

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に関する研究

研究分担者 岡本 勇 近畿大学医学部内科学腫瘍内科学部門 准教授

研究要旨

EGFRチロシンキナーゼ阻害剤のアポトーシス誘導の分子的メカニズムを詳細に解明することにより、その分子メカニズムに応じて新治療の基礎的検討を行い臨床へ導入を図ることを目的とする。

A. 研究目的

EGFR(上皮成長因子受容体)チロシンキナーゼ阻害剤はEGFR遺伝子変異陽性非小細胞肺癌患者の治療において非常に優れた抗腫瘍効果を発揮する分子標的治療薬であり、すでに臨床導入されている。しかし、EGFR遺伝子変異を認めていても抗腫瘍効果を発揮しない症例や、抗腫瘍効果を認めた症例においても薬剤耐性が生じることが臨床的に問題となっている。我々は前年度までの研究にて、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤がEGFR遺伝子変異陽性非小細胞肺癌細胞株においてアポトーシスを引き起こす際にIAP family 蛋白のひとつであるサバイビンの発現量低下が重要な役割を果たすことを示した(Cancer Res vol170 p10402-10410, 2010)。本研究においては、サバイビンを標的とした新規小分子化合物であるYM155を用いて臨床上喫緊の課題となっているEGFRチロシンキナーゼ阻害剤への耐性克服の可能性の基礎的検討を行い臨床へ導入を図ることを目的とする。

B. 研究方法

EGFR遺伝子変異を有しながらEGFRチロシンキナーゼ阻害剤エルロチニブに対して抵抗性を有する肺癌細胞株(H1650)と、EGFR遺伝子変異を有する高感受性株であるPC9をEGFRチロシンキナーゼ阻害剤に長期暴露することで得られた獲得耐性株PC9/GEF(Cancer Res vol170 p8715-8725, 2010)に対してエルロチニブを暴露した際に、サバイビン蛋白の発現量に変化が生じるかどうかをWestern blot法で確認するとともにアポトーシスの誘導状況を検討する。また、これらのEGFRチロシンキナーゼ阻害剤耐性細胞株に対してYM155とエルロチニブの併用療法を行った際のサバイビン蛋白量変化とアポトーシス誘導状況をWestern blot法及びAnnexin法を用いて検討する。また、ヌードマウスを用いたin vivoの実験においてもこれら細胞株を

用いてYM155とエルロチニブの併用療法の抗腫瘍効果を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針を遵守し細胞株、ヌードマウスを用いた実験を行う。

C. 研究結果

EGFR遺伝子変異を有しながらEGFRチロシンキナーゼ阻害剤エルロチニブに対して抵抗性を有する肺癌細胞株H1650, PC9/GEF細胞はPTEN欠失が認められ、エルロチニブ処理にてもサバイビンの発現量の低下が起こらずアポトーシスが誘導されなかった。これらエルロチニブ耐性細胞株をYM155とエルロチニブの併用にて処理することにより、サバイビン発現低下と優位なレベルのアポトーシスを誘導することに成功した。さらにマウスを用いたin vivoにおいてエルロチニブ耐性細胞株H1650由来の腫瘍はエルロチニブ単剤治療では腫瘍増殖抑制を認めなかったのに対して、YM155とエルロチニブの併用療法にて有意な腫瘍増殖抑制を認めた。

D. 考察

EGFRチロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性メカニズムにはT790M変異、MET経路活性化、PTEN欠失など複数知られているが、いずれのケースにおいてもEGFRチロシンキナーゼ阻害剤によるPI3K→AKT→サバイビン経路の抑制が出来ない状況であり、サバイビンを標的とする治療開発はこれら耐性克服に有用であると考えられる。

E. 結論

サバイビンを標的とするYM155とEGFRチロシンキナーゼ阻害剤の併用療法はEGFRチロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性に対して有用な可能性

がある。

F. 健康危険情報
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. Okamoto, I., Aoe, K., Kato, T., Hosomi, Y., Yokoyama, A., Imamura, F., Hirashima, T., Nishio, M., Nogami, N., Okamoto, H., Saka, H., Yamamoto, N., Yoshizuka, N., Sekiguchi, R., Kiyosawa, K., Nakagawa, K., Tamura, T. Pemetrexed and carboplatin followed by pemetrexed maintenance therapy in chemo-naïve patients with advanced nonsquamous non-small cell lung cancer. *Investigational New Drugs.*, 2013 in press
 2. Kiyota, H., Okamoto, I., Takeda, M., Daga, H., Naito, T., Miyazaki, M., Okada, H., Hayashi, H., Tanaka, K., Terashima, M., Azuma, K., Murakami, H., Takeda, K., Yamamoto, N., Nakagawa, K. Phase I and pharmacokinetic study of gefitinib and S-1 combination therapy for advanced adenocarcinoma of the lung. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.*, 71(4):859-865, 2013.
 3. Yoshioka, H., Okamoto, I., Morita, S., Ando, M., Takeda, K., Seto, T., Yamamoto, N., Saka, H., Atagi, S., Hirashima, T., Kudoh, S., Satouchi, M., Ikeda, N., Iwamoto, Y., Sawa, T., Nakanishi, Y., Nakagawa, K. Efficacy and safety analysis according to histology for S-1 in combination with carboplatin as first-line chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer: updated results of the West Japan Oncology Group LETS study. *Annals of Oncology.*, 2013 in press
 4. Okamoto, I., Arao, T., Miyazaki, M., Satoh, T., Okamoto, K., Tsunoda, T., Nishio, K., Nakagawa, K. Clinical Phase I Study of Elpamotide, a Peptide Vaccine for VEGFR 2, in Patients with Advanced Solid Tumors. *Cancer Science.*, 103(12): 2135-2138, 2012.
 5. Tanizaki, J., Okamoto, I., Okabe, T., Sakai, K., Tanaka, K., Hayashi, H., Kaneda, H., Takezawa, K., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Hatashita, E., Nishio, K., Nakagawa, K. Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research.*, 18(22): 6219-6226, 2012.
 6. Hayashi, H., Okamoto, I., Kimura, H., Sakai, K., Nishimura, Y., Nishio, K., Nakagawa, K. Clinical Outcome of Thoracic Radiotherapy for Locally Advanced NSCLC with EGFR Mutations or EML4-ALK. *Anticancer Research.*, 32(10): 4533-4537, 2012.
 7. Takeda, M., Okamoto, I., Sakai, K., Kawakami, K., Nishio, K., Nakagawa, K. Clinical outcome for EML4-ALK-positive patients with advanced non-small cell lung cancer treated with first-line platinum-based chemotherapy. *Annals of Oncology.*, 23(11): 2931-2936, 2012.
 8. Okamoto, I., Nakagawa, K. EML4-ALK-targeted therapy for advanced non-small cell lung cancer: molecular and clinical aspects. *Cancer Science.*, 103(8): 1391-1396, 2012.
 9. Hayashi, H., Okamoto, I., Morita, S., Taguri, M., Nakagawa, K. Postprogression survival for first-line chemotherapy of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology.*, 23(6): 1537-1541, 2012.
- 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

乳癌の化学療法効果予測法の開発に関する研究

研究分担者 野口眞三郎 大阪大学大学院医学系研究科乳腺内分泌外科教授

研究要旨

術前化学療法を実施したstage II-IIIの乳癌症例180例を対象とし、化学療法前に採取した生検腫瘍組織におけるFOXP3、CD8、IL17F陽性リンパ球を免疫組織学的に定量した。FOXP3陽性乳癌およびCD8陽性乳癌はそれぞれ陰性乳癌に比して病理学的完全寛解（pCR）率が有意に高率であったが、IL17Fの発現とpCRは相関しなかった。多変量解析の結果、FOXP3とKi67のみが独立した有意のpCR予測因子であった。以上の結果より、FOXP3とKi67の組み合わせが臨床的に有用な化学療法効果予測因子になる可能性が示唆された。

A. 研究目的

乳癌治療には化学療法が汎用されているが、臨床的に有用な化学療法の効果予測因子はまだ存在しない。近年、腫瘍浸潤リンパ球と化学療法の効果との関連が注目を集めている。そこで、我々は乳癌の化学療法感受性と腫瘍浸潤リンパ球のサブセットとの関連を明らかにすべく以下の検討を行った。

B. 研究方法

180例のstage II-IIIの乳癌患者から化学療法前に採取した生検腫瘍組織、及び、化学療法後の手術時に採取した腫瘍組織におけるFOXP3（制御性T細胞）、CD8（細胞障害性T細胞）、IL17F（Th17細胞）陽性リンパ球を免疫組織学的に定量した。化学療法としては、パクリタキセル（80mg/m²）を12回毎週投与し、続いて5-FU（500mg/m²）＋エピルビシン（75mg/m²）＋シクロフオスファミド（500mg/m²）を3週毎に4サイクル（P-FEC療法）を実施した。

（倫理面への配慮）

今回実施した研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき倫理委員会で承認を受けたものである。

C. 研究結果

FOXP3陽性乳癌およびCD8陽性乳癌はそれぞれ陰性乳癌に比して病理学的完全寛解（pCR）率が有意に高率であったが、IL17Fの発現とpCRは相関しなかった。FOXP3、CD8ともに陽性の群のpCR率（33.0%）はともに陰性群（3.7%）に対し有意に高かった。臨床病理学的因子との関係では、FOXP3陽性乳癌およびCD8陽性乳癌ともに、ER陰性、PR陰性、Ki67高発現と相関を認めた。

多変量解析の結果、FOXP3とKi67のみが独立したpCR予測因子であった。FOXP3とKi67が共に陽性の乳癌のpCR率が38.2%であるのに対し共に陰性のpCR率はわずか2.6%であった。一方、化学療法後の手術標本での検討ではFOXP3、CD8の両者で陰性群のpCR率が高値を示した。これは、化学療法が奏功し腫瘍が消失した例では腫瘍床の線維化が進行しリンパ球の浸潤自体が消失していた為と考えられた。

D. 考察

制御性T細胞が浸潤している腫瘍ほど化学療法の効果が良好であったということは、化学療法が制御性T細胞の作用を抑制するとする動物実験の研究結果と合わせて考えると、化学療法は、①直接腫瘍細胞に障害を与える経路のみならず、②制御性T細胞の活性を抑制することによって抗腫瘍免疫を間接的に増強する経路を有していることが本研究によって示唆された。

E. 結論

乳癌の化学療法の感受性には、細胞増殖（Ki67）と腫瘍免疫（制御性T細胞、細胞障害性T細胞）が関与していること、また、FOXP3とKi67の組み合わせが臨床的に有用な化学療法効果予測因子になる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当事項なし

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. Yamamoto, N., Nakayama, T., Kajita, M., Miyake, T., Iwamoto, T., Kim, S. J., Sakai, A., Ishihara, H., Tamaki, Y., Noguchi, S.: Detection of aberrant promoter methylation of GSTP1, RASSF1A, and RARBeta2 in serum DNA of patients with breast cancer by a newly established one-step methylation-specific PCR assay. *Breast Cancer Res Treat*, 132(1):165-173, 2012.
 2. Tsunashima, R., Naoi, Y., Kishi, K., Baba, Y., Shimomura, A., Maruyama, N., Nakayama, T., Shimazu, K., Kim, S. J., Tamaki, Y., Noguchi, S.: Estrogen receptor positive breast cancer identified by 95-gene classifier as at high risk for relapse shows better response to neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Lett*, 324(1):42-47, 2012.
 3. Tominaga, N., Naoi, Y., Shimazu, K., Nakayama, T., Maruyama, N., Shimomura, A., Kim, S. J., Tamaki, Y., Noguchi, S.: Clinicopathological analysis of GATA3-positive breast cancers with special reference to response to neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol*, 23(12):3051-3057, 2012.
 4. Okishiro, M., Kim, S. J., Tsunashima, R., Nakayama, T., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Tamaki, Y., Noguchi, S.: MDM2 SNP309 and TP53 R72P associated with severe and febrile neutropenia in breast cancer patients treated with 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide. *Breast Cancer Res Treat*, 132(3):947-953, 2012.
 5. Oda, N., Shimazu, K., Naoi, Y., Morimoto, K., Shimomura, A., Shimoda, M., Kagara, N., Maruyama, N., Kim, S. J., Noguchi, S.: Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, 136(1):107-116, 2012.
 6. Naoi, Y., Tanei, T., Kishi, K., Tsunashima, R., Tominaga, N., Baba, Y., Nakayama, T., Shimazu, K., Kim, S. J., Tamaki, Y., Noguchi, S.: 70-Gene classifier for differentiation between paclitaxel- and docetaxel-sensitive breast cancers. *Cancer Lett*, 314(2):206-212, 2012.
 7. Nakamura, Y., Oshima, K., Naoi, Y., Nakayama, T., Kim, S. J., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Tamaki, Y., Noguchi, S.: 14-3-3 σ expression is associated with poor pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in human breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*, 134(1):229-236, 2012.
 8. Miyake, T., Nakayama, T., Naoi, Y., Yamamoto, N., Otani, Y., Kim, S. J., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Tamaki, Y., Noguchi, S.: GSTP1 expression predicts poor pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in ER-negative breast cancer. *Cancer Sci*, 103(5):913-920, 2012.
 9. Kim, S. J., Nakayama, S., Shimazu, K., Tamaki, Y., Akazawa, K., Tsukamoto, F., Torikoshi, Y., Matsushima, T., Shibayama, M., Ishihara, H., Noguchi, S.: Recurrence risk score based on the specific activity of CDK1 and CDK2 predicts response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide in breast cancers. *Ann Oncol*, 23(4):891-897, 2012.
 10. Fujita, N., Nakayama, T., Yamamoto, N., Kim, S. J., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Morimoto, K., Tamaki, Y., Noguchi, S.: Methylated DNA and Total DNA in Serum Detected by One-Step Methylation-Specific PCR Is Predictive of Poor Prognosis for Breast Cancer Patients. *Oncology*, 83(5):273-282, 2012.
- H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他

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に関する研究

研究分担者 西尾 和人 近畿大学医学部ゲノム生物学教室 教授

研究要旨

分子標的薬の治療効果規定因子の解析研究として、EGFR-TKI耐性に関わるEGFR T790M変異を検出する高感度コロニーハイブリダイゼーション法（CH法）を構築し、同法による臨床検体の測定は0.01%の感度で実施できた。内因性T790M陽性肺癌が予後良好群であることを示した。

マスアレイ法を用いた肺癌EML4-ALK融合遺伝子の検出法を開発し、FFPE検体での検出を可能にした。臨床検体での検討により、ALK融合遺伝子陽性は、化学療法施行群において他因子発現群と予後に差異はなく、ALK阻害剤に対する効果予測因子であることが示唆された。

A. 研究目的（100～200字程度）

分子標的薬の治療効果規定因子の解析研究として、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤耐性の約半数に関わるT790Mの高感度アッセイ系の確立と臨床検体での解析、臨床像との関連を検討する。ALK融合遺伝子の検出は、ALK阻害剤の適応に重要であるが、PCRベースの測定系は凍結検体に限定され、パラフィン包埋（FFPE）検体によるスクリーニングが求められている。そこでFFPE検体でのALK融合遺伝子検出系の確立と臨床検体における測定可能性を検証する。

B. 研究方法（400～500字程度）

高感度アッセイ系として、コロニーハイブリダイゼーション法（CH法）とマスアレイ法を構築し、EGFR T790M発現plasmidと各種肺癌細胞株を用いて検出感度、特異度を検討した。さらに臨床検体を用いて、T790M変異検出率と臨床像との関連性を検討した。

(1) CH法を用いたEGFR T790M変異の高感度検出：肺癌FFPE検体からDNAを抽出し、RI標識T790M probeを用いてCH法を実施し、陽性・陰性コロニーの比率から、T790Mの発現頻度を検討した。(2) マスアレイを用いた肺癌EML4-ALK融合遺伝子の検出：肺癌における9種のEML4-ALK variantをFFPE検体で検出するprimerを設計し、各々のEML4-ALK variantのPCR産物を一塩基伸長反応により検出する方法を開発した。各種ALK融合遺伝子のplasmid DNAを作成し感度検定を行った。また、同法を用いて20例の肺癌生検FFPE検体での検出と定法（FISH法）によるvalidationを試みた。

（倫理面への配慮）

組み換えDNA実験は遺伝子組み換え実験安全管理委員会の承認を得て実施した。臨床検体を用いた検討は、医学部遺伝子倫理委員会の承認を得て、同意を得たうえで実施した。

C. 研究結果（600～700字程度）

(1) CH法を用いたEGFR T790M変異の高感度検出
Plasmid DNAを用いた感度検定では、陽性・陰性コロニーの比率から、T790Mの発現頻度を検討した。同法による感度は0.01%であり、従来の高感度アッセイ法の1%に比して高い感度を示した。

従来の高感度アッセイ法（Scorpion-Arms法）で陰性となったが、臨床的に内因性耐性と考えられたEGFR-TKI治療前の検体38例（愛知県がんセンターとの共同研究）でのT790M検出を試み、同法により30/38（79%）で検出した。T790M陽性率を強陽性・陽性・陰性の3群にわけ、time to failure (TTF)を検討した結果、強陽性群では陰性群（ $p = 0.0097$ ）及び陽性群（ $p = 0.0019$ ）に比し明らかなTTFの延長を認めた。

(2) マスアレイを用いた肺癌EML4-ALK融合遺伝子の検出
各種ALK融合遺伝子の感度検定において、plasmid DNA 1 copyを検出できる高い感度を示した。同法を用いて20例の肺癌生検FFPE検体での検出を試みた結果、3例でEML4-ALK融合遺伝子が検出された。3例の検出例は、FISH法により陽性が確認され、FFPE検体に対するEML4-ALK融合遺伝子の検出に有効であった。さらに、200例の非扁平上皮非小細胞肺癌FFPE検体での測定を行い、プラチナ化合物を含む化学療法治療に対する予後解析を行った。本検討では、EML4-ALK陽性18例（9.0%）、EGFR遺伝子変異陽性31例（15.5%）、両遺伝子変異陰性151例（75.5%）となり、3群での化学療法施行後の予後には差を認めなかった。

D. 考察（200～300字程度）

CH法を用いたT790Mの高感度検出法は、EGFR-TKI治療前の内因性T790M陽性腫瘍の検出を可能にし、これらは予後良好群として治療戦略の決定に寄与すると考えられる。

マスアレイ法での検討は、FFPE検体でのALK融合遺伝子陽性の肺癌患者のスクリーニングが可能であることを示し、ALK阻害剤の適応アルゴリズム（日本肺癌学会バイオマーカー委員会編）を改定することが可能となる。また同アッセイ法は高感度であることから、血液中での検出が可能となることが考えられ、検討を進めている。

E. 結論（150～200字程度）

CH法を用いた高感度アッセイ法を確立した。同法による臨床検体におけるEGFR T790M遺伝子変異の高感度検出が可能であり、内因性T790M陽性肺癌が予後良好群であることを示した。

マスアレイ法を用いた肺癌EML-ALK融合遺伝子の検出法を開発し、FFPE検体での検出を可能にした。臨床検体での検討により、ALK融合遺伝子陽性は、化学療法施行群において他因子発現群と予後に差異はなく、ALK阻害剤に対する効果予測因子で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. Yoshida, S., Matsumoto, K., Arao, K., Taniguchi, H., Goto, I., Hanafusa, T., Nishio, K., Yamada, Y. Gene amplification of ribosomal protein s6 kinase-1 and -2 gastric cancer. *Anticancer Res.* 2013; 33(2): 469-75.
2. Katakami N, Atagi S, Goto K, Hida T, Horai T, Inoue A, Ichinose Y, Kobayashi K, Takeda K, Kiura K, Nishio K, Seki Y, Ebisawa R, Shahidi M, Yamamoto N. LUZ-Lung 4: A phase II trial of afatinib in patients with advanced, non-small cell lung cancer who progressed on prior treatment with erlotinib, gefitinib, or both. *J. Clin. Oncol.* 2013; in press.
3. Hayashi H, Okamoto I, Kimura H, Sakai K, Nishimura Y, Nishio K, Nakagawa K. Clinical outcomes of thoracic radiotherapy for locally advanced NSCLC with EGFR mutations or EML4-ALK rearrangement. *Anticancer Res.* 2011;32(10): 4533-7.
4. Hayashi H, Kurata T, Fujisaka Y, Kawakami H, Tanaka K, Okabe T, Takeda M, Satoh T,

Yoshida K, Tsunoda T, Arao T, Nishio K, Nakagawa K. Phase I trial of OTS11101, an anti-angiogenic vaccine targeting vascular endothelial growth factor receptor 1 in solid tumor. *Cancer Sci.* 2012; 104(1): 98-104.

5. Okamoto I, Arao T, Miyazaki M, Satoh T, Okamoto K, Tsunoda T, Nishio K, Nakagawa K. Clinical phase I study of elpamotide, a peptide vaccine for VEGFR 2, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Sci.* 2012; 103(12): 2135-8.
6. Fujita Y, Suda K, Kimura H, Matsumoto K, Arao T, Nagai T, Saijo N, Yatabe Y, Mitsudomi T, Nishio K. Highly sensitive detection of EGFR T790M mutation using colony hybridization predicts favorable prognosis of patients with lung cancer harboring activating EGFR mutation. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7(11):1640-4.
7. Arao T, Ueshima K, Matsumoto K, Nagai T, Kimura H, Hagiwara S, Sakurai T, Haji S, Kanazawa A, Hidaka H, Iso Y, Kubota K, Shimada M, Utsunomiya T, Hirooka M, Hiasa Y, Toyoki Y, Hakamada K, Yasui K, Kumada T, Toyoda H, Sato S, Hisai H, Kuzuya T, Tsuchiya K, Izumi N, Arii S, Nishio K, Kudo M. FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; E-pub ahead of print.
8. Minakata K, Takahashi F, Nara T, Hashimoto M, Tajima K, Murakami A, Nurwidya F, Yae S, Koizumi F, Moriyama H, Seyama K, Nishio K, Takahashi K. Hypoxia induces gefitinib resistance in non-small cell lung cancer with both mutant wild-type epidermal growth factor receptors. *Cancer Sci.* 2012; 103(11): 1946-4.
9. Ureshino H, Murakami Y, Watari K, Izumi H, Kawahara A, Kage M, Arao T, Nishio K, Yanagihara K, Kinoshita H. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) promotes metastasis of human scirrrous gastric cancer cell through epithelial mesenchymal transition. *Plos One* 2012;

- 7(7):1312.
10. Tanizaki J, Okamoto I, Okabe T, Sakai K, Tanaka K, Hayashi H, Kaneda H, Takezawa K, Kuwata K, Yamaguchi H, Hatashita E, Nishio K, Nakagawa K. Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18(22): 6219-26.
 11. Goto K, Satouchi M, Ishii G, Nishio K, Hagiawara K, Mitsudomi T, Whiteley J, Donald E, McCormack R, Todo T. An evaluation study of EGFR mutation tests utilized for non-small-cell lung cancer in the diagnostic setting. *Ann. Oncol.* 2012; 23(11): 2914-9.
 12. Takeda M, Okamoto I, Sakai K, Kawakami H, Nishio K, Nakagawa K. Clinical outcome for EML4-ALK-positive patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with first-line platinum-based chemotherapy. *Ann. Oncol.* 2012; 23(11): 2931-6.
 13. Okamoto W, Okamoto I, Arao T, Kuwata K, Hatashita E, Yamaguchi H, Sakai K, Yanagihara K, Nishio K, Nakagawa K. Antitumor action of the MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) in gastric cancer positive for MET amplification. *Mol. Cancer Ther.* 2012; 11(7): 1557-64.
 14. Sakai K, Okamoto I, Takezawa K, hirashima T, Kaneda H, Takeda M, Matsumoto K, Kimura H, Fujita Y, Nakagawa K, Arao T, Nishio K. A novel mass spectrometry-based assay for diagnosis of EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7(5): 913-8.
 15. Oiso N, Tatsumi Y, Arao T, Rai S, Kimura M, Nakamura S, Itoh T, Nishio K, Matsumura I, Kawada A. Loss of genomic DNA copy numbers in the p18, p16, p27 and RB loci in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Eur. J. Dermatol.* 2012; 22(3): 393-4.
 16. Matsuoka H, Arao T, Makimura, C, Takeda M, Kiyota H, Tsurutani J, Fujita Y, Matsumoto K, Kimura H, Otsuka M, Koyama A, Imamura CK, Tanigawara Y, Yamanaka T, Tanaka K, Nishio K, Nakagawa K. Expression changes in arrestin $\beta 1$ and genetic variation in catechol-O-methyltransferase are biomarkers for the response to morphine treatment in cancer patients. *Oncol. Rep.* 2012; 27(5): 1393-9.
 17. Tanaka K, Arao T, Tamura D, Aomatsu K, Furuta K, Matsumoto K, Kaneda H, Kudo K, Fujita Y, Kimura H, Yanagihara K, Yamada Y, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. SRPX2 is a novel chondroitin sulfate proteoglycan that is overexpressed in gastrointestinal cancer. *Plos One* 2012; 7(1): e27922.
 18. Matsumoto K, Arao T, Hamaguchi T, Shimada Y, Kato K, Oda I, Taniguchi H, Koizumi F, Yanagihara K, Sasaki H, Nishio K, Yamada Y. FGFR2 gene amplification and clinicopathological features in gastric cancer. *Br. J. Cancer* 2012; 106(4): 727-32.
 19. Tanizaki J, Okamoto I, Takezawa K, Sakai K, Azuma K, Kuwata K, Yamaguchi H, Hatashita E, Nishio K, Janne PA, Nakagawa K. Combined effect of ALK and MEK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer cells. *Br. J. Cancer* 2012; 106(4): 763-7.
- H. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）
1. 特許取得
 1. ソラフェニブの効果予測方法、西尾和人他3名、特許公開2012-249633、2012年12月20日公開
 2. EML4-ALK融合遺伝子の好感度検出方法、西尾和人、外5名、特許公開2012-100628、2012年5月13日公開
 2. 実用新案登録
 3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1	Ekylongo, RC., Mukohara, T., Kataoka, Y., Kiyota, N., Fujiwara, Y., <u>Minami, H.</u>	Mechanisms of acquired resistance to insulin-like growth factor 1 receptor inhibitor in MCF-7 breast cancer cell line.	Invest New Drugs	31(2)	293-303	2013
2	Ogi, S., Fujita, H., Kashihara, M., Yamamoto, C., Sonoda, K., <u>Okamoto, I.</u> , Nakagawa, K., Ohdo, S., Tanaka, Y., <u>Kuwano, M.</u> , Ono, M.	Sorting nexin 2-mediated membrane trafficking of c-Met contributes to sensitivity of molecular targeted drugs.	Cancer Sci.	104(5)	573-583	2013
3	Shibata, T., Kan, H., Murakami, Y., Ureshino, H., Watari, K., Kawahara, A., Kage, M., Hattori, S., Ono, M., <u>Kuwano, M.</u>	Y-box binding protein-1 (YB-1) contributes to both HER2/ErbB2 expression and lapatinib sensitivity in human gastric cancer cells.	Mol Cancer Therapeut.		in press	2013
4	Otsuki, S., Nishimura, S., Takabatake, H., Nakajima, K., Takasu, Y., Yagura, T., Sakai, Y., <u>Hattori, A.</u> , Kakeya, H.	Chemical tagging of a drug target using 5-sulfonyl tetrazole. Bioorg.	Med Chem Lett.	23	1608-1611	2013
5	Katayama, K., Noguchi K., <u>Sugimoto Y.</u>	FBXO15 regulates P-glycoprotein/ABCB1 expression through the ubiquitin-proteasome pathway in cancer cells.	Cancer Sci.		in press	2013

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

6	Arao, T., Ueshima, K., Matsumoto, K., Nagai, T., Kimura, H., Hagiwara, S., Sakurai, T., Haji, S., Kanazawa, A., Hidaka, H., Iso, Y., Kubota, K., Shimada, M., Utsunomiya, T., Hirooka, M., Hiasa, Y., Toyoki, Y., Hakamada, K., Yasui, K., Kumada, T., Toyoda, H., Sato, S., Hisai, H., Kuzuya, T., Tsuchiya, K., Izumi, N., Arie, S., <u>Nishio, K.</u> , Kudo, M.	FGF3/FGF4 amplification and multiple lung metastases in responders to sorafenib in hepatocellular carcinoma.	Hepatology		in press	2013
7	Makihara, RA., Makino, Y., Yamamoto, N., Yokote, N., Nokihara, H., Sekine, I., Ohe, Y., <u>Tamura, T.</u> , Yamamoto, H.	Gender difference in hematological toxicity among lung cancer patients receiving amrubicin monotherapy.	Jpn J Clin Oncol.	42(12)	1187-1191	2012
8	Makino, Y., Yamamoto, N., Sato, H., Ando, R., Goto, Y., Tanai, C., Asahina, H., Nokihara, H., Sekine, I., Kunitoh, H., Ohe, Y., Sugiyama, E., Yokote, N., <u>Tamura, T.</u> , Yamamoto, H.	Pharmacokinetic and pharmacodynamic study on amrubicin and amrubicinol in Japanese patients with lung cancer.	Cancer Chemother Pharmacol.	69(4)	861-869	2012
9	Kataoka, Y., Mukohara, T., Tomioka, H., Funakoshi, Y., Kiyota, N., Fujiwara, Y., Yashiro, M., Hirakawa, K., Hirai, M., <u>Minami, H.</u>	Foretinib (GSK1363089), a multi-kinase inhibitor of MET and VEGFRs, inhibits growth of gastric cancer cell lines by blocking inter-receptor tyrosine kinase networks.	Invest New Drugs	30(4)	1352-1360	2012
10	Tomioka, H., Mukohara, T., Kataoka, Y., Ekyalongo, RC., Funakoshi, Y., Imai, Y., Kiyota, N., Fujiwara, Y., <u>Minami, H.</u>	Inhibition of the mTOR/S6K signal is necessary to enhance fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells with <i>HER2</i> amplification.	Int J Oncol.	41(2)	551-558	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

11	Matsumoto, K., Arao, T., Hamaguchi, T., Shimada, Y., Kato, K., Oda, I., Taniguchi, H., <u>Koizumi, F.</u> , Yanagihara, K., Sasaki, H., <u>Nishio, K.</u> , Yamada, Y.	FGFR2 gene amplification and clinicopathological features in gastric cancer.	Br J Cancer	106(4)	727-732	2012
12	Watari, K., Nakamura, M., Fukunaga, Y., Furuno, A., Shibata, T., Kawahara, A., Hosoi, F., Kuwano, T., <u>Kuwano, M.</u> and Ono, M.	The antitumor effect of a novel angiogenesis inhibitor (an octahydronaphthalene derivative) targeting both VEGF receptor and NF-kB pathway.	Int J Cancer	131(2)	310-321	2012
13	Azuma, K., Kawahara, A., Hattori, S., Taira, T., Tsurutani, J., Watari, K., Shibata, T., Murakami, Y., Takamori, S., Ono, M., Izumi, H., Kage, M., Yanagawa, T., Nakagawa, K., Hoshino, T., <u>Kuwano, M.</u>	NDRG1/Cap43/Drg-1 may predict tumor angiogenesis and poor outcome in patients with lung cancer.	J Thorac Oncol.	7(5)	779-789	2012
14	Tabara, K., Kanda, R., Sonoda, K., Kubo, T., Murakami, Y., Kawahara, A., Azuma, K., Abe, H., Kage, M., Yoshinaga, A., Tahira, T., Hayashi, K., Arao, T., <u>Nishio, K.</u> , Rosell, R., <u>Kuwano, M.</u> , Ono, M.	Loss of activating EGFR mutant gene contributes to acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer cells.	PLoS ONE	7(7)	e41017	2012
15	Ureshino, H., Murakami, Y., Watari, K., Izumi, H., Kawahara, A., Kage, M., Arao, T., <u>Nishio, K.</u> , Yanagihara, K., Kinoshita, H., <u>Kuwano, M.</u> , Ono, M.	N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) promotes metastasis of human scirrhous gastric cancer cells through epithelial mesenchymal transition.	PLoS ONE	7(7)	e41312	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

16	Kishimoto, S., Tsunematsu, Y., Nishimura, S., Hayashi, Y., <u>Hattori, A.</u> , Kakeya, H.	Tumescenamamide C, an antimicrobial cyclic lipodepsipeptide from <i>Streptomyces</i> sp. Tetrahedron,	Tetrahedron	68	5572-5578	2012
17	Kawanobe, T., Kogure, S., Nakamura, S., Sato, M., Katayama, K., Mitsuhashi, J., Noguchi, K., <u>Sugimoto, Y.</u>	Expression of human ABCB5 confers resistance to taxanes and anthracyclines.	Biochem Biophys Res Commun.	418(4)	736-741	2012
18	Tanizaki, J., <u>Okamoto, I.</u> , Okabe, T., Sakai, K., Tanaka, K., Hayashi, H., Kaneda, H., Takezawa, K., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Hatashita, E., <u>Nishio, K.</u> , Nakagawa, K.	Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer.	Clin Cancer Res.	18(22)	6219-6226	2012
19	Hayashi, H., <u>Okamoto, I.</u> , Kimura, H., Sakai, K., Nishimura, Y., <u>Nishio, K.</u> , Nakagawa, K.	Clinical Outcome of Thoracic Radiotherapy for Locally Advanced NSCLC with <i>EGFR</i> Mutations or <i>EML4-ALK</i> .	Anticancer Res.	32(10)	4533-4537	2012
20	Takeda, M., <u>Okamoto, I.</u> , Sakai, K., Kawakami, K., <u>Nishio, K.</u> , Nakagawa, K.	Clinical outcome for EML4-ALK-positive patients with advanced non-small cell lung cancer treated with first-line platinum-based chemotherapy.	Annals of Oncol.	23(11)	2931-2936	2012
21	<u>Okamoto, I.</u> , Nakagawa, K.	EML4-ALK-targeted therapy for advanced non-small cell lung cancer: molecular and clinical aspects.	Cancer Sci.	103(8)	1391-1396	2012
22	Yamamoto, N., Nakayama, T., Kajita, M., Miyake, T., Iwamoto, T., Kim, S. J., Sakai, A., Ishihara, H., Tamaki, Y., <u>Noguchi, S.</u>	Detection of aberrant promoter methylation of GSTP1, RASSF1A, and RARbeta2 in serum DNA of patients with breast cancer by a newly established one-step methylation-specific PCR assay.	Breast Cancer Res Treat.	132(1)	165-173	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

23	Tsunashima, R., Naoi, Y., Kishi, K., Baba, Y., Shimomura, A., Maruyama, N., Nakayama, T., Shimazu, K., Kim, S. J., Tamaki, Y., <u>Noguchi, S.</u>	Estrogen receptor positive breast cancer identified by 95-gene classifier as at high risk for relapse shows better response to neoadjuvant chemotherapy.	Cancer Lett.	324(1)	42-47	2012
24	Oda, N., Shimazu, K., Naoi, Y., Morimoto, K., Shimomura, A., Shimoda, M., Kagara, N., Maruyama, N., Kim, S. J., <u>Noguchi, S.</u>	Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients.	Breast Cancer Res Treat.	136(1)	107-116	2012
25	Miyake, T., Nakayama, T., Naoi, Y., Yamamoto, N., Otani, Y., Kim, S. J., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Tamaki, Y., <u>Noguchi, S.</u>	GSTP1 expression predicts poor pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in ER-negative breast cancer.	Cancer Sci.	103(5)	913-920	2012
26	Kim, S. J., Nakayama, S., Shimazu, K., Tamaki, Y., Akazawa, K., Tsukamoto, F., Torikoshi, Y., Matsushima, T., Shibayama, M., Ishihara, H., <u>Noguchi, S.</u>	Recurrence risk score based on the specific activity of CDK1 and CDK2 predicts response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide in breast cancers.	Ann Oncol.	23(4)	891-897	2012
27	Fujita, N., Nakayama, T., Yamamoto, N., Kim, S. J., Shimazu, K., Shimomura, A., Maruyama, N., Morimoto, K., Tamaki, Y., <u>Noguchi, S.</u>	Methylated DNA and Total DNA in Serum Detected by One-Step Methylation-Specific PCR Is Predictive of Poor Prognosis for Breast Cancer Patients.	Oncol.	83(5)	273-282	2012
28	Fujita, Y., Suda, K., Kimura, H., Matsumoto, K., Arao, T., Nagai, T., Saijo, N., Yatabe, Y., Mitsudomi, T., <u>Nishio, K.</u>	Highly sensitive detection of EGFR T790M mutation using colony hybridization predicts favorable prognosis of patients with lung cancer harboring activating EGFR mutation.	J Thorac Oncol.	7(11)	1640-1644	2012

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

29	Okamoto, W., <u>Okamoto, I.</u> , Arao, T., Kuwata, K., Hatashita, E., Yamaguchi, H., Sakai, K., Yanagihara, K., <u>Nishio, K.</u> , Nakagawa, K.	Antitumor action of the MET tyrosine kinase inhibitor crizotinib (PF-02341066) in gastric cancer positive for MET amplification.	Mol Cancer Ther.	11(7)	1557-15 64	2012
30	Sakai, K., <u>Okamoto, I.</u> , Takezawa, K., Hirashima, T., Kaneda, H., Takeda, M., Matsumoto, K., Kimura, H., Fujita, Y., Nakagawa, K., Arao, T., <u>Nishio, K.</u>	A novel mass spectrometry-based assay for diagnosis of EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer.	J Thorac Oncol.	7(5)	913-918	2012
31	Matsuoka, H., Arao, T., Makimura, C., Takeda, M., Kiyota, H., Tsurutani, J., Fujita, Y., Matsumoto, K., Kimura, H., Otsuka, M., Koyama, A., Imamura, CK., Tanigawara, Y., Yamanaka, T., Tanaka, K., <u>Nishio, K.</u> , Nakagawa, K.	Expression changes in arrestin β 1 and genetic variation in catechol-O-methyltransferase are biomarkers for the response to morphine treatment in cancer patients.	Oncol Rep.	27(5)	1393-13 99	2012
32	Tanaka, K., Arao, T., Tamura, D., Aomatsu, K., Furuta, K., Matsumoto, K., Kaneda, H., Kudo, K., Fujita, Y., Kimura, H., Yanagihara, K., Yamada, Y., <u>Okamoto, I.</u> , Nakagawa, K., <u>Nishio, K.</u>	SRPX2 is a novel chondroitin sulfate proteoglycan that is overexpressed in gastrointestinal cancer.	Plos ONE	7(1)	e27922	2012
33	Tanizaki, J., <u>Okamoto, I.</u> , Takezawa, K., Sakai, K., Azuma, K., Kuwata, K., Yamaguchi, H., Hatashita, E., <u>Nishio, K.</u> , Janne, PA., Nakagawa, K.	Combined effect of ALK and MEK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer cells.	Br J Cancer	106(4)	763-767	2012

