

(3) ヒト大腸癌 SW-620 細胞を sodium butyrate (NaB) で 2 週間処理すると抗癌剤 (アドリアマイシン (ADM)、ビンクリスチン (VCR)、VP-16、グラミシジン D、タキソール) に対して耐性となり、LRP がこの耐性に関与していた。LRP が核から細胞質への ADM の輸送に関与していること、PAK-104P が LRP の作用を阻害する可能性を示した 9)。

(4) ATP7B 発現細胞はシスプラチンに耐性になり、シスプラチンの排出が亢進し、蓄積が減少していた 16)。

(5) シスプラチン耐性 KCP-4 細胞で発現が上昇し、復帰変異株 KCP-4 R でその発現が親株レベルまで低下している遺伝子を 2 つ同定した。

D. 考察

MRP は CPT-11 と SN-38 を輸送しこれらの薬剤の耐性に関与している。CPT-11 を用いて腫瘍の治療を行う時には、MRP の発現レベルを考慮すべきであろう。MRP の関与した多剤耐性を克服する薬剤中には MRP の機能を阻害するとともに、その他の耐性克服作用もあわせ持つ薬剤があることが分かり新しい耐性克服薬剤として注目される。

cMOAT が抗癌剤耐性を担っていることが明らかとなった。耐性薬剤のスペクトラムは MRP の場合と異なること、cMOAT の輸送機能が CsA で強く抑制されることが判った。これらの結果は cMOAT と MRP の輸送基質が異なっていることを示している。cMOAT が臨床でどの程度耐性に関与しているかを検討しなければならない。

LRP が多剤耐性に関与していることが、LRP mRNA 特異的リボザイムを用いた実験で確認された。今後、LRP がどのように細胞質と核の間の輸送、小胞輸送に関与しているか、また、LRP の腫瘍での発現と予後との関係について調べたい。

ATP7B はシスプラチン耐性に関与していた。今後 ATP7B の遺伝子に突然変異を導入し、ATP7B のシスプラチン結合部位や、シスプラチンを細胞外へ輸送する分子機構について解明していきたい。シスプラチン耐性 KCP-4 細胞で発現が増加している遺伝子がシスプラチン耐性に関与しているかを、トランスフェクション実験で明らかにしていく予定である。

このほかに、血管新生因子チミジンホスホリラーゼ (TP) の研究を行い、多くの腫瘍で TP の発現が亢進しており、TP は血管新生のみならず、浸潤、転移にも関与していること、TP 阻害剤、TPi が転移抑制能を有することを示した 1、2、4、7、13、14、15)。

E. 結論

MRP は CPT-11 と SN-38 に対する耐性に、cMOAT は VCR、シスプラチン、SN-38 に対する耐性に、LRP は、抗癌剤 (アドリアマイシン (ADM)、ビンクリスチン (VCR)、VP-16、グラミシジン D、タキソール) に対する耐性に関与している。銅輸送タンパク質 ATP7B はシスプラチンに対する耐性に関与し、シスプラチンの排出を亢進し、蓄積を減少させた。ピリジン誘導体 PAK-104P は、MRP、cMOAT、LRP の関与する耐性を克服した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takebayashi, Y., Natsugoe, S., Baba, M., Akiba, S., Fukumoto, T., Miyadera, K., Yamamoto, Y., Takao, S., Akiyama, S., and Aikou T. Thymidine phosphorylase in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer*, 85: 282-289 (1999).
2. Chu, X.-Y., Suzuki, H., Ueda, K., Kato, Y., Akiyama, S., and Sugiyama Y. Active efflux of CPT-11 and its metabolites in human KB-derived cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 288: 753-741 (1999).
3. Fukuiwa, T., Takebayashi, Y., Akiba, S., Matsuzaki, T., Hanamura, Y., Miyadera, K., Yamada, Y., and Akiyama, S. Expression of thymidine phosphorylase and vascular endothelial cell growth factor in human head and neck squamous cell carcinoma and their different characteristics. *Cancer*, 85: 960-969 (1999).
4. Fukuda, S., Shirahama, T., Imazono, Y., Tsushima, T., Ohmori, H., Kayajima, T., Take, S., Nishiyama, K., Yonezawa, S., Akiba, S., Akiyama, S., and Ohi, Y. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in testicular germ cell tumors as an indicator of metastatic disease. *Cancer*, 85: 1323-1330 (1999).
5. Chen, Z.-S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Ono, K., Tani, A., Komatsu, M., and Akiyama, S. An enhanced active efflux of CPT-11 and SN-38 in cisplatin-resistant human KB carcinoma cells. *Cancer Lett.*, 138: 13-22 (1999).
6. Ueda, K., Suzuki, H., Akiyama, S., and Sugiyama, Y. Differences in substrate specificity among GS-X pump family members: Comparison between MRP and a novel transporter expressed on a cisplatin-resistant cell line (KCP-4). *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 439-447 (1999).
7. Matsushita, S., Nitanda, T., Furukawa, T., Sumizawa, T., Tani, A., Nishimoto, K., Akiba, S., Miyadera, K., Fukushima, M., Yamada, Y., Yoshida, H., Kanzaki, T., and Akiyama, S. The effect of a thymidine phosphorylase inhibitor on angiogenesis and apoptosis in tumors. *Cancer Res.*, 59: 1911-1961 (1999).

8. Chen, Z.S., Furukawa, T., Sumizawa, T., Ono, K., Ueda, K., Seto, K., and Akiyama, S. ATP-dependent efflux of CPT-11 and SN-38 by the multidrug resistance protein (MRP) and its inhibition by PAK-104. *Mol. Pharmacol.*, 55: 921-928 (1999).
 9. Kitazono, M., Sumizawa, T., Takebayashi, Y., Chen, Z-S., Furukawa, T., Nagayama, S., Tani, A., Takao, S., Aikou, T., and Akiyama S. Multidrug resistance and the lung resistance-related protein in human colon carcinoma SW-620 cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91: 1647-1653 (1999).
 10. Chen, Z-S., Kawabe, T., Ono, M., Aoki, S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Uchiumi, T., Wada, M., Kuwano, M., and Akiyama, S. Effect of multidrug resistance reversing agents on the transporting activity of human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT). *Mol. Pharmacol.*, 56: 1219-1228 (1999).
 11. Aoki, S., Setiawan, A., Yoshida, Y., Higuchi, K., Fudetani, R., Chen, Z-S., Sumizawa, T., Akiyama, S., and Kobayashi, M. Reversal of multidrug resistance in human carcinoma cell line by agosterols, marine spongean sterols. *Tetrahedron*, 55: 13965-13972 (1999).
 12. Kawabe, T., Chen, Z-S., Wada, M., Uchiumi T., Ono, M., Akiyama, S., and Kuwano M. Enhanced transport of anticancer agents and leukotriene C4 by the human canalicular multispecific organic anion transporter. *FEBS Lett.*, 465: 327-331 (1999).
 13. Hasui, K., Sato E., Kitazono M., Akiyama, S., Tanaka, Y., Higashi, M., Taki, C., Sakoda A., Tashiro, Y., and Shirahama, H. Immunohistochemical analysis of thymidine phosphorylase overexpression in malignant lymphomas (ML), especially in adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Dendritic Cells*, 9: 15-25 (1999).
 14. Komatsu, M., Sumizawa, T., Mutoh, M., Chen, Z-S., Terada, K., Furukawa, T., Yang, X-L., Hui Gao., Miura, T., Sigiya T., and Akiyama, S. Copper transporting P-type ATPase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance. *Cancer Res.*, 60: 1312-1316 (2000).
 15. Arima, J., Imazono, Y., Takebayashi Y., Nishiyama K., Shirahama, T., Akiba, S., Akiyama, S., and Ohi, Y. Expression of thymidine phosphorylase as an indicator of poor prognosis in human transitional cell carcinoma. *Cancer*, 88:1131-1138 (2000).
 16. Shimaoka, S., Matsushita, S., Nitanda, T., Matsuda, A., Nioh, T., Suenaga, T., Nishimata, Y., Akiba, S., and Akiyama, S. Role of thymidine phosphorylase expression in the invasion of gastric carcinomas. *Cancer* (in press).
 17. Ren X-Q., Furukawa, T., Chen, Z-S., Okumura, H., Aoki, S., Sumizawa, T., Tani, A., Komatsu, M., Mei X-D, and Akiyama, S. Functional comparison between YCF1 and MRP1 expressed in Sf21 insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, (in press).
- 2.学会発表
1. Matsushita, S., Nitanda, T., Furukawa, T., Sumizawa, T., Tani, A., Nishimoto, K., Akiba, S., Miyadera, K., Fukushima, M., Yamada, Y., Yoshida, Hi., Kanzaki, T., and Akiyama, S. The effect of a thymidine phosphorylase inhibitor on angiogenesis and apoptosis in tumors. Eighty-fifth Annual Meeting, AACR. Philadelphia, PA, 1999.
 2. Kawabe, T., Chen, Z-S., Wada, M., Uchiumi T., Ono, M., Akiyama S. and Kuwano M. Enhanced transport of anticancer agents and leukotriene C4 by the human canalicular multispecific organic anion transporter. Eighty-fifth Annual Meeting, AACR. Philadelphia, PA, 1999.
 3. Kitazono, M., Sumizawa, T., Takebayashi, Y., Tani A., Chen, Z.S. Furukawa, T., Aikou T., and Akiyama S. LRP is involved in multiple drug resistance. Eighty-fifth Annual Meeting, AACR. Philadelphia, PA, 1999.
 4. Chen, Z.S., Sumizawa, T., Furukawa, T., Ono, K., Tani, A., Komatsu, M., and Akiyama S. An enhanced active efflux of CPT-11 and SN-38 in cisplatin-resistant human KB carcinoma cells. Eighty-fifth Annual Meeting, AACR. Philadelphia, PA, 1999.
 5. 後藤久嗣、小野眞弓、河野公俊、秋山伸一、曾根三郎、桑野信彦. 炎症性サイトカインによるThymidine Phosphorylase (TP) の誘導と調節機構
第58回日本癌学会総会1999年
 6. 住澤知之、北園正樹、竹林勇二、陳 哲生、古川龍彦、長山周一、谷 綾子、高尾尊身、愛甲 孝、秋山伸一. LRP(lung resistance-related protein) は多剤耐性に関与する。
第58回日本癌学会総会1999年
 7. 成人T細胞白血病(ATL)における多剤耐性関連蛋白の発現とその克服. 大納伸人、谷 綾子、陳 哲生、古川龍彦、住澤知之、秋山伸一。
第58回日本癌学会総会1999年
 8. 高尾尊身、楊 宏慶、福留哲郎、中条哲浩、久保昌亮、緒方俊二、内倉敬一郎、夏越祥次、秋山伸一、愛甲 孝. 癌細胞におけるThymidine phosphorylase発現の基底膜浸潤能に及ぼす影響
第58回日本癌学会総会1999年
 9. 胃癌の発育・進展におけるThymidine phosphorylase (TP) の発現について. 島岡俊治、松下茂人、西俣嘉人、秋山伸一、西俣寛人。
 10. Taxus pine C誘導体による多剤耐性細胞の薬剤感受性増強作用. 奥村 浩、陳 哲生、酒向孫市、住澤知之、古川龍彦、谷 綾子、高尾尊身、石田良司、愛甲 孝、秋山伸一
第58回日本癌学会総会1999年
 11. ヒトcMOATの輸送に対する多剤耐性克服薬剤の効果. 陳 哲生、小野眞由美、河邊、住澤知之、古川龍彦、内海健、和田守正、小松正治、谷 綾子、桑野信彦、秋山伸一
第58回日本癌学会総会1999年

厚生科学研究費補助金(がん克服戦略研究事業)
分担研究報告書

「新しいがん薬物療法の研究」班 抗癌剤耐性遺伝子を応用した癌薬物療法に関する研究

分担研究者

杉本 芳一



財団法人癌研究会癌化学療法センター
分子生物治療研究部 部長

研究要旨

癌および正常細胞の抗癌剤感受性、耐性を規定する新しい因子として、遺伝子発現の低下、抑制により細胞を抗癌剤耐性とするサプレッサー型耐性因子を単離同定した。得られた新規遺伝子 TASP がコードする蛋白は 450 アミノ酸よりなる膜蛋白と推定され、細胞膜を 7 回貫通する構造をもつ G-protein 受容体であると推定された。TASP の antisense を発現する retrovirus を導入された NIH3T3 細胞は Adriamycin 耐性と paclitaxel 耐性を同時に獲得した。よって TASP は細胞の Adriamycin 感受性と paclitaxel 感受性に関与していると推定された。

また、既知のサプレッサー型耐性因子として、DNA topoisomerase I の変異体の抗癌剤耐性に対する関与を調べた。RPMI8402 細胞の CPT-11 耐性細胞 K5 で発現している Gly-533 変異型 DNA topoisomerase I を導入したマウス NIH3T3 細胞は、親株に比して camptothecin に約 2 倍の耐性を獲得した。HT-29 細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT で発現している野生型より短い DNA topoisomerase I mRNA は、DNA topoisomerase I 遺伝子の exon 3 から exon 9 までが欠損したものであった。この欠損型 cDNA の全長を発現ベクターに組み込み、マウス NIH3T3 細胞に導入したが、遺伝子導入細胞の camptothecin 感受性は変化しなかった。

癌化学療法の有効性と安全性を向上させるための MDR1 遺伝子治療の計画を推し進めた。

A. 研究目的

癌および正常細胞の抗癌剤感受性、耐性を規定する新しい因子として、遺伝子発現の低下、抑制により細胞を抗癌剤耐性とするサプレッサー型耐性因子を単離同定し、その機能を明らかにする。また、既知のサプレッサー型耐性因子として、DNA topoisomerase I の変異体の抗癌剤耐性に対する関与を調べる。

B. 研究方法

新規サプレッサー型耐性因子の単離同定する方法として、マウス NIH3T3 細胞の cDNA 断片を LNCX retrovirus ベクターに組み込んで antisense mRNA あるいは dominant-negative peptide を発現させるように構築した retrovirus expression library を作製して NIH3T3 細胞に導入する。抗癌剤耐性となった遺伝子導入細胞に retrovirus のヘルパープラスミドを導入して組み込まれた retrovirus を回収し、NIH3T3 細胞に再導入することにより、retrovirus の発現が抗癌剤耐性に関与していることを確認する。この耐性細胞株に組み込まれた retrovirus 中の cDNA を PCR により回収し、さらにこれをもとに全長 cDNA を単離し、構造を決定する。得られた遺伝子産物の機能の解析を行い、抗癌剤感受性のメカニズムを明らかにする。

既知のサプレッサー型耐性因子としては DNA topoisomerase I に着目して研究を行う。DNA topoisomerase I を標的とする抗癌剤である camptothecin 類に耐性を獲得した細胞株のうち、RPMI8402 細胞の CPT-11 耐性細胞 K5 では 533 番目のアミノ酸がグリシンに変異した DNA topoisomerase I が、また、HT-29 細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT では野生型より短い DNA topoisomerase I mRNA が発現している。これら耐性細胞株で発現しているアミノ酸変異型、あるいは部分欠損型の DNA topoisomerase I 遺伝子を単離して発現ベクターに組み込み、細胞に導入して、遺伝子導入細胞における camptothecin 感受性の変化を調べる。

(倫理面への配慮)

培養細胞を用いた研究については、とりたてて倫理面への配慮は必要ない。

癌化学療法の有効性と安全性を向上させるための MDR1 遺伝子治療の臨床研究については、2000 年 2 月 24 日に厚生大臣、文部大臣より実施して差し支えない旨の意見書を得た。この臨床研究は、実施計画書に従い、対象患者よりインフォームドコンセントを取得した後に行われる。

C. 研究結果

マウス NIH3T3 細胞由来の retrovirus cDNA library を NIH3T3 細胞に導入し、種々の抗癌剤で選択して耐性クローンを単離し、組み込まれた cDNA を解析した。既知の遺伝子としては、NADH-ubiquinone oxidoreductase の chain 5 の antisense の導入によって細胞が Adriamycin 耐性を獲得すること、vacuolar assembly protein VPS41 の一部に相当するペプチドの発現で細胞が paclitaxel 耐性を獲得することが示された。

新規遺伝子としては、Adriamycin 耐性クローン Ac2 株に組み込まれた cDNA の構造解析を行った。この遺伝子は、その発現がマウスでは testis と embryo に高いことから、TASP (Testis-specific Adriamycin Sensitivity Protein) と名付けられた。TASP 全長 cDNA がコードする蛋白は 450 アミノ酸よりなる膜蛋白と推定され、細胞膜を 7 回貫通する構造をもつ G-protein 受容体である p40 とアミノ酸レベルで 54% の高い相同性を示した。このことは、TASP も G-protein と共役して細胞のシグナル伝達に関与することを示唆する。

Ac2 株に組み込まれた retrovirus (TASP の antisense を発現する) を再導入された NIH3T3 細胞は Adriamycin 耐性と paclitaxel 耐性を同時に獲得した。よって TASP は細胞の Adriamycin 感受性と paclitaxel 感受性に関与していると推定された。

RPMI8402 細胞の CPT-11 耐性細胞 K5 で発現している Gly-533 変異型 DNA topoisomerase I を導入したマウス

NIH3T3細胞は、親株に比して camptothecin に約2倍の耐性を獲得したり。

HT-29細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT で発現している野生型より短い DNA topoisomerase I mRNA は、DNA topoisomerase I 遺伝子の exon 3 から exon 9 までが欠損したものであった。この欠損型 cDNA の全長を発現ベクターに組み込み、マウス NIH3T3 細胞に導入したが、遺伝子導入細胞の camptothecin 感受性は変化しなかった⁹⁾。

癌化学療法の有効性と安全性を向上させるための MDR1 遺伝子治療の計画を推し進めた²³⁾。

D. 考察

本手法を用いていくつかの抗癌剤感受性に関与すると推定される新しい遺伝子を単離することができることが示された。これまでの抗癌剤耐性の研究は dominant な抗癌剤耐性遺伝子に関する研究が中心であったが、細胞の抗癌剤感受性に関与する遺伝子群の同定は、癌細胞の抗癌剤耐性化機構の理解に新しい貢献をすると期待される。

2系の異なる camptothecin 耐性細胞で、変異型 DNA topoisomerase I mRNA の発現が見られた。RPMI8402細胞の CPT-11 耐性細胞 K5 で発現している Gly-533 変異型 DNA topoisomerase I は、dominant に camptothecin 耐性遺伝子として働くことと推定された。

HT-29細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT で発現している exon 3 から exon 9 までが欠損した DNA topoisomerase I mRNA は、細胞内の CPT 感受性な DNA topoisomerase I の発現を減少させて camptothecin 耐性としていると推定された。

E. 結論

新規 G-protein 受容体遺伝子 TASP を単離した。TASP の antisense を発現する retrovirus を導入された NIH3T3 細胞は Adriamycin 耐性と paclitaxel 耐性を同時に獲得した。よって TASP は細胞の Adriamycin 感受性と paclitaxel 感受性に関与していると推定された。

RPMI8402細胞の CPT-11 耐性株 K5 で発現している Gly-533 変異型 DNA topoisomerase I の cDNA を導入したマウス NIH3T3 細胞は、親株に比して camptothecin に約2倍の耐性を獲得した。HT-29細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT で発現している exon 3 から exon 9 までが欠損した DNA topoisomerase I の cDNA の全長を導入した細胞では、camptothecin に対する感受性は変化しなかった。

癌化学療法の有効性と安全性を向上させるための MDR1 遺伝子治療の計画を推し進めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanase, K., Sugimoto, Y., Andoh, T., Tsuruo, T.
Retroviral expression of a mutant (Gly-533) human DNA topoisomerase I cDNA confers a dominant form of camptothecin resistance. *Int. J. Cancer*, 81: 134-140 (1999)
2. Hibino, H., Tani, K., Ikebuchi, K., Wu, M., Sugiyama, H., Nakazaki, Y., Tanabe, T., Takahashi, S., Tojo, A., Suzuki, S., Tanioka, Y., Sugimoto, Y., Nakahata, T., and Asano, S.
The common marmosets as a target preclinical primate model for cytokine and gene therapy studies. *Blood* 93: 2839-2848 (1999)

3. Sugimoto, Y., Tsuruo, T., Pastan, I., and Gottesman, M. M.
Bicistronic retrovirus vectors encoding drug-resistant genes. *In: R. A. Aubin (ed.), Transgene Delivery and Expression in Mammalian Cells (a volume of Methods in Molecular Biology)* Humana Press, in press
4. Yanase, K., Sugimoto, Y., Tsukahara, S., Oh-hara, T., Andoh, T., and Tsuruo, T. Identification and characterization of a deletion mutant of DNA topoisomerase I mRNA in a camptothecin-resistant subline of human colon carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, in press

2. 学会発表

杉本芳一. 抗癌剤耐性遺伝子を用いた遺伝子治療 第17回日本ヒト細胞学会大会シンポジウム. 指宿 (1999)

杉本芳一、塚原里美、佐藤重男、相羽恵介、鶴尾隆. ヒト CD34 抗原陽性細胞への MDR1 遺伝子導入. 第58回日本癌学会総会、広島 (1999)

旦慎吾、木崎厚生、内藤幹彦、杉本芳一、鶴尾隆. レトロウイルス感染により得られた抗がん剤誘導アポトーシス耐性細胞の原因遺伝子の探索. 第58回日本癌学会総会、広島 (1999)

木崎厚生、旦慎吾、内藤幹彦、杉本芳一、鶴尾隆. アポトーシス耐性細胞 UL42 で発現が亢進している遺伝子の単離とその解析. 第58回日本癌学会総会、広島 (1999)

塚原里美、杉本芳一、柳瀬香恵、鶴尾隆. 抗癌剤の感受性を規定する新しい因子の同定. 第58回日本癌学会総会、広島 (1999)

新規核酸代謝拮抗剤を用いたがん治療の開発

（分担）研究者 佐々木琢磨 金沢大学がん研究所化学療法部・教授

核酸代謝を分子標的とした新規抗腫瘍性ヌクレオシド類の薬剤感受性規定因子の解明を目的に、抗腫瘍性とアポトーシス誘導作用との関連性、特に野生型 p53 の関与を検討した。その結果、p53 遺伝子の表現型はシトシンヌクレオシド類に対する薬剤感受性を規定する重要な因子であることを *in vitro*、*in vivo* の実験系で明らかにした。また、変異型 p53 を有する細胞であっても野性型 allele が維持されている場合、感受性の差がより明瞭に現れることがわかった。

A. 研究目的

新規作用機序を有する抗がん剤の開発を目指し、がん細胞の生物学的機能の解析を行うとともに 2,4, 11, 15, 16, 18, 19, 20)、種々の新しい化学構造を持つ物質の抗腫瘍性を明らかにしてきた 5, 6, 7, 8, 12, 14, 17, 21)。特に、核酸代謝酵素を分子標的とした新規抗腫瘍性シトシンヌクレオシド類 (DMDC, CNDAC, ECyd) の開発研究は 1, 3, 9, 10, 13)、難治がんに対する有効な治療戦略を与えるものと考えられる。そこで本研究では、これら抗腫瘍性シトシンヌクレオシド類の薬剤感受性規定因子の解明を目的に、抗腫瘍活性とアポトーシス誘導作用との関連性、さらにアポトーシス誘導における野生型 p53 の関与を検討し、臨床応用に寄与することを目指している。

B. 研究方法

我々が樹立した高度腹膜播種性ヒト胃がん細胞 MKN-45P に p53 変異の hotspot であり、dominant negative に作用することが知られる codon 143、248、273 の変異型遺伝子 (V143A, R248W, R273L) を導入した。また、比較対照としては、MKN-45P 細胞に blasticidin 耐性遺伝子のみを有するコントロールベクターを導入した細胞 (MKN-45P/bsr) を用いた。変異遺伝子導入細胞におけるシトシンヌクレオシド (CNDAC, ECyd)、CDDP および ADM に対する感受性を *in vitro* MTT 法により検討した。さらに、薬剤処理後、各細胞における細胞形態の変化を蛍光色素染色法およびギムザ染色法により、また DNA 断片化をアガロースゲル電気泳動法により観察することによりアポトーシス誘導感受性を比較した。変異遺伝子導入細胞のヌードマウス腹腔内移植の 3 日後に、ECyd を腹腔内投与し、投与後 24 時間における腹腔内のがん細胞におけるアポトーシス細胞をギムザ染色法により観察した。腹膜播種モデルにおける薬剤感受性を比較するために、MKN-45P 細胞 (1×10^7) を腹腔内移植 1 日後より CNDAC 30 mg/kg または ECyd 0.3 mg/kg を隔日 9 回、腹腔内投与した。薬剤感受性は、延命率を比較することにより評価した。

C. 研究結果

V143A 変異型 p53 導入細胞では、ヌクレオシド誘

導体に対する *in vitro* での薬剤感受性の低下は認められず、アポトーシス感受性についても相違は認められなかった。一方、R248W および R273L 細胞は *in vitro* において CNDAC、ECyd、CDDP および ADM のいずれの薬剤に対しても低感受性を示したが、高濃度 (IC50 値の 20 倍) でのアポトーシス誘導に対する感受性には顕著な相違は認められなかった。しかし、変異型 p53 の遺伝子導入細胞をヌードマウスに移植し *in vivo* におけるアポトーシス誘導に対する感受性を比較検討した結果、変異型 (R248W) 導入細胞ではアポトーシス細胞が親株に比して 1/6 以下に減少していた。さらに、腹膜播種モデルでの ECyd および CNDAC に対する薬剤感受性を MKN-45P/bsr と R273L 細胞とで比較した結果、ECyd および CNDAC は MKN-45P/bsr 細胞移植マウスと R273L 細胞移植マウスのいずれにおいても対照群と比較して有意な延命効果を示したが、ECyd の延命効果は MKN-45P/bsr 細胞移植マウスに比べ (T/C 188.6%)、R273L 細胞移植マウスにおいて明らかに減少していた (T/C 146.9%)。また、CNDAC の効果も MKN-45P/bsr 細胞移植マウス (T/C 238.6%) に比較して、R273L 細胞移植マウス (T/C 198.0%) において減少傾向を示した。

D. 考察

以上の結果より、p53 遺伝子の表現型はシトシンヌクレオシドに対する *in vitro* および *in vivo* における薬剤感受性を規定する重要な因子の一つとなることが明らかになった。特に、シトシンヌクレオシドに対する薬剤感受性の違いは *in vivo* において顕著に認められ、このことは変異型 p53 を有する細胞であっても野性型 allele が維持されている場合、低濃度で感受性の差がより明瞭に現れることを示している。

E. 結論

核酸代謝酵素を分子標的とした新規抗腫瘍性シトシンヌクレオシド類は、ヒト胃がん腹膜播種モデルにおいて顕著な延命効果を示し、難治がんに対する有効な治療薬となることが明らかになった。また、これらの薬剤の薬剤感受性を規定する因子として、p53 遺伝子の表現型が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Uchida, H., Chen, Y-X., Morinaga, H., Hayashi, Y., Matsuda, A., Obata, T., Endo, Y., and Sasaki, T. Isolation of deoxycytidine kinase from Ehrlich carcinoma cells by affinity chromatography based on a substrate analog, 2'-C-cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabino-uranosyl-N4-palmitoylcytosine. *Biol. Pharm. Bull.*, 22: 83-86 (1999).
2. Imao, T., Koshida, K., Endo, Y., Uchibayashi, T., Sasaki, T., and Namiki, M. Dominant role of E-cadherin in the progression of bladder cancer. *Urology*, 161: 692-698 (1999).
3. Zhang, M., Endo, Y., and Sasaki, T. Determinants in chemosensitivity of oncogene-transformed NIH3T3 cells to 2'-C-cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabino-furanosylcytosine. *Internatl. J. Oncol.*, 14: 543-549 (1999).
4. Konaka, H., Koshida, K., Endo, Y., Uchibayashi, T., Sasaki, T., and Namiki, M. A human seminoma xenograft model with regional lymph node metastasis. *J. Urology*, 161: 342-348 (1999).
5. Uenishi, J., Kobayashi, N., Komine, S., Okadai, T., Yonemitsu, O., Sasaki, T., and Yamada, Y. Total synthesis of (+)-acetomycin and design of esterase resistant analogs. *Chem. Pharm. Bull.*, 47: 517-523 (1999).
6. Matsumoto, H., Ikeda, K., Nagata, N., Takayanagi, H., Mizuno, Y., Tanaka, M., and Sasaki, T. Synthesis of 2,8-disubstituted imidazole[1,5-a]pyrimidines with potent antitumor activity. *J. Med. Chem.*, 42: 1661-1666 (1999).
7. Ogawa, A., Shuto, S., Tanaka, M., Sasaki, T., Mori, S., Shigeta, S., and Matsuda, A. Synthesis and biological activities of pyrimidine carbocyclic nucleosides with a hydroxyamino group instead of a hydroxymethyl group at the 4'-position of the sugar moiety. *Chem. Pharm. Bull.*, 47: 1000-1005 (1999).
8. Miyamoto, T., Sakamoto, K., Amano, H., Arakawa, Y., Nagarekawa, Y., Komori, T., Higuchi, R., and Sasaki, T. New cytotoxic sesterterpenoids from the nudibranch *Chromodoris inornata*. *Tetrahedron*, 55: 9133-9142 (1999).
9. Matsuda, A., Fukushima, M., Wataya, Y., and Sasaki, T. A new antitumor nucleoside, 1-(3'-C-ethynyl- β -D-ribo-pentofuranosyl)-cytosine (ECyd), is a potent inhibitor of RNA synthesis. *Nucleosides & Nucleotides*, 18: 811-814 (1999).
10. Takatori, S., Kanda, H., Takenaka, K., Wataya, Y., Matsuda, A., Fukushima, M., Shimamoto, Y., Tanaka, M., and Sasaki, T. Antitumor mechanisms and metabolism of novel antitumor nucleoside analogues, 1-(3'-C-ethynyl- β -D-ribo-pentofuranosyl)cytosine and 1-(3'-C-ethynyl- β -D-ribo-pentofuranosyl)uracil. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 44: 97-104 (1999).
11. Yonemura, Y., Endo, Y., Fujita, H., Fushida, S., Ninomiya, I., Bandou, E., Taniguchi, K., Miwa, K., Ohya, S., Sugiyama, K., and Sasaki, T. Role of vascular endothelial growth factor C expression in the development of lymph node metastasis in gastric cancer. *Clinical Cancer Res.*, 5: 1823-1829 (1999).
12. Nomura, M., Shuto, S., Tanaka, M., Sasaki, T., Mori, S., Shigeta, S., and Matsuda, A. Synthesis and biological activities of 4'-C branched-chain sugar pyrimidine nucleosides. *J. Med. Chem.*, 42: 2901-2908 (1999).
13. Hanaoka, K., Suzuki, M., Kobayashi, T., Tanzawa, F., Tanaka, K., Shibayama, T., Miura, S., Ikeda, T., Iwabuchi, H., Nakagawa, A., Mitsuhashi, Y., Hisaoka, M., Kaneko, M., Tomida, A., Wataya, Y., Nomura, T., Sasaki, T., Matsuda, A., Tsuruo, T., and Kurakata, S. Antitumor activity and novel DNA self-strand-breaking mechanism of CNDAC (1-(2'-C-cyano-2'-deoxy- β -D-arabino-pento-furanosyl)cytosine) and its N4-palmitoyl derivative (CS-682). *Internatl. J. Cancer*, 82: 226-236 (1999).
14. Miura, S., Yoshimura, Y., Endo, M., Satoh, H., Machida, H., and Sasaki, T. Comparison of 1-(2'-deoxy-2-fluoro-4-thio- β -D-arabino-furanosyl)-cytosine with gemcitabine in its antitumor activity. *Cancer Lett.*, 144: 177-182 (1999).
15. Yonemura, Y., Fujimura, T., Fushida, S., Fujita, H., Bando, E., Nishimura, G., Miwa, K., Endo, Y., Tanaka, M., and Sasaki, T. A new surgical approach (peritonectomy) for the treatment of peritoneal dissemination. *Hepat Gastroenterology*, 46: 601-609 (1999).
16. Stine, J. T., Wood, C., Raport, C., Epp, A., Schweiickart, V., Endo, Y., Simmons, G., Boshoff, C., Clapham, P., Chang, Y., Moore, P., Gray, P. W., Sasaki, T., and Chantry, D. The Kaposi's sarcoma associated herpesvirus chemokine vMIP-III is a functional ligand for CCR4 and a selective chemoattractant for TH2 cells. *J. Exp. Med.*, in press.
17. Maeda, M., Iigo, M., Tsuda, H., Fujita, H., Yonemura, Y., Endo, Y., and Sasaki, T. Antimetastatic and antitumor activity of 2,4-diamino-6-(pyridine-4-yl)-1,3,5-triazine (4PyDAT) in mice transplanted with the high lung metastatic colon 26 tumor. *Anticancer Drugs*, in press.
18. Ninomiya, I., Endo, Y., Fushida, S., Sasagawa, T., Miyashita, T., Fujimura, T., Nishimura, G., Tani, T., Hashimoto, T., Yagi, M., Shimizu, K., Ohta, T., Yonemura, Y., Inoue, M., Sasaki, T., and Miwa, K. Alternation of β -catenin expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Int. J. Cancer*, 85: 757-761 (2000).
19. Ninomiya, I., Ohta, S., Fushida, S., Endo, Y., Hashimoto, T., Fujimura, T., Nishimura, G., Tani, T., Shimizu, K., Yonemura, Y., Kimura, K., Heizmann, C. W., Sasaki, T., and Miwa, K. Alternation of β -catenin expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, in press.
20. Kimura, K., Endo, Y., Yonemura, Y., Heizmann, C. W., Watanabe, Y., and Sasaki, T. Clinical significance of S100A4 and E-cadherin-related adhesion molecules in non-small cell lung cancer. *Internatl. J. Oncol.*, in press.
21. Moriguchi, T., Asai, N., Wada, T., Seio, K., Sasaki, T., and Sekine, M. Synthesis and antitumor activity of Phomidosine A and its N-acylated species. *Tetrahedron Lett.*, in press.

2. 学会発表

1. Tsuji, A., Tamai, I., Saheki, A., Nakanishi, T., Fukushima, M., Matsuda, A., and Sasaki, T. Facilitative transport of antitumor nucleosides, 3'-ethynylcytidine (ECyd, TAS 106) and 3'-ethynyluridine (EURd). 90th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (Proceedings # 1977, Philadelphia, 1999).
2. Tanaka, M., Endo, Y., Fukushima, M., Matsuda, A., and Sasaki, T. Correlation between drug sensitivity of a novel nucleoside, 3'-ethynylcytidine (ECyd, TAS-106), and uridine/cytidine kinase (U/C kinase) activity in drug sensitive and resistant cells. 90th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (Proceedings # 1978, Philadelphia, 1999).
3. Shimamoto, Y., Murakami, Y., Kazuno, H., Fukushima, M., Tanaka, M., Matsuda, A., and Sasaki, T. Effect of the TAS-106 (3'-ethynylcytidine, ECyd) dosage schedule on antitumor efficacy in experimental human cancer. 90th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (Proceedings # 1979, Philadelphia, 1999).

厚生科学研究費補助金（がん克服10ヶ年総合戦略研究事業）
分担研究報告書

新しいがん薬物療法の研究
分担研究課題「抗癌剤の第I相 第I/II相試験の研究」

分担研究者 田村友秀 国立がんセンター中央病院 医長

研究要旨：我々の実施した新規抗悪性腫瘍薬6剤の7つの第I相試験について開始量と増量法の妥当性、問題点を解析した。Fibonacci 変法による増量では多くの増量段階を必要とする可能性が指摘された。倍増法との併用でも、特に非血液毒性でうまく機能しない例があった。薬物動態の情報は極めて有用ではあるが、これのみに頼るにはリスクがある。初めての第I相試験での開始量として1/10マウスLD10あるいは1/3イヌTDLは妥当といえる。すでに臨床データのある場合には、より高い開始量の設定が可能であるが、違う投与方法での新たな毒性の出現の可能性に十分な注意が必要である。

A. 研究目的

新規抗悪性腫瘍薬の第I相試験における適切な開始量・増量計画の設定指針の構築

B. 研究計画

第I相試験において設定した開始量・増量計画の妥当性と問題点について検討する。

C. 研究方法

我々の実施した新規抗悪性腫瘍薬6剤の7つの第I相試験について開始量と増量法の設定方法、結果からみたその妥当性および問題点を解析する。

D. 研究結果

(1)開始量と増量計画

初めての第I相試験となる4試験（薬剤ABDE）においては、開始量を1/10マウスLD10としたものが2試験、1/3イヌTDLとしたものが2試験であった。1/3イヌTDLを採用した2試験は、1/10マウスLD10より低値、および難溶性のため1/10マウスLD10決定不能、のためであった。これら4試験の増量法は、Fibonacci変法(2)、PGDE (pharmacokinetically-guided dose escalation)、倍増法（規定の毒性出現後Fibonacci変法）であった。一方、海外データのある薬剤Cでは、開始量を推奨量の50%、増量幅を開始量の25%としており、異なる投与方法（単回）の臨床データのある2剤では開始量を前試験で安全とされる投与量を5分割して用い、増量幅をそれぞれ50%、100%と設定している。

(2)Fibonacci変法を採用した試験で生じた問題点

Fibonacci変法を採用した2試験のうち、薬剤Bは好中球減少がDLTとなりレベル5がMTD、レベル4が推奨量とほぼねらいどおりの結果となった。一方、薬剤Dではレベル5まで増量され、倦怠感・肺毒性などの非血液毒性を総合評価した上でこれ以上の増量は行わないと決定された。これは海外で同時進行した試験の結果を考慮合わせたうえでの結論で、それなしではさらに増量は続いたと考えられる。

(3)倍増→Fibonacci変法を採用した試験で生じた問題点

薬剤Eの試験では、一定の毒性が出現するまで倍増法その後Fibonacci変法とする計画であったが、第1例めに肝障害grade3の毒性が出現し、直ちにFibonacci変法が採用された。しかし、肝障害はその後全く出現せず、6投与量レベルまで増量され、DLTは血液毒性となった。結局、第1例以後の10例ほどはほとんど毒性を認めず、総計29例の登録を要することとなった。

(4)PGDEを採用した試験で生じた問題点

PGDEを採用した薬剤Aでは、規定に従うと開始量の6倍量への増量となったが、効果安全性委員会の勧告によりまず半分の3倍量へ増量された。3倍量までの症例の半数に投与局所の血管炎が認められていたが、次レベル（レベル3）6倍量の1例めで薬剤の局所刺激性に起因する重篤な毒性がみられたため、試験は全7例で終了となった。

(5)すでに臨床データのある薬剤の試験

薬剤Cは、予定どおり海外での第I相試験とほぼ同様の結果を得て、終了した。薬剤Fは、国内の単回投与方法のデータが存在したが、そこで報告さ

れてなかった血管炎によりわずか4例で試験を終了する結果となった。

E. 考察

初めての第I相試験では、規定どおり1/10マウスLD10あるいは1/3イヌTDLが採用されている。薬剤Eでは1/10マウスLD10を採用した場合、すでに開始量でMTDを越える結果となり、1/3イヌTDLの採用が妥当であった。Fibonacci変法による増量ではまずまずうまく機能していたが、多くの増量段階を必要としてしまう可能性は十分考えられた。その改良型ともいえる倍増法との併用は、薬剤Eの場合1例のみの"特殊な毒性"のためうまく機能せず、結局多くの症例を必要とした。改善策としては、複数例の毒性を確認してFibonacciに切り替える方法が考えられる。PGDEを採用した試験では、マウスと異なる毒性の出現というPGDE採用の前提条件よりはずれの落とし穴をみることとなった。増量において薬物動態の情報は極めて有用ではあるが、PGDEのみに頼るのはリスクが高いと言わざるを得ない。すでに臨床データのある場合には、より高い開始量の設定が可能であるが、違う投与方法での新たな毒性の出現の可能性に十分な注意が必要である。また、特にDLTが非血液毒性であった場合にうまく機能しない傾向がみられた。

F. 発表論文

1. Sekine, I., Tamura, T., Kunitoh, H., Kubota, K., Shinkai, T., Kamiya, T., Saijo, N., Progressive disease rate as a surrogate endpoint of phase II trials of non-small cell lung cancer: *Ann Oncol*, 10: 731-733, 1999

2. Yamamoto, N., Tamura, T., Fukuoka, M., Saijo, N., Survival and prognostic factors in lung cancer patients treated in phase I trials: Japanese experience *Int. J. Oncol.*, 15: 737-741, 1999

3. Harada, T., Takabe, K., Hara, T., Yamamoto, N., Tamura, T., Saijo, N., Inhibitory effects off repeated iv injections of dexamethasone on pulmonary toxicity of a new mitomycin C analogue, KW-2149, in a novel rat model. *J. Toxicol. Sci.* 25:11-15, 2000

4. Kunitoh, H., Sekine, I., Kubota, K.,

Tamura, T., Shinkai, T., Kodama, T., Saijo, N., Naruke, T., Yamaguchi, N., Histologic types of lung carcinoma and related family history of anatomic sites and histologic types of cancers. *Cancer*, 86: 1182-1188, 1999

5. Fukumoto, H., Tamura, T., Kamiya, Y., Usuda, J., Suzuki, T., Kanzawa, F., Hyojeong Kuh., Ohe, Y., Saijo, N., Nishio, K., Activation-induced apoptosis of peripheral lymphocytes treated with 7-hydroxystaurosporine, UCN-01. *Investigational New Drugs* 17:335-341, 1999

厚生科学研究費補助金（平成 11 年度がん克服戦略研究事業「新しいがん薬物療法の研究」班）
分担研究報告書

抗癌剤の第 I 相試験の新しい方法論の開発
分担研究者 南 博信（国立がんセンター東病院医師）

研究要旨

新しい抗癌剤の第 I 相試験の増量方法である pharmacokinetically guided dose escalation (PGDE) において、増量の指標として用いる薬物動態パラメーターとして蛋白非結合の薬物濃度曲線下面積(AUC)でなく総濃度の AUC を用いることができるかどうか検討するため、マウス、イヌ、ヒトにおける投与量と AUC の関係および AUC と白血球減少率の関係の種差を、蛋白非結合の AUC(AUC_u)と総薬物の AUC(AUC_t)で比較した。投与量と AUC の関係および AUC と白血球減少率の関係いずれにおいても、AUC_tでは種差が大きかったが AUC_uではほぼ一致した。PGDE においては AUC_tではなく AUC_uを用いる必要があることが確認された。

A. 研究目的

至適な抗癌剤治療のためには、疾病の病態生理の解明とともに抗癌剤の臨床薬理学的知見に基づいた治療が必要である。また、臨床薬理学的情報は Pharmacokinetically guided dose escalation (PGDE)に代表されるように、効率的な抗癌剤開発にも重要な役割を果たす。TOP-53 の第 I 相試験では PGDE を応用したが、その際、PGDE の指標として蛋白非結合の薬物濃度曲線下面積(AUC_u)を用いた。しかし、血漿蛋白と結合した薬物も含む総濃度は測定が簡便であり、その時間曲線下面積(AUC)を指標として用いることができれば PGDE を簡素化できる。AUC_uを PGDE の指標とする必要性を検討する目的で、投与量と AUC の関係および AUC と白血球減少率の関係を、AUC_uと AUC_tにおいてマウス、イヌ、ヒトで比較した。

B. 研究方法

epipodophyllotoxin の誘導体である TOP-53 を対象とした。本剤は前臨床動物でも白血球減少が主たる毒性であることを確認した後、マウスに 5.7、28.5、

56.7 mg/m²、イヌに 14.9、29.7、59.4、79.2 mg/m² の TOP-53 を投与し、血漿中の薬物総濃度および蛋白非結合濃度を測定し AUC_tおよび AUC_uを算出してヒトと比較した。また、血球数を経時的に測定し、白血球数最低値と前値の差を前値で除した白血球減少率(SF)を算出し、AUC との薬力学的関係をヒトと比較検討した。ヒトにおける臨床第 I 相試験では PGDE を応用し、5.7、11.4、22.8、45.6、60.4、80.4、107.2、143.1 mg/m²と増量した。投与量と AUC の関係および AUC と白血球減少率の関係を、マウス、イヌ、ヒトにおいて比較した。その際、投与量と AUC の関係の解析には線形モデル、 $AUC = a \times Dose$ を、AUC と白血球減少率の関係の解析には sigmoidal Emax model、 $SF = 100 \times AUC^r / (AUC^r + EC^r)$ を用いた。ここで、a、r、EC は係数である。

次に、camptothecin の誘導体である DX-8951f においても同様の検討を行なった。DX-8951f に対する感受性は、前臨床動物のうちイヌが最も高かったので、イヌとヒトの比較を行なった。投与量はイヌでは 0.1、0.4、2.2、11.0、22.9、55.8 mg/m²、ヒトでは臨床第 I 相試験の 3.0、5.0、6.65 mg/m² におけるデー

タを用いた。

(倫理面への配慮)

臨床第 I 相試験計画書の承認を倫理委員会で得るとともに、第 I 相試験の性格、危険性などを患者に十分説明したのち、インフォームドコンセントの得られた患者のみを対象とした。

C. 研究結果

TOP-53 の投与量と AUC の関係を線形モデルで解析したところ、 AUC_i を用いた時の係数 a は、マウス、イヌ、ヒトにおいてそれぞれ、53、19、338 ($\text{hr} \times \text{m}^2/\text{L}$) と差を認めたのに対し、 AUC_u を用いたときの係数は、22、10、17 ($\text{hr} \times \text{m}^2/\text{L}$) とほぼ一致した。これをクリアランスで検討すると、総濃度に関してのクリアランスはマウス、イヌ、ヒトにおいてそれぞれ、18.5、51.0、3.3 ($\text{L}/\text{hr}/\text{m}^2$) であり、マウス、イヌはヒトのそれぞれ 5.7、15.7 倍のクリアランスを有していた。一方、蛋白非結合の薬物のクリアランスはそれぞれ、45.1、96.2、62.8 ($\text{L}/\text{hr}/\text{m}^2$) であり、マウス、イヌはそれぞれヒトの 0.7、1.5 倍程度のクリアランスであった。すなわち、3 種の動物における薬物動態を AUC_i で比較すると大きな種差を認めたが、 AUC_u で解析すると種差は小さくなった。

同様に、TOP-53 の AUC と白血球数減少率の関係も、 AUC_i ではヒトと 2 種の動物では 10 倍以上の差を認めたが、 AUC_u では、sigmoid Emax model の EC の値として、マウス、イヌ、ヒトでそれぞれ、461、408、894 ($\text{ng} \times \text{hr}/\text{mL}$) とほぼ一致した。血漿中の薬物のうち、非結合薬物はヒトでは 2~10% であるのに対し、イヌでは 53%、マウスでは 41% であった。TOP-53 は α_1 -酸性糖タンパク (AGP) と結合することが分かっているため、ヒトにおける非結合率 (f_u) と AGP (μM) の関係を解析すると、 $f_u = 1 / (3.68 + 0.59 \times \text{AGP})$ と表すことができ ($r^2 = 0.41$, $p < 0.0001$)、 f_u を予測できる可能性も示唆された。

DX-8951f においても、イヌとヒトの薬物動態お

よび薬力学的関係を比較した。総濃度のクリアランスはイヌはヒトの 15.4 倍であったのに対し、蛋白非結合薬物のクリアランスは 2.7 倍であった。同様に、AUC と白血球減少率の関係も AUC_i よりも AUC_u の方がイヌとヒトの曲線は近接していた。蛋白非結合薬物の割合は、ヒトで 2.5%、イヌで 14% であった。

D. 考察

今回の検討で、ヒトにおける薬物動態および薬力学的関係を前臨床試験の結果から予測する場合、蛋白結合率に種差が存在するときは非結合薬物の動態指標を用いる必要があることが確認された。したがって、PGDE を臨床第 I 相試験に適用する場合には、マウスとヒトにおける蛋白結合率に種差があるときは、非結合薬物の AUC を指標に PGDE を遂行する必要がある。ただ、先行する臨床試験の結果が利用でき、結合蛋白の濃度からヒトの *in vivo* における蛋白非結合率が予測できるときは、非結合薬物の濃度を測定しなくても PGDE を適用できる可能性はある。

今後は、PGDE で 100% 増量から 33% 増量に切り替える投与量 (マウス LD_{10} の AUC の 40% となる投与量) の妥当性や、DLT 以外の毒性情報を利用する方法の検討も、抗癌剤の第 I 相試験の方法を改善するために必要である。

E. 結論

蛋白結合率に種差をみとめる薬物に PGDE を適応するときは AUC_u を指標とする必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando, M., Ando, Y., Sugiura, S., Minami, H., Saka, H., Shimokata, K., Hasegawa, Y. Prognostic factors for short-term survival in patients with stage IV non-small cell lung cancer. *Jpn J Cancer Res* 90: 249-253 (1999).

2) Kodama, K., Yokose, T., Takahashi, K., Minami, H., Nagai, K., Matsuno, Y., Nishiwaki, Y., Ochiai, A. Low-grade B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue in the lung: a case report of a case with pleura dissemination. Lung Cancer 24: 175-178 (1999).

3) Minami, H., Lad, T. E., Nicholas, M. K., Vokes, E. E., Ratain, M. J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 9-aminocamptothecin infused over 72 hours in phase II studies. Clin Cancer Res 5: 1325-1330 (1999).

4) Ando, M., Minami, H., Ando, Y., Sakai, S., Shimono, Y., Sugiura, S., Saka, H., Hasegawa, Y., Shimokata, K. Pharmacological analysis of etoposide in elderly patients with lung cancer. Clin Cancer Res 5: 1690-1695 (1999).

2. 学会発表

1) Minami H., Sasaki Y, Ohashi Y, Tsuda M, Bando T, Fujii H, Ohtsu T, Igarashi T, Ito K, Watanabe Y, Onozawa Y, Kodama K, Sugiyama Y, Suzuki T. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of TOP-53 in comparison with dogs and mice. Proc Am Assoc Cancer Res 40:92, 1999 (abst# 607)

2) Ohashi Y, Ishizuka N, Suzuki T, Yamaguchi T, Minami H., Sasaki Y. A hybrid design of pharmacokinetically guided dose escalation (PGDE) and continual reassessment method (CRM) in a phase I trial of TOP-53. A new integrated approach using Bayesian concepts. Proc Am Assoc Cancer Res 40:82, 1999 (abst# 545)

3) Tamura T, Sasaki Y, Minami H., Fujii H, Ito K, Igarashi T, Kamiya Y, Kurata T, Ohtsu T, Onozawa Y, Yamamoto N, Yamamoto N, Watanabe Y, Tanigawara Y, Fuse E, Kuwabara T, Kobayashi S, Shimada Y. Phase I study of UCN-01 by 3-hour infusion. Proc Am Soc Clin Oncol 18:159a, 1999 (abst# 611)

4) Minami H., Sasaki Y, Onozawa Y, Fujii H, Ohtsu T, Igarashi T, Itoh K, Tamanoi K, Oguma T. Phase I study and clinical pharmacology of DX-8951f, a new camptothecin derivative, infused over 30 minutes every 3 weeks. Proc Am Soc Clin Oncol 18:178a, 1999 (abst# 685)

5) Minami H., Sasaki Y, Shigeoka Y, Onozawa Y, Fujii H, Igarashi T, Itoh K, Tamanoi K, Kajimura T, Oguma T. Phase I study and pharmacology of DX-8951f, a new camptothecin derivative, administered over 30 minutes every 3 weeks. Clin Cancer Res 5:3794s-3795s, 1999 (abst# 326, Proceedings of the 1999 AACR-NCI-EORTC International Conference)

6) 南 博信. 抗癌剤のPK/PDモデリング。第16回日本TDM学会学術大会・1999.6-18-19 横浜

7) 南 博信. 佐々木 康綱、小野沢 祐輔、藤井 博文、五十嵐 忠彦、伊藤 國明、玉乃井 恭司、小熊 敏弘。カンプトテシンの新規誘導体DX-8951fの第I相試験および臨床薬理学的検討。第37回日本癌治療学会総会 1999.10.12-14 岐阜

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし