

厚生労働科学研究研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業

新しい薬物療法の導入と
その最適化に関する研究

主任研究者 西條 長宏

平成17年度 総括・分担研究報告書

平成18年（2006年） 4月

目 次

I. 総括研究報告

新しい薬物療法の導入とその最適化に関する研究 西條長宏	-----	1
--------------------------------	-------	---

II. 分担研究報告

1. がん生物学に基づく新治療法の開発と評価に 関する研究 西條長宏	-----	16
2. 分子標的薬等薬物療法のファーマコダイナミクス 研究 西尾和人	-----	19
3. 乳癌の生物学的情報による治療法の選択 戸井雅和	-----	22
4. 抗がん剤の分子標的評価と最適化研究 掛谷秀昭	-----	25
5. 固形癌に対する分子標的治療の原理の証明のため の臨床研究 田村友秀	-----	27
6. 肺癌の生物学的情報による治療法の臨床評価 中川和彦	-----	29
7. 分子標的薬を含む薬物治療の最適化の基盤研究 桑野信彦	-----	31
8. トランスポーターの制御による分子標的治療の 開発 杉本芳一	-----	35
9. 分子標的の修飾に基づくがん治療最適化の研究 前原喜彦	-----	37
10. 分子標的薬物の効率的な臨床評価法に関する研究 南 博信	-----	40

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	44
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	52
-----------------	-------	----

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
総括研究報告書

新しい薬物療法の導入とその最適化に関する研究

主任研究者 西條 長宏 国立がんセンター東病院副院長

研究要旨 約20種類の変異型EGFRとEGFR-TKIの親和性の差を分析し変異型EGFRの親和性が高い事を同定した。EGFR変異例で選択的に増中を認めた。EGFR変異がEGFR-TKIの最も良い効果予測因子であった。BCRPの機能解析を行いBCRPがEGFR-TKIを輸送することを示した。またestrogenがBCRP蛋白発現低下を示した。抗体を用いた治療法を行った症例において治療効果におけるADCCの役割に関する研究をあわせて行った。化学療法未施行例のADCCは化学療法例と比べ有意に高値であった。細胞周期G2/M期進行に必須なCDC2 kinaseが温度感受性に変異したマウス乳がん細胞tsFT210を用いphosmidosine、epolactene、lucilactene、tryprostatinの作用機序解析を行うとともに細胞周期に影響を与える新規化合物の探索研究を行った。より強力な活性をもつETBを発見し、その結合蛋白としてHSP60を同定した。VEGF-TKI投与前後の末梢血単核球遺伝子発現解析により血中VEGF濃度依存的変動を示す47遺伝子を同定した。乳がんに対するBay43-9006の第II相試験の付随研究の中でPETによる代謝能の変化とCTによる腫瘍サイズの対比を行った。腫瘍縮小例や長期NC例では代謝能の低下を認めた。このように、がん薬物療法の過程でproof of principle studyを行い効果をモニターしうる生物学的マーカーを同定した。また、リバーストランスレショナルスタディにより新しい分子標的を同定した。

分担研究者 西條 長宏
国立がんセンター東病院
副院長
西尾 和人
国立がんセンター研究所
室長
戸井 雅和
東京都立駒込病院
部長
掛谷 秀昭
独立行政法人理化学研究所
副主任研究員
田村 友秀
国立がんセンター中央病院
部長
中川 和彦
近畿大学医学部
助教授
桑野 信彦
久留米大学・先端癌治療研究
センター
教授
杉本 芳一
共立薬科大学薬学部
教授
前原 喜彦
九州大学大学院
教授

南 博信
国立がんセンター東病院
医長

A. 研究目的

がんの分子生物学的研究の進歩によって増殖・浸潤・転移などがんの生物学的特性を左右する分子が同定され、がん細胞自身あるいはその周辺環境を特異的に修飾することを目的とした治療法が臨床的にも導入されている。これらの薬剤は特別な標的を有するがんのみに有効である。しかし治療の標的が当初予測したものと異なっていたり、またその修飾を適切に把握する方法は確立されていない現状である。がん治療成績の更なる向上のためにはがんの特異性の高い化合物の導入とその治療効果、副作用の正確な予測が必須と思われる。がん細胞に特異性の高い効果の優れた治療法を開発する。臨床導入に必要な非臨床試験を行うとともに適切な臨床試験によりその効果を評価する。臨床試験の過程でmolecular correlative studyと呼ばれる抗悪性腫瘍薬の抗腫瘍活性の原理の証明（Proof of principle）研究を行うことによって効果、副作用をモニターしうる生物学的サロゲートマーカーを同定するとともに、その妥当性を明らかにする。今年度はEGFR-TKI、trastuzumab、PKC阻害剤、免疫療法剤などについてサロゲートマーカーの意義を前向きに検討する。また新しく開発した高感度EGFR

遺伝子変異検出系やL858R突然変異特異的抗体、DNAアレーにより同定した奏効・無効を左右するバイオマーカーの臨床的意義を検討する。また、この過程でえられる臨床的・分子生物学的情報を基にリバーストランスレシヨナルスタディを行い、がん治療の新しい分子標的を同定しユニークな治療法を開発する。今年度はアポトーシス誘導活性をもつ薬剤 (phosmidosine, epolactaene など) の標的を探索し同定する。またHSP60が治療の分子標的である可能性を検討する。新しい分子標的治療薬の感受性に関するトランスポータを同定する。また新規の標的を探索する。本研究により治療効果、副作用の正確な予測が可能となれば、がんの治療効果が向するとともに優れた新しい薬物療法が効率よく導入され最適化されると思われる。

B. 研究方法

Epolactaene および phosmidosine の構造活性相関研究の結果、それぞれ、有望なリード化合物としてETBおよびphosmidosine-Etを見出した。本年度は、ETB/EpoがHsp60の機能に与える影響を詳細に検討するとともに、phosmidosine-Etの標的分子解明のための基盤研究を行った。リンゴ酸脱水素酵素およびクエン酸合成酵素を基質としたHsp60の分子シャペロン活性に与えるETB/Epoの影響を検討した。ETB/EpoのHsp60への結合様式をHsp60変異体を作成して詳細に検討した。v-src¹⁵-NRK細胞の粗抽出液を酵素源として、各種アミノアシル tRNA 合成酵素反応に与えるphosmidosine-Etの影響を検討した。ヒト型リコンビナント・プロリル tRNA 合成酵素 (ProRS)の酵素活性に与えるphosmidosine-Etの影響を検討した。

Estrogen receptor α (ER α) を発現して estrogen 依存性に増殖するヒト乳がん細胞 MCF-7、T-47D に、レトロウイルスを用いて Myc-BCRP 遺伝子導入、MDR1 遺伝子導入を行い、それぞれ MCF-7/BCRP、MCF-7/MDR、T-47D/BCRP、T-47D/MDR を作成した。また、ER α を発現しないヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 に同様に遺伝子導入を行い、MDA-MB-231/BCRP、MDA-MB-231/MDR を樹立した。これらの細胞を種々の濃度の estradiol を加えた estrogen-free medium (phenol red-free DMEM に 7% の透析・活性炭処理 FBS を添加した培地) で培養し、培養液中の estrogen が細胞の BCRP 発現、P-gp 発現に与える影響を検討した。細胞の BCRP 発現、P-gp 発現は Western blot および FACS で検討した。このうち、細胞の内因性の BCRP 発現の定量には抗 BCRP 抗体を用い、外因性の Myc-tagged BCRP の発現の定量には抗 Myc 抗体を用いた。

臨床サンプルを用い EGFR 遺伝子変異を高感度で確実に検出するため従来おこなわれているダイレクトシーケンス、RFLP 法に加えて、エクソ

ン 21 の点突然変異並びにエクソン 19 の欠失型変異の検出を ARMS 法を用いて比較検討した。対象は、血清、胸水、細胞診サンプルを用いた。また、変異を抗体によって検出するため EGFR 変異特異的抗体を作成、EGFR 遺伝子変異発現細胞株、臨床検体の変異型 EGFR たんぱく質の発現の有無を、ELISA、免疫染色、ウエスタンブロット法で検討した。

抗がん剤治療効果を制御する分子標的を探索する目的で Y-ボックス結合タンパク-1 (YB-1) の核内移行への Akt 活性化の関与を、細胞質と核画分を用いウエスタンブロット法や共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫細胞染色法で解析した。さらに YB-1 によって発現が制御される遺伝子群の発現を同定するために、YB-1 siRNA 処理と非処理群間でマイクロアレイ法や RT-PCR 法で同定した。ヒト乳癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌、膵癌などの病理学材料を用いて YB-1 の細胞内局在と関連タンパク質の発現との相関の有無を免疫組織染色法で検討した。

特定の癌において、この PTEN の異常と AKT の活性化が従来の抗癌剤やホルモン感受性と関係していることを具体的に明らかにするため、PTEN/AKT/PI3K シグナル経路を利用した薬物治療に関する研究を行った。PTEN についてはまず、プロモーターのメチル化および LOH の検索を行った。次に臨床検体を用いて、AKT のリン酸化を免疫組織化学染色で確認し、抗癌剤感受性との関係を検討した。独自の手法である多重蛍光式のマイクロサテライト不安定性解析を約 2000 例の臨床検体でおこない、DNA ミスマッチ修復異常とされていた患者の集団を Type A と Type B の二つの亜集団に分類した。この二つの集団がこれまで考えられていたように薬剤の感受性に差があるのかを詳細に検討した。

薬剤の生体内での薬力学的効果の証明、作用機序及び標的因子の同定を行う目的で、VEGFR チロシナーゼ阻害剤 TSU-68 の臨床第 I 相試験参加 14 名を対象として分子標的薬および抗癌剤の患者末梢血単核球における薬物投与前後の遺伝子発現変動を cDNA マイクロアレイを用いて解析した。

BAY43-9006 の第 I 相試験にエントリーした症例を対象とし positron emission tomography (PET) で糖代謝能を評価することにより、本薬の生物学的活性を検討した。1 回 100 mg より開始し 200、400、600 mg と増量した。各患者で単回投与後の薬物動態を評価した後、1 日 2 回の連日投与を行った。抗腫瘍効果の評価は CT を治療開始前、開始 1、2、ヶ月後、および以後 2 ヶ月毎に実施し、従来の方法により partial response (PR)、stable disease (SD)、progressive disease (PD) に分類した。同時期に FDG-PET を施行し、癌細胞の糖代謝能を standardized uptake value (SUV) で評価した。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、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。SUV による効果判定は、EORTC から提唱されている 25% 以上の SUV の低下を基準として採用し、SUV の変化と CT で評価した腫瘍の大きさの変化と比較した。

2002 年 7 月～2004 年 12 月の間に国立がんセンター中央病院でゲフィチニブ単剤治療が開始された進行・再発非小細胞肺癌 66 例を対象に、効果予測因子の解析を行った。全ての症例は原発巣に対する切除術をうけ、その後再発した症例であった。

(倫理面への配慮)

動物実験においては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。また、遺伝子発現変動解析以外のゲノム解析は行わないが、「ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針」の趣旨を踏まえた対応を行う。すなわち個人の識別につながる情報は個人情報管理者により管理され連絡した遺伝子発現情報が第三者に渡ることはない。また、情報管理に留意し検体提供者およびその家族への不利益を最小限に留めるよう配慮した。

C. 研究結果

ETB/Epo は、リンゴ酸脱水素酵素およびクエン酸合成酵素を基質とした Hsp60 の分子シャペロン活性を濃度依存的に抑制し、この抑制効果は系内への過剰な Hsp60 の添加によりキャンセルされた。一方、ETB/Epo の不活性型類縁化合物は、Hsp60 の機能を抑制しなかった。ETB/Epo は、Hsp60 の 442 番目のシステイン残基 (Cys⁴⁴²) を介して結合し、分子シャペロン活性を抑制した。ETB/Epo の Hsp60 への結合は、*N*-エチルマレイミドの前処理によってキャンセルされた。*v*-src¹⁵-NRK 細胞の粗抽出液を酵素源として、phosmidosine-Et の各種アミノアシル tRNA 合成酵素反応に与える影響を検討した結果、phosmidosine-Et はプロリル tRNA 合成酵素 (ProRS) 反応を特異的に抑制した。Phosmidosine-Et は、ヒト型リコンビナント ProRS の酵素活性を顕著に抑制した。一方、phosmidosine-Et 分子内の L-プロリン部分を D-プロリンあるいは L-イソロイシンに置換した不活性誘導体は、ProRS 活性を抑制しなかった。

種々の estrogen、抗 estrogen、flavonoid、gefitinib (イレッサ) などが BCRP に直接結合し

て BCRP の薬物排出活性を阻害することを報告してきたが今回 estrogen が BCRP タンパクの発現低下を引き起こすことを見出した。Estrogen receptor α (ER α) を発現して estrogen 依存性に増殖するヒト乳がん細胞 MCF-7 の培養液に 30 pM～3 nM の estradiol を添加したところ、MCF-7 細胞の内在性の BCRP の発現が約 10 分の 1 に低下した。ER α を発現していないヒト肺がん細胞 A549 の BCRP 発現は estradiol に影響されなかった。Estrogen は、MCF-7 細胞に HaMycBCRP レトロウイルスを導入して作成した MCF-7/BCRP 細胞の外來性の Myc-tagged BCRP の発現も抑制した。この BCRP 発現低下は estrogen の活性依存的であり、estrone、diethylstilbestrol は同様の発現抑制効果を示したが、tamoxifen はこの反応に拮抗的に働いた。またこの BCRP 発現低下は ER α 依存的であり、ER α の siRNA により発現低下がキャンセルされた。Estrogen は BCRP mRNA の発現レベルには影響しなかった。Estrogen が MCF-7/MDR の P-gp の発現を低下させることを見出した。Estrogen による P-gp の発現抑制も BCRP の発現抑制と同様の機序でおこると考えられた。

新しい 2 つの EGFR 遺伝子変異検出法 (キャピラリー電気泳動法と Scorpion-ARMS 法) の感度、特異性などを検討した。ダイレクトシーケンス法は感度は腫瘍対正常組織の比率において、約 1/10 なのに対し、この 2 つの方法の感度は 1/1000–1/2000 であった。臨床検体を用いたトライアルセットでは、マイクロダイセクションなしに、EGFR 遺伝子変異を確実に捕らえることが可能となり、同法により、胸水、血清サンプルにおける EGFR 遺伝子変異を解析できた。またゲフィチニブ投与前の患者血清中の微量腫瘍由来 DNA 中の変異型を ARMS で検討することにより、変異を有する症例において、治療予後が良好であることが示された。エクソン 21 の L858R 点突然変異特異的抗体を作成した。ELISA 法では野生型 EGFR に反応せず、変異型 L858R にもみ特異的に反応することが示された。免疫染色では L858R を発現している細胞株 (11_18 細胞) において特異的な染色を示した。

YB-1 遺伝子のノックアウト細胞においてシスプラチンやマイトマイシン C などの抗がん剤感受性が有意に上昇していた。YB-1 の P-糖蛋白質発現上昇への関与以外に、DNA 障害の修復にも関与することが示唆された。ヒト軟部腫瘍における P-糖蛋白質の発現は YB-1 の核内局在と相関する以外に p53 の核内局在とも相関していた。ヒト肺癌細胞において HER2/HER3 のヘテロダイマー形成ならびに P85 α の結合がイレッサの感受性に関与していた。

胃癌、乳癌では、PTEN が LOH の症例で AKT がリン酸化されている症例が有意に多かった。pAKT 陽性の症例で 5-FU や CDDP に対して有意に抗癌剤耐性であり、PTEN の LOH を示す症例は予

後が不良であった。乳癌では pAKT 陽性の症例でホルモン感受性が高い傾向があった。多くの消化器癌における DNA ミスマッチ修復の異常を正確に評価したところ、これまでの報告と異なりミスマッチ修復異常のある腫瘍において、p53 の遺伝子異常が多いことが判明した。

VEGFR をターゲットとした、TK 阻害化合物である TSU68 による治療前後における患者末梢血単核球での遺伝子発現変動を、薬物血中濃度との相関解析によって分析した。2 つの薬剤内服スケジュールの異なる、独立した 2 つの試験を validation モデルに使い、患者個々の PK 値と薬剤投与前後の遺伝子発現比を Spearman rank correlation analysis ($R > 0.6$) にて解析した。その結果、サイトカイン、接着因子関連の遺伝子一群 (35 遺伝子) が同定された。また、その遺伝子群内の同定された cadherin-11, Her3, CIP3K は、SU11248 (TSU-68 derivative) の治療前後腫瘍サンプルにおいて、蛋白レベルの発現が増大している事が臨床サンプルにおいても報告されており、リンパ球を用いた解析により、腫瘍内薬理学的効果を推定するサロゲートマーカーが同定できる可能性を示している。一方、患者血中 VEGF 濃度変動と相関する遺伝子の解析にて、VEGFR, MMP 等の VEGF/VEGFR シグナル依存の増殖、転移関連遺伝子 (47 遺伝子) が相関変動していることが明らかになった。抗腫瘍効果との比較解析により、これらの遺伝子変動は、治療効果 PD と相関している可能性が示され、VEGF シグナル阻害薬の効果評価マーカーとしても、患者末梢血単核球が有用である事を示した。これらの遺伝子を VEGF シグナル pathway 上にて解析したところ、VEGF と TSU-68 の作用シグナルが MAP と AKT と異なっている可能性が示された。

Bay43-9006 投与症例 31 例中 FDG-PET を 20 例 (非小細胞肺癌 6 例、大腸癌 6 例、腎癌 2 例、その他 6 例) で施行した。Clinical benefit が得られた 7 例 (PR 1 例、4 ヶ月以上の SD が得られた 6 例) のうち 6 例で SUV が治療前値と比べて 25%以上低下し、残りの 1 例でも 23%の SUV の低下を認めた。また、治療開始 1 ヶ月後の PET で SUV が 25%以上の減少を示さなかった症例は 9 例あったが、このうち 8 例が 2 ヶ月目までに病状の悪化などで BAY43-9006 による治療を中止していた。一方、1 ヶ月の段階で SUV が 25%以上減少した 11 例では 5 例のみが 2 ヶ月以内に治療を中止していただいただけであった。

術後再発しゲフィチニブ単独投与を受けた 66 例全体の奏効率は 30%、無進行生存期間 (PFS) 中央値は 3.0 ヶ月、生存期間 (OS) 中央値は 13.4 ヶ月であった。臨床因子別の解析では、女性、非喫煙者、腺癌において有意に奏効率、PFS、OS が優れていた。当院での手術後に再発し、手術サンプルの解析が可能であった 66 例について、ダイレクトシーケンス法による EGFR 遺伝子変異と

定量的 PCR 法による EGFR 遺伝子コピー数の解析を行った。EGFR 遺伝子変異は 39 例 (59%) に認められ、20 例がエクソン 19 の欠失型変異、17 例が L858R、2 例が G719 の点突然変異であった。遺伝子変異のある症例では、奏効率 (82% 対 11%)、PFS (中央値 12.6 ヶ月対 1.7 ヶ月)、生存期間 (中央値 20.4 ヶ月対 6.9 ヶ月) が有意に優れていた。EGFR 遺伝子コピー数増加 ($\geq 3/\text{cell}$) は 29 例 (44%) に認められ、コピー数増加症例では奏効率 (72% 対 38%)、PFS (中央値 9.4 ヶ月対 2.6 ヶ月) が有意に優れていた。コピー数増加は変異症例に多くみられ (56% 対 26%)、高度増加 ($\geq 6/\text{cell}$) の 13 例はすべて変異症例であった。高度増加症例では変異アレルの割合が高く、変異アレルが選択的に増幅していることが示唆された。

D. 考察

ETB/Epo の標的蛋白質の 1 つが Hsp60 である事を明らかにしたことは、ETB/Epo が Hsp60 の機能解明のための有力なツールになるとともに、Hsp60 が新しいがん化学療法の分子標的となりうる可能性が示唆され、今後の発展性が期待される。Phosmidosine-Et の標的分子がプロリル tRNA 合成酵素 (ProRS) であることが示唆され、今後両者の相互作用等を検討予定である。

Estrogen が核内の ER α と結合して種々の遺伝子の発現調節を行うことにより、BCRP、P-gp のタンパク発現レベルを低下させることが示された。Estrone、diethylstilbestrol が estradiol と同様の発現抑制効果を示したこと、tamoxifen が拮抗的に働いたこと、ER α の siRNA により発現低下がキャンセルされたことより、この反応は estrogen-ER α 系による何らかの遺伝子の発現調節を介していると考えられる。

今回検討した、EGFR 変異検出技術、キャピラリー電気泳動法と Scorpion-ARMS 法は、従来の検出法に比べて、その感度、特異性などに優れ、流血中、胸水中の腫瘍由来 DNA の遺伝子変異検出をも可能にした。同法が簡便な治療予測法となる可能性がある。今後、臨床効果との関連性や予測性を前向き臨床試験で検討する。現在、エクソン 19 の欠失ならびに 21 の L858R 点突然変異に対する Scorpion-ARMS 法を検討したが、今後耐性に関わる点突然変異などの系を確立、検証する。主要な遺伝子変異である、エクソン 21 の L858R 点突然変異特異的抗体は同抗体による組織の解析が簡易型 EGFR 遺伝子変異検出の 1 つとなる可能性がある。他の変異型特異的抗体の作成を試みている。

YB-1 の発現や核内局在は、P-糖蛋白質の発現のみならず、広くがんの耐性を担う分子標的として提示することができた。YB-1 の発現レベルや核内局在がその他のがんの悪性形質を担う遺伝子群の発現と相関するか否かを検討すること

によって、YB-1 のネットワークシステムが薬物療法の最適化にむけて貢献できると思われる。

特定の癌において、PTEN の異常と AKT の活性化が従来の抗癌剤やホルモン感受性と関係していることを具体的に明らかにしたことは、AKT のリン酸化の評価による感受性予測が可能であることを示している。今後は、より臨床的に化学療法との関係をさらに詳細に検討をしていく。DNA ミスマッチ修復異常がある癌は、比較的予後がよいが、抗癌剤治療には耐性であることが報告されてきた。ところが、今回の成果から、DNA ミスマッチ修復異常とされていた患者の集団が Type A と Type B の二つの亜集団に分類されることが明らかとなり、状況がより複雑になった。Type A は本来の DNA ミスマッチ修復異常から癌化した集団と考えられるが、Type B については、DNA ミスマッチ修復異常以外の分子異常も発癌に関わっている可能性が高い。

臨床レベルで生物学的効果の評価が困難であった血管新生阻害薬の作用リンパ球を用いモニターする事が可能である事を示した。VEGFR をターゲットとした抗体治療が臨床効果を認めているなか、TK 阻害剤においては、VEGFR 阻害による臨床効果は明らかではなく、その薬力学的作用のバイオマーカーを同定した今回の研究結果は、その臨床開発の過程において価値が大きい。

BAY43-9006 の副作用として重篤なものはみられず、推奨用量とした 400mg の 1 日 2 回連日投与は認容性の高いものであった。病巣の PET による代謝能の評価と CT によるサイズの測定を行ったが、4 ヶ月以上の NC や PR といった、いわゆる clinical benefit が期待できる 9 例では SUV が低下し、8 例で 25% 以上の低下を示していた。分子標的薬物は長期間の NC が薬効として期待されているが、SUV はそれを早期に検出できる可能性が示唆される。すなわち、分子標的薬の生物学的活性を PET で評価できる可能性を示しているものと考えられた。

EGFR 遺伝子変異はゲフィチニブの効果を規定する最も重要な因子と考えられる。本研究で変異した遺伝子が選択的増幅している可能性を示唆する発見は極めて重要と思われる。EGFR 遺伝子コピー数が独立した効果予測因子であるが、遺伝変異のサロゲートマーカーにすぎないのかについては、議論の余地がある。

E. 結論

新規アポトーシス誘導剤 ETB/Epo の標的蛋白質の 1 つとして分子シャペロン Hsp60 (chaperonin) を見出し、ETB/Epo が Hsp60 の機能を抑制することを明らかにした。一方、細胞周期阻害剤 (G1 期停止剤) phosmidosine-Et の分子標的がプロリル tRNA 合成酵素 (ProRS) であることを明らかにした。新しいクラスのがん治療薬の開発が期待される。

Estrogen が ER α 依存性ヒト乳がん細胞の BCRP、P-gp のタンパク発現レベルを低下させることが示された。この反応は estrogen の活性に依存的であり、また ER α の活性に依存的であった。本研究により、がん細胞における薬物排出トランスポーターの発現を低下させてがん細胞を抗がん剤に感受性にするという今までにない新しい癌化学療法の戦略を構築する可能性が示された。

EGFR 特異的チロシンキナーゼの効果を予測するバイオマーカーとそのアッセイ法を探索し、臨床サンプルにおけるその精度、感度、特異性を検証した。新しいバイオマーカーの候補を同定しえたことおよび変異の高感度検出法を導入したことは分子標的治療の臨床的研究の展開に重要と思われる。

YB-1 の核内局在は、P-糖蛋白質の発現だけでなく CXCR4 や MVP/ LRP などの発現とも相関した。EGFR の突然変異以外に、HER2/ HER3 のヘテロダイマー形成や P85 α の結合もまたゲフィチニブの感受性を制御していることが明らかにされた。

AKT/PI3K シグナル経路は胃癌における抗癌剤の感受性や乳癌におけるホルモン治療感受性を規定する重要な因子であることが明らかとなった。これを利用した分子標的治療や感受性試験の開発が期待される。

血中 VEGF 濃度依存的に変動を示す、47 遺伝子を同定し、血管新生関連遺伝子の発現変化が、臨床効果と相関している可能性を示した。TSU-16 濃度依存的に発現変動を示す 35 遺伝子を同定、VEGF 依存的変動遺伝子と比較し、作用シグナルが異なる可能性を示した。末梢血単核球が、VEGF シグナル阻害剤の薬理学的効果のサロゲートマーカーになり得る事を示した。

BAY43-9006 の第 I 相試験の過程で行った PET 検査の結果によると PET で腫瘍の代謝能を解析することは抗腫瘍効果を早期に検出する可能性が示されたが、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、評価する必要がある。

術後再発症例に限定し、ゲフィチニブ投与をうけた肺がん患者で EGFR の変異、発現、増幅を同時に検討し最も重要な効果予測因子は変異であることを認めた。欧米での論争に結論を与えた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saijo N. What phase III trials are needed to improve the treatment of advanced non-small cell lung cancer? Nature Clinical Practice 2005; 2: 275.

- 2) Saijo N. Is radiotherapy optimally combined with chemotherapy in elderly patients with LD-SCLC? *Nature Clin. Practice Oncol.* 2005; 2: 550-551.
 - 3) Saijo N. EGFR-TKI therapy for NSCLC in Asian patients. *Signal* 2005; 6: 2-3.
 - 4) Saijo N., Nimura Y. Summary of the ASCO-JSCO joint symposium. *Int. J. Clin. Oncol.* 2005; 10: 153-156.
 - 5) Horiike A, Saijo N. Small cell lung cancer: Current therapy and novel agents. *Oncology* 2005; 19: 47-58.
 - 6) Koizumi F, Shimoyama T, Taguchi F, Saijo N., and Nishio K. Establishment of a human non-small cell lung cancer cell line resistant to gefitinib. *Int. J. Cancer* 2005; 116: 36-44.
 - 7) Sekine I, Saijo N. Cancer Chemotherapy-Overview on the clinical impact of polymorphisms in metabolizing enzymes. *Encyclopedia of diagnostic genomics and proteomics* 2005; 1: 189-193.
 - 8) Niho S, Kubota K, Goto K, Yoh K, Ohmatsu H, Kakinuma R, Saijo N. and Nishiwaki Y. First-line single agent treatment with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a phase II study. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(1): 64-69.
 - 9) Ando K, Ohmori T, Inoue F, Kadofuku T, Hosaka T, Ishida H, Shirai T, Okuda K, Hirose T, Horichi N, Nishio K., Saijo N., Adachi M, and Kuroki T. Enhancement of sensitivity to tumor necrosis factor α in non-small cell lung cancer cells with acquired resistance to gefitinib. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 8872-8879.
 - 10) Nishio K., Arao T, Shimoyama T, Fujiwara Y, Tamura T., and Saijo N. Translational studies for target-based drugs. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005; 56: s90-s93.
 - 11) Kimura H, Kasahara K, Sekijima M, Tamura T., and Nishio K. Plasma MIP-1 β levels and skin toxicity in Japanese non-small cell lung cancer patients treated with the EGFR-targeted tyrosine kinase inhibitor, gefitinib. *Lung Cancer* 2005; 50: 393-399.
 - 12) Korfee S, Eberhardt W, Fujiwara Y, and Nishio K. The role of DNA-microarray in translational cancer research. *Curr. Pharmacogenomics* 2005; 3: 201-216.
 - 13) Shimura M, Saito A, Matsuyama S, Sakuma T, Terui Y, Ueno K, Yumoto H, Yamauchi K, Yamamura K, Mimura H, Sano Y, Yabashi M, Tamasaku K, Nishio K., Nishino Y, Endo K, Hatake K, Mori Y, Ishizaka Y, and Ishikawa T. Element array by scanning X-ray fluorescence microscopy after cis-diamminedichloro-platinum (II) treatment. *Cancer Res.* 2005; 65: 4998-5002.
 - 14) Yanagihara K, Takigahira M, Tanaka H, Komatsu T, Fukumoto H, Koizumi F, Nishio K., Ochiya T, Ino Y, and Hirohashi S. Development and biological analysis of peritoneal metastasis mouse models for human scirrhous stomach cancer. *Cancer Sci.* 2005; 96: 323-332.
 - 15) Sekine I, Minna JD, Nishio K., Tamura T., and Saijo N. A literature review of molecular markers predictive of clinical response to cytotoxic chemotherapy in patients with lung cancer. *Int. Thoracic Oncol.* 2006; 1: 31-37.
 - 16) Arao T, Yanagihara K, Takigahira M, Takeda M, Koizumi F, Shiratori Y, and Nishio K. ZD6474 inhibits tumor growth and intraperitoneal dissemination in a highly metastatic orthotopic gastric cancer model. *Int. J. Cancer* 2006; 118: 483-489.
 - 17) Park S, Shimizu C, Shimoyama T, Takeda M, Kinoshita T, Kohno T, Katsumata N, Kang YK, Nishio K., and Fujiwara Y. Gene expression profiling of ATP binding cassette (ABC) transporters as a predictor of the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat. in press*
 - 18) Shimoyama T, Hamano T, Natsume T, Koizumi F, Kiura K, Tanimoto M, and Nishio K. Reference profiling of the genomic response induced by an anti-microtubule agent TZT-1027 (Soblidotin) in vitro. *Pharmacogenomics J. in press*
- Regular research articles:*
- 19) Matsumoto G, Muta M, Umezawa K, Suzuki

- T, Misumi K, Tsuruta K, Okamoto A, Toi M. Enhancement of the caspase-independent apoptotic sensitivity of pancreatic cancer cells by DHMEQ, an NF-kappaB inhibitor. *Int J Oncol* 2005; 27: 1247-55.
- 20) Hiramatsu K., Takahashi K., Yamaguchi T., Matsumoto H., Miyamoto H., Tanaka S., Tanaka C., Tamamori Y., Imajo M., Kawaguchi M, Toi M, Mori T, Kawakita M. N(1),N(12)-Diacylspermine as a sensitive and specific novel marker for early- and late-stage colorectal and breast cancers. *Clin. Cancer Res* 2005; 11: 2986-2990.
- 21) Saji S, Kawakami M, Hayashi S, Yoshida N, Hirose M, Horiguchi S, Itoh A, Funata N, Schreiber SL, Yoshida M, Toi M. Significance of HDAC6 regulation via estrogen signaling for cell motility and prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncogene* 2005; 24: 4531-4539.
- 22) Matsumoto G, Namekawa J, Muta M, Nakamura T, Bando H, Tohyama K, Toi M, Umezawa K. Targeting of Nuclear Factor {kappa}B Pathways by Dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel Inhibitor of breast carcinomas: Antitumor and antiangiogenic potential in vivo. *Clin. Cancer Res* 2005; 11: 1287-1293.
- 23) Bando H, Weich HA, Brokelmann M, Horiguchi S, Funata N, Ogawa T, Toi M. Association between intratumoral free and total VEGF, soluble VEGFR-1, VEGFR-2 and prognosis in breast cancer. *Br. J. Cancer* 2005; 92: 553-561.
- 24) Iwata H, Nakamura S, Toi M, Shin E, Masuda N, Ohno S, Takatsuka Y, Hisamatsu K, Yamazaki K, Kusama M, Kaise H, Sato Y, Kuroi K, Akiyama F, Tsuda H, Kurosumi M. Interim Analysis of a Phase II Trial of Cyclophosphamide, Epirubicin and 5-fluorouracil (CEF) Followed by Docetaxel as Preoperative Chemotherapy for Early Stage Breast Carcinoma. *Breast Cancer* 2005; 12: 99-103.
- 25) Chow LW, Loo WT, Wai CC, Lui EL, Zhu L, Toi M. Study of COX-2, Ki67, and p53 expression to predict effectiveness of 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide with celecoxib treatment in breast cancer patients. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 298-301.
- 26) Chow WC, Cheng CW, Wong JL, Toi M. Serum lipid profiles in patients receiving endocrine treatment for breast cancer--the results from the Celecoxib Anti-Aromatase Neoadjuvant (CAAN) Trial. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: S302-305.
- 27) Ohno S, Toi M, Kuroi K, nakamura S, Iwata H, Kusama M, Masuda N, Yamazaki K, Hisamatsu K, Sato Y, Takatsuka Y, Shin E, Kaise H, Kurozumi M, tsuda H, Akiyama F. Update results of FEC followed by docetaxel neoadjuvant trials for primary breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: S323-324.
- 28) Muta M, Matsumoto G, Nakashima E, Toi M. Mechanical Analysis of Tumor Growth Regression by the Cyclooxygenase-2 Inhibitor, DFU, in a Walker256 Rat Tumor Model: Importance of Monocyte Chemoattractant Protein-1 Modulation. *Clin Cancer Res* 2006; 12(1): 264-272.
- 29) Bando H, Weich H, Horiguchi S, Funata N, Ogawa T, Toi M. The association between vascular endothelial growth factor-C, its corresponding receptor, VEGFR-3, and prognosis in primary breast cancer: A study with 193 cases. *Oncology Reports* 2006; 15:653-659.
- 30) Zahidunnabi MD, Uchihara J, Terashima K, Honda M, Sata T, Ito M, Fujii N, Uozumi K, Tsukasaki K, Tomonaga M, Kubuki Y, Okayama A, Toi M, Mori N, Yamamoto N. Efficient intervention of growth and infiltration of primary adult T-cell leukemia cells by an HIV protease inhibitor, ritonavir. *Blood* 2006; 107(2): 716-724.
- Reviews:*
- 31) Albain KS, Salazar Jde L, Pienkowski T, Aapro M, Bergh J, Caleffi M, Coleman R, Eiermann W, Icli F, Pegram M, Piccart M, Snyder R, Toi M, Hortobagyi GN. Reducing the global breast cancer burden: the importance of patterns of care research. *Clin Breast Cancer* 2005; 6(5):412-420.
- 32) Saji S, Hirose M, Toi M. Clinical significance of estrogen receptor

- beta in breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005; 7: 21-26.
- 33) Toi M, Horiguchi K, Bando H, Saji S, Chow LWC. Trastuzumab: updates and future issues. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56(Suppl 1): 94-99.
 - 34) Gasparini G, Longo R, Toi M, Ferrara N. Angiogenic inhibitors: a new therapeutic strategy in oncology. *Nat Clin Pract Oncol.* 2005; 2(11): 562-577.
 - 35) Toi M, Takebayashi Y, Chow LW. Translational research in breast cancer. *Breast Cancer* 2005; 12(2): 86-90.
 - 36) Nakanishi C, Toi M. Nuclear factor k-B inhibitors as sensitizer of anticancer drugs. *Nature Reviews Cancer* 2005; 5: 297-309.
 - 37) Toi M, Rahman MA, Bando H, Chow LWC. Role of thymidine phosphorylase/PD-ECGF in cancer biology and treatment. *Lancet Oncol* 2005; 6: 158-166.
 - 38) Chow LW, Loo WT, Toi M. Current directions for COX-2 inhibition in breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 281-284.
 - 39) Chow LW, Toi M. Translational research in oncology comes timely. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 263.
 - 40) Kuroi K, Toi M, Tsuda H, Kurosumi M, Akiyama F. Unargued issues on the pathological assessment of response in primary systemic therapy for breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 387-392.
 - 41) Dewan MZ, Terunuma H, Ahmed S, Ohba K, Takada M, Tanaka Y, Toi M, Yamamoto N. Natural killer cells in breast cancer cell growth and metastasis in SCID mice. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 375-379.
 - 42) Toi M, Bando H, Weich HA. Vascular endothelial growth factor and its relationships with endogenous inhibitors in a breast cancer microenvironment manipulated by hormonal therapy: a hypothetical consideration. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: 344-347.
 - 43) Ueno T, Toi M, Linder S. Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement. *Biomed Pharmacother* 2005; Suppl 2: S359-362.
 - 44) Kuroi K, Toi M, Tsuda H, Kurosumi M, Akiyama F. Issues in the Assessment of the Pathologic Effect of Primary Systemic Therapy for Breast Cancer. *Breast Cancer* 2006; 13(1): 38-48.
 - 45) Kuroi K, Toi M. A current perspective on the use of a weekly docetaxel dosing schedule in breast cancer. www.siicsalud.com, 2006.
 - 46) Kondo M, Toi M. Cost-effective treatment options in first-line therapy for advanced breast cancer in Japan. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2006; 6(2): 197-204.
 - 47) Nagumo Y, Takeya H, Shoji M, Hayashi Y, Dohmae N, and Osada H. Epilactaene binds human Hsp60 Cys442 resulting in the inhibition of chaperone activity. *Biochem. J.* 2005; 387: 835-840.
 - 48) Mitsui T, Miyake Y, Takeya H, Hayashi Y, Osada H, Kataoka T. RKTS-33, an epoxy-cyclohexenone derivatives that specifically inhibits Fas ligand-dependent apoptosis in CTL-mediated cytotoxicity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005; 69, 1923-1928.
 - 49) Takeya H, Onose R, Koshino H, Osada H. Epoxytwinol A, a novel unique angiogenesis inhibitor with C2 symmetry, produced by a fungus. *Chem. Commun.* 2005; 2005: 2575-2577.
 - 50) Shoji M, Uno T, Takeya H, Onose R, Shiina I, Osada H, Hayashi Y. Enantio- and diastereo-selective total synthesis of EI-1941-1, -2, and -3, inhibitors of interleukin-1 β converting enzyme and biological properties of their derivatives. *J. Org. Chem.* 2005; 70: 9905-9915.
 - 51) Yamaguchi J, Takeya H, Uno T, Shoji M, Osada H, Hayashi Y. Determination by asymmetric total synthesis of the absolute configuration of lucilactaene, a cell cycle inhibitor in p53-transfected cancer cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005; 44: 3110-3115.
 - 52) Hayashi Y, Shoji M, Mukaiyama T, Gotoh H, Yamaguchi S, Nakata M, Takeya H, Osada H. First total synthesis of

- synerazol, an antifungal antibiotic, and determination of its absolute stereochemistry. *J. Org. Chem.* 2005; 70: 5643-5654.
- 53) Shoji M, Imai H, Mukaida M, Sakai K, Takeya H, Osada H, Hayashi Y. Total syntheses of epoxyquinols A, B, C, and epoxywinol A and the reactivity of a 2H-pyran derivatives as the diene component in the Diels-Alder reaction. *J. Org. Chem.* 2005; 70: 79-91.
- 54) Kwon H-J, 掛谷秀昭. 新しい血管新生阻害剤におけるケミカルゲノミクス. 蛋白質核酸酵素. 2005; 50: 1056-1062.
- 55) Yamada Y, Yamamoto N, Shimoyama T, Horiike A, Fujisaka Y, Takayama K, Sakamoto T, Nishioka Y, Yasuda S, Tamura T. Phase I pharmacokinetic and pharmacogenomic study of E7070 administered once every 21 days. *Cancer Sci.* 2005; 96(10): 721-8.
- 56) Yamazaki S, Sekine I, Matsuno Y, Takei H, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Kodama T, Asamura H, Tsuchiya R, Saijo N. Clinical responses of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung to cisplatin-based chemotherapy. *Lung Cancer* 2005; 49(2): 217-23.
- 57) Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations and Increased Copy Numbers Predict Gefitinib Sensitivity in Patients With Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(28): 6829-37.
- 58) Sekine I, Tamura T. Phase I clinical trials in oncology. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352(23): 2451-3.
- 59) Yamamoto N, Tamura T, Murakami H, Shimoyama T, Nokihara H, Ueda Y, Sekine I, Kunitoh H, Ohe Y, Kodama T, Shimizu M, Nishio K, Ishizuka N, Saijo N. Randomized pharmacokinetic and pharmacodynamic study of docetaxel: dosing based on body-surface area compared with individualized dosing based on cytochrome P450 activity estimated using a urinary metabolite of exogenous cortisol. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(6): 1061-9.
- 60) Hichiya H, Tanaka-Kagawa T, Soyama A, Jinno H, Koyano S, Katori N, Matsushima E, Uchiyama S, Tokunaga H, Kimura H, Minami N, Katoh M, Sugai K, Goto Y, Tamura T, Yamamoto N, Ohe Y, Kunitoh H, Nokihara H, Yoshida T, Minami H, Saijo N, Ozawa S, Saito Y, Sawada J. Functional characterization of five novel CYP2C8 variants, G171S, R186X, R186G, K247R and K383N, found in a Japanese population. *Drug Metab. Dispos.* 2005; 33: 630-636.
- 61) Ikeda S, Kurose K, Jinno H, Sai K, Ozawa S, Hasegawa R, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Yamada Y, Ohe Y, Shimada Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Saito Y, Sawada J. Functional analysis of four naturally occurring variants of human constitutive androstane receptor. *Mol. Genet. Metab.* 2005; 86: 314-319.
- 62) Sakai K, Arao T, Shimoyama T, Murofushi K, Sekijima M, Kaji N, Tamura T, Saijo N, and Nishio K. Dimerization and the signal transduction pathway of a small in-frame deletion in the epidermal growth factor receptor. *FASEB J.* 2006; 20: 311-313.
- 63) Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Ozawa S, Kurose K, Kaniwa N, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Hamaguchi T, Yoshida T, Kubota K, Ohtsu A, Muto M, Minami H, Saijo N, Kamatani N, Sawada J. Haplotype structures of the *UGT1A* gene complex in a Japanese population. *Pharmacogenomics* 2006; 6: 63-75.
- 64) Kimura H, Kasahara K, Kawaishi M, Kunitoh H, Tamura T, Holloway B, and Nishio K. Epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin. Cancer Res. in press*
- 65) Kimura H, Fujiwara Y, Sone T, Kunitoh H, Tamura T, Kasahara K, and Nishio K. EGFR mutation status in tumor-derived DNA from pleural effusion fluid is a practical source for predicting of

- gefitinib response. Clin. Cancer Res. *in press*
- 66) Kimura H, Kasahara K, Shibata K, Sone T, Yoshimoto A, Kita T, Ichikawa Y, Waseda Y, Watanabe K, Shiarasaki H, Ishiura Y, Mizuguchi M, Nakatsumi Y, Kashii T, Kobayashi M, Kunitoh H, Tamura T, Nishio K, Fujimura M, and Nakao S. EGFR mutation of tumor and serum in the gefitinib treated patients with chemotherapy-naive non-small cell lung cancer. Int. Thoracic Oncol. *in press*
- 67) Kimura H, Fujiwara Y, Sone T, Kunitoh H, Tamura T, Kasahara K, and Nishio K. High sensitivity detection of epidermal growth factor receptor mutations in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients. Cancer Sci. *in press*
- 68) Sai K, Itoda M, Saito Y, Kurose K, Katori N, Kaniwa N, Komamura K, Kamakura S, Kitakaze M, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Yamada Y, Ohe Y, Shimada Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Genetic variations and haplotype structures of the *ABCB1* gene in a Japanese population: an expanded haplotype block covering the distal promoter region and its ethnic differences Ann. Hum. Genet. *in press*
- 69) Maekawa K, Itoda M, Sai K, Saito Y, Kaniwa N, Shirao K, Hamaguchi T, Kunitoh H, Yamamoto N, Tamura T, Minami H, Kubota K, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J. Genetic variations and haplotype structure of the ABC transporter gene *ABCG2* in a Japanese population. Drug Metab. Pharmacokin. *in press*
- 70) Matsui K, Hirashima T, Nitta T, Kobayashi M, Ogata Y, Furukawa M, Kudoh S, Yoshimura N, Mukohara T, Yamauchi S, Shiraishi S, Kamoi H, Negoro S, Takeda K, Nakagawa K, Takada M, Yana T, and Fukuoka M. A phase I/II study comparing regimen schedules of gemcitabine and docetaxel in Japanese patients with stage IIIB/IV non-small cell lung cancer. Jpn J Clin Oncol. 2005; 35: 181-187.
- 71) Ohe Y, Negoro S, Matsui K, Nakagawa K, Sugiura T, Takada Y, Nishiwaki Y, Yokota S, Kawahara M, Saijo N, Fukuoka M, and Ariyoshi Y. Phase I-II study of amrubicin and cisplatin in previously untreated patients with extensive-stage small-cell lung cancer. Ann Oncol. 2005; 16: 430-436.
- 72) Yoshimura N, Kudoh S, Kimura T, Mitsuoka S, Matsuura K, Hirata K, Matsui K, Negoro S, Nakagawa K, Fukuoka M. EKB-569, a new irreversible epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, with clinical activity in patients with non-small cell lung cancer with acquired resistance to gefitinib. Lung Cancer 2005; 51: 363-368.
- 73) Nishio M, Ohyanagi F, Horiike A, Ishikawa Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Nishio K, and Horai T. Gefitinib treatment affects androgen levels in non-small-cell lung cancer patients. Br. J. Cancer 2005; 92: 1877-1880.
- 74) Yonesaka K, Tamura K, Kurata T, Satoh T, Ikeda M, Fukuoka M, Nakagawa K. Small interfering RNA targeting survivin sensitizes lung cancer cell with mutant p53 to adriamycin. Int J Cancer 2006; 812-820.
- 75) Yamamoto N, Tsurutani J, Yoshimura N, Asai G, Moriyama A, Nakagawa K, Kudou S, Takada M, Minato Y, Fukuoka M. Phase II study of weekly paclitaxel for Relapsed and refractory small cell lung cancer. Anticancer Res 2006; 777-782.
- 76) Okamoto I, Araki J, Suto R, Shimada M, Nakagawa K, Fukuoka M. EGFR mutation in gefitinib-responsive small-cell lung cancer. Ann Oncol 2006; *in press*
- 77) Asai G, Yamamoto N, Kurata T, Tamura K, Uejima H, Nakagawa K, Fukuoka M. Phase I and Pharmacokinetic Study of Combination Chemotherapy Using Irinotecan and Paclitaxel in Patients. Journal of Thoracic Oncology 2006; *in press*
- 78) Yamamoto N, Nakagawa K, et al; 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. CANCER 2006; *in*

- press*
- 79) Kuwano M, Basaki Y, Kuwano T, Nakao S, Oie S, Kimura Y N, Fujii T, and Ono M. The critical role of inflammatory cell infiltration in tumor angiogenesis—a target for antitumor drug development? In “New Angiogenesis Research” Nova Science Publishers Inc. New York 2005; 157-170.
 - 80) Torigoe T, Izumi H, Ishiguchi H, Yoshida Y, Tanabe M, Yoshida T, Igarashi T, Niina I, Wakasugi T, Imaizumi T, Momii Y, Kuwano M, and Kohno K. Cisplatin resistance and transcription factors. *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents* 2005; 5: 15-27.
 - 81) Yokoyama G, Fujii T, Tayama K, Yamana H, Kuwano M, and Shirouzu K. PKC δ and MAPK mediate G_i arrest induced by PMA in SKBR-3 breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 327: 720-726.
 - 82) Oda Y, Saito T, Tateishi N, Ohishi Y, Tamiya S, Yamamoto H, Yokoyama R, Uchiumi T, Iwamoto Y, Kuwano M, and Tsuneyoshi M. ATP-binding cassette superfamily transporter gene expression in human soft tissue sarcomas. *Int. J. Cancer* 2005; 114: 854-862.
 - 83) Hirata A, Hosoi F, Miyagawa M, Ueda S, Naito S, Fujii T, Kuwano M, and Ono M. HER2 Overexpression Increases Sensitivity to Gefitinib, an EGF receptor tyrosine kinase inhibitor, through inhibition of HER2/HER3 heterodimer formation in lung cancer cells. *Cancer Res.* 2005; 65: 4253-4260.
 - 84) Sanda T, Kuwano T, Nakao S, Iida S, Ishida T, Komatsu H, Shudo K, Kuwano M, Ono M, and Ueda R. Antimyeloma effects of a novel synthetic retinoid Am80 (Tamibarotene) through inhibition of angiogenesis. *Leukemia* 2005; 19: 901-909.
 - 85) Nakamura H, Takamori S, Fujii T, Ono M, Yamana H, Kuwano M, and Shirouzu K. Cooperative cell-growth inhibition by combination treatment with ZD1839 (Iressa) and trastuzumab (Herceptin) in non-small-cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2005; 230 : 33-46.
 - 86) Nakao S, Kuwano T, Tsutsumi-Miyahara C, Ueda S, Hamano S, Sonoda K, Saijo Y, Nukiwa T, Ishibashi T, Kuwano M, and Ono M. Infiltration of COX2-expressing macrophage is prerequisite for IL-1 β -induced neovascularization and tumor growth. *J. Clin. Invest.* 2005; 115: 2979-2991.
 - 87) Fujii T, Nakamura A M, Yokoyama G, Yamaguchi M, Tayama K, Miwa K, Toh U, Kawamura D, Shirouzu K, Yamana H, Kuwano M, and Tsuda H. Antineoplastic induces G_i arrest by PKC α and MAPK pathway in SKBR-3 breast cancer cells. *Oncology Reports* 2005; 14: 489-494.
 - 88) Sata R, Ohtani H, Tsujimoto M, Murakami H, Koyabu N, Nakamura T, Uchiumi T, Kuwano M, Nagata H, Tsukimori K, Nakano H, and Sawada Y. Functional analysis of organic cation transporter 3 expressed in human placenta. *J. Pharmacol. Expt. Therapeut.* 2005; 315: 888-895.
 - 89) Fotovati A, Fujii T, Yamaguchi M, Shirouzu K, Ono M, Yamana H, and Kuwano M. 17 β -Estradiol induces downregulation of Cap43/NDRG1/Drg-1, a putative differentiation-related and metastasis suppressor gene, in human breast cancer cells. *Clin. Cancer Res. in press*
 - 90) Imai Y, Ishikawa E, Asada S, and Sugimoto Y. Estrogen-mediated Post-transcriptional down-regulation of Breast Cancer Resistance Protein/ABCG2. *Cancer Res.* 2005; 65: 596-604.
 - 91) Morita H, Koyama K, Sugimoto Y, and Kobayashi J. Antimitotic activity and reversal of breast cancer resistance protein-mediated drug resistance by stilbenoids from *Bletilla striata*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005; 15: 1051-1054.
 - 92) Mashima T, Oh-hara T, Sato S, Mochizuki M, Sugimoto Y, Yamazaki K, Hamada J, Tada M, Moriuchi T, Ishikawa Y, Kato Y, Tomoda H, Yamori T, and Tsuruo T. P53-defective tumors with a functional apoptosome-mediated pathway: a new therapeutic target. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005; 97: 765-777.
 - 93) Sugimoto Y, Tsukahara S, Ishikawa E,

- and Mitsuhashi J. Breast Cancer Resistance Protein (BCRP): a Molecular Target for Anticancer Drug Resistance and Pharmacokinetics/Pharmacodynamics. *Cancer Sci.* 2005; 96: 457-465.
- 94) Kage K, Fujita T, and Sugimoto Y. Role of Cys-603 in dimer/oligomer formation of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Cancer Sci.* 2005; 96: 866-872.
- 95) Yanase K, and Sugimoto Y. Functional SNPs of BCRP in drug effect and inhibitor development. *Cancer Lett.* 2006; 234: 73-80.
- 96) Imai Y, Tsukahara S, Mitsuhashi J, and Sugimoto Y. Functional Single Nucleotide Polymorphisms of the ABC-transporter ABCG2/BCRP Gene. *Trends in Cancer Res. in press*
- 97) Takahashi S, Ito Y, Hatake K, and Sugimoto Y. Gene therapy for breast cancer. *Breast Cancer in press*
- 98) Mutoh K, Mitsuhashi J, Kimura Y, Tsukahara S, Ishikawa E, Sai K, Ozawa S, Sawada J, Ueda K, Katayama K, and Sugimoto Y. A T3587G Germline Mutation of the MDR1 Gene Encodes a Non-functional P-glycoprotein. *Mol. Cancer Ther. in press*
- 99) Tokunaga E, Kataoka A, Kimura Y, Oki E, Mashino K, Nishida K, Koga T, Morita M, Kakeji Y, Baba H, Ohno S, and Maehara Y. The association between Akt activation and resistance to hormone therapy in metastatic breast cancer. *Eur J Cancer* 2006; *in press*
- 100) Tanoue K, Yasunaga T, Kobayashi E, Miyamoto S, Sakuma I, Dohi T, Konishi K, Yamaguchi S, Kinjo N, Takenaka K, Maehara Y. and Hashizume Laparoscopic cholecystectomy using a newly developed laparoscope manipulator for 10 patients with cholelithiasis. *Surg Endosc.* 2005; Dec *in press*
- 101) Oda S, Zhao Y, and Maehara Y. Microsatellite instability in gastrointestinal tract cancers: a brief update. *Surg Today.* 2005; 35(12): 1005-15.
- 102) Tsujita E, Taketomi A, Gion T, Kuroda Y, Endo K, Watanabe A, Nakashima H, Aishima S, Kohnoe S, and Maehara Y. Suppressed MKP-1 is an independent predictor of outcome in patients with hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2005; 69(4): 342-7.
- 103) Tanaka S, Shimada M, Shirabe K, Maehara S, Tsujita E, Taketomi A, and Maehara Y. Surgical outcome of patients with hepatocellular carcinoma originating in the caudate lobe. *Am J Surg.* 2005; 190: 451-5.
- 104) Oki E, Tokunaga E, Nakamura T, Ueda N, Futatsugi M, Mashino K, Yamamoto M, Watanabe M, Ikebe M, Kakeji Y, Baba H, and Maehara Y. Genetic mutual relationship between PTEN and p53 in gastric cancer. *Cancer Lett.* 2005; 227: 33-8.
- 105) Tokunaga E, Kimura Y, Oki E, Ueda N, Futatsugi M, Mashino K, Yamamoto M, Ikebe M, Kakeji Y, Baba H, and Maehara Y. Akt is frequently activated in HER2/neu-positive breast cancers and associated with poor prognosis among hormone-treated patients. *Int J Cancer.* 2006; 118: 284-9.
- 106) Tanaka Y, Miyamoto S, Suzuki SO, Oki E, Yagi H, Sonoda K, Yamazaki A, Mizushima H, Maehara Y. Mekada E, and Nakano H. Clinical significance of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and a disintegrin and metalloprotease 17 expression in human ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 4783-92.
- 107) Oki E, Baba H, Tokunaga E, Nakamura T, Ueda N, Futatsugi M, Mashino K, Yamamoto M, Ikebe M, Kakeji Y, and Maehara Y. Akt phosphorylation associates with LOH of PTEN and leads to chemoresistance for gastric cancer. *Int J Cancer.* 2005; 117(3): 376-80.
- 108) Hagiwara T, Kono S, Yin G, Toyomura K, Nagano J, Mizoue T, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y. Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, and Imaizumi N. Genetic polymorphism in cytochrome P450 7A1 and risk of colorectal cancer: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Res.* 2005; 65: 2979-82.
- 109) Oda S, Maehara Y. Ikeda Y, Oki E, Egashira A, Okamura Y, Takahashi I,

- Takeji Y, Sumiyoshi Y, Miyashita K, Yamada Y, Zhao Y, Hattori H, Taguchi K, Ikeuchi T, Tsuzuki T, Sekiguchi M, Karran P, and Yoshida MA. Two modes of microsatellite instability in human cancer: differential connection of defective DNA mismatch repair to dinucleotide repeat instability. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33: 1628-36.
- 110) Minami H. A point, a line, or an area, which is the most important in the pharmacological analysis of cancer chemotherapy. *J Clin Oncol* 2005; 23: 405-406.
- 111) Kawada K, Minami H, Okabe K, Watanabe T, Inoue K, Sawamura M, Yagi Y, Sasaki T, Takashima S. A multicenter and open label clinical trial of zoledronic acid 4 mg in patients with Hypercalcemia of malignancy. *Jpn J. Clin. Oncol.* 2005; 35: 28-33.
- 112) Koyano S, Saito Y, Kurose K, Ozawa S, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Shirao K, Yoshida T, Minami H, Ohtsu A, Saijo N, Sawada J. Novel genetic polymorphisms in the *NR3C1* (glucocorticoid receptor) gene in a Japanese population. *Drug Metab. Pharmacokin.* 2005; 20: SNP1 (79)-SNP6 (84).
- 113) Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Kaniwa N, Ozawa S, Komamura K, Kotake T, Morishima H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani N, Sawada J. Genetic polymorphisms of *UGT1A6* in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokin* 2005; 20: SNP7 (85)-SNP12 (90).
- 114) Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Hachisuka A, Kaniwa N, Ozawa S, Kamatani N, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Komamura K, Kotake T, Morishima H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Sawada J. Genetic variations and haplotypes of *UGT1A4* in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokin* 2005; 20: SNP13 (144)-SNP20 (151).
- 115) Kohno N, Aogi K, Minami H, Nakamura S, Asaga T, Iino Y, Watanabe T, Goessl C, Ohashi T, Takashima S. Zoledronic acid significantly reduces skeletal complications compared with placebo in Japanese women with bone metastases from breast cancer: a randomized, placebo-controlled trial. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 3314-3321.
- 116) Ando M, Saka H, Ando Y, Minami H, Kuzuya T, Yamamoto M, Watanabe A, Sakai S, Shimokata K, Hasegawa Y. Sequence effect of docetaxel and carboplatin on toxicity, tumor response and pharmacokinetics in non-small cell lung cancer patients, a phase I study of two sequences. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005; 55: 552-558.
- 117) Ebi H, Shigeoka Y, Saeki T, Kawada K, Igarashi T, Usubuchi N, Ueda R, Sasaki Y, Minami H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of fluoropyrimidine derivatives, capecitabine and 5'-deoxy-5-fluorouridine (5' -DFUR). *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 205-211.
- 118) Nozawa T, Minami H, Tsuji A, Tamai I. Role of organic anion transporter OATP1B (OATP-C) in hepatic uptake of irinotecan and its metabolite SN-38, in vitro evidence and effect of single nucleotide polymorphisms. *Drug Metab. Dispos.* 2005; 33: 434-439.
- 119) Kubo T, Kim SR, Sai K, Saito Y, Nakajima T, Saito H, Shirao K, Yamamoto N, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Ohno Y, Ozawa S, Sawada J. Functional characterization of three naturally occurring single nucleotide polymorphisms in the *CES2* gene encoding carboxylesterase 2 (hCE-2). *Drug Metab. Dispos.* 2005; 33: 1482-1487.
- 120) Koyano S, Saito Y, Fukushima-Uesaka H, Ishida S, Ozawa S, Kamatani N, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N, Jinno H, Sawada J. Functional analysis of six human aryl hydrocarbon receptor variants in a Japanese population. *Drug Metabol. Dispos.* 2005; 33: 1254-1260.
- 121) Tobinai K, Watanabe T, Ogura M, Morishima Y, Ogawa Y, Ishizawa K, Minami H, Utsunomiya A, Taniwaki M, Terauchi T, Nawano S, Matsusako M, Matsuno Y, Nakamura S, Mori S, Ohashi Y, Hayashi M, Seriu T, Hotta T. Phase

- II study of oral fludarabine phosphate in relapsed indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 174-180.
- 122) Ogawa Y, Hotta T, Tobinai K, Watanabe T, Sasaki Y, Minami H, Morishima Y, Ogura M, Seriu T. Phase I and pharmacokinetic study of oral fludarabine phosphate in relapsed indolent B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 2006; 17: 330-333.
- 123) Minami H, Kawada K, Sasaki Y, Igarashi T, Saeki T, Tahara M, Itoh K, Fujii H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of protein-unbound docetaxel in cancer patients *Cancer Science in press*
- 124) Araki K, Sangai T, Miyamoto S, Meda H, Zhang S, Nakamura M, Ishii G, Hasebe T, Kusaka H, Akiyama T, Tokuda Y, Nagai K, Minami H, Ochiai A. Inhibition of bone-derived insulin-like growth factors by a ligand specific antibody suppresses the growth of human multiple myeloma in the human adult bone explanted in NOD/SCID mouse. *Int. J Cancer in press*
2. 学会発表
- 1) Ono M, Nakao S, Kuwano T, Ueda S, Kimura NY, Oie S. and Kuwano M. The control of tumor growth and angiogenesis by inflammatory cytokines and infiltration of macrophages in tumor microenvironment. 96th AACR Annual Meeting (第96回アメリカ癌学会) (ポスター) 2005 (Anaheim, California).
- 2) Maruyama Y, Oie S, Basaki Y, Hosoi F, Ono M, Tanaka S, Kage M, Aoyagi S, Kinoshita H. and Kuwano M. Low expression of the metastasis-suppressor gene Cap34 is associated with poor prognosis in pancreatic cancer. 96th AACR Annual Meeting (第96回アメリカ癌学会) (ポスター) 2005 (Anaheim, California).
- 3) 丸山祐一郎、大家真治、馬崎雄二、細井文仁、小野眞弓、鹿毛政義、原雅雄、白水雄、青柳成明、木下壽文、桑野信彦。転移抑制遺伝子 Cap43 の発現は膵癌の悪性形質獲得の分子標的である。第105回日本外科学会定期学術集会 2005年5月13日(名古屋)
- 4) 細井文仁、丸山祐一郎、大家真治、小野眞弓、木下壽文、桑野信彦。Cap43/NDRG1/Drg-1/Rit42 は膵癌、肝癌及び乳癌の転移や悪性形質獲得の分子標的となるか? 第14回日本がん転移学会総会 2005年6月2~3日(大阪)
- 5) 馬崎雄二、大家真治、細井文仁、丸山祐一郎、寺田忠史、小野眞弓、桑野信彦。肝細胞癌の増殖に關与する IGF シグナルの役割と臨床的意義。第9回がん分子標的治療研究会(ポスター) 2005年6月30~7月1日(京都)
- 6) 上田秀一、馬崎雄二、桑野信彦、小野眞弓。肝癌細胞で誘導される血管新生のイレッサ(Gefitinib)による阻害と機序。第9回がん分子標的治療研究会(ポスター) 2005年6月30~7月1日(京都)
- 7) 平田晃、細井文仁、上田秀一、内藤誠二、桑野信彦、小野眞弓。EGF レセプターファミリー-HER2 発現は非小細胞肺癌の Gefitinib (Iressa) 感受性を変化させる。第9回がん分子標的治療研究会(シンポジウム) 2005年6月30~7月1日(京都)
- 8) 大家真治、細井文仁、丸山祐一郎、馬崎雄二、小野眞弓、桑野信彦。ヒト肝癌細胞におけるインターフェロン α と5-FU 併用相乗効果を制御する分子標的。第9回がん分子標的治療研究会(ポスター) 2005年6月30~7月1日(京都)
- 9) 丸山祐一郎、細井文仁、馬崎雄二、大家真治、藤井輝彦、小野眞弓、木下壽文、桑野信彦。膵癌と乳癌における悪性形質獲得の分子標的としての Cap43/NDRG-1/drg-1/rit43 の発現。第9回がん分子標的治療研究会(ポスター) 2005年6月30~7月1日(京都)
- 10) 内海健、和泉弘人、桑野信彦、河野公俊。YB-1(Y-box 結合タンパク)と B23 との結合と翻訳制御。第64回日本癌学会総会(ワークショップ) 2005年9月14~16日(札幌)
- 11) 中川真宗、小田義直、江口孝志、相島慎一、八尾隆志、細井文仁、大家真治、小野眞弓、桑野信彦、恒吉正澄。ヒト癌における Class I HDAC の発現状況。第64回日本癌学会総会(ワークショップ) 2005年9月14~16日(札幌)
- 12) 古賀浩徳、セルベンディランカルパイヤ、上野隆登、鳥村拓司、矢野博久、神代正道、桑野信彦、佐田通夫。シ

- ソ種子抽出ルテオリンによる肝細胞癌アポトーシス誘導の分子機序. 第 64 回 日本癌学会総会 (ワークショップ) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 13) 鳥村拓司、上野隆登、古賀浩徳、橋本修、安東栄治、長岡栄、佐田通夫、矢野博久、神代正道、桑野信彦、中島恵美. 肝細胞癌の化学療法における新しい drug delivery system の開発. 第 64 回 日本癌学会総会 (ワークショップ) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 14) 丸山祐一郎、小野眞弓、細井文仁、大家真治、馬崎雄二、木下壽文、桑野信彦. 肝癌における悪性形質獲得の標的としての Cap43/NDRG1 の発現とその機能. 第 64 回 日本癌学会総会 (ワークショップ) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 15) 木村祐介、中尾新太郎、上田秀一、桑野隆史、ベレツキ ビボルカ、大家真治、高森信三、桑野信彦、小野眞弓. 炎症性サイトカイン IL-1 β 依存性の癌進展とマクロファージの関与. 第 64 回 日本癌学会総会 (ワークショップ) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 16) 細井文仁、大家真治、小野眞弓、丸山祐一郎、馬崎雄二、矢野博久、神代正道、桑野信彦. Cap43/NDRG1 の発現は肝癌における分化マーカーとなるか否か? 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 17) フォトバティアーバス、藤井輝彦、小野眞弓、山名秀明、桑野信彦. 乳癌細胞におけるタモキシフェン、ハーセプチン、ドキシソルピシンによる Cap43 の発現制御. 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 18) 大家真治、細井文仁、丸山祐一郎、馬崎雄二、鳥村拓司、矢野博久、上野隆登、小野眞弓、神代正道、桑野信彦. インターフェロン α と 5-FU 併用のヒト肝細胞癌に対する相乗効果を制御する分子機序. 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 19) 橋本修、古賀浩徳、鳥村拓司、上野隆登、佐田通夫、桑野信彦. CyclinD を介した Weel inhibitor (PD0166285) の melanoma 細胞増殖抑制効果. 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 20) 馬崎雄二、相島慎一、Abbas Fotovati、大家真治、細井文仁、丸山祐一郎、小田義直、矢野博久、神代正道、寺田忠史、小野眞弓、恒吉正澄、桑野信彦. IGFBP-3 による肝細胞癌の IGF 依存性増殖の制御と臨床的意義. 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 21) 上田秀一、馬崎雄二、向坂彰太郎、桑野信彦、小野眞弓. イレッサ (Gefitinib) による肝細胞癌誘導の血管新生阻害と PTEN/Akt シグナルの関与. 第 64 回 日本癌学会総会 (ポスター) 2005 年 9 月 14~16 日 (札幌)
- 22) 桑野信彦. Development of Novel and Useful Therapeutic Strategies against Human Cancers from Bench to Bed Side. Asian Symposium for Pharmaceutical Sciences 2006 年 1 月 25~26 日 (福岡)
- 23) 桑野信彦. 分子標的治療の将来展望—がん血管新生標的薬剤を中心に. 第 39 回制癌剤適応研究会. 2006 年 3 月 3 日 (福岡)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む.)
1. 特許取得
 - ・ 西尾和人：高感度簡易測定法を用いた非小細胞肺癌体液検体中の上皮増殖因子受容体 (EGFR) 遺伝子の体細胞性変異の検出 申請中
 - ・ 西尾和人：活性型 EGFR 変異体 (L858R) 特異的抗体 (ヒト化モノクローナル Fab 抗体) の開発 申請中
 - ・ 西尾和人：チロシンキナーゼ阻害剤 (ゲフィチニブ、イレッサR) に対する感受性予測因子としての HLA-DQA1 発現測定 申請中
 - ・ 西尾和人：悪性神経腫に高発現する遺伝子の同定 申請中
 - ・ 西尾和人：特願 2006-004893 Integrin $\beta 1$, Laminin $\alpha 3$ は中枢神経系原発悪性リンパ腫のマーカーである
 - ・ 西尾和人：特願 2006-046779 チロシンキナーゼ阻害剤の固形癌に対する感受性を検査する方法及び検査キット
 - ・ 西尾和人：特願 2005-272764 悪性腫瘍マーカー遺伝子およびその用途
 - ・ 西尾和人：特願 2005-287168 脳腫瘍患者の予後を予測するための脳腫瘍マーカーおよびその用途
 - ・ 西尾和人：特願 2005-004893 中枢神経系原発悪性リンパ腫マーカーおよびその用途
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

がん生物学に基づく新治療の開発と評価に関する研究

分担研究者 西條 長宏 国立がんセンター東病院副院長

研究要旨

非小細胞がんにおける EGFR 遺伝子変・増巾・発現と EGFR 標的チロシキナーゼ阻害剤の治療効果との検討がなされてきたが、最も重要な因子に関しては意見の分かれる結果が報告されてきた。本研究では EGFR の如何なる変化が EGFR-TKI の感受性を左右するかについての検討を行い EGFR 変異が最も重要であること、変異遺伝子が選択的に増巾している事および変異をもつ EGFR ではゲフィチニブとの affinity が高いことを証明した。

A. 研究目的

EGFR-TKI の治療効果予測因子として EGFR の発現、変異、増巾のいずれが最も重要かを比較検討する。また EGFR-TKI に対する感受性と EGFR に対する EGFR-TKI 結合能の関連を明らかにする。

B. 研究方法

2002年7月～2004年12月の間に国立がんセンターでゲフィチニブ単剤治療を行われた進行・再発非小細胞がん364例を対象に効果予測因子の解析を行った。また EGFR-TKI 感受性および非感受性細胞を用いゲフィチニブと EGFR の結合能を分析した。

（倫理面への配慮）

臨床試験および POP study の臨床研究の試験計画書を倫理審査委員会で審査の上、承認をえた。また個人情報保護を含むインフォームドコンセントを患者より得て研究を行った。

C. 研究結果

全体の奏効率は30%、無進行生存期間(PFS)中央値は3.0ヶ月、生存期間(OS)中央値は13.4ヶ月であった。臨床因子別の解析では、女性、非喫煙者、腺癌において有意に奏効率、PFS、OSが優れていた。当院での手術後に再発し、手術サンプルの解析が可能であった66例については、ダイレクトシーケンス法によるEGFR遺伝子変異と定量的PCR法によるEGFR遺伝子コピー数の解析を行った。EGFR

遺伝子変異は39例(59%)に認められ、20例がエクソン19の欠失型変異、17例がL858R、2例がG719の点突然変異であった。遺伝子変異のある症例では、奏効率(82%対11%)、PFS(中央値12.6ヶ月対1.7ヶ月)、生存期間(中央値20.4ヶ月対6.9ヶ月)が有意に優れていた。EGFR遺伝子コピー数増加($\geq 3/\text{cell}$)は29例(44%)に認められ、コピー数増加症例では、奏効率(72%対38%)、PFS(中央値9.4ヶ月対2.6ヶ月)が有意に優れていた。コピー数増加は変異症例に多くみられ(56%対26%)、高度増加($\geq 6/\text{cell}$)の13例はすべて変異症例であった。高度増加症例では変異アレルの割合が高く、変異アレルが選択的に増幅していることが示唆された。また、感受性細胞のEGFRはゲフィチニブとの結合能が高かった。

D. 考察, E. 結論

EGFR 遺伝子変異がゲフィチニブ効果を規定する最も重要な因子と考えられるが EGFR 遺伝子コピー数が独立した効果予測因子が遺伝子変異のサロゲートマーカーにすぎないのかについては議論の余地がある。また、EGFR とゲフィチニブの結合能がゲフィチニブ感受性と関連していると思われる。

F. 論文発表

- 1) Sekine I, Saijo N. Cancer Chemotherapy-Overview on the clinical impact of polymorphisms in

- metabolizing enzymes. Encyclopedia of diagnostic genomics and proteomics, 2005; 1: 189-193.
- 2) Ohe Y, Negoro S, Matsui K, Nakagawa K, Sugiura T, Takada Y, Nishiwaki Y, Yokota S, Kawahara M, Saijo N, Fukuoka M. and Ariyoshi Y. Phase I/II study of amrubicin and cisplatin in previously untreated patients with extensive stage small cell lung cancer. *Ann. Oncol.*, 2005; 16: 430-436.
 - 3) Yamamoto N, Tamura T, Murakami H, Shimoyama T, Nokihara H, Ueda Y, Sekine I, Kunitoh H, Ohe Y, Kodama T, Shimizu M, Nishio K, Ishizuka N. and Saijo N. Randomized pharmacokinetic and pharmacodynamic study of docetaxel: Dosing based on body-surface area compared with individualized dosing based on CYP3A4 activity estimated using a urinary metabolite of exogenous cortisol. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23: 1061-1069.
 - 4) Hichiya H, Tanaka-Kagawa T, Soyama A, Jinno H, Koyano S, Katori N, Matsushima E, Uchiyama S, Tokunaga H, Kimura H, Minami N, Katoh M, Sugai K, Goto Y, Tamura T, Yamamoto N, Ohe Y, Kunitoh H, Nokihara H, Yoshida T, Minami H, Saijo N, Ando M, Ozawa S, Saito Y. and Sawada J. Functional characterization of five novel CYP2C8 variants, G171S, R186X, R186G, K247R and K383N, formal in a Japanese population. *Drug Metabol. Disposition*, 2005; 33: 630-636.
 - 5) Saijo N. EGFR-TKI therapy for NSCLC in Asian patients. *Signal*, 2005; 6: 2-3.
 - 6) Horiike A, Saijo N. Small cell lung cancer: Current therapy and novel agents, *Oncology*, 2005; 19: 47-58.
 - 7) Koizumi F, Shimoyama T, Taguchi F, Saijo N. and Nishio K. Establishment of a human non-small cell lung cancer cell line resistant to gefitinib. *Int. J. Cancer*, 2005; 116: 36-44.
 - 8) Koyano S, Saito Y, Sai K, Kurose K, Ozawa S, Nakajima T, Matsumoto K, Saito H, Shirao K, Yoshida T, Minami H, Ohtsu A, Saijo N. and Sawada J. Novel genetic polymorphisms in NR3C1 gene in Japanese population. *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 2005; 20: 79-84.
 - 9) Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Kaniwa N, Ozawa S, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani N. and Sawada J. Genetic polymorphisms of UGT1A6 in a Japanese population, *Drug Metabol. Pharmacol.*, 20: 85-90, 2005.
 - 10) Atagi, S., Kawahara, M., Tamura, T., Noda, K., Watanabe, K., Yokoyama, A., Sugiura, T., Senba, H., Ishikura, S., Ikeda, H., Ishizuka, N. and Saijo, N. Standard thoracic radiotherapy with or without concurrent daily low-dose carboplatin in elderly patients with locally advanced NSCLC, *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 35: 195-201, 2005.
 - 11) Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Sai, K., Hachisuka, A., Kaniwa, N., Ozawa, S., Kawamoto, M., Kamatani, N., Shirao, K., Minami, H., Ohtsu, A., Yoshida, T., Saijo, N., Komamura, K., Kotake, T., Morishita, H., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H. and Sawada, J. Genetic variations and haplotypes of UGT1A4 in a Japanese population, *Drug Metabol. Pharmacokin.*, 20: 144-151, 2005.
 - 12) Saijo, N, Nimura, Y. Summary of the ASCO-JSCO joint symposium, *Int. J. Clin. Oncol.*, 10: 153-156, 2005.
 - 13) Yamazaki, S., Sekine, I., Matsuno, Y., Takei, H., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Tamura, T., Kodama, T., Asamura, H., Tsuchiya, R. and Saijo, N. Clinical responses of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung to cisplatin-based chemotherapy, *Lung Cancer*, 49: 217-223, 2005.
 - 14) Kubota, K., Nishiwaki, Y., Sugiura, T., Noda, K., Mori, K., Kawahara, M., Negoro, S., Watanabe, K., Imamura, F., Tamura, T. and Saijo, N. Pilot study of

- concurrent PE plus accelerated hyperfractionated thoracic radiotherapy followed by irinotecan and cisplatin for LD-SCLC, *Clin. Cancer Res.*, 11: 5534-5538, 2005.
- 15) Saijo N., What phase III trials are needed to improve the treatment of advanced non-small cell lung cancer? *Nature Clinical Practice*, 2: 275, 2005.
- 16) Saijo N., Is radiotherapy optimally combined with chemotherapy in elderly patients with LD-SCLC? *Nature Clin. Practice Oncol.*, 2: 550-551, 2005.
- 17) Nishio, K., Arao, T., Shimoyama, T., Fujiwara, Y., Tamura, T. and Saijo, N. Translational studies for target-based drugs, *Cancer Chemother Pharmacol.*, S7: 90-93, 2005.
- 18) Kiura, K. and Saijo, N. Can dose-dense chemotherapy improve outcome in patients with better-prognosis small-cell lung cancer? *Nat. Clin. Pract. Oncol.*, 2(12): 610-611, 2005.
- 19) Ando, K., Ohmori, T., Inoue, F., Kadofuku, T., Hosaka, T., Ishida, H., Shirai, T., Okuda, K., Hirose, T., Horichi, N., Nishio, K., Saijo, N., Adachi, M., Kuroki, T. Enhancement of sensitivity to tumor necrosis factor alpha in non-small cell lung cancer cells with acquired resistance to gefitinib. *Clin. Cancer Res.*, 11(24 Pt 1): 8872-8879, 2005.
- 20) Niho, S., Kubota, K., Goto, K., Yoh, K., Ohmatsu, H., Kakinuma, R., Saijo, N. and Nishiwaki, Y. First-line single agent treatment with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a phase II study. *J. Clin. Oncol.*, 24(1): 64-69, 2006.
- 21) Saeki, M., Saito, Y., Jinno, H., Sai, K., Ozawa, S., Kurose, K., Kaniwa, N., Komamura, K., Kotake, T., Morishita, H., Kamakura, S., Kitakaze, M., Tomoike, H., Shirao, K., Tamura, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Hamaguchi, T., Yoshida, T., Kubota, K., Ohtsu, A., Muto, M., Minami, H., Saijo, N., Kamatani, N. and Sawada, J. Haplotype structures of the UGT1A gene complex in a Japanese population. *Pharmacogenomics J.*, 6(1): 63-75, 2006.
- 22) Sekine, I., Nishio, K., Tamura, T., Saijo N., et al., A literature review of molecular markers predictive of clinical response to cytotoxic chemotherapy in patients with lung cancer, *Int. Thoratic. Oncol.*, *in press*.
- 23) Sakai, K., Tamura T., Saijo N., Nishio, K. et al., Dimerization and the signal transduction pathway of a small in-frame deletion in the epidermal growth factor receptor, *FASEB J.*, *in press*.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。