

20000/28

厚生科学研究研究費補助金

がん克服戦略研究事業

新しい薬物療法の研究

平成 12 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 西條 長宏

平成 13 年 (2001 年) 4 月

目 次

I. 総括研究報告		
新しい薬物療法の研究	-----	1
西條長宏		
II. 分担研究報告		
1. 分子化学療法による進行がんの制御に関する研究	-----	16
西條長宏		
2. がん細胞の栄養飢餓耐性を標的とした治療法の開発	-----	20
江角浩安		
3. がん化学療法の分子標的の同定と個別化	-----	24
桑野信彦		
4. 抗がん剤の第I相試験の新しい方法論の開発	-----	30
佐々木康綱		
5. 薬物療法の有効性を決定する要因の解析	-----	32
杉本芳一		
6. 初期臨床試験での作用機構に基づく新薬の適正評価	-----	34
田村友秀		
7. 分子標的薬剤の分子機序の同定と治療の個別化へ向けての基礎的検討	-----	37
西尾和人		
8. 新抗悪性腫瘍薬の早期臨床試験の研究	-----	39
福岡正博		
9. 新規癌転移血管新生阻害剤 NK4 による癌治療研究	-----	41
松本邦夫		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	45
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	52

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）総括研究報告書
研究テーマ：新しいがん薬物療法の研究

主任研究者 西條 長宏 国立がんセンター中央病院 部長

研究要旨 抗がん剤感受性・耐性関連遺伝子発現を含む cDNA カスタムアレイを作成した。チロシンキナーゼ阻害剤（ZD1839）と細胞の接触後 EGFR レセプターの発現が増強した。また ZD1839 に感受性の細胞における EGFR レセプターの発現は高かった。ABC トランスポーター MRP ファミリーの cMOAT/MRP-2、MRP-3、S-MRP/MRP-5 全 cDNA を単離した。cMOAT/MRP-2 はシスプラチン、CPT-11 やビンクリスチンの、MRP3 はエトポシドの感受性に関与する事を示した。cMOATcDNA 移入 LLC-PK1/cMOAT 細胞の membrane vesicle による ATP 依存性ロイコトリエン C4 輸送阻害物質として CSA、PSC833、PAK-104P を同定した。PAK104 は LRP による核からの薬剤排出も抑制した。LRP 発現細胞由来単離核には LRP が存在しその核からの ADM の排出は PAK104P で阻害された。K201（1,4-Benzothiazepin 誘導体）は細胞毒性を示さない濃度（10 μM）でシスプラチン耐性細胞 PC-14/CDDP のシスプラチン感受性を母細胞と同程度に回復させた。細胞内プラチナ濃度は K201 併用で有意に増加した。In vivo においても K201 併用下でシスプラチンの抗腫瘍効果を増強した。HGF は癌-間質相互作用のメディエーターとして癌の浸潤、転移を促す宿主因子であることを明らかにした。また、HGF アンタゴニスト（NK4）を調整し NK4 が血管新生阻害能をもつことを示した。抗がん剤細胞を用いた実験系では播種性転移や腹水の貯留など肺がんの悪性形質を強力に抑制した。新抗がん剤第 I 相、第 I/II 相試験を効率よく展開し短期で終了しうる体制を確立した。この過程で薬物動態の分析を平行して行い PGDE および CRM を併用した増量法で全患者数を少なく第 I 相試験を終了できた。TOP-53、UCN-01 などの第 I 相試験の過程で蛋白非結合薬物の薬物動態検討の必要性を示した。プラチナを含む併用化学療法および含まない併用化学療法の第 I/II 相試験を intensive に行い至適投与量を決定した。また UCN-01、ZD1839、SU5416 などの分子標的治療薬の第 I 相試験を終了した。抗がん剤併用効果を正確に評価しうる 3D モデルを考案した。この手法を用い臨床で有用な併用化学療法を予測することができた。低酸素や一酸化窒素によって栄養飢餓耐性が誘導された。また、がん細胞はグルコース欠乏に耐性があることを見出した。

分担研究者

西條長宏（国立がんセンター中央病院部長）、江角浩安（国立がんセンター研究所支所支所長）、桑野信彦（九州大学大学院医学系研究科教授）、佐々木康綱（国立がんセンター東病院医長）、杉本芳一（（財）癌研究会癌化学療法センター分子生物治療研究部部長）、田村友秀（国立がんセンター中央病院医長）、西尾和人（国立がんセンター研究所室長）松本邦夫（大阪大学大学院医学部メディカル教育研究センター助教授）、福岡正博（近畿大学医学部教授）

A. 研究目的

早期発見・早期切除および技術の粋を集めた重粒子線治療の導入などにも拘わらずがんによる死亡は急速に増加しつつある。全身化したがんは薬物療法の対象にしかかなりえない。すなわち薬物療法の向上はがん治

療成績向上のための鍵を握っていると言える。「新しいがん薬物療法の研究班」はわが国における抗悪性治療薬開発を推進するための最も重要な研究班であり、わが国の抗悪性腫瘍薬による治療がどうあるべきかの方向性を示す。本研究班では抗悪性腫瘍薬および分子標的治療薬の効果や感受性を左右する未知の分子標的を同定するとともに既知の分子標的の発現レベルを検討する。がんの血管新生浸潤転移に関連する分子標的として HGF を同定してきたが、そのアンタゴニスト（NK4）投与、NK4 遺伝子治療によりがんの悪性化阻止に根ざした新しい治療法を確立する。またがん細胞が栄養飢餓耐性となる機構を明らかにしその耐性克服を検討する。薬力学の分析とともに第 I 相試験、第 I/II 相試験を実施し適正かつ効率のよい評価法を確立する。これらの研究は新しい分子標的治療法を含む抗悪性腫瘍薬の効果に適正に評価しがんの薬物療法の治療成績

を向上させる上で必須である。また、分子標的の同定に基づき新しいがん治療薬を開発する糸口をつかみうるとともに、新しい手法の導入により臨床における抗悪性腫瘍薬によるがん治療の個別化を進めることが可能となる。さらにこの研究班で臨床第 I 相試験のモデル的研究体制を確立することによりがんの臨床試験の活性化に寄与しようと思われる。

B. 研究方法

分子標的薬との接触によるがん細胞の細胞周期集積に及ぼす影響を DNA ヒストグラムを用い検討した。分子標的薬を接触した際の肺がん培養細胞における標的分子の発現を Northern, Western プロット等で検討した。また各種キナーゼの活性におよぼす分子標的薬の影響を検討した。一方、細胞増殖に関わる標的を検討する目的で、耐性細胞を樹立し、母細胞と比較することにより、分子標的薬の作用点の同定をおこなった。一方、標的分子およびサロゲートマーカー分子のスクリーニングの目的で cDNA 発現アレイを用いた遺伝子発現の評価を行った。cDNA 発現アレイはマクロアレイを用い、評価対象遺伝子を薬剤感受性、耐性に関わる遺伝子約 850 とした。探索的統計処理は、クラスタリング解析をおこなった。薬剤接触、未接触時の肺がん細胞、ヒト末梢血リンパ球、肺癌、胃癌、大腸癌手術切除組織を対象とした。

血管新生・浸潤に関与する分子標的に関して①マクロファージの浸潤がヒト腫瘍において血管密度や悪性度と関連する否かを CD68、第 8 抗原などの抗体を用いた免疫染色法で検討した。さらにチミジンフォスホリラーゼ (TP) やヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) の発現について各々の酵素の特異的抗体で免疫染色法や Northern blot 法で検討した。②血管新生のモデル系として *in vitro* では血管内皮細胞を用いた遊走やコラーゲンゲル内の管腔形成で、*in vivo* ではラット角膜、マウス角膜、背部皮下法やマトリゲル法などを用いた。P-糖蛋白質や MRP をはじめとする ABC トランスポーターを主な対象として薬剤感受性の分子標的となるか否かに関して、① Northern blot 法と定量 PCR 法、さらに免疫染色法で各種 ABC トランスポーター遺伝子の発現をヒト腫瘍やがん細胞株で検討した。さらに P388 白血病担がんマウスでピンクリスチン治療を行い治療感受性から抵抗性に変化する時期に白血病細胞を単離し多剤耐性遺伝子の発現をみた。②単離した遺伝子のプロモーターはルシフェラーゼ活性で、遺伝子再編成については Southern blot

法で各々解析した。さらに様々な ABC トランスポーターの抗がん剤特異性について cDNA 導入株やアンチセンス導入株を樹立した。

マトリゲル基底膜成分をコートしたフィルター上に肺癌細胞を培養し、下層に HGF ならびに NK4 を添加し、24 時間後の浸潤細胞数を測定した。また、同様の方法で、下層に線維芽細胞を培養する co-culture 系においても、癌細胞の浸潤ならびに癌細胞浸潤に対する NK4 の作用を検討した。

ヒト肺癌細胞 SUII-2 を 6 週齢のヌードマウス脾臓に同所的に移植した。NK4 の肺癌への効果をみるために、肺癌細胞移植後 3 日目より 25 日間連日、あるいは 24 日目より連日 NK4 をマウス腹腔内に 30 $\mu\text{g}/\text{day}$ にて投与した。原発腫瘍の腫瘍体積、腫瘍血管新生、癌細胞のアポトーシス、腹膜への播種性転移、肝臓への転移などを検討した。

ヒト BCRP の全長 cDNA の 5' 側に Myc あるいは HA epitope を付加した HA-BCRP および Myc-BCRP を作成し、これらを pHa vector に組み込んで細胞に導入して抗癌剤感受性の変化を検討した。HA-BCRP の cDNA に PCR-directed mutagenesis あるいは site-directed mutagenesis を用いて種々の変異を導入し、pHa-IRES-DHFR bicistronic retrovirus vector に組み込んだ。これを細胞に導入して methotrexate で選択することにより、multiclonal な遺伝子導入細胞を樹立して、抗癌剤耐性の変化を検討し、抗癌剤耐性を示さない HA-BCRP 変異体を Myc-BCRP 導入細胞に共導入し、不活性型 BCRP の発現が活性型 BCRP の機能に与える影響について解析した。ヒト大腸癌細胞 HT-29 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。HT-29/CPT の DNA topoisomerase I 遺伝子の構造を分析するとともに欠損型 DNA topoisomerase I 蛋白の活性を検討した。

がん細胞の栄養飢餓耐性のメカニズム解析に関しては、顕著な栄養飢餓耐性を示す PANC-1 細胞を中心に、栄養飢餓時における細胞の反応を解析し、耐性のメカニズムへの関与をアンチセンス RNA 発現ベクターや、阻害剤を用いて解析した。

治療法の開発に関しては、簡便なスクリーニング系を作り幅広く薬剤を探し出し、これが治療に使うか否かを検討した。

進行非小細胞肺癌に対するカルボプラチン、ドセタキ

セル併用療法の第 I/II 相試験を行った。対象は進行非小細胞肺癌患者で、未治療例、既治療例では前治療から 4 週間以上の間隔を有する例、年齢 75 歳以下、performance status (PS) 0-1、適当な臓器機能を有し、患者本人からの同意が得られた症例とした。カルボプラチンの投与量は Calvert の式を用い目標 AUC を設定した。24 時間クレアチニン・クリアランスを GFR の代用とした。ドセタキセルとカルボプラチンの投与量はそれぞれ、level I: 50mg/m²、AUC=4mg/ml x min, level II: 50, 5, level III: 60, 5, level IV: 60, 6, level V: 70, 6 である。3-4 週毎に投与した。用量制限毒性(DLT)は grade 4 の白血球、血小板減少、grade 4 の好中球減少に伴う発熱、7 日間を超えて持続する grade 4 の好中球減少、grade 3 以上の非血液毒性(脱毛、悪心・嘔吐を除く)とした。カルボプラチンはドセタキセルの投与後に行った。各薬剤は 250ml の生理食塩水等に溶解し 1 時間で点滴静脈内投与した。同一用量において 3 症例の検討を行い、3 例中 2 例以上に DLT の出現をみた場合はこれを最大耐量 (MTD) とした。1 例に DLT の出現をみた場合はさらに 3 例追加し、6 例中 2 例以上に DLT の出現をみた場合はこれを MTD とした。推奨用量はその他の毒性、奏効等から総合的に判断し、MTD あるいはその一つ下のレベルとした。

標準的治療法のない固形癌を対象として、R115777 臨床第 I 相試験を 1 日 2 回、21 日間の経口連続投与後 7 日間の休薬期間を置く 1 サイクル 28 日間の投与スケジュールにて実施した。200 mg/body/day を初期投与量とし漸次増量した。各ステップ 3 例を登録し、1 例の DLT を認めた場合更に 3 例を追加し、全体で 2 例以上の DLT が出現する用量の一段階低い投与量を MTD とした。本試験においては、薬物動態学的検討を実施すると同時に、腫瘍組織における Ras 遺伝子の点突然変異の有無、末梢血リンパ球中におけるファルネシル・トランスフェラーゼ活性の変化、およびリンパ球中における約 800 遺伝子の遺伝子発現プロファイルの変化をマクロアレイを用いて解析した。

国立がんセンター東病院で施行された抗悪性腫瘍薬第 I 相試験もしくは第 I・II 相試験を同一薬剤の海外での開発状況との比較検討を行うことによりそれらの位置づけを考えると同時に、現時点における理想的な "Bridging Study" のあり方につき考察した。本解析の対象となった薬剤は、Paclitaxel 1), JM-216 2), SDZ-PSC833 3), Rituximab, Trastuzumab, Flavopyridol,

NB-506, TOP-53, Interleukin-12, UCN-01, DX-8951f の各薬剤であった。また一部併用第 I・II 相試験についても検討した。

新規抗悪性腫瘍薬とりわけ分子標的薬剤もしくは cytostatic Agent と称される薬剤の薬理学を評価する目的で PET の "biological marker" としての役割を検討する作業に着手した。本研究では、flavopyridol の第 I 相試験に登録されている症例を対象として治療前後における PET の評価を行った。

1996 年以来国立がんセンター中央病院第 I 相試験チームにより実施された新規抗悪性腫瘍薬の第 I 相試験の実施体制、試験デザイン、参加症例の背景と予後、試験結果について解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験においては必要最小限の動物数を用いるとともに適正な飼育を行う。ト殺は苦痛を伴わないよう配慮するとともに大きな腫瘍を担がん状態で長期飼育し苦痛を与えるようなことはしない。臨床試験は GCP に準じ全てのプロトコールは IC を含み各施設の臨床試験審査委員会の許可の下に行う。また効果安全性評価委員により研究の続行の可否に関するアドバイスをうる。

C. 研究結果

細胞周期作用薬は分子標的薬の 1 つであり、治療効果の評価には適切なマーカーの同定が必要と思われる。細胞周期制御薬 UCN-01 の耐性細胞を樹立し、IGF-1、サイクリン等が耐性・感受性に関わる因子であると示した。UCN-01 の細胞周期進行阻害作用による細胞増殖抑制の定量的評価を行った。UCN-01 によるリンパ球減少のリンパ球活性化誘導型アポトーシスであり、CD95 等がそのマーカーであると示した。海洋由来のアラグステロール A、スルホンアミド化合物 E7070 が細胞周期を G1 期に停止させる細胞周期制御薬であり各種サイクリンがそのマーカーとなること、オンコプロテイン 18 がピンカアルカロイドによる細胞の M 期阻害を増加し、感受性を増強すること、肺癌細胞において癌抑制遺伝子 p16INK4 によりトポ I 阻害剤による S 期での細胞周期進行の遅延からアポトーシスを誘導すること、プラチナ製剤ネグプラチンはトポ I 阻害剤との併用により相乗効果が期待されることを示した。臨床検体による解析では、MRP5 が肺癌患者において、プラチナ製剤の投与により発現の誘導されること、p53、p27KIP1 がプラチナ製

剤に対する反応性と相関すること、肺、胃、大腸癌組織の遺伝子発現を cDNA アレイを用い評価し、腫瘍部の血管新生関連遺伝子群の発現亢進等を示した。同アレイによる分子標的薬評価を目的として遺伝子を選択し、感受性・耐性アレイを作成した。また再現性、定量性の評価、クラスタリング解析ソフトの作成、増幅方法の確立と評価、臨床検体の保存方法の画一化とマニュアル化をおこなった。

血管新生・浸潤能に関する分子標的について、がんの間質に浸潤してくる血球細胞や微小環境はがんの血管新生においても極めて重要な役割を果たすが、その分子機構については明らかでない。そこでマクロファージや肥満細胞や環境 pH に注目し、血管新生や癌の悪性度との関連性について解析した。マクロファージの浸潤がメラノーマの悪性度や微小血管密度と深く相関すること、ならびに活性マクロファージから生産される TNF α や IL1 がパラクライン的にメラノーマの血管新生を促進している可能性を示唆した。活性マクロファージは TP や HO-1 を活発に生産しており、血管新生マクロファージの酵素マーカとなる可能性を示唆した。さらに、IFN γ が強くマクロファージの TP の発現を転写レベルで上昇させ、プロモーター上の GAS/TP エLEMENT が関与していることを見出した。肥満細胞やリンパ球などから生産される IL4 や IL13 に血管新生誘導活性があることを見出した。さらにこの血管新生には sVCAM/ α 4 インテグリン系の活性化が関与することを見出した。腫瘍を取り巻く微小環境の一つの重大な要素に pH がある。抗血管新生作用を示す、アンジオスタチンのプラスミノゲンからの生産に酸性 pH で働くカテプシン D が関与していることを見出した。

薬剤感受性を制御する分子標的として ABC トランスポーターの関与について、ATP 依存的に排出される抗がん剤と ABC トランスポーターとの対応ならびにヒトがんでの特異的発現を明確にすることが分子標的による個別化には大切である。我々は、MRP2 の発現がヒト大腸がんで特異的に上昇していること、MRP1、MRP2 ならび MRP3 の大腸における発現レベルに 1000 倍近い個人差があることなどを観察した。さらに MRP3 がエトポシドならびにシスプラチンの感受性と ATP 依存性排出に関与すること、脳腫瘍の症例でがん部位に MRP1 と MRP3 の発現上昇などを見出した。ヒト MDR1 遺伝子のがん細胞における発現上昇にプロモーター領域での Alu 配列や他遺伝子の挿入などによる再配列が観察され

た。膀胱腫瘍において再発症例での MDR1 発現上昇にはプロモーター領域の CpG の脱メチル化が関与していることを明らかにした。

抗がん剤や放射線などによって誘導される MDR1 遺伝子の発現に関与するプロモーター上の Y-box を結合する YB-1 は p53 と結合することならびに一本鎖 RNA にも結合しエキソヌクレアーゼ活性を示すことを明らかにした。

8 種類のヒト肺癌細胞における c-Met レセプターの発現を調べたところ、ほとんどの細胞に c-Met レセプターが発現されていた。ヒト肺癌細胞の *in vitro* 浸潤は HGF によって強く促進されるとともに、癌-間質相互作用を反映する間質線維芽細胞との *co-culture* によっても強く促進された。一方、HGF によって引き起こされる癌細胞浸潤ならびに *co-culture* 系での癌細胞浸潤は、NK4 によりほぼ完全に阻害された。上記の結果をふまえ、NK4 が *in vivo* において肺癌の悪性形質を阻止できるか検討した。SUIT-2 ヒト肺癌細胞をヌードマウス肺臓に移植すると、移植後 2 週間を過ぎると癌の成長が著明になり、その後ヒトにおける肺癌の進行と同様に 28 日後には多数の腹膜播種、腹水の貯留、肝転移が認められた。これに対して、移植後 3 日目から、NK4 を連日腹腔内に投与したところ、14 日目までには癌細胞の正常組織への浸潤が抑制され、28 日目には移植肺癌の成長が NK4 投与によって抑制された。このとき、NK4 によって腫瘍血管新生が阻害され、これにより癌細胞の細胞死が促進されていた。一方、腹膜播種、腹水の貯留、肝臓などへの遠隔転移は肺癌の末期に特徴的な悪性の症状として知られているが、NK4 は腹膜播種、腹水の貯留、肝転移を強力に抑制した。さらに、肺癌の早期発見が困難であることを考慮して、癌の成長、播種性転移をきたす移植 24 日目から NK4 を投与開始したところ、NK4 は播種性転移や腹水の貯留を抑制し、著明な延命効果を示した。

BCRP に関しては、以下の知見を得た。(1) Myc あるいは HA epitope を N 末に付加した BCRP は野生型と同じ抗癌剤耐性を示した。(2) BCRP の ATP 結合部位の活性中心と推定される Lys に変異を導入すると、抗癌剤耐性は失われた。(3) 5 番目の transmembrane region に変異をもつ BCRP cDNA クローン No.108 を導入した細胞は、mitoxantrone に対しては、野生型 HA-BCRP を導入した細胞とほぼ同程度の耐性を示したが、SN-38 に対しては野生型 HA-BCRP を導入した細胞に比べて明らかに低い耐性しか示さなかった。よってこの部位に抗癌

剤認識に関する domain が存在すると示唆された。(4) 野生型 Myc-BCRP を導入して抗癌剤耐性となった細胞に、それ自身の発現では抗癌剤耐性を示さない、5番目の transmembrane region に変異をもつ不活性型の BCRP cDNA クローン No.15 を導入したところ、野生型 Myc-BCRP による抗癌剤耐性が失われた。

HT-29 細胞の camptothecin 耐性株 HT-29/CPT には、exon 3 から exon 9 までが欠損した DNA topoisomerase I mRNA が発現していた。これは、細胞の DNA topoisomerase I 遺伝子のゲノムの一方の allele の欠損によるものであり、その結果として camptothecin 感受性な DNA topoisomerase I の量が減少し、抗癌剤耐性を獲得したと推定された。

MDR1 遺伝子の導入と発現が細胞機能にどのような影響を与えるかについて調べた。白血病細胞のレチノイン酸耐性には影響しなかった。白血病細胞の Fas による apoptosis にも影響はなかった。

細胞を低酸素や一酸化窒素発生試薬で処理するとグルコース欠乏に対して顕著に耐性となることを見いだした。この反応は、培地中に少なくともグルタミン、アルギニン、アスパラギン酸など数種類のアミノ酸の一つが存在することを要求し、薬理学的検討と、アンチセンス RNA 発現ベクターを用いた検討から、5'-AMP activated protein kinase に依存した反応であること、PKB/Akt がその反応に一部関与することを見いだした。HIF-1 とは独自の経路の反応と考えられた。

がん細胞の一部は既にグルコース欠乏耐性である事を見いだした。膵臓がんは代表的な hypovascular tumor である。膵臓がんの細胞株を6種類グルコース欠乏の培地で培養すると増殖を示すものさえあった。胃がん、大腸がん、肝臓がんでも同様に検討すると、肝臓がんはすべてグルコース飢餓に感受性であったが胃がん、大腸がんの未分化なものは耐性であった。PANC-1 を例にそのメカニズムを検討すると、上に述べた AMPK, PKB/Akt のアンチセンス発現ベクターでグルコース依存性が回復した。

新しい、がん治療の標的になると考えられ薬剤の簡便なスクリーニング系を開発した。このスクリーニング系を用い、troglitazone, LY294002 が候補薬剤であることを見出した。とくに、troglitazone は 20 μ M と経口投与でも到達可能な、またヒトでの使用経験のある濃度に近い濃度で有効であり臨床導入も可能であると考えられた。

カルボプラチンとドセタキセルの併用 I/II 相試験には 1998 年 1 月から 1999 年 4 月まで 27 例が登録された。年齢中央値は 68 歳 (範囲 ; 36-74 歳)、男性 15 例、女性 12 例。全例 PS 0 ; 9 例、PS 1 : 18 例、腺癌 21 例、扁平上皮癌 4 例、非小細胞癌 2 例、臨床病期は IIIB 期 9 例、IV 期 18 例であった。前治療 ; 無し 17 例、手術 6 例、手術+放射線 2 例、化学療法 1 例であった。Level I, II, IV で DLT 各 1 例出現したが、level 5 では 6 例中 DLT は認めなかった。主な有害反応は好中球減少 (grade IV : 11 例)、肝機能障害 (grade III : 1 例)、感染 (grade IV : 1 例) であった。奏効率は 22% であった。MTD には到達しなかったが、ドセタキセルは 75mg/m² と 100mg/m² との比較でむしろ 75mg/m² で良好な成績が報告されており、これ以上の増量は行わなかった。推奨用量は level 5 (ドセタキセル 70mg/m²、カルボプラチン AUC=6mg/ml x min) と考えられた。

R115777 の臨床第 I 相試験には、15 症例の登録があり、600mg/day が MTD と決定された。DLT は白血球減少、および好中球減少であり、その他の毒性としては疲労、下痢、食欲低下が認められた。本研究にては、リンパ球中のファルネシルトランスフェラーゼ (FT) 活性が経時的に測定された。R115777 の投与直後に末梢血リンパ球中の FT 活性の低下が認められ、その低下は濃度依存性であった。また、末梢リンパ球中における遺伝子発現の変化が cDNA マクロアレーを用いて検索された。現在、メラノーマの癌組織での遺伝子発現の変化を含めて解析中である。

海外での開発状況を考えて場合抗悪性腫瘍薬の我が国での臨床試験は以下の三群に大別された。i) 海外の臨床試験が先行しそれらの結果を受けてもしくはそれらの臨床試験の途中において我が国での臨床試験が開始された事例 : Paclitaxel, JM-216, SDZ-PSC833, Rituximab, Trastuzumab, Flavopyridol. ii) 我が国の臨床試験が先行し海外での開発が行われなかったか後に開始された事例 : NB-506, TOP-53. iii) 我が国と海外との臨床試験がほぼ同時期に開始された事例 : Interleukin-12, UCN-01, DX-8951f. この中でとりわけ DX-8951f については、最初から 3 種同時開発を意図して臨床開発戦略が立てられていることは注目すべき点であった。一方 docetaxel については、海外での第 I 相試験を受けて我が国での臨床開発が開始された。本剤の第 I 相試験には国立がんセンターは参加しなかったが、その至適用量が欧米のそれと比較して低用量に設定さ

れた。この事実は、我が国と欧米での docetaxel 第Ⅱ相試験の投与量とその臨床成績の乖離、さらに、併用第Ⅰ・Ⅱ相試験においても docetaxel の上限が設定されてしまうことなど深刻な問題を残すことにもなる。この場合、後付で population pharmacokinetics (PPK) 等の手法により“Bridging Study”としての解析を行うことが可能であるもののこれらの問題は依然として解決されていない。

Flavopyridol の第Ⅰ相試験に登録された症例を対象として P E T の“biological marker”としての役割を検討する作業に着手した。P E T の撮影体制および患者に対する説明と同意の取得には問題はないものの最大の課題は薬剤に応じて撮影タイミングを変化させる必要があるか否かである。また、至適撮影タイミングを決定するための方法論が必ずしも前臨床研究との結果を踏まえて明らかにされていないことも問題である。また、現時点では従来の腫瘍マーカーと P E T 所見には相関を認めていない。

国立がんセンター中央病院の第Ⅰ相試験チームは効率的かつ質の高い第Ⅰ相試験実施のため各臓器診療科の枠を越えて 1996 年に結成された。当初のスタッフ医師 2 名、レジデント 2 名の構成から現在はスタッフ医師 3 名、レジデント 3 名に加え治験管理室より CRC1 名が参画した。1999 年からは早期臨床試験のために開設された計画治療病棟の 8-12 床を使用し、治験薬投与は病棟内の特別処置室で実施、隣接するナースステーションの 1 部に ECG モニター、検体の処置台、冷却遠心機を設置してガラス越しに患者を観察しながら検体処理も行えるようになった。実際には病棟看護婦 1 名を含め、最低 3 名以上の実施体制をとっている。1996 年より 2000 年 9 月までに分子標的薬剤 4 剤を含む新規抗悪性腫瘍薬 10 剤の第Ⅰ相試験を計 108 症例に実施した。第Ⅰ相試験参加症例数は 1996 年から 1999 年まで年間 12、19、23、32 例で、2000 年は 9 か月間で 31 例と増加している。2000 年は常に参加希望症例が待機して、症例登録は最短のスピードで実施できた。108 例の背景は、年令中央値 57 才（範囲 31-74）、PS はほとんどが 0-1 で、PS2 の症例は 3 例のみであった。性別では、男/女が 58/54 でほぼ同数であり、原疾患では肺、大腸が 7 割以上を占め、頭頸部、胃がこれに次いだ。用量規制毒性は 16 例（15%）に認め、血液毒性 6 例、非血液毒性 10 例であった。抗腫瘍効果では、PR/NC/PD/NE がそれぞれ 4/60/41/3 で、奏効率 3.7%であった。生存期間中央値は

全例で 7.2 月、非小細胞肺癌 44 例で 9.6 月、大腸がん 32 例で 8.5 月と良好である。現在まで 4 剤の分子標的薬剤の第Ⅰ相試験を実施している。細胞周期作用薬 UCN-01 および上皮増殖因子 (EGF) 受容体チロシンキナーゼ阻害剤 ZD1839 の第Ⅰ相試験はすでに終了しており、血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体チロシンキナーゼを阻害する血管新生阻害剤 2 剤の試験は進行中である。いずれの試験も毒性をエンドポイントとしたデザインであり、その中で前臨床データを参考に血中濃度、生物学的指標をモニターして進められている。これらの試験でみられた用量規制毒性は、下痢、血圧低下、嘔吐、肝障害で、すべて非血液毒性であった。終了している 2 試験では、いずれも最大耐用量が決定でき、得られた血中濃度は前臨床での有効血中濃度を上回ったが、標的阻害・効果・毒性に直結するマーカーは得られなかった。投与前後の末梢単核球を用いた cDNA マクロアレイによる関連遺伝子の発現変化については現在解析中である。現在進行中の血管新生阻害剤の第Ⅰ相試験では、生物学的指標として E-selectin、t-PA、IL-8、血漿および尿中 VEGF をモニターし、また cDNA マクロアレイにて同様に検討している。

D. 考察

細胞周期制御による抗腫瘍効果を、増殖抑制効果として評価可能であった。また細胞周期に関わる分子特にサイクリン蛋白質が予測因子と考えられ、それらの発現状態を測定することにより分子標的薬の効果の評価に用いる可能性が示唆される。cDNA アレイを用いた臨床検体における遺伝子発現解析の評価が可能になった。

サイトカインによって誘導される新しい血管新生モデルがどれだけヒトがんに関与しているかは不明である。さらに IFN γ がマクロファージの TP 活性を上昇させることを見出したが、ヒトがんがどれだけ反映しているかもこれからの課題である。血球性の間質細胞が何れのがんの血管新生や浸潤に関与し、さらにその主役を演じているサイトカインや因子を明らかにすることは“がんの個別化”に新しい貢献ができると示唆される。他方、抗がん剤の解毒抱合体などを含め、細胞外への排出を担う ABC トランスポーターの発現や腫瘍特異性を明らかにすることも“がんの個別化”に重要と考えられる。膀胱がんや白血病での MDR1 遺伝子/P-糖蛋白質プロモーター上の CpG のメチル化の有無は重要な鍵を握っている。今後、分子診断へ寄与することが大切で

ある。さらに MRP ファミリーについても正常部位とがん部位の発現の特異性についての分子的背景を明らかにしていくことも重要と思われる。

肺癌の成長阻害は主に NK4 の血管新生阻害作用によってもたらされると考えられる一方、癌の浸潤や播種性・遠隔転移阻害には NK4 の HGF アンタゴニスト活性が関与していると考えられる。したがって、肺癌特有の悪性形質に対する NK4 の阻止効果は、NK4 のもつ二機能性 (HGF アンタゴニスト/血管新生阻止) によりはじめて達成されたものと考えられる。最も予後不良の肺癌に対し、NK4 が浸潤・転移・腫瘍血管新生といった癌の悪性化阻止に基づく著明な制癌効果を発揮したことは、NK4 は肺癌を含め、転移能の高い悪性癌に対する新しい制癌剤となる可能性を示している。

Mitoxantrone、SN-38 などの抗癌剤耐性に関与する BCRP は、N 末側の 1 個の ATP 結合領域と C 末側の 1 個の膜貫通領域を持つ half-molecule 型の ABC transporter である。BCRP の変異体の解析により、BCRP の 5 番目の transmembrane region の重要性が示された。P-糖蛋白も transmembrane region の 5、6 と 11、12 が抗癌剤認識に関与することが示されており、両者の相同性がうかがえる。BCRP などの half molecule 型 ABC transporter は通常は homodimer または heterodimer 型構造をとることにより輸送活性を発揮すると考えられており、不活性型の BCRP cDNA クローン No.15 の導入による野生型 Myc-BCRP の抗癌剤耐性の阻害は、BCRP とそのカウンターパートとの結合を阻害したためと考えられた。

Docetaxel と carboplatin 併用療法の主な有害反応は好中球減少であった。しかし、これに伴う感染の頻度は低く、grade IV の感染を発症した症例は治療開始後 4 日目に発症した肺炎で、治療との関連は少ないと考えられた。Grade III の肝障害を認めた症例は grade IV の感染例と同一症例である。本療法は外来投与可能なレジメンになる可能性があり、未治療例を対象とした第 II 相試験が望まれる。

FT 阻害剤である R115777 の早期臨床試験の結果は解析中であるが、cDNA マクロアレーを用いた遺伝子変化のデータは新しい薬剤開発の在り方を提示するものとして期待されている。

新規抗悪性腫瘍薬の早期臨床試験では、“Bridging Study”を意識した開発戦略を採用することで速やかな薬剤の臨床評価と至適投与量の国際的標準化が可能で

あり、海外からの大規模臨床試験の結果を我が国へ外挿する事が容易となる。

今後抗悪性腫瘍の薬力学評価の指標としての PET の検討課題として、i) 抗腫瘍効果の判定基準、ii) PET 撮影のタイミング、iii) 高度先進医療としての認可が下りた状況で臨床研究としての検査費用のあり方、などが考えられる。

国立がんセンター中央病院では第 I 相試験のための病床設置と実施専門チームの結成などの体制整備により、実施症例数は飛躍的に増加し、試験実施のクオリティも向上した。参加症例の予後は病状を考慮すると極めて良好であり、第 I 相試験参加患者は予後良好者が多いこと、また我々の患者選択が適切であったことが示されたと考えられる。

分子標的薬剤の第 I 相試験の方法論については議論の多いところであるが、現状では毒性を指標として最大耐用量を決める従来のアプローチの中で血中濃度、生物学的マーカーをモニターする手法が妥当と判断される。腫瘍組織を治験薬投与前後で得ることは困難であり、生物学的マーカーは主に末梢血を用いた検討とせざるを得ないが、真の標的を確認することも含め当面は可能性のあるマーカー全てをモニターすべきと考える。

E. 結論

細胞周期制御薬 (UCN-01, E7070, YTA0040 等) を中心とした分子標的薬に対する腫瘍および正常細胞の反応性を予測する特定のマーカー分子の発現状態を測定することにより分子標的薬の評価に用いる可能性が示唆される。臨床検体を用いた cDNA アレイによる遺伝子発現解析が可能になった。

血管新生・浸潤に関して、マクロファージや肥満細胞がヒト腫瘍で重要な働きを担っていることを示唆された。さらに関連するサイトカインである TNF α /IL1 さらに IL4/IL13 が血管新生の誘導に関与していることを *in vitro* と *in vivo* の血管新生モデル系で示した。ABC トランスポーターの中で代表的な MDR1/P-糖蛋白質についてはプロモーターを含む、遺伝子発現制御領域の遺伝子再配列ならびに CpG のメチル化がヒト腫瘍の発現上昇に重要であることを示した。ABC トランスポーターの中で MRP3 がエトポシドやシスプラチンの細胞外排出に関与していることや、脳腫瘍において MRP1 と MRP3 が、さらに大腸がんにおいて MRP2 が各々がん部位で上昇していることが観察された。

NK4 は二機能性によって、浸潤・転移・腫瘍血管新生を標的とした癌細胞の“静細胞的”な効果をもたらす。このような制癌効果は NK4 によって初めて達成され、浸潤・転移のみ、血管新生のみを標的とした制癌剤には認められない。NK4 は従来の抗癌剤や癌治療の難点を克服し、癌の悪性化阻止に根ざす新しい制癌剤となることが期待できる。

Half-molecule 型 ABC transporter である BCRP は、5 番目の transmembrane region を含む領域で抗癌剤を認識して排出する。BCRP は複合体構造をとることが予想され、不活性型 BCP 遺伝子の導入による耐性の克服が可能である。また、癌細胞の camptothecin 耐性の獲得のメカニズムとして、細胞の DNA topoisomerase I 遺伝子のゲノムの一方の allele の欠損が示された。

新しい生理反応を見つけ、この反応ががんでは固定化されたものが存在し、がんの治療標的と成りうることを見出した。ヒトに適用可能な候補の薬剤を見出した。

我が国での第Ⅱ相試験以降の速やかな薬剤開発と、至適用量を海外にあわせることを考えた場合、同時期に海外と同様の早期臨床試験を行うことが必須である。

Non cytotoxic agent の薬力学評価指標としての P E T の位置づけを明確にするために解決しなければならない問題が明らかになるとともに、この領域の研究がこれまで我が国で皆無であったことが問題であると認識された。

第Ⅰ相試験を科学的かつ高い質で実施するためには実施専門チームの結成や専用病床設置などの体制整備が必須である。分子標的薬剤の第Ⅰ相試験も従来の方法論のバリエーションで対応可能であり、薬剤の作用のサロゲートマーカーの検索が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukuoka, K., Usuda, J., Iwamoto, Y., Fukumoto, Y., Nakamura, T., Yoneda, T., Narita, N., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanisms of action of the novel sulfonamide anticancer agent E7070 on cell cycle progression in human non-small cell lung cancer cells. *Invest. New Drugs*, (in press)
2. Saijo, N., Tamura, T., Yamamoto, N. and Nishio, K. New strategy for cancer therapy in 21st century. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, (in press)
3. Sekine, I. and Saijo, N. Biology of lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, (in press)
4. Tsunoda, T., Nakamura, T., Ishimoto, K., Yamaue, H., Tanimura, H., Saijo, N. and Nishio, K. Upregulated expression of angiogenesis genes and down regulation of cell cycle genes in human colorectal cancer tissue determined by cDNA macroarray. *Anticancer Res.*, (in press)
5. Koh, Y., Nishio, K. and Saijo, N. Topoisomerase inhibitors. *Cancer Handbook*, Macmillan Reference Ltd (London, UK), (in press)
6. Nishio, K., Nakamura, T., Koh, Y., Kanzawa, F., Tamura, T., Saijo, N. Oncoprotein 18 enhances vindesine-induced antitumor effect. *Cancer*, (in press)
7. Takama, H., Tanaka, H., Sudo, T., Tamura, T., Tanigawara, Y. Population pharmacokinetic modeling and model validation of spicamycin derivative, KRN5500, in phase I study. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.*, (in press)
8. 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)
9. Hideo Kimura., Alessandro Weisz., Tsutomu Ogura., Yoshiaki Hitomi., Yukiko Kurashima., Kouichi Hashimoto., Fulvio D'Acquisto., Masatoshi Makuuchi., Hirovasu Esumi. Identification of Hypoxia-Inducible Factor-1 (HIF-1) Ancillary Sequence and Its Function in Vascular Endothelial Growth Factor Gene Induction by Hypoxia and Nitric Oxide *J Biol Chem.*, (in press)
10. Laurent Bermont., Fr d rique Lamielle., Fabrice Lorchel., Sylvie Fauconnet., Hirovasu Esumi., Alessandro Weisz., and Gerard L. Adessi. Insulin upregulates VEGF and stabilizes its messengers in endometrial adenocarcinoma cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (in press)
11. Kunitoh, H., Nakamura, Y., Aono, H., Kamiya, Y., Itoh, R., Onodera, R., Nakamura, N., Sekine,

- I., Kubota, K., Tamura, T., Shinkai, T., Kodama, T., Goto K., Hosomi, Y., Niho, S., Ohe, Y., Nishiwaki, Y., Saijo, N. A phase I/II trial of cisplatin, ifosfamide in advanced or recurrent non-small lung cancer. *Lung Cancer*, (*in press*)
12. Goto, H., Kohno, K., Sone, S., Akiyama, S., Kuwano, M. and Ono, M. Gamma interferon-dependent induction of thymidine phosphorylase/platelet derived endothelial growth factor through gamma-activated sequence-like element in human macrophages. *Cancer Res.*, 61: (*in press*)
 13. Nagayama, J., Iino, M., Tada, Y., Kusaba, H., Kiue, A., Ohsima, K., Kuwano, M. and Wada, M. Retrovirus insertion and transcriptional activation of the multidrug resistance (*mdr1a*) gene in leukemias treated by a chemotherapeutic agent in vivo. *Blood*, 97: (*in press*)
 14. Haga, S., Hinoshita, E., Ikezaki, K., Fukui, M., Scheffer, G. L., Uchiyumi, T. and Kuwano, M. The involvement of the multidrug resistance protein 3 in drug sensitivity and its expression in human glioma. *Jpn. J. Cancer Res.*, (*in press*)
 15. Izumi, H., Imamura, T., Nagatani, G., Ise, T., Murakami, T., Uramoto, H., Torigoe, T., Ishiguchi, H., Nomoto, M., Okamoto, T., Uchiyumi, T., Kuwano, M., Funai, K. and Kohno, K. YB-1 binds preferentially to single-stranded nucleic acid and exhibit 3'-5' exonuclease activity. *Nucl. Acids Res.*, (*in press*)
 16. Mizuno, S., Matsumoto, M., Wen, J., and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor suppresses interstitial fibrosis in a mouse model of obstructive nephropathy. *Kidney Int.*, (*in press*)
 17. Azuma, H., Takahara, S., Matsumoto, K., Ichimaru, N., Wang, J., Moriyama, T., Wagga, A., Kitamura, M., Otsuki, Y., Okuyama, A., Katsuoaka, Y., Chandraker, A., Sayegh, M.H., and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor prevents development of chronic allograft nephropathy in an experimental rat transplant model. *J. Am. Soc. Nephrol.*, (*in press*)
 18. Sumi, T., Matsumoto, K., and Nakamura, T. Specific activation of LIM-kinase 2 via phosphorylation of the threonine-505 by ROCK, a Rho-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 147, (*in press*)
 19. Tsuzuki, N., Miyazawa, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Shima, K., and Chigasaki, H. Hepatocyte growth factor reduces the infarct volume after transient focal cerebral ischemia. *Neurol. Res.*, (*in press*)
 20. Matsumoto, K. and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor: renotropic role and potential therapeutics for renal diseases. *Kid. Intern.*, (*in press*)
 21. Maehara, N., Matsumoto, K., Kuba, K., Mizumoto, K., Tanaka, M., and Nakamura, T. NK4, a four-kringle antagonist of HGF, inhibits spreading and invasion of human pancreatic cancer cells. *Br. J. Cancer*, (*in press*)
 22. Kuba, K., Matsumoto, K., Ohnishi, K., Shiratsuchi, T., Tanaka, M., and Nakamura, T. Kringle 1-4 of hepatocyte growth factor inhibits proliferation and migration of human microvascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res Commun.*, (*in press*)
 23. Inoue, A., Kunitoh, H., Sekine, I., Sumi, M., Tokuyue, K. and Saijo, N. Radiation pneumonitis in lung cancer patients: A retrospective study of risk factors and the long-term prognosis. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 49(3): 649-655, 2001
 24. Kanzawa, F., Koizumi, F., Koh, Y., Nakamura, T., Tatsumi, Y., Fukumoto, H., Saijo, N., and Nishio, K. *In vitro* synergistic interactions between the cisplatin analog nedaplatin and the DNA topoisomerase I inhibitor irinotecan and the mechanism of this interaction. *Clin. Cancer Res.*, 7: 202-209, 2001
 25. Tamura, T. New State of the art in small-cell lung cancer. *Oncology*, 15(1): 8-10, 2001
 26. Harada, T., Takaba, K., Hara, T., Yamamoto, N., Tamura, T. and Saijo, N. Inhibitory Effects of

- Repeated Intravenous Injections of Dexamethasone on Pulmonary Toxicity of A New Mitomycin C Analogue KW-2149 in A Novel Rat Model., *The Journal of Toxicological Sciences*, 25: 11-15, 2000
27. Kubota, K., Tamura, T., Fukuoka, M., Furuse, K., Ikegami, H., Ariyoshi, Y., Kurita, Y. and Saijo, N. Phase II study of concurrent chemotherapy and radiotherapy for unresectable stage III non-small-cell lung cancer: Long-term follow-up results. *Japan Clinical Oncology Group Protocol 8902.*, *Annals of Oncology*, 11: 445-450, 2000
 28. Saijo, N. Preclinical and clinical trials of topoisomerase inhibitors. *Ann.N.Y. Acad.Sci.*, 922: 92-99, 2000
 29. Saijo, N., Tamura, T. and Nishio, K. Problems in the development of target-based drugs. *Cancer Chemother.Pharmacol.*, 46: S43-S45, 2000
 30. Saijo, N. CPT-11/cisplatin in small cell lung cancer. *Adv. In Lung Cancer*, 4: 2-4, 2000
 31. Nakamura, Y., Sekine, I., Furuse, K. and Saijo, N. Retrospective comparison of toxicity and efficacy in phase III trials of 3h infusions of paclitaxel for patients 70 years of age or older and patients under 70 years old. *Cancer Chemother.Pharmacol.*, 46: 114-118, 2000
 32. Sekine, I. and Saijo, N. Nobel combination chemotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer. *Exp.Opin.Pharmacol.*, 1: 1131-1161, 2000
 33. Sekine, I., Matsuda, T., Saisho, T., Watanabe, H., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T. and Saijo, N. Bacterial meningitis observed in a phase I trial of vinorelbine, cisplatin and thoracic radiotherapy for NSCLC: Report of a case and discussion on dose limiting toxicity. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 401-405, 2000
 34. Fukuoka, K., Yamagishi, T., Ichihara, T., Nakaike, S., Iguchi, K., Yamada, Y., Fukumoto, H., Yoneda, T., Samata, K., Ikeya, H., Nanaumi, K., Hirayama, N., Narita, N., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanism of action of aragusterol A (YTA0040), a potent anti-tumor marine steroid targeting the G₁ phase of the cell cycle. *Int.J.Cancer*, 88: 810-819, 2000
 35. Fujishiro, M., Shinkai, T., Fukuda, M., Tamura, T., Ohe, Y., Kunitoh, H., Nishiwaki, Y., Sekine, I., Fukuda, H. and Saijo, N. Phase I study of weekly infusion of irinotecan hydrochloride (CPT-11) and a 14-day continuous infusion of etoposide in patients with lung cancer: JCOG trial 9408. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 487-493, 2000
 36. Nakamura, Y., Kunitoh, H., Kubota, K., Sekine, I., Shinkai, T., Tamura, T., Kodama, T., Sumi, M., Kohno, S. and Saijo, N. Platinum-based chemotherapy with or without TRT in patients with unresectable thymic carcinoma. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 385-388, 2000
 37. Usuda, J., Saijo, N., Fukuoka, K., Fukumoto, H., Kuh, H.-J., Nakamura, T., Koh, Y., Suzuki, T., Koizumi, F., Tamura, T., Kato, H. and Nishio, K. Molecular determinants of UCN-01 induced growth inhibition in human lung cancer cells. *Int J Cancer*, 85:275-280, 2000
 38. Suzuki, T., Sasaki, H., Kuh, H.J., Agui, M., Tatsumi, Y., Tanabe, S., Terada, M., Saijo, N. and Nishio, K. Detailed structural analysis on both human MRP5 and mouse mrp5 transcripts. *Gene*, 242:167-173, 2000
 39. Kuh, H.-J., Nakagawa, S., Usuda, J., Yamaoka, K., Saijo, N. and Nishio, K. A computational model for quantitative analysis of cell cycle arrest and its contribution to overall growth inhibition by anticancer agents. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91:1303-1313, 2000
 40. Fukuoka, K., Nishio, K., Fukumoto, H., Arioka, H., Kurokawa, H., Ishida, T., Iwamoto, Y., Tomonari, A., Suzuki, T., Usuda, J., Narita, N. and Saijo, N. Ectopic p16^{INK4} expression enhances CPT-11-induced apoptosis through the increased delay in S phase progression in human non-small cell lung cancer cells. *Int. J. Cancer*, 82:759-764, 2000
 41. Oguri, T., Isobe, T., Suzuki, T., Nishio, K.

- Fujiwara, Y., Katoh, O. and Yamakido, M. Increased expression of the MRP5 gene is associated with exposure to platinum drugs in lung cancer. *Int. J. Cancer*, 86:95-100, 2000
42. Oshita, F., Nishio, K., Kameda, Y., Mitsuda, A., Ikehara, M., Tanaka, G., Yamada, K., Nomura, I., Noda, K., Arai, H., Ito, H., and Nakayama, H. Increased expression levels of p53 correlate with good response to cisplatin-based chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncol. Rep.*, 7:1225-1228, 2000
43. Oshita, F., Kameda, Y., Nishio, K., Tanaka, G., Yamada, K., Nomura, I., Nakayama, H., and Noda, K. Increased expression levels of cyclin-dependent kinase inhibitor p27 correlate with good responses to platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncol. Rep.*, 7:491-495, 2000
44. Yamamoto, N., Tamura, T., Kamiya, Y., Sekine, I., Kunitoh, H. and Saijo, N. Correlation between docetaxel clearance and estimated cytochrome p450 activity by urinary metabolite of exogenous cortisol. *J.Clin.Oncol.*, 18: 2301-2308, 2000
45. Fukumoto, H., Tamura, T., Kamiya, Y., Usuda, J., Suzuki, T., Kanzawa, F., Kuh, H.-J., Ohe, Y., Saijo, N., Nishio, K. Activation-induced apoptosis of peripheral lymphocytes treated with 7-hydroxystaurosporine, UCN-01. *Invest. New. Drugs*, 17:335-341, 2000
46. Kurata, T., Tamura, T., Sasaki, Y., Fujii, H., Negoro, S., Fukuoka, M. and Saijo, N. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of Bis-acetato-amine-dichloro-cycloheximine-platinum (IV) (JM216) Administered Once a Day for Five Consecutive Days: A Phase I Study. *Jpn J Clin Oncol*, 30, 377-384, 2000
47. Kurata, T., Shimada, Y., Tamura, T., Yamamoto, N., Hyodo, I., Saeki, T., Takashima, S., Fujiwara, K., Wakasugi, H., Kashimura, M. Phase I and Pharmacokinetic Study of a New Taxoid, RPR109881A, Given as a 1-Hour Intravenous Infusion in Patients With Advanced Solid Tumors. *J.Clin.Oncol.*, 18:3164-3171, 2000
48. Yanase, K., Sugimoto, Y., Tsukahara, S., Ohhara, 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.*, 91: 551-559, 2000
49. Takeshita, A., Shinjo, K., Naito, K., Ohnishi, K., Sugimoto, Y., Yamakawa, Y., Tanimoto, M., Kitamura, K., Nace, T., and Ohno, R. Role of P-glycoprotein in all-trans retinoic acid (ATRA) resistance in acute promyelocytic leukaemia cells: analysis of intracellular concentration of ATRA. *Br. J. Haematol.*, 108: 90-92, 2000
50. Itoh, K., Ohtsu, T., Sasaki, Y., Ogura, M., Morishima, Y., Kasai, M., Chou, T., Yoshida, K., Ohno, T., Mizorogi, F., Uike, N., Sai, T., Taniwaki, M., Ikeda, S., and Tobinai, K. Randomized Comparison of Mobilization Kinetics of Circulating CD34+Cells Between Biweekly CHOP and Dose-Escalated CHOP with the Prophylactic Use of Lenograstim (Glycosylated rHuG-CSF) in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *Leukemia and Lymphoma*, 38:521-532, 2000
51. Kobayashi, K., Miura, N., Fujii, H., Minami, H., Sasaki, Y., Shimada, N. and Chiba, K. Role of Human Cytochrome P450 3A4 in Metabolism of Medroxyprogesterone Acetate. *Clin Cancer Res*, 6:3297-3303, 2000
52. Itoh, K., Sasaki, Y., Fujii, H., Minami, H., Ohtsu, T., Wakita, H., Igarashi, T., Watanabe, Y., Onozawa, Y., Kashimura, M. and Ohashi, Y. Study of Dose Escalation and Sequence Switching Administration of the Combination of Docetaxel and Doxorubicin in Advanced Breast Cancer. *Clin Cancer Res*, 6, 4082-4090, 2000
53. Itoh, K., Ohtsu, T., Wakita, H., Ishizawa, K., Onozawa, Y., Fujii, H., Minami, H. and Sasaki, Y. Dose-escalation study of CHOP with or without prophylactic G-CSF in a aggressive non-

- Hodgkin's Lymphoma. *Ann Oncol*, 11, 1241-1247, 2000
54. Kawahara, M., Ariyoshi, Y., Fukuoka, M., and Furuse, K. Originality benefit and difficulty of clinical research in the west japan lung cancer group. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 36(1):9-12, 2000
 55. Fukuoka, M., Masuda, N., Kudoh, S., and Negoro, S. Irinotecan in small-cell lung cancer--Japanese trials. *Oncology (Huntingt.)*, 14(7 Suppl 5):57-62, 2000
 56. Masuda, N., Negoro, S., Kudoh, S., Sugiura, T., Nakagawa, K., Saka, H., Takada, M., Nitani, H., and Fukuoka, M. Phase I and pharmacologic study of docetaxel and irinotecan in advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 18(16):2996-3003, 2000
 57. Hirashima, T., Komiya, T., Nitta, T., Takada, Y., Kobayashi, M., Masuda, N., Matui, K., Takada, M., Kikui, M., Yasumitsu, T., Ohno, A., Nakagawa, K., Fukuoka, M., and Kawase, I. Prognostic significance of telomeric repeat length alterations in pathological stage I-IIIa non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.*, 20(3B):2181-7, 2000
 58. Masuda, N., Matsui, K., Yamamoto, N., Nogami, T., Nakagawa, K., Negoro, S., Takeda, K., Takifuji, N., Yamada, M., Kudoh, S., Okuda, T., Nemoto, S., Ogawa, K., Myobudani, H., Nihira, S., and Fukuoka, M. Phase I trial of oral 2'-deoxy-2'-methylidene-cytidine: on a daily x 14-day schedule. *Clin. Cancer Res.*, 6(6):2288-94, 2000
 59. Komiya, T., Kawase, I., Nitta, T., Yasumitsu, T., Kikui, M., Fukuoka, M., Nakagawa, K., and Hirashima, T. Prognostic significance of hTERT expression in non-small cell lung cancer. *Int. J. Oncol.*, 16(6):1173-7, 2000
 60. Torisu, H., Ono, M., Kiryu, H., Furue, M., Ohmoto, Y., Nakayama, J., Nisioka, Y., Sone, S. and Kuwano, M. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNF α and IL-1 α . *Int. J. Cancer*, 85: 182-188, 2000
 61. Torisu, H-I., Furue, M., Kuwano, M. and Ono, M. Co-expression of thymidine phosphorylase and heme oxygenase-1 in macrophages in human malignant vertical growth melanomas. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91: 906-910, 2000
 62. Fukushi, J., Ono, M., Morikawa, W., Iwamoto, Y. and Kuwano, M. The activity of soluble VCAM-1 in angiogenesis stimulated by IL-4 and IL-13. *J. Immunol.*, 165: 2818-2823, 2000
 63. Umeshita-Suyama, R., Sugimoto, R., Akiwa, M., Arima, K., Yu, B., Wada, M., Kuwano, M., Nakajima, K., Hamasaki, N. and Izuhara, K. Characterization of IL-4 and IL-13 signals dependent on the human IL-13 receptor α chain 1: redundancy of requirement of tyrosine residue for STAT3 activation. *Int. Immunol.*, 12: 1499-1509, 2000
 64. Morikawa, W., Yamamoto, K., Ishikawa, S., Takemoto, S., Ono, M., Fukushi, J., Naito, S., Nozaki, C., Iwanaga, S. and Kuwano, M. Angiostatin generation by cathepsin D secreted by human prostate carcinoma cells. *J. Biol. Chem.*, 275: 38912-38920, 2000
 65. Harada, T., Nagayama, J., Kohno, K., Mickley, L., Fojo, T., Kuwano, M. and Wada, M. Alu-associated interstitial deletions and chromosomal re-arrangement in 2 human multidrug-resistant cell lines. *Int. J. Cancer*, 86: 506-511, 2000
 66. Hinoshita, E., Uchiumi, T., Taguchi, K., Kinukawa, N., Tsuneyoshi, M., Maehara, Y., Sugimachi, K. and Kuwano, M. Increased expression of an ATP-binding cassette superfamily transporter, multidrug resistance protein 2, in human colorectal carcinomas. *Clinical Cancer Res.*, 6: 2401-2407, 2000
 67. Tada, Y., Wada, M., Kuroiwa, K., Harada, T., Tsuneyoshi, M., Nakagawa, M., Naito, S., Kuwano, M. MDR1 overexpression and altered degree of methylation at the promoter region in bladder cancer during chemotherapeutic treatment. *Clinical Cancer Res.*, 6: 4618-4627,

- 2000
68. Naito, S., Koga, H., Yokomizo, A., Sakamoto, N., Kotoh, S., Nakashima, M., Kiue, A. and Kuwano, M. Molecular analysis of mechanisms regulating drug sensitivity and the development of new chemotherapy strategies for genitourinary carcinomas. *World J. Surg.*, 24:1183-1186, 2000
 69. Okamoto, T., Izumi, H., Imamura, T., Takano, H., Ise, T., Uchiyama, T., Kuwano, M. and Kohno, K. Direct interaction of p53 with the Y-box binding protein, YB-1: a mechanism for regulation of human gene expression. *Oncogene*, 19: 6194-6202, 2000
 70. Ushigome, F., Takanaga, H., Matsuo, H., Yanai, S., Tsukimori, K., Nakano, H., Uchiyama, T., Nakamura, T., Kuwano, M. Ohtani, H., and Sawada, Y. Human placental transport of vinblastine, vincristine, digoxin and progesterone: contribution of P-glycoprotein. *Eur. J. Pharmacol.*, 408: 1-10, 2000
 71. Parr, C., Hiscox, S., Nakamura, T., Matsumoto, K., and Jiang, W.G. NK4, a new HGF/SF variant, is an antagonist to the influence of HGF/SF on the motility and invasion of colon cancer cells. *Int. J. Cancer*, 85: 563-570, 2000
 72. Hiscox, S., Parr, C., Nakamura, T., Matsumoto, K., Mansel, R.E., and Jiang, W.G. Inhibition of HGF/SF-induced breast cancer cell motility and invasion by the HGF/SF variant, NK4. *Breast Cancer Res. Treat.* 1627: 1-10, 2000
 73. Mizuno, S., Matsumoto, K., Kurosawa, T., Mizuno-Horikawa, Y., and Nakamura, T. Reciprocal balance of hepatocyte growth factor and transforming growth factor- β_1 in renal fibrosis in mice. *Kidney Int.*, 57: 937-948, 2000
 74. Sun, W., Funakoshi, H., Matsumoto, K., and Nakamura T. A sensitive quantification method for evaluating the level of hepatocyte growth factor (HGF) and c-met/HGF receptor mRNA in the nervous system using competitive RT-PCR. *Brain Res. Protocol*, 5: 190-197, 2000
 75. Beppu, K., Uchiyama, A., Morisaka, T., Nakamura, K., Noshiro, H., Matsumoto, K. Nakamura, T., Tanaka, M., and Katano, M. Elevation of serum hepatocyte growth factor concentration in patients with gastric cancer is mediated by production of from tumor tissue. *Anticancer Res.*, 20: 1263-1268, 2000
 76. Yamada, T., Hisanaga, M., Nakajima, Y., Mizuno, S., Matsumoto, K. Nakamura, T., and Nakano, H. Enhanced expression of hepatocyte growth factor by pulmonary ischemia reperfusion injury in the rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 162: 707-715, 2000
 77. Kuba, K., Matsumoto, K., Date, K., Shimura, H., Tanaka, M., and Nakamura, T. HGF/NK4, a four-kringle antagonist of hepatocyte growth factor, is an angiogenesis inhibitor that suppress tumor growth and metastasis in mice. *Cancer Res.*, 60: 6737-6743, 2000
 78. Aoki, M., Morishita, R., Taniyama, Y., Kida, I., Moriguchi, A., Matsumoto, K. Nakamura, T., Kaneda, Y., Higaki, J., T. and Ogihara, T. Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-infarcted myocardium and infarcted myocardium: up-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets. *Gene Ther.*, 7: 417-427, 2000
 79. Nakagami, H., Morishita, R., Yamamoto, K., Taniyama, Y., Aoki, M., Kim, S., Matsumoto, K. Nakamura, T., Higaki, J., and Ogihara, T. Anti-apoptotic action of hepatocyte growth factor through mitogen-activated protein kinase on human aortic endothelial cells. *J Hypertens.*, 18: 1411-1420, 2000
 80. Hayashi, K., Nakamura, S., Morishita, R., Moriguchi, A., Aoki, M., Matsumoto, K. Nakamura, T., Kaneda, Y., Sakai, N., and Ogihara, T. In vivo transfer of human hepatocyte growth factor gene accelerates re-endothelialization and inhibits neointimal formation after balloon injury in rat model. *Gene Ther.*, 7: 1664-1671, 2000
 81. Nakamura, T., Mizuno, S., Matsumoto, K. Sawa, Y., Matsuda, H., and Nakamura, T. Myocardial protection from ischemia/reperfusion

- injury by endogenous and exogenous HGF. *J. Clin. Invest.*, 106: 1511-1519, 2000
82. Matsumoto, K., Mizuno, S., and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor in renal regeneration, renal disease, and potential therapeutics. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertension*, 9, 395-402, 2000
83. Taniyama, Y., Morishit, R., Nakagami, H., Moriguchi, A., Sakonjo, H., Shokei-Kim, Matsumoto, K., Nakamura, T., Higaki, J., and Oghihara, T. Potential contribution of a novel antifibrotic factor, hepatocyte growth factor, to prevention of myocardial fibrosis by angiotensin II blockade in cardiomyopathic hamsters. *Circulation*, 102: 246-52, 2000
84. Kimura, H., Weisz, A., Kurashima, Y., Hashimoto, K., Ogura, T., D'Acquisto, F., Addeo, R., Makuuchi, M., Esumi, H. Hypoxia response element of the human vascular endothelial growth factor gene mediates transcriptional regulation by nitric oxide: control of hypoxia-inducible factor-1 activity by nitric oxide. *BLOOD*, 95: 189-197, 2000
85. Matsumi H, Yano T, Osuga Y, Kugu K, Tang X, Xu JP, Yano N, Kurashima Y, Ogura T, Tsutsumi O, Koji T, Esumi H, Taketani Y. Regulation of nitric oxide synthase to promote cytotaxis in ovarian follicular development. *Biol. Reprod.* 2000 Jul;63(1):141-6.
86. Bermont, L., Lamielle, F., Fauconnet, S., Esumi, H., Weisz, A., and Adessi, G. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by Insulin-like Growth Factor-I in endometrial adenocarcinoma cells. *Int J Cancer*, 85: 117-128, 2000
87. Muto, M., Hitomi, Y., Ohtsu, A., Ebihara, S., Yoshida, S., Esumi, H. Association of aldehyde dehydrogenase 2 gene polymorphism with multiple esophageal dysplasia in head and neck cancer patients. *GUT*, 47(2):256-61, 2000
88. Sakurazawa, N., Tanaka, N., Onda, M., Esumi, H. Instability of X-chromosome methylation in aberrant crypt foci of the human colon. *Cancer Res*, 60: 3165-3169, 2000
89. Muto, M., Hitomi, Y., Ohtsu, A., Shimada H., Kashiwase Y., Sasaki H., Yoshida S., Esumi, H. Acetaldehyde production by Non-pathogenic *Neisseria* in Human Oral Microflora. *Int J Cancer*, 88(3):342-350, 2000
90. Soisungwan Satarug, Jason R.Baker., paul E.B.Reilly., Hirovasu Esumi., Micheal R.Moore. Evidence for a Synergistic Interaction between Cadmium and Endotoxin Toxicity and for Nitric Oxide and Cadmium Displacement of Metals in the Kidney. *NITRIC OXIDE* 4(4): 431-440, 2000
91. Izuishi, K., Kato, K., Ogura, T., Kinoshita, T., Esumi, H. Remarkable Tolerance of Tumor Cells to Nutrient Deprivation: Possible New Biochemical Target for Cancer Therapy. *Cancer Res*: 60(21):6201-7, 2000
2. 学会発表
- 柳瀬香恵、杉本芳一、塚原里美、大原智子、安藤俊夫、鶴尾隆。ヒト大腸癌細胞由来カンプトテシン耐性株の耐性機構の解析。第59回日本癌学会総会記事、39-40頁、2000年
 - 杉本芳一、塚原里美、石川悦子、杉山朋美、鶴尾隆。BCRPによる抗癌剤耐性機構の解析。第59回日本癌学会総会記事、42頁、2000年
 - 石川悦子、塚原里美、鶴尾隆、杉本芳一。retrovirusの挿入によるマウス mdr1b の活性化。第59回日本癌学会総会記事、192頁、2000年
 - 塚原里美、石川悦子、鶴尾隆、杉本芳一。新規 G 蛋白受容体 TASP の抗癌剤感受性への関与。第59回日本癌学会総会記事、193-194頁、2000年
 - 高橋俊二、伊藤良則、相羽恵介、堀越昇、杉本芳一、尾形悦郎。レトロウイルスベクターによる破骨細胞への多剤耐性遺伝子(MDR1) 導入。第59回日本癌学会総会記事、595-596頁、2000年
 - Sugimoto, Y., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Sato, S., Tsuruo, T. Retrovirus-Mediated Transfer of Wild-Type and Mutant Human BCRP Complementary DNAs Confer Resistance to Mitoxantrone and SN-38 with Different Cross Resistance Patterns. Proceeding of the 6th Annual Meeting of the Japan Society of Gene

- Therapy, Page: 69, 2000
7. Nakane, M., Hashimoto, D., Mitsuhashi, J., Tsukahara, S., Horikoshi, N., Aiba, K., Sugimoto, Y. Preclinical Pilot Runs toward the Clinical Study of MDR1 Gene Therapy. Proceeding of the 6th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Page: 76, 2000
 8. Takahashi, S., Nagamine, T., Horikoshi, N., Sugimoto, Y., Ogata, E. Retroviral Gene Transfer of Multiple Drug Resistance (MDR) 1 cDNA to Osteoclasts. Proceeding of the 6th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Page: 124, 2000
 9. Saijo, N., Nakamura, T., Mizukami, T., Akutagawa, S., Fukumoto, H., Koh, Y., Tamura, T., Nishio, K. Effect of a novel pyroloacridone, KW-2170 on gene expression in various resistance cells determined by cDNA array. 91th Annual Meeting Am Assoc Cancer Res, San Francisco, CA, April 1-5, 2000
 10. Akutagawa, S., Nakamura, T., Usuda, J., Fukumoto, H., Koh, Y., Tamura, T., Saijo, N., Nishio, K., Differential gene expression in human UCN-01-resistant small cell lung cancer cells. 91th Annual Meeting Am Assoc Cancer Res, San Francisco, CA, April 1-5, 2000

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 分子化学療法による進行がんの制御に関する研究

分担研究者 西條長宏 国立がんセンター中央病院 部長

研究要旨：進行非小細胞肺癌を対象にカルボプラチン、ドセタキセルの併用化学療法の第 I/II 相試験を行った。開始用量はドセタキセル 50mg/m²、カルボプラチン AUC 目標値=4mg/ml x min とした。27 例が登録された。主な用量制限毒性は好中球減少であった。Level 5（ドセタキセル 70mg/m²、カルボプラチン AUC=6）でも最大耐量に到達せず、推奨用量は level 5 と考えられた。

A. 研究目的

臨床病期 III, IV 期の進行非小細胞肺癌に対してはシスプラチンを含む併用化学療法が広く用いられ、生存期間の延長とともに症状の改善が報告されている。カルボプラチンはシスプラチンに比較し、投与時の大量輸液が不要であり、腎毒性、消化器毒性、神経毒性がより軽度である。ドセタキセルは非小細胞肺癌に対する有効な薬剤であり、同系統の薬剤であるパクリタキセルに比較し心毒性、過敏症が軽度である。毒性が軽度で有効な併用化学療法レジメンの開発を目的にカルボプラチンとドセタキセルの併用化学療法の第 I/II 相試験を計画した。各薬剤の至適投与量の決定が第 1 目的であり、有害反応、奏効率、全生存期間の検討を第 2 目的とする。

B. 研究方法

進行非小細胞肺癌に対するカルボプラチン、ドセタキセル併用療法の第 I/II 相試験を行った。対象は進行非小細胞肺癌患者で、未治療例、既治療例では前治療から 4 週間以上の間隔を有する例、年齢 75 歳以下、performance status (PS) 0-1、適当な臓器機能を有し、患者本人からの同意が得られた症例とした。カルボプラチンの投与量は Calvert の式を用い目標 AUC を設定した。24 時間クレアチニン・クリアランスを GFR の代用とした。ドセタキセルとカルボプラチンの投与量はそれぞれ、level I : 50mg/m²、AUC=4mg/ml x min、level II : 50.5、level III : 60.5、level IV : 60.6、level V : 70.6 である。3-4 週毎に投与した。用量制限毒性 (DLT) は grade 4 の白血球、血小板減少、grade 4 の好中球減少に伴う発熱、7 日間

を超えて持続する grade 4 の好中球減少、grade 3 以上の非血液毒性（脱毛、悪心・嘔吐を除く）とした。カルボプラチンはドセタキセルの投与後に行った。各薬剤は 250ml の生理食塩水等に溶解し 1 時間で点滴静脈内投与した。同一用量において 3 症例の検討を行い、3 例中 2 例以上に DLT の出現をみた場合はこれを最大耐量 (MTD) とした。1 例に DLT の出現をみた場合はさらに 3 例追加し、6 例中 2 例以上に DLT の出現をみた場合はこれを MTD とした。推奨用量はその他の毒性、奏効率等から総合的に判断し、MTD あるいはその一つ下のレベルとした。

C. 研究結果

1998 年 1 月から 1999 年 4 月まで 27 例が登録された。年齢中央値は 68 歳（範囲 ; 36-74 歳）、男性 15 例、女性 12 例。前例 PS0:9 例、PS1:18 例、腺癌 21 例、扁平上皮癌 4 例、非小細胞癌 2 例、臨床病期は IIIB 期 9 例、IV 期 18 例であった。前治療 ; 無し 17 例、手術 6 例、手術+放射線 2 例、化学療法 1 例であった。Level I, II, IV で DLT 各 1 例出現したが、level 5 では 6 例中 DLT は認めなかった。主な有害反応は好中球減少 (grade IV : 11 例)、肝機能障害 (grade III : 1 例)、感染 (grade IV : 1 例) であった。奏効率は 22% であった。MTD には到達しなかったが、ドセタキセルは 75mg/m² と 100mg/m² との比較でむしろ 75mg/m² で良好な成績が報告されており、これ以上の増量は行わなかった。推奨用量は level 5（ドセタキセル 70mg/m²、カルボプラチン AUC=6mg/ml x min）と考えられた。

D. 考察, E. 結論

主な有害反応は好中球減少であった。しかし、これに伴う感染の頻度は低く、grade IV の感染を発症した症例は治療開始後 4 日目に発症した肺炎で、治療との関連は少ないと考えられた。Grade III の肝障害を認めた症例は grade IV の感染例と同一症例である。本療法は外来投与可能なレジメンになる可能性があり、未治療例を対象にした第 II 相試験が望まれる。

F. 発表論文

1. Fukuoka, K., Usuda, J., Iwamoto, Y., Fukumoto, Y., Nakamura, T., Yoneda, T., Narita, N., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanisms of action of the novel sulfonamide anticancer agent E7070 on cell cycle progression in human non-small cell lung cancer cells. *Invest. New Drugs*, (*in press*)
2. Saijo, N., Tamura, T., Yamamoto, N. and Nishio, K. New strategy for cancer therapy in 21st century. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, (*in press*)
3. Sekine, I. and Saijo, N. Biology of lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, (*in press*)
4. Tsunoda, T., Nakamura, T., Ishimoto, K., Yamaue, H., Tanimura, H., Saijo, N. and Nishio, K. Upregulated expression of angiogenesis genes and down regulation of cell cycle genes in human colorectal cancer tissue determined by cDNA macroarray. *Anticancer Res.*, (*in press*)
5. Koh, Y., Nishio, K. and Saijo, N. Topoisomerase inhibitors. *Cancer Handbook*, Macmillan Reference Ltd (London, UK), (*in press*)
6. Nishio, K., Nakamura, T., Koh, Y., Kanzawa, F., Tamura, T., Saijo, N. Oncoprotein 18 enhances vindesine-induced antitumor effect. *Cancer*, (*in press*)
7. Inoue, A., Kunitoh, H., Sekine, I., Sumi, M., Tokuyue, K. and Saijo, N. Radiation pneumonitis in lung cancer patients: A retrospective study of risk factors and the long-term prognosis. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 49(3): 649-655, 2001
8. Kanzawa, F., Koizumi, F., Koh, Y., Nakamura, T., Tatsumi, Y., Fukumoto, H., Saijo, N., and Nishio, K. *In vitro* synergistic interactions between the cisplatin analog nedaplatin and the DNA topoisomerase I inhibitor irinotecan and the mechanism of this interaction. *Clin. Cancer Res.*, 7: 202-209, 2001
9. Harada, T., Takaba, K., Hara, T., Yamamoto, N., Tamura, T. and Saijo, N. Inhibitory Effects of Repeated Intravenous Injections of Dexamethasone on Plmonary Toxicity of A New Mitomycin C Analogue KW-2149 in A Novel Rat Model. *The Journal of Toxicological Sciences*, 25: 11-15, 2000
10. Kubota, K., Tamura, T., Fukuoka, M., Furuse, K., Ikegami, H., Ariyoshi, Y., Kurita, Y. and Saijo, N. Phase II study of concurrent chemotherapy and radiotherapy for unresectable stage III non-small-cell lung cancer: Long-term follow-up results. *Japan Clinical Oncology Group Protocol 8902.*, *Annals of Oncology*, 11: 445-450, 2000
11. Saijo, N. Preclinical and clinical trials of topoisomerase inhibitors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 922: 92-99, 2000
12. Saijo, N., Tamura, T. and Nishio, K. Problems in the development of target-based drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 46: S43-S45, 2000
13. Saijo, N. CPT-11/cisplatin in small cell lung cancer. *Adv. In Lung Cancer*, 4: 2-4, 2000
14. Nakamura, Y., Sekine, I., Furuse, K. and Saijo, N. Retrospective comparison of toxicity and efficacy in phase III trials of 3h infusions of paclitaxel for patients 70 years of age or older and patients under 70 years old. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 46: 114-118, 2000

15. Sekine, I. and Saijo, N. Nobel combination chemotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer. *Exp.Opin.Pharmacol.*, 1: 1131-1161, 2000
16. Sekine, I., Matsuda, T., Saisho, T., Watanabe, H., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T. and Saijo, N. Bacterial meningitis observed in a phase I trial of vinorelbine, cisplatin and thoracic radiotherapy for NSCLC: Report of a case and discussion on dose limiting toxicity. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 401-405, 2000
17. Fukuoka, K., Yamagishi, T., Ichihara, T., Nakaike, S., Iguchi, K., Yamada, Y., Fukumoto, H., Yoneda, T., Samata, K., Ikeya, H., Nanaumi, K., Hirayama, N., Narita, N., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanism of action of aragusterol A (YTA0040), a potent anti-tumor marine steroid targeting the G₁ phase of the cell cycle. *Int.J.Cancer*, 88: 810-819, 2000
18. Fujishiro, M., Shinkai, T., Fukuda, M., Tamura, T., Ohe, Y., Kunitoh, H., Nishiwaki, Y., Sekine, I., Fukuda, H. and Saijo, N. Phase I study of weekly infusion of irinotecan hydrochloride (CPT-11) and a 14-day continuous infusion of etoposide in patients with lung cancer: JCOG trial 9408. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 487-493, 2000
19. Nakamura, Y., Kunitoh, H., Kubota, K., Sekine, I., Shinkai, T., Tamura, T., Kodama, T., Sumi, M., Kohno, S. and Saijo, N. Platinum-based chemotherapy with or without TRT in patients with unresectable thymic carcinoma. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 30: 385-388, 2000
20. Usuda, J., Saijo, N., Fukuoka, K., Fukumoto, H., Kuh, H.-J., Nakamura, T., Koh, Y., Suzuki, T., Koizumi, F., Tamura, T., Kato, H. and Nishio, K. Molecular determinants of UCN-01 induced growth inhibition in human lung cancer cells. *Int J Cancer*, 85:275-280, 2000
21. Suzuki, T., Sasaki, H., Kuh, H.J., Agui, M., Tatsumi, Y., Tanabe, S., Terada, M., Saijo, N. and Nishio, K. Detailed structural analysis on both human MRP5 and mouse *mrp5* transcripts. *Gene*, 242:167-173, 2000
22. Kuh, H.-J., Nakagawa, S., Usuda, J., Yamaoka, K., Saijo, N. and Nishio, K. A computational model for quantitative analysis of cell cycle arrest and its contribution to overall growth inhibition by anticancer agents. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91:1303-1313, 2000
23. Fukuoka, K., Nishio, K., Fukumoto, H., Arioka, H., Kurokawa, H., Ishida, T., Iwamoto, Y., Tomonari, A., Suzuki, T., Usuda, J., Narita, N. and Saijo, N. Ectopic p16^{INK4} expression enhances CPT-11-induced apoptosis through the increased delay in S phase progression in human non-small cell lung cancer cells. *Int. J. Cancer*, 82:759-764, 2000
24. Yamamoto, N., Tamura, T., Kamiya, Y., Sekine, I., Kunitoh, H. and Saijo, N. Correlation between docetaxel clearance and estimated cytochrome p450 activity by urinary metabolite of exogenous cortisol. *J.Clin.Oncol.*, 18: 2301-2308, 2000
25. Fukumoto, H., Tamura, T., Kamiya, Y., Usuda, J., Suzuki, T., Kanzawa, F., Kuh, H.-J., Ohe, Y., Saijo, N., Nishio, K. Activation-induced apoptosis of peripheral lymphocytes treated with 7-hydroxystaurosporine, UCN-01. *Invest. New. Drugs*, 17:335-341, 2000
26. Kurata, T., Tamura, T., Sasaki, Y., Fujii, H., Negoro, S., Fukuoka, M. and Saijo, N. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of Bis-acetato-ammine-dichloro-cycloheximine-platinum (IV) (JM216) Administered Once a Day for Five