

特集

血管新生阻害薬—最新情報のすべて

ベバシズマブ

6)腎がんに対しベバシズマブ
は必要か?*

高橋 俊二**

Key Words: renal cell carcinoma, VEGF, bevacizumab

はじめに

日本の2004年の腎細胞がんによる死亡数は3,745人で、死亡率は10万人に対し1.8人、罹患率は人口10万人に対し約9.5人とされている。それほど多いがん腫ではないが、年々増加傾向にあり、また血管新生阻害剤を中心とする分子標的治療の良い対象となることから、腫瘍内科学の分野でも注目されている。今回は、血管新生阻害剤の中でbevacizumabが腎細胞がん治療でどのような役割を担えるかについて議論する。

腎細胞がんの病理, 分子病態

腎細胞がんは表1のように分類されている¹⁾。その中でも、淡明細胞がん、嫌色素細胞がん、乳頭状腎細胞がんの3つが腎細胞がんの多くを占めている。

淡明細胞がんは、腎細胞がんの70~80%と最も多く発症する組織型で、肉眼では黄色で充実性の境界明瞭な腫瘍で、顕微鏡像では明るい細胞質を示し、また、きわめて血管に富む。乳頭状腎細胞がんは、約10~15%を占める。腫瘍組織の50%以上に乳頭状細胞がみられる。嫌色素細胞がんは、約5%を占め、小型で好酸性顆粒を持つ細胞と大型で明るい細胞質を有する細胞の2つの細胞がみられる。予後はきわめて良好

表1 腎細胞がんの病理分類

病理型	頻度(%)	染色体・遺伝子異常
Clear cell RCC	70	3p deletion, VHL mutation
Papillary RCC	10	7, 17 trisomy, c-met mutation
Chromophobe	5	1, 2, 6, 10, 13, 17, 21 loss, BHD
Hereditary cancer syndromes	5	7p34
Multilocular cystic RCC	<1	—
Collecting duct carcinoma	<1	1, 6, 14, 15, 22 loss, 3 gain
Medullary carcinoma	<1	Extracellular matrix gene loss
Mucinous tubular and spindle cell carcinoma	<1	1, 4, 6, 8, 13, 14 loss
Neuroblastoma-associated RCC	<1	20q13
Xp11.2 translocation-TFE3 carcinoma	<1	Xp11.2 translocation
Unclassified lesions	4	—

(2004年, WHO分類より)

* Is bevacizumab necessary for renal cell carcinoma therapy?

** Shunji TAKAHASHI, M.D.: 公益財団法人がん研究会有明病院化学療法科(〒135-8550 東京都江東区有明3-8-31); Department of Medical Oncology, Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research, Tokyo 135-8550, JAPAN

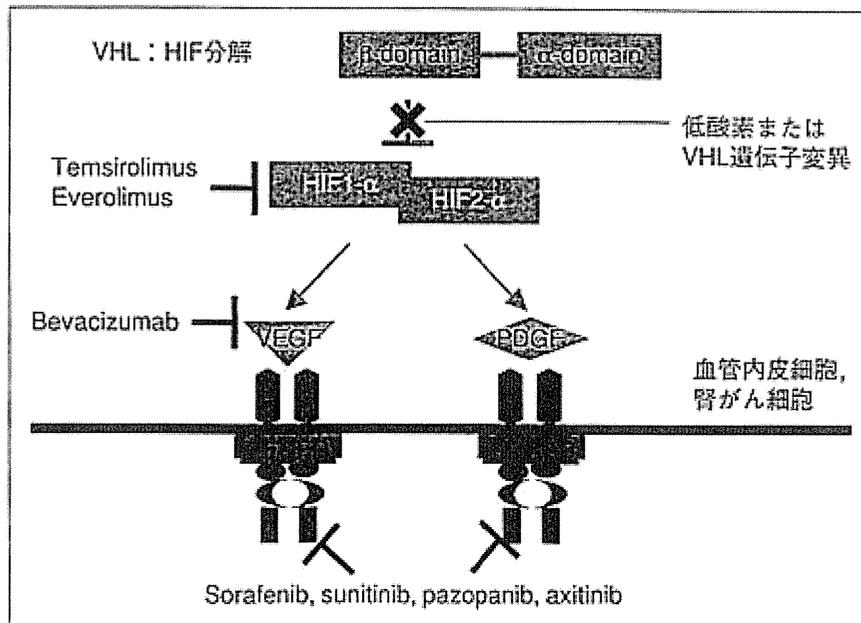


図1 腎細胞がんの分子病態と血管新生阻害剤

である。

腎細胞がんの大部分を占める淡明細胞型腎細胞がんのほとんどにはvon Hippel-Lindau (VHL) 遺伝子の異常がみられることが知られている³⁾。von Hippel-Lindau病は網膜血管腫、脊髄・小脳血管芽腫、褐色細胞腫、淡明細胞型腎細胞がんなどを高頻度に合併する常染色体優性遺伝病で、原因遺伝子が第3染色体短腕に存在するVHLである。VHLはがん抑制遺伝子の一つと考えられ、種々の機能があるが、その一つとしてhypoxia-inducing factor (HIF)と結合して分解し、HIFの機能を調節する。HIFは正常では低酸素状態になると活性化され、腎細胞における血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、血小板由来増殖因子(PDGF)、transforming growth factor (TGF)- α 、エリスロポエチンなどの遺伝子発現を促進し血管新生、赤血球産生などを刺激する。VHLに変異が起こると低酸素状態でなくてもHIFが過剰発現し、その下流の遺伝子の発現も促進され、特にVEGF-VEGF受容体(VEGFR)シグナルが腎がん細胞自体の増殖を刺激するとともに、血管内皮細胞を刺激して血管新生を促進するという両面で腎細胞がんの形成・進展に重要であると考えられている(図1)。したがって、特にVEGF-VEGFR系を抑制することで腎細胞がんを抑制できる可能性が考えられた。

進行腎細胞がんの予後分類

進行腎細胞がん(IV期、周囲臓器に進展あるいは遠隔転移)の生命予後(5年生存率)は、11~20%である。進行性腎細胞がんの予後分類は、Motzerらが提唱したCriteriaが有名である³⁾。
①Karnofsky performance status (KPS)で80%以下、②高LDH血症(正常上限の1.5倍)、③低ヘモグロビン血症(正常下限以下)、④アルブミン値補正後の高カルシウム血症(10mg/dl以上)、⑤原発巣に対して腎摘除術の施行なしの5項目のうち、何も因子を持たない場合をfavorable, 1または2因子を持つ場合をintermediate, 3またはそれ以上の因子を持つ場合をpoorと分類している(図2)。

従来の標準治療：サイトカイン

進行腎細胞がんに対する薬物治療の標準は長らくインターフェロンを中心とするサイトカイン療法であった。

1. Interleukin (IL)-2

欧米、特に北米では高用量IL-2が時にlong-duration CRを得られるため、標準的治療の一つとなっており、193例のcytokine-naïve転移性腎細胞がん患者における高用量IL2と低用量IL2+IFN- α の比較試験では、奏効率は26% vs. 11% ($P=0.01$),

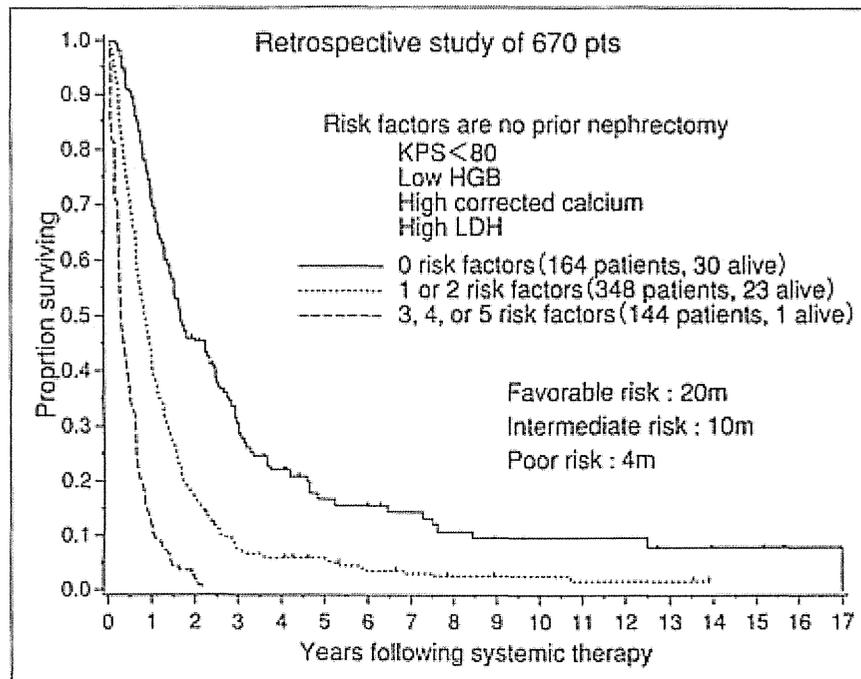


図2 進行性腎細胞がんのリスクグループ(MSKCC) (文献³⁾より引用改変)

3年後の非進行生存率5% vs. 0%，生存期間は17.5か月 vs. 13か月と報告されている⁴⁾。日本では低用量のIL-2しか承認されていない。

2. インターフェロン(IFN)- α

IFNは、奏効率はやや低く完全寛解もほとんど認められないがIL2ほどの副作用はなく、明らかな生存期間の改善が認められる。計4,216例の比較試験のmeta-analysis⁵⁾において、IFNありの方が奏効率12.9% vs. 2.5%，生存期間で3.8か月の改善が報告されている。

腎がんに対する bevacizumab：エビデンス

腎細胞がんの分子病態から、VEGFを中心としたシグナルを抑制する分子標的剤の効果が期待されている。BevericizumabはVEGFのヒト型化中和抗体で、VEGF-Aのすべてのアイソフォームに結合し中和する。

まず、116例の既治療転移性腎がん患者におけるランダム化第II相試験⁶⁾において、偽薬、bevacizumab 3 mg/kg、bevacizumab 10mg/kgに分けて治療が行われた。患者背景に差はなく、患者の90%以上が腎摘をされており、またIL-2療法後であった。高用量bevacizumab 39例中4例でpartial response(PR)が得られ、無進行生存期

間はbevacizumab群4.8か月、偽薬群2.5か月と有意差が認められた。副作用はgrade 3の高血圧が8%，蛋白尿が3%に認められたが可逆性であった。

続いて無治療腎細胞がん患者に対してbevacizumab (10mg/kg/2w)とIFN- α (α -2aまたは α -2b, 900万単位皮下注週3回)併用対IFN単独の大規模比較試験が2つ(AVOREN, CALGB90206)が行われ、ほぼ同様の結果が示された。Bevericizumab+IFNはIFN単独に比較して有意に奏効率を改善し、無進行生存期間を延長した(図3)^{7,8)}。しかし、全生存期間(overall survival; OS)についてはAVOREN試験で23.3か月対21.3か月(HR 0.91, $P=0.336$)⁹⁾、CALGB試験で18.3か月対17.4か月($P=0.097$)¹⁰⁾と、どちらの試験も改善が認められなかった。その原因としては後療法の影響が大きいとされている。AVOREN試験ではIFN+bevacizumab群の55%，IFN群の63%で後療法が行われ、IFN+bevacizumab群の35%，IFN群の37%でTKI(スニチニブ、ソラフェニブ)が使用されていた。後療法でTKIを使用されていた患者のみにおける生存期間はIFN+bevacizumab群38.6か月、IFN群33.6か月(HR 0.80: 0.56~1.13)であった。CALGB試験でもIFN+bevacizumab群の54%，IFN群の62%で後療法が行われており、当然であるが後療法が行われた患者の生存期間が良好

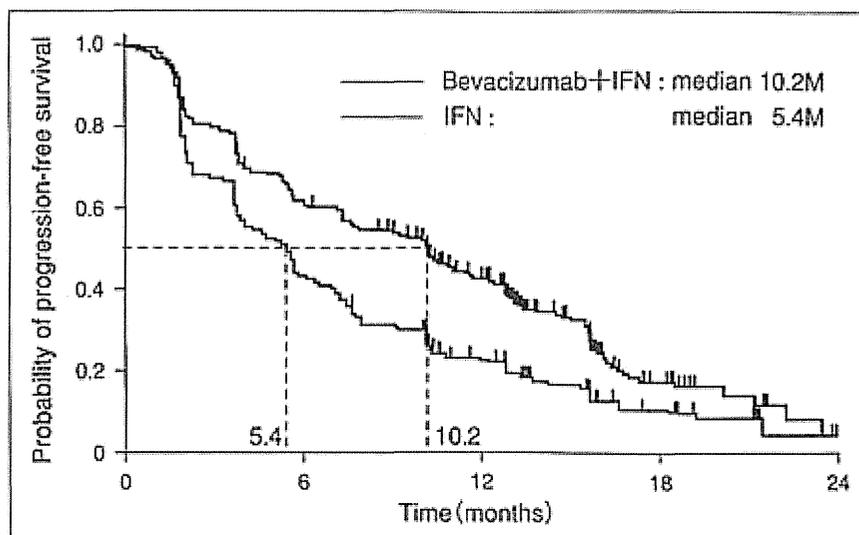


図3 無治療患者におけるbevacizumab+IFN- α とIFN- α の第III相試験(AVOREN)
(文献⁷⁾より引用改変)

だった(後療法あり28.2か月, なし10.2か月). 有害事象については, AVOREN試験ではgrade 3の疲労(12% vs. 8%), 蛋白尿(7% vs. 0%), 高血圧(3% vs. <1%), 出血(3% vs. <1%)が増加しており, CALGB試験でも同様の結果だった.

日本では大腸がんにおける化学療法との併用が承認され, 乳がん・肺がんにおける適応も近く承認が期待されるが, 今のところ腎がん患者における治験は行われていない.

腎細胞がんにおけるbevacizumabは必要か?

1. First lineにおけるIFN+bevacizumabとスニチニブとの比較

IFN+bevacizumabとスニチニブを直接比較した大規模試験はないが, IFNとの比較試験を介して間接的に比較した報告がある. CoonらはAVOREN試験⁷⁾, CALGB90206試験⁸⁾スニチニブ第III相試験¹¹⁾のdataを比較し, OSについてはその時点で比較は困難で, progression free survival (PFS)については間接的な比較からスニチニブがややbevacizumab+IFNに比較して優れていることが示唆された(表2). 有害事象についてもIFN+bevacizumabの方がgrade 3以上のadverse events(AE)が多いのに対して, スニチニブはIFNより少ないとしている¹²⁾. 一方, MickischらはABOREN試験とスニチニブ第III相試験のdataを比較し有意な差がないとしている¹³⁾.

2. 2nd lineにおけるbevacizumabの有効性

前述のように, まずサイトカイン(IL-2)治療後のランダム化第II相試験が行われ, 無進行生存期間はbevacizumab群4.8か月(偽薬群2.5か月)であった. サイトカイン治療後患者における他の薬剤のエビデンスと比較すると, ソラフェニブと偽薬との比較では5.5か月対2.8か月¹⁴⁾とほぼ同等であるといえる. 一方, 現在は本邦では承認されていないが, pazopanibと偽薬との比較では7.4か月と4.2か月(HR 0.54)¹⁵⁾, axitinibとソラフェニブの比較では12.1か月対6.5か月(HR 0.464)¹⁶⁾であった. 直接比較のデータはまったくないが, bevacizumabとソラフェニブ, pazopanibはほぼ同等, axitinibはこれより有効性が高いことが推測される.

TKI後のbevacizumabの効果については, まったく報告はない. Agostino¹⁷⁾らはスニチニブ, テムシロリムス投与後にbevacizumabを投与した4例を報告し, 24, 48, 48, 72週のstable disease (SD)が維持できたとしている.

3. Bevacizumabの有効性を予測するbiomarkerはあるか?

一般的に血管新生阻害剤の有効なbiomarkerは確立していない. RiniらはCALGB trialにおいて, IFN+bevacizumab投与症例でgrade 2以上の高血圧が認められた場合, PFS, OSが有意に良好であったと報告している¹⁰⁾.

表2 Sunitinib vs. bevacizumab+IFN : PFS

Study	n	Median PFS	HR	P
AVOREN (Bev+IFN vs. IFN)	327/322	10.2 vs. 5.4	0.63	< 0.0001
CALGB (Bev+IFN vs. IFN)	369/363	8.5 vs. 5.2	0.71	< 0.0001
Sunitinib pIII (sunitinib vs. IFN)	375/375	11 vs. 5.1	0.538	< 0.00001
Sunitinib vs. IFN	—	—	0.538	< 0.0001
Bev+IFN vs. IFN	—	—	0.676	< 0.0001
Sunitinib vs. Bev+IFN	—	—	0.796	0.0272

表3 進行性腎細胞がんの治療アルゴリズム

Setting	Patients	Therapy	Options
Untreated	Good-intermediate risk	Sunitinib Bevacizumab+IFN	HD IL2 Sorafenib
	Poor risk	Temsirolimus	Sunitinib
Treatment-refractory pts	Cytokine-refractory	Sorafenib	Sunitinib Bevacizumab
	Refractory to VEGF/ VEGFR or mTOR inhibitor	Everolimus	Everything

(2008年アメリカ臨床腫瘍学会より)

4. Bevacizumabと他の分子標的薬の併用の可能性

BevacizumabとTKIの併用は副作用(高血圧, 心機能低下など)が重複するため困難と考えられる。mTOR阻害剤との併用では, エベロリムスとの併用でPFSが未治療患者で9.1か月, 既治療患者で7.1か月, 奏効率は30%, 23%と報告されている¹⁸⁾。一方, テムシロリムスとbevacizumabの併用, スニチニブ, bevacizumab+IFNの併用を比較したランダム化第II相試験(TORAVA)において, PFSは8.2か月, 8.2か月, 16.8か月とmTOR阻害剤併用の効果について否定的な結果であった¹⁹⁾。

5. Bevacizumabのコストベネフィット

スニチニブとIFN+bevacizumabをコストで比較すると, 欧米で使用されているIFN+bevacizumabの用量を使用した場合, 薬価(2012年改訂)でIFNは毎週イントロン®39,489円, スミフェロン®58,662円, bevacizumabは毎週(体重60kgで)132,319円で, スニチニブ(週2,005,008円)とほぼ同様—やや安価になる計算となる。

おわりに

上記も含めた種々のエビデンスから, 2008年のアメリカ臨床腫瘍学会では表3のような進行

性腎細胞がんの治療アルゴリズムが提唱されており, IFN+bevacizumabは第一選択肢の一つになっている。しかし, スニチニブやbevacizumabの試験の結果をみると, IFNからスイッチすれば生存期間に有意差はなくなっており, 特にサイトカインが有効な可能性が高い低リスク, 腎摘後, 肺転移患者などでは, まずIFNを試みて無効であれば分子標的薬剤にスイッチする選択肢もありうる。また, 上記のようにスニチニブ単独よりIFN+bevacizumabが有効とのエビデンスはなく, 現状では必ずしもbevacizumabの腎細胞がんにおける適応追加がぜひ望まれるという状況ではない。一方, 分子標的療法の有効性, 特にどの分子標的薬が各症例で有効かを予測するバイオマーカーは明らかでなく, サイトカイン, 免疫療法の有効性予測マーカーとともに探索していくことが最も重要であろう。

文 献

- 1) Eble J, Sauter G, Epstein J, Sesterhenn I, editors. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, France : IARC Press ; 2004.
- 2) Rini BI. Vascular endothelial growth factor-targeted therapy in renal cell carcinoma : current status and

- future directions. *Clin Cancer Res* 2007 ; 13 : 1098.
- 3) Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, et al. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1999 ; 17 : 2530.
 - 4) McDermott DF, Regan MM, Clark JI, et al. Randomized phase III trial of high-dose interleukin-2 versus subcutaneous interleukin-2 and interferon in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 133.
 - 5) Coppin C, Porzolt F, Awa A, et al. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 ; (1) : CD001425.
 - 6) Yang JC, Haworth L, Sherry RM, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 427.
 - 7) Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma : a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007 ; 370 : 2103.
 - 8) Rini BI, Halabi S, Rosenberg JE, et al. Bevacizumab plus interferon alfa compared with interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma : CALGB 90206. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 5422.
 - 9) Escudier B, Bellmunt J, Negrier S, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN): final analysis of overall survival. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2144.
 - 10) Rini BI, Halabi S, Rosenberg JE, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa versus interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma : final results of CALGB 90206. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2137.
 - 11) Figlin R. Overall survival with sunitinib versus interferon (IFN)-alfa as first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma (mRCC) [abstract]. *Proc ASCO* 2008 ; 26 : 5024.
 - 12) Thompson Coon JS, Liu Z, Hoyle M, et al. Sunitinib and bevacizumab for first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma : a systematic review and indirect comparison of clinical effectiveness. *Br J Cancer* 2009 ; 101 : 238.
 - 13) Mickisch GH, Schwander B, Escudier B, et al. Indirect treatment comparison of bevacizumab + interferon-alpha-2a vs tyrosine kinase inhibitors in first-line metastatic renal cell carcinoma therapy. *Clinicoecon Outcomes Res* 2011 ; 3 : 19.
 - 14) Escudier B, Eisen T, Stadler WM, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 125.
 - 15) Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma : results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 1061.
 - 16) Rini BI, Escudier B, Tomczak P, et al. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011 ; 378 : 1931.
 - 17) Agostino NM, Gingrich R, Drabick JJ. Bevacizumab demonstrates prolonged disease stabilization in patients with heavily pretreated metastatic renal cell carcinoma : a case series and review of the literature. *Adv Urol* 2010 July 20 [Epub ahead of print].
 - 18) Hainsworth JD, Spigel DR, Burris HA 3rd, et al. Phase II trial of bevacizumab and everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2131.
 - 19) Negrier S, Gravis G, Perol D, et al. Temsirolimus and bevacizumab, or sunitinib, or interferon alfa and bevacizumab for patients with advanced renal cell carcinoma (TORAVA): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2011 ; 12 : 673.

* * *

悪性黒色腫に対する新しい分子標的薬

高橋 俊二*

[*Jpn J Cancer Chemother* 40(1): 19-25, January, 2013]

Molecular-Target Therapy for Advanced Malignant Melanoma: Shunji Takahashi (Dept. of Medical Oncology, Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research)

Summary

Malignant melanoma is insensitive to chemotherapy, and standard therapy for metastatic melanoma has been dacarbazine for years. Molecular abnormalities of malignant melanoma, mainly of MAP kinase signals such as BRAF mutation, have been clarified, and molecular target therapy for melanoma has been developed recently. Vemurafenib, an inhibitor for mutated BRAF, has shown its efficacy for the first time, with response rate of more than 50%, and an overall improvement in survival compared with dacarbazine in a phase III study. Skin toxicities including squamous cell carcinoma, are the most severe adverse events. Another BRAF inhibitor, dabrafenib, and a MEK inhibitor, trametinib, have shown excellent efficacy in clinical studies.

Melanoma also has high immunogenicity, and cytokines or cell immunotherapy have shown some efficacy. Recently, the importance of immune checkpoints which adjust T-cell activation, such as the cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4), -B7 or the programmed cell death protein-1 (PD1)-PD1 ligand (PDL1), have been clarified. Targeting those immune checkpoints is expected to be effective for enhancing tumor immunity. CTLA-4 antibody ipilimumab has been reported to improve overall survival in two phase III studies. Major adverse events were autoimmune response such as colitis, eruption, liver dysfunction and endocrineopathies. Antibodies to PD1 or PDL1 have shown a higher response rate than those of ipilimumab, and seem to accompany fewer autoimmune responses in phase I studies. These two types of targeting therapy are expected to be standard therapies for melanoma. Key words: Malignant melanoma, BRAF mutation, CTLA-4, PD1, Corresponding author: Shunji Takahashi, Department of Medical Oncology, Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research, 3-8-31 Ariake, Koto-ku, Tokyo 135-8500, Japan

要旨 悪性黒色腫は化学療法に対して低感受性であり、転移性黒色腫の標準治療は長年ダカルバジンであった。最近、黒色腫についても BRAF 変異をはじめとして MAP kinase 系を中心とした分子異常の詳細が明らかになってきており、分子標的治療薬の開発が進んでいる。まず有効性が証明されたのは変異 BRAF 阻害剤である vemurafenib で、50%以上の奏効率とダカルバジンとの第Ⅲ相比較試験における生存期間の改善が報告された。有害事象としては扁平上皮癌をはじめとする皮膚症状が問題になっている。さらに新規の BRAF 阻害剤 dabrafenib、MEK 阻害剤 trametinib についても優れた効果が報告されている。

一方、悪性黒色腫は免疫原性が強く、サイトカインや細胞免疫療法の有効性が報告されてきた。最近、T細胞の活性化を調整する免疫調節物質 (immune checkpoints) として cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4)-B7 系や programmed cell death protein-1 (PD1)-PD1 ligand (PDL1) 系などの機能が明らかになり、これらの免疫調節物質を標的としその機能を抑制することによって腫瘍免疫反応を促進する分子標的治療薬が期待され、臨床試験でも有効性が明らかになってきている。CTLA-4 抗体 ipilimumab は二つの第Ⅲ相比較試験において生存期間を改善することが報告された。副作用としては種々の自己免疫様反応 (腸炎、皮疹、肝障害、内分泌障害) が報告されている。さらに PD1、PDL1 抗体については第Ⅰ相試験で ipilimumab より高い奏効率が報告され、比較的自己免疫様反応の比率が低いことが報告されている。今後、これらの2種類の分子標的治療が悪性黒色腫の標準治療になることが期待される。

* 公益法人 がん研究会有明病院・総合腫瘍科

はじめに

悪性黒色腫に対する薬物療法はサイトカイン (interferon, interleukin-2) とダカルバジンのみであったが、最近、悪性黒色腫の分子異常が明らかになってきたことから分子標的治療薬が出現してきた。また、悪性黒色腫は免疫原性が強く、免疫細胞治療の有効性が報告されていたが、最近免疫抑制物質を標的とし免疫反応を促進する分子標的治療薬の効果が報告されている。この稿ではこれらの新たな分子標的治療について解説する。

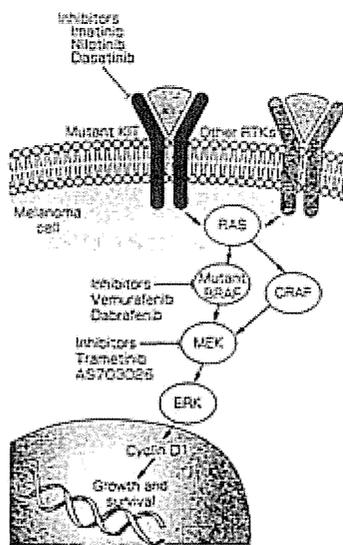


図 1 悪性黒色腫の分子病態 (文献³¹)

I. 悪性黒色腫の疫学、病型分類

疫学: 頻度および発生部位は人種、居住地により大きく異なり、紫外線の影響が考えられている。紫外線防御能の弱い白人に高頻度に発生し、露光部位に発生しやすい。紫外線防御能の高い黒人ではまれで多くは四肢末端部である。黄色人種ではその中間となる。

組織型 (表 1): どの病型でも様々な大きさの異型メラノサイトが表皮~真皮 (または粘膜内) に増殖し、大小様々の胞巣を形成する。従来は形態学に基づく Clark ら³¹ による分類が使用されてきた [superficial spreading melanoma (SSM: 表在拡大型), lentigo maligna melanoma (LMM: 悪性黒子型), acral lentiginous melanoma (ALM: 末端黒子型), nodular melanoma (NM: 結節型)]。Curtin ら³² は分子異常も考慮した分類を提唱し [melanomas on skin without chronic sun-induced damage (CSD)~SSM, melanomas on skin with CSD~LMM, acral melanoma~ALM, mucosal melanoma], 最近はこちらが使用されるようになっている。頻度は欧米とアジアでは異なり、欧米では SSM, アジアでは acral type および mucosal type が多い^{3,4)} (表 2)。

II. 悪性黒色腫の分子病態 (図 1)

最近、黒色腫細胞における遺伝子変異が明らかになってきた³¹ (表 3)。そのなかで最も多いと考えられているのが BRAF 遺伝子の点突然変異である。BRAF はセリン・スレオニンキナーゼで、MAPK 経路に属する。黒色

表 1 悪性黒色腫の病型分類

Clark 分類 (文献 ³¹)	
1. superficial spreading melanoma (SSM)	表在拡大型
2. lentigo maligna melanoma (LMM)	悪性黒子型
3. acral lentiginous melanoma (ALM)	末端黒子型
4. nodular melanoma (NM)	結節型
Bastian classification (文献 ³³)	
1. melanomas on skin without chronic sun-induced damage (CSD)	—SSM, high BRAF mutation (~75%)
2. melanomas on skin with CSD	—LMM
3. acral melanoma	—ALM
4. mucosal melanoma	—c-kit mutation

表 2 アジアにおける悪性黒色腫の組織型 (文献^{3,4)})

Area	Acral/ALM	Mucosal	Nodular	Without CSD/SSM	With CSD/LMM
Japan	47%	—	19%	26%	8%
Taiwan	58%	—	30%	10%	1%
China	49%	23%	13%	4%	—
US	2~5%	1~2%	14%	72%	12%

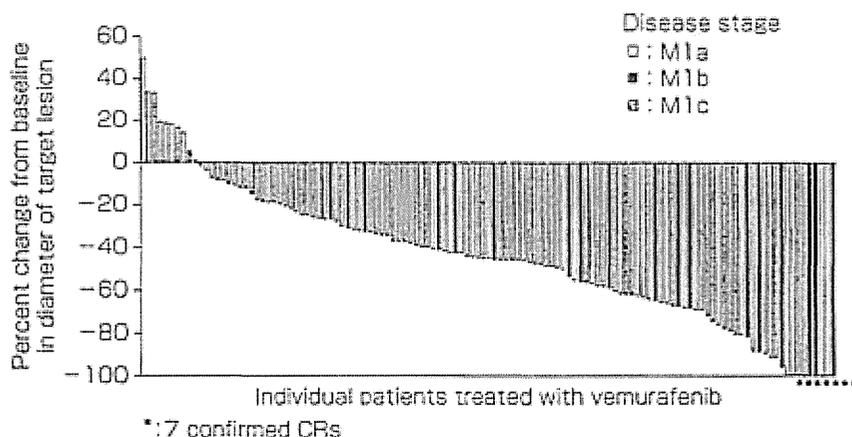


図2 Vemurafenib 第II相臨床試験 (BRIM2) における waterfall plot (文献¹²⁾)

表3 悪性黒色腫における遺伝子変異の頻度 (文献⁸⁾ など)

Gene	Alteration frequency
BRAF	40~50% mutated (V600E/K)
NRAS	15~30% mutated
c-kit	15~20% mutated, acral, mucosal, CSD
GNA11	55% mutated in uveal
GNAQ	25% mutated in uveal
CDKN2A	30~70% deleted or mutated
PTEN	5~20% deleted or mutated
Cyclin D1	6~44% amplified

腫における *BRAF* 遺伝子の点突然変異は 40 以上知られているが、その約 90% は V600 に起こり (V600E), 下流の MEK, MAPK の持続的活性化を引き起こす。BRAF 変異は SSM に多い。BRAF 突然変異を伴う黒色腫細胞に siRNA などを導入して BRAF を抑制すると、細胞増殖および浸潤の抑制、細胞死の誘導が起こる⁶⁾。一方、BRAF 上流の NRAS の活性化点突然変異が 15~20% で認められている。NRAS は MEK, MAPK シグナルを活性化するとともに、PI3K-AKT-mTOR, PLC 系を活性化することが知られている。NRAS 変異は BRAF 活性化変異と相互排他的で、黒色腫の種々の組織型で認められている⁷⁾。SSM 以外の組織型では BRAF 変異が少ない代わりに、c-kit の点突然変異あるいは遺伝子増幅が認められている⁸⁾。

III. 悪性黒色腫の分子標的治療

上記の遺伝子変異の存在から、近年悪性黒色腫に対する分子標的治療が開発されており、特に成果がでているのが BRAF 変異に対する阻害剤の開発である。

1. BRAF 変異

sorafenib は multikinase 阻害剤でももとは RAF 阻害剤として開発され、wild BRAF, mutant V600E,

CRAF を阻害する。期待されたが第III相試験において化学療法単独に比較して改善を認めなかった⁹⁾。vemurafenib (PLX4032) は変異 BRAF 特異的阻害剤で、キナーゼ抑制の IC₅₀ が BRAF V600E 変異では 13 nM, wild-type BRAF は 160 nM である¹⁰⁾。悪性黒色腫患者における第I相試験において BRAF V600E 変異患者の約 80% に反応がみられた¹¹⁾。第II相試験 (BRIM2) では既治療の *BRAF* 遺伝子 V600 変異転移性悪性黒色腫患者 132 例 (V600E: 122, V600K: 10) に vemurafenib 経口投与を行い、奏効率は 53% で 90% 以上に縮小がみられた (図2)。非進行生存期間 (PFS) 中央値は 6.7 か月であった。頻度の高い有害事象は関節痛 59%, 発疹 52%, 光線過敏症 52%, 疲労 42% などで、G3 以上の有害事象で多いのは皮膚扁平上皮癌 26% であった。扁平上皮癌は非常に早期に発生する (中央値 8 週) ことが特徴で、再発転移は認められていない¹²⁾。続いて、ダカルバジンとの第III相比較試験 (BRIM3) において、BRAF V600E 変異をもつ切除不能 IIIc または IV の未治療悪性黒色腫患者に 675 例を vemurafenib 960 mg BID とダカルバジン 1,000 mg/m² 3 週ごと投与に 1:1 に割り付けた。中間解析で大きな差がみられたため早期に終了し、median follow-up は 3.8 か月であったが、6 か月生存率が vemurafenib 84%, ダカルバジン 64%, hazard ratio (HR): 0.37 (p<0.0001) と大きな差がみられた (図3)。有害事象は phase II 試験と大きく変わらなかった¹³⁾。vemurafenib の効果は目覚ましいが奏効期間中央値は 7 か月程度で、早晚耐性が出現する。その機序としては BRAF の付加変異の報告は今のところなく、C-Raf の活性化、上流の NRAS・PDGFR の変異/増幅、下流の MEK 変異などが報告されている¹⁴⁾。

続いて新規 BRAF 阻害剤として dabrafenib (GSK2118 436) の結果が報告された。第I相試験では 184 例の BRAF 変異のある固形癌 (悪性黒色腫 156 例) に投与さ

れ、Grade 2以上の有害事象は扁平上皮癌11%、疲労14.8%、発熱11.6%であった¹⁵⁾。第Ⅲ相試験においては、V600E変異をもつ切除不能stageⅢまたはⅣの未治療悪性黒色腫患者250例がdabrafenib 150 mg BIDとダカルバジン1,000 mg/m²3週ごと投与に3:1に割り付けられた。PFSは5.1 vs 2.7か月(HR:0.30, p<0.0001)であった。主な有害事象は皮膚症状、発熱、疲労、関節痛、頭痛であった¹⁶⁾。さらに脳転移(5~40 mm)のあるBRAF変異悪性黒色腫患者172例に対する第Ⅱ相試験が行われ、V600E変異があり脳局所治療なしの患者39%、脳局所治療に耐性となった患者では31%で脳転移に対する奏効がみられた。脳出血が10例でみられたが治療関連は1例のみであった¹⁶⁾。

一方、MEK阻害剤の効果も確認された。trametinibは可逆性のMEK1/MEK2阻害剤で、第Ⅰ相試験は206例の固形癌患者に対して行われ、2 mg/dayが推奨用量とされた。BRAF変異のある悪性黒色腫患者の奏効率は33%であった。有害事象としては皮疹が多いものの扁平上皮癌は認められなかった¹⁷⁾。第Ⅲ相試験ではBRAF V600変異のあるstageⅢc-Ⅳの悪性黒色腫322例を

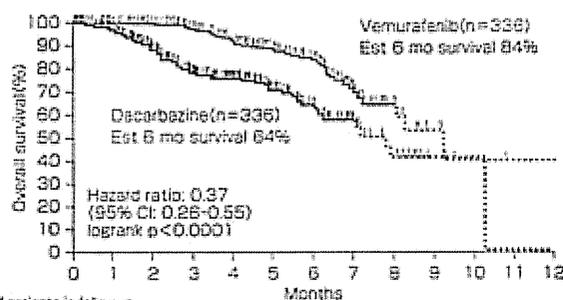
trametinib 2 mg/dayと化学療法(ダカルバジン1,000 mg/m²あるいはpaclitaxel 175 mg/m²)に2:1に振り分けられ、前治療は化学療法33%、免疫療法30%であった。奏効率は22 vs 8%、PFSは4.8 vs 1.5か月(HR:0.45, p<0.001)であった。化学療法からのcrossoverが認められたにもかかわらず6か月生存期間は81 vs 67%(HR:0.54)で有意差がみられた。有害事象としては皮疹、下痢、浮腫がみられ、扁平上皮癌は認められなかった¹⁸⁾。

さらにBRAF阻害剤とMEK阻害剤の併用結果が最近報告された。BRAF V600変異のある転移性悪性黒色腫247例における第Ⅰ、Ⅱ相試験において、容量設定後に162例をdabrafenib 150 mg+trametinib 1 mgまたは2 mgの併用とdabrafenibのみに割り付けられた。PFSは9.4 vs 5.8か月(HR:0.39, p<0.001)、奏効率は76 vs 54%であった(図4)。皮膚扁平上皮癌は7 vs 19%と併用で減少した¹⁹⁾。

2. その他の変異

NRAS変異:種々の組織型の悪性黒色腫患者の10~20%に変異が報告されている。活性化したNRASによりMAPKシグナルが活性化されるだけでなく、AKT-mTORシグナルなども活性化される。NRAS変異悪性黒色腫に対する分子標的療法のまとまったデータは今のところない。恐らくBRAF阻害剤は無効であり、MEK阻害剤については*in vitro*データからは有効性が疑問視されるが明らかなデータはない。AKT-mTORシグナル阻害剤との併用が有効かもしれない。

c-kit変異:日本人に多いacral type 15%、mucosal typeの20%に変異が報告され、imatinib²⁰⁾、dasatinibなどKIT阻害剤の効果が報告されているが、c-kit遺伝子増幅症例では効果はないようである。



No. of patients in follow up	
Dacarbazine	336 283 192 137 88 64 39 20 9 1 1
Vemurafenib	336 320 266 210 162 111 60 35 14 6 1

図3 Vemurafenib 第Ⅲ相試験における生存期間(文献¹⁸⁾)

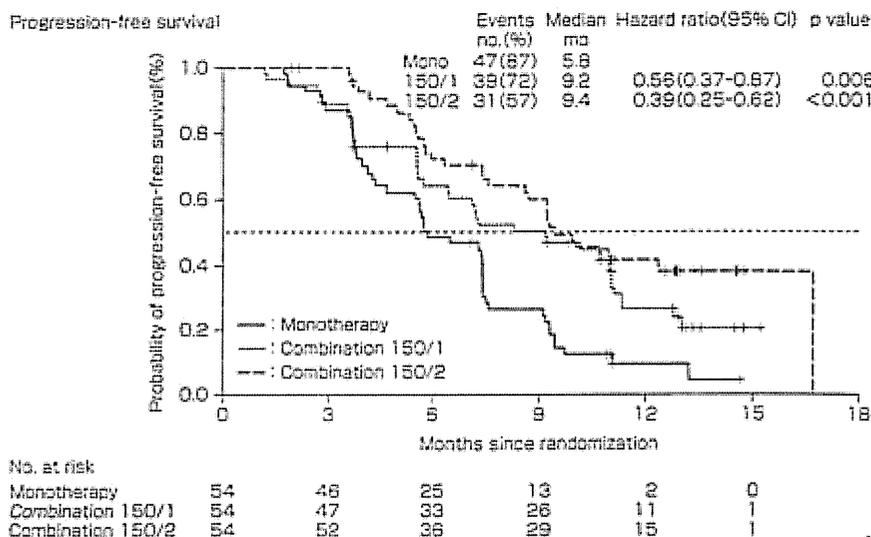


図4 BRAF阻害剤+MEK阻害剤 vs BRAF阻害剤第Ⅱ相試験におけるPFS(文献¹⁹⁾)

GNAQ, GNAS11 変異: 眼(脈絡膜)の悪性黒色腫においてG-protein (GNAQ, GNAS11)の遺伝子変異が報告されている。やはりMAPKシグナルの活性化が生じており、現在MEK阻害剤(AZD6244)とtemozolomideの比較試験が行われている²¹⁾。

IV. 悪性黒色腫の免疫分子標的療法

悪性黒色腫は免疫原性が強く、種々の免疫療法が有効なことが知られ、特にサイトカイン(interferon, interleukin-2)の有効性が確立されているが、最近免疫調節物質に対する分子標的治療が出現してきた。immune checkpointsは末梢での過度の免疫反応による正常組織の障害を抑制するもので、癌細胞がこれを利用してT細胞反応を抑制し、免疫を逃れていることが明らかになってきた²²⁾。T細胞の免疫調節物質には種々の系が知られているが(図5)、そのなかでcytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4)-B7系と pro-

grammed cell death protein-1(PD1)-PD1 ligand(PDL1)系の中和抗体の臨床有効性が確認されている。

1. Ipilimumab (抗CTLA-4抗体)

CTLA-4はT細胞に発現し、CD28とhomologousな蛋白で抗原提示細胞(APC)表面のB7と結合する。CD28はT細胞を活性化するcostimulatory moleculeとして働くが、CTLA-4はT細胞の活性化を抑制する。抗CTLA-4抗体はCTLA-4の活性を中和してT細胞の活性化を継続させ、抗腫瘍免疫を活性化すると考えられる²³⁾。種々の第I相試験で進行悪性黒色腫患者においてipilimumabの効果が報告され、また自己免疫様反応が出現し、効果と相関することが明らかになった²⁴⁾。

二つの大規模第III相試験の結果が報告されている。CA184-020試験は既治療の進行悪性黒色腫676例をipilimumab 3 mg/kg×4を単独、あるいはgp100ワクチンとの併用またはワクチンのみの3群に1:2:1にランダム化する二重盲検比較試験である。結果は奏効率10.9 vs 5.7 vs 1.5%、生存期間中央値10.1 vs 10.0 vs 6.4か月とipilimumabが単独で生存期間を延長させることが証明された²⁵⁾。このデータにより2011年3月にipilimumabがFDAに承認された。さらにCA184-024試験では未治療の進行悪性黒色腫502例を10 mg/kg×4および12週ごとの維持投与または偽薬とダカルバジン850 mg/m² 3週ごと×8の併用比較試験を行った。奏効率は13.6 vs 9.5%と有意差はなかったが奏効期間19.3 vs 8.1か月、生存期間は11.2 vs 9.1か月(HR:0.72, p=0.0009)とipilimumab併用により生存期間を改善した(図6)²⁶⁾。ipilimumabに伴う有害事象は自己免疫反応的なものが多く、immune-related adverse events (irAE)と名付けられている。主なものは発疹・痒疹、大腸炎・下痢、肝機能障害、内分泌障害である²⁵⁾。

2. PD1, PDL1抗体

CTLA-4が初期T細胞免疫応答を抑制するのに対して、PDL1/PD1系は末梢組織での炎症反応調節に関与するとされる。活性化T細胞はPD1を高発現しており、

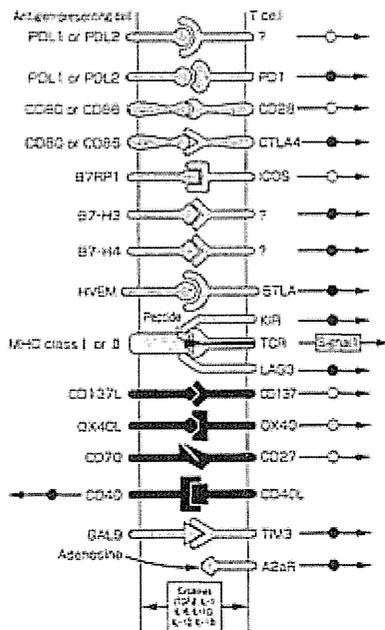


図5 Immune checkpointsにかかわる調節分子(文献²²⁾)

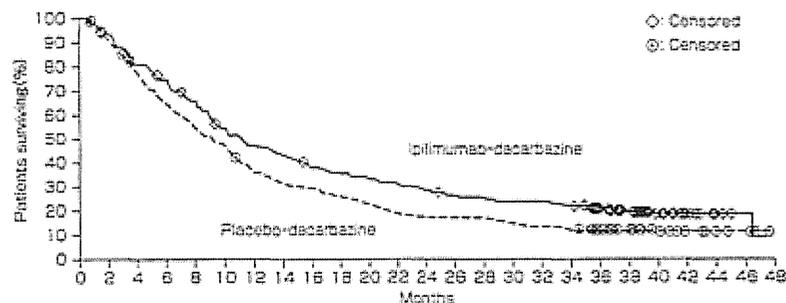


図6 Ipilimumab+dacarbazine vs dacarbazine 第III相試験における生存期間(文献²⁶⁾)

炎症反応によって組織における PDL1 発現が惹起され T 細胞を抑制する。悪性黒色腫を含む種々の腫瘍細胞は PDL1 を高発現することが報告され、また腫瘍免疫に対する適応的耐性メカニズムの原因となっていると思われる。

2012 年になって PD1 抗体、PDL1 抗体の第 I 相試験の結果が報告された。PD1 抗体については 296 例（悪性黒色腫 104 例）に 0.1~10 mg/kg が 2 週ごとに投与された。MTD には到達しなかった。Grade 3-4 の有害事象は 14% にみられ、3 例が肺毒性により死亡した。奏効率は悪性黒色腫では 28% で、大半の患者で 1 年以上継続した。42 例で腫瘍での PDL1 発現を免疫染色にて検討され、陰性例（17 例）では奏効例はなく、陽性例（25 例）での奏効率は 36% であった²⁷⁾。PDL1 抗体は 207（悪性黒色腫 55）例に 0.3~10 mg/kg が 2 週ごとに投与された。MTD には到達しなかった。Grade 3-4 の有害事象は 9% に認められた。免疫関連有害事象は 39% に認められ、発疹、甲状腺機能低下症、肝炎などであるがほとんどは Grade 1-2 であった。infusion reaction が 10% に認められた。悪性黒色腫での奏効率は 17% で、大半の患者で継続している。24 週での PFS は 42% であった²⁸⁾。

おわりに

悪性黒色腫の分子標的として RAS-RAF-MAPK 系と免疫調節因子の 2 種類が中心になって開発されている。今後、悪性黒色腫の遺伝子異常を検討することにより最適な分子標的治療を選択することが標準治療になっていくであろうと期待される。一方、免疫治療のバイオマーカーについては未だ確立していないが、腫瘍の PDL1 発現は有力と思われる。今後バイオマーカーによる免疫療法を選択も行われるようになると期待される。

文 献

- 1) Clark WJ, Ainsworth AM and Mihm MC: The clinical manifestations of primary cutaneous malignant melanomas. *Human Malignant Melanoma* (ed by Clark WJ), Grune and Stratton, New York, 1979, p35.
- 2) Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al: Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 353(20): 2135-2147, 2005.
- 3) Ishihara K, Saida T, Otsuka F, et al: Statistical profiles of malignant melanoma and other skin cancers in Japan: 2007 update. *Int J Clin Oncol* 13(1): 33-41, 2008.
- 4) Chang JW, Yeh KY, Wang CH, et al: Malignant melanoma in Taiwan: a prognostic study of 181 cases. *Melanoma Res* 14(6): 537-541, 2004.
- 5) Romano E, Schwartz GK, Chapman PB, et al: Treatment implications of the emerging molecular classification system for melanoma. *Lancet Oncol* 12(9): 913-922, 2011.
- 6) Hingorani SR, Jacobetz MA, Robertson GP, et al: Suppression of BRAF (V599E) in human melanoma abrogates transformation. *Cancer Res* 63(17): 5198-5202, 2003.
- 7) Platz A, Egyhazi S, Ringborg U, et al: Human cutaneous melanoma: a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Mol Oncol* 1(4): 395-405, 2008.
- 8) Woodman SE and Davies MA: Targeting KIT in melanoma: a paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. *Biochem Pharmacol* 80(5): 568-574, 2010.
- 9) Hauschild A, Agarwala SS, Trefzer U, et al: Results of a phase III, randomized, placebo-controlled study of sorafenib in combination with carboplatin and paclitaxel as second-line treatment in patients with unresectable stage III or stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 27(17): 2823-2830, 2009.
- 10) Tsai J, Lee JT, Wang W, et al: Discovery of a selective inhibitor of oncogenic B-Raf kinase with potent antimelanoma activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 105(8): 3041-3046, 2008.
- 11) Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al: Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 363(9): 809-819, 2010.
- 12) Ribas A, Kim KB, Schuchter LM, et al: BRIM 2: an open-label, multicenter phase II study of vemurafenib in previously treated patients with BRAFV600E mutation-positive metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 29(15s): abstr 8509, 2011.
- 13) Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al: Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 364(26): 2507-2516, 2011.
- 14) Poulikakos PI and Rosen N: Mutant BRAF melanomas—dependence and resistance. *Cancer Cell* 19(1): 11-15, 2011.
- 15) Falchook GS, Long GV, Kurzrock R, et al: Dabrafenib in patients with melanoma, untreated brain metastases, and other solid tumours: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 379(9829): 1893-1901, 2012.
- 16) Long GV, Trefzer U, Davies MA, et al: Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 13(11): 1087-1095, 2012.
- 17) Falchook GS, Lewis KD, Infante JR, et al: Activity of the oral MEK inhibitor trametinib in patients with advanced melanoma: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol* 13(8): 782-789, 2012.
- 18) Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al: Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 367(2): 107-114, 2012.
- 19) Flaherty KT, Infante JR, Daud A, et al: Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. *N Engl J Med* 367(18): 1694-1703, 2012.
- 20) Guo J, Si L, Kong Y, et al: Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification. *J Clin Oncol* 29(21): 2904-2909, 2011.
- 21) Patel M, Smyth E, Chapman PB, et al: Therapeutic implications of the emerging molecular biology of uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 17(8): 2087-2100, 2011.
- 22) Pardoll DM: The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12(4): 252-264, 2012.
- 23) Korman AJ, Peggs KS and Allison JP: Checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Adv Immunol* 90: 297-339, 2006.
- 24) Maker AV, Phan GQ, Attia P, et al: Tumor regression and autoimmunity in patients treated with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and interleukin 2: a phase I/II study. *Ann Surg Oncol* 12(12): 1005-1016, 2005.

- 25) Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, *et al*: Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 363(8): 711-723, 2010.
- 26) Robert C, Thomas L, Bondarenko L, *et al*: Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 364(26): 2517-2526, 2011.
- 27) Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, *et al*: Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 366(26): 2443-2454, 2012.
- 28) Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, *et al*: Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 366(26): 2455-2465, 2012.
-

ORIGINAL ARTICLE

Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor–Positive Advanced Breast Cancer

José Baselga, M.D., Ph.D., Mario Campone, M.D., Ph.D.,
Martine Piccart, M.D., Ph.D., Howard A. Burris III, M.D., Hope S. Rugo, M.D.,
Tarek Sahmoud, M.D., Ph.D., Shinzaburo Noguchi, M.D., Michael Gnant, M.D.,
Kathleen I. Pritchard, M.D., Fabienne Lebrun, M.D., J. Thaddeus Beck, M.D.,
Yoshinori Ito, M.D., Denise Yardley, M.D., Ines Deleu, M.D.,
Alejandra Perez, M.D., Thomas Bachelot, M.D., Ph.D., Luc Vittori, M.Sc.,
Zhiying Xu, Ph.D., Pabak Mukhopadhyay, Ph.D., David Lebwohl, M.D.,
and Gabriel N. Hortobagyi, M.D.

ABSTRACT

BACKGROUND

Resistance to endocrine therapy in breast cancer is associated with activation of the mammalian target of rapamycin (mTOR) intracellular signaling pathway. In early studies, the mTOR inhibitor everolimus added to endocrine therapy showed antitumor activity.

METHODS

In this phase 3, randomized trial, we compared everolimus and exemestane versus exemestane and placebo (randomly assigned in a 2:1 ratio) in 724 patients with hormone-receptor–positive advanced breast cancer who had recurrence or progression while receiving previous therapy with a nonsteroidal aromatase inhibitor in the adjuvant setting or to treat advanced disease (or both). The primary end point was progression-free survival. Secondary end points included survival, response rate, and safety. A preplanned interim analysis was performed by an independent data and safety monitoring committee after 359 progression-free survival events were observed.

RESULTS

Baseline characteristics were well balanced between the two study groups. The median age was 62 years, 56% had visceral involvement, and 84% had hormone-sensitive disease. Previous therapy included letrozole or anastrozole (100%), tamoxifen (48%), fulvestrant (16%), and chemotherapy (68%). The most common grade 3 or 4 adverse events were stomatitis (8% in the everolimus-plus-exemestane group vs. 1% in the placebo-plus-exemestane group), anemia (6% vs. <1%), dyspnea (4% vs. 1%), hyperglycemia (4% vs. <1%), fatigue (4% vs. 1%), and pneumonitis (3% vs. 0%). At the interim analysis, median progression-free survival was 6.9 months with everolimus plus exemestane and 2.8 months with placebo plus exemestane, according to assessments by local investigators (hazard ratio, 0.43; 95% confidence interval [CI], 0.35 to 0.54; $P < 0.001$). Median progression-free survival was 10.6 months and 4.1 months, respectively, according to central assessment (hazard ratio, 0.36; 95% CI, 0.27 to 0.47; $P < 0.001$).

CONCLUSIONS

Everolimus combined with an aromatase inhibitor improved progression-free survival in patients with hormone-receptor–positive advanced breast cancer previously treated with nonsteroidal aromatase inhibitors. (Funded by Novartis; BOLERO-2 ClinicalTrials.gov number, NCT00863655.)

From Massachusetts General Hospital Cancer Center, Boston (J.B.); Institut de Cancérologie de l'Ouest/René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France (M.C.); Institute Jules Bordet, Brussels (M.P., F.L.); Sarah Cannon Research Institute, Nashville (H.A.B., D.Y.); University of California, San Francisco, Helen Diller Family Comprehensive Cancer Center, San Francisco (H.S.R.); Novartis, East Hanover, NJ (T.S., Z.X., P.M., D.L.); Osaka University, Department of Breast and Endocrine Surgery, Osaka, Japan (S.N.); the Department of Surgery, Comprehensive Cancer Center, Medical University of Vienna, Vienna (M.G.); Sunnybrook Odette Cancer Centre and the University of Toronto, Toronto (K.I.P.); Highlands Oncology Group, Fayetteville, AR (J.T.B.); Cancer Institute Hospital of Japanese Foundation for Cancer Research, Ariake, Tokyo (Y.I.); Oncology Center, AZ Nikolass, Sint-Niklaas, Belgium (I.D.); Memorial Cancer Institute, Hollywood, FL (A.P.); Centre Léon-Bérard, Lyon, France (T.B.); Novartis Pharma, Basel, Switzerland (L.V.); and the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston (G.N.H.). Address reprint requests to Dr. Baselga at the Division of Hematology/Oncology, Massachusetts General Hospital Cancer Center, 55 Fruit St., Lawrence House 108, Boston, MA 02114, or at jbaselga@partners.org.

This article (10.1056/NEJMoa1109653) was published on December 8, 2011, at NEJM.org.

N Engl J Med 2011.

Copyright © 2011 Massachusetts Medical Society.

ENDOCRINE THERAPY IS THE CORNERSTONE of treatment for patients with hormone-receptor (HR)-positive advanced breast cancer. In postmenopausal patients, aromatase inhibitors (e.g., letrozole and anastrozole) have become the treatment of choice in first-line therapy.¹⁻⁵ Unfortunately, not all patients have a response to first-line endocrine therapy (primary or *de novo* resistance), and even patients who have a response will eventually relapse (acquired resistance). On disease progression, second-line treatment options include other classes of aromatase inhibitors (steroidal or nonsteroidal) and the estrogen-receptor (ER) antagonists fulvestrant and tamoxifen.^{6,7}

The study of resistance to endocrine therapies in HR-positive breast cancer has aimed at identifying new therapeutic strategies that would enhance the efficacy of endocrine therapies.⁸ An emerging mechanism of endocrine resistance is aberrant signaling through the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt-mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway.⁹⁻¹¹ Growing evidence supports a close interaction between the mTOR pathway and ER signaling. A substrate of mTOR complex 1 (mTORC1), called S6 kinase 1, phosphorylates the activation function domain 1 of the ER, which is responsible for ligand-independent receptor activation.^{12,13}

Everolimus (Afinitor, Novartis) is a sirolimus (formerly called rapamycin) derivative that inhibits mTOR through allosteric binding to mTORC1.¹⁴ In preclinical models, the use of everolimus in combination with aromatase inhibitors results in synergistic inhibition of the proliferation and induction of apoptosis.¹⁵ In a randomized, phase 2 study comparing neoadjuvant everolimus plus letrozole with letrozole alone in patients with newly diagnosed ER-positive breast cancer, the response rate for the combination was higher than that for letrozole alone.¹⁶ The Breast Cancer Trials of Oral Everolimus-2 (BOLERO-2) study reported here evaluated the efficacy and safety of the combination of everolimus and exemestane in patients with HR-positive breast cancer refractory to nonsteroidal aromatase inhibitors.

METHODS

ROLES OF THE SPONSOR AND AUTHORS

The study was designed by the academic investigators and by representatives of the sponsor, Novartis. The data were collected with the use of the

sponsor's data-management systems and were analyzed by the sponsor's statistical team. All authors vouch for the accuracy and completeness of the reported data and attest that the study conformed to the protocol and statistical analysis plan, available with the full text of this article at NEJM.org. Contributions to the interpretation of data and the subsequent writing, reviewing, and amending of the manuscript were made by all authors. The first draft of the manuscript was prepared by the first and last authors and by the trial's lead physician at Novartis. No one who is not an author contributed to writing the manuscript.

PATIENTS

Eligible patients were postmenopausal women with ER-positive, human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2)-nonamplified advanced breast cancer whose disease was refractory to previous letrozole or anastrozole, defined as recurrence during or within 12 months after the end of adjuvant treatment or progression during or within 1 month after the end of treatment for advanced disease. Letrozole or anastrozole did not have to be the most recent treatment before randomization, but recurrence or progression during receipt of the most recent systemic therapy had to be documented before randomization. Other previous anticancer endocrine treatments and a single prior chemotherapy regimen for advanced disease were also allowed.

Patients had to have at least one measurable lesion or mainly lytic bone lesions in the absence of measurable disease. Patients also had to have an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status of 2 or less (on a scale from 0 to 5, with 0 indicating that the patient is fully active, 1 indicating that the patient is restricted in physically strenuous activity but is ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, and 2 indicating that the patient is ambulatory and capable of all self-care but unable to work) and adequate organ and hematologic functions.¹⁷ Exclusion criteria included a history of brain metastases and previous treatment with exemestane or mTOR inhibitors.

Written informed consent was obtained from all patients before enrollment. The institutional review board at each participating center approved the study, which was conducted in accordance with the principles of Good Clinical Practice, the provisions of the Declaration of Helsinki, and other applicable local regulations. A steering com-

mittee supervised the conduct of the study, and an independent data and safety monitoring committee performed semiannual safety reviews and reviewed the interim efficacy results.

STUDY DESIGN AND TREATMENT

In this international, double-blind, phase 3 study, patients were randomly assigned to treatment with oral everolimus or matching placebo (at a dose of 10 mg daily), in conjunction with exemestane (25 mg daily). Randomization, at a 2:1 ratio in favor of the everolimus–exemestane group, was stratified according to the presence of visceral metastasis and previous sensitivity to endocrine therapy. The latter was defined as at least 24 months of endocrine therapy before recurrence in the adjuvant setting or a response or stabilization for at least 24 weeks of endocrine therapy for advanced disease.

The primary end point was progression-free survival, on the basis of radiographic studies assessed by the local investigators, with central assessment by an independent radiology committee used in a supportive analysis. Secondary end points included overall survival, overall response rate, clinical benefit rate, time to deterioration of ECOG performance status, safety, and quality of life, with the use of the European Organization for Research and Treatment of Cancer quality-of-life core questionnaire (QLQ-C30) and the breast cancer module (QLQ-BR23). Blood levels of everolimus and plasma levels of exemestane were assessed 4 weeks after randomization (both before and 2 hours after the medications were taken) in a subgroup of 80 patients. Plasma levels of estradiol were assessed at screening or day 1 before starting trial therapy and at week 4 for the same patients.

Treatment continued until disease progression, the development of unacceptable toxicity, or withdrawal of consent. The protocol provided detailed guidelines for dose interruptions or reductions for everolimus and matched placebo for adverse events. In such cases, two reductions in the everolimus or placebo dose were permitted: an initial reduction to 5 mg daily and a subsequent reduction to 5 mg every other day.

EFFICACY AND SAFETY ASSESSMENTS

Tumor assessment included computed tomographic (CT) scanning or magnetic resonance imaging (MRI) of the chest, abdomen, and pelvis at baseline and every 6 weeks until disease progression.

Patients who discontinued one or both study treatments for any reason other than progression were required to follow the same schedule of assessments until progression. All imaging studies were required to be sent for central radiologic review. A bone scan or skeletal survey was required within 6 weeks before randomization. Abnormalities shown on bone scans were assessed by radiography, CT scanning with bone windows, or MRI before randomization and were assessed using the same method every 6 weeks. Hematologic function, biochemical measures, and vital signs were assessed at baseline and at each visit, and the lipid profile was assessed every 6 weeks. Adverse events were monitored continuously throughout the study and graded according to the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0.¹⁸

STATISTICAL ANALYSIS

The primary efficacy analysis (progression-free survival), based on local assessment, was a log-rank test stratified according to visceral metastases and previous hormone sensitivity. A total of 528 progression-free survival events were required for the final analysis, in order to detect a hazard ratio of 0.74 with 90% power with the use of a log-rank test and a two-look Lan–DeMets group-sequential design with an O’Brien–Fleming-type boundary¹⁹ at a one-sided cumulative 2.5% level of significance. Further assuming a median progression-free survival of 3.7 months in the control group,⁶ 18 months of recruitment, a 10% rate of loss to follow-up, and a 2:1 randomization ratio in favor of the everolimus–exemestane group, 705 patients were to be randomly assigned. The study had a prespecified interim analysis after the observation of approximately 60% of the progression-free survival events (the event count was 359). At the time of the interim analysis, the data and safety monitoring committee was to disclose that the trial met its primary end point only if both analyses of progression-free survival (local and central assessments) crossed the thresholds of significance, as prospectively defined in the charter of the committee.

RESULTS

PATIENTS

A total of 724 women at 189 centers in 24 countries were randomly assigned to the combination either of everolimus and exemestane (485 patients,

hereafter called the combination-therapy group) or exemestane and placebo (239 patients, hereafter called the exemestane-alone group), from June 2009 through January 2011 (Fig. 1 in the Supplementary Appendix, available at NEJM.org). Baseline characteristics were well balanced. The median age was 62 years, 56% of the patients had visceral involvement, and 76% had bone metastasis. Sixty-nine percent of the patients had measurable disease, and all other patients had at least one mainly lytic bone lesion. Thirty-six percent

had metastases in at least three organs. According to local assessment, all patients had ER-positive tumors, and 72% had progesterone-receptor-positive disease. All patients had HER2-negative tumors (by protein or gene analysis), except 2 for whom the result was missing. Earlier therapies included letrozole or anastrozole (100%), tamoxifen (48%), fulvestrant (16%), and chemotherapy (68%), with a median of three previous therapies. The most recent therapy before randomization was letrozole or anastrozole in 74% of the patients

Table 1. Patient and Tumor Characteristics at Baseline.*

Characteristic	Everolimus and Exemestane (N=485)	Placebo and Exemestane (N=239)
Age (yr)		
Median	62	61
Range	34–93	28–90
Race (%)†		
White	74	78
Black	3	1
Asian	20	19
Other	3	2
Disease-free interval‡		
Median (mo)	58	57
Range (mo)	1–340	5–316
<12 mo (%)	2	4
12–24 mo (%)	5	6
>24 mo (%)	56	54
No adjuvant therapy (%)	31	31
Previous sensitivity to endocrine therapy (%)	84	84
Visceral disease (%)	56	56
Measurable disease (%)§	70	68
Metastatic site (%)		
Lung	29	33
Liver	33	30
Bone	76	77
No. of metastatic sites (%)		
1	32	29
2	31	34
≥3	36	37
ECOG performance status (%)¶		
0	60	59
1	36	35
2	2	3

Characteristic	Everolimus and Exemestane (N=485)	Placebo and Exemestane (N=239)
Purpose of most recent treatment (%)		
Adjuvant therapy	21	16
Treatment of advanced or metastatic disease	79	84
Previous treatment with letrozole or anastrozole (%)	100	100
Letrozole or anastrozole as most recent treatment (%)	74	75
Previous treatment with antiestrogen (%)		
Any antiestrogen	57	59
Tamoxifen	47	49
Fulvestrant	17	16
Previous chemotherapy (%)		
Neoadjuvant or adjuvant therapy only	44	40
Treatment of metastatic disease (with or without neoadjuvant or adjuvant therapy)	26	26
No. of previous therapies (%)		
1	16	18
2	30	30
≥3	54	53

* There were no significant differences in baseline characteristics between the two treatment groups.

† Race was determined by self-report.

‡ Disease-free interval is defined as the time from diagnosis of breast cancer to first relapse in patients who received adjuvant therapy (308 patients in the combination-therapy group and 153 patients in the exemestane-alone group).

§ All other patients had at least one mainly lytic bone lesion.

¶ Scores for Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status range from 0 to 5, with 0 indicating that the patient is fully active, 1 indicating that the patient is restricted in physically strenuous activity but is ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, and 2 indicating that the patient is ambulatory and capable of all self-care but unable to work.

|| Previous therapies include those used in the adjuvant setting or to treat advanced disease.

(Table 1). By the protocol definition, 84% of the patients had previous sensitivity to endocrine therapy.

TREATMENT

At the cutoff date (February 11, 2011), 296 patients were still receiving study treatment: 227 (47%) in the combination-therapy group and 69 (29%) in the exemestane-alone group. The median duration of exposure to everolimus was 14.6 weeks, as compared with 12.0 weeks of exposure to placebo; as for exposure to exemestane, the median duration was 17.4 weeks in the combination-therapy group versus 12.0 weeks in the exemestane-alone group. The most frequent primary reason for discontinuation was disease progression (37% in the combination-therapy group and 66% in the exemestane-alone group).

Data from the patients in the clinical phar-

macology component of the trial showed that everolimus does not affect plasma concentrations of endogenous estradiol, and estradiol levels were not different between the two treatment groups (data not shown).

SAFETY

Serious adverse events, as defined in the protocol, were reported among 23% of patients in the combination-therapy group (11% attributed to study treatment) and 12% in the exemestane-alone group (1% attributed to study treatment). A higher percentage of patients discontinued everolimus in the combination-therapy group than discontinued placebo in the control group because of adverse events (19% vs. 4%) and withdrawal of consent (5% vs. 2%). For exemestane discontinuation, the corresponding numbers were 7% versus 3% and 7% versus 2%. In the combination-

Table 2. Adverse Events Irrespective of Relationship to Study Treatment (with at Least 10% Incidence in the Everolimus–Exemestane Group).

Adverse Event	Everolimus and Exemestane (N = 482)			Placebo and Exemestane (N = 238)		
	Any Event	Grade 3 Event	Grade 4 Event	Any Event	Grade 3 Event	Grade 4 Event
	<i>percent</i>					
Stomatitis	56	8	0	11	1	0
Rash	36	1	0	6	0	0
Fatigue	33	3	<1	26	1	0
Diarrhea	30	2	<1	16	1	0
Decreased appetite	29	1	0	10	0	0
Nausea	27	<1	<1	27	1	0
Cough	22	1	0	11	0	0
Dysgeusia	21	<1	0	5	0	0
Headache	19	<1	0	13	0	0
Decreased weight	19	1	0	5	0	0
Dyspnea	18	4	0	9	1	<1
Arthralgia	16	1	0	16	0	0
Anemia	16	5	1	4	<1	<1
Epistaxis	15	0	0	1	0	0
Vomiting	14	<1	<1	11	<1	0
Peripheral edema	14	1	0	6	<1	0
Pyrexia	14	<1	0	6	<1	0
Aspartate aminotransferase level increased	13	3	<1	6	1	0
Constipation	13	<1	0	11	<1	0
Hyperglycemia	13	4	<1	2	<1	0
Pneumonitis	12	3	0	0	0	0
Thrombocytopenia	12	2	1	<1	0	<1
Asthenia	12	2	0	3	0	0
Alanine aminotransferase level increased	11	3	<1	3	2	0
Pruritus	11	<1	0	3	0	0
Insomnia	11	<1	0	8	0	0
Back pain	11	0	0	8	1	0

therapy group, seven deaths attributed to adverse events (1%) were reported during treatment or within 28 days after stopping treatment: two deaths from sepsis and one each from pneumonia, tumor hemorrhage, cerebrovascular incident, renal failure, and suicide. In the exemestane-alone group, one death from pneumonia (<1%) was reported during treatment.

The most common grade 3 or 4 adverse events

were stomatitis (8% in the combination-therapy group vs. 1% in the exemestane-alone group), anemia (6% vs. <1%), dyspnea (4% vs. 1%), hyperglycemia (4% vs. <1%), fatigue (4% vs. 1%), and pneumonitis (3% vs. 0%) (Table 2). The time to deterioration of ECOG performance status and time to deterioration of quality of life (5%) were not statistically different between the two treatment groups (data not shown).

EFFICACY

The trial met its primary end point, progression-free survival; the median progression-free survival, on the basis of radiographic studies assessed by the local investigators, was 6.9 months for everolimus plus exemestane versus 2.8 months for placebo plus exemestane (hazard ratio, 0.43; 95% confidence interval [CI], 0.35 to 0.54; $P < 0.001$) (Fig. 1 and Table 3). The median progression-free survivals on the basis of central assessment were 10.6 months and 4.1 months, respectively (hazard ratio, 0.36; 95% CI, 0.27 to 0.47; $P < 0.001$) (Fig. 1 and Table 3). Both analyses crossed the prespecified thresholds for significance. The Kaplan–Meier estimates beyond week 36 should be interpreted with caution because of the small number of patients at risk and lack of adequate follow-up. The results for progression-free survival were also consistent across all subgroups (Fig. 2).

Response rates, on the basis of local assessment, were 9.5% and 0.4% in the combination-therapy and exemestane-alone groups, respectively ($P < 0.001$), and central assessment showed consistent results (Table 3). Overall survival results were immature at the time of the interim analysis, with a total of 83 deaths: 10.7% of patients in the combination-therapy group and 13.0% of those in the exemestane-alone group died. Patients and investigators continue to be unaware of study assignments and will remain so until survival results are mature for analysis.

DISCUSSION

The BOLERO-2 study showed that the addition of everolimus to exemestane significantly improves progression-free survival, with observed medians of 6.9 and 2.8 months, corresponding to a 57% reduction in the hazard ratio. These results were confirmed with the use of an independent, blinded radiologic assessment and were consistent across all subgroups. Our positive results are consistent with the outcomes of two other studies of everolimus and antiestrogen therapy in patients with HR-positive breast cancer.^{16,20} In one study involving patients with newly diagnosed breast cancer, neoadjuvant everolimus combined with letrozole improved the clinical response rate and decreased tumor-cell proliferation as compared with letrozole alone.¹⁶ More recently, in a randomized, phase 2 study involving 111 postmenopausal

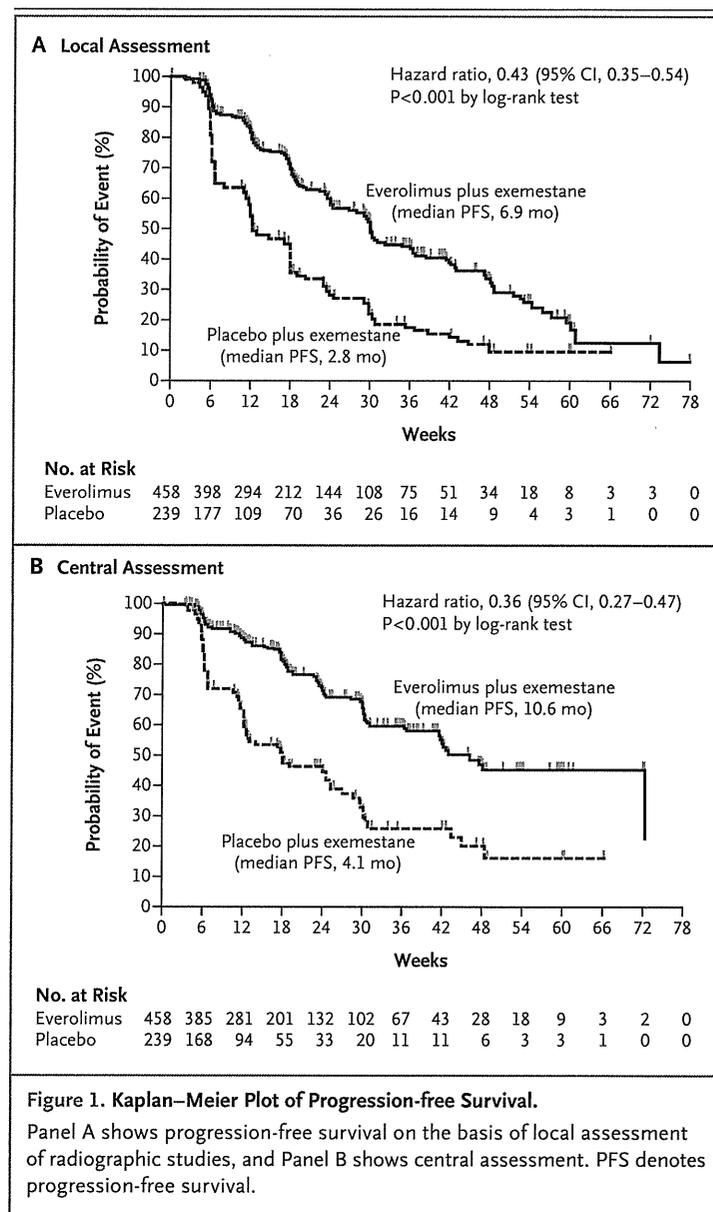


Figure 1. Kaplan–Meier Plot of Progression-free Survival.

Panel A shows progression-free survival on the basis of local assessment of radiographic studies, and Panel B shows central assessment. PFS denotes progression-free survival.

women with ER-positive advanced breast cancer previously treated with an aromatase inhibitor, the combination of everolimus and tamoxifen was associated with significantly improved progression-free survival relative to tamoxifen alone (8.6 months vs. 4.5 months, $P = 0.002$) and with significantly improved overall survival (median not reached vs. 24.4 months, $P = 0.01$).²⁰ Taken together, these studies suggest that everolimus adds to the anticancer activity of antiestrogen therapy in a variety of clinical settings and with different classes of endocrine agents.

The magnitude of the observed benefit com-