

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15年度 総括・分担研究報告書

平成16年（2004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. 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	----- 22
西尾和人	
4. がん化学療法の分子標的の同定と個別化	----- 24
桑野信彦	
5. 新抗悪性腫瘍薬の早期臨床試験の研究	----- 28
福岡正博	
6. DDS を利用したがん化学療法の実験的毒性向上に関する研究	----- 31
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	----- 34
松本邦夫	
8. 薬物療法の有効性を決定する要因の解析	----- 37
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	----- 43
南 博信	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 46
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 53

厚生労働科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
総括研究報告書

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 Gefitinib 耐性細胞特性の検討によると MAPK/ERK へのシグナル伝達に関わる Try1068 のリン酸化は gefitinib によっても阻害されなかった。Expression クローニングで gefitinib 耐性遺伝子のクローニングを試みた。PC-9/ZD 由来の cDNA を導入した PC-9 細胞では gefitinib に対する耐性が誘導された。多くの flavonoid 化合物は 1 μ M 以下の濃度で BCRP による抗がん剤耐性を克服した。また gefitinib も BCRP 遺伝子導入細胞の抗がん剤耐性を *in vitro* で阻害し、トポイソメラーゼ I 阻害剤の取り込みを増加させた。臨床で Gefitinib 投与を受けた 112 例について急性肺毒性および効果の予測因子を解析した。治療前の肺疾患合併および喫煙歴が急性肺障害の有意の危険因子となった。女性、腺がん、非喫煙者では gefitinib の奏効率が高かった。NK4 発現プラスミドの静脈内投与により肝に高い NK4 の発現を認めるとともに経脾的に移植された MC-38 の肝内転移数が減少した。キガマイシンの経口投与が膀胱がん細胞株 PANC-1、CAPAN-1、Miapaca-2 に対し *in vivo* 抗腫瘍効果を示した。キガマイシンは通常の抗がん剤との併用で顕著な効果を示した。ミセル型タキソール (NK105) の *in vitro* 抗腫瘍効果はタキソール自体と差を認めなかったが *in vivo* に投与した場合の AUC はタキソールの 60 倍、腫瘍内 AUC は 25 倍に増加した。抗腫瘍活性は顕著でヒト大腸がんモデルでは全例腫瘍の消失を認めた。一方、毒性は軽微であった。機能的画像診断法の 1 つである FDG-PET と CT による評価の相関を検討した。PR 例では FDG-PET で SUV max は 60% 低下した。SD 例の 5 名では SUV max は 8-42% 低下した。PD 例では 4-5% の SUV max の増加を認めた。

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
久留米大学先端癌治療研究センター
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の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。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 はプラチナ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。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を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

イレッサ耐性関連遺伝子の同定を試みた。

1) サブトラクショナルクロニング: PC-9/ZD およびその母細胞 PC-9 細胞由来の RNA をサブトラクションし、得られた cDNA を TA ベクターにクローン化し、発現量を DIG プローブを用いたノーザンプロットで解析した。

2) 遺伝子発現解析: PC-9 および PC-9/ZD 細胞由来の RNA を用いてマイクロアレイにより遺伝子発現変動を解析し、統計的に有意な遺伝子を選択した。各種細胞株における選択遺伝子の発現量を RT-PCR で測定した。

3) 発現クロニング: PC-9/ZD 由来 cDNA ライブラリーを作製、発現ベクターにサブクロニングし、感受性である PC-9 細胞に導入した。遺

伝子導入細胞を、高濃度ゲフィチニブで選択し、残った細胞をクローン化し、導入 cDNA を回収、塩基配列を決定した。同 cDNA を再度 PC-9 細胞に導入し、ゲフィチニブに対する感受性の変化を MTT アッセイで検討した。

分子標的のがん組織での発現をみるために、各標的に特異的な抗体を用いて免疫染色法で検索した。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。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。血管新生活性については、*in vitro* では血管内皮細胞の遊走や管腔形成能をさらに *in vivo* では、マウス角膜法、マウス背部皮下法、マトリゲル法などを用いた。

ヒト胎盤由来の野生型 BCRP cDNA を組み込んだレトロウイルス HaBCRP をヒト白血病細胞 K562、ヒト大腸癌細胞 HCT-116、ヒト肺癌細胞 A549、マウス白血病 P388、ブタ腎尿細管細胞 LLC-PK1 などに導入して BCRP 発現細胞 (K562/BCRP などとよぶ) を作成した。細胞培養により、被験物質が K562/BCRP 細胞の mitoxantrone 耐性、SN-38 耐性を低下させるかどうか調べた。K562/BCRP 細胞の topotecan の取り込みに対する被験物質の効果を FACS により定量した。LLC-PK1 細胞および LLC/BCRP 細胞をフィルター上に単層培養して basal membrane 側から apical membrane 側へ、あるいは apical membrane 側から basal membrane 側への被験物質の輸送を調べた。遺伝子解析研究のインフォームドコンセントを得た一般健康人および癌患者の末梢白血球 DNA を用いて、平成 14 年度までに得られた BCRP の発現に影響する 2 種の SNP および UGT1A1 の SNP を解析した。

2002 年 7 月より 2002 年 12 月までの間に、国立がんセンター中央病院肺内科においてゲフィチニブの投与を開始した進行・再発非小細胞肺癌 115 例中、当院において経過観察が可能であった 112 例を研究対象とした。これらの対象について、患者背景、治療経過、毒性、ILD の有無、効果、転帰を調査し、ILD 発症危険因子および効果予測因子の解析を行った。

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、SW480 細胞を中心に、栄養飢餓時における様々な反応を解析し、耐性のメカニズムを、各種の分子の関与を RNAi, dominant negative form, アンチセンス RNA や、阻害剤を用いて検討した。治療法の開発に関しては、簡便なスクリーニング

系を用い、薬剤を探し出し、その抗腫瘍性に関しては、主に人の腫瘍をヌードマウスに移植した実験系で検討した。スクリーニングの範囲に関しては、栄養飢餓耐性のメカニズムから考え得る既知の薬剤を検討するとともに、放線菌の培養ろ液など、全くの新しい物質の検討も行った。

NK4 生体内遺伝子発現検討のためヒト NK4 遺伝子発現用プラスミドを構築し、プラスミドを hydrodynamics 法によってマウス尾静脈から投与した。投与後、マウス血中、各臓器中の NK4 タンパク質のレベルを ELISA 法によって定量した。マウス大腸癌肝転移モデル：NK4 発現用プラスミドならびに NK4 cDNA を含まない empty プラスミドを hydrodynamics 法によってマウスに投与した。翌日、マウス大腸癌細胞 (MC-38 細胞、 2×10^5 /マウス) を脾臓内に注入した。肝転移を解析するため、細胞移植 3 週間後にマウスを解析した。免疫組織染色は von Willebrand 因子に対する抗体を用いて組織内血管を染色した。チロシンリン酸化 c-Met を特異的に認識する抗体を用いて、c-Met レセプターの in situ での活性化を検出した。

7 週齢の雄 SD ラットに PTX および NK105 を PTX 換算 5mg/kg 単回尾静脈投与を行い 24 時間にわたり血中 PTX 濃度を測定した。そして両者の血漿 AUC を比較した。

6 週齢の雌 Balb/c nu/nu ヌードマウスの背部皮下に HT-29 ヒト大腸がん細胞株 1×10^6 個を移植し、腫瘍径が 5-8mm サイズになったところで、PTX および NK105 を PTX 換算 100mg/kg、50mg/kg、25mg/kg 週 1 回の計 3 回尾静脈投与した。治療開始後から 1 ヶ月間それぞれの群の腫瘍の長径と短径およびマウスの体重を適時計測した。9-10 週齢の雌 SD ラットに対して PTX および NK105 を PTX 換算 7.5mg/kg 週 1 回、計 6 回尾静脈投与を行った。また、コントロールとして PTX の臨床用の溶解液であるクレノフォア EL とエタノールの混合溶液を同様に静注した。投与終了後ネブタール麻酔下にラットを屠殺し、座骨神経を摘出後 HE 染色を行い、神経変性の指標である myelin globe の出現について比較検討した。

癌細胞の糖代謝能を FDG-PET で定量的に評価するため standardized uptake value (SUV) を用いた。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、その条件設定を行い一定の条件で PET を施行した。HER1 および HER2 受容体チロシンキナーゼの阻害薬である GW572016 の第 I 相試験で治療を受けた各種が

ん患者において、PET を施行し SUV を測定した。GW572016 は連日経口投与し、治療開始前、開始 1, 2, 3 ヶ月後に PET および CT を施行し、以後 2 ヶ月ごとに繰り返した。PET で SUV の変化を、CT で腫瘍の大きさの変化を評価し比較した。

(倫理面への配慮)

動物実験においては各施設の動物倫理委員会の承認の後、動物実験指針にのっとり、必要最小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癌状態で長期飼育し苦痛を与えるような事はしない。臨床試験は GCP に準じ全てのプロトコールは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中止などに関するアドバイスを受ける。

C. 研究結果

ゲフィチニブ耐性遺伝子のサブトラクションクローニング：PC-9/ZD 細胞由来 RNA から PC-9 RNA をサブトラクションして、約 20 遺伝子を得た。その中で、PIRP1/2 と名づけた遺伝子は、PC-9/ZD で発現が高く、その遺伝子産物は SH3 を有するリン酸化蛋白質であった。PIRP1/2 は EGFR のアダプター蛋白質 SOS と結合し、複合体形成量は、PC-9 に比し PC-9/ZD で増加していた。PC-9/ZD における EGFR-SOS 複合体形成の著減の一因と示唆された。PIRP1/2 の発現量とゲフィチニブに対する感受性が相関する可能性があり、検討をすすめている。2) 遺伝子発現解析：マイクロアレイにより得られた遺伝子発現プロフィールより、PC-9/ZD に発現が著増している遺伝子 PIRP3、著減している遺伝子 PIRP4 を得た。PIRP3 の mRNA 発現レベルは、ゲフィチニブ耐性細胞に高く、PIRP4 はゲフィチニブに感受性の高い細胞で発現がみとめられた。ゲフィチニブ耐性遺伝子の発現クローニング：得られた非クローン化 cDNA 導入細胞は MTT アッセイで、コントロール細胞に比しゲフィチニブに対し約 100 倍の耐性を示した。細胞のクローン化後、得られた約 10 クローンもそれぞれゲフィチニブに対し同等の耐性を示した。その中から、PCR 法にて、導入 cDNA を回収し塩基配列を決定した。得られた cDNA を発現ベクターにサブクローニングし、再度遺伝子導入し耐性化することを確認した。

薬剤感受性を担う分子標的に関して EGF レセプターを標的とするイレッサ (Gefitinib) のヒト肺がん細胞における感受性は細胞増殖や細胞死のシグナルがどれだけ緊密に EGF/EGF レセプターに依存しているかによってイレッサの感受

性が左右されていることを見出した。ヒト滑膜内腫や乳がんにおいて、YB-1 の核内発現が多剤耐性を担う MDR-1 の発現と患者の予後に有意に相関することを見出した。ヒト MDR1 遺伝子の 5' 制御領域の遺伝子多型を同定した。その中で -692 と -2352 多型が発現に影響を与えることを明らかにした。YB-1 の発現レベルの上昇ががん患者の予後因子になることを報告した。YB-1 蛋白合成が YB-1 によって mRNA の 5' 非翻訳領域で制御されること、ならびに YB-1 のヘテロ欠失 ES-1 細胞においてマイトマイシン C やシスプラチンの感受性を著明に変化させた。

血管新生、転移・浸潤に関与する分子標的に関してがん転移・浸潤とも関連する 43kD 蛋白の NDRG1/Cap43 の発現は低酵素やニッケルによって誘導され、腎がん細胞においては VHL 遺伝子によって抑制された。TNF α は血管内皮の α 4 インテグリンの発現を著明に上昇させ可溶性 VCAM-1 と協調して *in vitro* と *in vivo* 系で有意に血管新生を誘導させた。IL-1 β による血管新生においてシクロオキシゲナーゼ 2 の活性化とプロスタノイド自身が重要な役割を果たしていることをマウス角膜の血管新生モデル系で明らかにした。

BCRP はイリノテカンなどの抗癌剤を排出する ABC 輸送体であるが estrone 及び estradiol が BCRP による薬剤耐性を reverse することを見出した。次に BCRP が estrogen およびその代謝物を輸送するかどうか調べたところ、BCRP は estrogen そのものは輸送しないが、estrone sulfate などの硫酸抱合 steroid を ATP 依存的に輸送することを見出した。BCRP 遺伝子導入 LLC-PK1 細胞においては、basal membrane から取り込まれた estrone、estradiol が細胞内で硫酸抱合を受け、apical membrane に発現する BCRP によって apical 側に排出される、という現象が示された。BCRP の耐性を克服する物質を検索した。その結果、phytoestrogen、flavonoid、kinase 阻害剤などに強い BCRP 阻害作用を持つものを見出した。代表的な phytoestrogen である genistein、naringenin などは 1 mM から 10 mM の濃度で BCRP 遺伝子導入細胞の抗癌剤耐性を *in vitro* で阻害した。また、多くの flavonoid 化合物が 1 mM 以下の低濃度で BCRP による抗癌剤耐性を阻害した。BCRP の遺伝子多型として、活性のある BCRP を作らない C376T (Q126stop) と、BCRP の発現が野生型の 5 分の 1 に低下する C421A (Q141K) の 2 種類を見出した。癌研病院においてイリノテカン投与患者の BCRP 遺伝子を調べ

た結果、BCRP 低発現型の患者に消化器毒性などの副作用が高い傾向を認めた。

ゲフィチニブ投与を受けた 112 例の背景は、男性 77 女性 35、年齢中央値 63 才 (29—83 才)、PSO-1/2-3 92/20、腺がん 93 扁平上皮がん 12 その他 7、喫煙歴 (pack x year ; PY) 0/1-49/≥50 が 34/39/39、肺線維症合併ありが 12 例、であった。治療開始からの経過観察期間は、0.1—9.5 か月 (中央値 1.9 か月) である。ILD の発症は、6 例 (5.4%) に認め、うち 4 例 (3.6%) が ILD により死亡した。ILD による死亡 4 例の背景は、それぞれ 66 才男性・69 才男性・52 才女性・71 才男性、全例腺がん喫煙歴あり (PY : 44・28・48・51)、男性 3 例が肺線維症合併あり、ゲフィチニブ内服日数 10・32・42・47 日、治療開始からの生存日数 22・67・42・123 日であった。ILD 発症後生存中の 2 例は、64 才男性と 72 才男性とともに喫煙歴あり、1 例に肺線維症合併あり、ゲフィチニブ内服期間が 18 日と 39 日である。背景因子について多変量解析を実施した結果、肺線維症の合併ありが有意な ILD 危険因子となり (オッズ比 177 95%信頼区間 4.53-6927 p=0.006)、喫煙歴ありも危険因子となることが示唆された (10PY 毎に解析、オッズ比 1.50 95%信頼区間 0.98-2.29 p=0.062)。一方腫瘍縮小効果では、評価可能 98 例について CR 2、PR 30、NC 29、PD 33、NE 4 で、奏効率は 33%、病勢コントロール率は 62% であった。因子別奏効率では、女性 53% (17/32) 男性 23% (15/66)、腺がん 38% (31/81) 腺がん以外 6% (1/17)、非喫煙歴なし 63% (20/32) 喫煙歴あり 18% (12/66)、肺線維症合併なし 36% (32/89) 合併あり 0% (0/9)、胸部放治療なし 39% (29/74) あり 13% (3/24) が有意となった。多変量解析においては、喫煙歴なし (オッズ比 3.92 95%信頼区間 1.03-14.9 p=0.045) と胸部放治療なし (オッズ比 6.76 95%信頼区間 1.30-35.7 p=0.023) が有意な効果予測因子となった。

血流の乏しい膵臓がんや、未分化な胃がん大腸がん細胞では、強いグルコース欠乏耐性があることを見出しこのメカニズムに PKB/Akt と AMPK が関与していることを見出していたが、Akt により活性化される ARK5 を発見した。ARK5 をアンチセンス RNA, RNAi で抑制すると、PANC-1, SW480 細胞のグルコース欠乏耐性が失われ、SW480 細胞では、それだけでアポトーシスを起こした。ARK5 は pro-caspase6 のセリン 257 をリン酸化し、活性化されるのを防御し、Fas 依存性のアポトーシスを抑制していると考えられた。

更に、ARK5 はグルコース欠乏培地での PANC-1 細胞の caspase 依存性ネクロシスを caspase8 の受容体非依存性活性化を抑制することで抑制していることが分かった。ARK5 は各種のストレスで誘導が掛かり、エネルギー枯渇を来すようなストレス下での細胞生存に必須と考えられた。HepG2 細胞をグルコース欠乏培地で培養すると細胞周期が G1 で停止する。p53、ATM が関わることを証明した。グルコース欠乏によっては、DNA 損傷は認められないことから、放射線などの DNA 損傷のみならず栄養欠乏の認識とそれに対する反応にも ATM が関与することが分かった。ARK5 は、この ATM をリン酸化する事も見出した。腫瘍の栄養飢餓耐性を解除する薬剤を探索した。放線菌の培養ろ液から新規物質として、キガマイシンを同定した。この物質は、polycyclic xanthone の配糖体で、そのうちキガマイシン D は分子量 953 であった。これは、培養細胞をグルコース 953 であった。これは、培養細胞をグルコース欠乏状態で殺し、グルコースが存在する場合と欠乏する場合では 100 倍以上の毒性の差があった。(特願 2002-302006)

動物へ移植したヒトがん細胞を用いた抗腫瘍性の検討では、PANC-1、MiaPaCa-2、KP3、CAPAN-1細胞のヌードマウスおよびSCIDマウスを用いた腫瘍系では、15mg/day経口投与で十分な抗腫瘍性を認めた。PANC-1、CAPAN-1腫瘍で、治療後のmicrovessel density、BUdR labeling indexを検討した。キガマイシン投与で、腫瘍の増大は抑制されるが、残存する腫瘍の血管は対照群と同程度か、やや多い。細胞分裂は明らかに盛んになっていた。spheroidの増大は抑制するが、細胞がspheroidの表面で死ぬ、spheroidそのものが崩壊するというのではなく、腫瘍中心部の血流状態あるいは酸素と栄養供給のよくない部分で細胞死を引き起こすと考えられた。

ヒトNK4発現用プラスミドをマウス尾静脈からhydrodynamics法によって投与すると、主に肝臓においてNK4の発現が認められた。肝臓ではプラスミド投与後1日後をピークにNK4タンパク質の発現が認められ、その後発現量は減少するものの3週間後においてもNK4の発現が認められた。また、血中においても投与後1日後をピークとする発現上昇が認められ、2週後においても、NK4レベルは8 ng/ml以上に維持され、hydrodynamics法による遺伝子発現はnakedプラスミドでありながら高効率の生体内遺伝子発現法であることが確認された。上記に基づきhydrodynamics法によりNK4発現プラスミド投

与後、翌日MC-38マウス転移性大腸癌細胞を脾臓内に移植し、3週間後、肝転移に対する影響を調べた。Emptyプラスミドを投与したコントロールのマウスでは多数の肝転移が認められたのに対して、NK4遺伝子治療により肝転移は25%に阻害されるとともに癌性腹水の貯留も抑制された。肝臓内の転移巣の成長を調べた結果、NK4遺伝子治療によって肝転移巣のサイズはコントロールの16%に抑制された。このとき、腫瘍組織内の血管密度はNK4遺伝子治療によって低下する一方、癌細胞のアポトーシスは2倍に促進された。したがって、NK4は腫瘍血管新生を阻害することによって転移巣の成長を抑制したと考えられる。一方、コントロールのマウスにおいては転移巣辺縁部から肝組織内への活発な浸潤が観察された。腫瘍組織近傍でのHGFの発現を調べたところ、大腸癌細胞自身はHGFを発現していないけれども、肝臓に沿う肝非実質細胞においてHGFの発現が認められ、HGFをメディエーターとする癌-間質相互相互作用が癌細胞の活発な浸潤に関与することが示唆された。そこで、転移巣におけるc-Met/HGFレセプターのin situ活性化状態をチロシンリン酸化c-Metに対する特異抗体によって検出した結果、とりわけ転移巣辺縁部においてc-Metレセプターのin situチロシンリン酸化(in situ活性化)が認められた。これに対して、NK4遺伝子治療を施したマウスでは、転移巣におけるc-Metのin situチロシンリン酸化が強力に抑制されるとともに、これと一致して肝組織への浸潤が強く阻害された。さらに、NK4発現プラスミドの投与量に応じて大腸癌細胞を移植したマウスに対する延命効果が認められた。

ミセル体のNK105は著明に血中半減期がのびて血漿中AUCはPTXに比べ50倍以上高くなった。抗腫瘍効果においては100mg/kg、50mg/kg、25mg/kgそれぞれにおいてNK105の方がPTXを有意に優っていた。NK105の25mg/kg投与群とPTXの100mg/kg投与群がほぼ同程度の抗腫瘍効果を示した。特筆すべきは、NK105の100mg/kg投与群において投与された5匹すべての腫瘍が消失した。またこの実験系に使用されたマウスの体重変化において、コントロール、NK105、PTX間で有意な差はなかった。神経病理学的検討においては、座骨神経におけるmyelin globeの出現頻度により神経障害の程度を比較した。すなわちmyelin globeの出現が全視野に観察されない：0度、全視野で1-2個：1度、1視野内に数個限局性に散在して認められる：2度、全視野内にびまん性に認められる：3度、

1 視野内にび漫性に認められる：4 度とスコア化したところコントロールでは 0 度が 13 例中 12 例、1 度が 13 例中 1 例であった。NK105 投与群では 0 度が 14 例中 8 例、1 度が 14 例中 2 例、2 度が 14 例中 4 例、3 度および 4 度は認められなかった。それらに対し、PTX 投与群では 0 度 10 例中 0 例、1 度 10 例中 1 例、2 度 10 例中 4 例、3 度 10 例中 5 例、4 度は 0 であった。以上より、PTX と NK105 では有意に PTX において myelin globe の出現頻度が高い結果となった。

設定された FDG-PET の撮影条件にしたがって PET 検査を行った。すなわち検査前 6 時間の糖分摂取を禁止し、FDG 投与から撮影開始までの時間を厳密に 60 分とした。SUV の測定は 8 mm 以上の径の腫瘍病巣を 3 個選択して行った。1200 から 1800 mg/day の GW572016 で治療された 8 例において現在までに 27 回の PET 検査を施行したが、FDG 投与から撮影開始までの時間は、59 分であった 1 回を除いてすべて 60 分に厳密にコントロールできた。また、同一患者内における血糖値および体重の変動もそれぞれ -1 ($-14 \sim 21$) mg/dL、 -1 ($-4 \sim 1$) kg と PET の評価に影響を与えるものではなかった。8 例中 2 例で SUV がそれぞれ治療前値と比べて 60%、42% の著明な低下を認めた。このうち 1 例は CT でも 50% 以上の腫瘍の縮小 (PR) が得られ、もう 1 例は腫瘍の大きさが変化しない NC の状態が 6 ヶ月以上持続し、ともに clinical benefit が得られた。PR 例では CT で病変が増大する前に SUV が上昇しており、PET は腫瘍の生物学的活性の変化を早期に検出していた。SUV が軽度 (8-42%) 低下した 4 例では CT による計測では腫瘍径に変化は認めず、SUV が増大していた 2 例では CT による評価でも腫瘍径が増大していた。

D. 考察

ゲフィチニブの耐性に関わる遺伝子を PC-9/ZD 耐性細胞から得られつつあるが、その機能解析と耐性との関わりを明らかにする必要がある。また、同遺伝子、産物がゲフィチニブに対する感受性予測マーカーとなることが期待される。

ゲフィチニブの感受性に関連して、我々が提示した研究を基盤にして感受性に関するがんの個別化のための分子診断法を開発していく必要がある。他方、YB-1 核内発現が予後や病期進行また P-糖蛋白質の発現のための分子診断のプロープとして役立てていきたい。肝や腸を中心とした ABC トランスポーターの発現レベルを同定していくことによって、副作用を軽減するための診断の確立に寄与できるよう努力していくことが大

切である。

本研究により、BCRP の生理的基質が estron sulfate などの硫酸抱合 estrogen であることが明らかになった。estrone などの estrogen は BCRP と結合するが輸送はされない。また、本研究により種々の BCRP 阻害剤が同定された。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。BCRP は抗癌剤耐性遺伝子であり、正常組織における BCRP 発現の低下につながる 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。

EGF 受容体チロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブは、非小細胞肺がんの一部の症例に対して画期的な効果を発揮し、注目を集めた。しかし、重篤な急性肺障害 (間質性肺炎) は、大きな社会的問題とまでなった。このような薬剤は、効果が期待され、致死性のリスクの低い患者群に対してのみ用いるべきと思われる。我々は、この目的で本研究を計画した。最近効果予測因子として報告されている女性・腺がんの因子は、我々の対象では有意な因子とはならなかった。これらの因子が、本研究が比較的少数例を対象としていること、喫煙歴と密接に関連していたこと、がその一因と考えられる。

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 ARK5 を発見した。慢性的血流不足の組織に特異性がある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。しかし腫瘍を完全には消失させない。血管新生阻害薬、従来型の抗がん薬との併用を検討する必要がある。また、臨床導入するための毒性研究、薬理動態の検討を進める必要がある。

NK4 遺伝子治療法はマウス大腸癌の肝転移、腫瘍血管新生に依存する転移巣の成長、転移巣の肝組織内への活発な浸潤を阻害し、これにより延命作用を発揮した。これら NK4 遺伝子治療の抗癌作用は、NK4 のもつ 2 機能性、すなわち HGF アンタゴニスト作用ならびに血管新生阻害作用によって達成されたと考えられる。とりわけ、NK4 遺伝子発現による c-Met レセプターの in situ チロシンリン酸化阻害とこれと一致する癌細胞浸潤の阻害は、HGF-c-Met 系阻止戦略が癌の浸潤・転移阻止につながることを示す実験動物での proof-of-concept といえる。大腸癌はとりわけ欧

米では主要な癌であるが、大腸癌で死亡する主たる要因が肝転移である。NK4 遺伝子治療あるいは NK4 タンパク質の投与は大腸癌の肝転移ならびに浸潤性成長を抑制する新しい制癌法になることが期待される。

本研究の結果から PTX のミセル内包化により、著明な血漿 AUC の増加が認められた。このことはこのミセル体 NK105 のサイズが径 90 ナノメートルと高分子化され腎からの排せつが減少したことと、ミセルの外郭がポリエチレングリコールで覆われているために肝や脾などの網内系により捕獲されない、つまりステルス効果を保有するようになったことなどにより、血中安定性が増した結果であると思われる。そして腫瘍内 AUC でも NK105 は PTX の約 25 倍増大していることも判明している。その結果抗腫瘍効果が増大したことは容易に想像しうる。また NK105 は組織分布も著明に抑制され、その結果として末梢神経系への分布も抑えられ、PTX による神経変性がミセル化により減少したと考えられる。

GW572016 の第 I 相試験において、PR および 6 ヶ月以上の NC といった、いわゆる clinical benefit が得られた 2 例では SUV が大きく低下し、また最良効果が NC であった他の 4 例では SUV が軽度低下、最良効果が PD であった 2 例では SUV が上昇しており、SUV は臨床効果を反映していると考えられた。しかも、PR 例では CT で病変の増大を認める前に PET で SUV が上昇し、腫瘍の活性を早期に PET で検出できたと考えられた。

E. 結論

ゲフィチニブの耐性に関わる遺伝子を PC-9/ZD 耐性細胞から得られつつある。ゲフィチニブに対する感受性予測マーカーとなることが期待される。

薬剤感受性を制御する標的として MDR1 と MRP2 に関して、その発現に関与する遺伝子多型を提示した、さらに MDR1 の臨床がんでの発現が YB-1 の核内局在と相関した。

NDRG1/Cap43 ががん患者の病気進行や予後と相関し、さらにシクロオキシゲナーゼ 2 やインテグリンの活性が炎症性血管新生と関連した。

抗癌剤排出トランスポーター BCRP は estron sulfate などの硫酸抱合 estrogen を輸送する。estrogen などは BCRP と結合するが輸送はされず、BCRP の阻害剤として働く。また、phytoestrogen、flavonoid、kinase 阻害剤などに強い BCRP 阻害作用を持つものを見出された。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 SNP がイリノテカン投与時の副作用発現の程度と関係することを示唆する結果を得た。

ゲフィチニブ投与を受けた進行・再発非小細胞肺癌 112 例について、急性肺障害の発症率は 5.4% (6/112)、死亡率は 3.6% (4/112) であった。肺線維症合併ありが多変量解析で ILD 危険因子となった。喫煙歴ありも関連が示唆された。腫瘍縮小効果は 33% に認め、多変量解析では非喫煙、胸部放射なしが効果予測因子となった。

新しい戦略に基づく新しい抗癌薬の候補を見出し、抗腫瘍性を確認し戦略の正しさを証明するとともに、抗癌薬の候補を見出した。

NK4 遺伝子治療法はマウス大腸癌の肝転移、腫瘍血管新生に依存する転移巣の成長、転移巣の肝組織内への活発な浸潤を阻害し、これにより延命作用を発揮したことから、大腸癌に対する新しい治療法になるものと考えられる。

PTX のミセル内包化体 NK105 は PTX に比べ優れた血中安定性を示し、優れた抗腫瘍効果を示した。抗腫瘍効果は容量依存性であった。また NK105 は PTX による末梢神経障害を著明に抑制しうることも判明した。

分子標的薬の臨床試験において PET 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。しかし、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、第 II 相試験あるいは第 III 相試験など均一な臨床条件のもとで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がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Taguchi, F., Kusaba, H., Asai, A., Iwamoto, Y., Yano, K., Nakano, H., Mizukami, T., Saijo, N., Kato, H., Nishio, K. hnRNP L enhances sensitivity of the cells to KW-2189. Int. J. Cancer, 108:679-685, 2004.
- 2) Tsunoda, T., Koh, Y., Koizumi, F., Tsukiyama, S., Ueda, H., Taguchi, F., Saijo, N., Nishio, K. Differential gene expression profiles and identification of the genes relevant to clinicopathologic factors in colorectal cancer selected by cDNA array method in combination

- with principal component analysis. *Int. J. Oncol.*, 23:49-59, 2003.
- 3) Usuda, J., Inomata, M., Fukumoto, H., Iwamoto, Y., Suzuki, T., Kuh, H.J., 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.
 - 4) Saijo, N., Nishio, K., Tamura, T. Translational and clinical studies of target-based cancer therapy. *Int. J. Clin. Oncol.*, 8:187-192, 2003.
 - 5) Kanzawa, F., Akiyama, Y., Saijo, N., Nishio, K. In vitro effects of combinations of cis-aminodichloro (2-methylpyridine) platinum (II) (ZD0473) with other novel anticancer drugs on the growth of SBC-3, a human small cell lung cancer cell line. *Lung Cancer*, 40:325-332, 2003.
 - 6) Natsume, T., Watanabe, J., Koh, Y., Fujio, N., Ohe, Y., Horiuchi, T., Saijo, N., Nishio, K., Kobayashi, M. Antitumor activity of TZT-1027 (Soblidotin) against VEGF-secreting human lung cancer *in vivo*. *Cancer Sci.*, 94:826-833, 2003.
 - 7) Saijo, N., Tamura, T., Nishio, K. Strategy for the development of novel anticancer drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 52:S97-S101, 2003.
 - 8) Yamanaka, R., Akutagawa, S., Taguchi, F., Yajima, N., Tsuchiya, N., Uzuka, T., Morii, K., Takahashi, H., Tanaka, R., Saijo, N., Nishio, K. Selection of surrogate marker genes in primary central nervous system lymphomas for radio-chemotherapy by DNA array analysis of gene expression profiles. *Int. J. Oncol.*, 23:913-923, 2003.
 - 9) Ishii Y., Ogura T., Tatemichi M., Fujisawa H., Otsuka F., and Esumi H. Induction of matrix metalloproteinase gene transcription by nitric oxide and mechanisms of MMP-1 gene induction in human melanoma cell lines. *International Journal of Cancer* 103: 161-168, 2003
 - 10) Suzuki A., Kusakai G., Kishimoto A., Lu J., Ogura T., Lavin MF., and Esumi H. Identification of A Novel Protein Kinase Mediating Akt Survival Signaling to ATM. *J Biol Chem* 278: 48-53, 2003
 - 11) Kato S., Esumi H., Hirano A., Kato M., Asayama K. and Ohama E. Immunohistochemical expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in human brain tumors: relationships of iNOS to superoxide dismutase (SOD) proteins (SOD1 and SOD2), Ki-67 antigen (MIB-1) and p53 protein. *Acta Neuropathol* 105: 333-340, 2003
 - 12) Kimura H., Esumi H. Reciprocal regulation between nitric oxide and vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Biochimica Polonica* 50: 49-59, 2003
 - 13) Xiong HQ., Abbruzzese JL., Esumi H., Kosuge T., Kakizoe T. and Sugimura T. Report of the 16th International Symposium of the Foundation for Promotion of Cancer Research: Recent Advances in Pancreatic Cancer. *Jpn J Clin Oncol* 33(5): 246-253, 2003
 - 14) Suzuki A., Kusakai G., Kishimoto A., Lu J., Ogura T. and Esumi H. ARK5 suppresses the cell death induced by nutrient starvation and death receptors via inhibition of caspase 8 activation, but not by chemotherapeutic agents or UV irradiation. *Oncogene* 22: 6177-6182, 2003
 - 15) Tatemichi M., Ogura T., Sakurazawa N., Nagata H., Sugita M. and Esumi H. Inducible nitric oxide synthase activity induced by sodium chloride solution prolongs luminal pH elevation in rat and mouse stomachs. *J Gastroenterol Hepatol* 18: 1039-1046, 2003
 - 16) Suzuki A., Kusakai G., Kishimoto A., Minegichi Y., Ogura T. and Esumi H. Induction of cell-cell detachment during glucose starvation through F-actin conversion by SNARK, the fourth member of the AMP-activated protein kinase catalytic subunit family. *Biochem Biophys Res Commun* 311(1): 156-161, 2003
 - 17) Tatemichi M., Ogura T., Sakurazawa N., Nagata H., Sugita M. and Esumi H. Roles of Inducible Nitric Oxide Synthase in the Development and Healing of Experimentally Induced Gastric Ulcers. *International Journal of Experimental Pathology* (in press)
 - 18) Kusakai G., Suzuki A., Ogura T., Kaminishi M. and Esumi H. Involvement of ARK5 in Tumor Invasion and Metastasis. *Research* (in press)
 - 19) Kusakai G., Suzuki A., Ogura T., Miyamoto S., Ochiai A., Kaminishi M. and Esumi H. ARK5 Expression in Colorectal Cancer and Its Implications for Tumor Progression. *Ame Pathol*(in press)

- 20) Nomura S., Kaminishi M., Takagi N. and Esumi H. Analysis of Promotor Region of X-Linked pgk-1 Gene Polymorphisms: Evidence for Polyclonality of Adult Mouse Gastric Glands. *Digestive Diseases and Sciences*. (in press)
- 21) Suzuki A., Lu J., Kusakai G., Kishimoto A., Ogrua A. and Esumi H. ARK5 is the Tumor Invasion-Associated Factor Mediating Akt Signaling. *Mol Cell Biol* (in press)
- 22) Nishiyama, N., Okazaki, S., Cabral, H., Miyamoto, M., Kato, Y., Sugiyama, Y., Nishio, K., Matsumura, Y., Kataoka, K. Novel cisplatin-incorporated polymeric micelles can eradicate solid tumors in Mice. *Cancer Res.*, 63:8977-8983, 2003.
- 23) Suzuki, T., Agui, M., Togawa, T., Naganuma, A., Nishio, K., Tanabe, S. MRP5b/SMRP mRNA is highly expressed in metallothionein-deficient mouse liver. *J. Health Sci.*, 49:524-526, 2003.
- 24) Nishiyama, N., Koizumi, F., Okazaki, S., Matsumura, Y., Nishio, K., Kataoka, K. Differential gene expression profile between PC-14 cells treated with free cisplatin and cisplatin-incorporated polymeric micelles. *Bioconjug. Chem.*, 14:449-457, 2003.
- 25) Hirama, M., Takahashi, F., Takahashi, K., Akutagawa, S., Shimizu, K., Soma, S., Shimanuki, Y., Nishio, K., Fukuchi, Y. Osteopontin overproduced by tumor cells acts as a potent angiogenic factor contributing to tumor growth. *Cancer Lett.*, 198:107-117, 2003.
- 26) Hisaeda, K., Inokuchi, A., Nakamura, T., Kohno, K., Iwamoto, Y., Kuwano, M. and Uchiumi, T. IL-1 β represses multidrug resistance protein2 gene expression through inactivation of IRF3 in human hepatic cells. *Hepatology*, in press.
- 27) Shibahara, K., Uchiumi, T., Fukuda, T., Kura, S., Tominaga, Y., Maehara, Y., Kohno, K., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T. and Kuwano, M. Targeted disruption of one allele of the Y-box binding-1 (YB-1) gene in mouse embryonic stem cell and increased sensitivity to cisplatin and mitomycin C. *Cancer Science*, in press.
- 28) Ono, M., Hirata, A., Kometani, T., Miyagawa, M., Ueda, Sorrelates with dependence on the EGF receptor / ERK1/2 and EGF receptor /AKT pathway for proliferation. *Molec. Cancer Therapeutics*, in press.
- 29) Kuwano, T., Nakao, S., Yamamoto, H., Tsuneyoshi, M., Yamamoto, T., Kuwano, M. and Ono, M. Cyclooxygenase 2 is a key enzyme for inflammatory cytokinase-induced angiogenesis. *FASEB J.*, 18: 300-310, 2004.
- 30) Fukuda, T., Ashizuka, M., Nakamura, T., Shibahara, K., Maeda, K., Izumi, H., Kohno, K., Kuwano, M. and Uchiumi, T. Characterization of 5'-untranslated region of YB-1 mRNA and autoregulation of translation by YB-1 protein. *Nucleic Acids Res.*, 32: 611-622, 2004.
- 31) Taniguchi, S., Mochida, Y., Uchiumi, T., Tahira, T., Hayashi, K., Takagi, K., Shimada, M., Maehara, Y., Kuwano, H., Kono, S., Nakao, H., Kuwano, M. and Wada, M. Genetic polymorphism at the 5' regulatory region of multidrug resistance 1 (MDR1) and its association with interindividual variation of expression level in the colon. *Molec. Cancer Therapeutics*, 2: 1351-1359, 2003.
- 32) Wakisaka, Y., Furuta, A., Masuda, K., Morikawa, W., Kuwano, M. and Iwaki, T. Cellular distribution of NDRG1 protein in the rat kidney and brain during normal postnatal development. *J. Histochem. Cytochem.*, 51: 1515-1525, 2003.
- 33) Mochida, Y., Taguchi, K. I., Taniguchi, S., Tsuneyoshi, M., Kuwano, H., Tsuzuki, T., Kuwano, M. and Wada, M. The role of P-glycoprotein in intestinal tumorigenesis: disruption of mdr1a suppresses polyp formation in *Apc^{Min/+}* mice. *Carcinogenesis*, 24: 1219-1224, 2003.
- 34) Kohno, K., Izumi, H., Uchiumi, T., Ashizuka, M. and Kuwano, M. The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1. *Bio Essays*, 25: 691-698, 2003.
- 35) Saji, H., Toi, M., Saji, S., Koike, M., Kohno, K. and Kuwano, M. Nuclear expression of YB-1 protein correlates with P-glycoprotein expression in human breast carcinoma. *Cancer Lett.*, 190: 191-197, 2003.
- 36) Konno, T., Ebihara, T., Hisaeda, K., Uchiumi, T., Nakamura, T., Shirakusa, T., Kuwano, M. and Wada, M. Identification of domains participating in the substrate specificity and subcellular localization of the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *J. Biol.*

- Chem., 278: 22908-22917, 2003.
- 37) 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 topoisomerase2 alpha expression, and with poor prognosis in synovial sarcoma. *J. Pathol.*, 199: 251-258, 2003.
 - 38) Masuda, K., Ono, M., Okamoto, M., Morikawa, W., Otsubo, M., Migita, T., Tsuneyoshi, M., Okuda, H., Shuin, T., Naito, S. and Kuwano, M. Downregulation of CAP43 gene by von Hippel-Lindau tumor suppressor protein in human renal cancer cells. *Int. J. Cancer*, 105: 803-810, 2003.
 - 39) Nakao, S., Kuwano, T., Ishibashi, T., Kuwano, M. and Ono, M. Synergistic effect of TNF- α in soluble VCAM-1-induced angiogenesis through α 4 integrins. *J. Immunol.*, 170: 5704-5711, 2003.
 - 40) Kuwano, M., Uchiumi, T., Hayakawa, H., Ono, M., Wada, M., Izumi, H. and Kohno, K. The basic and clinical implications of ABC transporters, Y-box-binding protein-1 (YB-1) and angiogenesis-related factors in human malignancies. *Cancer Science*, 94: 9-14, 2003.
 - 41) 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, Macleod A, Feyereislova A, Dong R-P, and Baselga J. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 21(12): 2237-2246, 2003.
 - 42) Kurata, T., Tamura, K., Kaneda, H., Nogami, T., Uejima, H., Asai, G., Nakagawa, K., Fukuoka M. Effect of retreatment with gefitinib ('Iressa', ZD1839) after acquisition of resistance. *Ann Oncol*, 15(1): 173-174. 2004
 - 43) Yamamoto, N., Fukuoka, M., Negoro, S., Nakagawa, K., Saito, H., Matsui, K., Kawahara, M., Senba, H., Takada, Y., Kudoh, S., Nakano, T., Katakami, N., Sugiura, T., Hosoi, T., Ariyoshi, Y. for the West Japan Thoracic Oncology Group. Randomized phase II study of docetaxel/ cisplatin versus docetaxel/ irinotecan in advanced non-small cell lung cancer: a West Japan Thoracic Oncology Study (WJTOG9803). *Br J Cancer* , 90(1): 87-92, 2004
 - 44) Hirashima, T., Yamamoto, N., Sugiura, T., Takada, Y., Negoro, S., Kasii, T., Takada, M., Nakanishi, Y., Kato, T., Fukuoka, M. A Randomized Phase II study of Carboplatin / Gemcitabine versus Vinorelbine / Gemcitabine in Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer; West Japan Thoracic Oncology Group (WJTOG) 0104. *Lung Cancer* 41, Supplement S79, 2003
 - 45) Komiya, T., Fusetani, N., Matsunaga, S., Kubo, A., Kaye, F.J., Kelly, M.J., Tamura, K., Yoshida, M., Fukuoka, M. and Nakagawa K. Ritterazine B, a new cytotoxic natural compound, induces apoptosis on cancer cell, *Cancer Chemother Pharmacol*, 51(3): 202-208, 2003
 - 46) Y. Matsumura. 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
 - 47) N, Yamamoto, Y. Matsumura. Phase I and Pharmacokinetic Study of KRN5500, a Spicamycin Derivative, for Patients with Advanced Solid Tumors. *Jpn J Clin Oncol*;33(6)392-308,2003
 - 48) Y. Matsumura. Phase I and Pharmacokinetic Study of MCC-465, a doxorubicin (DXR) encapsulated in PEG-immunoliposome, in patients with metastatic stomach cancer. *Annals Oncol* ;15:517-525,2004.
 - 49) Matsumoto, K and Nakamura, T. NK4 (HGF-antagonist and angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics. *Cancer Sci.*, 94: 321-327, 2003.
 - 50) Matsumoto, K., and Nakamura, T. Hepatocyte growth factor. In "Encyclopedia of Endocrinology and Endocrine Diseases" (editor-in-chief, L. Martini), Academic Press, San Diego, in press.
 - 51) Martin, T. A., Parr, C., Watkins, G., Lane, J., Matsumoto, K., Nakamura, T., Mansel, R. E., and Jiang, W. G. Growth and angiogenesis of human breast cancer in a nude mouse tumor model is reduced by NK4, the HGF/SF antagonist. *Carcinogenesis*, 24: 1317-132,

- 2003.
- 52) Davies, G., Mason, M. D., Martin, T. A., Parr, L., Watkins, G., Lane, J., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Jiang, W. G. The HGF/SF antagonist NK4 reverses fibroblast-and HGF-induced prostate tumor growth and angiogenesis in vivo. *Intern. J. Cancer*, 106: 348-354, 2003.
 - 53) Yoshida, S., Yamaguchi, Y., Itami, S., Yoshikawa, K., Tabata, Y., Matsumoto, K., and Nakamura, T. Neutralization of hepatocyte growth factor leads to retarded cutaneous wound healing associated with decreased neovascularization and granulation tissue formation. *J. Invest. Dermatol.*, 120: 335-343, 2003.
 - 54) Qian, L-W., Mizumoto, K., Maehara, N., Ohuchida, K., Inadome, N., Saimura, M., Nagai, E., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Tanaka, M. Co-cultivation of pancreatic cancer cells with orthotopic tumor-derived fibroblasts: fibroblasts stimulate tumor cell invasion via HGF secretion whereas cancer cells exert a minor regulative effect on fibroblasts HGF production. *Cancer Lett.*, 190: 105-112, 2003.
 - 55) Quin, L-W., Mizumoto, K., Inadome, I., Nagai, E., Sato, N., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Tanaka, M. Radiation stimulates HGF receptor/c-met expression that leads to amplifying cellular response to HGF stimulation via upregulated receptor tyrosine phosphorylation and map kinase activity in pancreatic cancer cells. *Intern. J. Cancer*, 104: 542-549, 2003.
 - 56) Manabe, T., Mizumoto, K., Nagai, E., Matsumoto, K., Nakamura, T., Nukiwa, T., Tanaka, M., and Matsuda, T. Cell-based protein delivery system for pancreatic cancer therapy: NK4 gene-transduced oral mucosal epithelial cell sheet. *Clin. Cancer Res.*, 9: 3158-3166, 2003.
 - 57) Bessho, K., Mizuno, S., Matsumoto, K., and Nakamura, T. Counteractive effects of HGF on PDGF-induced mesangial cell proliferation in a rat model of glomerulonephritis. *Am. J. Physiol.*, 284: F1171-1180, 2003.
 - 58) Kitajima, K., Matsumoto, K., Tahara, M., Takahashi, H., Nakamura, T., and Nakamura, T. A newly identified AMSH-family protein is specifically expressed in haploid stages of testicular germ cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 309: 135-142, 2003.
 - 59) Nakabayashi, M., Morishita, R., Nakagami, H., Kuba, K., Matsumoto, K., Nakamura, T., Tano, Y., and Kaneda, Y. HGF/NK4 inhibited VEGF-induced angiogenesis in invitro cultured endothelial cells and in vivo rabbit model. *Diabetologia*, 46: 115-123, 2003.
 - 60) Koike, H., Morishita, R., Iguchi, S., Aoki, M., Matsumoto, K., Nakamura, T., Yokoyama, C., Tanabe, T., Ogihara, T., and Kaneda, Y. Enhanced angiogenesis and improvement of neuropathy by cotransfection of human hepatocyte growth factor and prostacyclin synthase gene. *FASEB J.*, 17: 779-781, 2003.
 - 61) Tomita, N., Morishita, R., Taniyama, Y., Koike, H., Aoki, M., Shimazu, H., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kaneda, Y., and Ogihara, T. Angiogenic property of hepatocyte growth factor is dependent on upregulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets-1, *Circulation*, 107: 1411-1417, 2003.
 - 62) Matsuno, Y., Iwata, H., Umeda, Y., Takagi, H., Mori, Y., Kosugi, A., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Hirose, H. Hepatocyte growth factor gene transfer into liver via the portal vein using electroporation attenuates the rat liver cirrhosis, *Gene Therapy*, 10: 1559-1566, 2003.
 - 63) Nishimura, K., Matsumiya, K., Miura, H., Tsujimura, A., Nonomura, N., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Okuyama, A. Effects of hepatocyte growth factor on urokinase-type plasminogen activator (uPA) and uPA receptor in Du145 prostate cancer cells. *Intern. J. Androl.*, 26: 175-179, 2003.
 - 64) Wen, J., Matsumoto, K., Taniura, N., Tomioka, D., and Nakamura, T. Hepatic gene expression of NK4, an HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor suppresses liver metastasis and invasive growth of colon cancer in mice. *Cancer Gene Therapy*, in press.
 - 65) Yoshida, S., Matsumoto, K., Tomioka, D., Bessho, K., Itami, S., Yoshikawa, K., and Nakamura, T. Recombinant hepatocyte growth factor accelerates cutaneous wound healing in diabetic mouse model. *Growth Factors*, in press.
 - 66) Ohuchida, K., Mizumoto, K., Murakami, M., Qian, L-W., Sato, N., Nagai, E., Matsumoto, K., Nakamura, T. and

- Tanaka, M. Radiation to stromal fibroblasts increases invasiveness of pancreatic cancer cells through tumor-stromal interactions. *Cancer Res.*, in press.
- 67) Wen, J., Matsumoto, K., Taniura, N., and Nakamura, T. Hydrocortisone potentiates hepatocyte growth factor expression in vascular endothelial cells. *Biomed. Res.*, in press.
- 68) Umeda, Y., Marui, T., Matsuno, Y., Shirahashi, K., Iwata, H., Takagi, H., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kosugi, A., Mori, Y., and Takemura, H. Skeletal muscle targeting in vivo electroporation-mediated HGF gene therapy of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Lab. Invest.*, in press.
- 69) Miwa, M., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Asada, S., Imai, Y., and Sugimoto, Y. Single amino acid substitutions in the transmembrane domains of breast cancer resistance protein (BCRP) alter cross resistance patterns in transfectants. *Int. J. Cancer*, 107: 757-763, 2003.
- 70) Imai, Y., Asada, S., Tsukahara, S., Ishikawa, E., Tsuruo, T., and Sugimoto, Y. Breast cancer resistance protein exports sulfated estrogens but not free estrogens. *Mol. Pharmacol.*, 64: 610-618, 2003.
- 71) 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.
- 72) Chen, Z., Robey, R. W., Belinsky, M. G., Shchaveleva, I., Ren, X., Sugimoto, Y., Ross, D. D., Bates, S. E., and Kruh, G. D. Transport of methotrexate, methotrexate polyglutamates, and 17 β -estradiol 17-(β -D-glucuronide) by ABCG2 (BCRP/MXR): Effects of acquired mutations at R482 on methotrexate transport. *Cancer Res.*, 63: 4048-4054, 2003.
- 73) Suzuki, M., Suzuki, H., Sugimoto, Y., and Sugiyama, Y. ABCG2 transports sulfated conjugates of steroids and xenobiotics. *J. Biol. Chem.*, 278: 22644-22649, 2003.
- 74) Mukai, M., Che, X., Furukawa, T., Sumizawa, T., Aoki, S., Ren, X., Haraguchi, M., Sugimoto, Y., Kobayashi, M., Takamatsu, H., and Akiyama, S. Reversal of the resistance to STI571 in human chronic myelogenous leukemia K562 cells. *Cancer Science*, 94: 557-563, 2003.
- 75) Wang, X., Furukawa, T., Nitanda, T., Okamoto, M., Sugimoto, Y., Akiyama, S., and Baba, M. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) induces cellular resistance to HIV-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Mol. Pharmacol.*, 63: 65-72, 2003.
- 76) 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.*, 5: 366-376, 2003.
- 77) Hong, Y., Yu, S. S., Kim, J. M., Lee, K., Na, Y. S., Whitley, C. B., Sugimoto, Y., Kim, S. Construction of a high efficiency retroviral vector for gene therapy of Hunter's syndrome. *J. Gene Med.*, 5: 18-29, 2003.
- 78) Koizumi, F., Kanzawa, F., Ueda, Y., Koh, Y., Tsukiyama, S., Taguchi, F., Tamura, T., Saijo, N., Nishio, K. Synergistic interaction between the EGFR tyrosine kinase inhibitor gefitinib ('Iressa') and the DNA topoisomerase I inhibitor CPT-11 (Irinotecan) in human colorectal cancer cells. *Int. J. Cancer*, 108:464-472, 2004.
- 79) Watanabe, H., Yamamoto, N., Tamura, T., Shimoyama, T., Hotta, K., Inoue, A., Sawada, M., Akiyama, Y., Kusaba, H., Nokihara, H., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Kodama, T., Saijo, N. Study of Paclitaxel and Dose Escalation of Cisplatin in Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, Dec;33(12):626-30, 2003.
- 80) Sekine, I., Nishiwaki, Y., Kakinuma, R., Kubota, K., Hojo, F., Matsumoto, T., Ohmatsu, H., Goto, K., Kodama, T., Eguchi, K., Shinkai, T., Tamura, T., Ohe, Y., Kunitoh, H., Yoshimura, K., and Saijo, N. Phase I/II trial of weekly Cisplatin, Etoposide, and Irinotecan chemotherapy for metastatic lung cancer. *JCOG9507*. *Br. J. Cancer*, 88: 808-813, 2003.
- 81) 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 Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, 12: 366-371, 2003.
- 82) Nakagawa, K., Tamura, T., Negoro, S., Kudoh, S., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Takeda, K., Swaisland, H., Nakatani, I., Hirose, M., Dong, R-P., and Fukuoka, M. Phase I pharmacokinetic of the selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib ('Iressa', ZD1839) in Japanese patients with solid malignant tumors. *Ann. Oncol.*, 14: 922-930, 2003.
- 83) Yamamoto, N., Tamura, T., Kamiya, Y., Ono, H., Kondoh, H., Shirao, K., Matsumura, Y., Tanigawara, Y., and Shimada, Y. Phase I and pharmacokinetic study of KRN5500, a spicamycin derivative, for patients with advanced solid tumors. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 33(6): 302-308, 2003.
- 84) Ohe, Y., Ishizaka, N., Tamura, T., Sekine, I., Nishiwaki, Y., and Saijo, N., for the Japan Clinical Oncology Group. Long-term follow-up of patients with unresectable locally advanced non-small cell lung cancer treated with chemoradiotherapy: A retrospective analysis of the data from the Japan Clinical Oncology Group trials (JCOG0003A). *Cancer Sci.*, 94: 729-734, 2003.
- 85) Hotta, K., Sekine, I., Suzuki, K., Kondo, H., Asamura, H., Sumi, M., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N., Tsuchiya, R. Distant failure after treatment of postoperative locoregional recurrence of non-small cell lung cancer. *Thorac. Cardio. Surg.*, 51: 283-287, 2003
- 86) Watanabe, H., Yamamoto, S., Kunitoh, H., Sekine, I., Yamamoto, N., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Sugimura, K., Saijo, N. Tumor response to chemotherapy: The validity and reproducibility of RECIST guidelines in NSCLC patients. *Cancer Sci.*, 94: 1015-1020, 2003.
- 87) Nakamura, Y., Kunitoh, H., Kubota, K., Sekine, I., Yamamoto, N., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Retrospective Analysis of Safety and Efficacy of Low-Dose Docetaxel 60 mg/m² in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Previously Treated With Platinum-Based Chemotherapy. *Am. J. Clin. Oncol.*, Oct;26(5):459-464, 2003.
- 88) 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* 31: 528-532, 2003
- 89) Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H. Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N. Ozawa S, Sawada J. Three novel single nucleotide polymorphisms in UGT1A9. *Drug Metab Pharmacokin* 18: SNP6 (146)-SNP9 (149), 2003
- 90) Jinno H, Saeki M, Saito Y, Tanaka-Kagawa T, Hanioka N, Sai K, Kaniwa N, Ando M, Shirao K, Minami H. Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N. Ozawa S, Sawada J. Functional characterization of human UDP-glucuronosyltransferase 1A9 variant, D256N, found in Japanese cancer patients. *J Pharmacol Exp Ther* 306: 688-693, 2003
- 91) Itoda M, Saito Y, Shirao K, Minami H. Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N. Suzuki H, Sugiyama Y, Ozawa Y, Sawada J. Eight novel single nucleotide polymorphisms in *ABCG2/BCRP* in Japanese cancer patients administered irinotecan. *Drug Metab Pharmacokin* 18: SNP14 (212)-SNP19 (217), 2003
- 92) Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H. Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N. Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Haplotype analysis of *ABCB1/MDR1* blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan. *Pharmacogenetics* 13: 741-757, 2003
- 93) Kim SR, Nakamura T, Saito Y, Sai K, Nakajima T, Saito H, Shirao K, Minami H. Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N. Ozawa S, Sawada J. Twelve novel single nucleotide polymorphisms in the *CES2* gene encoding human carboxylesterase 2 (hCE-2). *Drug Metab Pharmacokin* 18: SNP29 (327)-SNP34 (332), 2003
- 94) Ebi H, Nakata M, Tahara M, Igarashi T, Kawada K, Ito K, Ueda R, Minami H. Extragonadal germ cell tumors in Japan. *Cancer Science* 94: 1107-1111, 2003
- 95) Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, Kurose K, Sai K,

- Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Goto Y, Kimura H, Katoh M, Sugai K, Minami N, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. Hum Mutation 23:100, 2004 (Mutation in Brief #681, 2004 Online)
- 96) Ikeda S, Kurose K, Ozawa S, Sai K, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Goto Y, Kimura H, Katoh M, Sugai K, Minami N, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Saito Y, Sawada J. Twenty-six novel single nucleotide polymorphisms and their frequencies of the NR1I3 (CAR) gene in a Japanese population. Drug Metab Pharmacokin (in press)
- 97) Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Jinno H, Hasegawa R, Kaniwa N, Sawada J, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Kitamura Y, Kamatani N, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N. UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese cancer patients. Clin Pharmacol Ther (in press)
2. 学会発表
- 1) Koizumi, F., Taguchi, F., Shimoyama, T., Saijo, N., Nishio, K. Mechanism of resistance to epidermal growth factor receptor inhibitor ZD1839: A role for inhibiting phosphorylation of EGFR at Tyr1068. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 2) Jang, JH., Lee, SH., Kang JH., Nishio, K., Saijo, N., Kuh, HJ. ZD1839 potentiates the antiproliferative activity of paclitaxel and oxaliplatin against human gastric carcinoma cells in vitro. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 3) Sugiyama, K., Yamashita, K., Nishio, K., Akinaga, S., Kanazawa, J. Synergistic combined effect of vinorelbine and ZD1839 (Iressa) in NSCLC cell lines which overexpress the phosphorylated EGFR and ErbB2. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 4) Shimoyama, T., Koizumi, F., Saijo, N., Nishio, K. Synergistic interaction between the EGFR tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) and the DNA topoisomerase I inhibitor CPT-11 (Irinotecan) in human colorectal cancer cells. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 5) Ohmori, T., Inoue, F., Yamaoka, T., Hirose, T., Horiuchi, N., Nishio, K., Adachi, M., Saijo, N., Arteaga, CL., Kuroki, T. EGFR-degradation activity contributed to ZD1839 (Iressa)-resistant mechanism in human non-small cell lung cancer cell lines. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 6) Taguchi, F., Koh, Y., Koizumi, F., Shimoyama, 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. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 7) Tsunoda, T., Koh, Y., Nishio, K. Differential gene expression profiles and identification of the genes relevant to clinicopathologic factors in colorectal cancer selected by cDNA array method in combination with principal component analysis. Am. Assoc. Cancer Res. 94th Ann. Meet. Washington DC USA. 7:11-15, 2003.
- 8) 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)
- 9) 桑野信彦 日本臨床腫瘍学会への大きな期待 第1回日本臨床腫瘍学会(会長講演)2003年2月28日-3月1日(福岡)
- 10) 内海健, 和田守正, 桑野信彦 ABCトランスポーターMRP2 遺伝子の炎症性サイトカインによる発現制御 第7回がん分子標的治療研究会総会2003年6月2日-3日(東京)
- 11) 小野真弓, 桑野隆史, 中尾新太郎, 桑野信彦 L-1 誘導の血管新生へ関与する2つの機序とCOX-2 第3回トランスレーショナルリサーチワークショップ2003年9月1日-2日(兵庫)
- 12) 平田晃, 宮川美保, 上田秀一, 桑野信彦,

- 小野眞弓 EGFR ファミリー発現様式の ZD1839 (Iressa) 感受性への関与 第 3 回トランスレーショナルリサーチワークショップ 2003 年 9 月 1 日-2 日 (兵庫)
- 13) 桑野隆史、中尾新太郎、桑野信彦、小野眞弓 炎症性サイトカイン IL-1 β による血管新生誘導の分子標的 第 62 回日本癌学会総会 (講演) 2003 年 9 月 25 日-27 日 (名古屋)
- 14) 平田晃、宮川美保、上田秀一、桑野信彦、小野眞弓 EGFR および HER2 強制発現による ZD1839(Iressa)感受性への影響 第 62 回日本癌学会総会 (ポスター) 2003 年 9 月 25 日-27 日 (名古屋)
- 15) 青木俊二、小野眞弓、中尾新太郎、桑野隆史、桑野信彦 海綿由来プロモチロシン誘導体 bastadin 類の血管新生阻害作用 第 62 回日本癌学会総会 (ポスター) 2003 年 9 月 25 日-27 日 (名古屋)
- 16) 桑野信彦 オーダーメイド医療を考える: 基礎研究者の立場から 「オーダーメイド医療を考える」 (講演 公開シンポジウム) 2003 年 10 月 10 日 (福岡)
- 17) 桑野信彦 併用化学療法の開発研究をどう推進するか、根拠、デザイン、そして結果-5-FU 系抗癌剤との併用 regimen を中心に 第 2 回消化器癌分子標的治療セミナー (パネルディスカッション) 2003 年 11 月 22 日 (東京)
- 18) 桑野信彦 がんのオーダーメイド医療の進歩 日本薬学会九州支部主催「くすり作りと化学療法の最前線」 (特別講演) 2004 年 1 月 18 日 (福岡)
- 19) Nakamura, H., Takamori, S., Fujii, T., Fukunaga, M., Shirouzu, H., Yamana, H., Kuwano, M. Combination of gefitinib and trastuzumab as a novel therapeutics strategy in human non-small cell lung cancer 第 6 回米国癌研究会議 (AACR) - 日本癌学会合同会議 2004 年 1 月 25 日-29 日 (Hawaii)
- 20) Fujii, T., Yamana, H., Nakamura, H., Shirouzu, K., Kuwano, M. Clinicopathologic study of vascular index in superficial esophageal carcinoma 第 6 回米国癌研究会議 (AACR)-日本癌学会合同会議 2004 年 1 月 25 日-29 日 (Hawaii)
- 21) Ono, M., Kuwano, T., Nakao, S., Kuwano, M. Tumor and their stromal interaction: involvement of IL-1-induced angiogenesis through dual pathways-COX2 and angiogenic factors 第 6 回米国癌研究会議 (AACR) - 日本癌学会合同会議 2004 年 1 月 25 日-29 日 (Hawaii)
- 22) 持田泰、和田守正、田口健一、恒吉正澄、谷口秀一、前原喜彦、桑野博行、桑野信彦 大腸癌発生における P 糖蛋白質は抑制的か促進的か-上皮および癌細胞への P 糖蛋白質の作用- 第 104 回日本外科学会定期学術集会 2004 年 4 月 7 日-9 日 (大阪)
- 23) Kawada K, Sasaki Y, Tahara M, Itoh K, Ebi M, Usubuchi N, Nakata M, Mukai H, Igarashi T, Minami H. Phase I and pharmacokinetic study of weekly docetaxel plus irinotecan in patients with advanced solid tumors. Proc Am Soc Clin Oncol 22:151, 2003 (abst# 603)
- 24) Ebi H, Tahara M, Nakata M, Kawada K, Usubuchi N, Mukai H, Igarashi T, Itoh K, Minami H. Quality in reporting results of phase I clinical trials of cytotoxic anticancer agents. Proc Am Soc Clin Oncol 22:151, 2003 (abst# 604)
- 25) Tobinai K, Watanabe T, Hotta T, Ogawa Y, Sasaki Y, Minami H. Morishima Y, Ogura M, Seriu T for the Fludarabine/NHL Study Group. Phase I study of oral fludarabine phosphate in relapsed indolent B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Proc Am Soc Clin Oncol 22:599, 2003 (abst# 2411)
- 26) Minami H. Ebi H, Tahara M, Sasaki Y, Yamamoto N, Yamada Y, Tamura T, Saijo N. A phase I study of an oral VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor ZD6474, in Japanese patients with solid tumors. Proc Am Soc Clin Oncol 22:194, 2003 (abst# 778)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
 - ・ 特願 2003-332584
 - ・ 特願 2003-004814
抗癌剤及び抗癌用薬理組成物
 - ・ 特願 2003-193840
ピルビニウムを内包した高分子ミセルを含有する抗癌剤
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

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薬物療法部長

研究要旨

胸部放射線療法と同時併用するシスプラチン, ビノレルピンの第 II 相試験への推奨投与量を決定する増量試験とドセタキセルによる地固め療法の feasibility study を行った。シスプラチン, ビノレルピンと胸部放射線の同時併用療法は 85% の完遂率が得られたが、地固め療法の完遂率は 37% であった。

A. 研究目的

切除不能で根治照射可能な III 期非小細胞肺癌に対する標準治療は、胸部放射線療法と化学療法の同時併用療法である。現在の課題は、IV-III B 期非小細胞肺癌に対して有用性が証明された新規抗癌剤を、本病期症例の治療戦略にどのように組み込んでいくかを検討することである。組み込む方法として、1) 導入化学療法、2) 胸部放射線療法との同時併用化学療法、3) 地固め療法が考えられるが、本研究では、2)、3) について検討した。

B. 研究方法

まず最初に、胸部放射線療法と同時併用するシスプラチン, ビノレルピンの最大耐用投与量と第 II 相試験への推奨投与量を決定するビノレルピン増量試験を行った。PS 0-1、切除不能根治照射可能な III 期非小細胞肺癌を対象に、シスプラチン (80mg/m², day 1) とビノレルピン (days 1 & 8) を 4 週間毎に 4 回投与した。ビノレルピン (mg/m²) は 20 (level 1)、25 (level 2) と増量する計画とした。胸部放射線療法は 60 Gy/30 分割で、30Gy 終了時に 4 日間の休止期間を設けた。投与量規定毒性は、Grade 4 好中球減少 4 日以上、Grade 4 白血球減少、血小板数 < 2 万、脱毛、悪心、嘔吐を除く Grade 3 以上の非血液毒性とした。1 level 6-12 例を予定し、投与量規定毒性の頻度が 1/3 を越えた投与量を最大耐用投与量とした。

次に、シスプラチン (80mg/m², day 1) とビノレルピン (20mg/m², days 1 & 8) を 4 週間毎に 3 コース投与し、胸部放射線療法 (60 Gy/30fr)

を同時施行し、その後ドセタキセル (60mg/m² day 1) を 3-4 週間毎に 3 コース投与する地固め療法の feasibility study を行った。

C. 研究結果

ビノレルピン増量試験では、level 1 に 13 例、level 2 に 5 例登録され、男性 16 例、女性 2 例、年齢中央値 59 (48-69) 歳、病期 IIIA 9 例、IIIB 9 例であった。14 例 (78%) が化療 4 cycle を、15 例 (83%) が胸部放射線療法 60Gy を完遂した。level 1、2 において Grade 3-4 白血球減少と好中球減少の頻度は、共にそれぞれ 77% と 100% であった。Grade 3-4 の血小板減少は認められなかった。Grade 3-4 の非血液毒性は、level 1 では肝機能障害 (8%)、低 Na 血症 (8%)、感染 (31%)、level 2 では感染 (60%) であった。食道炎と肺障害は軽度であった。投与量規定毒性の頻度は、level 1 で 33%、level 2 で 60% であった。推奨投与量は level 1 と決定した。PR は 15/18 例 (83%) に認められた。32 ヶ月の経過観察期間で生存期間中央値には達せず、1 年及び 2 年生存率はそれぞれ 72% と 61% であった。

上記の結果を踏まえ、地固め療法の feasibility study を行った。適格例 93 例中男性 76 例、年齢中央値 60 (31-74) 歳、病期 IIIA 41 例、IIIB 52 例であった。79 例 (85%) でシスプラチン+ ビノレルピン 3 コースと胸部放射線療法 60Gy を完遂した。ドセタキセルは、59 例 (63%) に投与された。投与されなかった理由は、病気の進行 (5 例)、毒性 (肺臓炎 7 例、食道炎 4 例、肝障害 2 例、感染症 2 例、イレウス 1 例、PS 低下 1 例、骨髄機能回復遅延 5 例)、偶発合併症 (2 例)、

咯血による死亡 (1 例) 患者の治療拒否 (3 例)、プロトコール違反 (1 例) であった。3 コース完遂できたのは 34 例(37%)であった。ドセタキセルの中止理由は、病気の進行 (3 例)、毒性 (肺臓炎 14 例、食道炎 1 例、感染症 1 例、胃潰瘍 1 例、アレルギー 1 例)、患者の治療拒否 (4 例) であった。Grade3-4 の白血球減少、好中球減少、感染症をそれぞれ 44 例(75%)、50 例(85%)、6 例(10%)に認めた。Grade3-4 の肺臓炎を 4 例(7%)に、Grade3 の食道炎を 2 例(3%) に認めた。抗腫瘍効果は、CR を 5 例、PR を 71 例に認め、奏効率 82%であった。

D. 考察

ビノレルピン増量試験で決定された投与量は、後半の研究において 93 例に投与され、完遂率 85%で毒性は許容範囲内であった。従って、ビノレルピンを胸部放射線療法との同時併用化学療法に組み入れることは、十分可能であると考えられる。ドセタキセル地固め療法は完遂率が 37%しか得られなかった。また、CALGB で行われた 1) 導入化学療法→胸部放射線化学同時併用療法 対 2) 胸部放射線化学同時併用療法の比較試験では、導入化学療法の意義は無いとされた。従って、今後は、新規抗癌剤と胸部放射線療法との同時併用療法を検討するのが大切と考えられた。

E. 結論

新規抗癌剤と胸部放射線療法との同時併用療法を検討するのが今後の方針となると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 論文発表

1. Sekine, I., Nokihara, H., Horiike, A., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Phase I study of cisplatin analogue nedaplatin (254-S) and paclitaxel in patients with unresectable squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, 90(6): 1125-1128, 2004.
2. Taguchi, F., Kusaba, H., Asai, A., Iwamoto, Y., Yano, K., Nakano, H., Mizukami, T., Saijo, N., Kato, H., Nishio, K. hnRNP L enhances sensitivity of the cells to KW-

2189. *Int. J. Cancer*, 108 679-685, 2004.

3. Ohe, Y., Niho, S., Kakinuma, R., Kubota, K., Ohmatsu, H., Goto, K., Nokihara, H., Saijo, N., Aono, H., Watanabe, K., Tango, M., Yokoyama, A. and Nishiwaki, Y. A phase II study of cisplatin and docetaxel administered as 3 consecutive weekly infusions for advanced non-small cell lung cancer in elderly patients. *Ann. Oncol.*, 15: 45-50, 2004.
4. Horiike, A. and Saijo, N. Treatment of small cell lung cancer, *Cancer Res. & Treat.*, 35: 177-180, 2003.
5. Tsunoda, T., Koh, Y., Koizumi, F., Tsukiyama, S., Ueda, H., Taguchi, F., Saijo, N., Nishio, K. Differential gene expression profiles and identification of the genes relevant to clinicopathologic factors in colorectal cancer selected by cDNA array method in combination with principal component analysis. *Int. J. Oncol.*, 23: 49-59, 2003.
6. Saijo, N., Nishio, K., Tamura, T. Translational and clinical studies of target-based cancer therapy. *Int. J. Clin. Oncol.*, 8: 187-92, 2003.
7. Kanzawa, F., Akiyama, Y., Saijo, N., Nishio, K. In vitro effects of combinations of cis-amminedichloro (2-methylpyridine) platinum (II) (ZD0473) with other novel anticancer drugs on the growth of SBC-3, a human small cell lung cancer cell line. *Lung Cancer*, 40: 325-332, 2003.
8. Natsume, T., Watanabe, J., Koh, Y., Fujio, N., Ohe, Y., Horiuchi, T., Saijo, N., Nishio, K., Kobayashi, M. Antitumor activity of TZT-1027 against VEGF-secreting human lung cancer *in vivo*. *Cancer Sci.*, 94: 826-833, 2003.
9. Saijo, N., Tamura, T., Nishio, K. Strategy for the development of novel anticancer drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Sup 1: 97-101, 2003.
10. Saijo, N. The progress in the treatment of small cell lung cancer: role of CPT-11. *Br. J. Cancer*, 89: 2178-2183, 2003.
11. Sekine, I., Nishiwaki, Y., Noda, K., Kudoh, S., Fukuoka, M., Mori, K., Negoro, S., Yokoyama, A., Matsui, K., Ohsaki, Y., Nakano, T., Saijo, N. Randomized phase II study of cisplatin, irinotecan and etoposide combinations administered weekly or every 4 weeks for extensive small-cell lung cancer (JCOG9902-DI). *Ann. Oncol.*, 14: 709-14, 2003.

12. Koizumi, F., Kanzawa, F., Ueda, Y., Koh, Y., Tsukiyama, S., Taguchi, F., Tamura, T., Saijo, N., Nishio, K. Synergistic interaction between the EGFR tyrosine kinase inhibitor gefitinib ('IRESSA') and the DNA topoisomerase I inhibitor CPT-11 (IRINOTECAN) in human colorectal cancer cells. *Int. J. Cancer*, 108: 464-72, 2003.
13. Ohe, Y., Ishizaka, N., Tamura, T., Sekine, I., Nishiwaki, Y., and Saijo, N. for the Japan Clinical Oncology Group. Long-term follow-up of patients with unresectable locally advanced non-small cell lung cancer treated with chemoradiotherapy: A retrospective analysis of the data from the Japan Clinical Oncology Group trials (JCOG0003A). *Cancer Sci.*, 94: 729-734, 2003.
14. Hotta, K., Sekine, I., Suzuki, K., Kondo, H., Asamura, H., Sumi, M., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N., Tsuchiya, R. Distant failure after treatment of postoperative locoregional recurrence of non-small cell lung cancer. *Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 51: 283-287, 2003.
15. Watanabe, H., Yamamoto, S., Kunitoh, H., Sekine, I., Yamamoto, N., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Sugimura, K., Saijo, N. Tumor response to chemotherapy: The validity and reproducibility of RECIST guidelines in NSCLC patients. *Cancer Sci.*, 94: 1015-1020, 2003.
16. Nakamura, Y., Kunitoh, H., Kubota, K., Sekine, I., Yamamoto, N., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Retrospective Analysis of Safety and Efficacy of Low-Dose Docetaxel 60 mg/m² in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Previously Treated With Platinum-Based Chemotherapy. *Am. J. Clin. Oncol.*, 26(5): 459-464, 2003.
17. Fukushima-Uesaka, H., Saito, Y., Watanabe, H., Shiseki, K., Saeki, M., Nakamura, T., Kurose, K., Sai, K., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Nakajima, T., Matsumoto, K., Saito, H., Goto, Y., Kimura, H., Katoh, M., Sugai, K., Minami, N., Shirao, K., Tamura, T., Yamamoto, N., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Kitamura, Y., Kamatani, N., Ozawa, S., Sawada, J. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutation*, in press
18. Ikeda, S., Kurose, K., Ozawa, S., Sai, K., Hasegawa, R., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Nakajima, T., Matsumoto, K., Saito, H., Goto, Y., Kimura, H., Katoh, M., Sugai, K., Minami, N., Shirao, K., Tamura, T., Yamamoto, N., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Saito, Y., Sawada, J. Twenty-six novel single nucleotide polymorphisms and their frequencies of the NR1I3 (CAR) gene in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokin.*, (in press)
19. Sekine, I., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T. and Saijo, N. Treatment of small cell lung cancer in the elderly based on a critical literature review of clinical trials. *Cancer Treat. Rev.*, in press (review)
20. Sekine, I., Nokihara, H., Horiike, A., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Saijo, N. Phase I study of cisplatin analogue nedaplatin (254-S) and paclitaxel in patients with unresectable squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer*, in press
21. Jinno, H., Saeki, M., Saito, Y., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Sai, K., Kaniwa, N., Ando, M., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Ozawa, S. and Sawada, J. Functional characterization of human UDP-glucuronosyltransferase 1A0 variant, D256N, found in Japanese cancer patients. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 306: 688-693, 2003.
22. 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* 31: 528-532, 2003.
23. Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Sai, K., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Ozawa, S., Sawada, J. Three novel single nucleotide polymorphisms in UGT1A9. *Drug Metab Pharmacokin* 18: SNP6 (146)-SNP9 (149), 2003.
24. Jinno, H., Saeki, M., Saito, Y., Tanaka-Kagawa, T., Hanioka, N., Sai, K., Kaniwa, N., Ando, M., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Ozawa, S., Sawada, J. Functional characterization of