

200707031A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による  
放射線化学療法感受性予測の臨床導入を目指した基盤的研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 嶋田 裕

平成20 (2008) 年 4月

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 1  
鳴田 裕

### II. 分担研究報告

1. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 4  
福島雅典
2. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 6  
松井茂之
3. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 8  
辻本豪三
4. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 10  
平岡真寛
5. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 11  
千葉 勉
6. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 13  
加藤 健
7. 食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究 ..... 14  
篠田雅幸

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 15

- IV. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 16

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（主任）研究者 嶋田 裕 富山大学消化器・腫瘍・総合外科 准教授

研究要旨

食道癌は未だ予後不良の難治癌で、治療成績向上の為には集学的治療が不可欠であるが、生検による治療前診断に有効な評価法が未だ存在しない。本研究ではNEDOにて開発された高感度マイクロアレイチップを使用し、生検標本の遺伝子解析プロファイルによる食道癌の化学放射線療法感受性予測に関する多施設共同研究（30施設）を開始している。主任研究者施設での倫理委員会の承認、先端医療振興財団の承認を受け、プロトコールを登録した（登録番号：R000000579，試験ID：UMIN000000479）。検体搬送システムの確立，web登録システムの確立を経て2007年4月より症例登録を開始し、2008年3月までに13例の登録が得られた。現在まで26施設で倫理委員会の承認を得たが、新たに症例登録の望める4施設を追加した。追加交付により9000遺伝子搭載型と2500遺伝子搭載型チップで平行して遺伝子発現解析をすることが可能となった。直近2ヶ月で登録ペースが上昇し、今後登録症例数の増加が期待される。

共同研究者

福島雅典	京都大学医学研究科	臨床試験管理学
松井茂之	京都大学医学研究科	生物統計学
辻本豪三	京都大学薬学研究科	ゲノム創薬科学
平岡真寛	京都大学医学研究科	放射線医学
千葉勉	京都大学医学研究科	消化器内科学
加藤健	国立がんセンター中央病院	第一領域外来部
篠田雅幸	愛知がんセンター中央病院	食道外科

A. 研究目的

食道癌は未だ予後不良の難治癌で、治療成績向上の為には集学的治療が不可欠であるが、現時点では有用な指標が無い。従って化学放射線療法の副作用と手術療法の大きな侵襲を回避すべき患者を選択できず、効果的な医療費の使用とはなっていない。近年の化学放射線治療は食道癌の治療に新たな治療法選択の可能性をもたらしたが、不適切な患者への化学放射線療法の施行や過度の化学放射線療法への期待から治癒できた患者が治癒不可能となる場合や副作用で重篤な状態となる患者が少なからず存在する。現在までの画像診断ならびに少数の遺伝子解析では化学放射線療法感受性予測には限界が有り新たな解析法が望まれてきた。マイクロアレイ

は遺伝子の網羅的解析を可能としたが、治療前にこれらの予測を行うには生検標本による解析が不可欠である。本研究ではNEDOにて開発された高感度マイクロアレイチップを使用して、食道生検標本による食道癌化学放射線療法感受性の責任遺伝子群を網羅的・体系的に明らかにし、化学放射線感受性予測アルゴリズムを作製する。このアルゴリズムを用いて化学放射線療法感受性予測を前向き臨床試験で検証し、臨床応用につなげる。

この研究により、化学放射線療法の効果がないと予測された場合は副作用のある化学放射線療法を回避して根治切除を行い、化学放射線療法の効果が期待できる患者では侵襲の大きな手術を回避できる。このことは患者個別のテーラーメー

ド治療が具現化することとなり、効果的な医療費の使用がなされ、患者への負担を軽減し、社会全体の医療費が削減できることとなる。化学放射線療法感受性の責任遺伝子群の解明が行われれば、分子標的治療のターゲットとして有用である。また胃癌、大腸癌などの他の消化癌における生検標本や増加が著しい肺癌、乳癌の針生検による治療選択にも応用できる。

## B. 研究方法

①申請者を中心とした参加施設（共同研究者3施設ならびに研究協力者27施設）でインフォームドコンセントの基に生検標本を採取し、連結可能匿名化する。②化学療法、放射線療法を標準的プロトコル（CDDP+5Fu）により行われた患者を対象とする。③患者を先端医療振興財団の臨床研究情報センターにWebで登録し管理する。④検体を解析担当施設に送付し、マイクロアレイで解析する。⑤症例集積ペースから予測登録可能症例を再設定する。⑥検体のロスを出来るだけ少なくする為に、検体採取方法、保存方法、検体送付のマニュアルを作成し、検体取り扱いの説明会を開催する。⑦検体採取と解析にあたってはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針等に従って実行する。

<マイクロアレイと解析方法>①各施設のサンプルのRNAの質を申請者の施設で検討し、質が保証された検体について解析する。②癌と正常の判別チップで正しく癌と正常を判別する。③NEDOプロジェクトでの情報を参考に作成した次世代高感度チップを使用し、化学放射線感受性予測に適した遺伝子群を選別する。④このアレイは従来比、百倍程度の高感度が得られており、生検標本の遺伝子増幅なしに検討する。⑤当初予定の9Kチップのみならず追加交付により使用可能となった25Kチップにてもマイクロアレイ解析を行う。⑥解析法は各種統計学的手法を使った遺伝子抽出、およびそれらの遺伝子の発現情報による人工神経回路と機械学習などを使用するが、新たに登録可能な少数症例数に応じた予測システムにても解析する。

<倫理面への配慮>

①主任研究者の異動（2008年1月1日）に先立ち、異動先の倫理委員会でも審査を受け承認（12月3日）された。  
②現在まで、共同研究者および研究協力者において倫理委員会へのプロトコル申請が行われており、主任研究者施設以外の26施設で承認されている。  
③患者にとっては臨床研究のための生検標本採取となる苦痛を伴う内視鏡検査を受けて貰わなくてはならないことから、その為の説明書およ

び同意書を別個に作成して、生検に伴う危険性についての説明と試験に参加しなくても不利益が生じないことに同意を得ている。

④遺伝子解析指診に沿って、インフォームドコンセントを行い、各施設の検体は匿名化し、研究申請者の施設に送付し、一括して同じ条件で解析する。

⑤臨床情報研究センターではすでにWeb登録による各種臨床試験の管理が行われており、個人情報管理のシステムが既に構築されている。遺伝子情報と臨床情報は独立して解析され、解析者には個人情報にはマスクされた状態で解析される。

## C. 研究結果

食道癌の化学放射線療法プロトコル概要を以下のごとくとした。1) 対象患者は化学療法、放射線療法を標準的プロトコル（CDDP 70mg/m<sup>2</sup> day1, day 29, 5-FU 700mg/m<sup>2</sup> day 1-4, day 29-32 + 照射 60Gy または CDDP 75mg/m<sup>2</sup> day1, day 29, 5-FU 1000mg/m<sup>2</sup> day 1-4, day 29-32 + 照射 50.4Gy）により行われた患者とした。

プロトコル試案を基に2006年6月末にプロトコルを作成し、2006年7月22日に京都大学の承認を受けた。ついで、2006年8月28日に登録番号:R000000579, 試験ID:UMIN000000479としてUMINに臨床試験の登録を行い、2007年2月に公開した。最終的に2006年12月26日にプロトコルが確定されたが、これを受けてWeb登録システムが2007年4月に完成した。

倫理委員会の承認を受けた施設から施設登録および新規ユーザー登録を行い、現在まで26施設が登録されている。平行して、検体の採取、保存、搬送システムの構築を行い（ファルコバイオ）、施設登録が終了した施設から各施設で担当者が具体的な取り扱い方について説明会を行った。

2007年5月に2例の症例登録があり、9月に2例、11月に1例、12月に2例、平成20年2月に4例、3月に2例の症例登録が得られ、現在まで13例が登録された。直近2か月の登録が約半数を占め、登録ペースが上昇している。エンドポイントである1年後の無増悪生存率が5月以降に判明することから順次マイクロアレイ解析と対比解析予定である。News letterを8月と11月に配布し、症例登録を促したが、現在の登録ペースからは1年登録期間の延長にて45例の症例登録と推測され、確実な40例での解析法の作成に取りかかっている。現在まで倫理委員会承認施設26施設であるが、さらに登録症例の増加を目指し、登録集積が見込めない数施設を削除するとともに、新たに追加した4施設で倫理委員会審査中である。

技術的な問題として、検体の採取保存法については採取直後の搬送や、RNA later での短期間保存後の搬送では RNA の質は非常に高く、症例のロスが起きないことが判明した。また DNA チップが 256 チップより 9K チップとなり、ゆがみなどの問題が生じたが、ハイブリチェンバーやハイブリ法に修正を加えることによりほぼ解消した。追加交付により 25K チップを購入し、実験的に 9K チップと平行して解析を行い、同等の結果が得られることが判明した。

#### D. 考察

昨年度はプロトコルの作成、倫理委員会の承認、プロトコルの登録、検体登録システムの作成をほぼ終了した。2年目に当たる本年は登録を開始し13例の登録が得られ、直近の2ヶ月で登録ペースがアップし、今後に期待が持たれた。さらに少しでも多くの症例集積を目指すために、参加施設の増加を検討するとともに、症例数の確保に向けた取り組みを継続する。チップ解析の技術的な細かな問題点を継続して改善する。3年目は検体採取を継続するとともに、限られた症例数での解析法により予測アルゴリズムを作成する。

#### E. 結論

生検標本の遺伝子解析プロファイルによる食道癌の化学放射線療法感受性予測に関する多施設共同研究を開始し、現在まで13例の登録が得られた。登録ペースは当初の予定より遅れているが、着実に増加しており、成果が期待される。

#### F. 健康危険情報

本研究において、現在までの治療症例では特に重篤な副作用等は発生していない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Ito T, Tsujimoto G, Shimada Y et al. An ultrasensitive new DNA microarray chip provides gene expression profiles for preoperative esophageal cancer biopsies without RNA amplification. *Oncology* 2008 in press

2) Kanai M, Shimada Y, Chiba T, Fukushima M et al.

Retrospective analysis of 27 consecutive patients treated with docetaxel/nedaplatin combination therapy as a second-line regimen

for advanced esophageal cancer. *Int J Clin Oncol* 2007, 12: 224-227

3) Shimada Y and Sato F. Molecular factors related to metastasis of esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus* 4, 7-18, 2007

4) Tanaka E, Shimada Y et al. The suppression of Aurora-A/STK15/BTAK expression enhances chemo-sensitivity to Docetaxel in human esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 13: 1331-1340. 2007

5) 嶋田 裕, 辻本豪三, 信正均, 藤元治朗. 食道癌化学放射線療法感受性予測チップの開発と実用化に向けた取り組み. *バイオテクノロジージャーナル* 7: 315-320, 2007

6) 嶋田 裕, 藤元治朗. 食道癌に対する化学(放射線)療法 久保田哲朗, 大村健二 編 *オンコロジークリニカルガイド 消化器癌化学療法* 南山堂 p130-135, 2007

7) 嶋田 裕, 松本繁巳, 森田周子, 王孔志, 森川司朗, 藤元治朗 *胸部食道早期癌 外科治療* 96: 399-405, 2007

#### 2. 学会発表

1) 嶋田 裕, 篠田雅幸, 加藤健, 辻本豪三, 他 食道癌生検標本の網羅的遺伝子発現解析によるリンパ節転移診断

第45回日本癌治療学会 京都 2007.10.25

2) 嶋田 裕, 篠田雅幸, 加藤健, 辻本豪三, 松井茂之, 福島雅典 他

StageII・III 食道癌に対する治療選択のための化学放射線療法感受性予測の臨床試験

第61回日本食道学会 横浜 2007.6.22

3) 田中英治, 嶋田 裕, 他

食道癌において Aurora-A/STK15/BTAK 発現抑制による Taxotere 感受性の増強

第62回日本消化器外科学会 東京 2007.7.20

#### H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 福島 雅典 京都大学医学部附属病院探索医療センター検証部

研究要旨

病期 II・III（T4 を除く）の食道扁平上皮癌患者を対象に化学放射線療法と高感度・高再現性 DNA チップによる食道癌治療前生検標本の発現遺伝子プロファイルを解析し、化学放射線療法治療効果を予測する可能性の高い遺伝子群を同定し、食道癌における化学放射線療法感受性予測アルゴリズムの作成を目標とする研究<食道癌生検標本の遺伝子プロファイル解析による化学放射線療法感受性予測に関する探求的研究>において研究計画作成支援、登録、データマネジメント、検体の搬送・管理、統計解析を行う基盤を形成し共同研究を支援して質管理を行う。

A. 研究目的

食道癌は近年、早期食道癌の発見頻度が増加し治療成績が向上しているが、いまだ治療対象となる食道癌患者の多くを予後不良な進行癌が占めており、その治療成績の向上は大きな課題である。一方で、食道癌は化学療法や放射線療法に反応しやすいなどの特徴も持っているが現在までの画像診断ならびに少数の遺伝子解析では化学放射線療法感受性予測には限界が有り新たな解析法が望まれてきた。発癌や増殖、化学放射線療法の感受性には多様な遺伝子群が関与していると考えられており、多数の遺伝子を同時に解析するマイクロアレイのような解析方法による検討が必要であることが近年明らかとなって来ている。そこで、生検標本が採取できた患者において、化学放射線療法を行いその効果判定を行い、その結果と生検標本における遺伝子プロファイル解析と照合し、バイオインフォマティクスにより、化学放射線療法に關与する遺伝子群を同定し、化学放射線療法感受性予測のアルゴリズムを作成する研究を主任研究者 兵庫医科大学第一外科 嶋田 裕 が計画し、研究計画作成支援、登録、データマネジメント、検体の搬送・管理、統計解析を行う基盤の形成を平成 19 年度も引き続き分担することとした。

B. 研究方法

施設登録および症例登録、データマネジメント、検体の搬送・管理、統計解析を行う基盤を以下の方法で形成した。

A) 登録

各試験責任医師は、当該試験を実施するに前に、所属する研究参加施設の倫理審査委員会に本プロトコ

ルの倫理審査を申請し、承認を得ることとし、倫理審査委員会での承認が得られた後、TRI データセンターに施設登録を行うこととした。

施設登録が行われた後、試験責任医師または試験分担医師は、患者が試験に参加する前に説明文書を用いて十分説明し、試験への参加について自由意思による同意を本人から文書として得ることとした。

その後、試験責任医師または試験分担医師は、Web 登録システムにより症例登録を行うこととし、臨床研究を行うにあたり必要な事項が整理できるようにした。本年度は、昨年度 TRI にて整備した Web 登録システムを維持・運営し、症例登録を引き続き行うこととした。

また、2008 年 2 月に研究進捗について主任研究者と打ち合わせを行い、今後の研究の進め方について検討が行われた。その結果、引き続き Newsletter 等で症例登録を促していくこととした。

B) データマネジメント

試験により発生したデータは、試験責任医師または試験分担医師が Web 画面により提供される症例報告書（Web 症例報告書）に入力することとし、このシステムを整備することとした。

C) 検体の移送・管理

本研究では遺伝子解析用検体を採取することになっているため、生検にて採取された検体を効率的に提出・移送する手順を記載した手順書、および効率的に検体を管理するための帳票により検体収集業務を効率的に運営した。

(倫理面への配慮)

A) 遵守すべき諸規則

まず、本臨床研究において「世界医師会ヘルシンキ宣言」および「臨床試験に関する倫理指針」を遵守する。遺伝子解析についても「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」を遵守することとした。

B) インフォームドコンセント

試験責任医師または試験分担医師は、本試験の実施にあたっては倫理的な配慮を慎重にし、下記内容について十分説明した上で、文書で患者本人の同意を得ることとした。

C) 検体情報の管理に関する事項

患者本人から、説明文書と同意書を用いてインフォームドコンセントを取得する。患者の個人名（イニシャルを含む）は使用せずに、登録センターより発番される検体番号を検体に付与する。この検体番号を用いて検体の匿名化を行った上で研究に供することとした。したがって、本研究過程のどの段階においても検体の提供者の氏名、住所等の個人を同定しうる情報は各医療機関の試験分担医師以外の目に触れることはなく、極めて厳重に保護される。マイクロアレイ解析と臨床情報収集が個別の施設で行われ、バイオインフォマティクスによる検討時に個人情報でない情報（登録番号）により照合することとし、本年度もこれを継続した。

D) 個人情報の保護

症例登録票および症例報告書、原資料などの直接閲覧ならびに試験の結果の公表に関しては被験者のプライバシー保護に十分配慮する。また、モニタリングまたは監査担当者、倫理審査委員会および規制当局は直接閲覧についても、被験者の秘密を保全する。なお、被験者の特定は被験者識別コードを用いて行うこととし、本年度もこれを継続した。

症例登録票および症例報告書のデータは、主要エンドポイント、副次エンドポイントが観測された時点で、統計解析責任者によって別途に行われる遺伝子解析の解析データとマッチングされる。遺伝子解析データはすでに匿名化され個人識別出来ない形で扱われる。その為に、各施設において個人情報管理者を選定し、個人情報の管理を行うこととし、本年度もこれを継続した。

C. 研究結果

Web 症例報告書により効率的なデータマネジメントを行い、また収集した検体の搬送・管理を適切に行うことで、質の高いデータによる精密な最終解析の実施を目指す。

平成 19 年 1 月 22 日に運用を開始した Web 登録システムの運用を本年度も継続した。また、平成 19 年 8 月 1 日より Web 症例報告書の入力が可能となり、本試験を実施する体制が完全に整った。

平成 20 年 3 月 14 日現在、24 施設の施設登録が行われ、12 例の症例登録が行われた。

D. 考察

本年度は、昨年度に作成した研究計画書に従い質の高い臨床研究を継続的に実施し、昨年度構築した Web 登録システムにより 24 施設 12 例の登録が行われた。また、平成 19 年 8 月 1 日に Web 症例報告書が利用可能となり、症例データの入力が進められた。

さらに、検体の搬送・管理を効率的に行うシステムも維持することができた。

上記のことから、試験実施中や試験終了後の症例や検体を効率的に管理できる基盤を本年度も構築・維持できたと考えられる。

次年度以降は、より一層症例登録を促進させ、効率的に研究を進める必要があると考えられる。登録促進と効率的な臨床試験実施基盤の維持により、症例データの管理を行なうデータマネジメント、検体の移送・管理、およびそれらの結果を用いる統計解析も効率的に実施できるものと考えられる。

E. 結論

本年度は、Web 登録システムにより 24 施設 12 例の登録が行われたが、より一層の登録促進が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表：該当せず
2. 学会発表：該当せず

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：該当せず
2. 実用新案：登録該当せず
3. その他：該当せず

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性

予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 松井 茂之 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻  
健康解析学講座薬剤疫学分野 准教授

研究要旨

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性予測の臨床導入を目指した臨床研究の統計解析責任者として、前年度に引き続き、マイクロアレー遺伝子発現データの統計解析法と必要症例数設計法について検討した。複数の重要な臨床変数と遺伝子発現データを同時に関連づける解析手法、遺伝子間の複雑な相関構造を考慮した必要症例数設計法を新たに開発した。

A. 研究目的

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性予測の臨床導入を目指した臨床研究では、化学放射線療法前の食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイルと化学放射線療法感受性を関連づけ、予測システムの構築を試みる。マイクロアレーで測定される数千遺伝子の発現量の統計解析手法や症例数設計法は十分確立しておらず、これらについて検討を行うことを目的とする。本年度の具体的なテーマは、癌の進展度や悪性度といった重要な臨床変数が複数存在する場合の統計解析、必要症例数設計における遺伝子間の複雑な相関構造の考慮である。なお、後者の検討は、プロトコルで計画されている研究途中での中間評価における必要症例数の再設計に活かされる予定である。

B. 研究方法

過去の生物統計学、バイオインフォマティクスの分野の論文（方法論の論文）、マイクロアレーによる遺伝子発現解析を実施した臨床研究論文をレビューし、当該臨床研究に即した統計的手法を開発する。

C. 研究成果

線形回帰分析の枠組みで、複数の臨床変数と遺伝子発現データを同時に関連づける解析法を開発した。膀胱癌のデータに適用した結果、癌のステージとグレードのいずれか一つのみと関連する遺伝子、

両方に関連する遺伝子を系統的に分類・同定することに成功した。また、先行研究などの過去のデータがある場合、データから遺伝子間の相関構造を推定し、これに基づいて必要症例数の設計を行う方法を新たに開発した。

D. 考察

通常解析では、遺伝子発現データは一つの臨床変数と関連づけられるが、重要な臨床変数が複数ある場合には、これらを同時に関連づけることで、より多面的な生物学的機序の考察が可能になる。開発した解析法は、連続型、分類型、様々なタイプの臨床変数を扱えるため、広く適用可能な方法である。現在、食道癌に対する本臨床研究での適用を検討している。開発した必要症例数の設計法は、先行研究のデータがある場合に有効な方法であるが、研究途中での集積データに本手法を適用することで、（臨床研究の中間評価における）必要症例数の再設計が可能となる。マイクロアレー遺伝子発現データの統計的手法に関する研究は、近年、生物統計学やバイオインフォマティクス領域で大変精力的に行われている。これらの領域での研究成果は今後も継続的にモニタリングする必要がある。本臨床研究に有用と考えられる手法が提案された場合には、当該臨床研究での適用可能性についての詳細な検討が随時必要となる。

#### E. 結論

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性予測の臨床導入を目指した臨床研究の計画と解析において、新しい統計的手法の開発・評価が欠かせない。この種の検討は今後も継続的に行う必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

Matsui S, Ito M, Nishiyama H, Uno H, Kotani H, Watanabe J, Guilford P, Reeve A, Fukushima M, Ogawa O. Genomic characterization of multiple clinical phenotypes of cancer using multivariate linear regression models. *Bioinformatics* 2007; 23:732-738.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による化学放射線療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 辻本 豪三 京都大学薬学研究科 教授

研究要旨

少量かつ貴重な臨床検体を扱うテーラーメイド医療の推進には、高精度な発現プロファイル解析技術の開発が必須である。本研究では高感度チップを用いたゲノム機能解析に基づくゲノム臨床研究のモデルを呈示する。

A. 研究目的

ヒトゲノム計画の成果により、患者の遺伝的体質に合わせた処方・治療計画を行う、いわゆるテーラーメイド医療が現実のものになろうとしている。ゲノム構造並びに遺伝子発現の量的変動に関する包括的情報を活用し、テーラーメイド医療を実現するには、ゲノム機能情報と臨床情報を統合することが必要である。本研究ではこの高感度チップを用いた解析システムを臨床応用し、各種難治性疾患に関して低侵襲的操作により採取される微量臨床検体を、ゲノム機能解析、臨床情報との統合ゲノム情報データベースの構築、それに基づくテーラーメイド医療、ゲノム臨床薬理研究の実施を目指し、ゲノム臨床研究のモデルを呈示する。

B. 研究方法

我々が開発した特殊形状のDNAチップは、従来方式と比して約100倍の感度を有し、また実際の臨床試料の解析においても定量性を保持して微量臨床試料でも十分に計測可能である。しかしながら、これまでの特殊形状DNAチップの解析遺伝子数が少なく、網羅的解析を行うには不十分であった。そこで本年度は、特殊形状DNAチップ搭載遺伝子数の拡大とその新型特殊形状DNAチップに最適な標識及びハイブリ方法の構築を行った。さらに、少量かつ貴重な臨床検体を用いるための予備検討として、この新型チップと培養食道がん細胞を用いて化学療法（シスプラチン・ドセタキセル）に関連する候補遺伝子群の抽出を行った。（倫理面への配慮）

研究対象者に対する人権擁護上の配慮のため検体は匿名化し個人情報の管理を適切に行う。研究遂行に際し研究対象者に対して不利益、危険性の排除に

関する説明を行い、理解（インフォームド・コンセント）を得た上で検体を採取している。また大学の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

我々の開発したDNAチップ基板は、樹脂チップ基板の立体構造と表面修飾、および立体構造を利用したハイブリダイゼーション時の攪拌機構によって、従来のガラス基板による発現遺伝子検出の約100倍の感度を示す。一方で従来用いられてきたガラス基板とほぼ同一の設備、プロトコールで実験が可能であり、導入が容易である利点があるが、これまでの特殊形状DNAチップでは搭載できる解析遺伝子数が少なく、網羅的解析に不向きであるという問題点があった。そこで特殊形状DNAチップのさらなる高密度化及び立体構造を利用した攪拌効率の亢進が行われた結果、まず約9,000遺伝子を搭載した9Kチップの開発が成功し、さらにそれをベースに約25,000遺伝子を搭載した25Kチップが開発された。

次に、より正確な放射線化学療法感受性予測モデルを構築するためにはアレイデータの高再現性が必須であることから、25Kチップデータの再現性において最適な標識及びハイブリ方法の構築と、スキヤニングにおける技術的な改良を試みた。その結果、遺伝子増幅を行わない方法でも十分に解析が可能であったが、標識方法に関してはcDNA法よりaRNA法が、スキヤニングに関しては単一レーザー強度の1回スキヤンより複数のレーザー強度による複数回スキヤンからデータを統合する方法の方が25Kチップにおいてはデータの再現性が高くなることが判明した。

本DNAチップ及び実験プロトコールと培養食道がん細胞株を用いて化学療法に関連する候補遺伝子群が実際に抽出できるかどうか検討を行った。まず、27種類の培養食道がん細胞株においてシスプラ

チンもしくはドセタキセルに対する感受性を調べたところ、それぞれにおいて薬物感受性株群と抵抗性株群が同定された。次に、これらの感受性株と抵抗性株を用いてDNAチップ解析を行ったところ、感受性株群と抵抗性株群において有意 ( $p < 0.05$ ) かつシグナル値の平均値に2倍以上差がある遺伝子が、それぞれ薬物において200遺伝子ほど見いだされた。

#### D. 考察

本特殊形状DNAチップと培養食道がん細胞を用いた予備検討から、シスプラチンもしくはドセタキセルに対する薬物感受性株群と抵抗性株群においてそれぞれ特異的に発現している遺伝子群が同定されたこと、また、別プロジェクトにおいて約1000遺伝子を搭載した本特殊形状DNAチップが9割以上の的中率で食道ガンの判別できていることから、本研究課題である放射線化学療法感受性においても高精度な予測の実現が可能になるものと期待される。

#### E. 結論

本プロジェクトで利用するに最適な、網羅的な遺伝子発現解析が可能となった特殊形状DNAチップとその実験プロトコールが構築された。本DNAチップと培養食道がん細胞を用いた予備検討から、実際に化学療法(シスプラチン・ドセタキセル)に関連すると考えられる候補遺伝子群が抽出された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ito T, Tanaka E, Kadowaki T, Kan T, Higashiyama M, Shiojima S, Tomoda S, Myoumoto A, Akiyama H, Nobumasa H, Matsumoto S, Miyamoto S, Mitsumori M, Sato F, Watanabe G, Itami A, Meltzer SJ, Tsujimoto G, Shimada Y. An ultrasensitive new DNA microarray chip provides gene expression profiles for preoperative esophageal cancer biopsies without RNA amplification. *Oncology*, 2008 in press.
2. Nagino, K, Nomura, O, Takii, Y, Myomoto, A, Ichikawa, M, Nakamura, F, Higasa, M, Akiyama, H, Nobumasa, H, Shiojima, S, and Tsujimoto, G. Ultrasensitive DNA chip: gene expression profile analysis without RNA amplification. *J Biochem (Tokyo)*, 2006. 139(4): p. 697-703.
3. Kawanishi, H, Takahashi, T, Ito, M, Watanabe, J, Higashi, S, Kamoto, T, Habuchi, T, Kadowaki, T, Tsujimoto, G, Nishiyama, H, and Ogawa, O. High throughput comparative genomic hybridization array analysis of multifocal urothelial cancers. *Cancer Sci*, 2006. 97(8): p. 746-52.

##### 2. 学会発表

1. 辻本豪三: 「ゲノム科学で変わる医療、創薬」 ナノバイオ EXPO2008、東京ビックサイト、2月13日、2008
2. 辻本豪三: 「ゲノムテクノロジーで変わる医療」 第68回応用物理学会学術講演会、北海道工業大学、9月7日、2007
3. 辻本豪三: 「薬剤感受性遺伝子」 第14回日本遺伝子診療学会大会、愛媛看護研修センター、7月27日、2007
4. 辻本豪三: 「ゲノム科学が変える医療、創薬」 薬学セミナー2007、札幌プリンスホテル国際館パミール、6月9日、2007
5. 辻本豪三: 「ゲノム創薬—現状と戦略—」 第27回日本医学会総会、大阪国際会議場、4月8日、2007

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
（分担）研究報告書

食道癌生検標本の遺伝子プロファイル解析による化学放射線療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 平岡 真寛 京都大学医学部附属病院放射線治療科 教授

研究要旨

食道癌化学放射線療法の治療効果を予測する方法の確立を遺伝子プロファイル解析の手法にて目指す。

A. 研究目的

病期II・III（T4を除く）の胸部食道扁平上皮癌患者を対象に化学放射線療法を行い、食道癌治療前の生検標本の発現遺伝子プロファイルを解析する。化学放射線療法の治療効果を予測する可能性の高い遺伝子群を同定し、食道癌における化学放射線療法感受性予測アルゴリズムの作成を目標とする。

B. 研究方法

化学放射線療法前に正常食道組織と腫瘍組織から生検を行い、高感度・高再現性DNAチップにて遺伝子プロファイル解析を行う。治療成績を照合し、バイオインフォマティクスにより化学放射線療法感受性予測アルゴリズムを作成する。

（倫理面への配慮）

プロトコルは倫理指針を遵守しており、京都大学の倫理委員会の承認を得た。インフォームドコンセント得たうえ、臨床試験に登録する。

C. 研究結果

症例登録が開始され、当院より1例登録した。

D. 考察

当院では食道癌ユニットという内科、外科、放射線治療科の合同外来が開始され全症例にて治療方針を合同検討するようになった。その中で、病期II・III（T4を除く）の胸部食道癌では標準治療である手術療法を選択される場合が多いが、食道温存を希望される症例では全例にインフォームド・コンセントを行っている。

E. 結論

臨床試験の症例登録が開始され、当施設より1例を登録した。

G. 研究発表

学会発表

第61回日本食道学会学術集会

平成19年6月21-22日

食道癌に対する放射線治療で長期CR維持後に再発をきたした4例

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 千葉 勉 京都大学医学研究科消化器内科 教授

**研究要旨**

表在食道癌に対する内視鏡治療は近年増加し、その適応も拡大してきている。当科における食道癌の内視鏡下粘膜切除の評価を行った。一方、進行癌では化学放射線療法が次第に位置を占めるようになってきている。しかし、事前にその奏効を予測する方法はなく、無効の場合には通常の手術に比して数倍のリスクを負った救済手術を施行せざるを得なくなる。治療の個別化を目的として、マイクロアレイを用いた遺伝子プロファイル解析による治療感受性予測研究を計画した。

**A. 研究目的**

表在食道癌における粘膜切除の治療成績からその適応を明らかとする。化学放射線療法を予定した病期Ⅱ・Ⅲ（T4 除く）の胸部食道扁平上皮癌患者を対象として、高感度・高再現性 DNA チップを用いて治療前生検標本の発現遺伝子プロファイルを解析する。化学放射線療法の治療効果を予測する可能性が高い遺伝子群を同定し、食道癌における化学放射線療法感受性予測アルゴリズムの作成を目的とする。この研究により個別化医療の具現化を目指す。

**B. 研究方法**

2007 年度の表在食道病変 46 例における治療成績を切除標本の病理学的検索および臨床経過から評価した。また進行癌においては適格基準を満たす食道癌患者のうち、CDDP/5FU:70(2)/700(2):d1/d1-4 と外照射 60Gy か CDDP/5FU:75(2)/1000(2):d1/d1-4 と外照射 50.4Gy の化学放射線療法を予定したものから、治療開始前に内視鏡生検により腫瘍組織 2 個、正常組織 1 個を採取する。検体は採取後液体窒素中に保管し、即座に京都大学薬学研究科に移送、マイクロアレイ法により遺伝子発現レベルの測定を行う。化学放射線療法の臨床効果とのマッチングを行い、感受性または抵抗性関与遺伝子を同定する。

（倫理的配慮）

臨床研究では個人が特定できる様な情報は検体から削除し、個人の検定には検体番号を付す。さらに各施設において「匿名化番号対照表」にて一元化管理する。これにより遺伝子発現解析時には個人情報秘匿される。本研究は各施設の倫理審査委員会（IRB）の承認を得たうえで開始する。また、患者本人から文書によるインフォームド・コンセントを得ること

を前提としている。

**C. 研究結果**

食道表在病変46例に対してEMR/ESD（44例）と焼灼（2例）を行った。粘膜切除を行った病変のうち29病変は粘膜切除の絶対適応であるm1またはm2であった。相対適応となるm3を2例認めたが、追加治療を行わず経過観察中である。sm癌を2例に認めた。このうち1例は放射線化学療法を行い、1例は追加手術を行った。追加治療を行った1例は切除によりリンパ節転移は認めなかった。一方、進行癌における臨床試験では多施設共同研究について倫理審査委員会の承認が得られ、1例を登録した。

**D. 考察と結論**

食道表在癌に対する粘膜切除の治療成績はほぼ満足のいくものであるが、相対適応症例における評価は今後の follow up により明らかにされるものと考えられる。一方、臨床研究により化学放射線療法感受性予測アルゴリズムが完成すれば、Ⅱ・Ⅲ期に限らず、あらゆる病期の食道癌の個別化治療戦略に繋がる可能性がある。集中的な症例集積により、早急に結論を出すことが望まれる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

M Kanai, S Matsumoto, T Nishimura, Y Shimada, G Watanabe, T Kitano, A Misawa, H Ishiguro, K Yoshikawa, K Yanagihara, T Chiba, Y Sakai, M Fukushima. Retrospective analysis of 27 consecutive patients treated with docetaxel/nedaplatin combination therapy as a second-line regimen for advanced esophageal cancer. Int J Clin Oncol 12(3); 224-7, 2007

### 2. 学会発表

宮本心一、青井貴之、森田周子、新田孝幸、西尾彰功、千葉 勉「表在食道癌に対するフード型双極ナイフの有用性」  
2006. 7. 22, 京都, 京滋食道疾患研究会.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

Hood with excising function and endoscope.  
Publication No. WO/2006/064868  
International  
Application No. PCT/JP2005/023033

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究に関する研究（H18-ファーマコ一般-003）

（分担）研究者 加藤 健 国立がんセンター 第一領域外来部

研究要旨

多施設共同研究による化学放射線療法感受性予測チップの作製と検証を計画した。

A. 研究目的

食道癌は未だ予後不良の難治癌で、治療成績向上の為に集学的治療が不可欠であるが、生検による治療前診断に有効な評価法が未だ存在しない。本研究では食道癌生検標本の発現遺伝子プロファイルにより検出した化学放射線療法感受性関与遺伝子を搭載した化学放射線療法感受性予測カスタムチップの作成とその予測効率を検証する臨床試験を立ち上げることにある。

B. 研究方法

食道癌に対して化学放射線療法を行う患者に対して説明を行い、参加に同意した患者より治療前に内視鏡下に癌部及び正常部の組織を採取する。それぞれの検体よりmRNAを採取し、DNAチップにより遺伝子解析を行い、化学放射線療法感受性予測可能なアルゴリズムを確立する。統計解析法に人工神経回路機械学習並びに新しい解析法を使用する。

（倫理面への配慮）

検体採取と解析にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針などに従って実行する。

C. 研究結果

平成19年4月に当施設において研究計画承認となった。現在6例の症例登録を行っている。全体の約80%に当たる症例であり、本研究の遂行に貢献している。

D. 考察

食道癌の治療は、大きく分けて、手術療法と、非手術療法に分けられる。手術療法のほうが、治療成績は若干よいが、非手術療法には、食道を温存できるメリットがある。非手術療法の標準治療である化学放射線療法にて治療が期待できる割合は35%程度であり、残りの方々にはなんらかの救済治療が必要である。化学放射線療法後に手術を行い、治療に至る例もあるが、化学放射線療法

後の手術は在院死割合が10%と高い。本研究により、化学放射線療法の効果がある患者を予測できれば、食道を温存したまま治療できる患者の割合が増えることが予測できる。また、化学放射線療法の効果が期待できない患者を予測できれば、最初から手術療法を考慮することで、全体的に食道癌に対する治療の至適化、治療成績の向上を期待することができる。

E. 結論

臨床病期II、III期食道癌患者を対象とした、化学放射線療法の感受性を検証する多施設共同研究プロトコールが完成し、当施設でも倫理審査委員会の承認が得られ、現在までに6症例が登録されている。

F. 健康危険情報

安全に遂行されている。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Saito Y, Kato K, et al. Endoscopic submucosal dissection of recurrent or residual superficial esophageal cancer after chemoradiotherapy. Gastrointest Endosc. 2008 Feb;67(2):355-9.

2. 学会発表

1) Takahari D, Kato K, et al.; Long-term toxicity after definitive chemoradiotherapy for Stage II, III(nonT4) squamous cell carcinoma of the esophagus ASCO-GI 2008  
2) Minashi K, Kato K, et al; A phase II study of chemoradiotherapy in patients with stage II, III esophageal squamous cell carcinoma (ESCC): JCOG trial (JCOG 9906). ASCO-GI 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

食道癌生検標本の遺伝子発現プロファイル解析による放射線化学療法感受性  
予測の臨床導入を目指した基盤的研究（H18 - ファーマコー一般-003）

分担研究者：篠田雅幸 愛知県がんセンター中央病院 副院長

研究要旨

食道癌治療における化学放射線療法は次第にその位置が明確になりつつある。しかし、事前に奏効を予測する方法はなく、無効の場合には通常の手術に比して数倍のリスクを負った救済手術を施行せざるを得なくなる。そのため、治療の個別化を目的として、マイクロアレーを用いた遺伝子プロファイル解析による治療感受性予測研究を計画した。

A. 研究目的

化学放射線療法を予定した病期Ⅱ・Ⅲ（T4 除く）の胸部食道扁平上皮癌患者を対象として、高感度・高再現性 DNA チップを用いて治療前生検標本の発現遺伝子プロファイルを解析する。化学放射線療法の治療効果を予測する可能性が高い遺伝子群を同定し、食道癌における化学放射線療法感受性予測アルゴリズムの作成を目的とする。

B. 研究方法

本研究の適格基準を満たす食道癌患者のうち、CDDP/5FU:70(2)/700(2):d1/d1-4 と外照射 60Gy か CDDP/5FU:75(2)/1000(2):d1/d1-4 と外照射 50.4Gy の化学放射線療法を予定したものから、治療開始前に内視鏡生検により腫瘍組織 2 個、正常組織 1 個を採取する。検体は RNA-later 液に浸透保存するかマイナス 80℃で保管し、京都大学薬学研究科に移送、マイクロアレー法により遺伝子発現レベルの測定を行う。化学放射線療法の臨床効果とのマッチングを行い、感受性または抵抗性関与遺伝子をスクリーニングする。

C. 倫理的配慮

個人の検定には検体番号を付すものの、個人が特定できる様な情報は検体から削除し、「匿名化番号対照表」にて一元化管理することにより、個人情報秘匿される。本研究は当院の倫理審査委員会（IRB）の承認を得たうえで開始している。また、患者本人から文書によるインフォームド・コンセントを得ることを前提としている。

D. 研究結果

過去 1 年間で、本研究へ 1 例も登録例出来なかった。この事実は、2-3 年前までは化学放射線療法が全国的なトレンドであったが、最近再び外科治療にシフトしてきているという、時代の流れと無関係とはいえない。適格症例があれば今後積極的に登録を行う予定である。

E. 考察と結論

化学放射線療法感受性予測アルゴリズムの完成は、Ⅱ・Ⅲ期に限らず、あらゆる病期の食道癌の個別化治療戦略に繋がる。本研究の重要性は失われておらず、集中的な症例集積により、早急に結論を出すことが期待される。

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
嶋田 裕 他	食道癌に対する化学(放射線)療法	久保田哲朗、大村健二	オンコロジークリニカルガイド 消化器癌化学療法	南山堂	東京	2007	p130-135

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
嶋田裕, 辻本豪三 他	食道癌化学放射線療法感受性予測チップの開発と実用化に向けた	バイオテクノロジージャーナル	7	315-320	2007
Tanaka E, Shimada Y et al.	The suppression of Aurora-A/STK15/BTAK expression enhances chemo-sensitivity to Docetaxel in human esophageal squamous cell carcinoma.	Clin Cancer Res	13	1331-1340	2007
Shimada Y et al.	Molecular factors related to metastasis of esophageal squamous cell carcinoma	Esophagus	4	7-18	2007
Ito T, Tsujimoto G, Shimada Y et al	An ultrasensitive new DNA microarray chip provides gene expression profiles for preoperative esophageal cancer biopsies without RNA amplification	Oncology		in press	2008
Kanai M, Shimada Y, Chiba T, Fukushima M et al.	Retrospective analysis of 27 consecutive patients treated with decetaxel/nedaplatin combination therapy as a second-line regimen for advanced esophageal cancer.	Int J Clin Oncol.	12	224-227	2007
Matsui S, Fukushima M, et al.	Genomic characterization of multiple clinical phenotypes of cancer using multivariate linear regression models	Bioinformatics	23	732-738	2007
波戸岡俊三、篠田雅 幸、他	② Intensive insulin therapy 3.Intensive insulin therapy の実 際	静脈経腸栄養	22	323-327	2007
Saito Y, Kato K, et al	Endoscopic submucosal dissection of recurrent or residual superficial esophageal cancer after chemoradiotherapy.	<u>Gastrointest</u> <u>Endosc.</u>	67	355-359	2008
嶋田 裕 他	胸部早期食道癌	外科治療	96	399-405	2007

研究成果の刊行物・別刷

# 食道癌に対する化学（放射線）療法

## ■ 食道癌診断・治療ガイドライン

- 食道癌における手術単独の治療成績は50%を超えるようになってきたが、いまだ予後不良の癌であり、手術不能の状態で診断されることも多く、治療成績向上には手術療法、化学療法、放射線療法による集学的治療が不可欠である。2007年度改訂の食道癌診断・治療ガイドラインでは図1のごとく治療戦略が定められている<sup>1)</sup>。

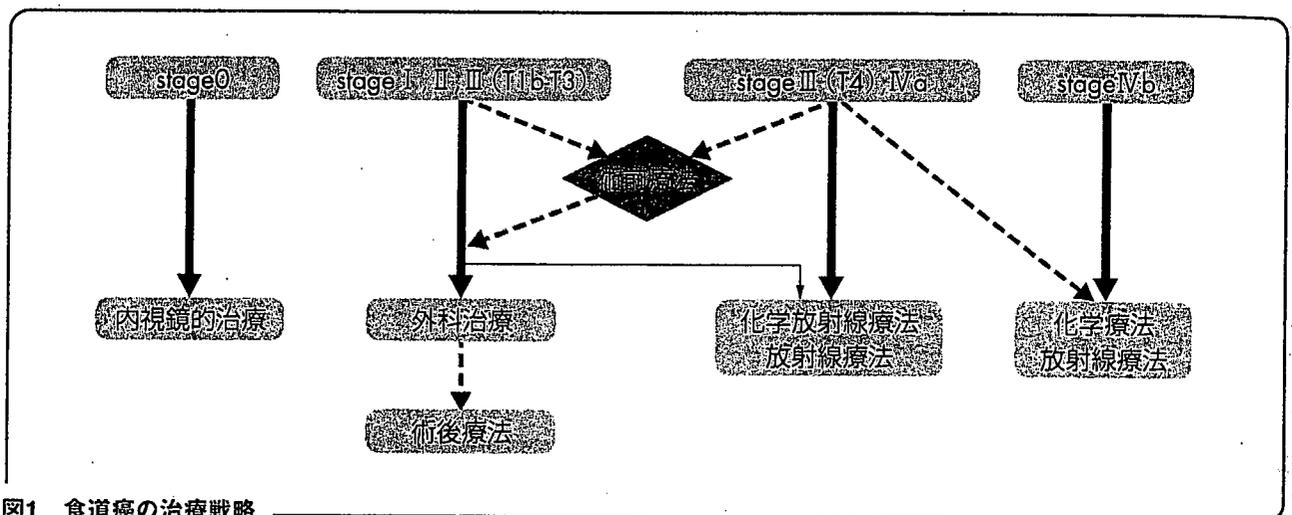


図1 食道癌の治療戦略

(文献1)より改変)

## ■ 病期による化学（放射線）療法の位置づけ

- 内視鏡的粘膜切除術（EMR）や内視鏡的粘膜下層切開・剥離術（ESD）で対応できる粘膜病変には化学（放射線）療法の適応はない。
- EMR, ESDで対応できないstage I 症例に対する根治的放射線療法で手術療法に匹敵する治療成績が得られるとされる（JCOG9708）。現在、根治的放射線療法と手術単独療法の多施設による無作為臨床試験が開始されている（JCOG0502）。
- stage II, III (non-T4) での標準治療は手術で、N0群では手術単独、N1群では術後化学療法が推奨されている。化学放射線療法で手術療法には及ばないがその差は少ないとする後ろ向き治療成績が報告されているが、まだエビデンスはなく臨床試験での評価が必要である。術前化学療法と術後化学療法が比較検討され（JCOG9907）その成果が待たれている。

- T4NanyMoに対しては化学放射線療法が第1選択であるが、治療関連死（大動脈穿破など）が少なからず存在する（JCOG0303）。化学放射線療法著効の遺残例に手術が考慮される。
- 遠隔転移例に対する治療は化学療法、放射線療法または化学放射線療法であり、通常は手術の適応はない。
- 進行食道癌に対しては副作用の観点から、low dose FP（5-FU/CDDP）療法がプラクティスで用いられているが、エビデンスがなかったことから標準量のstandard FP+照射療法とlow dose FP+照射療法の第II、III相試験が行われている（JCOG0303）。

**side MEMO** 化学放射線療法感受性予測

モダリティーに大きな差がある化学放射線療法と手術療法の治療が行われているが、よい患者選択法が現時点では存在しない。これに対して化学放射線療法による1年無増悪生存など（奏効例を目標とするのではなくCR継続を目指している）をエンドポイントとする生検標本のマイクロアレイ解析の多施設共同研究が行われている（TRIEC 0601）。成果が出れば治療選択の有用な情報となりうる。

**■** 食道癌における化学療法の目的

- 遠隔転移例に対する症状緩和、延命
- 術前・術後化学療法として予後向上
- 放射線療法との併用による根治または術前療法として予後向上

**■** 化学療法

- 主に手術や放射線との併用で使用される。化学療法単独での適応は遠隔転移を有する症例や術後の遠隔転移に限られる。
- 5-FU, シスプラチン（CDDP）, ネダプラチン, ビンデシン, プレオマイシン, ドセタキセル, マイトマイシンCなどで有効性が認められているが単独での奏効率は15~30%でCR例も稀であり、単剤での生存延長は認められていない（表1）（各薬剤の詳細については他稿参照）。

表1 化学療法単剤での治療成績

薬 剤	化学療法剤投与量・スケジュール	症例数	奏効率	文 献
5-FU	500mg/m <sup>2</sup> /day×5日	26	15	Edzinli et al : Cancer 1980
マイトマイシンC	20mg/m <sup>2</sup> 4~6週毎	24	42	Engstrom et al : Cancer Treat Rep 1983
CDDP	50mg/m <sup>2</sup> 3週毎	24	25	Engstrom et al : Cancer Treat Rep 1983
ビンデシン	3~4.5mg/m <sup>2</sup> 毎週	23	18	Kelsen et al : Cancer Treat Rep 1979
ドセタキセル	70mg/m <sup>2</sup> 3週毎	49	21	Muro et al : Ann Oncol 2004
ネダプラチン	100mg/m <sup>2</sup> 4週毎	29	52	田口 ほか：癌と化学療法 1992

（文献1）より改変）