

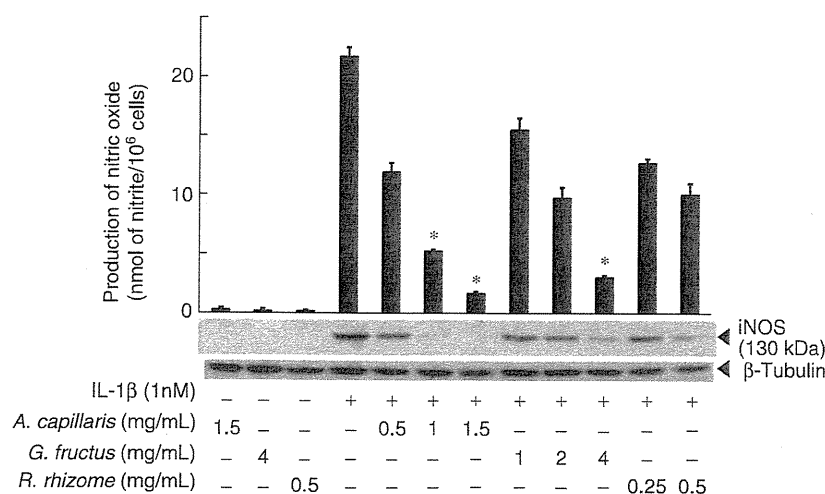


Figure 8 Effects of the three components of kampo inchinkoto (TJ-135) on nitric oxide (NO) production and inducible nitric oxide synthase (iNOS) induction. Cultured hepatocytes were treated with IL-1 β (1 nM) for 8 h in the presence or absence of extracts from *A. capillaris* (0.5–1.5 mg/mL), *Gardenia fructus* (1–4 mg/mL) and *Rhei rhizome* (0.25–0.5 mg/mL). The levels of nitrite were measured in the culture medium (data are means $\pm$ standard deviation [SD], $n = 3$ dishes/point; * $P \leq 0.05$ vs. IL-1 β alone). In the western blotting panels, cell lysates (20 μ g of protein) were subjected to sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) in a 7.5% gel, and immunoblotted with an anti-iNOS or anti- β -tubulin antibody.

production in animal models of liver injury and primary cultured hepatocytes.

Delayed treatment with TJ-135 or withdrawal of TJ-135 after IL-1 β addition was found to cause a significant reduction in NO production and iNOS protein expression (Figs 6,7a,b). The fact that a delay in initiating treatment does not abrogate the effects of the drug may be of clinical importance, since TJ-135 treatment is not usually administered at the precise moment of disease onset. In the case of the 3 h withdrawal treatment, TJ-135 reduced the levels of NO production and iNOS protein expression to the same extent as TJ-135 addition without withdrawal. We concluded that delayed treatment with TJ-135, unlike withdrawal treatment, could not influence the IL-1 β -stimulated, Akt-driven expression of IL-1RI mRNA, since these events are almost complete at 3 h (Fig. 4a,b). The resultant inhibition of iNOS induction will therefore be smaller. However, we found that both delayed and withdrawal treatments reduced the expression of iNOS mRNA and its antisense-transcript to similar levels (Fig. 7c,d). These treatments were also equi-effective at inhibiting NF- κ B activation (Fig. 7e) and nuclear translocation of p65 (Fig. 7f). We cannot therefore rule out the possibility that TJ-135 may affect iNOS induction at a translational step by inhibiting IL-1RI upregulation *via* the PI3K/Akt pathway.

Recently, Kawai *et al.*³⁶ have reported that preoperative administration of inchinkoto exerts beneficial effects in rat liver with ischemia-reperfusion and subsequent hepatectomy, where inchinkoto attenuated ischemia-reperfusion injury-induced mortality. They demonstrated that inchinkoto reduced the upregulation of genes for inflammatory cytokines and iNOS, and increased levels of liver nitrotyrosine. Nitrotyrosine is an oxidative product of peroxynitrite formed by excess NO, and is a marker of NO-dependent damage *in vivo*. We found that all three components in inchinkoto, *A. capillaris*, *G. fructus* and *R. rhizome*, are involved in the inhibitory effect of TJ-135 on NO production, where *A. capillaris* contributes most significantly to the effect of TJ-135 (Fig. 8). We also found that genipin, the major ingredient of *G. fructus* and an aglycone converted in the gut by intestinal bacteria from geniposide,³⁷ inhibited the induction of iNOS (T. Matsuura and T. Okumura, unpubl. data, 2010). Genipin was also found to reduce iNOS in a rat model of ischemia-reperfusion injury.³⁶

In conclusion, TJ-135 inhibited the induction of iNOS gene expression through the inhibition of its promoter transactivation and mRNA stabilization in pro-inflammatory cytokine-stimulated hepatocytes, a simple *in vitro* liver injury model. TJ-135 may have therapeutic

potential for a variety of organ injuries including acute liver dysfunction by suppressing iNOS induction.

REFERENCES

- 1 Arai M, Yokosuka O, Fukai K *et al.* A case of severe acute hepatitis of unknown etiology treated with the Chinese herbal medicine Inchinko-to. *Hepatol Res* 2004; 28: 161–5.
- 2 Ohwada S, Kobayashi I, Hasegawa N, Tsuda K, Inui Y. Severe acute cholestatic hepatitis of unknown etiology successfully treated with the Chinese herbal medicine Inchinko-to (TJ-135). *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2927–9.
- 3 Okada K, Shoda J, Kano M *et al.* Inchinkoto, a herbal medicine, and its ingredients dually exert Mrp2/MRP2-mediated cholestasis and Nrf2-mediated antioxidative action in rat livers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1450–63.
- 4 Shoda J, Miura T, Utsunomiya H *et al.* Genipin enhances Mrp2 (Abcc2)-mediated bile formation and organic anion transport in rat liver. *Hepatology* 2004; 39: 167–78.
- 5 Ikeda H, Nagashima K, Yanase M *et al.* The herbal medicine inchin-ko-to (TJ-135) induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells. *Life Sci* 2006; 78: 2226–33.
- 6 Inao M, Mochida S, Matsui A *et al.* Japanese herbal medicine Inchin-ko-to as a therapeutic drug for liver fibrosis. *J Hepatol* 2004; 41: 584–91.
- 7 Colasanti M, Suzuki H. The dual personality of NO. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 249–52.
- 8 Tsuchiya H, Kaibori M, Yanagida H *et al.* Pirfenidone prevents endotoxin-induced liver injury after partial hepatectomy in rats. *J Hepatol* 2004; 40: 94–101.
- 9 Tsuji K, Kwon A-H, Yoshida H *et al.* Free radical scavenger (edaravone) prevents endotoxin-induced liver injury after partial hepatectomy in rats. *J Hepatol* 2005; 42: 94–101.
- 10 Tanaka H, Uchida Y, Kaibori M *et al.* Na⁺/H⁺ exchanger inhibitor, FR183998, has protective effect in lethal acute liver failure and prevents iNOS induction in rats. *J Hepatol* 2008; 48: 289–99.
- 11 Hijikawa T, Kaibori M, Uchida Y *et al.* Insulin-like growth factor-I prevents liver injury through the inhibition of TNF- α and iNOS induction in d-galactosamine and lipopolysaccharide-treated rats. *Shock* 2008; 29: 740–7.
- 12 Ishizaki M, Kaibori M, Uchida Y *et al.* Protective effect of FR183998, a Na⁺/H⁺ exchanger inhibitor, and its inhibition of iNOS induction in hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Shock* 2008; 30: 311–17.
- 13 Nakanishi H, Kaibori M, Teshima S *et al.* Pirfenidone inhibits the induction of iNOS stimulated by interleukin-1 β at a step of NF- κ B DNA binding in hepatocytes. *J Hepatol* 2004; 41: 730–6.
- 14 Yoshida H, Kwon A-H, Kaibori M *et al.* Edaravone prevents iNOS expression by inhibiting its promoter transactivation and mRNA stability in cytokine-stimulated hepatocytes. *Nitric Oxide Biol Chem* 2008; 18: 105–12.
- 15 Kanemaki T, Kitade H, Hiramatsu Y, Kamiyama Y, Okumura T. Stimulation of glycogen degradation by prostaglandin E2 in primary cultured rat hepatocytes. *Prostaglandins* 1993; 45: 459–74.
- 16 Seglen PO. Preparation of isolated rat liver cells. *Methods Cell Biol* 1976; 13: 29–83.
- 17 Horiuti Y, Ogishima M, Yano K, Shibuya Y. Quantification of cell nuclei isolated from hepatocytes by cell lysis with nonionic detergent in citric acid. *Cell Struct Funct* 1991; 16: 203–7.
- 18 Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131–8.
- 19 Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156–9.
- 20 Nishizawa M, Nakajima T, Yasuda K *et al.* Close kinship of human 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase gene with three aldo-keto reductase genes. *Genes Cells* 2000; 5: 111–25.
- 21 Unezaki S, Nishizawa M, Okuda-Ashitaka E *et al.* Characterization of the isoforms of MOVO zinc finger protein, a mouse homologue of *Drosophila Ovo*, as transcription factors. *Gene* 2004; 336: 47–58.
- 22 Schreiber E, Matthias P, Müller MM, Schaffner W. Rapid detection of octamer binding proteins with mini-extracts, prepared from a small number of cells. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 6419.
- 23 Oda M, Sakitani K, Kaibori M, Inoue T, Kamiyama Y, Okumura T. Vicinal dithiol-binding agent, phenylarsine oxide, inhibits iNOS gene expression at a step of NF- κ B DNA binding in hepatocytes. *J Biol Chem* 2000; 275: 4369–73.
- 24 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248–54.
- 25 Matsui K, Kawaguchi Y, Ozaki T *et al.* Effect of active hexose correlated compound on the production of nitric oxide in hepatocytes. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2007; 31: 373–81.
- 26 Inoue T, Kwon A-H, Oda M *et al.* Hypoxia and heat inhibit inducible nitric oxide synthase gene expression by different mechanisms in rat hepatocytes. *Hepatology* 2000; 32: 1037–44.
- 27 Kitade H, Sakitani K, Inoue K *et al.* Interleukin-1 β markedly stimulates nitric oxide formation in the absence of other cytokines or lipopolysaccharide in primary cultured rat hepatocytes, but not in Kupffer cells. *Hepatology* 1996; 23: 797–802.
- 28 Sakitani K, Nishizawa M, Inoue K, Masu Y, Okumura T, Ito S. Synergistic regulation of inducible nitric oxide synthase gene by CCAAT/enhancer-binding protein b and nuclear factor- κ B in hepatocytes. *Genes Cells* 1998; 3: 321–30.

- 29 Yamada M, Nishizawa M, Nakatake R *et al.* Characterization of alternatively spliced isoforms of the type I interleukin-1 receptor on iNOS induction in rat hepatocytes. *Nitric Oxide Biol Chem* 2007; 17: 98–105.
- 30 Kleinert H, Pautz A, Linker K, Schwarz PM. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 255–66.
- 31 Akira S, Kishimoto T. NF-IL6 and NF-kB in cytokine gene regulation. *Adv Immunol* 1997; 65: 1–46.
- 32 Teshima S, Nakanishi H, Nishizawa M *et al.* Up-regulation of IL-1 receptor through PI3K/Akt is essential for the induction of iNOS gene expression in hepatocytes. *J Hepatol* 2004; 40: 616–23.
- 33 Pautz A, Linker K, Hubrich R, Korhonen R, Altenhofer S, Kleivert H. The polypyrimidine tract-binding protein (PTB) is involved in the post-transcriptional regulation of human inducible nitric oxide synthase expression. *J Biol Chem* 2006; 281: 32294–302.
- 34 Matsui K, Nishizawa M, Ozaki T *et al.* Natural antisense transcript stabilizes inducible nitric oxide synthase mRNA in rat hepatocytes. *Hepatology* 2008; 47: 686–97.
- 35 Araki Y, Matsumiya M, Matsuura T *et al.* Sivelestat suppresses iNOS gene expression in proinflammatory cytokine-stimulated hepatocytes. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1672–81.
- 36 Kawai K, Yokoyama Y, Kokuryo T, Watanabe K, Kitagawa T, Nagino M. Inchinkoto, an herbal medicine, exerts beneficial effects in the rat liver under stress with hepatic ischemia-reperfusion and subsequent hepatectomy. *Ann Surg* 2010; 251: 692–700.
- 37 Akao T, Kobayashi K, Aburada M. Enzymic studies on the animal and intestinal bacterial metabolism of geniposide. *Biol Pharm Bull* 1994; 17: 1573–6.

原発巣の mRNA 発現からみた切除不能大腸癌肝転移に対する mFOLFOX6 療法の効果予測

石橋敬一郎^{*1} 岡田 典倫^{*1} 田島 雄介^{*1} 石 畝 亨^{*1} 桑原 公亀^{*1}
大澤 智徳^{*1} 隈元 謙介^{*1} 辻 美 隆^{*1} 芳賀 紀裕^{*1} 岩間 毅夫^{*1}
石田 秀行^{*1} 小野内常子^{*2} 屋嘉比康治^{*3}

[*Jpn J Cancer Chemother* 38(12): 2220-2223, November, 2011]

Prediction of the Efficacy of Modified FOLFOX6 Therapy According to the mRNA Levels of Thymidylate Synthase (TS), Excision Repair Cross-Complementing-1 and -2 (ERCC-1 and ERCC-2) and Methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase (MTHFD) in the Primary Lesion of Colorectal Cancer: Keiichi Ishibashi^{*1}, Norimichi Okada^{*1}, Yusuke Tajima^{*1}, Toru Ishiguro^{*1}, Kouki Kuwabara^{*1}, Tomonori Ohsawa^{*1}, Kensuke Kumamoto^{*1}, Yoshitaka Tsuji^{*1}, Norihiro Haga^{*1}, Takeo Iwama^{*1}, Hideyuki Ishida^{*1}, Tsuneko Onouchi^{*2} and Koji Yakabi^{*3} (^{*1}Dept. of Digestive Tract and General Surgery, Saitama Medical Center, Saitama Medical University, ^{*2}Teikyo University Chiba Medical Center, ^{*3}Dept. of Gastroenterology and Hepatology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University)

Summary

The aim of this study was to determine whether mRNA levels of thymidylate synthase (TS), excision repair cross-complementing-1 (ERCC-1), excision repair cross-complementing-2 (ERCC-2) and methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD) mRNA in the primary tumor could predict a tumor response in patients with unresectable liver metastasis from colorectal cancer treated with mFOLFOX6 therapy as a first-line treatment. Eighteen patients with unresectable liver metastasis from colorectal cancer treated with mFOLFOX6 therapy as a first-line treatment were enrolled in this study. There were no significant differences between the response rate and these enzymes mRNA levels. In ERCC-1 and MTHFD mRNA expression, the progression-free survival time tended to be longer in patients with low levels than in patients with high levels (ERCC-1: $p=0.08$, MTHFD: $p=0.07$). The progression-free survival time was significantly longer in patients with both ERCC-1 and MTHFD mRNA were low levels than in patients with other ($p=0.03$). The levels of ERCC-1 and MTHFD were low in patients who could perform a conversion therapy. There were no significant differences between an overall survival time and these enzymes mRNA levels. In this study, the ERCC-1 and MTHFD mRNA expression may be useful for the prediction of progression-free survival time in patients with unresectable liver metastasis from colorectal cancer treated with mFOLFOX6 therapy. **Key words:** Colorectal cancer, Thymidylate synthase (TS), Excision repair cross-complementing-1 (ERCC-1), Excision repair cross-complementing-2 (ERCC-2), Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD)

要旨 大腸癌切除不能肝転移に対し、一次治療として mFOLFOX6 療法を施行した 18 例を対象に、原発巣の thymidylate synthase (TS), excision repair cross-complementing-1 (ERCC-1), ERCC-2, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD) の各酵素の mRNA 発現から、mFOLFOX6 療法の効果が予測可能か検討した。奏効率と各酵素の mRNA 発現の多寡には関連はなかった。無増悪生存期間は、ERCC-1 低発現 ($p=0.08$)、MTHFD 低発現 ($p=0.07$) で延長する傾向があった。ERCC-1、MTHFD mRNA がともに低発現と、少なくとも一方が高発現を比較すると、ともに低発現のほうが無増悪生存期間が有意に延長していた ($p=0.03$)。各酵素の発現の多寡は全生存期間と関連はなかった。conversion therapy に移行できた 3 例では、ERCC-1、MTHFD mRNA とともに低発現であった。原発巣の ERCC-1 および MTHFD mRNA を検索することは、肝転移に対する mFOLFOX6 療法の効果予測に有用であることが示唆された。

^{*1} 埼玉医科大学総合医療センター・消化管・一般外科

^{*2} 帝京大学ちば総合医療センター・共同研究室

^{*3} 埼玉医科大学総合医療センター・消化器・肝臓内科

はじめに

分子標的薬を含めた新規抗癌剤の導入が切除不能肝転移の切除率を向上させるようになってきている (conversion therapy)^{1,2)}。原発巣から基軸レジメンの治療効果関連因子を解析し、肝転移の治療効果を予測することが可能であれば、臨床的な意義は大きい。今回、肝転移以外に転移を認めない Stage IV・再発大腸癌肝転移に対し、一次治療として mFOLFOX6 療法を施行した症例を対象に、原発巣の thymidylate synthase (TS), excision repair cross-complementing-1 (ERCC-1), ERCC-2, methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD) の各酵素の mRNA 発現から、mFOLFOX6 療法の効果が予測可能か検討したので報告する。

I. 対象・方法

対象: 当科で 2005 年 12 月～2007 年 12 月の間に、肝転移のみが切除不能因子である Stage IV・再発大腸癌に対し、一次治療として mFOLFOX6 療法を施行した症例のうち、原発巣の TS, ERCC-1, ERCC-2, MTHFD mRNA 発現を検討し得た 18 例を対象とした。

患者背景: 年齢は 67 (33～84) 歳、男性 13 例、女性 5 例。mFOLFOX6 療法の投与回数は 9.5 (4～24) 回、oxaliplatin の relative dose intensity は 81.4 (64.2～100) %, 腫瘍縮小効果は CR 1 例、PR 5 例、SD 6 例、PD 6 例であった (奏効率 33%)。mFOLFOX6 施行後、肝転移に対し R0 切除が施行し得たのは 3 例 (17%) であった。二次治療は 11 例 (61%) に施行され、内訳は FOLFIRI 9 例、FOLFIRI+bevacizumab 2 例であった (表 1)。

mRNA 発現: 手術時に採取した大腸癌組織から total RNA を抽出し、4 μ g から cDNA を合成した。TS,

ERCC-1, ERCC-2, MTHFD mRNA 発現を real time PCR 法で定量した。内部標準として、18srRNA を用いた。各因子について中央値を cutoff として、高発現群、低発現群の 2 群に分け、奏効率、無増悪生存期間、全生存期間について比較検討した。

材料の保管・利用に関し、患者自身から文書による同意を得た。本研究は埼玉医科大学および埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会の承認の下に行われた。

統計: 連側変数は中央値 (範囲) で記載した。2 群間の比較には χ^2 検定または Fischer の直接確率法を用いた。生存率は Kaplan-Meier 法に従って算出し、生存期間の比較には logrank test を用いた。p<0.05 を有意差ありとした。

II. 結 果

mRNA 発現: 各因子の mRNA 発現は、TS: 4.5×10^{-3} ($1.1 \times 10^{-4} \sim 7.9 \times 10^{-2}$), ERCC-1: 1.0×10^{-2} ($1.0 \times 10^{-5} \sim 8.4 \times 10^{-2}$), ERCC-2: 1.1×10^{-2} ($4.0 \times 10^{-4} \sim 1.3 \times 10^{-1}$), MTHFD: 1.4×10^{-3} ($1.0 \times 10^{-5} \sim 1.7 \times 10^{-2}$) であった。

奏効率: 各酵素 mRNA 発現の多寡と奏効率に関連は認めなかった (TS: p=0.62, ERCC-1: p>0.99, ERCC-2: p=0.62, MTHFD: p=0.62), (表 2)。

無増悪生存期間: TS, ERCC-2 mRNA 発現の多寡と無増悪生存期間に関連は認めなかった (TS: p=0.48, ERCC-2: p=0.55)。ERCC-1 mRNA 発現では、中央値が高発現群で 4.8 か月、低発現群で 9.9 か月であり、低発現群のほうが良好な傾向であった (p=0.08)。MTHFD mRNA 発現では中央値が高発現群で 5.3 か月、低発現群が 10.7 か月であり、低発現群のほうが良好な傾向であった (p=0.07), (図 1)。また、ERCC-1, MTHFD ともに低発現 (n=7) の中央値は 13.5 か月、ERCC-1, MTHFD の少なくとも一方が高発現 (n=11) の中央値

表 1 患者背景

性別	男性	13
	女性	5
年齢 (歳)*		67 (33～84)
mFOLFOX6 投与回数*		9.5 (4～24)
Relative dose intensity (%)*		81.4 (64.2～100)
腫瘍縮小効果	CR	1
	PR	5
	SD	6
	PD	6
化学療法後手術		3
二次治療	FOLFIRI	9
	FOLFIRI + bevacizumab	2

*: median (range)

表 2 奏効率と各因子の発現との関係

	TS		ERCC-1	
	低値群	高値群	低値群	高値群
CR/PR	4	2	3	3
SD/PD	5	7	6	6
	p=0.62		p>0.99	
	ERCC-2		MTHFD	
	低値群	高値群	低値群	高値群
CR/PR	4	2	4	2
SD/PD	5	7	5	7
	p=0.62		p=0.62	

は5.3か月で、ERCC-1、MTHFDともに低発現のほうが有意に良好であった ($p=0.03$)、(図2a)。

全生存期間: 各 mRNA 発現の多寡と、全生存期間には関連を認めなかった (TS: $p=0.75$, ERCC-1: $p=0.47$, ERCC-2: $p=0.90$, MTHFD: $p=0.75$)、(図3)。また、ERCC-1、MTHFDともに低発現 ($n=7$) の全生存期間中央値は44.5か月、ERCC-1、MTHFDの少なくとも一方が高発現 ($n=11$) の中央値は14.4か月であり ($p=0.11$)、ともに低発現のほうが良好な傾向であった (図2b)。

肝転移切除移行例: 肝転移巣に対し、R0切除が行われた3症例の各酵素の mRNA 発現を表3に示す。いずれも ERCC-1、MTHFDともに低発現であった。

III. 考 察

われわれは、2005年12月より切除不能・再発大腸癌に対して、一次治療として mFOLFOX6 療法を施行して

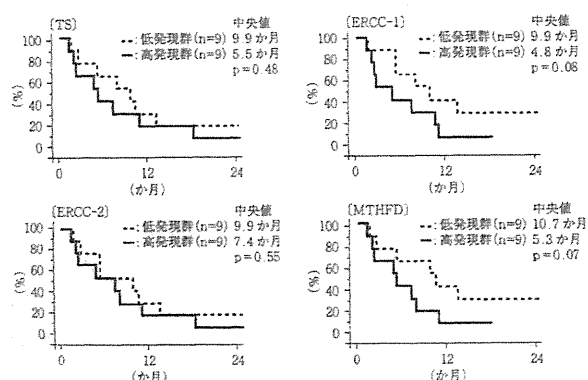


図1 無増悪生存期間

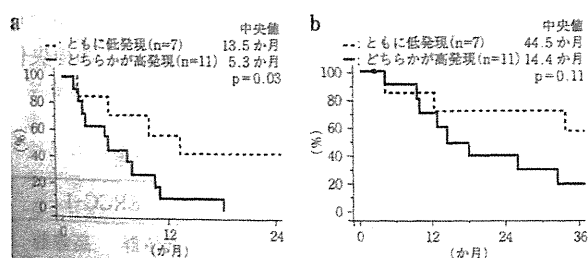


図2 ERCC-1、MTHFD mRNA 発現と生存期間
a: 無増悪生存期間。b: 全生存期間。

きた³⁾。これらのベースとなる5-FUの代謝経路に関連する酵素群の一つであるTS、葉酸代謝に関係するMTHFD、さらに oxaliplatin の効果に関連する DNA 除去修復酵素である ERCC-1、ERCC-2 について、原発巣における mRNA 発現から肝転移巣の治療効果が予測可能か検討したところ、TS と MTHFD の mRNA が低発現であると、無増悪生存期間が延長することが判明した。

Shirotta ら⁴⁾は二次治療として、5-FU/oxaliplatin を含むレジメンを施行した Stage IV・大腸癌を対象として、治療効果と原発巣の癌細胞の TS、ERCC-1 mRNA 発現について検討したところ、TS mRNA 発現、ERCC-1 mRNA 発現ともに低発現であるほうが、いずれかが高発現と比較して生存期間の延長が認められたと報告している。また、Uchida ら⁵⁾は大腸癌肝転移巣の TS、ERCC-1 mRNA 発現と一次治療としての XELOX 療法の効果について検討し、TS mRNA 低発現のほうが高発現より肝転移に対する奏効率が有意に高く、ERCC-1 mRNA 低発現のほうが高発現より治療成功期間の延長が得られたと報告している。

今回の検討では、TS mRNA 発現と mFOLFOX6 の効果との関係は認められなかったが、ERCC-1 mRNA 発現に関しては、過去の報告と矛盾しない結果であった。ERCC-1 は、cisplatin や oxaliplatin などの白金系抗癌剤で引き起こされる DNA 障害に関与し、それらの薬剤感受性を低下させることが知られている⁶⁾。理論的には ERCC-1 が高発現の場合、oxaliplatin の効果は期待し難く、今回の結果は妥当な結果であったと考えられる。

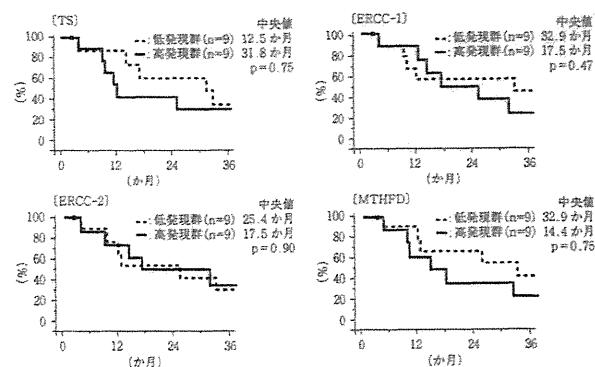


図3 全生存期間

表3 手術移行症例

症例	性別	年齢	同時性/異時性	TS	ERCC-1	ERCC-2	MTHFD
1	男性	73	異時性	低値	低値	低値	低値
2	男性	67	同時性	低値	低値	低値	低値
3	男性	67	同時性	高値	低値	高値	低値

ERCC-2 も ERCC-1 同様に, cisplatin や oxaliplatin などの白金系抗癌剤で引き起こされる DNA 障害に関与し, それらの薬剤感受性を低下させることが知られている⁶⁾。ERCC-1 同様に, ERCC-2 低発現であると, 良好な治療効果が期待されるが, 今回の検討では ERCC-2 mRNA 発現との関連は認められなかった。MTHFD mRNA 発現と mFOLFOX6 の効果に関する報告は見当たらないが, MTHFD は葉酸代謝に関与するため, 高発現であると 5-FU/Leucovorin の効果が期待できないことが予測される⁷⁾。今回の結果は, MTHFD の作用機序から考えると妥当な結果が得られた。いずれにしても今回の検討では症例数が少ないため, 今後さらに症例を集積することと, 原発巣と肝転移巣の各酵素の mRNA 発現の関係についても詳しく検討する必要があると考えている。

文 献

- 1) Adam R, Wicherts DA, de Haas RJ, *et al*: Complete pathologic response after preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: myth or reality? *J Clin Oncol* 26(10):1635-1641, 2008.
- 2) Auer RC, White RR, Kemeny NE, *et al*: Predictors of a true complete response among disappearing liver metastases from colorectal cancer after chemotherapy. *Cancer* 116(6):1502-1509, 2010.
- 3) 石橋敬一郎, 傍島 潤, 横山 勝・他: 切除不能・再発大腸癌に対する mFOLFOX6 療法の使用経験. *癌の臨* 53(1):57-63, 2007.
- 4) Shirota Y, Stoecklacher J, Brabender J, *et al*: ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 19(23):4298-4304, 2001.
- 5) Uchida K, Danenberg PV, Danenberg KD, *et al*: Thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase, ERCC1, and thymidine phosphorylase gene expression in primary and metastatic gastrointestinal adenocarcinoma tissue in patients treated on a phase I trial of oxaliplatin and capecitabine. *BMC Cancer* 8:386, 2008.
- 6) Altaha R, Liang X, Yu JJ, *et al*: Excision repair cross complementing-group 1: Gene expression and platinum resistance. *Int J Mol Med* 14(6):959-970, 2004.
- 7) Kawakami K, Ruzsiewicz A, Bennett G, *et al*: DNA hypermethylation in the normal colonic mucosa of patients with colorectal cancer. *Br J Cancer* 94(4):593-598, 2006.

本論文の要旨は第33回日本癌局所療法研究会において発表した。

4. 大腸癌における分子標的治療

a) 切除不能大腸癌における分子標的治療*

隈元 謙介 石橋敬一郎 石田 秀行**

【要旨】近年の分子標的治療薬の開発はめざましく、切除不能大腸癌の化学療法においても抗 vascular endothelial growth factor (VEGF) 抗体の bevacizumab と抗 epidermal growth factor receptor (EGFR) 抗体の cetuximab, panitumumab の3剤がすでに治療に使われている。個々の症例において、これら分子標的治療薬をどのタイミングでどの抗癌薬と併用すれば治療効果を最大限引き出されるかは、数々の臨床試験の結果により徐々に明らかとなっており、その結果は治療ガイドラインに反映されている。本稿では、それらエビデンスをもとに切除不能大腸癌の化学療法における各分子標的治療薬の位置づけとその治療の意義について解説する。

はじめに

近年の切除不能大腸癌に対する化学療法の変遷にはめざましい進歩があり、fluorouracil (5-FU)/leucovorin (LV) に oxaliplatin を併用した FOLFOX 療法や、capecitabine に oxaliplatin を併用した CapeOX 療法、また 5-FU/LV に irinotecan を併用した FOLFIRI 療法により、生存期間の中央値は約2年ほどと、従来の5-FU 中心の治療をはるかに上回る生存期間の延長が得られるようになった。さらに、分子標的治療薬の開発がすすみ、大腸癌に対して有効性が証明されている治療薬として抗 vascular endothelial growth factor

(VEGF) 抗体の bevacizumab と抗 epidermal growth factor receptor (EGFR) 抗体の cetuximab, panitumumab の3剤がすでに治療に使われている。

これら分子標的治療薬の登場により切除不能大腸癌に対する治療戦略は多様化し、個々の患者に適した治療を行うことでさらなる生存期間の延長が期待されている。実際にどのようにこれら分子標的治療薬を使い分けていくか、あるいはどのような順序で使うのかは、最新版の海外の National Comprehensive Cancer Network (NCCN) ガイドライン¹⁾や、わが国の大腸癌治療ガイドライン²⁾に記載されている治療アルゴリズムを参考に判断することが推奨される。

本稿では、NCCN ガイドライン (図1) に記載されている切除不能大腸癌に対する一次、二次、三次治療の分子標的治療薬の治療アルゴリズムについて、これまでの第Ⅲ相臨床試験 (表1) の結果をふまえて、分子標的治療薬の位置づけとその治療の意義について解説する。

キーワード：切除不能大腸癌, bevacizumab, cetuximab, panitumumab

* Molecular-targeted therapy for unresectable metastatic colorectal cancer

** K. Kumamoto (講師), K. Ishibashi (講師), H. Ishida (教授)：埼玉医科大学総合医療センター消化管・一般外科。

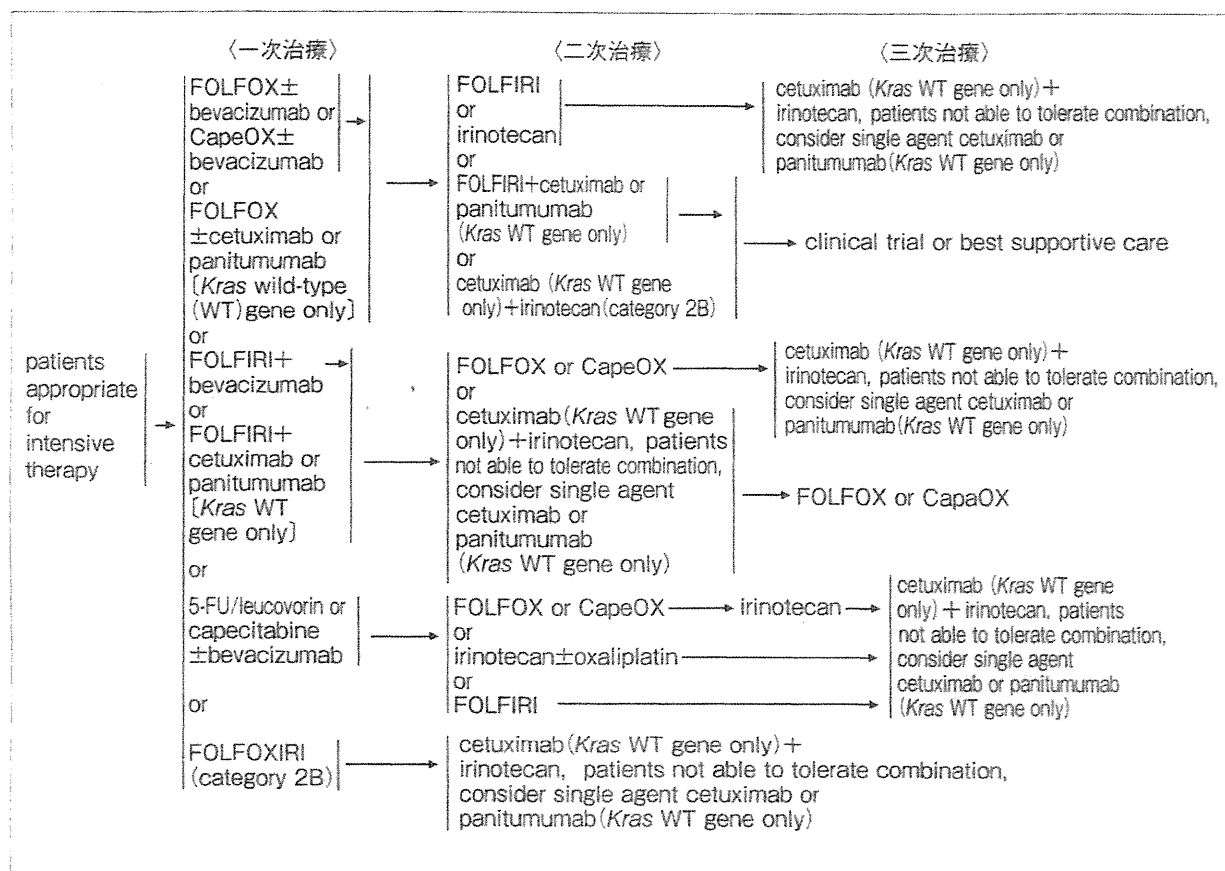


図1. NCCN 治療ガイドライン (V1, 2011) 切除不能大腸癌に対する化学療法 (文献1より引用改変)

表1. 分子標的治療薬の有効性を示した主な第Ⅲ相臨床試験

	bevacizumab	cetuximab	panitumumab
一次治療	NO16966 試験 ³⁾ (FOLFOX4/CapeOX)	OPUS 試験 ¹⁴⁾ (FOLFOX4) MRC COIN 試験 ¹⁵⁾ (FOLFOX/ CapeOX) CRYSTAL 試験 ¹⁶⁾ (FOLFIRI)	PRIME 試験 ¹⁷⁾ (FOLFOX4)
二次治療	E3200 試験 ¹⁸⁾ (FOLFOX4)	EPIC 試験 ¹⁹⁾ (irinotecan)	2005181 試験 ²³⁾ (FOLFIRI)
三次治療		NCIC CTG CO.17 試験 ²¹⁾	20020408 試験 ²⁴⁾

I. 一次治療における分子標的治療薬の位置づけとその治療の意義

1. 一次治療における分子標的治療薬の現況

FOLFOX, CapeOXあるいはFOLFIRIに各分子標的治療薬を併用するレジメンが一次治療として推奨されている。Bevacizumabに関しては、その有害事象によるリスクが高いと考えられる症例以外は投与可能である。なお bevacizumabの他剤との併用について、NCCNガイドラインでは

FOLFOX, CapeOXとの併用は± bevacizumab。FOLFIRIでは+ bevacizumabとなっているのに対し、わが国の大腸癌治療ガイドラインではFOLFIRIとの併用でも± bevacizumabとなっている点で異なることに留意する必要がある。また、cetuximab, panitumumabは、当初二次あるいは三次治療についてのエビデンスが主であったが、近年一次治療としての有効性を示す報告によりその分子生物学的作用機序に基づく臨床試験の結果から、ガイドライン上 *Kras* 遺伝子が野生型

である症例に限定して投与が推奨されている。各々の分子標的治療薬の上乗せ効果は、これまでのさまざまなランダム化臨床試験により証明されており異論のないものである。しかしながら、FOLFOX, CapeOXあるいはFOLFIRIと bevacizumab, cetuximab, panitumumabの組み合わせにより選択肢が増え、いずれの治療薬を第一選択にすることで、奏効率や生存期間の延長において優れているかという詳細な報告はなく、実臨床でどの治療薬を選択するかは臨床医に委ねられているのが現状である。今後、各治療レジメンに対しよりよい効果を得るための適応条件が遺伝子診断などで簡便に予測できることが期待される。

2. 一次治療における各分子標的治療薬の役割

a) Bevacizumab

i) FOLFOX/CapeOX ± bevacizumab

FOLFOXもしくはCapeOXに bevacizumabを加えた治療の有効性はNO16966試験³⁾で明らかにされている。これは、FOLFOX4 ± bevacizumabとCapeOX ± bevacizumabの4とおりの治療デザインでFOLFOXに対するCapeOXの非劣性を検証することと、FOLFOX4もしくはCapeOXに対する bevacizumabの上乗せ効果を検証した試験である。主要評価項目である無増悪生存期間 (progression-free survival: PFS) の中央値はFOLFOX/CapeOXで8.0ヵ月、bevacizumab併用群で9.4ヵ月 (HR = 0.83, $p = 0.0023$) であり、bevacizumab併用により有意な延長が認められた。この1.4ヵ月のPFSの延長は、AVF2107g試験⁴⁾ [irinotecan/5-FU/LV (IFL) vs IFL + bevacizumab] やAVF2192g試験⁵⁾ (5-FU/LV vs 5-FU/LV + bevacizumab) の bevacizumab併用群で、PFSがそれぞれ4.4, 3.7ヵ月延長した結果に比べるとやや見劣りする成績である。これはoxaliplatinによる神経毒性などにより中止となった症例が多かったことが一因である。なお、NO16966試験における全生存期間 (overall survival: OS) の中央値は、FOLFOX/CapeOXで19.9ヵ月、bevacizumab併用群で21.3ヵ月 ($p = 0.0769$) と bevacizumab併用により有意な延長は得られていない。これらの結果は、ガイドライン上におけるFOLFOX, CapeOXとの併用が ± bevacizumabとなっている一因と思われる。

ii) FOLFIRI + bevacizumab

FOLFIRIと bevacizumabの一次治療に関して参考となるデータとしてBICC-C試験⁶⁾があげられる。これは、未治療の切除不能大腸癌430例に対するirinotecanを軸としたFOLFIRI, IFL, CapeIRI (capecitabine + irinotecan) を比較する試験として開始されたが、前述したAVF2107g試験でIFLに bevacizumab併用の有効性が示されたことを受けて、IFL + bevacizumab ($n = 60$) とFOLFIRI + bevacizumab ($n = 57$) の比較・検討も行われた。その結果、主要評価項目であるPFSは、IFLとFOLFIRIの中央値がそれぞれ5.9ヵ月, 7.6ヵ月 ($p = 0.004$) とFOLFIRIが有意に優れていた。Bevacizumabを併用したIFL + bevacizumab群とFOLFIRI + bevacizumab群のPFS中央値は、それぞれ8.3ヵ月, 11.2ヵ月 ($p = 0.28$) で統計学的に有意差は得られなかったものの、FOLFIRI + bevacizumabのほうが良好な結果であった。さらに続報⁷⁾により両群のOS中央値は19.2ヵ月, 28.0ヵ月 ($p = 0.037$) と、FOLFIRI + bevacizumab群で有意に優れた結果が得られている。

FOLFIRI + bevacizumab療法の有効性を検証した第Ⅲ相臨床試験はないが、第Ⅳ相試験としてAVIRI試験⁸⁾やBEAT試験⁹⁾、またBRiTE試験¹⁰⁾があり、いずれもFOLFIRI + bevacizumab療法の安全性と有効性が示されている。

AVF2107g試験でIFLに bevacizumabの上乗せ効果が非常に大きかったという成績をふまえて、さらにBICC-C試験でFOLFIRI + bevacizumabのほうが優れているという結果や大規模な第Ⅳ相試験の結果から、ガイドライン上FOLFIRIには ± bevacizumabではなく、+ bevacizumabと記載されていると考えられる。

iii) 5-FU/LV ± bevacizumab

5-FU/LVへの bevacizumab併用による上乗せ効果は前述のAVF2192g試験⁵⁾が根拠となる。この試験は、irinotecan不適格例 [65歳以上, performance status (PS) 1もしくは2, 血清アルブミン値3.5 g/dl以下, 腹部骨盤への照射歴あり] を対象に、5-FU/LV投与群と5-FU/LV + bevacizumab投与群を比較・検討した。主要評価項目であったOSの中央値は12.9ヵ月と16.6ヵ月で有意差を得られなかったが、副次評価項目である

PFS中央値は5.5ヵ月, 9.2ヵ月 (HR = 0.50, $p = 0.0002$) と5-FU/LV + bevacizumab群で有意に優れていた。その他, 同様の比較・検討をされた3試験^{5, 11, 12)}を統合し解析した結果でも, 5-FU/LVに bevacizumabを加えることでPFS, OSが有意に延長されたという報告がある¹³⁾。Oxaliplatinやirinotecanに耐えられないような症例に対して, 5-FU/LV + bevacizumabは今後も選択肢の一つとして有用なレジメンであるといえよう。

b) Cetuximab

i) FOLFOX ± cetuximab

FOLFOXに cetuximab併用の一次治療への有効性を示した報告に OPUS試験¹⁴⁾がある。これは, FOLFOX4投与群と FOLFOX4 + cetuximab投与群を比較・検討したランダム化第Ⅱ相試験である。主要評価項目である response rate (RR) は FOLFOX4群で36%, FOLFOX4 + cetuximab群で46%と, cetuximab併用により10%の上乗せ効果があったが, 統計学的に有意差は得られなかった。Kras遺伝子野生型例に限定した場合のRRは FOLFOX4群で37%であったのに対し, FOLFOX4 + cetuximab群では61%と有意に高い奏効率を得られた。また, PFSも有意な延長が認められた。一方, Kras遺伝子変異型例では cetuximab併用群でRR, PFSともに低下しており, cetuximab併用群ではむしろ治療効果が下がるという結果であった。このことから, ガイドラインでは FOLFOX + cetuximabの投与は Kras遺伝子野生型例に限定することを条件づけている。

最近, 未治療の切除不能大腸癌を対象に FOLFOX と CapeOX の化学療法群, FOLFOX, CapeOX に cetuximab を併用した群に分けて, 主要評価項目として Kras 野生型患者の OS を比較・検討した MRC COIN 試験¹⁵⁾の結果が報告された。その結果, Kras 野生型患者の OS 中央値は化学療法群が17.9ヵ月, cetuximab 併用群が17.0ヵ月であり, cetuximab 併用による上乗せ効果は認められなかった。大規模試験の結果として, 予想されるような Kras 野生型患者への cetuximab の上乗せ効果が得られなかったが, 奏効率に関して cetuximab 併用群で有意に高かった ($p = 0.049$) 点は OPUS 試験と同様の結果であった。サブ解析

データによると CapeOX との併用で成績がわるかったことは, capecitabine による消化器毒性が強くプロトコル変更が必要であったことや cetuximab との相性がよくない可能性がある。現在のガイドラインには, FOLFOX への併用のみで CapeOX との併用については記載がない。

ii) FOLFIRI ± cetuximab

FOLFIRI に cetuximab 併用の一次治療における有効性に関しては, CRYSTAL 試験¹⁶⁾の結果がガイドライン上の根拠となり重要である。EGFR 陽性の切除不能大腸癌患者を対象に, FOLFIRI のみ ($n = 599$) と FOLFIRI + cetuximab ($n = 599$) の比較・検討がなされ, 主要評価項目である PFS 中央値は FOLFIRI 群で8.0ヵ月, FOLFIRI + cetuximab 群で8.9ヵ月 (HR = 0.85, $p = 0.048$) と, cetuximab 併用によりわずかに0.9ヵ月であるが有意に延長していた。OS 中央値では, それぞれ18.6ヵ月, 19.9ヵ月と差を認めなかった。RR はそれぞれ38.7%, 46.9% ($p = 0.004$) と, cetuximab 併用により高い奏効率を認めた。CRYSTAL 試験で Kras 野生型患者666例を対象に検討した結果では, PFS 中央値が FOLFIRI 群で8.7ヵ月, FOLFIRI + cetuximab 群で9.9ヵ月 (HR = 0.68, $p = 0.002$)。OS 中央値も FOLFIRI 群で20.0ヵ月, FOLFIRI + cetuximab 群で23.5ヵ月 (HR = 0.796, $p = 0.0094$) と, cetuximab 併用による有意な延長が示された。RR でも FOLFIRI 群で43.2%, FOLFIRI + cetuximab 群で59.3%と, cetuximab の上乗せ効果が実証された。

c) Panitumumab — FOLFOX ± panitumumab

Panitumumab の一次治療としての有効性を評価した PRIME 試験¹⁷⁾は19ヵ国133施設が参加し, 未治療転移性大腸癌患者を対象に FOLFOX4 投与群と FOLFOX4 + panitumumab 投与群を比較した試験である。Kras 野生型患者656例を対象に検討した結果, PFS 中央値は, FOLFOX4 群で8.0ヵ月, FOLFOX4 + panitumumab 群で9.6ヵ月 (HR = 0.80, $p = 0.023$) と panitumumab 併用群で有意に延長した。OS 中央値はそれぞれ19.7ヵ月, 23.9ヵ月 (HR = 0.83, $p = 0.072$) であり, 統計学的有意差は得られなかった。一方, Kras 変異型患者440例を対象とした解析結果で

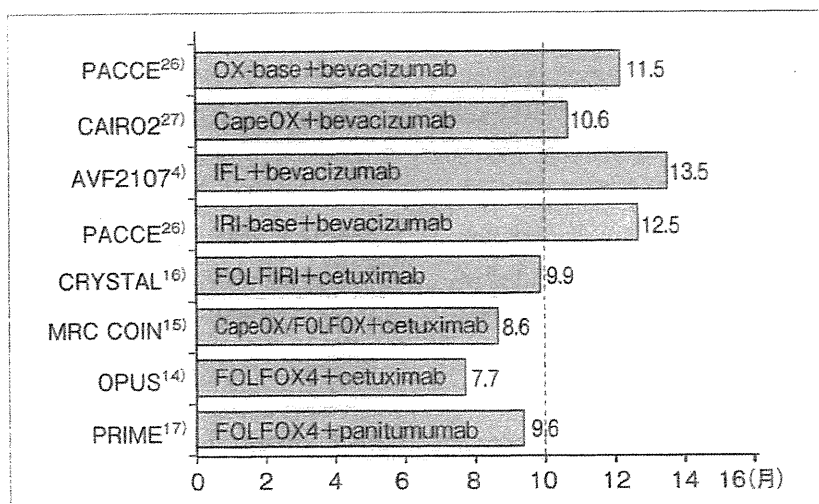


図2. 一次治療における *Kras* 野生型例に対する各薬剤の治療効果 (PFS)

は、PFS中央値はFOLFOX4群で8.8ヵ月、FOLFOX4 + panitumumab群で7.3ヵ月(HR = 1.29, $p = 0.0227$)と panitumumab併用群で有意に短縮していた。

3. 一次治療における分子標的治療薬の臨床的意義

ガイドライン上の治療アルゴリズムの多くは、これまでの大規模臨床試験の結果をふまえて作成されたものである。したがって、いずれの分子標的治療薬も、FOLFOXやFOLFIRIのような基盤となる化学療法への上乗せ効果は実証されており、数多い一次治療のレジメンの中から個々の症例にどのように選択していくかが今後の課題である。すでに国内を含め海外でも切除不能進行・再発大腸癌に対する分子標的治療薬の比較に関する臨床試験がいくつも行われている。今後、これらの結果に基づいてより適切な一次治療を行えることが期待される。

現時点での切除不能大腸癌に対する一次治療に関しては、*Kras*遺伝子の変異の有無が治療の方向性を見出すうえで重要であると考えられる。*Kras*遺伝子の変異型でPSのよい症例に対しては、FOLFOXもしくはFOLFIRIにbevacizumabの併用が第一選択にできる。一次治療のBevacizumab併用レジメンをFOLFOXにするかFOLFIRIにするかは、現在国内でも臨床試験(WJOG4407G)が進行中であり、どちらを先行するほうがメリットがあるかどうかのコンセンサスは得られていない。*Kras*変異型でPS不良や高齢

などでpalliativeな治療を選択する場合には、5-FU/LVにbevacizumab併用が適当であると考えられる。一方、*Kras*遺伝子が野生型の場合、化学療法施行後に腫瘍の著しい縮小が認められsecond surgeryに移行できるconversion therapyが可能と考えられる症例には、奏効率の高いFOLFOX/CapeOX/FOLFIRIにcetuximab/panitumumab併用が妥当であろう。それ以外の*Kras*野生型例には、図2に示すように、FOLFOX/CapeOX/FOLFIRIにcetuximab/panitumumabが併用された場合PFSが7.7～9.9ヵ月であったのに対し、bevacizumabとの併用では10.6～13.5ヵ月と、これまでの臨床試験の成績からPFSで優越性が認められているbevacizumabをFOLFOXもしくはFOLFIRIと併用するレジメンを第一選択にすることが現実的であると考えられる。

II. 二次・三次治療における分子標的治療薬の位置づけとその治療的意義

1. 二次・三次治療における分子標的治療薬の現況

抗EGFR抗体であるcetuximabとpanitumumabは、もともと二次・三次治療で主に使われていたため、ガイドライン上でも二次・三次治療に単剤もしくはFOLFIRIやirinotecanとの併用が推奨されている。それに対し、bevacizumabはNCCNガイドラインでは二次治療以降推奨されていない。日本の大腸癌治療ガイドラインには二次治療にもbevacizumabが入っているが、一次治

療において bevacizumab を投与していない場合、および一次治療の効果が持続しているが irinotecan や oxaliplatin の毒性のために投与を中止した場合に限定して二次治療で bevacizumab の投与が推奨されている。また、表1をみてわかるように、bevacizumab に単剤での使用と三次治療での有効性を示した報告がないことは留意すべき点である。

2. 二次・三次治療における分子標的治療薬の役割

a) Bevacizumab

二次治療における bevacizumab の有効性を検証した第Ⅲ相試験として E3200 試験¹⁸⁾がある。この試験は、5-FU と irinotecan による前治療を受けた転移性大腸癌 820 例を対象に、FOLFOX4 + bevacizumab 治療群、FOLFOX4 単独治療群、bevacizumab 単独治療群の 3 群を比較した試験で、OS 中央値がそれぞれ 12.9 カ月、10.8 カ月 ($HR = 0.75$, $p = 0.011$)、10.2 カ月であり、PFS の中央値はそれぞれ 7.3 カ月、4.7 カ月 ($HR = 0.61$, $p < 0.0001$)、2.7 カ月という結果であった。このことから二次治療での bevacizumab の上乗せ効果が示された一方で、bevacizumab 単独治療の有効性は見出されなかった。現在の NCCN ガイドラインの二次治療以降に bevacizumab は推奨されていないが、わが国の大腸癌治療ガイドラインにあるように一次治療において bevacizumab を投与していない場合、二次治療に bevacizumab を投与する有用性の根拠となる報告である。

また、切除不能大腸癌に対し bevacizumab を併用した一次治療で増悪した場合、bevacizumab を二次治療にも継続して併用すること (bevacizumab beyond PD : BBP) が有用であるかどうかについては、いまだコンセンサスは得られていない。これまで観察的コホート研究として BRiTE 試験¹⁹⁾において BBP の有効性が示されたが、あくまでも観察研究であり、BBP 群の PS0 患者がやや多いなどのバイアスがあるため、bevacizumab 継続投与により予後が延長したのか、bevacizumab が継続できる全身状態のため、予後が延長したのかなど不明な点もあることを理解しておく必要がある。

b) Cetuximab

二次治療における cetuximab の上乗せ効果を検

証した試験として EPIC 試験¹⁹⁾がある。この試験は、FOLFOX による一次治療が抵抗性もしくは不耐となった irinotecan 治療歴のない EGFR 陽性の転移性大腸癌 1,298 例を対象に、irinotecan + cetuximab 治療群 ($n = 648$) と irinotecan 単独治療群 ($n = 650$) の 2 群に分け、主要評価項目として OS、副次的評価項目として PFS、RR、quality of life (QOL) を解析したものである。OS 中央値は irinotecan + cetuximab 治療群 10.7 カ月、irinotecan 単独治療群 10.0 カ月と同等であった。これは、irinotecan 単独治療群の約半数が試験後に cetuximab を投与されたことが要因と考えられる。PFS 中央値は irinotecan + cetuximab 治療群 4.0 カ月、irinotecan 単独治療群 2.6 カ月 ($HR = 0.692$, $p = 0.0001$) であり、RR はそれぞれ 16.4 %、4.2 % ($p < 0.0001$) と cetuximab 併用群で有意に優れた結果であった。

BOND 試験²⁰⁾は、irinotecan 抵抗性の EGFR 陽性転移性大腸癌 329 例を対象に irinotecan + cetuximab 治療群 ($n = 218$) と cetuximab 単独治療群 ($n = 111$) を比較・検討した試験である。RR は、irinotecan + cetuximab 治療群が 22.9 % で、cetuximab 単独治療群の 10.8 % に比べて有意に高い奏効率であった ($p = 0.007$)。無増悪期間の中央値も irinotecan + cetuximab 治療群が 4.1 カ月と cetuximab 単独治療群の 1.5 カ月に比べて有意に延長した ($HR = 0.54$, $p < 0.001$)。この試験の結果は、irinotecan 抵抗性の転移性大腸癌に対して cetuximab の有効性を示すとともに、抵抗性となった irinotecan を cetuximab に併用することでさらに高い治療効果を期待できることを示唆するものであった。

三次治療における cetuximab の有効性を検討した NCIC CTG CO.17 試験²¹⁾は、5-FU/LV、irinotecan、oxaliplatin による治療が抵抗性もしくは不耐または不適格の EGFR 陽性転移性大腸癌 572 例を対象に、cetuximab 投与群 ($n = 287$) と best supportive care (BSC) 群 ($n = 285$) の両群間を比較・検討し、主要評価項目として OS、副次的評価項目として PFS、RR、QOL を解析したものである。OS の中央値は、cetuximab 投与群で 6.1 カ月、BSC 群で 4.6 カ月 ($HR = 0.77$, $p = 0.005$) と、cetuximab 投与により有意な延長が認められた。OS の有意性は多変量 Cox 比例ハザードモデルに

より複数の予後因子で補正しても保持された (HR = 0.79, $p = 0.01$). PFS も cetuximab 投与群で BSC 群に比べて有意に改善していた. RR は, PR が cetuximab 投与群で 8.0 %, BSC 群で 0 % ($p < 0.001$), SD が cetuximab 投与群で 31.4 %, BSC 群で 10.9 % ($p < 0.001$) と cetuximab 投与群で有意に高いことが示された. また, QOL に関しては cetuximab 投与群で有意に良好であった. さらに続報²³⁾で *Kras* 遺伝子の野生型と変異型で解析された結果から, *Kras* 変異型の症例に cetuximab を投与しても効果はなく, *Kras* 野生型に cetuximab 投与することでのみ benefit が得られることが判明した.

c) Panitumumab

二次治療における panitumumab の有効性を検証したランダム化第Ⅲ相試験 (2005181)²³⁾ が報告された. この試験は, 転移性大腸癌に対し一次治療として 5-FU を含む化学療法を施行され 6 ヶ月以内の増悪が認められた症例で, irinotecan や抗 EGFR 抗体を用いた治療を受けていない 1,186 例を対象に, FOLFIRI 施行群と FOLFIRI + panitumumab 施行群に振り分け, panitumumab の有効性を検証したものである. *Kras* 野生型例において, PFS の中央値は FOLFIRI 施行群 ($n = 285$) で 3.9 ヶ月, FOLFIRI + panitumumab 施行群 ($n = 297$) で 5.9 ヶ月 (HR = 0.73, $p = 0.004$) と, panitumumab 併用により有意に延長が認められたが, OS では panitumumab 併用による有意な改善は認められなかった. RR は FOLFIRI 施行群で 10 % に対し, FOLFIRI + panitumumab 施行群では 35 % と, panitumumab 併用により高い奏効率が得られた. 一方, *Kras* 変異型の症例では PFS, OS, RR は panitumumab 併用による改善は示されなかった.

三次治療としての panitumumab の有効性は, 5-FU/LV, irinotecan, oxaliplatin による治療が抵抗性もしくは不耐の EGFR 陽性転移性大腸癌 463 例を対象に, panitumumab 投与群 ($n = 231$) と BSC 群 ($n = 232$) の両群間を比較・検討したランダム化第Ⅲ相試験 (20020408)²⁴⁾ で示された. RR は BSC 群が 0 % に対し panitumumab 投与群で 10 %, PFS の中央値は BSC 群が 7.3 週に対し panitumumab 投与群で 8 週 (HR = 0.54, $p < 0.0001$) と, panitumumab 投与により有意な改善

が認められた. OS に関しては, BSC 群の 76 % が PD 後に panitumumab 投与されたため有意な改善は示されなかった.

わが国でも, 5-FU/LV, irinotecan, oxaliplatin に抵抗性の EGFR 陽性転移性大腸癌 52 例に対する panitumumab の単アームの第Ⅱ相試験²⁵⁾が行われており, RR 13.5 %, PFS 8.0 週と海外の臨床試験と同等の成績が示されている.

3. 二次・三次治療における分子標的治療薬の臨床的意義

切除不能大腸癌に対する二次治療以降の基本は, 一次治療で使用していない薬剤を用いることである. 分子標的治療薬については, 一次治療で bevacizumab が併用された場合, 二次治療では bevacizumab を継続するか, cetuximab あるいは panitumumab を選択することになるが, どれがもっとも有効かについての確定的なエビデンスはない. また, cetuximab あるいは panitumumab を選択する場合には, *Kras* 遺伝子が野生型である症例に限定して使われる必要がある. 実際, cetuximab と panitumumab のどちらを選択するかについて, これまでの臨床試験の成績から判断する限りでは, どちらを選んでも抗腫瘍効果は大差ないと考えられる. 一足早く開発された cetuximab のほうが, あらゆる抗癌薬との併用療法が試されており, panitumumab よりも臨床データの蓄積が多い点で勝ると考えられる一方, panitumumab は完全ヒト化モノクローナル抗体であるため infusion reaction の頻度が少ない点や投与間隔が隔週であることから患者の負担が少ない点では cetuximab よりも使いやすいとも考えられる.

また, 併用する抗癌薬については, 抗 EGFR 抗体が oxaliplatin よりも irinotecan との相性がよいと考えられ, NCCN ガイドラインの二次治療においてはこれら抗 EGFR 抗体と FOLFIRI の併用もしくは irinotecan の併用が推奨されている. 三次治療に関しては, irinotecan との併用ができれば単剤での投与よりも優れた効果が期待できるが, 患者の状態により irinotecan の投与が不適な場合でも抗 EGFR 抗体の単剤投与で BSC に比べて治療の有効性が示されていることから, QOL の改善のためにも抗 EGFR 抗体の単剤投与が望ましい治療と考えられる.

おわりに

近年の切除不能大腸癌に対する化学療法の変遷は著しく、分子標的治療薬の開発に伴いさらなる生存期間の延長や奏効率の改善が期待される。そこで、現時点ではまだ治療ガイドラインに採用されていないが、結果次第では治療のアルゴリズムに変更をきたすようなさまざまな大規模臨床試験が国内外で進行中である。しかしながら、FOLFOXあるいはFOLFIRIにbevacizumabとpanitumumabの3剤を投与した群とFOLFOXあるいはFOLFIRIにbevacizumabだけを併用した群の治療効果を比較したPACCE試験²⁶⁾や、CapeOXにbevacizumabとcetuximabの3剤を投与した群とCapeOXにbevacizumabを併用した群の治療効果を比較したCAIRO2試験²⁷⁾の結果のように、さらなる治療効果の改善を予想して行われた臨床試験が、実際にはbevacizumabに抗EGFR抗体を併用することで治療効果が低下するという残念な結果に終わり、既存の治療薬での組み合わせによる相乗効果を期待するのはむずかしいのかもしれない。今後新規の分子標的治療薬の開発がまたれるが、現状では、切除不能大腸癌に対する化学療法は、FOLFOXとFOLFIRIをベースとしてbevacizumab, cetuximab, panitumumabの分子標的治療薬をうまく併用していくことで、できるだけ一次治療から三次治療にいたるまでのそれぞれの治療期間を延長させることを目標に行われることが理想的である。

◆ ◆ ◆ 文 献 ◆ ◆ ◆

- 1) National Comprehensive Cancer Network : Clinical Practice Guideline in Oncology, V 1, 2011, Colon Cancer. < <http://www.ncc.org/> > [Accessed November 11 2010]
- 2) 大腸癌研究会(編) : 大腸癌治療ガイドライン—医師用2010年版, 金原出版, 東京, 2010
- 3) Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E et al : Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer : a randomized phase III study. *J Clin Oncol* **26** : 2013-2019, 2008
- 4) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al : Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* **350** : 2335-2342, 2004
- 5) Kabbinnar FF, Schulz J, McCleod M et al : Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leucovorin in first-line metastatic colorectal cancer : results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* **23** : 3697-3705, 2005
- 6) Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E et al : Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer : results from the BICC-C study. *J Clin Oncol* **25** : 4779-4786, 2007
- 7) Fuchs CS, Marshall J, Barrueco J : Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer : updated results from the BICC-C study. *J Clin Oncol* **26** : 689-690, 2008
- 8) Sobrero A, Ackland S, Clarke S et al : AVIRI trial investigators : phase IV study of bevacizumab in combination with infusional fluorouracil, leucovorin and irinotecan (FOLFIRI) in first-line metastatic colorectal cancer. *Oncology* **77** : 113-119, 2009
- 9) Van Cutsem E, Rivera F, Berry S et al : Safety and efficacy of first-line bevacizumab with FOLFOX, XELOX, FOLFIRI and fluoropyrimidines in metastatic colorectal cancer : the BEAT study. *Ann Oncol* **20** : 1842-1847, 2009
- 10) Grothey A, Sugrue MM, Purdie DM et al : Bevacizumab beyond first progression is associated with prolonged overall survival in metastatic colorectal cancer : results from a large observational cohort study (BRiTE). *J Clin Oncol* **26** : 5326-5334, 2008
- 11) Kabbinnar F, Hurwitz H, Fehrenbacher L et al : Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **21** : 60-65, 2003
- 12) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al : Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* **350** : 2335-2342, 2004
- 13) Kabbinnar FF, Hambleton J, Mass RD et al : Combined analysis of efficacy : the addition of bevacizumab to fluorouracil/leucovorin improves survival for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **23** : 3706-3712, 2005
- 14) Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al : Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **27** : 663-671, 2009
- 15) Maughan TS : Identification of potentially responsive subsets when cetuximab is added to oxaliplatin-fluoropyrimidine chemotherapy (CT) in first line advanced colorectal cancer (aCRC) : mature results of the MRC COIN trial. ASCO, Chicago, 2010
- 16) Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E et al : Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*

- 360 : 1408-1417, 2009
- 17) Douillard JY, Siena S, Cassidy J et al : Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer : the PRIME study. *J Clin Oncol* **28** : 4697-4705, 2010
 - 18) Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ et al : Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer : results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* **25** : 1539-1544, 2007
 - 19) Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L et al : EPIC : phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **26** : 2311-2319, 2008
 - 20) Cunningham D, Humblet Y, Siena S et al : Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* **351** : 337-345, 2004
 - 21) Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS et al : Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* **357** : 2040-2048, 2007
 - 22) Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ et al : K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* **359** : 1757-1765, 2008
 - 23) Peeters M, Price TJ, Cervantes A et al : Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **28** : 4706-4713, 2010
 - 24) Van Cutsem E, Peeters M, Siena S et al : Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **25** : 1658-1664, 2007
 - 25) Muro K, Yoshino T, Doi T et al : A phase 2 clinical trial of panitumumab monotherapy in Japanese patients with metastatic colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* **39** : 321-326, 2009
 - 26) Hecht JR, Mitchell E, Chidiac T et al : A randomized phase III B trial of chemotherapy, bevacizumab, and panitumumab compared with chemotherapy and bevacizumab alone for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* **27** : 672-680, 2009
 - 27) Tol J, Koopman M, Cats A et al : Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* **360** : 563-572, 2009

*

*

*

お知らせ

◆日本透析医会研修セミナー「透析医療における Current Topics 2011」

会 期 : 2011年3月6日(日) 9:00 ~ 16:10
 会 場 : 品川コクヨホール(東京都港区港南1-8-35)
 会 長 : 山崎親雄(日本透析医会会長)
 テー マ : 日常透析が抱える諸問題

プログラム

- 1) 維持透析患者の体重管理(HD & PDを含めて)
- 2) HDF—最近の話題(効用のエビデンス, 普及率, 課題)
- 3) シナカルセト時代のPTx
- 4) 透析患者における末梢動脈疾患—早期発見と治療戦略
- 5) ウイルス性肝炎の話題(GL, 診断・治療, 肝臓)
- 6) 冠動脈疾患の話題(発生頻度, 診断, PTCA)

問い合わせ先 : ☎101-0041 東京都千代田区神田須田町1-15-2 淡路建物ビル2階
 日本透析医会事務局
 TEL : 03-3255-6471/FAX : 03-3255-6474
<http://www.touseki-ikai.or.jp>
 E-mail : info@touseki-ikai.or.jp

VIII. 大腸癌の治療戦略

化学療法

FOLFOX 療法の治療効果予測因子の探索
(TS, ERCC1 など)Predictive marker for the efficacy of FOLFOX treatment in colon cancer
(TS, ERCC1 etc)

隈元謙介 石橋敬一郎 石田秀行

Key words : 大腸癌, FOLFOX, 遺伝子多型, 効果予測因子

はじめに

切除不能進行・再発大腸癌に対する化学療法としては、5-FUを基軸にオキサリプラチンやイリノテカンを加えたFOLFOX, FOLFIRI療法に、大腸癌の増殖メカニズムに関与するVEGFやEGFRを標的にした分子標的薬を上乗せする治療が標準治療として確立されている。しかし、奏効率は約50%程度にとどまり、すべての大腸癌患者が化学療法の恩恵に与るわけではない。適当な治療効果予測因子があればあらかじめ効果の期待できない症例を選別し、別のレジメンの選択や化学療法による有害事象を回避できる。また、肝転移病変に対し治療切除を目的としたFOLFOX療法も行われており、治療効果予測因子により適切な治療法の選択もできれば患者にとっての利益も大きいと考えられる。

本稿では、切除不能進行・再発大腸癌におけるFOLFOXを含めた5-FUとオキサリプラチン併用療法の治療効果予測因子について概説する。FOLFOX療法は、5-FU/leucovorinとオキサリプラチンの3剤を用いたレジメンであり、効果予測因子の候補としてこれら抗癌剤の作用機序に基づく代謝経路に働く分子が考えられる。

5-FU/leucovorinの代謝経路に関与する酵素群としてthymidylate synthase(TS), dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD), thymidine phosphorylase(TP)や葉酸代謝に関係するmethylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)がある。また、オキサリプラチンに関連する分子として、損傷されたDNAの部分除去してDNAを正常に修復させる働きのあるDNA除去修復酵素であるexcision repair cross-complementing 1(ERCC1), ERCC2がある。更に、細胞内での解毒に関与する重要な因子であるグルタチオンの抱合を触媒するglutathione S-transferase(GST)は、プラチナ系抗癌剤の耐性に関与することが以前より知られている。これらの遺伝子のうち、FOLFOX療法の治療効果の報告(表1)に基づき、TS, MTHFR, ERCC1, ERCC2, GSTP1, GSTM1, GSTT1について効果および予後予測因子としての有用性について述べる。なお、本稿では5-FUとオキサリプラチンを併用している治療に関しては、その投与法がFOLFOX4やmFOLFOX6と異なってもすべてFOLFOXとして扱った。

Kensuke Kumamoto, Keiichiro Ishibashi, Hideyuki Ishida: Department of Digestive Tract and General Surgery, Saitama Medical Center, Saitama Medical University 埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科

0047-1852/11/¥60/頁/JCOPY

表1 FOLFOX療法に対する各種遺伝子の発現形式と治療効果および予後

遺伝子名	発現解析	結 果	文 献
TS	protein expression	low TS>high TS	overall survival ↑ 1, 2
	mRNA expression	low TS>high TS	overall survival ↑ response rate ↑ 3, 4
	5'-UTR polymorphism	2R/2R>3R/3R, 2R/3R	response rate ↑ 6
		3R/3R>2R/3R, 2R/2R	response rate ↑ 7, 8
		2R/3G, 3C/3G, 3G/3G> 2R/2R, 2R/3C, 3C/3C	overall survival ↓ 9
	3'-UTR polymorphism	+6 bp/+6 bp, +6 bp/-6 bp> -6 bp/-6 bp	progression-free survival ↑ overall survival ↑ 10
MTHFR	SNP C677T	T/T>C/T, C/C	response rate ↑ 7
	SNP A1298C	A/A>A/C, C/C	overall survival ↑ (female) 12
ERCC1	protein expression	low ERCC1>high ERCC1	overall survival ↑ 1
	mRNA expression	low ERCC1>high ERCC1	overall survival ↑ 3
	codon 118 C→T	T/T>C/C C/C>C/T, T/T	progression-free survival ↓ overall survival ↑ 11 10, 14
ERCC2	codon 751 A→C	A/A>A/C, C/C	progression-free survival ↑ 11
		A/A>A/C, C/C	overall survival ↑ overall survival ↑ 15
GSTP1	codon 105 A→G	G/G>A/G, A/A	overall survival ↑ 10, 16

1. Thymidylate synthase (TS)

5-FUの抗腫瘍効果は、DNA合成障害とRNA機能障害であり、前者の作用機序は5-FUの活性代謝物FdUMP(fluorodeoxyuridine monophosphate)がTS、5',10'-methylene tetrahydrofolate (THF)と三元複合体を形成することによるDNAの合成阻害である。すなわち、TSは5-FUの標的酵素であり、5-FUを基軸とした化学療法では、TSの発現が治療効果や予後予測のうえで律速酵素として重要であると考えられている。TSの活性が低値であれば腫瘍の5-FU感受性は高くなることが予測されたとおり、実際のデータでもそのような結果が数多く報告されている。

5-FUを基軸に用いるFOLFOXの治療効果についても、切除不能進行・再発大腸癌を対象とした免疫染色による腫瘍のTS発現の検討では、

TS低発現例がTS高発現例よりも治療効果が有意に優れている、overall survival(OS)の延長が認められたという報告がある^{1,2)}。Stage IV大腸癌を対象としたFOLFOXの治療効果と癌部のTS発現をmRNAの発現量で検討した報告でも、TS mRNA量の低値例の方が高値例に比べてOSの延長が認められた³⁾。カペシタビンとオキサリプラチンを組み合わせた治療においても、治療効果と癌部のTS発現をmRNAの発現量で検討した結果、TS mRNA量の低値例の方が高値例に比べて化学療法の奏効率が有意に高かった⁴⁾。TSは、mRNA発現とタンパク発現のいずれの場合で評価しても、発現が低い方が化学療法の効果が認められることがわかる。

更にTS遺伝子には、5'-UTRの28bp repeatと3'-UTRの6bp deletionという遺伝子多型が認められており、これら遺伝子多型の観点からも5-FUを基軸とした化学療法の治療効果との

関連について検討されている。

5'-UTR の遺伝子多型は、28 bp の tandem repeat が 2 回繰り返すアレル (2R) もしくは 3 回繰り返すアレル (3R) の組み合わせにより、3R/3R、2R/3R、2R/2R に分類される。更に、3R のうち 2 番目の tandem repeat 中に塩基遺伝子多型 (SNP) で G>C の置換がみられ、この変化も TS 発現に影響していると考えられている。3R/3R、2R/3R の方が 2R/2R よりも、また 3G/3G が 3G/3C、2R/3G、2R/3C、2R/2R よりも TS の mRNA 発現が高いという報告がある⁵⁾。転移性大腸癌に対する 5-FU 治療に対して、3R/3R、2R/3R の方が 2R/2R よりも奏効率が低いという報告⁶⁾がある一方、3R/3R の方が 2R/3R、2R/2R よりも奏効率が良かったという報告もある^{7,8)}。3R G>C SNP に関しては、Stage IV 大腸癌に FOLFOX を含む 5-FU を基軸とした治療を受けた症例の予後解析の結果、2R/3G、3C/3G、3G/3G が 2R/2R、2R/3C、3C/3C よりも予後不良であった⁹⁾。術後補助化学療法として 5-FU 治療をされた症例では、SNP の genotype と予後に関係がなかった⁸⁾。

3'-UTR の遺伝子多型は、3'-UTR の 1,494 番目の塩基に 6 bp の欠失がある場合 (-6 bp)、ない場合 (+6 bp) により、+6 bp/+6 bp、+6 bp/-6 bp、-6 bp/-6 bp に分類される。転移性大腸癌に対し FOLFOX を施行した症例を対象に末梢血より DNA を抽出し、TS の遺伝子多型と生存期間について解析した結果、+6 bp/+6 bp、+6 bp/-6 bp の方が -6 bp/-6 bp に比べて progression-free survival (PFS)、OS のいずれにおいても良好であった¹⁰⁾。一方で、-6 bp/-6 bp の方が +6 bp/+6 bp よりも予後が良好であったという報告もある⁹⁾が、これは根治切除術後の術後補助化学療法として 5-FU/leucovorin を施行された症例を対象としており、背景が異なる。大腸癌の転移性の評価病変を有する 166 症例に対し FOLFOX4 を施行された結果、TS の 5'-UTR と 3'-UTR の遺伝子多型は両方とも治療効果とは有意な相関が認められなかったとする報告¹¹⁾もあり、今のところ TS の遺伝子多型と抗癌剤の治療効果については一定の見解は確

立されていない状況であり、今後のデータの集積を待つ必要がある。

2. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)

MTHFR は、還元型葉酸である 5',10'-methylene THF から 5'-methyl THF への変換に関与するため、FdUMP や TS とともに三元複合体を形成する 5',10'-methylene THF の細胞内濃度に影響する。すなわち、MTHFR の酵素活性が低下することにより 5',10'-methylene THF の細胞内濃度が増加し、5-FU の効果が増強すると考えられる。

MTHFR には、677 番目 (C>T: codon 222 Ala>Val) と 1,298 番目 (A>C: codon 429 Glu>Ala) の塩基に SNP を認める。これらの遺伝子多型は MTHFR の酵素活性に影響をもたらし、677 の変異型の T では酵素活性が低下し、血中葉酸濃度が低くなることが報告されている。Stage IV 大腸癌を対象に 5-FU/leucovorin を投与された症例研究では、677 T/T の genotype 症例の方が C/T、C/C に比べて化学療法の奏効率が有意に高かった⁷⁾。また、1298 の多型については、Stage IV 大腸癌症例に FOLFOX を含む 5-FU を基軸とした治療を施行された 318 症例のうち、女性 141 例の A/A 症例が、A/C、C/C 症例と比較して OS の延長が認められたという報告がある¹²⁾。1298 C/C の genotype に関しては、女性の大腸癌に罹患するリスクが低いという疫学研究¹³⁾もあり、性差に特異的な多型である。一方で、前述した大腸癌の転移性の評価病変を有する 166 症例に対し FOLFOX4 を施行された症例解析では、MTHFR のいずれの多型とも治療効果との間に有意な相関は認められなかったとする報告¹¹⁾もあるが、性差での違いについては詳細な記載はない。MTHFR は、化学療法の治療効果予測因子の候補になりうると思われるが、性差を考慮するべきであろう。

3. Excision repair cross-complementing 1 (ERCC1), ERCC2

ERCC1 は、オキサリプラチンのような抗癌剤

により癌細胞がDNAの損傷を受けたときにその修復にかかわる遺伝子であり、この遺伝子発現が高いほどオキサリプラチンに対する耐性が強いと考えられている。切除不能進行・再発大腸癌を対象としたFOLFOXの治療症例において、免疫染色によるERCC1の発現と治療効果の間に有意な相関は認められなかったものの、ERCC1低発現例では、高発現例よりもOSの延長が認められたという報告がある¹¹⁾。Stage IV大腸癌を対象としたFOLFOXの治療効果と癌部のERCC1発現をmRNAの発現量で検討した報告では、ERCC1 mRNA量の低値例の方が高値例に比べてOSの延長が認められた³⁾。

ERCC1にも exon 4 の codon 118 に C>T の SNP を認める。AAC が AAT になり結果的には同じアスパラギンになるのだが、この変換が ERCC1 の発現に影響を与えており、T/T の方が C/T、C/C よりも ERCC1 の mRNA 発現が高い傾向にあった¹²⁾。このことは、実際の臨床データと合致しており、転移性大腸癌に対するFOLFOX4施行症例において、このERCC1のSNPがT/Tである場合、C/Cに対して有意にPFSが不良であったと報告されている¹³⁾。同じく転移性大腸癌に対してFOLFOXを施行された症例でもC/Cの方が、C/TやT/TよりもOSで有意に優れていた^{10,14)}。

以上のことから、オキサリプラチンを含む化学療法において、mRNAやタンパク量はもとよりSNPのgenotypeを含めてERCC1発現の高い場合、奏効率が低く予後不良であるという一定の成績が得られており、ERCC1はFOLFOXの治療効果予測因子として有用な分子であると考えられる。

ERCC2は、xeroderma pigmentosum group D (XPD)とも称され、ERCC1同様にオキサリプラチンにより受けたDNA損傷を修復する働きをもつ遺伝子である。この遺伝子には、codon 156 (C>A: silence), codon 312 (G>A: Asp>Asn), codon 751 (A>C: Lys>Gln) の3つの遺伝子多型が認められており、これらの変化がDNA修復能に深く関与しているという報告がある。切除不能進行・再発大腸癌に対してFOLFOXを

施行された結果、codon 751がLys/Lysの方がLys/Gln、Gln/Glnよりも有意にOSが良好であったが、codon 156とcodon 312の遺伝子多型とOSとの間に関連は認められなかった¹⁵⁾。転移性大腸癌に対するFOLFOX4施行症例においても、codon 751のLys/Gln、Gln/Glnが、Lys/Lysよりも有意にPFS、OSにおいて不良であった¹¹⁾。

このことから、ERCC2 codon 751の遺伝子多型もERCC1同様にFOLFOXの治療効果予測因子として有用な分子であるといえよう。

4. GSTP1, GSTM1, GSTT1

GSTとは、生体内において薬物や毒物をグルタチオンに結合させ体外に排出する作用をもつ解毒酵素であり、5つのサブクラス(α , μ , π , θ , ξ)がある。このうちGST- π は、プラチナ系薬剤の感受性と関係することが知られている¹⁶⁾。GST- π をコードする遺伝子がGSTP1であり、大腸癌でその発現が亢進していることが報告されている¹⁷⁾。GSTP1の高発現とシスプラチンやオキサリプラチンの耐性との関連は様々な癌で実証されている。切除不能進行・再発大腸癌を対象としたFOLFOXの治療症例において、免疫染色によるGSTP1の発現と治療効果の間に有意な相関は認められなかったものの、TS、ERCC1、GSTP1のいずれも高発現症例では、予後不良であった¹¹⁾。

GSTP1のcodon 105上にはA>G (Ile>Val)に置換されるSNPが存在し、そのgenotypeにより転移性大腸癌に対するFOLFOXの治療効果に違いが認められている。Val/Valのgenotypeをもつ症例が、Ile/ValやIle/Ileよりも有意に予後が良好であったと複数報告されている^{10,16)}。一方、Stage IV大腸癌にFOLFOX4が施行された症例の解析において、これらgenotypeと予後との間に相関は認められなかったものの、Val/Valのgenotypeをもつ症例にIle/ValやIle/Ileよりgrade 3以上の好中球減少症との相関が見いだされた¹¹⁾。

GSTP1に加えて、GSTM1とGSTT1についてもその発現とオキサリプラチンに対する感受性