

201019043A

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

新しい薬物療法の導入とその最適化に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 田村 友秀

平成23（2011）年 3月

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

新しい薬物療法の導入とその最適化に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 田村 友秀

平成23(2011)年 3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----- 1
田村友秀

II. 分担研究報告

- 分子標的薬剤の原理の証明と生物学的マーカーに関する臨床研究----- 12
田村友秀

- 分子標的薬のがん個別化治療への応用----- 16
南 博 信

- 抗癌薬の有害事象・効果関連分子の解明と臨床応用を目指した研究----- 18
小泉史明

- がん薬物治療最適化と創薬に有用なバイオマーカーの探索研究----- 21
桑野信彦

- 抗がん剤の分子標的評価と最適化研究----- 24
掛谷秀昭

- トランスポーターの制御による分子標的治療法の開発と薬効評価----- 26
杉本芳一

- 生物学的特性に基づく癌分子標的治療法の開発と臨床導入----- 28
岡本 勇

- 乳癌の化学療法効果予測法の開発----- 32
野口眞三郎

- がん薬物療法に対するバイオマーカー特定とその臨床応用----- 34
西尾和人

- III. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 37

- IV. 研究成果の刊行物・別刷----- 55

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

研究代表者 田村 友秀 国立がん研究センター中央病院 呼吸器腫瘍科呼吸器内科長

研究要旨

薬物療法の最適化を目指した、バイオマーカー研究と薬剤感受性規定因子解析を行い、以下の成果を得た。(1) TP53 変異より TP53-signature が化学療法効果と良好な相関を示した。(2) EGFR-TKI による急性肺障害に関わる多型 ABCB1 の rs28364274 を同定した。(3) 第2世代 EGFR-TKI は T790M 耐性細胞の TS 発現を抑制し、TS 標的抗癌剤の効果を増強した。(4) HGF は Snail を介して肝癌の EMT を誘導するが、ソラフェニブにより抑制される。(5) ABCB5 はタキサン耐性を誘導し、vanadate-sensitive ATPase 活性を持つ。(6) プロテオミクス解析で、Trastuzumab 耐性に関わるタンパクを同定した。(7) EGFR-TKI 耐性に、PTEN 発現と転写因子 Egr-1 の核内発現消失が関与した。(8) HIF 活性化を抑制する化合物としてアンサマイシン系化合物 cytotrienin A を見出した。

研究分担者

南 博信	神戸大学医学部附属病院・腫瘍・血液内科	特命教授
小泉史明	国立がん研究センター研究所ゲノム研究グループ	ユニット長
桑野信彦	九州大学大学院薬学研究院臨床薬学部門	特任教授
掛谷秀昭	京都大学大学院薬学研究科	教授
杉本芳一	慶應義塾大学薬学部	教授
岡本 勇	近畿大学医学部	准教授
野口眞三郎	大阪大学大学院医学系研究科	教授
西尾和人	近畿大学医学部	教授

(倫理面への配慮)

基礎研究においては、施設の倫理規定等に従って、動物実験は適正飼育を行い、苦痛を最小限に抑えるよう配慮する。臨床研究においては、ヘルシンキ宣言、臨床研究およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、IRB 承認、被験者の同意、個人情報の遵守を必須とする。

C. 研究結果

(1) 術前 P-FEC 化学療法を受けた乳癌 72 例について、化学療法前の腫瘍組織の TP53 変異および TP53 関連 31 遺伝子の発現解析に基づく TP53-signature と術前化学療法効果 p-CR との関連を解析した。TP 変異と TP53-signature の一致率は 71% であり、後者のみが p-CR と相関した。TP53 の function status (機能喪失) が TP53 変異より効果予測に有用であることが示された。

(2) EGFR-TKI による急性肺障害 (ILD) に関わる遺伝子多型を探索するため、患者 DNA を用いて疾患-対照関連解析を行った。ILD 群 12 例、対照群 54 例の候補遺伝子アプローチでは、ABCB1 の rs28364274 (coding, $p=0.00061$, uncorrected) が抽出された。連鎖不平衡マップからは ABCB4 が抽出された。さらに ILD 群 9 例、対照群 275 例を追加して検証した。rs28364274 は、3.17% の頻度で認められ、他人種では極めて稀な多型であった。

(3) 第2世代 EGFR-TKI である BIBW2992 は T790M

A. 研究目的

分子標的治療薬を中心とした新しい薬物療法について、(1) 臨床検体を用いた効果・毒性に関わるバイオマーカーの探索、(2) 薬剤感受性/耐性規定因子の解析と新薬の最適化研究、を実施することで、治療の最適化を目指す

B. 研究方法

本研究組織は、研究代表者の他、8名の分担研究者で構成される。研究方法の詳細は、C項および分担研究報告書に記載する。

を持つ EGFR-TKI 耐性肺癌細胞株において Thymidylate Synthase (TS)の発現を抑制することで、TS 標的抗癌剤 (S-1, ペメトトレキセド)の感受性を上昇させることを示した。EGFR-TKI に対する耐性克服に向けた新たな治療戦略として注目される。

(4) 肝細胞癌株において、HGF が強力な上皮間葉移行(EMT)誘導因子であり、これは Snail の発現亢進を介するあることを明らかにした。Raf-MEK 阻害剤であるソラフェニブは、HGF による Snail 発現亢進と EMT をほぼ完全に抑制した。ソラフェニブの肝細胞癌に対する臨床的有用性と関連していると推察され、治療効果のバイオマーカーとして有用である可能性がある。

(5) P-gp と同ファミリーに属する ABC 輸送体 ABCB5 について、ABCB5 発現細胞がドセタキセル、パクリタキセルなどに弱い耐性を示すこと、ドセタキセル耐性がベラパミル、キニジンなどにより阻害されること、また ABCB5 が p-gp と同様の vanadate-sensitive ATPase 活性を持つことを示した。

(6) Trastuzumab 耐性乳癌細胞株および親株を用いて投与前後で変動するタンパクをプロテオミクスの手法で網羅的に解析した。2 倍以上の変動を示しかつ $p < 0.0001$ のマーカーとして 17 のタンパク質と、13 のリン酸化ペプチドが同定された。これらのタンパク質の解析とともに、HER2-TKI についても同様のアプローチを進めている。

(7) 樹立した EGFR-TKI 耐性肺癌細胞の解析で、PTEN 発現と PTEN の転写制御因子 Egr-1 の核内発現消失が耐性獲得に関与することを示した。乳癌、肺癌細胞において YB-1 は HER2 発現を制御しており、YB-1 の核内発現が HER2 発現と有意に関連した。

(8) HIF 活性化を抑制する化合物としてアンサマイシン系化合物 cytotrienin A(サイトトリエン A)を見出した。cytotrienin A は培養細胞で HIF 活性化を抑制し、in vivo モデル(CAM assay)で顕著な血管新生阻害効果を示した。新たな抗がん剤のリード化合物として期待される。

E. 考察

薬物療法では、臨床効果や毒性に大きな個体差が存在し、有効例でもいずれ耐性を生じる。最大限の効果を得るには、「適切な患者に適切な治療を」という薬物療法の最適化が必要である。本研

究で得られた、分子標的薬の効果毒性など薬力学的作用のメカニズム、規定因子の解明は、治療効果の予測バイオマーカーとして有望であり、個別化治療への応用が期待される。また、耐性機構の解明や新たな標的分子の探索は、治療効果増強、創薬に向け重要な知見といえる。

E. 結論

TP53-signature が化学療法効果と良好に相関した。EGFR-TKI による急性肺障害に関わる多型を同定した。第2世代 EGFR-TKI は TS 標的抗癌剤の効果を増強する。HGF は肝癌の EMT を誘導し、ソラフェニブで抑制される。Trastuzumab 耐性関連タンパクを同定した。EGFR-TKI 耐性に PTEN が関わる。HIF 抑制作用からリード化合物を見出した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohyanagi, F., Horai, T., Sekine, I., Yamamoto, N., Nakagawa, K., Nishio, M., Senger, S., Morsli, N., Tamura, T. Safety of BLP25 Liposome Vaccine (L-BLP25) in Japanese Patients with Unresectable Stage III NSCLC after Primary Chemoradiotherapy: Preliminary Results from a Phase I/II Study. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, in press, 2011.
- 2) Sekine, I., Sumi, M., Ito, Y., Horinouchi, H., Nokihara, H., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Kubota, K., Tamura, T. Phase I Study of Concurrent High-Dose Three-Dimensional Conformal Radiotherapy with Chemotherapy Using Cisplatin and Vinorelbine for Unresectable Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, in press, 2011.
- 3) Ueda, Y., Shimoyama, T., Murakami, H., Yamamoto, N., Yamada, Y., Arioka, H., Tamura, T. Phase I and pharmacokinetic study of TSU-68, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor, by twice daily oral administration between meals in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 67(5):1101-9, 2011.

- 4) Murakami, H., Ueda, Y., Shimoyama, T., Yamamoto, N., Yamada, Y., Arioka, H., Tamura, T. Phase I, pharmacokinetic, and biological studies of TSU-68, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor, administered after meals with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 67(5):1119-28, 2011.
- 5) Yamada, K., Yamamoto, N., Yamada, Y., Nokihara, H., Fujiwara, Y., Hirata, T., Koizumi, F., Nishio, K., Koyama, N., Tamura, T. Phase I Dose-Escalation Study and Biomarker Analysis of E7080 in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res.*, 17(8):2528-37, 2011.
- 6) Sato, Y., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Minami, H., Laird, NM., Katori, N., Saito, Y., Ohnami, S., Sakamoto, H., Sawada, JI., Saijo, N., Yoshida, T., Tamura, T. Genome-Wide Association Study on Overall Survival of Advanced Non-small Cell Lung Cancer Patients Treated with Carboplatin and Paclitaxel. *J Thorac Oncol.*, 6(1):132-138, 2011.
- 7) Sekine, I., Kubota, K., Tamura, Y., Asahina, H., Yamada, K., Horinouchi, H., Nokihara, H., Yamamoto, N., Tamura, T. Innovator and generic cisplatin formulations: comparison of renal toxicity. *Cancer Sci.*, 102(1):162-5, 2011.
- 8) Saito, Y., Yamamoto, N., Katori, N., Maekawa, K., Fukushima-Uesaka, H., Sugimoto, D., Kurose, K., Sai, K., Kaniwa, N., Sawada, JI., Kunitoh, H., Ohe, Y., Yoshida, T., Matsumura, Y., Saijo, N., Okuda, H., Tamura, T. Genetic polymorphisms and haplotypes of POR encoding cytochrome P450 oxidoreductase in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 26(1):107-16, 2011.
- 9) Doi, T., Tahara, M., Yoshino, T., Yamazaki, K., Tamura, T., Yamada, Y., Yang, BB., Oliner, KS., Otani, S., Asahi, D. Tumor KRAS Status Predicts Responsiveness to Panitumumab in Japanese Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Jpn J Clin Oncol.*, 41(2):210-6, 2011.
- 10) Fujiwara, Y., Kiyota, N., Chayahara, N., Suzuki, A., Umeyama, Y., Mukohara, T., Minami, H. Management of axitinib (AG-013736)-induced fatigue and thyroid dysfunction, and predictive biomarkers of axitinib exposure: results from phase I studies in Japanese patients. *Invest New Drugs*, in press, 2011.
- 11) Matsugaki, T., Zenmyo, M., Hiraoka, K., Fukushima, N., Shoda, T., Komiya, S., Ono, M., Kuwano, M., and Nagata, K. N-myc downstream-regulated gene 1/Cap43 expression promotes cell differentiation of human osteosarcoma cells. *Oncology Rep.*, 24:721-25, 2011.
- 12) Uramoto, H., Shimokawa, H., Hanagiri, T., Kuwano, M. and Ono, M. Expression of selected gene for acquired drug resistance to EGFR-TKI in lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*, in press, 2011.
- 13) Okamoto, I., Shimizu, T., Miyazaki, M., Tsurutani, J., Ichikawa, Y., Terashima, M., Takeda, M., Fumita, S., Ohki, E., Kimura, N., Hashimoto, J., Nakagawa, K. Feasibility study of two schedules of sunitinib in combination with pemetrexed in patients with advanced solid tumors. *Investigational New Drugs*, in press, 2011.
- 14) Kidera, Y., Satoh, T., Ueda, S., Okamoto, W., Okamoto, I., Fumita, S., Yonesaka, K., Hayashi, H., Makimura, C., Okamoto, K., Kiyota, H., Tsurutani, J., Miyazaki, M., Yoshinaga, M., Fujiwara, K., Yamazoe, Y., Moriyama, K., Tsubaki, M., Chiba, Y., Nishida, S., Nakagawa, K. High-dose dexamethasone plus antihistamine prevents colorectal cancer patients treated with modified FOLFOX6 from hypersensitivity reactions induced by oxaliplatin. *Int J of Clinical Oncol.*, in press, 2011.
- 15) Azuma, K., Tsurutani, J., Sakai, K., Kaneda, H., Fujisaka, Y., Takeda, M., Watatani, M., Arao, T., Satoh, T., Okamoto, I., Kurata, T., Nishio, K., Nakagawa, K. Switching addictions between HER2 and FGFR2 in HER2-positive breast tumor cells: FGFR2 as a potential target for salvage after lapatinib failure. *Biochem Biophys Res Commun.*, in press, 2011.

- 16) Hayashi, H., Okamoto, I., Nakagawa, K. Perirenalhematoma associated with Bevacizumab. *Investigational New Drugs*, in press, 2011.
- 17) Takeda, M., Okamoto, I., Hirabayashi, N., Kitano, M., Nakagawa, K. Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase expression levels are associated with response to S-1 plus carboplatin in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, in press, 2011.
- 18) Takezawa, K., Okamoto, I., Okamoto, W., Takeda, M., Sakai, K., Tsukioka, S., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Nishio, K., Nakagawa, K. Thymidylate synthase as a determinant of pemetrexed sensitivity in non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer*, in press, 2011.
- 19) Takezawa, K., Okamoto, I., Nishio, K., Janne, P., Nakagawa, K. Role of ERK-BIM and STAT3-survivin signaling pathways in ALK inhibitor-induced apoptosis in EML4-ALK-positive lung cancer. *Clinical Cancer Res.*, 17(8):2140-8, 2011.
- 20) Tanizaki, J., Okamoto, I., Fumita, S., Okamoto, W., Nishio, K., Nakagawa, K. Roles of BIM induction and survivin down-regulation in lapatinib-induced apoptosis in breast cancer cells with HER2 amplification. *Oncogene*, in press, 2011.
- 21) Okamoto, I., Takahashi, T., Okamoto, H., Nakagawa, K., Watanabe, K., Nakamatsu, K., Nishimura, Y., Fukuoka, M., Yamamoto, N. Single-agent gefitinib with concurrent radiotherapy for locally advanced non-small cell lung cancer harboring mutations of the epidermal growth factor receptor. *Lung Cancer*, in press, 2011.
- 22) Hagiwara, S., Kudo, M., Ueshima, K., Chung, H., Yamaguchi, M., Takita, M., Haji, S., Kimura, M., Arai, T., Nishio, K., Park, A.M., Munakata, H. The cancer stem cell marker CD133 is a predictor of the effectiveness of S1+ pegylated interferon alpha-2b therapy against advanced hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol.*, 46(2):212-21, 2011.
- 23) Nagai, T., Arai, T., Furuta, K., Sakai, K., Kudo, K., Kaneda, H., Tamura, D., Aomatsu, K., Kimura, H., Fujita, Y., Matsumoto, K., Saijo, N., Kudo, M., Nishio, K. Sorafenib inhibits the hepatocyte growth factor-mediated epithelial mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther.*, 10(1):169-77, 2011.
- 24) Kashiwagi, E., Izumi, H., Yasuniwa, Y., Baba, R., Doi, Y., Kidani, A., Arai, T., Nishio, K., Naito, S., Kohno, K. Enhanced expression of nuclear factor I/B in oxaliplatin-resistant human cancer cell lines. *Cancer Sci.*, 102(2):382-9, 2011.
- 25) Kato, H., Nishimura, T., Ikeda, N., Yamada, T., Kondo, T., Saijo, N., Nishio, K., Fujimoto, J., Marco-Varga, G., et al. Developments for a growing Japanese patient population: Facilitating new technologies for future health care. *J Proteomics*, in press, 2011.
- 26) Tanioka, M., Nokihara, H., Yamamoto, N., Yamada, Y., Yamada, K., Goto, Y., Fujimoto, T., Sekiguchi, R., Uenaka, K., Callies, S., Tamura, T. Phase I study of LY2181308, an antisense oligonucleotide against survivin, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, in press, 2010.
- 27) Yamada, K., Yamamoto, N., Yamada, Y., Mukohara, T., Minami, H., Tamura, T. Phase I and Pharmacokinetic Study of ABI-007, Albumin-Bound Paclitaxel, Administered Every 3 Weeks in Japanese Patients with Solid Tumors. *Jpn J Clin Oncol.*, 40:404-411, 2010.
- 28) Fujisaka, Y., Yamada, Y., Yamamoto, N., Horiike, A., Tamura, T. A Phase 1 Clinical Study of Temsirolimus (CCI-779) in Japanese Patients with Advanced Solid Tumors. *Jpn J Clin Oncol.*, 40(8):732-8, 2010.
- 29) Sai, K., Saito, Y., Tatewaki, N., Hosokawa, M., Kaniwa, N., Nishimaki-Mogami, T., Naito, M., Sawada, J., Shirao, K., Hamaguchi, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Tamura, T., Yamada, Y., Ohe, Y., Yoshida, T., Minami, H., Ohtsu, A., Matsumura, Y., Saijo, N. & Okuda, H. Association of carboxylesterase 1A genotypes with irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer

- patients. *Br J Clin Pharmacol.*, 70(2):222-233, 2010.
- 30) Tanai, C., Yamamoto, N., Ohe, Y., Takahashi, T., Kunitoh, H., Murakami, H., Yamamoto, N., Nakamura, Y., Nokihara, H., Shukuya, T., Baldwin, JR., Koshiji, M., Tamura, T. A phase I study of enzastaurin combined with pemetrexed in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.*, 5(7):1068-74, 2010.
- 31) Kunitoh, H., Tamura, T., Shibata, T., Takeda, K., Katakami, N., Nakagawa, K., Yokoyama, A., Nishiwaki, Y., Noda, K., Watanabe, K., Saijo, N.; JCOG Lung Cancer Study Group. A phase II trial of dose-dense chemotherapy, followed by surgical resection and/or thoracic radiotherapy, in locally advanced thymoma: report of a Japan Clinical Oncology Group trial (JCOG 9606). *Br J Cancer*, 103(1):6-11, 2010.
- 32) Sai, K., Saito, Y., Maekawa, K., Kim, SR., Kaniwa, N., Nishimaki-Mogami, T., Sawada, J., Shirao, K., Hamaguchi, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Yamada, Y., Tamura, T., Yoshida, T., Matsumura, Y., Ohtsu, A., Saijo, N., Minami, H. Additive effects of drug transporter genetic polymorphisms on irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 66(1):95-105, 2010.
- 33) Ando, R., Makino, Y., Tamura, T., Yamamoto, N., Nishigaki, R., Kimura, T., Yokote, N., Yamamoto, H. Simple and sensitive HPLC method for determination of amrubicin and amrubicinol in human plasma: application to a clinical pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.*, 24(3):301-306, 2010.
- 34) Yamada, K., Nakao, M., Fukuyama, C., Nokihara, H., Yamamoto, N., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Ohki, E., Hashimoto, J., Tamura, T. Phase I study of TLR9 agonist PF-3512676 in combination with carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Sci.*, 101(1):188-95, 2010.
- 35) Fujisaka, Y., Yamada, Y., Yamamoto, N., Shimizu, T., Fujiwara, Y., Yamada, K., Tamura, T., Watanabe, H., Sun, YN., Bass, MB., Seki, M. Phase 1 study of the investigational, oral angiogenesis inhibitor motesanib in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 66(5):935-43, 2010.
- 36) Shiraishi, K., Kohno, T., Tanai, C., Goto, Y., Kuchiba, A., Yamamoto, S., Tsuta, K., Nokihara, H., Yamamoto, N., Sekine, I., Ohe, Y., Tamura, T., Yokota, J., Kunitoh, H. Association of DNA repair gene polymorphisms with response to platinum-based doublet chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.*, 28(33):4945-52, 2010.
- 37) Sugiyama, E., Kaniwa, N., Kim, SR., Hasegawa, R., Saito, Y., Ueno, H., Okusaka, T., Ikeda, M., Morizane, C., Kondo, S., Yamamoto, N., Tamura, T., Furuse, J., Ishii, H., Yoshida, T., Saijo, N., Sawada, J. Population pharmacokinetics of gemcitabine and its metabolite in Japanese cancer patients: impact of genetic polymorphisms. *Clin Pharmacokinet.*, 49(8):549-58, 2010.
- 38) Kozu, Y., Tsuta, K., Kohno, T., Sekine, I., Yoshida, A., Watanabe, S., Tamura, T., Yokota, J., Suzuki, K., Asamura, H., Furuta, K., Tsuda, H. The usefulness of mutation-specific antibodies in detecting epidermal growth factor receptor mutations and in predicting response to tyrosine kinase inhibitor therapy in lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*, in press, 2010.
- 39) Lara, PN. Jr, Chansky, K., Shibata, T., Fukuda, H., Tamura, T., Crowley, J., Redman, MW., Natale, R., Saijo, N., Gandara, DR. Common arm comparative outcomes analysis of phase 3 trials of cisplatin + irinotecan versus cisplatin + etoposide in extensive stage small cell lung cancer1: Final patient-level results from Japan Clinical Oncology Group 9511 and Southwest Oncology Group 0124. *Cancer*, 116(24):5710-5, 2010.
- 40) Taguchi, F., Kodera, Y., Katanasaka, Y., Yanagihara, K., Tamura, T., Koizumi, F. Efficacy of RAD001 (everolimus) against

- advanced gastric cancer with peritoneal dissemination. Invest New Drugs, in press, 2010.
- 41) Iijima, M., Fukino, K., Adachi, M., Tsukamoto, T., Murai, M., Naito, S., Minami, H., Furuse, J., Akaza, H. Sorafenib-associated hand-foot syndrome in Japanese patients. J Dermatol., 38(3):261-266, 2010.
 - 42) Mukohara, T., Nagai, S., Koshiji, M., Yoshizawa, K., Minami, H. Phase I dose escalation and pharmacokinetic study of oral enzastaurin (LY317615) in advanced solid tumors. Cancer Sci., 101 (10): 2193-2199, 2010.
 - 43) Mukohara, T., Nakajima, H., Mukai, H., Nagai, S., Itoh, K., Umeyama, Y., Hashimoto, J., Minami, H. Effect of axitinib (AG-013736) on fatigue, thyroid-stimulating hormone, and biomarkers: a phase study in Japanese patients. Cancer Sci., 101 (4):963-968, 2010.
 - 44) Kataoka, Y., Mukohara, T., Shimada, H., Saijo, N., Hirai, M., and Minami, H. Gain of function mutations of PIK3CA is associated with resistance to HER2-targeted agents in HER2-amplified breast cancer cell lines. Ann Oncol., 21(2):255-262, 2010.
 - 45) Tamura, K., Shimizu, C., Hojo, T., Akashi-Tanaka, S., Kinoshita, T., Yonemori, K., Kouno, T., Katsumata, N., Ando, M., Aogi, K., Koizumi, F., Nishio, K., Fujiwara, Y. Fc{gamma}R2A and 3A polymorphisms predict clinical outcome of trastuzumab in both neoadjuvant and metastatic settings in patients with HER2-positive breast cancer. An Oncol., in press, 2010.
 - 46) Yamamoto, C., Basaki, Y., Kawahara, A., Nakashima, K., Kage, M., Izumi, H., Kohno, K., Uramoto, H., Yasumoto, K., Kuwano, M., and Ono, M. Loss of PTEN expression by blocking nuclear translocation of EGR1 in gefitinib-resistant lung cancer cells harboring EGFR activating mutation. Cancer Res., 70:8715-25, 2010.
 - 47) Kawahara, A., Yamamoto, C., Nakashima, K., Azuma, K., Hattori, A., Kashihara, M., Aizawa, H., Basaki, Y., Kuwano, M., Kage, M., Mitsudomi, T. and Ono, M. Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in non-small cell lung cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. Clin. Cancer Res., 16:3163-170, 2010.
 - 48) Kawahara, A., Azuma, K., Hattori, S., Nakashima, K., Basaki, Y., Akiba, J., Takamori, S., Aizawa, H., Yanagawa, T., Izumi, H., Kohno, K., Kono, S., Kage, M., Kuwano, M., and Ono, M. The close correlation between 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and epidermal growth factor receptor activating mutation in non-small cell lung cancer. Human Pathol., 41:951-59, 2010.
 - 49) Basaki, Y., Taniguchi, K., Izumi, H., Murakami, Y., Kubo, T., Hosoi, F., Watari, K., Nakano, K., Kawaguchi, H., Ohno, S., Kohno, K., Ono, M. and Kuwano, M. Y-box protein-1 (YB-1) promotes cell cycle progression through CDC6-dependent pathway in human cancer cells. Eur. J. Cancer, 46:954-65, 2010.
 - 50) Hirano, G., Izumi, H., Kidani, A., Yasuniwa, Y., Han, B., Kusaba, H., Akashi, K., Kuwano, M., and Kohno, K. Enhanced expression of PCAF endows apoptosis resistance in cisplatin-resistant cells. Mol. Cancer Res., 8:864-72, 2010.
 - 51) Kawahara, A., Hattori, S., Akiba, J., Nakashima, K., Taira, T., Watari, K., Hosoi, F., Uba, M., Basaki, Y., Koufuji, K., Shirouzu, K., Akiyama, S., Kuwano, M., Kage, M., and Ono, M. Infiltration of thymidine phosphorylase-positive macrophages is closely associated with tumor angiogenesis and survival in intestinal type gastric cancer. Oncology Rep., 24:405-15, 2010.
 - 52) Murakami, Y., Hosoi, F., Izumi, H., Maruyama, Y., Ureshino, H., Watari, K., Kohno, K., Kuwano, M., and Ono, M. Identification of sites subjected to serine/threonine phosphorylation by SGK1 affecting N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43-dependent suppression of angiogenic CXC chemokine expression in

- human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, 396:376-81, 2010.
- 53) Song, YS., Oda, Y., Hori, M., Kuroiwa, K., Ono, M., Hosoi, F., Basaki, Y., Tokunaga, S., Kuwano, M., Naito, S., and Tsuneyoshi, M. N-myc downstream regulated gene1 (NDRG1)/Cap43 may play an important role in malignant progression of prostate cancer, in its close association with E-cadherin. *Human Pathol.*, 41:214-22, 2010.
- 54) Lindqvist, L., Robert, F., Merrick, W., Takeya, H., Fraser, C., Osada, H., Pelletier, J. Inhibition of translation by cytotriecin A - a member of the ansamycin family. *RNA*, 16(12): 2404-2413, 2010.
- 55) Nishimura, S., Arita, Y., Honda, M., Iwamoto, K., Matsuyama, A., Shirai, A., Kawasaki, H., Takeya, H., Kobayashi, T., Matsunaga, S., Yoshida, M. Marine antifungal theonellamides target 3 β -hydroxysterol to activate Rho1 signaling. *Nat. Chem. Biol.*, 6(7): 519-526, 2010.
- 56) Takeya, H., Nishimura, S. Novel natural products open the door of chemical biology and medicinal chemistry. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* 68(5):490-500, 2010.
- 57) Usuda, J., Tsunoda, Y., Ichinose, S., Ishizumi, T., Ohtani, K., Maehara, S., Ono, S., Tsutsui, H., Ohira, T., Okunaka, T., Furukawa, K., Sugimoto, Y., Kato, H., Ikeda, N. Breast cancer resistance protein (BCRP) is a molecular determinant of the outcome of photodynamic therapy (PDT) for centrally located early lung cancer. *Lung Cancer*, 67(2):198-204, 2010.
- 58) Kawahara, H., Noguchi, K., Katayama, K., Mitsuhashi, J., Sugimoto, Y. Pharmacological interaction with sunitinib is abolished by a germline mutation (1291T>C) of *BCRP/ABCG2* gene. *Cancer Sci.*, 101(6):1493-1500, 2010.
- 59) Yashiroda, Y., Okamoto, R., Hatsugai, K., Takemoto, Y., Goshima, N., Saito, T., Hamamoto, M., Sugimoto, Y., Osada, H., Seimiya, H., Yoshida, M. A novel yeast cell-based screening identifies flavone as a tankyrase inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.*, 394(3):569-573, 2010.
- 60) Yoshioka, H., Noguchi, K., Katayama, K., Mitsuhashi, J., Yamagoe, S., Fujimuro, M., Sugimoto, Y. Functional availability of gamma-herpesvirus K-cyclin is regulated by cellular CDK6 and p16INK4a. *Biochem Biophys Res Commun.*, 394(4):1000-1005, 2010.
- 61) Shigeta, J., Katayama, K., Mitsuhashi, J., Noguchi, K., Sugimoto, Y. BCRP/ABCG2 confers anticancer drug resistance without covalent dimerization. *Cancer Sci.*, 101(8):1813-1821, 2010.
- 62) Mitsuhashi, J., Hosoyama, H., Tsukahara, S., Katayama, K., Noguchi, K., Ito, Y., Hatake, K., Aiba, K., Takahashi, S., Sugimoto, Y. *In vivo* expansion of *MDR1*-transduced cells accompanied by a post-transplantation chemotherapy regimen with mitomycin C and methotrexate. *J Gene Med.*, 12(7): 596-603, 2010.
- 63) Hatsugai, K., Ohishi, T., Sugimoto, Y., Seimiya, H. Tankyrase-1 assembly to large protein complexes blocks its telomeric function. *FEBS Lett.*, 584(18): 3885-3890, 2010.
- 64) Takeda, K., Hida, T., Sato, T., Ando, M., Seto, T., Satouchi, M., Ichinose, Y., Katakami, N., Yamamoto, N., Kudoh, S., Sasaki, J., Matsui, K., Takayama, K., Kashii, T., Iwamoto, Y., Sawa, T., Okamoto, I., Kurata, T., Nakagawa, K., Fukuoka, M. Randomized Phase III Trial of Platinum-Doublet Chemotherapy Followed by Gefitinib Compared With Continued Platinum-Doublet Chemotherapy in Japanese Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Results of a West Japan Thoracic Oncology Group Trial (WJTOG0203). *J of Clinical Oncol.*, 28(5):753-760, 2010.
- 65) Mitsudomi, T., Morita, S., Yatabe, Y., Negoro, S., Okamoto, I., Tsurutani, J., Seto, T., Satouchi, M., Tada, H., Hirashima, T., Asami, K., Katakami, N., Takada, M., Yoshioka, H., Shibata, K., Kudoh, S., Shimizu, E., Saito, H., Toyooka, S., Nakagawa, K., Fukuoka, M. ;

- for the West Japan Oncology Group. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 11(2):121-128, 2010.
- 66) Kaneda, H., Arao, T., Tanaka, K., Tamura, D., Aomastu, K., Kudo, K., De Velasco M, A., Mastumoto, K., Fujita, Y., Yamada, Y., Tsurutani, J., Okamoto, I., Nakagawa, K., Nishio, K. FOXQ1 is overexpressed in colorectal cancer and enhances tumorigenicity and tumor growth. *Cancer Res.*, 70(5):2053-2063, 2010.
- 67) Shimizu, T., Okamoto, I., Tamura, K., Satoh, T., Miyazaki, M., Akashi, Y., Ozaki, T., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Phase I clinical and pharmacokinetic study of the glucose-conjugated cytotoxic agent D-19575 (glufosfamide) in patients with solid tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacol.*, 65:243-250, 2010.
- 68) Yoshida, T., Okamoto, I., Okamoto, W., Hatashita, E., Yamada, Y., Kuwata, K., Nishio, K., Fukuoka, M., Janne, PA., Nakagawa, K. Effects of Src inhibitors on cell growth and epidermal growth factor receptor and MET signaling in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer cells with acquired MET amplification. *Cancer Sci.*, 101(1):167-172, 2010.
- 69) Okamoto, K., Okamoto, I., Takezawa, K., Tachibana, I., Fukuoka, M., Nishimura, Y., Nakagawa, K. Cisplatin and Etoposide Chemotherapy Combined with Early Concurrent Twice-daily Thoracic Radiotherapy for Limited-disease Small Cell Lung Cancer in Elderly Patients. *Japanese J of Clinical Oncol.*, 40(1):54-9, 2010.
- 70) Kaneda, H., Okamoto, I., Hayashi, H., Yoshioka, H., Miyazaki, M., Kudoh, S., Kimura, T., Sugiura, T., Sawa, T., Takeda, K., Iwamoto, Y., Satouchi, M., Akita, K., Saito, H., Goto, I., Shibata, K., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Phase II Trial of Amrubicin for Second-Line Treatment of Advanced Non-small Cell Lung Cancer: Results of the West Japan Thoracic Oncology Group Trial (WJTOG0401). *J of Thoracic Oncol.*, 5(1):105-9, 2010.
- 71) Takeda, M., Okamoto, I., Fujita, Y., Arao, T., Ito, H., Fukuoka, M., Nishio, K., Nakagawa, K. De Novo Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR Mutation-Positive Patients with Non-small Cell Lung Cancer. *J of Thoracic Oncol.*, 5(3):399-400, 2010.
- 72) Iwasa, T., Okamoto, I., Takezawa, K., Yamanaka, K., Nakahara, T., Kita, A., Koutoku, H., Sasamata, M., Hatashita, E., Yamada, Y., Kuwata, K., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Marked anti-tumour activity of the combination of YM155, a novel survivin suppressant, and platinum-based drugs. *British J of Cancer*, 103(1):36-42, 2010.
- 73) Takezawa, K., Okamoto, I., Tsukioka, S., Uchida, J., Kiniwa, M., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Identification of thymidylate synthase as a potential therapeutic target for lung cancer. *British J of Cancer*, 103(3):354-361, 2010.
- 74) Takezawa, K., Okamoto, I., Tanizaki, J., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Fukuoka, M., Nishio, K., Nakagawa, K. Enhanced anticancer effect of the combination of BIBW2992 and thymidylate synthase-targeted agents in non-small cell lung cancer with the T790M mutation of epidermal growth factor receptor. *Mol. Cancer Therapeutics*, 9(6):1647-1656, 2010.
- 75) Tanizaki, J., Okamoto, I., Takezawa, K., Tsukioka, S., Uchida, J., Kiniwa, M., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Synergistic antitumor effect of S-1 and HER2-targeting agents in gastric cancer with HER2 amplification. *Mol. Cancer Therapeutics*, 9(5):1198-1207, 2010.
- 76) Okamoto, W., Okamoto, I., Yoshida, T., Okamoto, K., Takezawa, K., Hatashita, E., Yamada, Y., Kuwata, K., Arao, T., Yanagihara, K., Fukuoka, M., Nishio, K., Nakagawa, K. Identification of c-Src as a potential therapeutic target for

- gastric cancer and of MET activation as a cause of resistance to c-Src inhibition. *Mol. Cancer Therapeutics*, 9(5):1188-1197, 2010.
- 77) Takeda, M., Okamoto, I., Makimura, C., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Successful treatment with erlotinib after gefitinib-induced severe interstitial lung disease. *J of Thoracic Oncol.*, 5(7):1103-1104, 2010.
- 78) Takeda, M., Okamoto, I., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Successful treatment with erlotinib after gefitinib-related severe hepatotoxicity. *J of Clinical Oncol.*, 28(17):e273-274, 2010.
- 79) Hayashi, H., Okamoto, I., Ichikawa, Y., Miyazaki, M., Yoshioka, H., Kunimasa, K., Nakagawa, K. Retreatment of recurrent malignant pleural mesothelioma with cisplatin and Pemetrexed. *International J of Clinical Oncol.*, 15(5):497-499, 2010.
- 80) Okamoto, W., Okamoto, I., Tanaka, K., Hatashita, E., Yamada, Y., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Arao, T., Nishio, K., Fukuoka, M., Janne, PA., Nakagawa, K. TAK-701, a humanized monoclonal antibody to HGF, reverses gefitinib resistance induced by tumor-derived HGF in non-small cell lung cancer with an EGFR mutation. *Mol. Cancer Therapeutics*, 9(10):2785-2792, 2010.
- 81) Okamoto, K., Okamoto, I., Okamoto, W., Tanaka, K., Takezawa, K., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Nishio, K., Nakagawa, K. Role of survivin in EGFR inhibitor-induced apoptosis in non-small cell lung cancers positive for EGFR mutations. *Cancer Res.*, 70(24):10402-10410, 2010.
- 82) Okamoto, I., Doi, T., Ohtsu, A., Miyazaki, M., Tsuya, A., Kurei, K., Kobayashi, K., Nakagawa, K. Phase I Clinical and Pharmacokinetic Study of RAD001 (Everolimus) Administered Daily to Japanese Patients with Advanced Solid Tumors. *Jpn J of Clinical Oncol.*, 40(1):17-23, 2010.
- 83) Okamoto, I., Munakata, M., Miyazaki, M., Satoh, T., Takahata, T., Takamatsu, Y., Muto, O., Koike, K., Ishitani, K., Mukaiyama, T., Sakata, Y., Nakagawa, K., Tamura, K. Disturbance of the Growth Hormone-Insulin-like Growth Factor-1 Axis Associated with Poor Performance Status in Patients with Solid Tumors. *Jpn J of Clinical Oncol.*, 40(3):222-226, 2010.
- 84) Okamoto, I. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR-targeted anticancer therapy. *FEBS J.*, 277(2):309-15, 2010.
- 85) Okamoto, I., Miyazaki, M., Morinaga, R., Kaneda, H., Ueda, S., Hasegawa, Y., Satoh, T., Kawada, A., Fukuoka, M., Fukino, K., Tanigawa, T., Nakagawa, K. Phase I clinical and pharmacokinetic study of sorafenib in combination with carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Investigational New Drugs*, 28(6):844-853, 2010.
- 86) Okamoto, I., Takeda, K., Daga, H., Miyazaki, M., Yonesaka, K., Kiyota, H., Tsurutani, J., Ueda, S., Ichikawa, Y., Takeda, M., Sekiguchi, R., Tominaga, K., Enatsu, S., Nambu, Y., Nakagawa, K. Does escalation study of pemetrexed in combination with carboplatin followed by pemetrexed maintenance therapy for advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 70(2):168-173, 2010.
- 87) Okamoto, I., Kaneda, H., Satoh, T., Okamoto, W., Miyazaki, M., Morinaga, R., Ueda, S., Terashima, M., Tsuya, A., Sarashina, A., Konishi, K., Arao, T., Nishio, K., Kaiser, R., Nakagawa, K. Phase I Safety, Pharmacokinetic, and Biomarker Study of BIBF1120, an Oral Triple Tyrosine Kinase Inhibitor in Patients with Advanced Solid Tumors. *Mol. Cancer Therapeutics*, 9(10):2825-2833, 2010.
- 88) Okamoto, I., Yoshioka, H., Morita, S., Ando, M., Takeda, K., Seto, T., Yamamoto, N., Saka, H., Asami, K., Hirashima, T., Kudoh, S., Satouchi, M., Ikeda, N., Iwamoto, Y., Sawa, T., Miyazaki, M., Tamura, K., Kurata, K., Fukuoka, M., Nakagawa, K. Phase III trial comparing oral S-1 plus carboplatin with paclitaxel plus carboplatin in

- chemotherapy-naïve patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a west Japan oncology group study. *J of Clinical Oncol.*, 28(36):5240-5246, 2010.
- 89) Iwamoto, T., Yamamoto, N., Taguchi, T., Tamaki, Y. and Noguchi, S. BRCA1 promoter methylation in peripheral blood cells is associated with increased risk of breast cancer with BRCA1 promoter methylation. *Breast Cancer Res Treat.*, in press, 2010.
- 90) Naoi, Y., Kishi, K., Tanei, T., Tsunashima, R., Tominaga, N., Baba, Y., Kim, S. J., Taguchi, T., Tamaki, Y. and Noguchi, S. High genomic grade index associated with poor prognosis for lymph node-negative and estrogen receptor-positive breast cancers and with good response to chemotherapy. *Cancer*, in press, 2010.
- 91) Nukatsuka, M., Saito, H., Nakagawa, F., Abe, M., Uchida, J., Shibata, J., Matsuo, K. I., Noguchi, S. and Kuniwa, M. Oral fluoropyrimidine may augment the efficacy of aromatase inhibitor via the down-regulation of estrogen receptor in estrogen-responsive breast cancer xenografts. *Breast Cancer Res Treat.*, in press, 2010.
- 92) Naoi, Y., Kishi, K., Tanei, T., Tsunashima, R., Tominaga, N., Baba, Y., Kim, S. J., Taguchi, T., Tamaki, Y. and Noguchi, S. Development of 95-gene classifier as a powerful predictor of recurrences in node-negative and ER-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.*, in press, 2010.
- 93) Motomura, K., Ishitobi, M., Komoike, Y., Koyama, H., Nagase, H., Inaji, H. and Noguchi, S. Expression of Estrogen Receptor Beta and Phosphorylation of Estrogen Receptor Alpha Serine 167 Correlate with Progression-Free Survival in Patients with Metastatic Breast Cancer Treated with Aromatase Inhibitors. *Oncology*, 79:55-61, 2010.
- 94) Taguchi, T., Masuda, N., Nakayama, T., Motomura, K., Tsukamoto, F., Shimazu, K., Nomura, T., Morimoto, T., Yamamoto, H., Wakita, K., Nakano, Y., Yoneda, K., Inaji, H., Takatsuka, Y. and Noguchi, S. Phase II Trial in Japan of Sequential Administration of Weekly Paclitaxel Followed by FEC as Neoadjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Breast Cancer [KBCSG0206 Trial: Kinki Breast Cancer Study Group (KBCSG)]. *Oncology*, 78:302-308, 2010.
- 95) Tamura, D., Arao, T., Tanaka, K., Kaneda, H., Matsutomo, K., Kudo, K., Aomatsu, K., Fujita, Y., Watanabe, T., Saijo, N., Kotani, Y., Nishimura, Y., Nishio, K. Bortezomib potentially inhibits cellular growth of vascular endothelial cells through suppression of G2/M transition. *Cancer Sci.*, 101(6):1403-8, 2010.
- 96) Yamada, Y., Arao, T., Matsumoto, K., Gupta, V., Tan, Woei, Fedynshyn, J., Nakajima, T., Shimada, Y., Hamaguchi, T., Kato, K., Taniguchi, H., Saito, Y., Matsuda, T., Moriya, Y., Akasu, T., Fujita, S., Yamamoto, S., Nishio, K. Plasma concentrations of VCAM-1 and PAI-1: A predictive biomarker for post-operative recurrence in colorectal cancer. *Cancer Sci.*, 101(8):1886-90, 2010.
- 97) Ohkawa, Y., Miki, K., Suzuki, T., Nishio, K., Sugita, T., Kinoshita, K., Takahashi, K., Koyama, K. Antiangiogenic metabolites from a marine-derived fungus, *hypocreavinos*. *J Nat Prod.*, 73(4): 579-82, 2010.
- 98) Kaneko, A., Tsukada, M., Fukai, M., Suzuki, T., Nishio, K., Miki, K., Kinoshita, K., Takahashi, K., Koyama, K. KDR kinase inhibitor isolated from the mushroom *boletopsis leucomelas*. *J Nat Prod.*, 73(5):1002-4, 2010.
- 99) Tominaga, E., Tsuda, H., Arao, T., Nishimura, S., Takano, M., Kataoka, F., Nomura, H., Hirasawa, A., Aoki, D., Nishio, K. Amplification of GNAS may be an independent, qualitative, and reproducible biomarker to predict progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.*, 118(2):160-6, 2010.
- 100) Kasahara, K., Arao, T., Sasaki, K., Matsumoto, K., Sakai, A., Kimura, H., Sone, T., Horiike, A., Nishio, M., Ohira,

- T., Ikeda, N., Yamanaka, T., Saijo, N., Nishio, K. Impact of serum HGF on treatment response to EGFR tyrosine kinase inhibitors in patients with non-small-cell lung adenocarcinoma. Clin Cancer Res., 16(18):4616-24, 2010. 2010-254179)
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特になし
- 101) Izumi, H., Wakasugi, T., Shimajiri, S., Tanimoto, A., Sasaguri, Y., Kashiwagi, E., Yasuniwa, Y., Akiyama, M., Han, B., Wu, Y., Uchiumi, T., Arao, T., Nishio, K., Yamazaki, R., Kohno, K. Role of ZNF143 in tumor growth through transcriptional regulation of DNA replication and cell cycle-associated genes. Cancer Sci., 101(12):2538-45, 2010.
- 102) Aomatsu, K., Arao, T., Sugioka, K., Matsumoto, K., Tamura, D., Kudo, K., Kaneda, H., Tanaka, K., Fujita, Y., Shimomura, Y., Nishio, K. TGF- β induces sustained up-regulation of SNAI1 and SNAI2 through Smad and non-Smad pathways in a human corneal epithelial cell line. Invest Ophthalmol Vis Sci., 52(5):2437-43, 2010.
- 103) Kudo, K., Arao, T., Tanaka, K., Nagai, T., Furuta, K., Sakai, K., Kaneda, H., Matsumoto, K., Tamura, D., Aomatsu, K., Marco DA., Fujita, Y., Saijo, N., Kudo, M., Nishio, K. Antitumor activity of BIBF 1120, a Triple Angiokinase Inhibitor, and Use of VEGFR2+pTyr+ Peripheral Blood Leukocytes as a Pharmacodynamic Biomarker. Clin Cancer Res., in press, 2010.
- 104) Kim, HK., Choi, IJ., Kim, CG., Kim, HS., Ohima, A., Yamada, Y., Arao, T., Nishio, K., Michalowski, A., Green, JE. Three-gene predictor of clinical outcome for gastric cancer patients treated with chemotherapy. The Pharmacogenomics J., in press, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

- ・ 薬剤性肺障害の発症のリスク予測、該リスク予測のための遺伝子の検出方法及び検出用キット (特願 2010-130992)
- ・ EML4-ALK 融合遺伝子の高感度検出方法 (特願

「分子標的薬剤の原理の証明と生物学的マーカーに関する臨床研究」に関する研究

研究分担者 田村友秀 国立がん研究センター中央病院 呼吸器腫瘍科呼吸器内科長

研究要旨

後発医薬品の主要成分は先発品と同一であるものの、添加物などの詳細は不明であり、承認において臨床試験データも必要とされていない。本研究では、シスプラチンの先発品と後発品について、主要毒性である腎毒性の発現頻度と程度をレトロスペクティブに解析した。初回化学療法としてシスプラチン80mg/m²の一括投与を受けた胸部悪性腫瘍617例（先発品296例、後発品321例）について、化学療法中の血清クレアチニン値の変動を解析した。シスプラチン後発品の腎毒性は、先発品に比べ、とくに男性において、明らかに頻度・程度が高かった。後発品の開発において、治療域の狭い抗がん剤領域では、承認条件の見直しや承認後の安全性データの収集など慎重な対応が必要と思われる。

A. 研究目的

薬剤の承認においては、先発製品の承認後一定期間の後に、より安価な後発製品が承認を受け、市販されることになる。後発品の主要成分は先発品と同一であるものの、添加物などの詳細は不明であり、承認において臨床試験データも必要とされていない。このため、より安価での提供が可能となり、多くの医療機関で先発品から後発品への切り替えを積極的に実施している。副作用が必発で、治療域も狭い抗がん剤においても後発品の開発が推進されているが、その安全性についての検討はほとんど行われていない。

本研究では、シスプラチンの先発品と後発品について、主要毒性である腎毒性の発現頻度と程度をレトロスペクティブに解析した。

B. 研究方法

対象は、2000年11月より2009年3月の間に国立がん研究センター中央病院において、初回化学療法としてシスプラチン80mg/m²の一括投与を受けた胸部悪性腫瘍症例639例のうち、評価可能な617例である。2000年11月から2004年5月の期間は先発品のシスプラチンが用いられており（A群；296例）、2004年6月から2009年3月の期間は後発品（MARUKO）が用いられている

（B群；321例）。シスプラチン投与前後の輸液は、同一の方法が採用されている。

これらの症例について、病歴より背景因子、シスプラチンを含む化学療法全コースについて血清クレアチニン（CRN）値の変動のデータを収集し、解析した。統計学的検定には、Mann-Whitney test、Chi-squared testを用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立がん研究センター（当時は国立がんセンター）倫理審査委員会の承認を得て、実施した。

データ収集と解析においては、個人情報保護を厳守し、個人を特定する情報を削除した上、厳重な管理を行った。

C. 研究結果

617例の背景因子では、A群、B群で女性がいずれも24%、年齢中央値（範囲）がそれぞれ60（18-77）、60（18-75）、血清CRN前値がそれぞれ0.7（0.3-1.1）、PS 0-1がそれぞれ99%で、身長・体重も同様であった。シスプラチンを含む化学療法の実施コース数も中央値（範囲）で、A群3コース（1-3）、B群3コース（1-4）であった。

第1コースにおいて、コース中の最悪値CRNmaxと前値の増加幅の中央値（範囲）は、

全例：A群0.2（0-2.1） B群0.2（0-3.6） p=0.054

女性：A群0.2（0-1.0） B群0.2（0-1.2） p=0.96

男性：A群0.2（0-2.1） B群0.2（0-3.6） p=0.027

CTC-AEグレード2-3のCRN増加は、

全例：A群5.4% B群8.1%

女性：A群8.3% B群11.7%

男性：A群4.5% B群7.0%

と、後発品で頻度が高い傾向にあり、とくに男性でその傾向が強かった。

全コースにおいても、CRNmaxと前値の増加幅の中央値（範囲）は、

全例：A群0.3（0-2.1） B群0.4（0-3.6） p<0.001

女性：A群0.2（0-1.0） B群0.3（0-1.8） p=0.68

男性：A群0.3（0-2.1） B群0.5（0-3.6） p<0.001

CTC-AEグレード2-3のCRN増加は、

全例：A群11.5% B群21.8%

女性：A群18.1% B群24.7%

男性：A群9.4% B群20.9%

と、さらに明らかであった。

D. 考察

今回の解析で、シスプラチン後発品の腎毒性が先発品に比べ、わずかではあるが強いことが明らかになった。後発品は、先発品と同一の主成分より成るが添加物などが異なることも多く、その詳細は不明である。後発品の承認には製剤や薬物動態に関する事項の他に、実際の臨床のデータなどは求められていない。治療域の狭い抗がん剤においては、先発品と後発品のわずかな違いが、臨床での安全性に大きく影響する可能性がある。後発品の医療経済に果たす役割の重要性は十分認識する必要がある。一方で、抗がん剤に関する後発品承認条件の再考、承認後の市販後臨床試験・調査の義務化などの対策が必要と考える。

今回の解析では、先発品、後発品に限らず、男性においてより腎障害 (CRN上昇) が起こりやすいことが判明した。その機序の詳細は不明であるが、体格・骨格、相対的輸液量、ホルモンの関連などが考えられる。腎障害を予測することは、がん患者の治療計画の上で重要といえる。これには、タンパク結合・代謝・排泄などに規定される薬剤暴露や患者自身の修復能など様々な因子が関与すると思われる。今回の臨床データをもとに、血液検体が利用可能な症例に関して、腎障害に関連する遺伝的因子を解析することを検討中である。

E. 結論

EGFR-TKIによる急性肺障害への遺伝子多型を探索すシスプラチン後発品の腎毒性は、先発品に比べ、とくに男性において、明らかに頻度・程度が高かった。後発品の開発において、治療域の狭い抗がん剤領域では、承認条件の見直しや承認後の安全性データの収集など慎重な対応が必要と思われる

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

- 1) Ohyanagi, F., Horai, T., Sekine, I., Yamamoto, N., Nakagawa, K., Nishio, M., Senger, S., Morsli, N., Tamura, T. Safety of BLP25 Liposome Vaccine (L-BLP25) in Japanese Patients with Unresectable Stage III NSCLC after Primary Chemoradiotherapy: Preliminary Results from a Phase I/II Study. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, in press, 2011.
- 2) Sekine, I., Sumi, M., Ito, Y., Horinouchi, H., Nokihara, H., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Kubota, K., Tamura, T. Phase I Study of Concurrent High-Dose Three-Dimensional Conformal Radiotherapy with

Chemotherapy Using Cisplatin and Vinorelbine for Unresectable Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, in press, 2011.

- 3) Ueda, Y., Shimoyama, T., Murakami, H., Yamamoto, N., Yamada, Y., Arioka, H., Tamura, T. Phase I and pharmacokinetic study of TSU-68, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor, by twice daily oral administration between meals in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 67(5):1101-9, 2011.
- 4) Murakami, H., Ueda, Y., Shimoyama, T., Yamamoto, N., Yamada, Y., Arioka, H., Tamura, T. Phase I, pharmacokinetic, and biological studies of TSU-68, a novel multiple receptor tyrosine kinase inhibitor, administered after meals with solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 67(5):1119-28, 2011.
- 5) Yamada, K., Yamamoto, N., Yamada, Y., Nokihara, H., Fujiwara, Y., Hirata, T., Koizumi, F., Nishio, K., Koyama, N., Tamura, T. Phase I Dose-Escalation Study and Biomarker Analysis of E7080 in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res.*, 17(8):2528-37, 2011.
- 6) Sato, Y., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Minami, H., Laird, NM., Katori, N., Saito, Y., Ohnami, S., Sakamoto, H., Sawada, JI., Saijo, N., Yoshida, T., Tamura, T. Genome-Wide Association Study on Overall Survival of Advanced Non-small Cell Lung Cancer Patients Treated with Carboplatin and Paclitaxel. *J Thorac Oncol.*, 6(1):132-138, 2011.
- 7) Sekine, I., Kubota, K., Tamura, Y., Asahina, H., Yamada, K., Horinouchi, H., Nokihara, H., Yamamoto, N., Tamura, T. Innovator and generic cisplatin formulations: comparison of renal toxicity. *Cancer Sci.*, 102(1):162-5, 2011.
- 8) Saito, Y., Yamamoto, N., Katori, N., Maekawa, K., Fukushima-Uesaka, H., Sugimoto, D., Kurose, K., Sai, K., Kaniwa, N., Sawada, JI., Kunitoh, H., Ohe, Y., Yoshida, T., Matsumura, Y., Saijo, N., Okuda, H., Tamura, T. Genetic polymorphisms and haplotypes of POR encoding cytochrome P450 oxidoreductase in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 26(1):107-16, 2011.

- 9) Doi, T., Tahara, M., Yoshino, T., Yamazaki, K., Tamura, T., Yamada, Y., Yang, BB., Oliner, KS., Otani, S., Asahi, D. Tumor KRAS Status Predicts Responsiveness to Panitumumab in Japanese Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Jpn J Clin Oncol.*, 41(2):210-6, 2011.
- 10) Tanioka, M., Nokihara, H., Yamamoto, N., Yamada, Y., Yamada, K., Goto, Y., Fujimoto, T., Sekiguchi, R., Uenaka, K., Callies, S., Tamura, T. Phase I study of LY2181308, an antisense oligonucleotide against survivin, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, in press, 2010.
- 11) Yamada, K., Yamamoto, N., Yamada, Y., Mukohara, T., Minami, H., Tamura, T. Phase I and Pharmacokinetic Study of ABI-007, Albumin-Bound Paclitaxel, Administered Every 3 Weeks in Japanese Patients with Solid Tumors. *Jpn J Clin Oncol.*, 40: 404-411, 2010.
- 12) Fujisaka, Y., Yamada, Y., Yamamoto, N., Horiike, A., Tamura, T. A Phase I Clinical Study of Temsirolimus (CCI-779) in Japanese Patients with Advanced Solid Tumors. *Jpn J Clin Oncol.*, 40(8):732-8, 2010.
- 13) Sai, K., Saito, Y., Tatewaki, N., Hosokawa, M., Kaniwa, N., Nishimaki-Mogami, T., Naito, M., Sawada, J., Shirao, K., Hamaguchi, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Tamura, T., Yamada, Y., Ohe, Y., Yoshida, T., Minami, H., Ohtsu, A., Matsumura, Y., Saijo, N. & Okuda, H. Association of carboxylesterase 1A genotypes with irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients. *Br J Clin Pharmacol.*, 70(2)222-233, 2010.
- 14) Tanai, C., Yamamoto, N., Ohe, Y., Takahashi, T., Kunitoh, H., Murakami, H., Yamamoto, N., Nakamura, Y., Nokihara, H., Shukuya, T., Baldwin, JR., Koshiji, M., Tamura, T. A phase I study of enzastaurin combined with pemetrexed in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.*, 5(7):1068-74, 2010.
- 15) Kunitoh, H., Tamura, T., Shibata, T., Takeda, K., Katakami, N., Nakagawa, K., Yokoyama, A., Nishiwaki, Y., Noda, K., Watanabe, K., Saijo, N.; JCOG Lung Cancer Study Group. A phase II trial of dose-dense chemotherapy, followed by surgical resection and/or thoracic radiotherapy, in locally advanced thymoma: report of a Japan Clinical Oncology Group trial (JCOG 9606). *Br J Cancer*, 103(1):6-11, 2010.
- 16) Sai, K., Saito, Y., Maekawa, K., Kim, SR., Kaniwa, N., Nishimaki-Mogami, T., Sawada, J., Shirao, K., Hamaguchi, T., Yamamoto, N., Kunitoh, H., Ohe, Y., Yamada, Y., Tamura, T., Yoshida, T., Matsumura, Y., Ohtsu, A., Saijo, N., Minami, H. Additive effects of drug transporter genetic polymorphisms on irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 66(1):95-105, 2010.
- 17) Ando, R., Makino, Y., Tamura, T., Yamamoto, N., Nishigaki, R., Kimura, T., Yokote, N., Yamamoto, H. Simple and sensitive HPLC method for determination of amrubicin and amrubicinol in human plasma: application to a clinical pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr.*, 24 (3): 301-306, 2010.
- 18) Yamada, K., Nakao, M., Fukuyama, C., Nokihara, H., Yamamoto, N., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Ohki, E., Hashimoto, J., Tamura, T. Phase I study of TLR9 agonist PF-3512676 in combination with carboplatin and paclitaxel in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Sci.*, 101(1):188-95, 2010.
- 19) Fujisaka, Y., Yamada, Y., Yamamoto, N., Shimizu, T., Fujiwara, Y., Yamada, K., Tamura, T., Watanabe, H., Sun, YN., Bass, MB., Seki, M. Phase I study of the investigational, oral angiogenesis inhibitor motesanib in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 66(5):935-43, 2010.
- 20) Shiraishi, K., Kohno, T., Tanai, C., Goto, Y., Kuchiba, A., Yamamoto, S., Tsuta, K., Nokihara, H., Yamamoto, N., Sekine, I., Ohe, Y., Tamura, T., Yokota, J., Kunitoh, H. Association of DNA repair gene polymorphisms with response to platinum-based doublet chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.*, 28(33):4945-52, 2010.
- 21) Sugiyama, E., Kaniwa, N., Kim, SR., Hasegawa, R., Saito, Y., Ueno, H., Okusaka, T., Ikeda, M., Morizane, C., Kondo, S., Yamamoto, N., Tamura, T., Furuse, J., Ishii, H., Yoshida, T., Saijo, N., Sawada, J. Population pharmacokinetics of gemcitabine and its

metabolite in Japanese cancer patients: impact of genetic polymorphisms. Clin Pharmacokinet., 49(8):549-58, 2010.

- 22) Koza, Y., Tsuta, K., Kohno, T., Sekine, I., Yoshida, A., Watanabe, S., Tamura, T., Yokota, J., Suzuki, K., Asamura, H., Furuta, K., Tsuda, H. The usefulness of mutation-specific antibodies in detecting epidermal growth factor receptor mutations and in predicting response to tyrosine kinase inhibitor therapy in lung adenocarcinoma. Lung Cancer, in press, 2010.
- 23) Lara, PN. Jr, Chansky, K., Shibata, T., Fukuda, H., Tamura, T., Crowley, J., Redman, MW., Natale, R., Saijo, N., Gandara, DR. Common arm comparative outcomes analysis of phase 3 trials of cisplatin + irinotecan versus cisplatin + etoposide in extensive stage small cell lung cancer1: Final patient-level results from Japan Clinical Oncology Group 9511 and Southwest Oncology Group 0124. Cancer, 116(24):5710-5, 2010.
- 24) Taguchi, F., Koderu, Y., Katanasaka, Y., Yanagihara, K., Tamura, T., Koizumi, F. Efficacy of RAD001 (everolimus) against advanced gastric cancer with peritoneal dissemination. Invest New Drugs, in press, 2010.

H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

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

分子標的薬のがん個別化治療への応用に関する研究

研究分担者 南 博信 神戸大学大学院医学系研究科内科学講座腫瘍・血液内科学、教授

研究要旨

Trastuzumab耐性乳がん細胞株を用いてtrastuzumabの作用前後で変動するタンパクをプロテオミクス的手法を用いて同定した。MET阻害薬であるforetinibはFGFR2の阻害作用も有することを見出した。Foretinibの抗腫瘍効果胃がん細胞株によってはFGFR2の阻害作用による場合もあることが示唆された。

A. 研究目的

我々は、分子標的薬の個別化投与に繋がるバイオマーカーを確立するため研究を行っている。本年度は、i) HER2陽性乳がん細胞株のtrastuzumab耐性株を用いて抗HER2療法耐性機序の解明とバイオマーカーを同定すること、ii) 胃がん細胞株における多標的キナーゼ阻害薬foretinibの作用メカニズムを明らかにすること、を目的として研究を実施した。

B. 研究方法

i) 乳がん細胞株の抗HER2薬耐性における体制機序の検討

昨年までの本研究において抗HER2モノクローナル抗体(trastuzumab)や小分子HER2キナーゼ阻害薬(CL-378, 785)に対する耐性におけるPIK3CA活性化型変異の役割について*in vitro*で検討した。本年はtrastuzumab耐性機序をさらに解明するために、trastuzumab耐性株と親株にtrastuzumabを作用させ、細胞たんぱく質を抽出し変動するタンパクをプロテオミクス的手法を用いて網羅的に解析した。その際リン酸化ペプチドを濃縮した条件と濃縮しない条件の二つを用いて検討した。

ii) 胃がん細胞株における多標的キナーゼ阻害薬、foretinibの作用機序の検討

Met, PDGFR, VEGFRなど複数の標的の阻害薬であるforetinib (GSK1363089)の効果を5つの胃がん細胞株(KATO-III, MKN-1, MKN-7, MKN-, MKN-45, MKN-74)を用いて検討した。さらにMETの増幅が確認できたMKN-45とKATO-IIIではMET阻害薬であるPHA665752の効果も検討した。また、METの抑制がAktの抑制につながらなかったKATO-IIIではFGFRの阻害薬であるPDA173074の影響も検討した。KATO-IIIではFGFR2の阻害が抗腫瘍効果につながっている可能性が示唆されたため、FGFR2が増幅しているOCUM-2Mを用いてforetinib、PHA665752、PDA173074の効果を検討した。

(倫理面への配慮)

これらの研究は、細胞株を用いた*in vitro*の研究であ

り、各倫理指針には該当しない。

C. 研究結果

i) 全部で1402種類のペプチドイオンピークを検出し907個のタンパク質を同定した。リン酸化部位を含むペプチドイオンピークは全部で925個を検出し555個のタンパク質を同定した。異なるリン酸化ペプチド数は789個であった。2倍以上の変動を示しかつ $p < 0.0001$ の統計学的有意度においてtrastuzumab耐性のマーカーとして17のタンパク質と、13のリン酸化ペプチドが同定された。

ii) 5つの胃がん細胞株(KATO-III, MKN-1, MKN-7, MKN-, MKN-45, MKN-74)のうちMetに遺伝子増幅のあるKATO-IIIとMKN-45の IC_{50} はそれぞれ7、30nMと他の細胞株の >800 nMと比べて有意に高い感受性を示した。MKN-45ではMET阻害薬であるforetinibとPHA665752によりMETおよびその下流のシグナルが抑制された。一方、KATO-IIIではMETは抑制されたが下流のAktの抑制はみられず、FGFRの阻害薬であるPDA173074によりAktの抑制が観察された。これは今まで知られていなかったforetinibによるFGFRの抑制作用を示唆した。そこでFGFR2が増幅しているOCUM-2Mを用いて検討したところ、PDA173074とforetinibでFGFRとAktがともに抑制された。

リン酸化受容体チロシンキナーゼアレイを用いて検討したところ、foretinibはMKN-45細胞においてMETを阻害することによりEGFR, HER3, FGFR3を阻害し、KATO-IIIではFGFR2を阻害することによりEGFR, HER3, METを阻害していた。

D. 考察

昨年までの本研究で抗HER2療法の耐性の機序としてPI3Kの活性化が重要であり、また、trastuzumab耐性のHER2陽性乳がん細胞株は小分子化合物には感受性を示すなど抗HER2療法でも抗体薬と小分子化合物では耐性の機序が違うことを示してきた。本年度はtrastuzumab耐性株と親株を用いてtrastuzumab暴露の前後で変動するタンパクをプロテオミクス的手法を用いて解析

し、いくつかのタンパクを同定することができた。これらのタンパクの意義を今後の研究で明らかにしていくとともに、小分子化合物を作用させたときのタンパクの変化もプロテオミクスで解析する予定である。これらの研究で抗HER2療法の個別化につながるバイオマーカーを同定することを目標とする。

さらに本年度はforetinibの胃がん細胞に対する作用機序を検討し、従来知られていなかったforetinibのFGFR阻害作用を見出した。これは本薬の臨床開発に重要な指針を示す知見であると考えている。

E. 結論

Trastuzumab耐性乳がん細胞株を用いてtrastuzumabの作用前後で変動するタンパクをプロテオミクスの手法を用いて同定した。MET阻害薬であるforetinibはFGFR2の阻害作用も有することを見出した。Foretinibの抗腫瘍効果は胃がん細胞によってはFGFR2の阻害作用による場合もあることが示唆された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

- 1) Iijima M, Fukino K, Adachi M, Tsukamoto T, Murai M, Naito S, Minami H, Furuse J, Akaza H. Sorafenib-associated hand-foot syndrome in Japanese patients. *J Dermatol* 2011; 38 (3): 261-266
- 2) Fujiwara Y, Kiyota N, Chayahara N, Suzuki A, Umeyama Y, Mukohara T, Minami H. Management of axitinib (AG-013736)-induced fatigue and thyroid dysfunction, and predictive biomarkers of axitinib exposure: results from phase I studies in Japanese patients. *Invest New Drugs* 2011 (Epub)
- 3) Mukohara T, Nagai S, Koshiji M, Yoshizawa K, Minami H. Phase I dose escalation and pharmacokinetic study of oral enzastaurin (LY317615) in advanced solid tumors. *Cancer Sci* 2010; 101 (10): 2193-2199
- 4) Mukohara T, Nakajima H, Mukai H, Nagai S, Itoh K, Umeyama Y, Hashimoto J, Minami H. Effect of axitinib (AG-013736) on fatigue, thyroid-stimulating hormone, and biomarkers: a phase study in Japanese patients. *Cancer Sci* 2010; 101 (4): 963-968
- 5) Kataoka Y, Mukohara T, Shimada H, Saijo N, Hirai M, and Minami H. Gain of function mutations of PIK3CA is associated with resistance to

HER2-targeted agents in HER2-amplified breast cancer cell lines. *Ann Oncol* 2010; 21 (2): 255-262.

H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし