, et al. The RNA component of human telomerase. *Science.* 1995;269(5228):1236–1241.
93. Cao Y, Bryan TM, Reddel RR. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells. *Cancer Sci.* 2008;99(6):1092–1099.

94. Tu Z, Zhang A, Wu R, Jiang J, Li Y, Wulan N, Li J, Zhang Y, Li Y, Chen Z, Wei L. Genomic amplification of the human telomerase RNA gene for differential diagnosis of cervical disorders. *Cancer Genet Cytogenet.* 2009;191(1):10–16.
95. Martianov I, Ramadass A, Serra Barros A, Chow N, Akoulitchiev A. Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript. *Nature.* 2007;445(7128):666–670.
96. El-Shewy HM, Luttrell LM. Insulin-like growth factor-2/mannose-6 phosphate receptors. *Vitam Horm.* 2009;80:667–697.
97. Nagano T, Mitchell JA, Sanz LA, Pauler FM, Ferguson-Smith AC, Feil R, Fraser P. The Air noncoding RNA epigenetically silences transcription by targeting G9a to chromatin. *Science.* 2008;322(5908):1717–1720.
98. Miyagawa R, Tano K, Mizuno R, Nakamura Y, Ijiri K, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y, Mayeda A, Hirose T, Akimitsu N. Identification of cis- and trans-acting factors involved in the localization of MALAT-1 noncoding RNA to nuclear speckles. *RNA.* 2012;18(4):738–751.
99. Kumamoto T, Oshio S. Effect of fetal exposure to bisphenol A on brain mediated by X-chromosome inactivation. *J Toxicol Sci.* 2013;38(3):485–494.
100. Latos PA, Pauler FM, Koerner MV, Şenergin HB, Hudson QJ, Stocsits RR, Allhoff W, Stricker SH, Klement RM, Warczok KE, Aumayr K, Pasierbek P, Barlow DP. Airn

transcriptional overlap, but not its lncRNA products, induces imprinted Igf2r silencing.

Science. 2012;338(6113):1469–1472.

101. Seo Y, Yoo SY, Kim MS, Yang KM, Yoo HJ, Kim JH, Shin YJ, Kang JK, Lee KH, Lee ED, Rhu SY, Choi SC, Kim MH, Kim BJ, Kim MS, Cho CK. Nomogram prediction of overall survival after curative irradiation for uterine cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;79(3):782–787.
102. Bishop AJ, Allen PK, Klopp AH, Meyer LA, Eifel PJ. Relationship between low hemoglobin levels and outcomes after treatment with radiation or chemoradiation in patients with cervical cancer: has the impact of anemia been overstated? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015;91(1):196–205.
103. Anker CJ, Cachoeira CV, Boucher KM, Rankin J, Gaffney DK. Does the entire uterus need to be treated in cancer of the cervix? Role of adaptive brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010;76(3):704–712.
104. Barkati M, Fortin I, Mileschkin L, Bernshaw D, Carrier JF, Narayan K. Hemoglobin level in cervical cancer: a surrogate for an infiltrative phenotype. *Int J Gynecol Cancer*. 2013;23(4):724–729.
105. Nam H, Park W, Huh SJ, Bae DS, Kim BG, Lee JH, Lee JW, Lim do H, Han Y, Park HC, Ahn YC. The prognostic significance of tumor volume regression during radiotherapy and concurrent chemoradiotherapy for cervical cancer using MRI. *Gynecol*

Oncol. 2007;107(2):320–325.

106. Minkoff D, Gill BS, Kang J, Beriwal S. Cervical cancer outcome prediction to high-dose rate brachytherapy using quantitative magnetic resonance imaging analysis of tumor response to external beam radiotherapy. *Radiother Oncol.* 2015;115(1):78–83.
107. Tseng JY, Yen MS, Twu NF, Lai CR, Horng HC, Tseng CC, Chao KC, Juang CM. Prognostic nomogram for overall survival in stage IIB-IVA cervical cancer patients treated with concurrent chemoradiotherapy. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(2):174.e1–7.
108. Kobayashi R, Yamashita H, Okuma K, Ohtomo K, Nakagawa K. Details of recurrence sites after definitive radiation therapy for cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 2016;27(2):e16.
109. Haie-Meder C, Pötter R, Van Limbergen E, Briot E, De Brabandere M, Dimopoulos J, Dumas I, Hellebust TP, Kirisits C, Lang S, Muschitz S, Nevinson J, Nulens A, Petrow P, Wachter-Gerstner N; Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group. Recommendations from Gynaecological (GYN) GEC-ESTRO Working Group (I): concepts and terms in 3D image based 3D treatment planning in cervix cancer brachytherapy with emphasis on MRI assessment of GTV and CTV. *Radiother Oncol.* 2005;74(3):235–245.
110. Dimopoulos JC, Pötter R, Lang S, Fidarova E, Georg P, Dörr W, Kirisits C. Dose-effect

- relationship for local control of cervical cancer by magnetic resonance image-guided brachytherapy. *Radiother Oncol*. 2009;93(2):311–315.
111. Niibe Y, Hayakawa K. Oligometastases and oligo-recurrence: the new era of cancer therapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2010;40(2):107–111.
112. Niibe Y, Kenjo M, Kazumoto T, Michimoto K, Takayama M, Yamauchi C, Kataoka M, Suzuki K, Ii N, Uno T, Takanaka T, Higuchi K, Yamazaki H, Tokumaru S, Oguchi M, Hayakawa K; Japanese Isolated Para-Aortic Lymph Node Recurrence of Uterine Cervical Carcinoma Study Group. Multi-institutional study of radiation therapy for isolated para-aortic lymph node recurrence in uterine cervical carcinoma: 84 subjects of a population of more than 5,000. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;66(5):1366–1369.
113. Yap ML, Cuartero J, Yan J, Pintilie M, Fyles A, Levin W, Manchul L, Milosevic M. The role of elective para-aortic lymph node irradiation in patients with locally advanced cervical cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2014;26(12):797–803.
114. Tangjitgamol S, Katanyoo K, Laopaiboon M, Lumbiganon P, Manusirivithaya S, Supawattanabodee B. Adjuvant chemotherapy after concurrent chemoradiation for locally advanced cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;12:CD010401.
115. ClinicalTrials.gov. Cisplatin and Radiation Therapy With or Without Carboplatin and Paclitaxel in Patients With Locally Advanced Cervical Cancer. Bethesda, MD: National Library of Medicine (NLM) at National Institutes of Health (NIH). Accessed on March

26, 2015 at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01414608>

116. Niibe Y, Chang JY. Novel insights of oligometastases and oligo-recurrence and review of the literature. *Pulm Med*. 2012;2012:261096.
117. Iwata S, Yonemoto T, Iizasa T, Niibe Y, Kamoda H, Ishii T. Oligo-recurrence of osteosarcoma patients: treatment strategies for pulmonary metastases. *Ann Surg Oncol*. 2015;22 Suppl 3:1332–1338.
118. Kobayashi R, Miyagawa R, Yamashita H, Morikawa T, Okuma K, Fukayama M, Ohtomo K, Nakagawa K. Increased expression of long non - coding RNA XIST predicts favorable prognosis of cervical squamous cell carcinoma subsequent to definitive chemoradiation therapy. *Oncology Letters*. in press.
119. Brown CJ, Ballabio A, Rupert JL, Lafreniere RG, Grompe M, Tonlorenzi R, Willard HF. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*. 1991;349(6304):38–44.
120. Weakley SM, Wang H, Yao Q, Chen C. Expression and function of a large non-coding RNA gene XIST in human cancer. *World J Surg*. 2011;35(8):1751–1756.
121. Liu Y, Wang L, Zheng P. X-linked tumor suppressors: perplexing inheritance, a unique therapeutic opportunity. *Trends Genet*. 2010;26(6):260–265.
122. Spatz A, Borg C, Feunteun J. X-chromosome genetics and human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(8):617–629.

123. Yildirim E, Kirby JE, Brown DE, Mercier FE, Sadreyev RI, Scadden DT, Lee JT. Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice. *Cell*. 2013;152(4):727–742.
124. Froberg JE, Yang L, Lee JT. Guided by RNAs: X-inactivation as a model for lncRNA function. *J Mol Biol*. 2013;425(19):3698–3706.
125. Fujiwara M, Isohashi F, Mabuchi S, Yoshioka Y, Seo Y, Suzuki O, Sumida I, Hayashi K, Kimura T, Ogawa K. Efficacy and safety of nedaplatin-based concurrent chemoradiotherapy for FIGO Stage IB2-IVA cervical cancer and its clinical prognostic factors. *J Radiat Res*. 2015;56(2):305–314.
126. Kim HJ, Lee DW, Yim GW, Nam EJ, Kim S, Kim SW, Kim YT. Long non-coding RNA HOTAIR is associated with human cervical cancer progression. *Int J Oncol*. 2015;46(2):521–530.
127. Li J, Wang Y, Yu J, Dong R, Qiu H. A high level of circulating HOTAIR is associated with progression and poor prognosis of cervical cancer. *Tumour Biol*. 2015;36(3):1661–1665.
128. Huang L, Liao LM, Liu AW, Wu JB, Cheng XL, Lin JX, Zheng M. Overexpression of long noncoding RNA HOTAIR predicts a poor prognosis in patients with cervical cancer. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;290(4):717–723.
129. Yang L, Bai HS, Deng Y, Fan L. High MALAT1 expression predicts a poor prognosis of cervical cancer and promotes cancer cell growth and invasion. *Eur Rev Med Pharmacol*

Sci. 2015;19(17):3187–3193.

130. Cao S, Liu W, Li F, Zhao W, Qin C. Decreased expression of lncRNA GAS5 predicts a poor prognosis in cervical cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(10):6776–6783.
131. Liao LM, Sun XY, Liu AW, Wu JB, Cheng XL, Lin JX, Zheng M, Huang L. Low expression of long noncoding XLOC_010588 indicates a poor prognosis and promotes proliferation through upregulation of c-Myc in cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2014;133(3):616–623.

10 略称

Air	antisense Igf2r RNA	42
BRCA1	breast cancer susceptibility gene 1	41
cDNA	complementary DNA	37
CI	confidence interval	49
COX-2	cyclooxygenase-2	15
CR	complete response	33
CRT	chemoradiation therapy	8
CT	computed tomography	9
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events	34
CTEP	Cancer Therapy Evaluation Program	34
CTV	clinical target volume	9
DHFR	dihydrofolate reductase	42
DVH	dose-volume histogram	10
EGFR	epidermal growth factor receptor	15
ESMO	European Society for Medical Oncology	6
FDG-PET	[18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography	22

FFPE	formalin-fixed, paraffin-embedded	17
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics	6
GAPDH	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	39
GAS5	growth arrest-specific 5	107
GEC-ESTRO	Groupe Européen de Curiethérapie-European SocieTy for Radiotherapy & Oncology	100
GOG	Gynecologic Oncology Group	103
GTV	gross tumor volume	9
H&E	haematoxylin and eosin	21
HIF-1 α	hypoxia-inducible factor-1 α	15
HOTAIR	Homeobox transcript antisense intergenic RNA	17
HPV	Human papillomavirus	5
HR	hazard ratio	13
IARC	International Agency for Research on Cancer	5
IGBT	image-guided brachytherapy	12
IMRT	intensity-modulated radiation therapy	102
ITV	internal target volume	10
JGOG	Japanese Gynecologic Oncology Group	96
lncRNA	long non-coding RNA	17

M6P/IGF-IIR	mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor	42
MALAT-1	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript-1	17
MRI	magnetic resonance imaging	11
MST	median survival time	47
MUPIT	Martinez Universal Perineal Interstitial Template	29
NA	not arriving	47
NCCN	National Comprehensive Cancer Network	6
NCI	US National Cancer Institute	12
ncRNA	non-coding RNA	15
OAR	organs at risk	10
OS	overall survival	47
PALN	para-aortic lymph node	14
PFS	progression-free survival	48
PTV	planning target volume	9
Q-PCR	quantitative polymerase chain reaction	39
QOL	quality of life	9
TERC	telomerase RNA component	41
VEGF	vascular endothelial growth factor	15
Xi	inactive X chromosome	104

XIC	X inactivation center	104
XIST	X inactive-specific transcript	41