

201411040B (1/4)

厚生労働科学研究費補助金  
革新的がん医療実用化研究事業

「我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤  
アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服」  
に関する研究

平成 24 年度～平成 26 年度 総合研究報告書

研究代表者 江角 浩安

平成 27 (2015) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金  
革新的がん医療実用化研究事業

「我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤  
アルクチゲニン臨床第Ⅱ相試験による膵がん克服」  
に関する研究

平成 24 年度～平成 26 年度 総合研究報告書

研究代表者 江角 浩安

平成 27 (2015) 年 5 月

## 目 次

### I. 総合研究報告

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第II相試験による膀胱がん克服

----- 1

江角 浩安

### II. 研究成果の刊行に関する一覧表

### III. 研究成果の刊行物・別刷（別冊 2~4）

# I .総合研究報告

我が国で新しく発明された概念に基づく抗がん剤アルクチゲニン臨床第II相試験による膵がん克服

研究代表者 江角浩安 学校法人東京理科大学 教授

### 研究要旨

平成25年3月第II相試験登録を開始し、平成25年11月予定症例数37例のところ39症例登録38例が評価可能であった。臨床病期は局所進行が3例、遠隔転移が36例であった。遠隔転移臓器は肝29例、腹腔リンパ節10例、腹膜7例、肺8例であった。主要評価項目は病勢制御割合として、8週目での効果判定で、37例中14例に病勢制御(CR+PR+SD)が得られていれば、有効と判断すると設定した。最終解析では、38例中13例(34.2%)に病勢制御が得られていたが、当初設定した数値(37.8%)には及ばなかった。無増悪生存期間(中央値)は4.4週であったが、6例は、15週以上の無増悪生存期間が認められた。GBS-01の忍容性は良好であった。発生した重篤な有害事象は5件、治療との因果関係が否定できないものは脳梗塞の1例であった。アルクチゲニンは吸収後速やかにグルクロン酸抱合されたが、UGT1A1および9が主要な責任酵素であった。非臨床試験において、アルクチゲニンが、がん幹細胞分画への選択的効果があることが明らかになり、POC取得の為のプロトコル改訂を行い2013年6月24日から症例登録を開始し現在解析中である。この効果を利用した根治的化学療法開発を目指す。ゼノグラフトでは、抗がん剤との明確な相乗効果見られ、腫瘍血管網のNormalization作用が観察されメカニズムの1つと考えられた。後期第II相試験に向け準備中である。

### 分担研究者氏名及び所属施設

江角浩安	東京理科大学
佐藤暁洋	国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター
野村尚吾	国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター
渡邊協孝	国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター
尾崎雅彦	国立がん研究センター 東病院
池田公史	国立がん研究センター 東病院
上野秀樹	国立がん研究センター 中央病院
石井 浩	がん研究会 有明病院
三牧幸代	国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター
藤井博史	国立がん研究センター 東病院
佐竹光夫	国立がん研究センター 東病院
岸野吏志	明治薬科大学
小嶋基寛	国立がん研究センター 東病院

### A. 研究目的

本研究は、極度に治療に抵抗する膵臓がん等乏血性腫瘍に対する画期的薬物療法の開発を目的とする。膵がん組織に見られるような強い低酸素と低栄養条件では既存の抗がん剤は効果を失う。膵がんはじめ乏血管性腫瘍では、酸素、栄養素ともに供給不足であり特殊な微小環境を標的とした全く新しい概念の治療薬の開発に取り組んできた。その結果、アルク

チゲニンを見出した。この化合物は、低栄養下で選択的毒性を示し低酸素の影響を受けない独創的なものである。アルクチゲニンは「日局」収載生薬の牛蒡子に含まれ、クラシエ製薬(株)・富山大学との共同研究によりアルクチゲニン高含有牛蒡子エキスの製法特許を取得し(特許登録4963738)及び追加特許(登録番号:5190572)を獲得した。この製法によりGMP適合施設で、顆粒剤(GBS-01)を製造し前臨床試験の後、GEM不応膵癌患者を対象とした第I/II相試験(UMIN000005787)を平成23年6月より開始した。GBS-01による有害事象はほとんど無く、用量レベル2でGEM・S-1不応患者1名にPR(4ヶ月継続)が得られた。この結果、本研究では医師主導治験として臨床第II相試験を行うことを目的とした。

### B. 研究方法

国立がん研究センター東病院・中央病院、癌研有明病院を参加施設とし、早期・探索的臨床試験拠点整備事業により整備されている東病院臨床試験支援室がGCPに従った医師主導治験のデータセンター/モニタリングを担う。また、薬事専門家および生物統計家が関与する。具体的には分担研究者 佐藤暁洋が室長を務める、国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床試験支援室がデータセンター/モニタリング/統計解析などの支援を担当し、分担研究者 野村尚吾が同臨

床試験支援室の生物統計家として、試験の統計デザイン及びデータ解析を担当する。分担研究者の渡邊協孝が、薬事担当者として薬事戦略立案の支援及び薬事戦略相談の支援を行う。

薬物動態解析は明治薬科大学、付随したマーカー探索・分子イメージングなどのトランスレーショナルリサーチについては東病院臨床開発センターの各部門が担う。治験に使用する GBS-01 は、国立がん研究センター東病院とクラシエ製薬(株)、富山大学により共同開発された製法特許に基づきクラシエ製薬(株)により GMP グレードで調製された製剤を用いた。

Phase II 部分は「ゲムシタピンとフッ化ピリミジン系抗癌剤不応膵癌患者を対象とした GBS-01 の前期第 II 相試験」の題名のもと医師主導治験として取り組んだ。予定登録数：37 名（治験実施計画適合集団（Per Protocol Set：PPS）として）治験実施予定期間：2013 年 1 月～2014 年 6 月である。

Primary endpoint: 8 週の病勢制御割合 (Disease Control Rate: DCR)

Secondary endpoints: 有害事象

奏効割合 (response rate: RR)

無増悪生存期間 (Progression free survival: PFS)

全生存期間 (Overall survival: OS)

薬物動態学的パラメー

Exploratory endpoint: バイオマーカー

付随研究として、アルクチゲニンの作用機序の解明に基づくバイオマーカーの開発、特にゲノム、メタボローム、プロテオーム解析を臨床資料についても可能な限り行う。更に、画像技術を臨床的基礎的に駆使して POC の取得に関し努力することとした。

またゼノグラフトモデルで明確ながん幹細胞様細胞に対する選択毒性を持つことが明らかになった。この選択毒性を明らかにするために、GBS-01 の投与前後に採血、腫瘍生検を行い、がん幹細胞様細胞の減少が認められるか否かを確認する拡大コホートを計画し [Proof of concept (POC) 試験] POC の検討が可能な症例を 10 例、追加することとして、参加施設でのプロトコル改訂審査および PMDA へのプロトコル改訂届け出を行った。2013 年 6 月 24 日から症例登録を行った。

#### (倫理面への配慮)

当該臨床試験は、ヘルシンキ宣言、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令、薬事法および薬事法施行規則とその関連通知などを準拠して実施される。参加各施設の IRB にプロトコルを提出し審査・承認を受けた。GCP に準拠して治験を行った。

## 研究結果

## C. 研究結果

### Phase II の症例登録状況

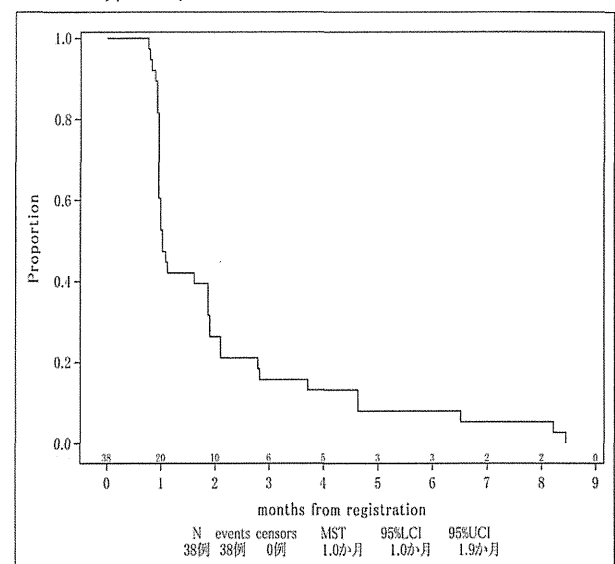
国立がん研究センター東病院、中央病院、がん研有明病院の 3 施設で行った。平成 25 年 1 月 17 日初回治験届を提出し、平成 25 年 3 月 11 日から登録を開始した。平成 25 年 11 月 5 日までに 39 例の登録を終了した。患者背景(全 39 例)は、年齢(中央値)は 64 (範囲: 38-81) 歳、男性 27 例、PS は 0 が 28 例、1 が 11 例であった。全例で腺癌が確認され、臨床病期は局所進行が 3 例、遠隔転移が 36 例であった。遠隔転移臓器は肝 29 例、腹腔リンパ節 10 例、腹膜 7 例、肺 8 例であった。前切除歴は 24 例に認め、前化学療法歴は、Gemcitabine 29 例、S-1 34 例、Gemcitabine+S-1 5 例、FOLFIRINOX 2 例であった。

これまでに発生した重篤な有害事象は 5 件で、そのうち、治療との因果関係が否定できない有害事象は脳梗塞の 1 例のみであった

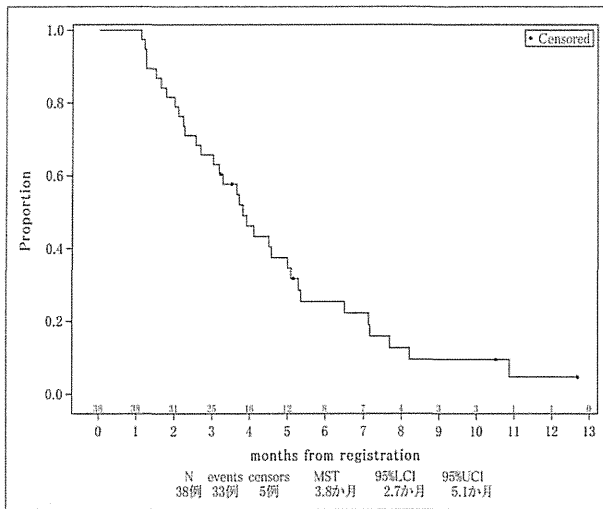
### 臨床的効果

2013 年 11 月までに 39 例の登録を終了した。うち一例は不適格例となったので解析は 38 例で行った。なお、国立がん研究センター東病院、中央病院、がん研有明病院の 3 施設で登録を行ったが、各施設 13 例の登録であった。主要評価項目の病勢制御割合は 13/38 例 (34.2%) であり、当初設定した数値 (37.8%) には及ばなかった。なお、Phase I で認められたような明らかな腫瘍縮小効果は認められなかった。無増悪生存期間(中央値)は 4.4 週であったが、6 例においては、15 週以上の無増悪生存期間が認められた。また、GBS-01 の忍容性は良好であった。

GBS-01 第 II 相 PFS



### GBS-01 OS



### 有害事象まとめ

	G0	G1	G2	G3	G4
下痢	30	5	4	0	0
悪心	29	6	2	2	0
胃痛	39	0	0	0	0
嘔吐	33	4	2	0	0
食欲不振	23	12	2	2	0

### その他の有害事象(因果関係が否定できない)

脳卒中	G2, G3	各 1 例 (SAE 報告)
高尿酸血症	G3	1 例
高血圧	G3	1 例 (脳卒中例)
脱水	G2	1 例
疲労	G2	1 例
皮疹	G2	1 例

### アルクチゲニンのがん幹細胞様細胞に対する効果

昨年度から引き続きがん幹細胞に対する効果を検討した。がん幹細胞は幹細胞ニッチと呼ばれる特別な部位に存在すると考えられている。このニッチの特徴の1つが、低酸素環境と低栄養環境である。アルクチゲニンは元々、がん細胞が低酸素・低栄養で生存する場合の適応反応を阻害する効果を指標としてスクリーニングされたものであるため、がん幹細胞様細胞に対し生体内では強い効果を示すのではないかと考えてきた。昨年度までの研究でヒト膵がん細胞株 PANC 1 細胞を用い低グルコース条件で、CD24, CD44, ESA 陽性細胞への影響をゲムシタビンと比較しアルクチゲニンは顕著ながん幹細胞抑制を持つことを見出した。また、Oct3/4, Nanog, SOX2 の発現を検討すると、1-2 $\mu$ M でほぼ完全に抑制した。ヌードマウスに MiaPaCa2 細胞を移植し、5 週間アルクチゲ

ニン投与の後、がん幹細胞様細胞の比率をゲムシタビン処理群と比較した。CD24+, CD44+, ESA+, 細胞の割合を PI-, H-2 kd-の細胞における比率で幹細胞様細胞を検出した場合および CD133+, CD44+の細胞で検出した場合の無処置、ゲムシタビン単剤投与、アルクチゲニン単剤およびアルクチゲニンとゲムシタビン併用投与の場合の比較をした。その結果、アルクチゲニンは、ゼノグラフトモデルで明確ながん幹細胞様細胞に対する選択毒性を持つことが明らかになった。この選択毒性がヒトの体内でも観察されるか否かを明らかにするために、GBS-01 の投与前後に採血、腫瘍生検を行い、がん幹細胞様細胞の減少が認められるか否かを確認する拡大コホートを計画した [Proof of concept (POC) 試験]。POC の検討が可能な症例を 10 例、追加することとして、プロトコール改訂を行った。各施設での倫理審査と PMDA へのプロトコール改訂を届けた後、2013 年 6 月 24 日から症例登録を開始した。症例集積は順調で、拡大コホートの登録終了し現在その試料に関する解析を行っている。

### GBS-01 と化学療法には顕著な併用効果が認められる

先に述べたごとく、GBS-01 にはがん幹細胞様細胞に対する効果があるために、従来の抗がん剤との併用効果が認められるのではないかと考えた。

大腸癌細胞株 LS174T 細胞ゼノグラフトモデルではアバスチンとの併用効果が認められた。また、ヒト膵がん細胞株 MiaPaca2 を用いたゼノグラフトではオキサリプラチン、塩酸イリノテカンなどで顕著な併用効果が見られた。これらの併用効果のメカニズムに関しては現在も検討中であるが、既に述べたアルクチゲニンによるがん幹細胞様細胞に対する毒性もその1つである。

一方、アルクチゲニンによる治療を行った腫瘍では潰瘍が起りにくいという所見に基づき、アルクチゲニン治療による組織の Perfusion に対する影響の検討を行った。ガドリニウム DTPA を用いた MRI 画像による Perfusion 測定を動物用 9.4T MRI を用いて行った。その結果を図3に示す。

5XHRE をプロモーターに持った Luciferase 遺伝子を組み込んだヒト膵がん細胞株のゼノグラフトモデルでも腫瘍の中に占めるルシフェルアーゼ陽性の低酸素領域の現象が観察された。一方、組織を免疫染色し CD41 陽性の腫瘍血管の密度を調べると有意の差は見られなかった。それらのことから、アルクチゲニンの投与により腫瘍血管網、組織の再構築が起り、より機能的な血管網に再構築が起っていることが考えられた。これらの結果、GBS-01 には、ベバシズマブで見られるよう

な腫瘍血管網の Normalization 作用も確認された。他の抗癌剤との併用効果のメカニズムの 1 つであると考えられた。ゼノグラフトモデルでは腫瘍の消失例も認められた。今後、GBS-01 の開発は、他の抗癌剤との併用で進めるか、単剤で進めるか第 II 相試験の結果も考慮し、検討中である

### GBS-01 投与と血中乳酸

昨年度、一昨年度の研究でアルクチゲニンがミトコンドリアの複合体 I を阻害すること、ヒトへの投与でその結果乳酸血中濃度の上昇が、毒性や効果の指標になる可能性を検討した。尚、この研究は念のためにプロトコルの軽微な変更であるが倫理審査委員会の審査を受けた。Phase I に登録された 15 名の患者の血漿を用い、乳酸を測定し、血漿乳酸濃度は GBS-01 の投与量に応じて高くなった。全体の約半数の患者で上昇が見られたが、残り半数および健常ボランティアでは上昇は見られなかった。一例では最高値 7 mM と明らかな上昇が見られたが、一時的で数時間で正常値に復していた。軽微な上昇を来した患者でも同様に上昇は一時的であった。最高値の 7 mM は、健常人がやや激しい運動を行った時の乳酸上昇に相当する。臨床的に乳酸アシドーシスの症状を呈した患者は認められなかった臨床の報告と一致する。

乳酸値の上昇が血中のアルクチゲニン或いは AGG の上昇と一致するのか否かを調べた。その結果、Cmax でも、AUC でも、AG との相関は見られなかった。AGG との相関も見られなかった。これらのことは、AG が活性体であるが、どこでグルクロン酸抱合されているのかと言う問題と、乳酸の上昇はどの臓器或いは細胞で起こっているのかの問題に直接つながる重要な情報である。最近アルクチゲニンだけではなくメトフォルミンやフェンフォルミンなど複合体 1 に対する阻害効果をもつ薬剤のがん治療への応用が広く検討されている。

そこでマウスを用いて、どの様な要因が乳酸値の上昇を決めるのかを明らかにすることを試みた。マウスにアルクチゲニンを経口投与すると 5 分後から既に血中にアルクチゲニンおよびそのグルクロン酸抱合体が検出された。さらに 30 分後までアルクチゲニン、および抱合体の血中濃度は上昇したが乳酸の上昇はほとんど見られなかった。経口投与されたアルクチゲニンは速やかにグルクロン酸抱合されるために乳酸の上昇は見られない可能性もあり、小腸や胃のパウチに投与し門脈血中のアルクチゲニンと組織中の乳酸濃度を検討したが、アルクチゲニンは充分の濃度門脈血に検出されるにも関わらず小腸や胃の粘膜に乳酸は検出されず軽度の上昇を見たのは肝臓と腎臓であった。どの様なメカニズムでこの様なことが起こるのか解析が必要であるが、ヒトの場合でも肝機能と乳酸濃度が相関する。血漿中乳酸濃度は、産生速度より

はクリアランスが大きな因子であるヒトでの可能性と矛盾しない。アルクチゲニンはグルクロン酸抱合体のままでは活性が極めて低い。肝臓で抱合された後末梢組織での再活性化、或いはアルクチゲニンとしての極めて素早い組織分布の可能性が示唆された。マウスで静脈内投与した後の各臓器のアルクチゲニン含量を見ると血中から臓器への分布も大きな因子であることが示唆された。

### マウスにおける臓器及び腫瘍組織への移行性

AG の臓器及び主要組織への移行性を確認するために、腫瘍を移植したヌードマウスに AG エキス 25 mg/匹を空腹時経口投与し、15 分後に血液、臓器及び腫瘍組織を採取し AG 及び AGG 量を測定した。尚、組織中 AG 及び AGG 量は、各組織中タンパク濃度で補正した。

臓器（肝、腎）及び腫瘍中 AG 量は、血漿中 AG 濃度に比べ、著しく高い事が明らかとなった。

### $\beta$ -グルクロニダーゼ活性の影響

臓器中の AG 濃度の異同性は、 $\beta$ -グルクロニダーゼ活性の影響によるものか否かを確認するために、ヌードマウスと Nod Scid マウスに腫瘍を移植後、AG エキス 100 mg/kg を経口投与した。投与 15 分後及び 30 分後に採血、臓器採取を行い、AG 及び AGG 濃度を測定した。尚、組織中 AG 及び AGG 濃度は、各組織中タンパク濃度で補正した。

Nod Scid マウスに比べヌードマウスの AG/AGG 比は、いずれの組織においても高いことが明らかとなった。

AG は主に小腸から吸収されることが明らかとなったが、投与 15 分後の吸収率は胃内投与、腸内投与共に低値であったことから AG の吸収は緩徐であることが示唆された。

また、マウスに AG を尾静脈投与及び経口投与した際、血漿中 AGG 濃度は、経口投与では時間の経過と共に増加する傾向が見られたが、尾静脈投与では顕著な変化が認められなかったことより、AG は肝での初回通過効果の影響を大きく受ける事が明らかとなった。

マウスにおける臓器（肝、腎）及び腫瘍中 AG 濃度は、血漿中 AG 濃度に比べ著しく高い事が明らかとなったが、臓器中 AG 濃度の違いは  $\beta$ -グルクロニダーゼによる脱抱合の関与が示唆された。また、腫瘍組織では、ヌードマウスの AG/AGG 比が著しく高い事から、腫瘍においては  $\beta$ -グルクロニダーゼの活性が亢進している可能性が示唆された。

### 病理試料を用いた TR 研究の実施

GBS01 の Phase I 試験に参加した患者のうち国立がん研究センター東病院に 外科切除された FFPE 腫瘍組織が存在する 8 症例の代表切片と Phase II 試験に参加した患者のうち、参加施設で



外科的切除が施行され、FFPE 腫瘍組織が存在する 17 症例から採取された TMA 切片を用いた。TMA 切片は径 2mm のコアを FFPE 腫瘍組織から打ち抜き、採取した。上記検体において低酸素マーカーと報告されている HIF-1, CA-IX, がん幹細胞のマーカーと報告されている、CD133, CD44, ALDH1 の発現を検討することで、まず、Phase I と II における再現性を検討した。Phase II 症例における上記マーカー発現と治療効果、PFS, OS との相関を検討することでマーカーとしての有用性を検討した。

**HIF-1:** Phase I 症例の 62.5%(5/8)、Phase II 症例の 47.0%(8/17)が HIF-1 高発現と判定され、発現に差を認めなかった。Phase I, II のいずれにおいても治療効果 (non-PD) 症例に HIF-1 陰性症例が多く見られた。HIF-1 陽性症例は陰性症例と比較して PFS, OS が短い傾向が見られたが、有意差は認めなかった ( $P=0.09$  PFS,  $P=0.23$  OS)。

**CA-IX:** Phase I 症例における陽性割合は 50.0%(4/8)である一方、Phase II 症例は全例陰性であり (0/17)、Phase II 症例で有意に発現が低く、再現性に乏しかった ( $P < 0.05$ )。

**CD133:** Phase I 症例における陽性割合は 37.8%(3/8)、Phase II 症例の 35.3%(6/17)で発現に差を認めなかった。CD133 発現と治療効果及び PFS, OS との相関は認めなかった。

**CD44:** Phase I 症例における陽性割合は 50.0%(4/8)、Phase II 症例の 58.8%(10/17)であり、発現に差を認めなかった。CD44 発現と治療効果及び PFS, OS との相関は認めなかった。

**ALDH1:** Phase I 症例における陽性割合は 37.8%(3/8)、Phase II 症例の 17.6%(3/17)であり、Phase II 症例の発現が低いが、有意差は認めなかった。ALDH1 発現と治療効果及び PFS, OS との相関は認めなかった。

#### 病理標本を用いたゲノム解析の可能性の検討

小細胞肺がん一症例のホルマリン固定組織の全エクソンシーケンスの結果、25,455 の variant を検出した。公的 SNP データベース (dbSNP build 131, 1000 Genomes Project)、in-house SNP データベース (148 人分の非がん部データ)、本人非がん部データを用い、生殖細胞系列 variant を除し、1,046 variant を体細胞性変異候補として抽出した。ゲノムビューワを用い、1,046 の体細胞性変異候補の目視確認を行ったところ、真の体細胞性変異は 91 であり、955 は偽変異であった。真の体細胞性変異を抽出するパラメータ変数を探索するため、まず各 variant に付加される信頼スコア (confidence score) 0、10、30、50、100 以上で抽出した際の陽性率 (感度)、偽陽性率 (1

特異度) を算出し、ROC 曲線を描出したところ、信頼スコア 50 以上の条件で、感度 0.97、特異度 0.94 で抽出できることがわかった。しかしながら、偽陽性数は 56 と未だ少なくないため、信頼スコア 50 以上で抽出後の variant に対し、変異アレル頻度 (variant allele frequency) と順読み、逆読み変異リード本数をパラメータ変数として取り入れ、ROC 曲線を描出した。その結果、変異アレル頻度 10%以上かつ変異リード本数順読み逆読み各 1 本以上の条件で、感度 0.97、特異度 0.75 で抽出できることがわかった。偽陽性数も 56 から 14 へと減じることができ、実用可能な条件であると判断した。以上の結果より、信頼スコア 50 以上、変異アレル頻度 10%以上、変異リード本数順読み逆読み各 1 本以上のパラメータ条件により、真の体細胞性変異 91 のうち 85 (93.4%) を拾い、偽変異 955 のうち 941 (98.5%) を落とすことができ、実用的なパラメータ条件を見出すことができた。

#### 症例選択に役立つ画像情報の探索

国立がん研究センター東病院で GBS-01 の前期 II 相試験を行った 13 症例を Aquilion 64 (東芝メディカルシステム株式会社) を使用し、原発巣および転移巣 (肝臓、肺、リンパ節、その他) の経時的評価を行った。13 症例の内訳は、男性 10 例、女性 3 例 (平均 60 歳) で、前治療として 7 例が化学療法で 6 例が術後であった。CT の撮影方法は、初回は臍臓を中心に上腹部を単純・動脈相・門脈相を撮影し、平衡相では頸部から骨盤までを撮影した。経過観察では、初回の平衡相と同様に頸部から骨盤までを撮影し、これを経時的に比較した。また CT の病変と腫瘍マーカー (CEA と CA19/9) の経時的変化も比較した。

原発巣と転移巣の存在については、臍に評価病変のあるものは 10 症例で、臍に評価病変のない症例は全て切除術後症例であった。肝転移のあった症例は 11 例で、肺転移とリンパ節転移はそれぞれ 1 例のみであった。その他の転移巣としては、4 例に腹膜播種が存在し、腹壁、傍脊椎、脾臓、後腹膜転移がみられた。原発巣および転移巣の増大に従い、腫瘍マーカーも増加していた。CT による臍臓がんの経過観察は原発巣および転移巣の観察に優れ、腫瘍マーカーの増加した場合、画像による検索が有用である。

#### 医師主導治験を支える体制に関する検討

平成 25 年度に、薬事相談・プロトコール・各種 SOP の作成、治験届け、EDC の構築等を実施し、平成 25 年 3 月 11 日より患者登録を開始した。同日に 1 例目を登録し 11 月 5 日までに 39 名の患者登録を行い、予定登録数に達したために登録を終了した。登録ペースは予定登録数を上回り順調な登

録が行われた。

平成 25 年度は、施設訪問モニタリングを 36 回実施し、進捗・背景因子の集計・安全性情報などを記載した定期報告レポートを 7 回発行した。また、データマネジメントに関連して EDC システムのコンピューターシステムバリデーションを実施した。

重篤な有害事象に関する当局報告を 2 報、研究報告を 1 報、治験変更届けを 1 回それぞれ PMDA に報告している。中間解析を 1 回実施した。

監査についても、治験調整事務局に対する監査を 1 回、参加施設に対する監査を 2 回、外注先の CRO が実施、概ね問題がないとの監査結果を得ている。

総括報告書作成に向けて、外注先の CRO と打合せを開始したが、プロトコル改訂をした後に登録を追加することとなったため、一度作業を中止し、プロトコル改訂作業を実施している。

PK 解析に関しても、PK 解析に必要な EDC の改修及びシステムバリデーションを実施した。（添付資料 1）

参加施設側としての支援として、国立がん研究センター東病院として 13 名を登録し、CRC 業務を実施している。

#### D. 考察

Phase IIA 部分での結果はこれから最終解析ではあるが、ほぼ最終の予備的解析では、15 週以上の SD 症例は観察されたが、明確な抗腫瘍効果を示した症例は観察されなかった。主要評価項目の病勢制御割合は 34.2% であり、当初設定した数値 (37.8%) には及ばなかった。無増悪生存期間 (中央値) は 4.4 週であったが、6 例においては、15 週以上の無増悪生存期間が認められた。現在、15 週以上の無増悪生存例についてはメタボローム、ゲノムの解析などのバイオマーカー検討を行っている。しかし、当初設定した Primary endpoint は達成できなかったと考えられる。いっぽう、GBS-01 の忍容性は Phase I で観察されたごとく良好であった。

アルクチゲニンは、ゼノグラフトモデルで明確ながん幹細胞様細胞に対する選択毒性を持つことが明らかになった。また、GBS-01 には、ベバシズマブで見られるような腫瘍血管網の Normalization 作用も確認された。他の抗癌剤との併用効果を調べると、培養細胞レベルでは併用効果は認められなかったが、ゼノグラフトモデルでは腫瘍の消失例も認められた。アルクチゲニンが組織レベルの微小環境饒辺かを通じて併用効果を表していることを強く示唆する。今後、GBS-01 の開発は、他の抗癌剤との併用で進めるか、単剤で進めるか第 II 相試験の結果と共に、これらの研

究結果も考慮し、検討する予定である。また、がん幹細胞様細胞の減少を指標とした拡大第 II 相試験を追加し併用療法開発や、次の段階へのステップアップに必要な POC を取得することを目指し、解析を待っている段階である。これらの結果を待って次の段階への方針が決まるものと考えられる。

今回の医師主導治験への歩みを振り返ってみる。臨床試験支援室による支援 (佐藤)、生物統計家による支援 (野村)、薬事専門家による支援 (渡邊) によって、研究費が採択されてから、登録開始まで約 9 ヶ月という短期間で、GCP 準拠の医師主導治験が効果的に準備・開始することが可能となった。医師主導治験としては極めて順調であり、今の支援体制がとても効率よく働いていることを示している。第 II 相部分でも約半年で予定以上の症例登録ができたことは研究組織の研究能力を如実に示している。

#### E. 結論

Phase I の結果から、GBS-01 はゲムシタピン不応の進行膵癌患者に対して、忍容性は良好で、腫瘍縮小効果も確認された。第 II 相試験も患者登録は予想以上に順調であった。残念ながら当初設定した病勢制御率 37% は達成できなかったが、今後の発展のための、がん幹細胞を減少させると言う POC 取得が次の段階への大きな展望を開くと考えられるし、非臨床試験でのこれを支持する結果、および vascular normalization と呼ばれる作用は今後併用試験の合理性を指し示している。

#### F. 健康危険情報

GBS-01 の重篤な有害事象として、脳梗塞と拡張型心筋症の報告があった。(既に医薬品医療機器総合機構にも報告済み。)

#### G. 研究発表

研究の刊行に関する一覧表に記載。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許出願

##### 1) 江角 浩安

[発明の名称]

抗癌剤及び副作用軽減剤

[出願人]

学校法人東京理科大学

クラシエ製薬株式会社

独立行政法人国立がん研究センター

国立大学法人富山大学

[発明者・所属機関]

江角 浩安 (東京理科大学)

池田 公史、土原 一哉 (国立がん研究センター東病院)

千葉 殖幹、与茂田 敏、川島 孝則、大窪  
敏樹（クラシエ製薬株式会社）  
手塚 康弘（富山大学）  
[出願番号]  
特願 2014 - 080895

#### 特許登録

- 1) 発明の名称：抗癌剤  
出願人（権利者）：国立がんセンター、  
クラシエ製薬、富山大学  
出願番号：2012-069964  
登録日：2015年3月2日
- 2) 抗癌幹細胞剤  
出願人（権利者）：国立がんセンター、  
クラシエ製薬、富山大学  
出願番号：PCT/JP2014/061396  
登録日：2015年1月22日

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

なし

## Ⅱ.研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍 (外国語)

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌 (外国語)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Minchenko OH, Tsuchihara K, <u>Esumi H</u> , et. al.	Mechanisms of regulation of PFKFB expression in pancreatic and gastric cancer cells.	World J Gastroenterol	20(38)	13705-17	2014
Suzuki A, Makinoshima H, Wakamaguri H, <u>Esumi H</u> , et. al.	Aberrant transcriptional regulations in cancers: genome, transcriptome and epigenome analysis of lung adenocarcinoma cell lines.	Nucleic Acids Res	42(22)	13557-72	2014
Obata Y, Toyoshima S, Wakamatsu E, <u>Esumi H</u> , et. al.	Oncogenic Kit signals on endolysosomes and endoplasmic reticulum are essential for neoplastic mast cell proliferation.	Nat Commun.	5	5715	2014
Makinoshima H, Takita M, Matsumoto S, <u>Esumi H</u> , et. al.	Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling regulates global metabolic pathways in EGFR-mutated lung adenocarcinoma.	J Biol Chem	289(30)	20813-23	2014

<u>Esumi H.</u>	"S'ils n'ont pas de pain, qu'ils mangent de la brioche." Focus on "anaerobic respiration sustains mitochondrial membrane potential in a prolyl hydroxylase pathway-activated cancer cell line in a hypoxic microenvironment".	American Journal of Physiology Cell Physiology	306	C320-321	2014
Kami K, Fujimori T, Sato H, <u>Esumi H.</u> , et. al.	Metabolomic profiling of lung and prostate tumor tissues by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry	Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society	9	444-453	2013
Kudou N, Taniguchi A, Sugimoto K, <u>Esumi H.</u> , et. al.	Synthesis and antitumor evaluation of arctigenin derivatives based on antiausterity strategy	European journal of medicinal chemistry	60	76-88	2013
Ueda JY, Athikomkulchai S, Miyatake R, <u>Esumi H.</u> , et. al.	(+)-Grandifloracin, an antiausterity agent, induces autophagic PANC-1 pancreatic cancer cell death	Drug design, development and therapy	8	39-47	2014
Suzuki M., Makinoshima H., Matsumoto S., <u>Esumi H.</u> , et. al.	Identification of a lung adenocarcinoma cell line with CCDC6-RET fusion gene and the effect of RET inhibitors in vitro and in vivo	Cancer Science	104(7)	896-903	2013
Suzuki A, Mimaki S, Yamane Y, <u>Esumi H.</u> , et. al.	Identification and characterization of cancer mutations in Japanese lung adenocarcinoma without sequencing of normal tissue counterparts	PLoS One	8(9)	e73484	2013
Nasuno T, Mimaki S, Okamoto M, <u>Esumi H.</u> , et. al.	Effect of a poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor against esophageal squamous cell carcinoma cell lines.	Cancer Science	105(2)	202-210	2014

Awale S, Kato M, Dibwe DF, <u>Esumi H</u> , et. al.	Antiausterity Activity of Arctigenin Enantiomers: Importance of (2R, 3R)-absolute configuration.	Nat. Prod Commun	9(1)	79-82	2014
Yamashita T, Uehara S, Udagawa N, <u>Esumi H</u> , et. al.	Arctigenin inhibits osteoclast differentiation and function by suppressing both calcineurin-Dependent and osteoblastic cell-dependent NFATc1 pathways	PloS one	9(1)	e85878	2014
Kudou N, Taniguchi A, Sugimoto K, <u>Esumi H</u> , et. al.	Synthesis and antitumor evaluation of arctigenin derivatives based on antiausterity strategy.	Eur J Med Chem	60	76-88	2012
Owada S, Shimoda Y, Tsuchihara K, <u>Esumi H</u> , et. al.	Critical role of H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> generated by NOX4 during cellular response under glucose deprivation.	PLoS One	8(3)	e56628	2013
Kami K, Fujimori T, Sato H, <u>Esumi H</u> , et. al.	Metabolomic profiling of lung and prostate tumor tissues by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry.	Metabolomics	9(2)	444-453	2012
Yamagata Y, Aikou S, Fukushima T, Kataoka H, <u>Esumi H</u> , et. al.	Loss of HGF activator inhibits foveolar hyperplasia induced by oxyntic atrophy without altering gastrin levels.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	303(11)	G1254-61	2012
Sakai C, Tomitsuka E, <u>Esumi H</u> , et. al.	Mitochondrial fumarate reductase as a target of chemotherapy: from parasites to cancer cells.	Biochim Biophys Acta	1820(5)	643-51	2012
Inazuka F, Sugiyama N, Tomita M, <u>Esumi H</u> , et. al.	Muscle-specific knock-out of NUA family SNF1-like kinase 1 (NUAK1) prevents high fat diet-induced glucose intolerance.	J Biol Chem	287(20)	16379-89	2012

Magolan J, Adams NB, Onozuka H, <u>Esumi H</u> , et. al.	Synthesis and evaluation of anticancer natural product analogues based on angelmarin: targeting the tolerance towards nutrient deprivation.	ChemMedChem	7(5)	766-70	2012
Tomitsuka E, Kita K, <u>Esumi H</u>	An anticancer agent, pyrvinium pamoate inhibits the NADH-fumarate reductase system—a unique mitochondrial energy metabolism in tumour microenvironments.	J Biochem	152(2)	171-83	2012
Kawamoto Y, Tsuchihara K, Yoshino T, <u>Esumi H</u> , et. al.	KRAS mutations in primary tumours and post-FOLFOX metastatic lesions in cases of colorectal cancer.	Br J Cancer	107(2)	340-4	2012
Okusaka T, <u>Ikeda M</u> , Fukutomi A, Ioka T, et. al.	Phase II study of FOLFIRINOX for chemotherapy-naïve Japanese patients with metastatic pancreatic cancer.	Cancer Sci.	105	1321-6	2014
Sugimoto M, Mitsunaga S, Yoshikawa K, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Prognostic impact of M2 macrophages at neural invasion in patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas.	Eur J Cancer	50	1900-8	2014
Okusaka T, <u>Ikeda M</u> , Fukutomi A, Kobayashi Y, et. al.	Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Antitumor Activity of Ganitumab, an Investigational Fully Human Monoclonal Antibody to Insulin-like Growth Factor Type 1 Receptor, Combined with Gemcitabine as First-line Therapy in Patients with Metastatic Pancreatic Cancer: A Phase 1b Study.	Jpn J Clin Oncol	44	442-7	2014
Shinohara A, <u>Ikeda M</u> , Okuyama H, Kobayashi M, et. al.	Efficacy of Prophylactic Minocycline Treatment for Skin Toxicities Induced by Erlotinib Plus Gemcitabine in Patients with Advanced Pancreatic Cancer: A Retrospective Study.	Am J Clin Dermatol	in press	PMID: 25687689	2015



<u>Ikeda M</u> , Ioka T, Ito Y, Yonemoto N, et. al.	A Multicenter Phase II Trial of S-1 With Concurrent Radiation Therapy for Locally Advanced Pancreatic Cancer.	Int J Radiat Oncol Biol Phys.	85	163-169	2013
Ueno H, Ioka T, <u>Ikeda M</u> , Ohkawa S, et. al.	Randomized Phase III Study of Gemcitabine Plus S-1, S-1 Alone, or Gemcitabine Alone in Patients With Locally Advanced and Metastatic Pancreatic Cancer in Japan and Taiwan: GEST Study.	J Clin Oncol.	31	1640-8	2013
Mitsunaga S, <u>Ikeda M</u> , Shimizu S, Ohno I, et. al.	Serum levels of IL-6 and IL-18 can predict the efficacy of gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer	Br J Cancer	108	2063-9	2013
Otsuka T, Morizane C, Nara S, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Gemcitabine in Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm With an Associated Invasive Carcinoma of the Pancreas.	Pancreas	42	889-92	2013
Taniyama TK, Morizane C, Nakachi K, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Treatment outcome for systemic chemotherapy for recurrent pancreatic cancer after postoperative adjuvant chemotherapy.	Pancreatology	12(5)	428-33	2012
<u>Ikeda M</u> , Ioka T, Ito Y, Yonemoto N, et. al.	A multicenter phase I trial of S-1 with concurrent radiation therapy for locally advanced pancreatic cancer.	Int J Radiat Oncol Biol Phys	85(1)	163-9	2012
Imoto A, Mitsunaga S, Inagaki M, Aoyagi K, Sasaki H, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Neural invasion induces cachexia via astrocytic activation of neural route in pancreatic cancer.	Int J Cancer.	131(12)	2795-807	2012
Morizane C, Okusaka T, Ueno H, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Phase I/II study of gemcitabine as a fixed dose rate infusion and S-1 combination therapy (FGS) in gemcitabine-refractory pancreatic cancer patients.	Cancer Chemother Pharmacol	69(4)	957-64	2012

<u>Ueno H</u> , Ioka T, Ikeda M, et al	Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1, S-1 alone, or gemcitabine alone in patients with locally advanced and metastatic pancreatic cancer in Japan and Taiwan: GEST study.	J Clin Oncol	31	1640-8	2013
Kondo S, <u>Ueno H</u> , Hosoi H, et al	Clinical impact of pentraxin family expression on prognosis of pancreatic carcinoma	Br J Cancer	109	739-46	2013
Lin Y, Ueda J, Yagyu K, <u>Ishii H</u> , et. al.	Association between variations in the fat mass and obesity-associated gene and pancreatic cancer risk: a case-control study in Japan	BMC Cancer	13	337	2013
Matsuyama M, <u>Ishii H</u> , Kuraoka K, Yukisawa S, et. al.	Ultrasound-guided vs endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for pancreatic cancer diagnosis	World J Gastroenterol	19(15)	2368-73	2013
<u>Okusaka T</u> , Ueno M, Sato T, Heike Y	Possibility of immunotherapy for biliary tract cancer: how do we prove efficacy? Introduction to a current ongoing phase I and randomized phase II study to evaluate the efficacy and safety of adding Wilms tumor 1 peptide vaccine to gemcitabine and cisplatin for the treatment of advanced biliary tract cancer (WT-BT trial).	J Hepatobiliary Pancreat Sci	19(4)	314-8	2012
<u>Okusaka T</u> , Ueno H, <u>Ikeda M</u> , et. al.	Phase I study of TAC-101, an oral synthetic retinoid, in Japanese patients with advanced hepatocellular carcinoma.	Cancer Sci	103(8)	103(8)	2012

<u>Okusaka T</u> , Kasugai H, <u>Ishii H</u> , Kudo M, et. al.	A randomized phase II trial of intra-arterial chemotherapy using SM-11355 (Miriplatin) for hepatocellular carcinoma.	Invest New Drugs	30(5)	2015-25	2012
Morizane C, <u>Okusaka T</u> , Ueno H, Kondo S, Ikeda M, et. al.	Phase I/II study of gemcitabine as a fixed dose rate infusion and S-1 combination therapy (FGS) in gemcitabine-refractory pancreatic cancer patients.	Cancer Chemother Pharmacol	69(4)	957-64	2012
Kondo S, Ojima H, Tsuda H, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Clinical impact of c-Met expression and its gene amplification in hepatocellular carcinoma.	Int J Clin Oncol	18(2)	207-13	2012
Kondo S, Ueno H, Hashimoto J, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Circulating endothelial cells and other angiogenesis factors in pancreatic carcinoma patients receiving gemcitabine chemotherapy.	BMC Cancer	12	268	2012
Fukutomi A, Furuse J, <u>Okusaka T</u> , Miyazaki M, et. al.	Effect of biliary drainage on chemotherapy in patients with biliary tract cancer: an exploratory analysis of the BT22 study.	HPB (Oxford)	14(4)	221-7	2012
Morofuji N, Ojima H, Onaya H, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Macrophage-capping protein as a tissue biomarker for prediction of response to gemcitabine treatment and prognosis in cholangiocarcinoma.	J Proteomics	75(5)	1577-89	2012
Naganuma A, Mayahara H, Morizane C, <u>Okusaka T</u>	Successful control of intractable hypoglycemia using radiopharmaceutical therapy with strontium-89 in a case with malignant insulinoma and bone metastases.	Jpn J Clin Oncol	42(7)	640-5	2012
Egawa S, Tomah H, Ohigashi H, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Japan Pancreatic Cancer Registry; 30th Year Anniversary: Japan Pancreas Society.	Pancreas	41(7)	985-92	2012

Kido H, Morizane C, Tamura T, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Gemcitabine-induced pleuropericardial effusion in a patient with pancreatic cancer.	Jpn J Clin Oncol	42(9)	845-50	2012
Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators.	Nat Genet	44(7)	760-4	2012
Terashima T, Morizane C, Hiraoaka N, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Comparison of chemotherapeutic treatment outcomes of advanced extrapulmonary neuroendocrine carcinomas and advanced small-cell lung carcinoma.	Neuroendocrinology	96(4)	324-32	2012
Otsuka T, Morizane C, Nara S, Ueno H, <u>Okusaka T</u> , et. al.	Gemcitabine in patients with intraductal papillary mucinous neoplasm with an associated invasive carcinoma of the pancreas.	Pancreas	42(5)	889-92	2013
Ito T, <u>Okusaka T</u> , <u>Ikeda M</u> , Igarashi H, et. al.	Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumours: a subgroup analysis evaluating Japanese patients in the RADIANT-3 trial.	Jpn J Clin Oncol	42(10)	903-11	2012
Taniyama TK, Morizane C, <u>Ikeda M</u> , <u>Okusaka T</u> , et. al.	Treatment outcome for systemic chemotherapy for recurrent pancreatic cancer after postoperative adjuvant chemotherapy.	Pancreatology	12(5)	428-33	2012
Shiba S, Kondo S, <u>Ikeda M</u> , <u>Okusaka T</u> , et. al.	Hepatitis B Virus Reactivation during Treatment with Multi-Tyrosine Kinase Inhibitor for Hepatocellular Carcinoma.	Case Rep Oncol	5(3)	515-9	2012