

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

乳癌患者における抗体療法の効果・副作用規定因子
の探索に関する総合的研究

平成17年度～19年度 総合研究報告書

主任研究者 藤原 康弘

平成20（2008）年 3月

目 次

I. 総合研究報告

乳癌患者における抗体療法の効果・副作用規定因子の探索
に関する総合的研究

1

藤原康弘

- (資料 1) 本研究の登録及び臨床検体採取の流れ
- (資料 2) 腫瘍検体の流れ
- (資料 3) 末梢血検体の流れ
- (資料 4) 腫瘍検体採取及び採血ポイント
- (資料 5) 化学療法レジメン
- (資料 6) 臨床効果のエンドポイント
- (資料 7) 主な測定項目
- (資料 8) 術前化学療法(N)症例の患者背景
- (資料 9) 進行・再発療法(M)症例の患者背景
- (資料 10) 3人の健常人ボランティアより採取した末梢血単核球 (PBMC) を用いた
ADCCの個人差の検討—MTTアッセイ
- (資料 11) 3人の健常人ボランティアより採取した末梢血単核球 (PBMC) を用いた
ADCCの個人差の検討—Calcein assay
- (資料 12) 解析した遺伝子多型の遺伝子名、染色体番号、SNPS数
- (資料 13) 各遺伝子多型の染色体上のlocus
- (資料 14) 各遺伝多型の検出率
- (資料 15) 各遺伝子多型の比率
- (資料 16) 遺伝子多型解析に用いた、末梢血検体から抽出したDNA濃度
- (資料 17) 術前化学療法(N)症例におけるHER2、抗体受容体(Fc γ R)、フコシルトランスフェラーゼの多型と病理学的寛解(pCR)との関係
- (資料 18) 進行・再発乳癌療法(M)症例におけるHER2、抗体受容体(Fc γ R)、フコシルトランスフェラーゼの多型と有効割合(CR, PR and Long SD)との関係
- (資料 19) α -Lフコシダーゼ (FUCA)活性測定法
- (資料 20) α 1-6フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) 活性測定法
- (資料 21) MALDI-TOF-MSによるトラスツズマブの糖鎖解析—反応図—
- (資料 22) MALDI-TOF-MSによるトラスツズマブの糖鎖解析—アッセイ系—
- (資料 23) FUCA活性と治療効果
- (資料 24) FUT8活性と臨床効果
- (資料 25) 血漿中タンパクのN型糖鎖解析

(資料 2 6) 2534糖鎖と増悪(PD)、無増悪生存期間(PFS)

(資料 2 7) マイクロアレイデータの統計解析事項

(資料 2 8) マイクロアレイ遺伝子発現解析

(資料 2 9) クラスタリング解析

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 65

III. 研究成果の刊行物・別刷 79

乳癌患者における抗体療法の効果・副作用規定因子の探索に関する総合的研究

主任研究者 藤原 康弘 国立がんセンター中央病院 臨床検査部長

研究要旨

抗 HER2 抗体であるトラスツマブは、乳癌治療の中心となる分子標的薬剤であるが、治療効果や副作用を予測するバイオマーカーについては明らかでない。我々は、HER2 過剰発現乳癌患者を対象とした前向き臨床試験で得られる腫瘍組織検体・末梢血液検体を用いて、トラスツマブの効果・副作用規定因子を解析した。抗体受容体 (FcγR) やトラスツマブの糖鎖修飾関連酵素の遺伝子多型解析、HER2 遺伝子多型解析、糖鎖修飾に関連する酵素の血清内活性の定量化、血漿中タンパクの N 型糖鎖の解析、マイクロアレイを用いた約 54,000 個の遺伝子発現解析などを行い、臨床情報との相関性を検討した。FcR の遺伝子多型解析において、FcγRIIIa-158 部位の valine (V)/phenylalanine (F) 多型が V/V の Home 型の方が Hetero 型又は Wild 型と比較して、トラスツマブを含む術前化学療法 (N) 症例における病理学的完全寛解率 (pCR) や、進行・再発乳癌 (M) 症例におけるトラスツマブの奏効率が高い傾向をみとめた。又、M 症例において、血清中フコシダーゼ活性値が高い群は低い群と比較し有意な無増悪期間の延長が得られた。又、血漿中タンパクの N 型糖鎖解析では 35 種類の糖鎖が得られ、2534 糖鎖が高い群では有意にトラスツマブの奏効が高く、又、有意な無増悪期間の延長が得られた。さらに、マイクロアレイによる遺伝子発現解析により、N 症例において pCR と相関する遺伝子発現プロファイル (遺伝子群) を M 症例において奏効と相関する遺伝子発現プロファイルをそれぞれ同定した。

分担研究者

小泉 史明 国立がんセンター研究所
腫瘍ゲノム解析・情報研究部室長
西尾 和人 近畿大学医学部
ゲノム生物学教室 教授
田村 研治 国立がんセンター中央病院
第一領域外来部 通院治療センター医長
関島 勝 (株)三菱化学安全科学研究所
鹿島研究所 先端技術研究部長
青儀健二郎 独立行政法人国立病院機構
四国がんセンター 乳腺科医長
木下 貴之 国立がんセンター中央病院
第一領域外来部 乳腺科医長
清水千佳子 国立がんセンター中央病院
第一領域外来部 乳腺科医員

A. 研究目的

日本人女性における乳がんの罹患率は人口10万あたり50人を超え、各がん種と比較して1位である。又、がん主要部位別・年次別・性別・年齢調整死亡率においても、乳がんは女性の4位である。大腸がん、肺がんと共に、その増加傾向は顕著であり、その治療成績の向上は今後10年間における我が国のがん治療の重点的な課題の一つと言える。

トラスツマブは抗HER2ヒト化モノクローナル抗体であり、HER2タンパク過剰発現またはHER2遺伝子増幅のある転移性乳癌において、単剤投与による腫瘍縮小と、アントラサイクリンまたはタキサンとの併用により有意に生存期間を延長することが報告されている。また、術後化学療法においても、従来の化学療法（アントラサイクリンを含むレジメンまたはそれにタキサンを追加したレジメン）にトラスツマブを追加することにより、有意に無病再発期間を延長することが報告されている。よって、トラスツマブは、乳がんに対する抗悪性分子標的薬剤の中心的な位置づけとなっているといえる。

一方、トラスツマブ投与の適応基準とされるHER2遺伝子の過剰発現は、免疫組織染色Fluorescence in-situ hybridization (FISH) 法などにより測定されるが、たとえHER2遺伝子が過剰発現していても、その治療効果や副作用には個人差が大きい。実際、術後化学療法におけるトラスツマブの有効性を示した比較第III相試験 (NSABP B-31, NCCTG N9831, HERA) のサブセット解析でも、必ずしも、HER2遺伝子が過剰発現をみとめない症例もトラスツマブの追加効果が得られたとの報告もある。今後、トラスツマブ療法の治療成績の向上、個別化治療の発

展のためには、治療効果や副作用を予測するバイオマーカーの同定が必要である。又、個別化治療の発展は医療費の節減にもつながると考えられる。

トラスツズマブの効果は、抗体依存性細胞障害能 (ADCC) の影響に強く作用されるとの報告がある。ADCC活性に影響を与えるものとしてはさまざまなものがあるが、宿主側因子である、患者の抗体受容体部分 (Fc γ R) の状況や、トラスツズマブの糖鎖修飾が関連しているとの報告がある。又、腫瘍検体や末梢血単核球検体を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析は、すでに乳がん領域で試されている手法であり、その有用性が検証されつつある。しかしながら、トラスツズマブにより臨床効果や副作用に焦点を絞った解析の報告はない。

本研究では、乳がんの術前化学療法と進行・再発乳がんの2つのセッティングにおいて、トラスツズマブを用いた治療の前向き臨床試験を実施した。トラスツズマブ投与を受ける患者より得た臨床検体 (腫瘍組織または血液検体) を用いて、抗体受容体 (FcR) やトラスツズマブの糖鎖修飾関連酵素 (フコシルトランスフェラーゼ) の遺伝子多型解析、HER2遺伝子多型解析、糖鎖修飾に関連する酵素 (フコシダーゼやフコシルトランスフェラーゼ) 活性の血清内活性の定量化、血漿中タンパクのN型糖鎖の解析、マイクロアレイを用いた約54,000個の遺伝子発現解析などを行った。これらと臨床効果との関連性を評価し、トラスツズマブの効果規定因子の探索を行った。

B. 研究方法

本研究は大きく2つの要素に分けられる。1つめは、抗体依存性細胞障害能 (ADCC) に関する前臨床研究と、臨床検体を用いた新規アッセイ系の確立である。2つめは、乳がんに対するトラスツズマブ療法の前向き臨床試験の実施と、臨床検体及び確立されたアッセイ系を用いたトラスツズマブの効果予測するバイオマーカーの同定である。

1. ADCC測定系 (乳がん細胞株) の確立、及び、臨床検体を用いた新規アッセイ系の確立

1-1. ADCC測定系の確立

ADCC活性評価にはクロムリリース法が一般的であるが、放射性物資を用いる煩雑性とスループットが問題である。我々は、ADCC 評価結果がクロムリリース法と相関することがすでに報告

されている、より簡便なMTT法、及び試験時間が短いCalcein リリース法を用いて、ADCC活性を評価した。また活性測定に複数の乳がん細胞株を用いて、臨床応用可能な適切な評価系の確立を試みた。

1-2. α -Lフコシダーゼ (FUCA) および α 1-6フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) の血清内活性

(1) FUCA 活性測定

糖鎖中のフコシド結合を加水分解しフコースを遊離する酵素である α -Lフコシダーゼ (FUCA) 活性の測定は、4-nitrophenyl- α -L-fucopyranosideを用いて、酵素反応 (資料19) の結果生ずる4-nitrophenolの吸光度 (405nm) を分光光度計で測定することにより行った。

(2) FUT8 活性測定

糖残基にフコースを転移する糖転移酵素である α 1-6フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) の活性測定は、蛍光基質を用いて酵素反応の結果生ずる生成物を逆層高速液体クロマトグラフィーにて分離し、定量することにより測定した (資料20)。

1-3. 血漿中タンパクのN型糖鎖の解析

トラスツズマブの抗腫瘍効果に関連する血漿中タンパクのN型糖鎖を解析するために、MALDI-TOF-MSによる糖鎖解析システムの構築及び最適化の検討を行った。

1-4. 乳がん生検検体、末梢血単核球を用いたマイクロアレイ遺伝子発現解析

生検検体は採取後直ちにISOGEN中に浸し、約20分室温で放置後に、Quiagen社のTissue Lyserを用いて5分間、20 (1/S)にて組織を破碎後-80度で保存した。末梢血単核球は、血液採取後30~1時間ほど室温で穏やかに攪拌後、QP社のLSM \circ を用いて、末梢血分核球分画を分離後ISOGENに浸し、ピペッティングにより攪拌後、-80 \circ Cに保存した。抽出されたRNAはすべてAgilent 2100 バイオアナライザーを用いて品質をチェックした。品質確認後、Two-Cycle cDNA Synthesisを用いて、RNAを増幅、cDNA、cRNAを得る。cRNAを蛍光標識しこれをプローブとして、Affymetrix gene Chip U133 plus 2.0とのハイブリダイゼーションを行った。蛍光強度を可視化し、各遺伝子の発現を数値化することにより遺伝子発現プロファイルの解析が可能であった。乳がん生検検体及び末梢血単核球を用いた検討により、細胞株と同様の再現性の高い解析が可能であった。

2. 乳がんに対するトラスツズマブ療法の前向き臨床試験の実施

2-1. 対象

- (1) トラスツズマブ単独療法を受ける再発・進行乳癌患者 (M 症例)
- (2) 術前化学療法併用療法 (5FU/エピルビシン/シクロフォスファミド投与後、パクリタキセル/トラスツズマブ投与など) および術前化学療法単独 (5FU/エピルビシン/シクロフォスファミド投与後、パクリタキセル投与) を受ける乳癌患者 (N 症例) (資料 5)

2-2. 検体の採取

①腫瘍組織

M症例患者において生検を行った場合、当研究内容を説明し同意が得られれば、生検組織の一部を本研究目的に保存する。術前化学療法併用療法を予定されている患者については、腫瘍内科医により当研究内容を説明後、同意を得られた患者について、治療前に本研究目的の core needle biopsy (CNB) 標本を2本採取する (資料1-4)。

②末梢血液

当研究内容を説明後、同意を得られた患者のうち、トラスツズマブ投与予定患者から治療前およびトラスツズマブ投与1、8週間後に、血液それぞれ15ml、7ml、7ml採取する。術前化学療法のトラスツズマブ非投与患者においても、治療前およびパクリタキセル/トラスツズマブ投与1、8週間後に、血液それぞれ15ml、7ml、7ml採取する (資料1-4)。

2-3. 予定研究期間および症例数

予定研究期間: 2005年8月1日より2008年3月31日

予定症例数:

- ① トラスツズマブ単独療法を受ける再発・進行乳癌患者: 目標40例
- ② 術前化学療法併用療法 (5FU/エピルビシン/シクロフォスファミド投与後、パクリタキセル+/-トラスツズマブ投与) : 目標各40例

3. バイオマーカーと臨床情報との関連解析

以下に挙げるバイオマーカーの情報と、トラスツズマブの臨床効果 (奏効、無増悪生存期間、生存期間など) との相関性を検証した (資料6-7)。

3-1. HER2、Fc γ R、FUT8の遺伝子多型

予めインフォームド・コンセントにより、遺伝子解析の同意を得た患者から採血された乳癌患者の末梢血検体は、国立がんセンターで匿名化符号番号が割り当てられ、測定開始まで保管管理された。単塩基遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism; SNPs) 測定解析は、国立がんセンターの遺伝子解析研究倫理審査委員会及び三菱化学安全科学研究所遺伝子解析倫理審査委員会の承認 (2007年度) を経た後、国立がんセンター中央病院計画治療病支援施設より検体のID番号と検体が三菱化学安全科学研究所鹿島研究所に送付され、鹿島研究所内で更に MSI-ID が付与された。鹿島研究所内での検体とデータ管理は MSI-ID によって行われた。日本人の標準ゲノムとの比較するため、国際 HapMap で使用したアジア人 12 人 (漢民族 3 名, 日本人 9 名) の標準 gDNA を同時に測定解析した (資料 14, 16)。

SNPs の測定は、抗体 Fc 部分に対する受容体遺伝子 Fc γ RI、Fc γ RII、Fc γ RIII と Fc γ R の糖鎖修飾に関わる フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) および標的分子の HER2 について、イントロン、エクソン領域について illumina 社製 GOLDEGATE GENOTYPING により 384 SNPs をカスタムデザインした (資料 12-13)。

エクソン領域でデザインされた SNPs は 67 ヶ所である (資料 12)。各末梢血 (血餅) サンプルから DNA を抽出した。GOLDEGATE GENOTYPING には、gDNA 250ng を用いたが、250ng に満たない場合は、Whole-Genome Amplification (WGA) 法にて、全 gDNA を増幅した (資料 16)。gDNA は illumina-GOLDEGATE GENOTYPING Assay マニュアルに従い、ビーズアレイにてハイブリダイゼーションし BeadArray Reader にて各 SNPs のコール値を解析した。デザインした SNPs の発現頻度のクラスター解析は、乳癌患者 42 症例と標準ゲノム 12 例を合わせた 54 例について実施した。

3-2. FUCA および FUT8 の血清内活性
血漿中タンパクの N 型糖鎖の解析 (1-2, 1-3 参照)

3-3. 約 54,000 個の遺伝子発現解析 (1-4 参照)

(倫理面への配慮)

国立がんセンター、四国がんセンターの各々の倫理委員会及び遺伝子倫理委員会の承認を得て実施した。臨床検体は臨床試験実施施設内で厳重な匿名化ののち、国立がんセンター、三菱化学安全化学研究所で解析した。

C. 研究結果

1. 測定系の確立

1-1. ADCC測定系の確立

3人の健常人ボランティアより採取した末梢血単核球 (PBMC) を用いて、ADCCの個人差を検討した (小泉ら)

<MTT法>

HER2が過剰発現している乳癌細胞株MCF-7およびBT474を用いて、E/T比 (エフェクター細胞/腫瘍細胞比) 10のPBMC存在下に0-5ug/mlのハーセプチンを投与し、72時間後のMTTアッセイを行った。3被験者間でADCCに差が認められ、さらにその個人差は日を変えて同被験者で行った再実験においても再現された。(資料10)

<Calcein assay>

MCF-7を用いてCalcein-AM(BD bioscience)にて染色し、E/T比10のPBMC存在下に5ug/mlのハーセプチンを投与した。4時間培養後に上清中のCalcein遊離を蛍光測定した。MTT法と同様の個人差が認められた。(資料11)

今回の検討で、方法、施行日の違いに関係なく、ADCC活性は同様の個人差を確認することができた。使用する細胞株は、MCF-7においてより顕著に活性の差を検出でき、またCalcein assayが、短時間で結果を得られることより、ADCC活性の評価系として、MCF-7細胞を用いたCalcein assayが適していると考えられた。

1-2. HER2、Fc γ R、FUT8 の遺伝子多型解析

(関島ら)

デザインした384SNPsのうち、全測定検体でSNPsコールが得られなかった3SNPs (FCGR2C, intron5, 159829689; ERBB2, intron3, 35109644 exon23, 35134523) を除く381SNPsのコールレート平均値は、癌患者99.8%、標準ゲノム99.7%、全測定検体99.8%であった (資料14)。対象遺伝子のエクソン領域のSNPsタイピングでは、Fc γ 遺伝子44SNPsアレルのMajor home, Hetero, Minor Homoの出現比率の平均値は55:26:19であった。FUT8遺伝子6SNPsアレルでは、82:12:6.5、Her2 (ERBB2) 遺伝子17SNPsアレルでは、98:1:1であった。CD20に対するキメラモノクローナル抗体であるリツキシマブの腫瘍効果規定因子の解析で報告されているFc γ 遺伝子上のSNPsのFCG3Aのexon4のPhe (F) と Val (V) の出現比率 (F/F:F/V:V/V) が6:50:44であった (資料15)。また、Her2 (ERBB2) のチロシンキナーゼ活性ドメインに局在するHer2のexon20のIle (I) と Val (V) の出

現比率 (I/I:I/V:V/V) は78:20:2であった。一方、Fc γ Rの糖鎖修飾に関わるFT遺伝子ではexon11の3' 末非翻訳領域でSNPsによる多型が認められたが、殆どがMajor homeで一部Hetero型であった。

1-3. α -Lフコシダーゼ (FUCA) および α 1-6フコシルトランスフェラーゼ (FUT8) の血清内活性

(1) FUCA 活性測定 (西尾ら)

酵素反応時間は3時間、使用血漿量は90 μ Lで再現性のある結果が得られた。

(2) FUT8 活性測定 (西尾ら)

酵素反応時間は6時間、使用血漿量は23 μ Lで再現性のある結果が得られた。

1-4. 血漿中タンパクのN型糖鎖の解析

血漿 (27 μ L) をトリプシン、N-グリコシダーゼ F と反応させることにより、蛋白より修飾糖鎖を遊離させ、ビーズを用いて選択的に補足、ラベル化を行った (資料21) (西尾ら)。その後、ビーズに補足された糖鎖を精製、分離し、質量分析 (MALDI-TOF-MS) で解析した (資料22)。得られたシグナルは、内部標準と比較することにより定量化が可能であった。又、質量分析で得られた結果をデータベース (GlycoSuite on-line database, Proteome Systems) を用いることにより糖鎖の構造式を決定が可能であった。

1-5. 乳がん生検検体、末梢血単核球を用いたマイクロアレイ遺伝子発現解析

(小泉、田村ら)。

術前化学療法 (N) 症例では、目標症例数である40例が登録され、適格症例35例すべての検体の収集が終了し、乳がん生検組織34検体 (1検体はRNA品質不良のため、マイクロアレイ施行せず)、末梢血単核球検体103検体のマイクロアレイ解析が終了した。転移・再発乳癌 (M) 症例では登録30例中、26例 (78検体) のマイクロアレイ解析が終了した。マイクロアレイの結果は、付属のGCOSにより数値化し、統計解析に供与された。

RNA検体はすべて、Agilent 2100 バイオアナライザーにより品質をチェックした。末梢血単核球分画から抽出されたRNAは181検体すべてにおいて28s/18s比が1以上であり、170検体は1.5以上であった (94%)。一方、乳がん生検組織から抽出されたRNAは、34検体中10検体 (29%) が28s/18s比が1.0未満であり、一部低い質のRNAが混在することが確認された。

2. 臨床サンプルの収集と臨床試験の実施

国立がんセンター中央病院乳腺グループおよび国立病院機構四国がんセンターの二施設による臨床研究として計画され、平成17年9月22日に国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。

検体の管理、運搬などのシステムを構築し、平成17年12月1日より症例登録を開始した。平成20年3月11日までに国立がんセンター中央病院および国立病院機構四国がんセンターより術前化学療法例40例、進行・再発乳癌症例30例が登録された（うち四国登録例は進行・再発乳癌症例11例）（藤原、木下、清水、田村、青儀ら）。

術前化学療法を予定して登録された40例中4例は、病理診断により術前化学療法の適応が不適切と判明し、プロトコール治療を行わなかった。術前化学療法を実施した36例中、17例はHER2陽性でトラスツズマブを併用し、19例は併用しなかった（資料8）。プロトコール治療を実施した36例中8例（22%）に病理学的完全寛解を認めた。進行・再発乳癌症例においては、トラスツズマブ単剤での最大奏効を確認できた22例中1例のCR、2例のPR、6例のLong SDを認めた（資料9）。

3. バイオマーカーと臨床情報との関連解析

3-1. HER2、Fc γ R、FUT8 の遺伝子多型

（田村、小泉、清水ら）

Fc γ RIIIa-158 valine (V)/phenylalanine (F) の多型の出現比率は(F/F:F/V:V/V)が 6:50:44 であった。N 症例で pCR が得られた症例における V/V 型が 75%であるのに対し、pCR が得られなかった症例の V/V 型は 29%であった（資料 17）。又、V/V 型の 60%に pCR が得られるのに対して、V/F 型の 17%にしか pCR は得られない。

又、M 症例有効割合の V/V 型が 75%であるのに対し、非有効割合の V/V 型は 30%であった (P=0.0578)。又、V/V 型の有効 (CR, PR and Long SD) が得られるのに対して、V/F 型の 17%にしか有効は得られない（資料 18）。

3-2. FUCA 活性・測定FUT8 活性測定

（西尾ら）

血清中のFUCA活性およびFUT8活性をM症例24例で測定した。酵素活性値と臨床情報との相関を検討したが、血清中のFUCA活性値およびFUT8活性値と奏効との相関は認められなかった（資料23, 24）。一方、FUCA活性値が高い群は低い群と比較し有意な無増悪生存期間の延長をみとめた（資料23）。血清中のFUT8活性値と無増悪生存

期間との相関は認めなかった（資料24）。

3-3. 血漿中タンパクのN型糖鎖解析（西尾ら）

糖鎖解析の結果35種類の糖鎖が得られた（資料25）。2534糖鎖はトラスツズマブ単独療法非奏効例 (PD群) で 4.33 ± 8.13 、non-PD群で 16.07 ± 11.60 であり、PD群において有意に低い結果が得られた（資料26）。さらに2534糖鎖においては無増悪期間においても有意差が認められ、2534糖鎖が高い群 (High group) は低い群 (Low group) と比較し無増悪期間の有意な延長が認められた（資料26）。

3-4. マイクロアレイによる遺伝子発現解析（田村、小泉、清水ら）

マイクロアレイデータの統計解析事項を決定した（資料27）。

クラスター解析により、N症例ではpCRが得られた症例とそれ以外、M症例では奏効が得られた症例とそれ以外で遺伝子群を分離できた（資料29）。N症例においては、pCRと相関する遺伝子発現プロファイリングを検討した。トラスツズマブ投与群のみの検討、トラスツズマブ投与群+トラスツズマブ非投与群の検討を行った。トラスツズマブ投与群のみの検討では、相関係数の高い6, 2, 16, 8個の遺伝子群を同定した（資料28）。

又、M症例においては、CR, PR, long SDと相関する遺伝子発現プロファイリングを検討した。トラスツズマブ投与前、及び投与1週間後の血液検体から共通してCR+PR+longSDと相関係数が高い遺伝子群としては、13, 4, 5, 14, 8個の遺伝子群を同定した（資料28）。

D. 考察

本研究の成果は大きく2つの要素に分けられる。1つめは、新規アッセイ系の確立である。

ADCC活性の個人差について現在まで報告は少ない我々の検討では、ADCCの個人差は、再現性を持って存在することが示唆され、又、ADCC活性の測定系を確立した。今後は、臨床応用のためのさらなる簡素化のため、白血球分画を用いたreal-time PCRの系で、サロゲートマーカーを探索する予定である。

最近の報告では、ADCCには抗体薬の糖鎖修飾が重要であるとされる。糖鎖修飾酵素であるフコシダーゼ、およびフコシルトランスフェラーゼの血清内活性の定量化や、血漿中タンパクのN型糖鎖の定量化の確立は、トラスツズマブのみならず、他の抗体薬のバイオマーカー研究にも

貢献する。又、臨床検体を用いたマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現プロファイル解析は、国内の乳がん領域での報告は希少であり、特に末梢血液を用いた質が高く再現性のある方法の確立は貴重な研究成果と言える。

2つめは、トラスツズマブの臨床効果を予測する複数のバイオマーカーの同定である。抗体受容体部分 (Fc γ RIIIa-158) の多型は、セツキシマブなどでも報告のある部位であり信憑性が高い。又、血清中のフコシダーゼ活性値が高い群は低い群と比較し有意な無増悪生存期間の延長をみとめた、さらに、血漿中タンパクの特定の糖鎖(2534糖鎖)は、中間的な解析ではあるが、トラスツズマブの奏効のみならず無増悪生存期間とも有意に相関をみとめた。マイクロアレイ解析においても、奏効を予想するいくつかの遺伝子プロファイル候補を同定した。これらはいずれも、末梢血からの検体からの解析が可能であり、臨床導入されたときの患者への侵襲が少ない。

今後、進行・再発乳がん(M)症例に関しては症例登録を完遂させる。全体の最終解析については、必要な観察期間の後予後解析を含めて行う予定である。今回得られた、複数のバイオマーカーについては、前向き臨床試験において検証する(Validation)ことを計画する。これらは、トラスツズマブの個別化治療に直結し、当該患者における治療成績の向上、高価な抗体治療の医療費の節減につながる。

E. 結論

HER2過剰発現乳癌患者を対象とした前向き臨床試験から得られた臨床検体を用いて、以下のトラスツズマブの効果予測因子の候補を同定した。

1) 血清内フコシダーゼ活性 2) 血漿中タンパクのN型糖鎖 (2534糖鎖) 3) 抗体受容体(FcR):Fc γ RIIIa-158遺伝子多型 4) マイクロアレイによる特定に遺伝子発現プロファイル

必要な観察期間の後、予後解析を含めた最終解析を行いこれらのバイオマーカーに対する妥当性評価を行う。又、新たな前向き臨床試験において検証する(Validation)。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Shien T, Kinoshita T, et al. Usefulness of preoperative multidetector-row computed tomography in evaluation the extent of invasive lobular carcinoma in patients with or without neoadjuvant chemotherapy. Breast Cancer. (in press)
- Shien T, Kinoshita T, et al. Evaluation of axillary status in patients with breast cancer using thin-section CT. Int JCO. (in press)
- Shimizu C, Fujiwara Y. Personalized systemic treatment for breast cancer patients: is it a reality? Breast Cancer. [Epub ahead of print] 2008
- Shien T, Shimizu C, Seki K, Shibata T, Hojo T, Ando M, Kohno T, Katsumata N, Akashi-Tanaka S, Kinoshita T, Fujiwara Y. Comparison among different classification systems regarding the pathological response of preoperative chemotherapy in relation to the long-term outcome. Breast Cancer Res Treat. [Epub ahead of print] 2008
- Mukai H, Watanabe T, Ando M, Shimizu C, Katsumata N. Assessment of different criteria for the pathological complete response (pCR) to primary chemotherapy in breast cancer: standardization is needed. Breast Cancer Res Treat. [Epub ahead of print] 2008
- Nishio S, Katsumata N, Matsumoto K, Tanabe H, Yonemori K, Kohno T, Shimizu C, Ando M, Kasamatsu T, Fujiwara Y. Analysis of the clinicopathological prognosis of stage IVb cervical carcinoma. Oncol Rep. 19(2): 497-503, 2008
- Yonemori K, Yamaguchi U, Kaneko M, Uno H, Takeuchi M, Ando M, Fujiwara Y, Hosono A, Makimoto A, Hasegawa T, Yokoyama R, Nakatani F, Kawai A, Beppu Y, Chuman H. Prediction of response and prognostic factors for Ewing family of tumors in a low incidence population. J Cancer Res Clin Oncol. 134(3): 389-395, 2008
- Shien T, Shimizu C, Akashi-Tanaka S, Yonemori K, Kohno T, Hojo T, Ando M, Katsumata N, Kinoshita T, Fujiwara Y. Clinically efficacy of S-1 in pretreated metastatic breast cancer patients. Jpn J Clin Oncol. 38(3): 172-175, 2008
- Nakajima TE, Yasunaga M, Kano Y, Koizumi F, Kato K, Hamaguchi T, Yamada Y, Shirao K, Shimada Y, Matsumura Y. Synergistic antitumor activity of the novel SN-38-incorporating polymeric micelles, NK012,

- combined with 5-fluorouracil in a mouse model of colorectal cancer, as compared with that of irinotecan plus 5-fluorouracil. *Int J Cancer*. 122(9): 2148-2153, 2008
10. Yoshida T, Okamoto I, Okabe T, Iwasa T, Satoh T, Nishio K, Fukuoka M, Nakagawa K. Matuzumab and cetuximab activate the epidermal growth factor receptor but fail to trigger downstream signaling by Akt or Erk. *Int J Cancer*. 122(7): 1530-1538, 2008
 11. Okabe T, Okamoto I, Tsukioka S, Uchida J, Iwasa T, Yoshida T, Hatashita E, Yamada Y, Satoh T, Tamura K, Fukuoka M, Nakagawa K. Synergistic antitumor effect of S-1 and the epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib in non-small cell lung cancer cell lines: role of gefitinib-induced down-regulation of thymidylate synthase. *Mol Cancer Ther*. 7(3): 599-606, 2008
 12. Tamura K, Okamoto I, Kashii T, Negoro S, Hirashima T, Kudoh S, Ichinose Y, Ebi N, Shibata K, Nishimura T, Katakami N, Sawa T, Shimizu E, Fukuoka J, Satoh T, Fukuoka M. Multicenter prospective phase II trial of gefitinib for advanced non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutations: Results of the West Japan Thoracic Oncology Group trial (WJTOG0403). *Br J Cancer*. 98(5): 907-914, 2008
 13. Nakayama T, Hieshima K, Arao T, Jin Z, Nagakubo D, Shirakawa A-K, Yamada Y, Fujii M, Oiso N, Kawada A, Nishio K, Yoshie O. Aberrant expression of Fra-2 promotes CCR4 expression and cell proliferation in adult T-cell leukemia. *Oncogene*. [Epub ahead of print] 2007
 14. Yonemori K, Tateishi U, Uno H, Yonemori Y, Tsuta K, Takeuchi M, Mastuno Y, Fujiwara Y, Asamura H, Kusumoto M. Development and validation of diagnostic prediction model for solitary pulmonary nodules. *Respirology*. 12(6): 856-862, 2007
 15. Yonemori K, Kunitoh H, Tsuta K, Tamura T, Arai Y, Shimada Y, Fujiwara Y, Sasajima Y, Asamura H, Tamura T. Prognostic factors for malignant pericardial effusion treated by pericardial drainage in solid-malignancy patients. *Med Oncol*. 24(4): 425-430, 2007
 16. Ito Y, Fujiwara Y, Ohashi Y. The Q-Q plot of p-values for predicting outcomes with the gene expression data. *Jpn J Biometrics*. 28:(1) 37-46, 2007
 17. Kouno T, Ando M, Yonemori K, Matsumoto K, Shimizu C, Katsumata N, Komiyama M, Okajima E, Matsuoka N, Fujimoto H, Fujiwara Y. Weekly paclitaxel and carboplatin against advanced urotelial carcinoma after failure of a platinum-based regimen. *Eur Urol*. 52(4): 1115-1122, 2007
 18. Akashi-Tanaka S, Omatsu M, Shimizu C, Ando M, Terada K, Shien T, Kinoshita T, Fujiwara Y, Seki K, Hasegawa T, Fukutomi T. Favorable outcome in patients with breast cancer in the presence of pathological response after neoadjuvant endocrine therapy. *The Breast*. 16(5): 482-488, 2007
 19. Shimizu C, Ando M, Kouno T, Katsumata N, Fujiwara Y. Current trends and controversies over pre-operative chemotherapy for women with operable breast cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 37(1): 1-8, 2007
 20. Yonemori K, Katsumata N, Kaneko M, Uno H, Matsumoto K, Kouno T, Shimizu C, Ando M, Takeuchi M, Fujiwara Y. Prediction of response to repeat utilization of anthracycline in recurrent breast cancer patients previously administered anthracycline-containing chemotherapeutic regimens as neoadjuvant or adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 103(3): 313-318, 2007
 21. Kimura H, Suminoe M, Kasahara K, Sone T, Araya T, Tamori S, Koizumi F, Nishio K, Miyamoto K, Fujimura M, Nakao S. Evaluation of epidermal growth factor receptor mutation status in serum DNA as a predictor of response to gefitinib (IRESSA). *Br J Cancer*. 97(6): 778-784, 2007
 22. Ohashi R, Takahashi F, Cui R, Yoshioka M, Gu T, Sasaki S, Tominaga S, Nishio K, Tanabe K, Takahashi K. Interaction

- between CD44 and hyaluronate induces chemoresistance in non-small cell lung cancer cell. *Cancer Lett.* 252(2): 225-234, 2007
23. Sone T, Kasahara K, Kimura H, Nishio K, Mizuguchi M, Nakatsumi Y, Shibata K, Waseda Y, Fujimura M, Nakao S. Comparative analysis of epithelial growth factor receptor mutations and gene amplification as predictors of gefitinib efficacy in Japanese patients with non-small-cell lung cancer. *Cancer.* 109(9): 1836-1844, 2007
 24. Basaki Y, Hosoi F, Oda Y, Fotovati A, Maruyama Y, Oie S, Ono M, Izuimi H, Kohno K, Sakai K, Shimoyama T, Nishio K, Kuwano M. Akt-dependent nuclear localization of malignant characteristics by ovarian cancer cells. *Oncogene.* 26(19): 2736-2746, 2007
 25. Maegawa M, Takeuchi K, Funakoshi E, Kawasaki K, Nishio K, Shimizu N, Ito F. Growth stimulation of non-small cell lung cancer cell lines by antibody against epidermal growth factor receptor promoting formation of ErbB2/ErbB3 heterodimers. *Mol Cancer Res.* 5(4): 393-401, 2007
 26. Sekine I, Minna JD, Nishio K, Tamura T, Saijo N. Genes regulating sensitivity of solid tumor cell lines to cytotoxic agents: a literature review. *Jpn J Clin Oncol.* 37(5): 329-336, 2007
 27. Takeda M, Arao T, Yokote H, Komatsu T, Yanagihara K, Sasaki H, Yamada Y, Tamura T, Fukuoka K, Kimura H, Saijo N, Nishio K. AZD2171 shows potent antitumor activity against gastric cancer over-expressing FGFR2/KGFR. *Clin. Cancer Res.* 13(10): 3051-3057, 2007
 28. Horiike A, Kimura H, Nishio K, Ohyanagi F, Satoh Y, Okumura S, Ishikawa Y, Nakagawa K, Horai T, Nishio M. Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer. *Chest.* 131(6): 1628-1634, 2007
 29. Igarashi Y, Izumi H, Uchiyumi T, Nishio K, Arao T, Tanabe M, Uramoto H, Sugio K, Yasumoto K, Sasaguri Y, Wang KY, Otsuji Y, Kohno K. Clock and ATF4 transcription system regulates drug resistance in human cancer cell lines. *Oncogene.* 26(33): 4749-4760, 2007
 30. Oda Y, Ohishi Y, Basaki Y, Koabayashi H, Hirakawa T, Wake N, Ono M, Nishio K, Kuwano M, Tsuneyoshi M. Prognostic implication of the nuclear localization of Y-box-binding protein-1 and CXCR4 expression in ovarian cancer: Their correlation with activated Akt, LRP/MVP and P-glycoprotein expression. *Cancer Sci.* 98(7): 1020-1026, 2007
 31. Wakasugi T, Izumi H, Uchiyumi T, Suzuki H, Arao T, Nishio K, Kohno K. ZNF143 interacts with p73 and is involved in cisplatin resistance. *Oncogene.* 26(36): 5194-5203, 2007
 32. Kimura H, Sakai K, Arao T, Shimoyama T, Tamura T, Nishio K. Antibody-dependent cellular cytotoxicity of cetuximab against tumor cells with wild-type of mutant epidermal growth factor receptor. *Cancer Sci.* 98(8): 1275-1280, 2007
 33. Marko-Varga G, Ogiwara A, Nishimura T, Kawamura T, Fujii K, Kawakami T, Kyono Y, Tu H, Anyoji H, Kanazawa M, Akimoto S, Hirano T, Tsuboi M, Nishio K, Hada S, Jiang H, Fukuoka M, Nakata K, Nishiwaki Y, Kunito H, Peers IS, Harbron CG, South MC, Higenbottam T, Nyberg F, Kudoh S, Kato H. Personalized medicine and proteomics-lessons from non-small lung cancer. *J Proteome Res.* 6(8): 2925-2935, 2007
 34. Cui R, Takahashi F, Ohashi R, Gu T, Yoshioka M, Nishio K, Ohe Y, Tominaga S, Takagi Y, Sasaki S, Fukuchi Y, Takahashi K. Abrogation of the interaction between osteopontin and $\alpha v \beta 3$ integrin reduces tumor growth of human lung cancer cells in mice. *Lung Cancer.* 57(3): 302-310, 2007
 35. Sakai K, Yokote H, Murakami-Murofushi K, Tamura T, Saijo N, Nishio K. Pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, inhibits the growth of human lung cancer cells mediated by the HER3 signaling pathway. *Cancer Sci.* 98(9): 1498-1503, 2007
 36. Morinaga R, Okamoto I, Furuta K, Kawano Y,

- Sekijima M, Dote K, Stou T, Nishio K, Fukuoka M, Nakagawa K. Sequential occurrence of non-small cell and small cell lung cancer with the same EGFR mutation. *Lung Cancer*. 58(3): 411-413, 2007
37. Tsuya A, Kurata T, Tamura K, Fukuoka M. Skeletal metastases in non-small cell lung cancer: a retrospective study. *Lung Cancer*. 57(2): 229-232, 2007
38. Akashi Y, Okamoto I, Suzuki M, Tamura K, Iwasa T, Hisada S, Satoh T, Nakagawa K, Ono K, Fukuoka M. The novel microtubule-interfering agent TZT-1027 enhances the anticancer effect of radiation *in vitro* and *in vivo*. *Br J Cancer*. 96(10): 1532-1539, 2007
39. Shimizu T, Satoh T, Tamura K, Ozaki T, Okamoto I, Fukuoka M, Nakagawa K. Oxaliplatin/fluorouracil/leucovorin (FOLFOX4 and modified FOLFOX6) in patients with refractory or advanced colorectal cancer: post-approval Japanese population experience. *Int J Clin Oncol*. 12(3): 218-223, 2007
40. Ozaki T, Tamura K, Satoh T, Kurata T, Shimizu T, Miyazaki M, Okamoto I, Nakagawa K, Fukuoka M. Phase I study of combination therapy with S-1 and weekly docetaxel for advanced gastric cancer. *Anticancer Res*. 27(4C): 2657-2665, 2007
41. Tamura K, Nakagawa K, Kurata T, Satoh T, Nogami T, Takeda K, Mitsuoka S, Yoshimura N, Kudoh S, Negoro S, Fukuoka M. Phase I study of TZT-1027, a novel synthetic dolastatin 10 derivative and inhibitor of tubulin polymerization, administered weekly in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 60(2): 285-293, 2007
42. Kurata T, Okamoto I, Tamura K, Fukuoka M. Amurubicin for non-small-cell lung cancer and small-cell lung cancer. *Invest New Drugs*. 25(5): 499-504, 2007
43. Saeki T, Nomizu T, Toi M, Ito Y, Noguchi S, Kobayashi T, Asaga T, Minami H, Yamamoto N, Aogi K, Ikeda T, Ohashi Y, Sato W, Tsuruo T. Dofequidar fumarate (MS-209) in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, and fluorouracil for patients with advanced or recurrent breast cancer. *J Clin Oncol*. 25(4): 411-417, 2007
44. Kinoshita T. Sentinel lymph node biopsy is feasible for breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer*. 14(1): 10-15, 2007
45. Kurebayashi J, Moriya T, Ishida T, Hirakawa H, Kurosumi M, Akiyama F, Kinoshita T, Takei H, Takahashi K, Ikeda M, Nakashima K. The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races. *Breast*. 16(Suppl 2): S72-S77, 2007
46. Tsukamoto S, Akashi-Tanaka S, Shien T, Terada K, Kinoshita T. Brain metastases after achieving local pathological complete responses with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer*. 14(4): 420-424, 2007

2. 学会発表

国際

1. Nakajima T, Matsumura Y, Yasunaga M, Koizumi F, Kato K, Hamaguchi T, Yamada Y, Shirao K, Shimada Y. Synergistic antitumor activity of novel polymeric micelles incorporating SN-38(NK012) combined with 5FU in colon cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
2. Yamamoto Y, Koizumi F, Ochiya T. MicroRNA involvement in liver development and hepatocarcinoma. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
3. Kawaishi M, Yokote H, Fukai J, Fukui T, Kato T, Nishio K, Koizumi F. The regulation of STAT activity by ErbB family members. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
4. Fukai J, Kodaera Y, Fukui T, Kawaishi M, Kato T, Taguchi F, Yokote H, Nishio K, Koizumi F. Anti-tumor activity of cetuximab in malignant glioma cells overexpressing EGFR deletion mutant variant III. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5,

2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
5. Maegawa M, Yokote H, Matsumoto K, Tanaka K, Kaneda H, Fujita Y, De Velasco M, Arao T, Koizumi F, Ito F, Nishio K. A novel signaling pathway of deletional mutant EGFR. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
 6. Fukui T, Masuda N, Nishio K, Taguchi F, Kato T, Kawaishi M, Fukai J, Kodera Y, Yoshida T, Sakamoto H, Watanabe T, Koizumi F. Synergistic interactions between the synthetic retinoid TM411(Tamibarotene) and Glucocorticoids in human myeloma cells. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama.
 7. Develasco M, Tanaka M, Anai S, Tomioka A, Sugiyama I, Sudzuka Y, Nishio K, Uemura H. Use of image analysis of treatment response in mouse orthotopic bladder cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 8. Hosoi F, Izumi H, Maruyama Y, Watari K, Basaki Y, Abbas F, Nishio K, Kohno K, Kuwano M, Ono M. Contribution of NDRG1/Cap43 to angiogenesis and macrophage infiltration in human pancreatic cancer cells. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 9. Katsuno M, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H, Nishio K. Study of cisplatin resistant factor in arsenic-resistant cell lines. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 10. Kawamata M, Yamamoto Y, Namatame N, Honma K, Takeshita F, Nishio K, Ochiya T. Inhibition of RPN2 restores drug sensibility in cisplatin-resisted lung cancer cell. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 11. Tanaka K, Arao T, Maegawa M, Matsumoto K, Kaneda Y, Abe Y, Fujita Y, Yokote H, Yanagihara K, Yamada Y, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. Suppression of SRPX2 mRNA expression inhibits cellular growth and adhesion in gastric cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 12. Matsumoto K, Yokote H, Maegawa M, Tanaka K, Kaneda Y, Develasco M, Fujita Y, Arao T, Nishio K. Regulation of EGFR activity through N-glycan fucosylation and effect on the sensitivity of EGFR-TKI. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 13. Kadofuku T, Kanome T, Kusumoto S, Ando K, Hosaka T, Ishida H, Hirose T, Horichi N, Nishio K, Saijo N, Adachi M, Kuroki T, Ohmori T. Difference of EGFR-binding proteins between wild type EGFR and mutant EGFR. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 14. Kusumoto S, Sugiyama T, Nakashima M, Yamaoka T, Hirose T, Ohnishi T, Horichi N, Nishio K, Saijo N, Adachi M, Ohmori T. Drug accumulation and efflux do not contribute to acquired gefitinib resistance. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 15. Ito F, Nishio K, Takeuchi K. Insulin-induced resistance of non-small cell lung cancer to EGFR tyrosine kinase inhibitor. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 16. Ohkawa Y, Koyama K, Suzuki T, Togawa T, Nishio K. Search for angiogenesis inhibitors from marine fungi. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama
 17. Basaki Y, Fujii T, Nakano K, Sirouzu K, Yamada H, Nishio K, Kohno K, Ono M, Kuwano M. Association of nuclear YB-1 localization with HER2, ER alpha and CXCR4 expression in human breast cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5, 2007. Pacifico Yokohama, Yokohama

18. Minami-Shimmyo M, Shimizu C, Hojo T, Akashi-Tanaka S, Kohno T, Ando M, Katsumata N, Kinoshita T, Fujiwara Y. Hospital-based analysis of adjuvant paclitaxel (PTX) in breast cancer: tolerability and the long-term impact of PTX-induced peripheral neuropathy (PN). ASCO Breast Symposium, Boston, U.S.A., Sep 7-8, 2007.
 19. Ono M, Yonemori K, Shimizu C, Nakano E, Shien T, Hojo T, Akashi S, Kouno T, Ando M, Katsumata N, Kinoshita T, Fujiwara Y. Pattern of recurrence in patients with breast cancer who had a pathologic complete response (pCR) after neoadjuvant chemotherapy. ASCO Breast Symposium, Boston, U.S.A., Sep 7-8, 2007
 20. Fukai J, Sakai K, Kimura H, Kuroda J, Fukui T, Kawaishi M, Kato T, Taguchi F, Yokote H, Itakura T, Koizumi F, Nishio K. Anti-tumor activity of cetuximab in malignant glioma cells overexpressing deletion mutant EGFR variant III. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 21. Kawaishi M, Yokote H, Fukai J, Fukui T, Kato T, Nishio K, Koizumi F. The regulation of STAT activity by ErbB family members. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 22. Nakajima T, Matsumura Y, Koizumi F, Yasunaga M, Kato K, Hamaguchi T, Yamada Y, Shirao K, Shimada Y. Synergistic antitumor activity of novel polymeric micelles incorporating SN-38 (NK012) in combination with 5-fluorouracil (5-FU) in mouse model of colon cancer. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 23. Arao T, Yamada Y, Tanaka K, Matsumoto K, Maegawa M, Fujita Y, Yokote H, Nishio K. KIAA1199 is involved a novel therapeutic target for gastric cancer. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 24. Tanaka K, Arao T, Maegawa M, Matsumoto K, Fujita Y, Yokote H, Yanagihara K, Yamada Y, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. SRPX2 is a novel therapeutic target for gastric cancer. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 25. Maegawa M, Yokote H, Matsumoto K, Tanaka K, Arao T, Fujita Y, Fukuoka K, Nishio K. EphA4-RYK interaction stimulates Wnt signaling and promotes glioma cell proliferation and migration. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 26. Matsumoto K, Yokote H, Tanaka K, Maegawa M, Arao T, Fujita Y, Nishio K. Regulation of EGFR activity through N-glycan fucosylation and effect on the sensitivity of EGFR-TKI. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 27. Yamanaka R, Arao T, Nishio K. Identification of expressed genes characterizing long-term survival in malignant glioma patients. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
 28. Kimura H, Kasahara K, Suminoe M, Sone T, Araya T, Tamori S, Fujimura M, Miyamoto K, Nishio K. Epidermal growth factor receptor mutation status in serum DNA is useful as a predictive marker of gefitinib (IRESSA) treatment. American Association for Cancer Research 98th Annual Meeting. 2007. April 14-18. Los Angeles, CA.
- 国内
1. 河石真、横手秀行、福井朋也、加藤晃史、西尾和人、小泉史明. The regulation of STAT activity by ErbB family members in non-small cell lung cancer cell line. 第48回日本肺癌学会総会、2007年11月8-9日、名古屋市
 2. 住友誠、小泉史明、黒田健司、浅野貴子、伊藤敬一、佐藤全伯、松村保広、垣添忠生、早川正道. 新規 DDS 抗癌剤 SN-38 内包ミセル-NK012 の腫瘍血管増生腎細胞癌モデルにおける

抗腫瘍効果. 第 95 回日本泌尿器科学会総会、
2007 年 4 月 14-17 日、神戸市

3. 青儀健二郎、平成人、高嶋成光。ER-, PR-, HER2-(triple negative) 乳癌症例の長期予後と分子生物学的特徴。第 45 回日本癌治療学会総会 (京都) 2007 年 10 月 24 日
4. 清水千佳子、藤原康弘。Targeted therapy for breast cancer: current evidence and future prospects。第 69 回日本血液学会・第 49 回臨床血液学会合同総会 (横浜) 2007 年 10 月 13 日
5. 田村研治。Targeted therapy for lung cancer: current evidence and future prospects。第 69 回日本血液学会・第 49 回臨床血液学会合同総会 (横浜) 2007 年 10 月 13 日
6. 田村研治、中川和彦、平島智徳、菓子井達彦、久保昭仁、福岡正博。ゲフィチニブ治療を受ける非小細胞肺癌患者における EGFR 変異、発現量、リン酸化レベルの検討 (WJTOG0203A) P8-1 第 11 回がん分子標的治療研究会 (大阪) 2007 年 7 月 6 日
7. 青儀健二郎、佐伯俊昭、南博信、戸井雅和、藤井博文。進行・再発乳癌患者を対象としたカペシタビンとドセタキセルの併用第 1 相臨床試験。第 15 回日本乳癌学会学術総会 (横浜) 2007 年 6 月 30 日
8. 清水千佳子、藤原康弘。薬物療法における乳癌の個性診断。第 15 回日本乳癌学会 (横浜) 2007 年 6 月 29 日
9. 青儀健二郎。転移性乳癌に対する外科的アプローチ シンポジウム 9 転移性乳癌に対する外科治療: 第 32 回日本外科系連合学会学術集会 (東京) 2007 年 6 月 22 日
10. 清水千佳子、河野勤、安藤正志、勝俣範之、藤原康弘。Anthracycline(A), taxane(T) 既治療転移性乳癌に対する vinorelbine(VNR) 療法の後方視的検討。第 5 回日本臨床腫瘍学会学術集会 (札幌) 2007 年 3 月 23 日
11. 松本和子、横手秀行、前川麻里、田中薫、藤田至彦、荒尾徳三、小泉史明、藤原康弘、西尾和人。抗体治療における血清内糖鎖修飾酵素活性の検討。第 3 回日本臨床プロテオーム研究会 (2007)
12. 松本和子、横手秀行、前川麻里、田中薫、藤田至彦、荒尾徳三、小泉史明、藤原康弘、西尾和人。Trastuzumab 投与患者における血清内糖鎖修飾酵素活性の検討。第 11 回がん分子標的治療研究会総会 (2007)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

- 1) 特許出願中
 - 抗癌剤の有効性予測法 (特願2007-218815)
- 2) 特許取得
 - 中枢神経系原発悪例リンパ腫マーカーおよびその用途 (特許公開2007-185127)
 - 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 (特許公開2007-089547)
 - 悪性脳腫瘍マーカー遺伝子およびその用途 (特許公開2007-082433)
 - 「糖鎖を用いたトラスツズマブ効果予測バイオマーカー (仮)」特許出願準備中

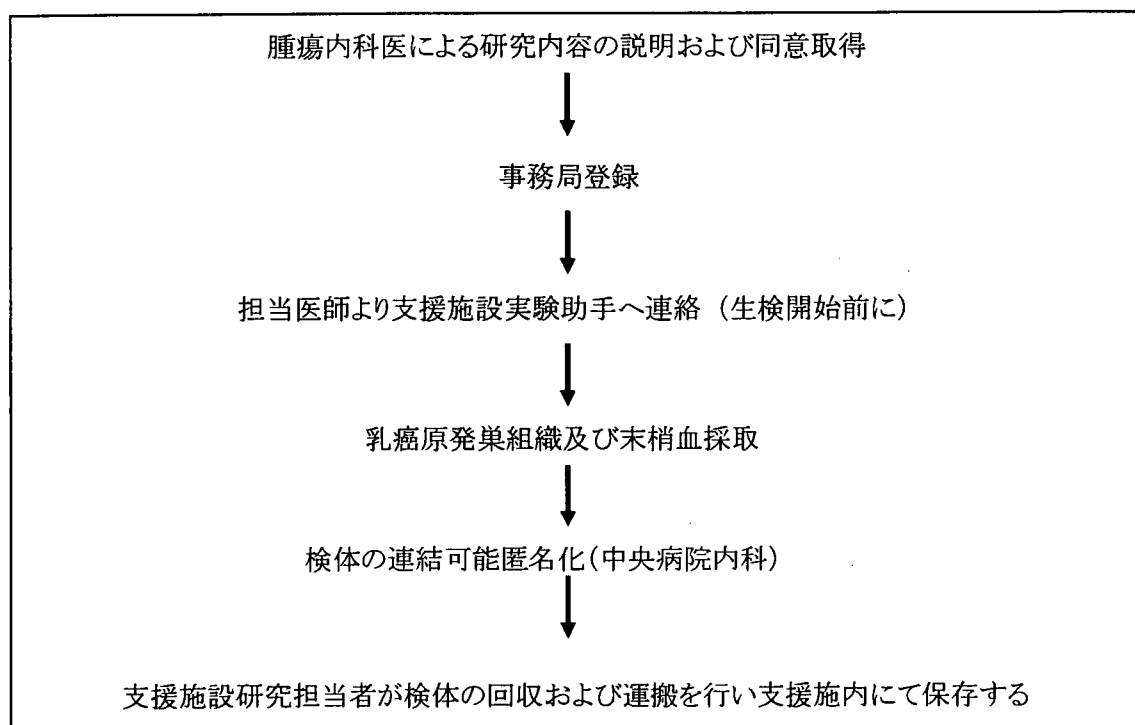
2. 実用新案登録

特になし

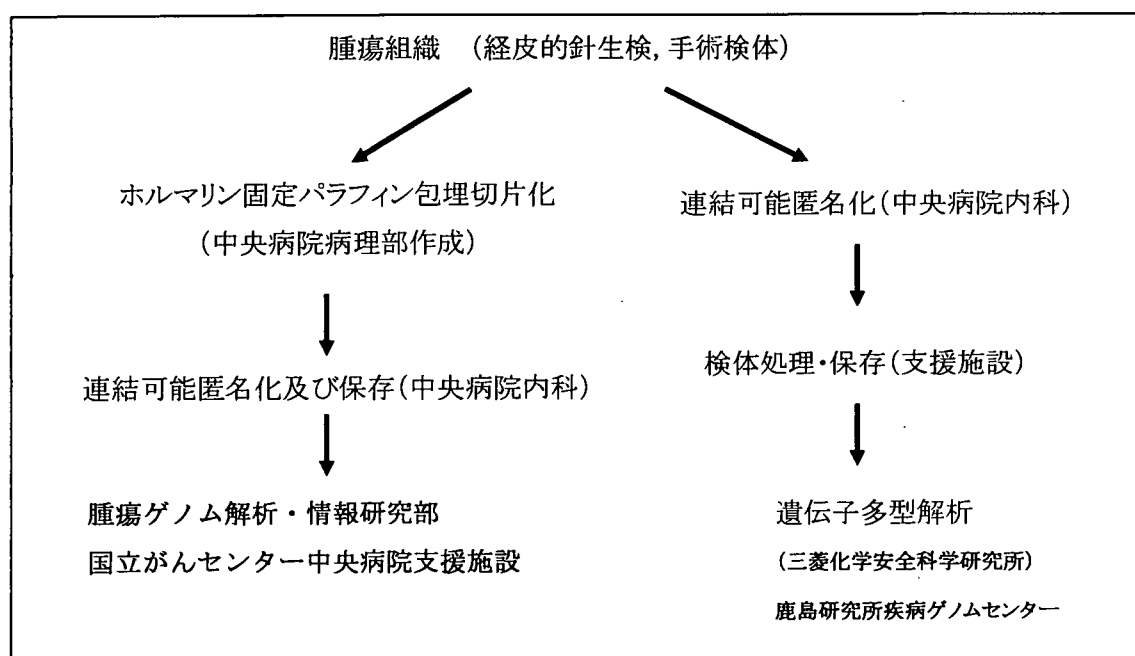
3. その他

特になし

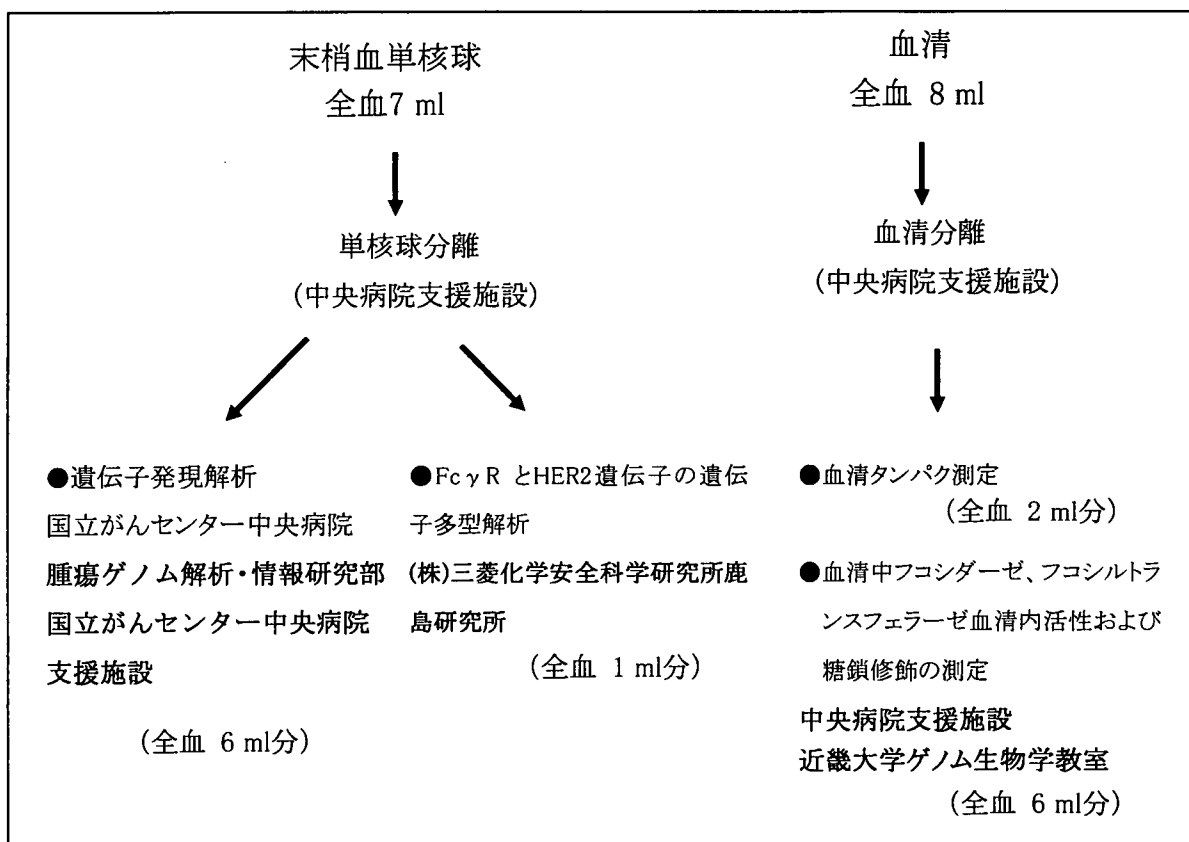
資料 1. 本研究の登録及び臨床検体採取の流れ



資料 2. 腫瘍検体の流れ



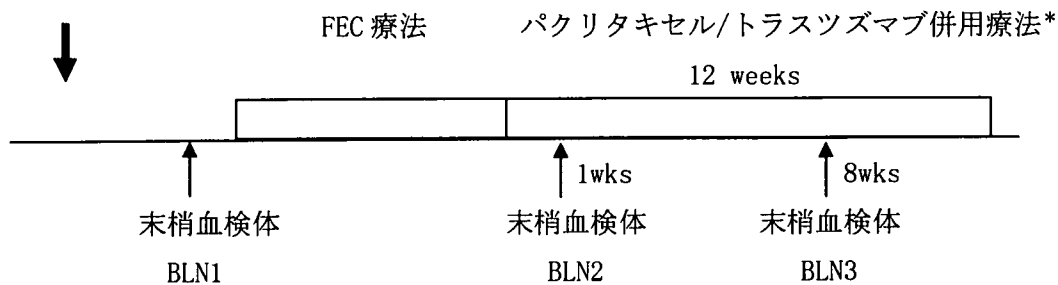
資料 3. 末梢血検体の流れ



資料 4. 腫瘍検体採取及び採血ポイント

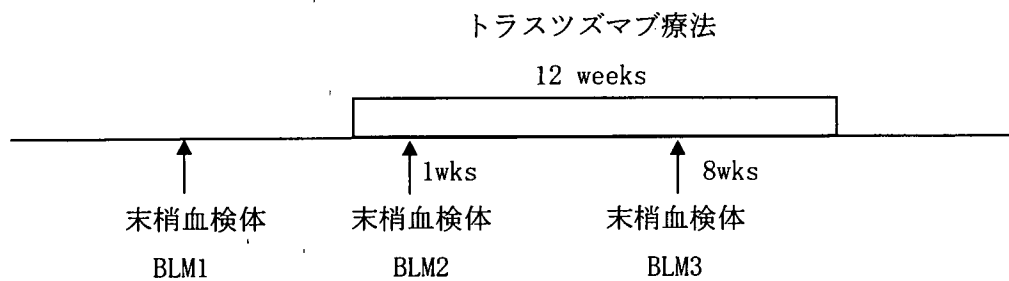
① N 症例(N=40) : HER2 陽性例と陰性例が混在

腫瘍検体 BBN



BBN: 針生検による腫瘍検体採取

② M 症例(N=40) : すべて HER2 陽性



資料 5. 化学療法レジメン

①N 症例(N=40) : HER2 陽性と陰性が混在

FEC (5FU/エピルビシン/シクロfosファミド)療法、に引き続き
パクリタキセル/トラスツズマブ併用療法 (HER2 陽性症例)

FEC (5FU/エピルビシン/シクロfosファミド)療法、に引き続き
パクリタキセル療法 (HER2 陰性症例)

③ M 症例(N=40) : すべて HER2 陽性

トラスツズマブ単独療法

資料 6. 臨床効果のエンドポイント

①N 症例 (N=40)

病理学的寛解 (pCR)

無再発生存期間 (TTP)

生存期間 (OS)

副作用

②M 症例 (N=40)

奏効 (CR, PR)

有効割合 (CR, PR and Long SD)

病勢制御 (CR, PR and SD)

Non-PD

無増悪生存期間 (PFS)

生存期間 (OS)

副作用

資料 7. 主な測定項目

末梢血単核球における抗体受容体 (FcγR)、フコシルトランスフェラーゼ遺伝子多型の解析

HER2 遺伝子多型の解析

フコシダーゼ、フコシルトランスフェラーゼ活性測定

血漿中タンパクのN型糖鎖の解析

マイクロアレイによる遺伝子発現解析

資料 8. 術前化学療法 (N) 症例の患者背景

患者背景	症例数	%
全患者数 (化学療法施行数)	36	100
年齢	55	(23-68)
閉経		
前	23	64
後	13	36
ECOG PS		
0	29	81
1	7	19
組織型		
浸潤性乳管癌-乳頭状	10	28
浸潤性乳管癌-硬癌	10	28
その他	16	44
組織学的悪性度		
1	0	0
2	15	42
3	21	58
エストロゲン受容体		
陽性	17	47
陰性	19	53
プロゲステロン受容体		
陽性	14	39
陰性	22	61
HER2/neu 遺伝子状況		
陽性	17	47
陰性	19	53
病理学的奏効		
病理学的寛解 (pCR)	8	22
非病理学的寛解	28	78
HER 遺伝子陽性群の病理学的奏効		
病理学的寛解 (pCR)	4	24
非病理学的寛解	13	76