

厚生労働科学研究研究費補助金  
がん克服戦略研究事業

新しいがん薬物療法の研究

主任研究者 西條 長宏

平成14年度 総括・分担研究報告書

平成15年（2003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	-----	19
江角浩安		
3. 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	-----	23
西尾和人		
4. がん化学療法の分子標的の同定と個別化	-----	25
桑野信彦		
5. 新抗悪性腫瘍薬の早期臨床試験の研究	-----	29
福岡正博		
6. DDS を利用したがん化学療法の選択毒性向上に関する研究	-----	32
松村保広		
7. 新規癌転移血管新生阻害剤 NK4 による癌治療研究	-----	35
松本邦夫		
8. 薬物療法の有効性を決定する要因の解析	-----	38
杉本芳一		
9. 初期臨床試験での作用機構に基づく新薬の適正評価	-----	40
田村友秀		
10. 抗がん剤の第 I 相試験の新しい方法論の開発	-----	42
南 博信		
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

総括研究報告書

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 薬物療法部長

研究要旨 ZD1839 耐性株は *in vivo* でも母細胞と比べ耐性を示した。受容体のダイマー形成の検討では耐性細胞でヘテロダイマー形成量が増加していた。また耐性細胞では ZD1839 との接触によりダイマー形成が増加したが EGFR の自己リン酸化の阻害は低下していた。また下流シグナルである MAPK・AKT 経路の抑制も著明でなかった。EGFR のチロシンキナーゼ活性化後下流シグナルへ伝えるアダプター蛋白の検討では Ras へ伝わる経路が不活性化していると示唆された。異物・毒物の排出システムを担う分子標的である ABC トランスポーター (MDR1, MRP2, BCRP) のプロモーター上に発現を左右する SNPs を同定した。化学療法後に白血病や膀胱がん患者における MDR1 遺伝子の発現上昇と同プロモーター上の GpG サイトのメチル化の有無が関与することを観察した。またがんの悪性形質と関連する ABC トランスポーター以外の 7 個の遺伝子のプロモーター上の GpG メチル化の有無と再発との関連を検討し DAP kinase のメチル化の有無が膀胱がん患者の再発と相関すると示した。HGF のアンタゴニスト NK4 の血管新生阻害に関与する細胞内シグナル伝達の解析を行った。NK4 は血管新生因子によって引き起こされる cyclin D1 の発現誘導を阻害し RB 蛋白のリン酸化を阻害することにより血管内皮細胞の S 期への細胞周期進行の阻害に関与すると考えられた。NK4 遺伝子治療による制がん作用についての解析によるとLewis肺がんやメラノーム細胞を移植したマウスに NK4 発現アデノウイルスベクターを尾静脈から静注することによって腫瘍増殖が抑制された。KRN5500 に引き続きタキソール、シスプラチン、アドリアマイシンなどのミセル内包化に成功した。既にアドリアマイシンについてはミセル体として初の臨床試験が行われた。グルコース飢餓状態で強力な毒性を示すピルヴィニウムパモエートは *in vivo* においても強い抗腫瘍活性を示した。栄養飢餓状態で選択的に毒性を示すスクリーニング系を用いることによってキガマイシンをえた、キガマイシンはヌードマウス移植腫瘍に対しても強い抗腫瘍活性を示した。従来の形態および画像診断では評価できない抗腫瘍効果を機能画像によりとらえることができ分子標的治療薬のサロゲートマーカーとしての有用性が示唆された。一方、血管新生阻害剤の臨床試験においては腫瘍マーカーの変動と抗腫瘍効果 NC/PD との間にある程度の相関を認めた。

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

西尾和人  
国立がんセンター研究所  
室長  
桑野信彦  
九州大学大学院医学研究院  
教授

福岡正博  
近畿大学医学部  
教授  
松村保広  
国立がんセンター研究所支所  
部長  
松本邦夫  
大阪大学大学院医学系研究科  
助教授  
杉本芳一  
財団法人癌研究会癌化学療法センター  
部長  
田村友秀  
国立がんセンター中央病院  
医長  
南 博信  
国立がんセンター東病院  
医長

#### 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局所療法工夫にも拘わらずがんによる死亡は急速に増加しつつある。早期診断・早期発見の努力は極限状態に達し今後の具体的戦略は不透明である。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、非臨床・臨床の研究を展開することによ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および耐性を左右する未知の分子標的を同定するとともに各々の分子標的治療薬の抗腫瘍効果のサロゲートマーカーを同定し、その測定法の確立を試みる。具体的には ZD1839 は EGFR-TKI を標的として開発されてきたが EGFR の発現と効果は相関しない。一方 ZD1839 は様々な抗悪性腫瘍薬抵抗性固形がんに対しても有効なことを報告してきたが ZD1839 耐性細胞を用いその作用機序を解明する。また、薬剤毎にトランスポーターを明らかにし、その阻害剤を同定する。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。従来遺伝子治療は局所療法を主体としてきたが全身投与による効果を検討する。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。薬物動態・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、サロゲートマーカーの同定とその妥当性の検討によってより効果的分子標的治療が具体化される。新しい薬理遺伝学の手法の導入により個々の腫瘍の薬剤感受性の予想も可能とみられ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をもたらす。

#### B. 研究方法

In vitro で持続接触により樹立した PC-9/ZD 細胞の耐性機序を解析した。(1) 耐性細胞における、EGFR 蛋白質およびその関連分子の発現量、リン酸化、ZD1839 によるリン酸化抑制効果の検討を immunoblot, 免疫沈降、RNAase protection、各種キナーゼアッセイなどを用いて検討した。

(2) ZD1839 接触時の EGFR リン酸化抑制作用を各種部位特異的な抗リン酸化 EGFR 抗体を用いて検討した。(3) chemical cross link による HER ファミリーの 2 量体形成量を測定した。

ABC トランスポーターを対象にして正常組織やがんでの発現や SNPs を検討するとともにがんの悪性形質や再発また血管新生/転移と関連する分子標的を同定するため ABC トランスポーターである MRP1 と MRP2 の抗がん剤感受性を制御するドメインを決定するためにキメラタンパクを PCR-増幅やサイト特異的な突然変異法で作成した。ABC トランスポーターや YB-1 などの細胞膜や細胞内局在は特異的抗体を用いて共焦点顕微鏡で検討した。Northern blot、定量 PCR と免疫染色法を用いて各種遺伝子レベルを定量化した。DNA メチレーションの有無について MSP 法、特異的制限酵素による切断、さらに塩基配列決定などで検討した。各種遺伝子のプロモーター活性

について欠失変異導入プロモーターとルシフェラーゼなどを連結させて測定した。BCRP 遺伝子における SNP と slicing variant の頻度とその異常遺伝子による機能変化を検討した。

NK4 遺伝子治療の制癌作用を解析した。CMV プロモーターの下流にヒト NK4 cDNA を組み込んだ発現用カセットの入ったアデノウイルスベクター (AdCMV-NK4) を構築した。マウスの皮下に B16F10 細胞ならびに Lewis 肺癌細胞を移植し、翌日 NK4 アデノウイルスベクターを尾静脈から投与し、腫瘍の成長を経時的に調べた。また、転移に対する効果は NK4 アデノウイルスベクターを尾静脈から投与、翌日  $1 \times 10^6$  個の B16F10 細胞ならびに Lewis 肺癌細胞をマウスの尾静脈から注入し、肺に形成される転移巣を調べた。NK4 による血管内皮細胞の増殖抑制に関与する細胞内シグナル伝達を検討した。培養ヒト齋帯静脈由来血管内皮細胞の培養系に bFGF ならびに VEGF を添加し、これら増殖因子によって誘導されるレセプターのチロシンリン酸化、Erk1/2、Akt、ならびに GSK3- $\beta$  のリン酸化 (活性化)、cyclin D1 の発現、RB のリン酸化などに対する NK4 の作用を western blot 法などによって検討した。

アドリアマイシン (DXR) 内包ミセル体 NK911 とポリエチレングリコール付加 DXR 内包リポソームである、doxil で NK911 と doxil の薬理的違いを基礎的臨床的に検討した。in vitro 固形腫瘍モデルであるスフェロイドに対して NK911 と doxil および free の DXR を作用させ、スフェロイド内部での DXR の分布を蛍光顕微鏡にて観察し、HPLC あるいはコロニーフォーメーション法にて定量化した。

がん細胞の栄養飢餓耐性のメカニズム解析に関して、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するとともに cDNA アレイやチップを用いその詳細なメカニズムの解析をした。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主に動物実験を中心に検討した。

血管新生阻害作用に基づく抗腫瘍効果が期待される VEGF 受容体 (KDR) チロシンキナーゼ阻害剤 TSU-68 の投与症例において、標的阻害および抗腫瘍効果のサロゲートマーカーとしての血管

新生関連因子および腫瘍マーカーの検討を行った。腫瘍マーカーは治療開始約 4 週前、治療開始時と 1 サイクル終了時、血管新生関連因子としては、血中 VEGF、尿中 VEGF、ELAM-1、t-PA、VCAM-1、PAI-1 を治療前、第 8 日目、1 サイクル終了時に測定し、その変動および画像での抗腫瘍効果との関係を解析した。

癌細胞の糖代謝能を FDG-PET で定量的に評価する場合 standardized uptake value (SUV) を用いるが、SUV は食事や血糖値、FDG 投与から撮像までの時間などに影響されるため、PET の条件設定を行った。設定された一定の条件を用いて PET を、CDK 阻害薬である flavopiridol の第 I 相試験で治療をうけた各種がん患者において施行した。治療開始前および開始後 1 ヶ月ごとに PET および CT を施行し SUV の変化および腫瘍の大きさを評価し比較した。VEGF の tyrosine kinase 阻害薬である ZD6474 の第 I 相試験において DCE-MRI により腫瘍血流を評価した。経口製剤である ZD6474 を連日投与し、治療開始前および開始 1 ヶ月後に血流評価を行い比較した。

### C. 研究結果

EGFR を含む各種 HER ファミリー受容体の発現量を、抗体アレイ、cDNA アレイ、immunoblot、RNAase protection assay を用いて PC-9/ZD 細胞における発現量を検討したが、EGFR 発現量の増加以外には、親株に比し大きな変化はみとめられなかった。蛋白質レベルの変動はみとめられなかった。EGFR、HER2、HER3 においては、耐性細胞と親株の間に、塩基配列に変化はなかった。HER2 ファミリーの 2 量体形成量を chemical cross link および免疫沈降法で検討した。EGFR、HER2 の 2 量体形成量は耐性細胞と親株で同程度であったが、EGFR-HER2 のヘテロダイマー形成量が増加していた。また ZD1839 接触により、両細胞でヘテロダイマー形成量が増加した。EGFR と各種アダプター蛋白質の interaction を免疫沈降法で検討した。EGFR-Grb 2 複合体の形成量の減少、EGFR-SOS 複合体の欠如が耐性細胞でみとめられた。ZD1839 接触による EGFR のリン酸化抑制が耐性細胞ではみとめ難い現象は特に、1068 番目のチロシン残基のリン酸化で著明であり、そのリン酸化部位の下流シグナルである MAPK および AKT カスケードが増殖抑制活性に重要であると示された。PC-9/ZD においては AKT カスケ

ードの活性化がみとめられた。ZD1839 接触によるアポトーシスの誘導およびカスパーズの活性化は耐性細胞で低下していた。

がん化学療法後に白血病や膀胱がん患者における MDR1 遺伝子の発現上昇へ同プロモーター上の CpG サイトのメチル化の有無が関与することを観察した。他方、アポトーシスと関連する DAP-kinase のメチル化の有無が膀胱がん患者の再発と関連した。膀胱がんにおいて MDR1 と MRP2 が全身化学療法後、有意に上昇していた。さらに卵巣がんにおいても MRP1 や MRP3 の上昇が患者の予後と関連していた。MRP4 がメトトレキサートや葉酸の細胞外放出に重要な役割を担っていた。他方、MRP1 と MRP2 のエトポシド耐性やメトトレキサートの親和性を決定するドメインを明らかにした。YB-1 が翻訳制御している分子機構を明らかにした。と同時に YB-1 遺伝子の発現が c-Myc と p73 と反応することによって上昇する転写制御を明らかにした。さらに YB-1 は酸化グアニンを含む RNA に親和性が上昇することを見いだした。YB-1 の核内局在が滑膜肉腫の P-糖蛋白質や DNA トポイソメラーゼ IIa 発現と関連することや卵巣がんのシスプラチン耐性相関することを見出した。

Estrogen 様作用を持つ物質、および estrogen 拮抗作用を持つ物質の中で、BCRP の耐性を克服する物質を検索した。estrogen 様作用を持つ物質としては、diethylstilbestrol が K562/BCRP 細胞の topotecan 取り込みをほとんど親株と同程度にまで増大させた。estrogen 拮抗作用を持つ物質の中では、tamoxifen および toremifene が K562/BCRP 細胞の topotecan 取込みを増大させ、K562/BCRP の抗癌剤耐性を克服した。また、抗ホルモン剤の開発を目的として合成された種々の tamoxifen 誘導体の BCRP 阻害作用を調べた。その結果、TAG-139 と名付けた化合物は、estrone の約 5 倍の強い BCRP 耐性克服作用を示した。BCRP 遺伝子の exon 部分に 3 種類の SNP を同定した。exon 2 の G34A (V12M) の頻度は 20% であった。exon 4 の C376T (Q126STOP) の頻度は 1.2% であった。exon 5 の C421A (Q141K) の頻度は 27% であった。また、BCRP cDNA の解析により Ala-315 と Thr-316 の 2 アミノ酸を欠失させる splicing variant を同定した。C376T の SNP は終止コドンを生じさせるため、この SNP の allele では BCRP タンパクはできない。次に他の 3 種の

SNP あるいは splicing variant の BCRP cDNA を細胞に導入したところ、Q141K BCRP cDNA を導入した細胞は野生型 BCRP cDNA を導入した細胞より BCRP タンパクの発現量が著明に低く、抗癌剤に対する耐性度も低かった。交差耐性パターンには変化はなかった。

NK4 遺伝子治療の制癌作用の解析機能を解析した。NK4 発現用組換えアデノウイルスをマウス尾静脈から投与し、血中ならびに組織中の NK4 の発現レベルを調べたところ、NK4 の血中濃度はアデノウイルスベクター投与後 1 週間をピークとして約 150 ng/ml に到達し、その後血中濃度は下がるものの 4 週後も約 10 ng/ml の血中 HGF が維持された。また肝臓・肺・腎臓においても投与後 1 - 2 週間をピークに持続的な NK4 の産生が認められた。マウスの皮下に B16F10 細胞ならびに Lewis 肺癌細胞を移植した後 NK4 アデノウイルスベクターを尾静脈から投与し、腫瘍の成長を経時的に調べた。その結果、NK4 組換えアデノウイルスベクター投与群においては、対照群に比べ腫瘍の成長が抑制され、両腫瘍とも 3 週間後の腫瘍体積は対照群の 25% 以下に抑制された。腫瘍組織における血管新生は NK4 遺伝子治療によって抑制されるとともに癌細胞のアポトーシスが增加していた。また、肺転移に対する NK4 遺伝子治療の作用を調べた結果、対照群 NK4 組換えアデノウイルスベクター投与群では対照群の 10% 程度に強く抑制された。なお、これらの結果に加え、膵臓癌ならびに胃癌に対しても NK4 遺伝子治療による成長阻害作用や転移阻害作用が明らかになった。培養ヒト血管内皮細胞を用いて細胞内シグナル伝達の活性化を調べた結果、NK4 は bFGF によって誘導される cyclin D1 の発現誘導を阻害し、それにより RB のリン酸化を抑制した。

In vitro 固形腫瘍モデルであるスフェロイドに対して、NK911 や doxil およびフリーの DXR を曝露させた時、doxil は内部まで DXR を到達させることはできなかったが、NK911 や DXR は時間とともに free DXR をスフェロイドの深部にまで到達させることができた。曝露後、スフェロイドをトリプシン処理し、細胞を単離し、コロニー形成法を用いてスフェロイドに対する抗腫瘍効果で検討した結果、DXR の浸透度に比例し、DXR と NK911 が高い抗腫瘍効果を示し、doxil の方は低かった。

腫瘍の栄養飢餓耐性を解除する薬剤、ピルヴィニウム塩に活性を用い、ヌードマウスでの抗腫瘍性を検討すると、皮下投与は勿論経口投与でも十分に抗腫瘍性を発揮することが示された。新規の抗腫瘍性栄養飢餓耐性解除薬を見出した。栄養飢餓耐性解除薬スクリーニング系で放線菌の培養ろ液をスクリーニングした。その結果、本年は新規物質を見いだすことが出来た。キガマイシンとなづけた。キガマイシンは栄養飢餓条件下でPANC1細胞に顕著な毒性を示すが通常の培養条件ではその約100倍以上の濃度で初めて毒性が現れた。PANC1細胞のヌードマウスを用いた腫瘍系では3 $\mu$ g/day皮下投与および、15 $\mu$ g/day経口投与で十分な抗腫瘍性を認めた。

血中VEGF、ELAM-1、VCAM-1の治療前、治療中、1サイクル終了時の値はほとんどの症例において大きな変動を認めなかった。また、尿中VEGF、PAI-1、t-PAにおいても多くは変動も小さく、一定の傾向を認めなかった。一方、治療前の4週間および治療1サイクル4週間における腫瘍マーカーの上昇率の検討では、腫瘍マーカーの変動と抗腫瘍効果NC/PDにある程度の相関がみられ、NC症例の大半に腫瘍マーカー上昇率の10%以上の低下を認めた。

Flavopiridolの第I相試験で治療された12例でPETによる腫瘍の代謝能を評価した。Flavopiridolによる治療開始前と開始後と比較したところSUVの減少が9例、増大が3例にみられた。SUVが増大し代謝能が亢進していた3例では、CTによる評価においても腫瘍の大きさが増大していた。一方SUVが低下し代謝能が減弱していた9例中6例では腫瘍の増大を認めなかった。3例でSUVが低下したにもかかわらずCTで腫瘍の悪化と判定されたが、その理由として癌性リンパ管症および心嚢水の出現が1例ずつあり、CTでも腫瘍が増大していたのは1例のみであった。ZD6474の第I相試験で治療された各種がん患者のうち3例でDCE-MRIにより腫瘍血流を評価し、2例で血流が増大し1例で低下していた。血流が増大していた2例はCTによる病変の大きさの評価でも悪化していたが、血流が低下していた患者では大きさは増大していなかった。

#### D. 考察

ZD1839耐性細胞の性状解析を昨年度の遺伝子発現プロファイルの解析に引き続き、耐性機序に

関連する現象を見出した。EGFR-HER2のヘテロダイマー形成量、EGFR-SOSのinteraction、1068番目のリン酸化等は、ZD1839の感受性、耐性を予測するマーカーとなる可能性がある。これらの測定法は現在のところ簡便ではなく、臨床材料での解析が可能にする技術の開発を行う必要がある。またみとめられた現象が、どの程度ZD1839感受性に寄与するのかを検証する意味で、基礎的には、dominant negative 遺伝子導入実験を実施し、検証する必要がある。また、得られた分子を指標とした、臨床試験におけるcorrelative studyを実施する。

ABCトランスポーターのうち、MRPファミリーの幾つかについて親和性を示す抗がん剤を同定した。この研究からABCトランスポーターの構造と機能から見た親和性を示す抗がん剤との対応を明らかにする。ABCトランスポーターに関しては膀胱がん、卵巣がん、骨膜肉腫などの臨床癌症例において化学療法後の再発や予後との関連性について検討した。その結果、がん腫によって発現上昇するABCトランスポーターを明らかにする。と同時にがん化学療法や治療後再発と密接に関連するABCトランスポーターを同定することにより、使用する抗がん剤の選択が可能となると考える。YB-1は多機能を示すタンパクであるが、いづれのがんの悪性形質や治療効果の有無と密接に関連するか否かを明らかにすることは大切である。がん血管新生に関与する分子標的を対象にした有効な薬剤を開発するためには、もっとがんの血管新生への間質の役割を含め、その分子的背景の研究を進めるとともに、有力な分子標的の探索を進める。

BCRPによる抗癌剤耐性がestrone、estradiolのみならず、種々のホルモン剤、抗ホルモン剤により克服されることが明らかになった。BCRPの基質、阻害剤の同定と開発は、耐性の克服による抗癌剤の治療効果の向上という目的とともに、抗癌剤と併用される薬の抗BCRP作用による抗癌剤の体内動態の変化とその結果としての副作用（広い意味での薬物相互作用）の理解と防止にも役立つと考えられる。今回同定したBCRPタンパクの発現を消失させるC376T(Q126STOP)と発現を低下させるC421A(Q141K)の2つのSNPは、抗癌剤投与時の副作用と関係する可能性があると考えられる。現在この仮説を検証するための遺伝子解析研究を行っている。

今回、NK4 発現組換えアデノウイルスベクターを用いて NK4 の制癌作用を検討したところ、尾静脈からの全身投与において強力な転移阻害ならびに腫瘍血管新生阻害を介したがんの成長抑制作用が認められた。これら NK4 遺伝子治療の制癌作用は、NK4 の 2 機能性によって達成されたと考えられる。自殺遺伝子や癌抑制遺伝子を用いた遺伝子治療では遠隔臓器に潜伏する微小ながんの増大や浸潤・転移を防ぐことができない。これに対し、NK4 遺伝子治療はこれら遺伝子治療の難点を克服できる新しい制癌法になることが期待される。NK4 の血管内皮増殖抑制に関与するシグナル伝達系は Akt ならびに GSK3- $\beta$  を介してもたらされる cyclin D1 ならびに RB リン酸化経路にあることを明らかにした。したがって、NK4 の作用点は PI3 キナーゼに依存した Akt 活性化プロセスにあると考えられる。一方、NK4 の血管新生阻害作用は何らかの NK4 結合分子を介していると予想される。

臨床的には腫瘍血管と腫瘍血管の距離が離れていて、薬剤が深部まで到達しにくいと考えられる胃スキルスがんや膵癌などの難治がんには doxil より NK911 の方が有効ではないかと考えられる。

本年度の研究で、新しい治療標的になる生物反応の分子機構の解析を行い PKB/Akt, AMPK の関与を確定した。慢性的血流不足の組織に特異性があるとするれば、がん組織特異性を期待できる。実際、本年度に抗腫瘍性まで検討したピルヴィニウム塩、キガマイシンは期待通りの抗腫瘍性を発揮した。栄養飢餓耐性を標的とすることの正しさを強く示唆する。

今回検討した血管新生関連因子に標的阻害や効果を示唆する変動は認められなかった。これは、少数例、様々な癌腫であるなどの問題点があるが、今回検討した因子が血管新生阻害作用を臨床的には反映しないか、あるいは TSU-68 自体の効果の問題であることが考えられる。このような検討においては、標的そのものの阻害作用のモニターが必須と思われる。一方、腫瘍マーカー値の変動は画像評価とある程度相関することが示唆された。腫瘍マーカーの増加率の低下は多くの SD/PD 症例にみられた。このような薬剤における画像評価 SD/PD の意義についても、腫瘍マーカーの変動と同様に不明と考えられ、第 II 相試験、第 III 相試験において PET などの新たな指標や生

存期間などとの比較検討が必要と思われる。

Flavopiridol の第 I 相試験において、CT で腫瘍が縮小しなくても腫瘍マーカーが低下し長期間腫瘍が増大しなかった患者があり、この患者では治療開始後の PET で SUV が減少していた。分子標的薬の中には必ずしも腫瘍サイズは縮小しなくても増殖抑制が期待されるものもある。このような場合、PET あるいは DCE-MRI などで薬物の生物活性を評価することは、薬物の臨床評価の一つの方法となりえると期待される。

## E. 結論

EGFR 特異的チロシンキナーゼ阻害剤 ZD1839 に対する特異的耐性細胞の性状解析をおこなった。EGFR/HER-2 のヘテロダイマー、EGFR-SOS の関連など ZD1839 に対する感受性、耐性のマーカー分子の候補が選択できた。

DAP-キナーゼ遺伝子プロモーターの CpG メチル化の有無が膀胱がん患者の再発や予後と密接に相関していた。ABC トランスポーターの中で MDR1、MRP2 や MRP3 の発現上昇が患者の予後と相関することが膀胱がんや卵巣がんで観察された。MRP4 やメトトレキサートや葉酸の細胞外放出に重要な役割を担っていた。YB-1 の核内局在や発現上昇が卵巣がんのシスプラチン耐性や滑膜肉腫の P-糖蛋白質やトポイソメラーゼ IIa の発現上昇に関与していた。

Estrone、estradiol が BCRP による抗癌剤耐性を克服することを明らかにした。合成 estrogen 剤である diethylstilbestrol、新規 tamoxifen 誘導体である TAG-139 が強い BCRP 耐性克服作用を示した。BCRP 遺伝子の SNP の検索とその機能の評価を行い、BCRP 蛋白の発現を消失させる C376T (Q126STOP) と発現を低下させる C421A (Q141K) の 2 つの SNPs を同定した。

NK4 は Akt 活性化プロセスの阻害を介して血管内皮細胞の増殖を抑制した。何らかの NK4 結合分子を介する Akt 活性化プロセスの阻害は、血管新生阻害に関与する新しいシグナル伝達の解明につながると予想された。組換えアデノウイルスを用いる NK4 遺伝子治療は目立った副作用をとまわずに悪性黒色腫、肺癌、胃癌、膵臓癌に対して腫瘍血管新生阻害を介した癌の成長抑制や浸潤・転移阻害作用を示した。NK4 遺伝子治療は従来の抗癌剤治療の難点を克服できる新しい制癌法になることが示された。



薬物キャリアとしてミセル体とリポソーム体の基礎研究および臨床試験の解析から、腫瘍血管の乏しいがん種においては、薬物キャリアががん組織に到達したあとは出来るだけ速やかにキャリアに内包された薬物を放出したほうがよいことが示された。

栄養飢餓耐性解除を目指した新しい戦略に基づく新しい抗癌薬の探索を行い、えられた化合物の抗腫瘍性を確認し戦略の正しさを証明した。

血管新生阻害剤の第I相試験において、標的阻害作用のサロゲート候補として血管新生関連因子をモニターしたが有意の変動や変動の意義をとらえることはできなかった。

分子標的薬の臨床試験においてPETあるいはDCE-MRIなどで腫瘍の機能解析を行い薬物の生物学的活性を評価することは、効率的な分子標的薬物の臨床開発に貢献する可能性があること示された。それぞれの薬物において観察された生物学的活性の意義は、薬物の臨床的有用性との対比を行うことにより、最終的に評価する必要と示された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Noda, K., Nishiwaki, Y., Kawahara, M., Negoro, S., Sugiura, T., Yokoyama, A., Fukuoka, M., Mori, K., Watanabe, K., Tamura, T., Yamamoto, S., Saijo, N. for the Members of the Japan Clinical Oncology Group. Irinotecan plus cisplatin as compared with etoposide plus cisplatin for extensive small-cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 346(2): 85-91, 2002
- 2) Natsume, T., Koh, Y., Kobayashi, M., Fukumoto, H., Takahashi, F., Nakamura, T., Ohe, Y., Saijo, N. and Nishio, K. Enhanced antitumor activities of TZT-1027 against TNF- $\alpha$  or IL-6 secreting Lewis lung carcinoma in vivo. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 49: 35-47, 2002
- 3) Inomata, M., Kaneko, A., Kunimoto, T., Saijo, N. *In vitro* thermo- and thermochemo-sensitivity of

retinoblastoma cells from surgical specimens. *Int. J. Hyperthermia*, 18: 50-61, 2002

- 4) Sekine, I., Nishiwaki, Y., Ogino, T., Yokoyama, A., Saito, M., Mori, K., Tsukiyama, I., Tsuchiya, S., Hayakawa, K., Yoshimura, K., Ishizuka, N. and Saijo, N. Phase II study of twice-daily high-dose thoracic radiotherapy alternating with cisplatin and vindesine for unresectable stage III non-small-cell lung cancer: JCOG 9306. *J. Clin. Oncol.*, 20(3): 797-803, 2002
- 5) Koh, Y., Tsunoda, T., Iwahashi, M., Yamaue, H., Ishimoto, K., Tanimura, H., Fukumoto, H., Nakamura, T., Tatsumi, Y., Shimizu, M., Saijo, N. and Nishio, K. Decreased expression of  $\alpha$ 2,8 sialyltransferase and increased expression of  $\beta$ 1,4 N-acetylgalactosaminyltransferase in gastrointestinal cancers. *Exp. Biol. Med.*, 227(3): 196-200, 2002
- 6) Naruse, I., Ohmori, T., Ao, Y., Fukumoto, H., Kuroki, T., Mori, M., Saijo, N. and Nishio, K. Antitumor activity of the selective epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TK1) Iressa<sup>®</sup> (ZD1839) in an EGFR-expressing multidrug resistant cell line *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Cancer*, 98: 310-315, 2002
- 7) Takahashi, F., Akutagawa, S., Fukumoto, H., Tsukiyama, S., Ohe, Y., Takahashi, K., Fukuchi, Y., Saijo, N. and Nishio, K. Osteopontin induces angiogenesis of murine neuroblastoma cells in mice. *Int. J. Cancer*, 98: 707-712, 2002
- 8) Kusaba, H., Tamura, T., Shimoyama, T., Hotta K., Inoue, A., Nokihara, H., Ueda, Y., Akiyama, Y., Yamamoto, N., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Kodama, T. and Saijo, N. Phase I/II study of 3-week cycle cisplatin-gemcitabine in advanced non-small cell lung cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 32(2): 43-47, 2002
- 9) Fukuoka, K., Arioka, H., Iwamoto, Y., Fukumoto, H., Kurokawa, H., Ishida, T., Tomonari, A., Suzuki, T., Usuda, J.,

- Kanzawa, F., Kimura, H., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanism of vinorelbine-induced radiosensitization of human small cell lung cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 49: 385-390, 2002
- 10) Naruse, I., Fukumoto, H., Saijo, N. and Nishio, K. Enhanced anti-tumor effect of trastuzumab in combination with cisplatin. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 574-581, 2002
  - 11) Ohe, Y. and Saijo, N. Results of recent Japanese clinical trials in lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, 3(4): 243-248, 2002
  - 12) Ohira, T., Akutagawa, S., Usuda, J., Nakamura, T., Hirano, T., Tsuboi, M., Nishio, K., Taguchi, F., Ikeda, N., Nakamura, H., Konaka, C., Saijo, N. and Kato, H. Up-regulated gene expression of angiogenesis factors in post-chemotherapeutic lung cancer tissues determined by cDNA macroarray. *Oncology Reports*, 9: 723-728, 2002
  - 13) Takada, M., Fukuoka, M., Kawahara, M., Sugiura, T., Yokoyama, A., Yokota, S., Nishiwaki, Y., Watanabe, K., Noda, K., Tamura, T., Fukuda, H. and Saijo, N. for the members of the JCOG. Phase III study of concurrent versus sequential thoracic radiotherapy in combination with cisplatin and etoposide for limited-stage small-cell lung cancer: Results of the JCOG study 9104. *J. Clin. Oncol.*, 20(14): 3054-3060, 2002
  - 14) Sekine, I., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Relationship between objective responses in phase I trial and potential efficacy of non-specific cytotoxic investigational new drugs. *Ann Oncol.*, 13(8): 1300-1306, 2002
  - 15) Kawamura-Akiyama, Y., Kusaba, H., Kanzawa, F., Tamura, T., Saijo, N. and Nishio, K. Non-cross resistance of ZD0473 in acquired cisplatin-resistant lung cancer cell lines. *Lung Cancer*, 38: 43-50, 2002.
  - 16) Saijo, N. Translational study in cancer research. *Inter Med.*, 41(10): 770-773, 2002
  - 17) Saijo, N. The molecular biology and signal transduction of epidermal growth factor receptor. *New Developments in lung cancer*, 1(2):3-6, 2002
  - 18) Saijo, N. Irinotecan combined with radiation therapy for patients with stage III non-small-cell lung cancer: current trials. *Clin. Lung Cancer*, 4(Suppl. 1): S21-S25, 2002
  - 19) Inoue, A., Kunitoh, H., Mori, K., Nukiwa, T., Fukuoka, M., Saijo, N. Phase I trial of weekly docetaxel in elderly patients with non-small cell lung cancer, *Lung Cancer*, 38: 205-209, 2002
  - 20) Nokihara, H., Saijo, N. A patient with stage III non-small-cell lung cancer treated with irinotecan plus radiation therapy. *Case Studies in Lung Cancer*, 1(8): 2-7 2002
  - 21) Koh, Y., Nishio, K. and Saijo, N. Mechanisms of action of cancer chemotherapeutic Agents: topoisomerase inhibitors. In "Cancer Handbook" Reference Nature Publishing Group, Crinan Street, London, UK. Chap. 84C, 1313-1322, 2002
  - 22) Murakami, H., Tamura, T., Yamada, Y., Yamamoto N., Ueda, Y., Shimoyama, T. and Saijo, N. ZD0473 pharmacokinetics in Japanese patients: a Phase I dose-escalation study. *Eur. J. Cancer*, 38(Suppl.8): S1-S5, 2002
  - 23) Usuda, J., Inomata, M., Fukumoto, H., Iwamoto, Y., Suzuki, T., Kuh, HJ., Fukuoka, K., Kato, H., Saijo, N., Nishio, K. Restoration of p53 gene function in 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate-resistant human leukemia K562/TPA cells. *Int. J. Oncol.*, 22: 81-86, 2003
  - 24) Okamoto, M., Ono, M., Uchiumi, T., Ueno, H., Kohno, K., Sugimachi, K. and Kuwano, M. Up-regulation of thrombospondin-1 gene by epidermal growth factor and transforming growth factor beta in human cancer cells - transcriptional activation and messenger RNA stabilization. *Biochim. Biophys Acta.*, 1574: 24-34, 2002
  - 25) Tada, Y., Wada, M., Migita, T., Nagayama, J., Hinoshita, E., Mochida, Y., Maehara, Y.,

- Tsuneyoshi, M., Kuwano, M. and Naito, S. Increased expression of multidrug resistance-associated proteins in bladder cancer during clinical course and drug resistance to doxorubicin. *Int. J. Cancer*, 98: 630-635, 2002
- 26) Hirata, A., Ogawa, S., Kometani, T., Kuwano, T., Naito, S., Kuwano, M. and Ono, M. ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res.*, 62: 2554-2560, 2002
- 27) Itokawa, T., Nokihara, H., Nishioka, Y., Sone, S., Iwamoto, Y., Yamada, Y., Cherrington, J., McMahon, G., Shibuya, M., Kuwano, M. and Ono, M. Antiangiogenic effect by SU5416 is partly attributable to inhibition of Flt-1 receptor signaling. *Mol. Cancer Ther.*, 1: 295–302, 2002
- 28) Tada, Y., Wada, M., Mochida, Y., Taniguchi, S., Taguchi, K., Tsuneyoshi, M., Naito, S. and Kuwano, M. The association of hypermethylation of multiple genes including DAP-kinase with recurrence in superficial bladder cancers. *Cancer Res.*, 62: 4048-4053, 2002
- 29) Urata, Y., Yamaguchi, M., Higashiyama, Y., Ihara, Y., Goto, S., Kuwano, M., Horiuchi, S., Sumikawa, K. and Kondo, T. Reactive oxygen species accelerate production of vascular endothelial growth factor by advanced glycation end products in RAW264.7 mouse macrophages. *Free Radic. Biol. Med.*, 32: 688-701, 2002
- 30) Chen, Z. S., Lee, K., Walther, S., Raftogianis, R. B., Kuwano, M., Zeng, H. and Kruh, G. D. Analysis of methotrexate and folate transport by multidrug resistance protein 4 (ABCC4): MRP4 is a component of the methotrexate efflux system. *Cancer Res.*, 62: 3144-3150, 2002
- 31) Uchimiya, H., Furukawa, T., Okamoto, M., Nakajima, Y., Matsushita, S., Ikeda, R., Gotanda, T., Haraguchi, M., Sumizawa, T., Ono, M., Kuwano, M., Kanzaki, T. and Akiyama, S. Suppression of thymidine phosphorylase-mediated angiogenesis and tumor growth by 2-deoxy-L-ribose. *Cancer Res.*, 62: 2834-2839, 2002
- 32) Ashizuka, M., Fukuda, T., Nakamura, T., Shirasuna, K., Iwai, K., Izumi, H., Kohno, K., Kuwano, M. and Uchiumi, T. Novel translational control through iron-responsive element by interaction of multifunctional protein YB-1 and IRP2. *Mol. Cell Biol.*, 22: 6375-6383, 2002
- 33) Hashimoto, K., Uchiumi, T., Konno, T., Ebihara, T., Nakamura, T., Wada, M., Sakisaka, S., Maniwa, F., Amachi, T., Ueda, K. and Kuwano, M. Trafficking and functional defects by mutations of the ATP-binding domains in MRP2 in patients with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatology*, 36: 1236-1245, 2002
- 34) Uramoto, H., Izumi, H., Ise, T., Tada, M., Uchiumi, T., Kuwano, M., Yasumoto, K., Funo, K. and Kohno, K. p73 interacts with c-Myc to regulate YB-1 expression. *J. Biol. Chem.*, 277: 31694-31702, 2002
- 35) Hayakawa, H., Uchiumi, T., Fukuda, T., Asizuka, M., Kohno, K., and Kuwano, M., Sekiguchi, M. Binding capacity of human YB-1 protein for RNA containing 8-oxoguanine. *Biochemistry*, 41: 12739-12744, 2002
- 36) Jeong, S., Itokawa, T., Shibuya, M., Kuwano, M., Ono, M., Higuchi, R and Miyamoto, T. Costunolide, a sesquiterpene lactone from *Saussurea lappa*, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway. *Cancer Lett.*, 187: 129-133, 2002
- 37) Yahata, H., Kobayashi, H., Kamura, T., Amada, S., Hirakawa, T., Kohno, K., Kuwano, M. and Nakano, H. Increased nuclear localization of transcription factor YB-1 in acquired cisplatin-resistant ovarian cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 128:621-626, 2002
- 38) Kakehi, M., Koyabu, N., Nakamura, T., Uchiumi, T., Kuwano, M., Ohtani, H., Sawada, Y. Functional characterization of mouse cation transporter mOCT2 compared

- with mOCT1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 23 :644-650, 2002
- 39) Ohishi, Y., Oda, Y., Uchiumi, T., Kobayashi, H., Hirakawa, T., Miyamoto, S., Kinukawa, N., Nakano, H., Kuwano, M. and Tsuneyoshi, M. ATP-binding cassette superfamily transporter gene expression in human primary ovarian carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 8: 3767-3775, 2002
- 40) Kuwano, M., Uchiumi, T., Hayakawa, H., Ono, M., Wada, M., Izumi, H. and Kohno, K. The basic and clinical implication of ABC transporters, YB-1 and angiogenesis in human malignancies. *Cancer Science*, 94: 9-14, 2003
- 41) Oda, Y., Ohishi, Y., Saito, T., Hinoshita, E., Uchiumi, T., Kinukawa, N., Iwamoto, Y., Kohno, K., Kuwano, M., and Tsuneyoshi, M. Nuclear expression of Y-box-binding protein-1 correlates with P-glycoprotein and topoisomerase II $\alpha$  expression, and with poor prognosis in synovial sarcoma. *J. Pathol.*, 199: 251-258, 2003
- 42) Masuda, K., Ono, M., Okamoto, M., Morikawa, W., Otsubo, M., Migita, T., Tsuneyoshi, M., Okuda, H., Shuin, T., Naito, S., and Kuwano, M. Down-regulation of cap43 gene by von Hippel-Lindau tumor suppressor protein in human renal cancer cells. *Int. J. Cancer*, in press
- 43) Nakao, S., Kuwano, T., Ishibashi, T., Kuwano, M. and Ono, M. Synergistic effect of TNF- $\alpha$  in soluble vascular cell adhesion molecule-1-induced angiogenesis through  $\alpha$ 4 integrins. *J. Immunol.*, in press
- 44) Konno, T., Ebihara, T., Hisaeda, K., Uchiumi, T., Nakamura, T., Shirakusa, T., Kuwano, M. and Wada, M. Identification of domain participating in the substrate specificity and subcellular localization of the multidrug resistance protein MRP1 and MRP2. *J. Biol. Chem.*, in press
- Sugimoto, Y., Tsukahara, S., Sato, S., Suzuki, M., Nunoi, H., Malech, H. L., Gottesman, M. M., and Tsuruo, T. Drug-selected co-expression of P-glycoprotein and gp91 in vivo from an MDR1-bicistronic retrovirus vector Ha-MDR-IRES-gp91. *J. Gene Med.*, in press.
- 45) Sugimoto, Y., Tsukahara, S., Imai, Y., Sugimoto, S., and Tsuruo, T. Reversal of breast cancer resistance protein-mediated drug resistance by estrogen antagonists and agonists. *Mol. Cancer Ther.*, 2: 105-112, 2003
- 46) Hong, Y., Yu, S. S., Kim, J. M., Lee, K., Na, Y. S., Whitley, C. B., Sugimoto, Y., and Kim, S. Construction of a high efficiency retroviral vector for gene therapy of Hunter's syndrome. *J. Gene Med.*, 5: 18-29, 2003
- 47) Wang, X., Furukawa, T., Nitanda, T., Okamoto, M., Sugimoto, Y., Akiyama, S., and Baba, M. Breast cancer resistance protein (BCRP) induces resistance to HIV-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Mol. Pharmacol.*, 63: 65-72, 2003
- 48) Kage, K., Tsukahara, S., Sugiyama, T., Asada, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., and Sugimoto, Y. Dominant-negative inhibition of breast cancer resistance protein as drug efflux pump through the inhibition of S-S dependent homodimerization. *Int. J. Cancer*, 97: 626-630, 2002
- 49) Imai, Y., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., and Sugimoto, Y. Estrone and 17 $\beta$ -estradiol reverse breast cancer resistance protein-mediated multidrug resistance. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 231-235, 2002
- 50) Imai, Y., Nakane, M., Kage, K., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., Miki, Y., and Sugimoto, Y. C421A polymorphism in the human breast cancer resistant protein gene is associated with low expression of Q141K protein and low-level drug resistance. *Mol. Cancer Ther.*, 1: 611-616, 2002
- 51) Horie, K., Tomida, A., Sugimoto, Y., Yasugi, T., Yoshikawa, H., Taketani, Y., and Tsuruo, T. SUMO-1 conjugation to intact DNA topoisomerase I amplifies cleavable complex formation induced by

- camptothecin, *Oncogene*, 21: 7913-7922, 2002
- 52) Che, X. F., Nakajima, Y., Sumizawa, T., Ikeda, R., Ren, X. Q., Zheng, C. L., Mukai, M., Furukawa, T., Haraguchi, M., Gao, H., Sugimoto, Y., and Akiyama, S. Reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by a newly synthesized 1,4-benzothiazipine derivative, JTV-519. *Cancer Lett.*, 187: 111-119, 2002
  - 53) Maemondo, M., Narumi, K., Saijo, Y., Usui, K., Tahara, M., Tazawa, R., Hagiwara, K., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Nukiwa, T. Targeting angiogenesis and HGF function using an adenoviral vector expressing the HGF-antagonist NK4 for cancer therapy. *Molecular Therapy*, 5: 177-185, 2002
  - 54) Hirao, S., Yamada, Y., Koyama, F., Fujimoto, H., Takahama, Y., Ueno, M., Kamada, K., Mizuno, T., Maemondo, M., Nukiwa, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Nakajima, Y. Tumor suppression effect using NK4, a molecule acting as an antagonist of HGF, on human gastric carcinomas. *Cancer Gene Ther.*, 9: 700-707, 2002
  - 55) Maehara, N., Nagai, E., Mizumoto, K., Sato, N., Matsumoto, K., Nakamura, T., Narumi, K., Nukiwa, T., and Tanaka, M. Gene transduction of NK4, HGF antagonist, inhibits in vitro invasion and in vivo growth of human pancreatic cancer. *Clin. Exp. Metastasis*, 19: 417-426, 2002
  - 56) Saimura, M., Nagai, E., Mizumoto, K., Maehara, N., Okino, H., Katano, M., Matsumoto, K., Nakamura, T., Narumi, K., Nukiwa, T., and Tanaka M. Intraperitoneal injection of adenovirus-mediated NK4 gene suppresses peritoneal dissemination of pancreatic cancer cell line AsPC-1 in nude mice. *Cancer Gene Ther.*, 9: 799-806, 2002
  - 57) Saimura, M., Nagai, E., Mizumoto, K., Maehara, N., Minamishima, Y.A., Katano, M., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Tanaka, M. Tumor Suppression through Angiogenesis Inhibition by SUIT-2 Pancreatic Cancer Cells Genetically Engineered to Secrete NK4. *Clin. Cancer Res.*, 8: 3243-3249, 2002
  - 58) Kikuchi, T., Maemondo, M., Narumi, .K, Matsumoto, K., Nakamura, T., and Nukiwa, T. Tumor suppression induced by intratumor administration of adenovirus vector expressing NK4, a 4-kringle antagonist of hepatocyte growth factor, and naïve dendritic cells. *Blood*, 100: 3950-3959, 2002
  - 59) Matsumoto, K. and Nakamura, T. NK4 (HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics. *Cancer Sci.*, in press (2003).
  - 60) Matsumura, Y., Haruyama, K., Hamaguchi, T., Shirao, K., Muro, K., Yamada, Y., Shimada, Y., and Sugano, K. The effect of 3 hour-interval between methotrexate and 5-fluorouracil in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 32, 9-13, 2002
  - 61) Namiki, Y., Muro, K., Shirao, K., Shimada, Y., Matsumura, Y., Yamada, Y., Goto, M., Hamaguchi, T., Mizuno, T., and Ura, T. Prognostic factors for patients with metastatic colorectal cancer receiving protracted venous infusion of 5FU. *Am. J. Clin. Oncol.* 25, 182-186, 2002
  - 62) Tsukioka, Y., Matsumura, Y., Hamaguchi, T., Koike, H., Moriyasu, F., and Kakizoe, T. Pharmaceutical and Biomedical Differences between Micellar Doxorubicin (NK911) and Liposomal Doxorubicin (Doxil). *Jpn. J. Cancer Res.* 10, 1145-1153, 2002
  - 63) Mizumura, Y., Matsumura, Y., Yokoyama, M., Okano, T., Kawaguchi, T., Moriyasu, F., and Kakizoe, T. Micells Incorporating an Anticancer Agent, KRN5500, Diminish Pulmonary Toxicity of KRN5500. *Jpn. J. Cancer Res.* 11, 1237-1243, 2002
  - 64) Hosokawa, A., Yamada, Y., Shimada, Y., Muro, K., Matsumura, Y., Shirao, K.,

- Fujita, S., Akasu, T., and Moriya, Y. Weekly hepatic arterial infusion of 5-Fluorouracil and subsequent systemic chemotherapy for liver metastases from colorectal cancer. *JCO* (in press)
- 65) Matsumura, Y. An interim analysis of phase I clinical trial of MCC-465, a doxorubicin (DXR) encapsulated in PEG-immunoliposome, in patients with metastatic stomach cancer. *Polymeric Drugs in Clinical Stage* (Eds. Maeda H. et al.) Kluwer Academic/Plenum Publishers New York. 179-193, 2003
- 66) Sunaga, N., Kohno, T., Yanagitani, N., Sugimura, H., Kunitoh, H., Tamura, T., Takei, Y., Tsuchiya, S., Saito, R., Yokota, J. Contribution of the NQO1 and GSTT1 Polymorphisms to Lung Adenocarcinoma Susceptibility. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev*, 11: 730-738, 2002
- 67) Yanagitani, N., Kohno, T., Sunaga, N., Kunitoh, H., Tamura, T., Tsuchiya, S., Saito R., Yokota, J. Localization of a human lung adenocarcinoma susceptibility locus, possibly syntenic to the mouse *Pasl* locus, in the vicinity of the D12S1034 locus chromosome 12p11.2-p12.1. *Carcinogenesis*, 23(7): 1177-1183, 2002
- 68) Yanagitani, N., Kohno, T., Kim, J-G., Kunitoh, H., Tamura, T., Takei, Y., Tsuchiya, S., Saito, R. and Yokota, J. Identification of D19S246 as a novel lung adenocarcinoma susceptibility locus by genome survey with 10-cM resolution microsatellite markers. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev.*, (in press)
- 69) Saeki, M., Ozawa, S., Saito, Y., Jinno, H., Hamaguchi, T., Nokihira, H., Shimada, Y., Kunitoh, H., Yamamoto, N., Ohe, Y., Yamada, Y., Shirao, K., Muto, M., Mera, K., Goto, K., Ohmatsu, H., Kubota, K., Niho, S., Kakinuma, R., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Sawada, J. Three novel single nucleotide polymorphisms in UGT1A10. *Drug Metab Pharmacokin* 17: SNP24 (488)-SNP26 (490), 2002
- 70) Nakagawa, K., Tamura, T., Negoro, S., Kudoh, S., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Takeda, K., Swaisland, H., Nakatani, I., Hirose, M., Dong, R. -P., Fukuoka, M. Phase I pharmacokinetic trial of the selective oral edipermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839, Iressa) in Japanese patients with solid malignant tumors. *Ann Clin Oncol*, (in press).
- 71) Fukuoka, M., Yano, S., Giaccone, G., Tamura, T., Nakagawa, K., Douillard, J.Y., Nishiwaki, Y., Vansteenkiste, J., Kudoh, S., Rischin, D., Eek, R., Horai, T., Noda, K., Takata, I., Smit, E., Averbuch, S., Wolf, M., Macleod, A., Forsythe, B., Feyereislova, A., Dong, R.P., Baselga, J. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (the IDEAL 1 trial). *J Clin Oncol*, (in press).
- 72) Komiya, T., Fusetani N, Matsunaga S, Kubo A, Kaye FJ, Kelly MJ, Tamura K, Yoshida M, Fukuoka M and Nakagawa K., Ritterazine B, a new cytotoxic natural compound, induces apoptosis on cancer cell, *Cancer Chemother Pharmacol*, (in press).
- 73) Kobayashi, K., Hino, M., Fukuoka, M., Takeuchi, K., Furuse, K., Yoneda, S., Hasegawa, K., Noda, K., Kinoshita, H., Kimura, I., Taguchi, T., Kanamaru, R., Horikoshi, N. and Niitani, H. Phase I studies of nogitecan hydrochloride for Japanese. *Int J Clin Oncol.*, 7: 177-186, 2002
- 74) Negoro, S., Masuda, N., Takada, Y., Sugiura, T., Kudoh, S., Katakami, N., Ariyoshi, Y., Ohashi, Y., Niitani, H., Fukuoka, M. Randomized phase III trial of irinotecan combined with cisplatin for advanced non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 88: 35-341, 2002
- 75) Yamada, M., Kudoh, S., Fukuda, H., Nakagawa, K., Yamamoto, N., Nishimura, Y., Negoro, S., Takeda, K., Tanaka, M. and Fukuoka, M. Dose-escalation study of

weekly irinotecan and daily carboplatin with concurrent thoracic radiotherapy for unresectable stage III non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 87: 258-263, 2002

- 76) Jinno, H., Saeki, M., Hanioka, N., Tanaka-Kagawa, T., Saito, Y., Ozawa, S., Ando, M., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Sawada, J. Functional characterization of wild-type and variant (T202I and M59I) human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A10. *Drug Metab Dispos* (in press)

## 2. 学会発表

- 1) Kuwano, M. ATP binding cassette (ABC) transporter superfamily genes as molecular targets for anticancer drug sensitivity. The 2nd Japan-China joint conference for cancer research (session) 2002年5月31日-6月1日 (徳島)
- 2) 桑野信彦, がん分子標的治療、第7回“癌と遺伝子・大分外科フォーラム”(特別講演) 2002年7月8日 (大分)
- 3) 桑野信彦, 血管新生とがんの治療・診断への新しい展開. 福岡労災保険指定病院協会学術講演会、2002年7月30日 (福岡)
- 4) Kuwano, M. Antiangiogenesis as molecular cancer therapeutic strategy. *Vascular biology in the post-genome era 2002* (International symposium on vascular biology) 2002/8/23-24, Korea
- 5) 持田泰、和田守正、田口健一、谷口秀一、蛭原拓哉、恒吉正澄、桑野博行、桑野信彦、腸管におけるDNA損傷と発がんへのP-糖蛋白質の関与、第61回日本癌学会総会(ワークショップ) 2002年10月1-3日 (東京)
- 6) 今野俊和、蛭原卓哉、中村崇規、久枝啓史、内海健、和田守正、白日高歩、桑野信彦、ABCトランスポーターMRP1とMRP2の細胞内局在および抗がん剤を認識するドメインの同定、第61回日本癌学会総会(ワークショップ) 2002年10月1-3日 (東京)
- 7) 中尾新太郎、桑野信彦、小野真弓、可溶性VCAM-1(sVCAM-1)による血管新生とそのシグナル伝達、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 8) 増田克明、西江昭弘、岡本正博、森河亘、大坪路弘、内藤誠二、小野真弓、桑野信彦、腎癌におけるVHLによる低酸素誘導遺伝子Cap43遺伝子の発現制御、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 9) 谷口秀一、持田泰、蛭原卓哉、内海健、前原喜彦、田平知子、林健志、和田守正、桑野信彦、MDR1遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型とメチル化と発現レベルの個人差、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 10) 久枝啓史、内海健、井口明彦、日下英司、和田守正、桑野信彦、炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ による肝細胞のMRP2発現制御、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 11) 蛭原卓哉、谷口秀一、持田泰、島田光生、前原喜彦、松崎彰信、原寿郎、田平知子、林健志、大谷壽一、澤田康文、和田守正、桑野信彦、ヒトMRP2/cMOAT遺伝子の遺伝的多型と発現量解析、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 12) 橋本健吉、内海健、今野俊和、蛭原卓哉、植田和光、和田守正、桑野信彦、ABCトランスポーターMRP2変異と抗癌剤耐性、第61回日本癌学会総会(ポスター討論) 2002年10月1-3日 (東京)
- 13) 早川浩、桑野信彦、関口睦夫、ヒト細胞における酸化損傷RNAに対する品質管理機構、第25回日本分子生物学会年会(ポスター) 2002年12月11日-14日 (横浜)
- 14) 内海健、芦塚慈美、福田隆男、中村崇規、桑野信彦、YB-1(Y-box結合タンパク)による翻訳制御、第25回日本分子生物学会年会(ワークショップ) 2002年12月11日-14日 (横浜)
- 15) 桑野信彦、ATP結合カセット(ABC)トランスポーターの肝での発現と働き、第34回肝代謝コロキウム(特別講演) 2003年2月7日 (大阪)
- 16) Nishio K.: Selection of target molecules for anticancer agents based on gene expression profiling and reliability of assay techniques. *Drug Information Association 9th Annual*

- Workshop in Japan for BIostatistics, 2002.8.29-30 Tokyo
- 17) Ohmori T, Yamaoka T, Nishio K, Arteaga CL, Saijo N, Adachi M, Kuroki T : ZD1839(Iressa) enhances TNF  $\alpha$ -induced apoptotic cell death by inhibition of the Akt/NF- $\kappa$  B pathway in human non-small-cell lung cancer PC-9 cells. American Association for Cancer Research 93rd Annual Meeting 2002.4.6-10 Sun Francisco
  - 18) Yamaoka T, Ohmori T, Kadofuku T, Noda M, Tsukiyama M, Koizumi F, Nishio K, Saijo N, Kawaguchi T, Adachi M, Kuroki T : Characteristics and resistance mechanism(s) of human non-small-cell lung cancer cell lines with acquired resistance to an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. American Association for Cancer Research 93rd Annual Meeting 2002.4.6-10 Sun Francisco
  - 19) Taguchi F, Koh Y, Koizumi F, Ueda Y, Tsukiyama S, Tamura T, Saijo N, Nishio K : Activity of ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (VEGFR [KDR]-TKI), in a model of ZD1839 ('Iressa') resistance. 14th NCI-EORTC-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics "Eur J Cancer" 2002.11.19-22 Frankfurt, Germany
  - 20) Nakamura, T. and Matsumoto, K. Inhibition of Tumor Angiogenesis, Invasion, and Metastasis by NK4, a Newly Identified HGF-antagonist and Angiogenesis Inhibitor. XIIth International Vascular Biology Meeting (2002)
  - 21) 松本邦夫, 中村敏一「NK4による浸潤・転移阻止とその癌治療への応用」第11回日本がん転移学会シンポジウム「癌転移分子機構と治療への展開」2002年
  - 22) 松本邦夫, 中村敏一「NK4による癌の凍結・休眠治療」第3回 Pharma-Hematology シンポジウム特別シンポジウム「薬学からみた血管新生とその阻害」2002年
  - 23) 松本邦夫, 中村敏一「癌浸潤・転移・血管新生阻止因子 NK4 による制癌研究」第7回病態と治療におけるプロテアーゼとプロテアーゼインヒビター研究会シンポジウム「血管新生とプロテアーゼ」2002年
  - 24) 富岡大策、久場敬司、松本邦夫、中村敏一「NK4による血管内皮細胞増殖抑制作用のシグナル伝達機構」第61回日本癌学会2002年(横浜)
  - 25) 紀氏優子、久場敬司、前門戸任、貫和敏博、松本邦夫、中村敏一「NK4 systemic gene therapyによる腫瘍血管新生、浸潤・転移阻害」第61回日本癌学会2002年
  - 26) 久場敬司、松本邦夫、中村敏一「新規制癌剤としての可能性を持つリコンビナントNK4の発現・調製とその生物活性」第61回日本癌学会2002年
  - 27) 窪田健、藤原斉、天池寿、高嶋一博、稲田聡、阿辻清人、吉村衛、上田祐二、松本邦夫、中村敏一、山岸久一「HGF/NK4 遺伝子導入における癌遺伝子治療の基礎検討」第61回日本癌学会2002年
  - 28) 富岡大策、久場敬司、松本邦夫、中村敏一「NK4の血管新生阻害作用に関与する細胞内情報伝達シグナルの解析」第75回日本生化学会
  - 29) 久場敬司、富岡大策、松本邦夫、中村敏一「リコンビナントNK4の性状解析と生物活性」第75回日本生化学会
  - 30) 紀氏優子、久場敬司、松本邦夫、中村敏一「NK4 遺伝子治療による癌転移ならびに血管新生の阻害」第75回日本生化学会
  - 31) Minami H, Sasaki Y, Tahara M, Fujii H, Saeki T, Igarashi T, Itoh K, Sumiyoshi Y, Segawa Y, Eguchi K, Tanigawara Y, Koiwai K, Taguchi T. Phase I and pharmacological study of weekly docetaxel in comparison with administration every 3 weeks. Proc Am Soc Clin Oncol 21:122a, 2002 (abst# 486)
  - 32) Ando M, Saka H, Yamamoto M, Watanabe A, Sakai S, Ando M, Ando Y, Kuzuya T, Minami H, Hasegawa Y, Shimokata K. A phase I and pharmacokinetic study of two sequences of docetaxel and carboplatin. Proc Am Soc Clin Oncol 21:88b, 2002 (abst# 2165)



- 33) Sasaki Y, Sasaki T, Minami H, Kawada K, Fuji H, Igarashi T, Ishizawa K, Ito K, Usubuchi N, Evi H, Saeki T, Shigeoka Y, Hatake K, Aiba K, Ito Y, Takahashi S, Mizunuma N, Irie T, Maeda Y, Kobayashi T, Omuro Y, Okamoto R, Horikoshi N. A phase I pharmacokinetic-pharmacodynamic study of flavopiridol by 24 hours continuous infusion repeating every week. Proc Am Soc Clin Oncol 21:93a, 2002 (abst# 369)
- 34) 堀越 昇、佐々木 康綱、佐々木 常雄、相羽 恵介、南 博信、河田 健司、藤井 博文、五十嵐 忠彦、石澤 賢一、伊藤 国明、白渕 規子、衣斐 寛倫、佐伯 俊昭、重岡 靖、前田 義治、小林 建彦、岡元 るみ子、小室 泰司、畠 清彦、入江 哲也。HMR1275 (Flavopiridol)の第I相試験。第40回日本癌治療学会総会 2002.10.16-18

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特開2002-065298

特願2002-302318

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（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  
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：分子標的治療薬の一つと考えられている血管新生阻害剤開発の現状とその問題点を検討した。血管新生阻害剤は腫瘍環境を特異的に修飾することにより抗腫瘍効果を示すと考えられている。現在までにマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、VEGFR-TKI などの第 III 相試験は全て negative データとなっている。その理由として治療の分子標的そのものとしての問題、製剤としての問題（アンジオスタチンやエンドスタチン）、臨床試験のデザインやエンドポイント等が明らかになった。今後これらの化合物を医薬品として生かすのかは、臨床でえられた成果を如何に基礎研究に還元し新しいシーズの発見に結びつけるかのリバーストランスレーショナルスタディに懸かっていると思われた。

A. 研究目的

分子標的治療薬の臨床評価については数多くの議論がなされるとともに無数ともいえる実際の臨床試験が展開されてきた。しかし現在までに成功している分子標的治療薬はトラスツズマブ、リトキシマブの抗体とイマチニブ、ゲフィチニブの小分子物質に限定されている。血管新生阻害剤の開発の戦略と臨床試験の結果を検討することによって、今後分子標的治療薬としての血管新生阻害剤開発の方向性に対する指針を出すことを目的とする。

B. 研究方法

腫瘍による血管新生の役割、すなわち血管新生が何故がんの増殖・抑制に必要なかを考察する。血管新生の過程にどのように作用するかをレビューするとともにがんの転移・浸潤における役割を明らかにする。また今までに行われた分子標的治療薬における血管新生阻害剤をカテゴリー別に分類し現在までにえられた第 III 相試験の結果を明らかにする。この成果の原因を分析し有効な分子標的治療薬と無効な分子標的治療薬の特徴を示す。これらの研究の結果に基づき今後の有効な血管新生阻害剤の開発に必要な条件を推定する。

C. 研究結果, D. 考察

腫瘍の浸潤・転移に血管新生は重要な役割を果たしていると考えられている。この血管新生を阻害

することによりがんの増殖や転移を抑制しようとする試みは臨床においても数多く行われてきた。血管新生阻害剤として用いられているのは anti VEGF Ab, VEGF-TKI などの血管新生のシグナル伝達阻害剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、内因性の蛋白であるアンジオスタチン、エンドスタチン、その他の化学物質のサリドマイド、タキサンなどである。腫瘍血管内皮のチュブリンに選択的に作用する ZD6126 も注目を集めている。これらの血管新生阻害剤を用いた第 III 相試験で生存期間の延長を証明できず negative データとなった報告は数多くある。小細胞がん、肺癌、胃がんに対するマリマスタット、非小細胞がんに対するプリノマスタット、小細胞がんに対するタノマスタットなどマトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤はいずれも生存期間の延長をもたらさず、一方では関節炎等耐え難い毒性を示した。大腸がんに対する VEGFR-TKI、乳がんに対する anti VEGF Ab も第 III 相試験で negative data となっている。現在までにえられた成績をまとめてみると有効な分子標的治療剤は、小分子物質か抗体で腫瘍細胞そのものの分子生物学的異常に対し作用する。シグナル伝達阻害剤では増殖シグナルの上流に作用し単剤で腫瘍縮小効果を示す化合物に限定されている。分子標的治療薬が有効か否かは以下のような因子によって左右される。①対象とした分子が標的として適切か否か、すなわち、その分子が増殖、浸潤、転移に必須か

否か？MMPI、VEGFR-TKI、anti VEGF Ab、アンギオスタチン、エンドスタチンはこれらの問題を再考する必要がある。②化合物そのものが治療手段として適切か否か？アンギオスタチン、エンドスタチン、遺伝子治療、免疫療法などのマクロモルキュルは再現性をもって十分な量を産生することが困難である。③臨床試験のデザインが適切か否かも長年議論の対象となってきた。ことに血管新生阻害剤に腫瘍に直接作用しないため腫瘍縮小効果を示すことはないが増殖抑制をし、time to progression を延長すると考えられてきた。しかし通常の第III相試験結果が全てnegativeという事実からは、このような考え方を分子標的治療薬の評価にあてはめようとする事自体問題視される。

#### E. 結論

数多くの血管新生阻害剤・転移抑制剤が開発されたものの初期の予測のような効果を示すことができなかった。この原因として腫瘍生物学の研究による解明が未だ不十分なことが考えられる。非臨床でえられた成果を臨床の場でトランスレーションできなかつた場合、臨床でのデータに基づき再度非臨床におき腫瘍の生物学を更に詳細に追求するリバーストランスレショナルスタディが必須と思われる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 発表論文

1. Noda, K., Nishiwaki, Y., Kawahara, M., Negoro, S., Sugiura, T., Yokoyama, A., Fukuoka, M., Mori, K., Watanabe, K., Tamura, T., Yamamoto, S., Saijo, N. for the Members of the Japan Clinical Oncology Group. Irinotecan plus cisplatin as compared with etoposide plus cisplatin for extensive small-cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 346(2): 85-91, 2002
2. Natsume, T., Koh, Y., Kobayashi, M., Fukumoto, H., Takahashi, F., Nakamura, T., Ohe, Y., Saijo, N. and Nishio, K. Enhanced antitumor activities of TZT-1027 against TNF- $\alpha$  or IL-6 secreting Lewis lung carcinoma in vivo. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 49: 35-47, 2002
3. Inomata, M., Kaneko, A., Kunimoto, T., Saijo, N. *In vitro* thermo- and thermochemosensitivity of retinoblastoma cells from surgical specimens. *Int. J. Hyperthermia*, 18: 50-61, 2002
4. Sekine, I., Nishiwaki, Y., Ogino, T., Yokoyama, A., Saito, M., Mori, K., Tsukiyama, I., Tsuchiya, S., Hayakawa, K., Yoshimura, K., Ishizuka, N. and Saijo, N. Phase II study of twice-daily high-dose thoracic radiotherapy alternating with cisplatin and vindesine for unresectable stage III non-small-cell lung cancer: JCOG 9306. *J. Clin. Oncol.*, 20(3): 797-803, 2002
5. Koh, Y., Tsunoda, T., Iwahashi, M., Yamaue, H., Ishimoto, K., Tanimura, H., Fukumoto, H., Nakamura, T., Tatsumi, Y., Shimizu, M., Saijo, N. and Nishio, K. Decreased expression of  $\alpha$ 2,8 sialyltransferase and increased expression of  $\beta$ 1,4 N-acetylgalactosaminyltransferase in gastrointestinal cancers. *Exp. Biol. Med.*, 227(3): 196-200, 2002
6. Naruse, I., Ohmori, T., Ao, Y., Fukumoto, H., Kuroki, T., Mori, M., Saijo, N. and Nishio, K. Antitumor activity of the selective epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TK1) Iressa<sup>®</sup> (ZD1839) in an EGFR-expressing multidrug resistant cell line *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Cancer*, 98: 310-315, 2002
7. Takahashi, F., Akutagawa, S., Fukumoto, H., Tsukiyama, S., Ohe, Y., Takahashi, K., Fukuchi, Y., Saijo, N. and Nishio, K. Osteopontin induces angiogenesis of murine neuroblastoma cells in mice. *Int. J. Cancer*, 98: 707-712, 2002
8. Kusaba, H., Tamura, T., Shimoyama, T., Hotta K., Inoue, A., Nokihara, H., Ueda, Y., Akiyama, Y., Yamamoto, N., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Kodama, T. and Saijo, N. Phase I/II study of 3-week cycle cisplatin-

- gemcitabine in advanced non-small cell lung cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 32(2): 43-47, 2002
9. Fukuoka, K., Arioka, H., Iwamoto, Y., Fukumoto, H., Kurokawa, H., Ishida, T., Tomonari, A., Suzuki, T., Usuda, J., Kanzawa, F., Kimura, H., Saijo, N. and Nishio, K. Mechanism of vinorelbine-induced radiosensitization of human small cell lung cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 49: 385-390, 2002
  10. Naruse, I., Fukumoto, H., Saijo, N. and Nishio, K. Enhanced anti-tumor effect of trastuzumab in combination with cisplatin. *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 574-581, 2002
  11. Ohe, Y. and Saijo, N. Results of recent Japanese clinical trials in lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, 3(4): 243-248, 2002
  12. Ohira, T., Akutagawa, S., Usuda, J., Nakamura, T., Hirano, T., Tsuboi, M., Nishio, K., Taguchi, F., Ikeda, N., Nakamura, H., Konaka, C., Saijo, N. and Kato, H. Up-regulated gene expression of angiogenesis factors in post-chemotherapeutic lung cancer tissues determined by cDNA macroarray. *Oncology Reports*, 9: 723-728, 2002
  13. Takada, M., Fukuoka, M., Kawahara, M., Sugiura, T., Yokoyama, A., Yokota, S., Nishiwaki, Y., Watanabe, K., Noda, K., Tamura, T., Fukuda, H. and Saijo, N. for the members of the JCOG. Phase III study of concurrent versus sequential thoracic radiotherapy in combination with cisplatin and etoposide for limited-stage small-cell lung cancer: Results of the JCOG study 9104. *J. Clin. Oncol.*, 20(14): 3054-3060, 2002
  14. Sekine, I., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Relationship between objective responses in phase I trial and potential efficacy of non-specific cytotoxic investigational new drugs. *Ann Oncol.*, 13(8): 1300-1306, 2002
  15. Kawamura-Akiyama, Y., Kusaba, H., Kanzawa, F., Tamura, T., Saijo, N. and Nishio, K. Non-cross resistance of ZD0473 in acquired cisplatin-resistant lung cancer cell lines. *Lung Cancer*, 38: 43-50, 2002.
  16. Saijo, N. Translational study in cancer research. *Inter Med.*, 41(10): 770-773, 2002
  17. Saijo, N. The molecular biology and signal transduction of epidermal growth factor receptor. *New Developments in lung cancer*, 1(2):3-6, 2002
  18. Saijo, N. Irinotecan combined with radiation therapy for patients with stage III non-small-cell lung cancer: current trials. *Clin. Lung Cancer*, 4(Suppl. 1): S21-S25, 2002
  19. Inoue, A., Kunitoh, H., Mori, K., Nukiwa, T., Fukuoka, M., Saijo, N. Phase I trial of weekly docetaxel in elderly patients with non-small cell lung cancer, *Lung Cancer*, 38: 205-209, 2002
  20. Nokihara, H., Saijo, N. A patient with stage III non-small-cell lung cancer treated with irinotecan plus radiation therapy. *Case Studies in Lung Cancer*, 1(8): 2-7 2002
  21. Koh, Y., Nishio, K. and Saijo, N. Mechanisms of action of cancer chemotherapeutic agents: topoisomerase inhibitors. In "Cancer Handbook" Reference Nature Publishing Group, Crinan Street, London, UK. Chap. 84C, 1313-1322, 2002
  22. Murakami, H., Tamura, T., Yamada, Y., Yamamoto N., Ueda, Y., Shimoyama, T. and Saijo, N. ZD0473 pharmacokinetics in Japanese patients: a Phase I dose-escalation study. *Eur. J. Cancer*, 38(Suppl.8): S1-S5, 2002
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし