

**厚生労働科学研究費補助金**

**難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（がん関係研究分野）**

**「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 Ⅲ 相試験による膵がん克服」  
に関する研究**

**平成 25 年度 総括・分担研究報告書**

**研究代表者 江角 浩安**

**平成 26（2014）年 5 月**

## 目 次

### ．総括研究報告

|                                              |   |
|----------------------------------------------|---|
| 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 相試験による膵がん克服 | 1 |
| 江角 浩安                                        |   |

### ．分担研究報告

|                        |    |
|------------------------|----|
| 1．臨床導入の統括とTRの実施及び統括    | 7  |
| 江角 浩安                  |    |
| 2．臨床試験の計画、解析・臨床試験実施支援  | 10 |
| 佐藤 暁洋                  |    |
| 試験統計デザイン・データ解析         |    |
| 野村 尚吾                  |    |
| 薬事業務                   |    |
| 渡邊 協孝                  |    |
| 3．臨床試験の実施              | 12 |
| 池田 公史                  |    |
| 上野 秀樹                  |    |
| 石井 浩                   |    |
| 4．TRの実施                | 14 |
| 三牧 幸代                  |    |
| 5．画像診断によるPOC取得と患者層別化   | 16 |
| 藤井 博史                  |    |
| 6．適応決定のためのスクリーニング技術の開発 | 19 |
| 佐竹 光夫                  |    |
| 7．PKとファーマコゲノミクスの実施     | 21 |
| 岸野 吏志                  |    |
| 8．病理学的検討               | 24 |
| 小嶋 基寛                  |    |

### ．研究成果の刊行に関する一覧表

### ．研究成果の刊行物・別刷

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Ⅰ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 症例登録を完了した。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。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。臨床第Ⅰ相試験の薬力学的解析の結果、アルクチゲニンは腸管吸収後速やかにグルクロン酸抱合されたが、ヒト組換え体 UGT を用いた解析から、UGT1A1 および 9 が主要な責任酵素であることが分かった。また、抱合に関する遺伝的多型の影響はあったとしてもまれでありこれが有害事象や効果規定因子になる可能性は低いと考えられた。再活性化する  $\beta$  グルクロニダーゼが規定因子になる可能性を検討中。アルクチゲニンのがん幹細胞様細胞に対する効果を利用した根治的化学療法開発のための POC 取得試験の為にプロトコル改訂を行い準備中である。

### 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東病院  |
| 野村尚吾 | 国立がん研究センター東病院  |
| 渡邊協孝 | 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東病院  |
| 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  |

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(特願 2010-505497)(PCT/JP2010/051701)及び追加特許出願(特願 2010-215118)を行った。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する。

### 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

### 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。膵がんに対しては手術療法だけが救命的治療法であるがその適応は膵がん患者の 2-30%程度である。しかし 5 年生存率は 20%程度である。放射線療法、薬物療法、ワクチン療法などの治療効果も限定的で、標準的薬物療法でも生存の延長はきわめて芳しくない。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同定した。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

ヨ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る。

平成 24 年度より薬事戦略相談を実施した上で医師主導治験を開始し、並行してトランスレーションリサーチを実施し平成 25-6 年までに終了する。

Phase I 部分は、ゲムシタビン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤「GBS01」の第 I 相試験を行い、GBS-01 の投与量規制毒性、有害事象を検討し、臨床第 II 相試験での推奨用量を決定することを目的とした。また、副次的に有効性も検討した。対象患者は、病理組織学的に診断された進行膵癌で、ゲムシタビン不応の患者を対象とした。GBS-01 は、レベルを 3 段階に設定し、各レベル 3 名の用量漸増試験を行った。レベル 1: 2 包(牛蒡子エキスとして 1.0g) / 回、レベル 2: 5 包(同 2.5g) / 回、レベル 3: 8 包(同 4.0g) / 回とし、GBS-01 を 1 日 1 回連日経口投与することとした。投与量規制毒性は GBS-01 投与後 28 日までの Grade 4 の血液毒性、Grade 3 以上の非血液毒性とした。有害事象は CTC AE ver 4.0、抗腫瘍効果は RECIST1.1 にて判定した。その結果、容量規定毒性は認められずレベル 2 において PR 症例、Long SD 症例も認められた。これらの結果から、至適投与量を 4 g と決定し Phase II ではこの投与量を採用することにした。

Phase II 部分は「ゲムシタビ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。

### (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。

## 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

### Phase II での薬力学的解析の結果

Phase I でのアルクチゲニン(AG)およびそのグルクロン酸抱合体(AGG)の血中濃度には患者間で顕著な差が認められた。第 II 相臨床試験における血中 AG、AGG 濃度の分布を図 1, 2 に、C<sub>min</sub>、C<sub>max</sub> の箱ひげ図を図 3, 4 に示す。GBS-01 は、服用後速やかに AG あるいは AGG として血漿中に検出されたが、第 II 相試験での結果と同様、血漿中 AG 濃度は患者間で異なる傾向が認められた。一方、血漿中 AGG 濃度は血漿中 AG 濃度ほど患者間での違いは認められなかった。

### グルクロン酸抱合に関する検討

グルクロン酸抱合を司る酵素は、UDP-グルクロン酸転位酵素(UGT)である。ヒトでは、19 種類のアイソザイムが知られているが、その構造から 3 群に分類されている。UGT1A, UGT2A, UGT2B であり、選択的エクソン利用によりさらに多様性が創り出され 19 種となっている。

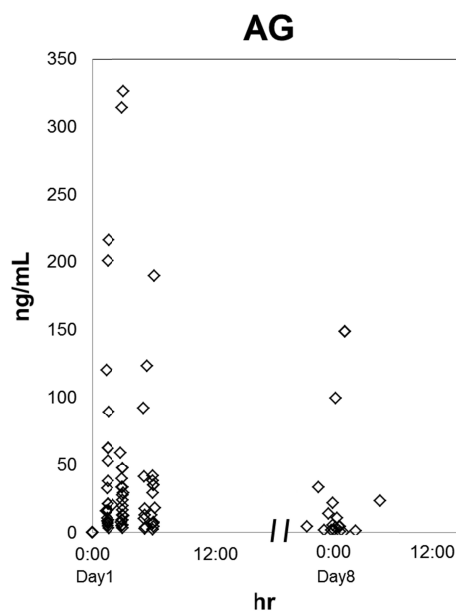


図1 第 相試験における血漿中 AG 濃度

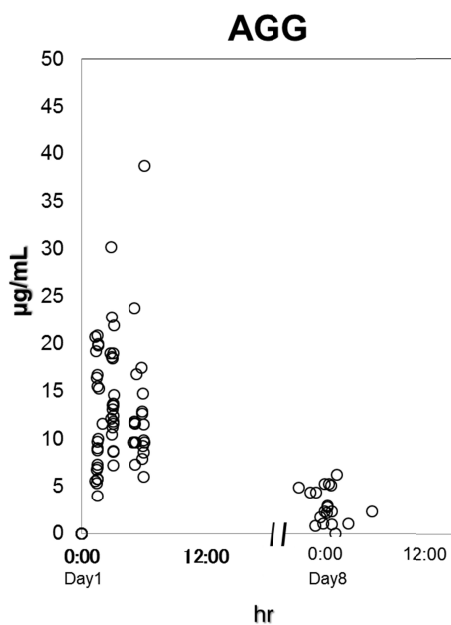


図2 第 相試験における血漿中 AGG 濃度

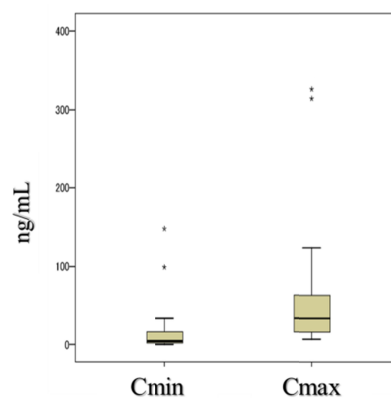


図3 第 相試験における血漿中 AG 濃度(Cmin、Cmax)

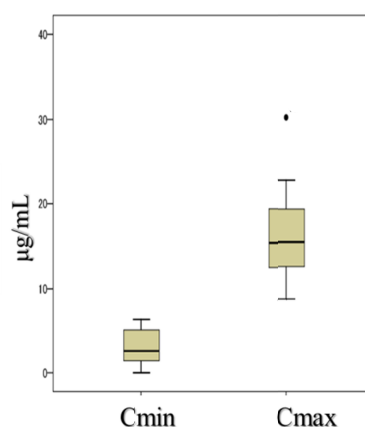


図4 第 相試験における血漿中 AGG 濃度(Cmin、Cmax)

各アイソザイムは発現している臓器細胞に特異性があることが知られている。今回の我々の研究結果から、アルクチゲニンは極めて速やかにグルクロン酸抱合されることが分かった。アルクチゲニンが消化管で吸収された後門脈で肝臓に運ばれると考えれば90%以上がFirst passでグルクロン酸抱合されていることになるし、ヒトによりややばらつきがあるとは言え、50%以上が尿中に回収されることを考えればグルクロン酸抱合された後胆汁中だけでなく血中にも流れ出ると考えられる。また、腸肝循環が存在する可能性もPhase IでのPK解析の結果から示唆される。しかし、血中のAGG濃度がAGの濃度の100倍近くあることを考えれば、大部分のAGGは吸収された消化管か肝臓で作られると考えるのが合理的である。

そこでヒト小腸と肝臓のミクロゾーム分画を用いて試験管内グルクロン酸抱合活性を調べた。その結果、両ミクロゾームにも強い活性が存在することが分かった。さらにどのアイソザイムが活性を担っているのかを明らかにするために、既にクローニングされバキュロウイルス発現系でカイコ細胞に発現された13種類の組換え体を用い活性

を検討した。

その結果、UGT1A1, 1A3, 1A7, 1A9, 2B7, 2B15, 2B17 に活性が認められた。1A のアイソザイムは、タンパク質あたりの活性を計算が可能であるのでこれを検討すると、1A9 が他のアイソザイムに比し極めて高い活性を持っていることが分かった。1A9 は文献によれば、肝臓、腎、大腸に発現していることが知られている。我々の初歩的組織発現の検討では小腸で発現している可能性もある。1A1 は肝臓で発現し、ビリルビンの抱合を担う主要なアイソザイムである。肝臓における存在量は極めて多いと考えられるので、アルクチゲニンが肝臓に到達した場合には大きな働きをすると考えられるが、この酵素は、肝臓以外でも胃や大腸でも発現することが知られている。2B7 は小腸での発現が報告されており或いは消化管での抱合に大きな働きをしているかもしれない。いずれにしろ今一層の解析が必要である。

以上の結果から、小腸でも、胃でも吸収されればグルクロン酸抱合されることが分かった。勿論門脈から肝臓に到達した場合にはいろいろなアイソザイムにより縫合されることが明らかになった。この事は、遺伝的にアルクチゲニンを極めて抱合しにくい個体が存在する可能性は極めて低いことを示唆するが、なぜ Phase I では、AGG の血中濃度の大きな差が観察されたのかを説明できない。むしろ、AGG のクリアランスの差が血中濃度の差を生んでいる可能性を考えるべきかもしれない。

### GBS-01 投与と血中乳酸

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 を阻害することが分かったが、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 PK 試験の残余献体を用いて検討した。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、乳酸を測定した。その結果、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

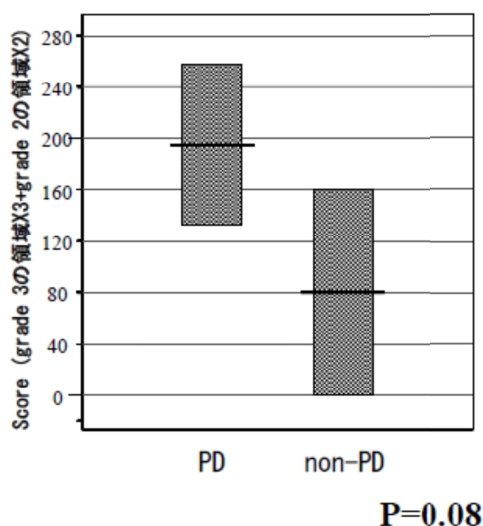
果、Cmax でも、AUC でも、AG との相関は見られなかった。AGG との相関も見られなかった。これらのことは、AG が活性体であるが、どこでグルクロン酸抱合されているのかという問題と、乳酸の上昇はどの臓器或いは細胞で起こっているのかの問題に直接つながる重要な情報である。また、AGG として血中では大部分が存在するが、腫瘍でどのような決定因子で効果が決まるのかという点に関しても重要な示唆を与える。AGG を再活性化する  $\beta$  グルクロニダーゼは炎症や腫瘍で強く発現されるという報告がある。そこで以下の検討を行った。

### Phase I 部分の組織検体を用いた $\beta$ グルクロニダーゼの検討

臨床の有効性は PD 群とそれ以外 (non-PD 群) の二群に分けて検討を行った。両群間で progression free survival に有意な差を認めたが、性別、年齢、over-all survival、腫瘍部位、組織分化度、腫瘍最大径、胆管浸潤など腫瘍進展度との相関を認めなかった。実験的に観察される上皮間葉系移行との関連性が報告されている budding や低分化胞巣の検討も行ったが、両群間に差を認めなかった。

免疫組織学的な検討としては、 $\beta$ -グルクロニダーゼ発現は PD 群、non-PD 群の間に差を認めなかった。GRP78 においては non-PD 群の発現スコアが平均 80.0、PD 群の発現スコアが平均 195 であり、統計学的な有意差は示されなかったが ( $P=0.08$ )、non-PD 群で低い傾向があった(下図)。

### GRP78 発現スコア



## 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、プロトコー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、プロトコー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。

## アルクチゲニンのがん幹細胞様細胞に対する効果

がん幹細胞に対するアルクチゲニンの効果を検討した。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に照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ては特に生体内では強い効果を示すのではないかと考えてきた。そこでヒト膵がん細胞株 PANC 1 細胞を低グルコース条件にし、CD24, CD44, ESA 陽性細胞への影響をゲムシタピンと比較した。低グルコース条件でグルコース存在条件より約 1.5 倍に増加するが、ゲムシタピンでは減少しなかった。しかしアルクチゲニンではこの割合が約 5 分の一へと減少した。スフェロイド形成を MIAPPaCa2 細胞で検討すると、アルクチゲニンは顕著な抑制をし  $6\mu\text{M}$  でほぼ完全に抑制した。また、Oct3/4, Nanog, SOX2 の

発現を検討すると、 $1\text{--}2\mu\text{M}$  でほぼ完全に抑制した。これらの結果より生体内でもがん幹細胞様細胞を抑制する可能性が高いと考え、ヌードマウスに MiaPaCa2 細胞を移植した後 5 週間アルクチゲニン投与の後、腫瘍を取り出しがん幹細胞様細胞の比率をゲムシタピン処理群と比較した。CD24+, CD44+, ESA+, 細胞の割合を PI-, H-2 k d- 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、ゲムシタピン単剤投与、アルクチゲニン単剤およびアルクチゲニンとゲムシタピン併用投与の場合の比較をした。その結果、無処置腫瘍では、前者の検出法では 1.8% であったものがゲムシタピンでは 2.5% に、アルクチゲニン単剤で、1.5% 併用で 0.6% に減少した。後者の検出法では、無処置が、2.3%、ゲムシタピン単剤が、3.5% アルクチゲニン単剤で 1.7%、併用で 0.7% と併用群で特に顕著な現象を観察した。抗腫瘍効果でも、併用では特に顕著な効果があることは昨年度から各種のモデルで繰り返し確認している。

## 症例選択に役立つ画像やバイオマーカーの検討

低酸素のイメージングや、CT を用いたパフォーマンスの画像化など将来の臨床婦用に関して検討を続けている。また、現在までの集積したフォルマリン固定パラフィンブロックの組織標本で十分な遺伝子解析ができるか否かの検討と、技術的諸問題につき次世代シーケンサーを用いて検討し、ほぼ 10 年以内の多くの資料で解析可能であることを確認した。

## D. 考察

PhaseI 部分での結果より、栄養飢餓耐性を標的とした GBS-01 は第 I 相試験の結果、レベル 3(牛蒡子エキスとして 4.0g)の忍容性が確認され、推奨用量は牛蒡子エキスとして 4.0g と判断された。また、第 I 相試験で PR 例も認められており、有効性も確認された。そこで、第 II 相試験では推奨容量 4.0 g で投与することを決定した。第 II 相の医師主導治験は症例登録が極めて順調で予定よりも早く症例登録を終えることができた。重篤な有害事象も 1 例では薬剤との関連を否定できなかったが、概ね第 I 相での結果と同じく高い忍容性を確認できた。臨床効果に関しては現在集計中である。

薬力学的解析に関しては、GBS-01 第 I 相臨床試験においては、患者間のアルクチゲニン濃度および、そのグルクロン酸抱合体の血中濃度に比較的に顕著なばらつきが認められたが、第 II 相部分ではばらつきは少なかった。その原因および、どの臓器でグルクロン酸抱合を受けるのか、その場合には 95%位を占める AGG が効果を示すのは  $\beta$  グルク

ロニダーゼの活性に依存するのかなどの解決すべきことは残っているが、極めて速やかなグルクロン酸抱合が安全性の根拠の1つであることは明らかにできた。

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。

今後、がん幹細胞様細胞の減少を指標とした拡大第II相試験を追加することにより併用療法開発や、次の段階へのステップアップに必要なPOCを取得することは極めて意義深い。倫理審査委員会の承認後できるだけ速やかに開始をする予定である。

## E. 結論

Phase Iの結果から、GBS-01はゲムシタビ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。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。

## F. 健康危険情報

なし

## 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. 特許取得

#### 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

池田 公史

抗癌幹細胞剤（申請中）

小嶋基寛

特願 2013 - 252528

膵癌血清診断マーカー

特願 2014 - 015878

胆道癌血清マーカー

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



フェーズⅠで明らかになった AG のグルクロン酸抱合は、腸管や肝臓に発現する UGT1A1, 3, 9, や UGT2B7 によって起こる事が明らかになった。培養ヒト膵がん細胞や、ヌードマウスのゼノグラフトで、アルクチゲニンはがん幹細胞様細胞に対して強い効果を示し、ゲムシタピンでは減少しないこれらの細胞を効率よく減少させること、ゲムシタピンとの併用で血により効率よく減少させることが分かった。がん根治を目指す治療レジメン開発の根拠となる。アルクチゲニンの投与による血中乳酸濃度への影響を明らかにした。

## A. 研究目的

アルクチゲニンの作用点を明らかにすることおよび薬動学的マーカーの開発、および新しい開発レジメン開発の根拠となるメカニズムの解明を目的とする。

## B. 研究方法

臨床第Ⅰ/Ⅱ相試験の残余検体、第Ⅱ相試験の検体などを用いたバイオマーカーの開発。培養ヒト膵がん細胞を用いた作用メカニズムの研究と、がん幹細胞様細胞への効果の検討ではゼノグラフトモデルを用い単クローン抗体を用いた FACS による解析にて幹細胞様細胞への影響を解析する。

### （倫理面への配慮）

臨床検体を用いた研究は全て倫理審査委員会に申請し承認を得た後に行った。個人情報の扱いに関してはプロトコルどおり。実験動物を用いた研究は、国立がん研究センター動物倫理審査委員会の承認の下に研究を行った。

## C. 研究結果

### グルクロン酸抱合に関する検討

グルクロン酸抱合を司る酵素は、UDP-グルクロン酸転位酵素（UGT）である。ヒトでは、19 種類のアイソザイムが知られているが、その構造から 3 群に分類されている。UGT1A, UGT2A, UGT2B であり、選択的エクソン利用によりさらに多様性が創り出され 19 種となっている。各アイソザイムは発現している臓器細胞に特異性があることが知られている。今回の我々の研究結果から、アルクチゲニンは極めて速やかにグルクロン酸抱合されることが分かった。アルクチゲニンが消化管で吸収された後門脈で肝臓に運ばれると考えれば 90% 以上が First pass でグルクロン酸抱合されているこ

とになるし、ヒトによりややばらつきがあるとは言え、50% 以上が尿中に回収されることを考えればグルクロン酸抱合された後胆汁中だけでなく血中にも流れ出ると考えられる。また、腸肝循環が存在する可能性も PhaseⅠでの PK 解析の結果から示唆される。しかし、血中の AGG 濃度が AG の濃度の 100 倍近くあることを考えれば、大部分の AGG は吸収された消化管が肝臓で作られると考えるのが合理的である。

そこでヒト小腸と肝臓のミクロゾーム分画を用いて試験管内グルクロン酸抱合活性を調べた。その結果、両ミクロゾームにも強い活性が存在することが分かった。さらにどのアイソザイムが活性を担っているのかを明らかにするために、既にクローニングされバキュロウイルス発現系でカイコ細胞に発現された 13 種類の組換え体を用い活性を検討した。

その結果、UGT1A1, 1A3, 1A7, 1A9, 2B7, 2B15, 2B17 に活性が認められた。1A のアイソザイムは、タンパク質あたりの活性を計算が可能であるのでこれを検討すると、1A9 が他のアイソザイムに比し極めて高い活性を持っていることが分かった。

1A9 は文献によれば、肝臓、腎、大腸に発現していることが知られている。我々の初歩的組織発現の検討では小腸で発現している可能性もある。1A1 は肝臓で発現し、ビリルビンの抱合を担う主要なアイソザイムである。肝臓における存在量は極めて多いと考えられるので、アルクチゲニンが肝臓に到達した場合には大きな働きをすると考えられるが、この酵素は、肝臓以外でも胃や大腸でも発現することが知られている。2B7 は小腸での発現が報告されており或いは消化管での抱合に大きな働きをしているかもしれない。いずれにしろ今一層の解析が必要である。

以上の結果から、小腸でも、胃でも吸収されればグルクロン酸抱合されることが分かった。勿論門脈から肝臓に到達した場合にはいろいろなアイソザイムにより縫合されることが明らかになった。この事は、遺伝的にアルクチゲニンを極めて抱合しにくい個体が存在する可能性は極めて低いことを示唆するが、なぜ Phase I では、AGG の血中濃度の大きな差が観察されたのかを説明できない。むしろ、AGG のクリアランスの差が血中濃度の差を生んでいる可能性を考えるべきかもしれない。

### GBS-01 投与と血中乳酸

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 を阻害することが分かったが、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 PK 試験の残余献体を用いて検討した。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、乳酸を測定した。その結果、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で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。また、AGG として血中では大部分が存在するが、腫瘍でどのような決定因子で効果が決まるのかという点に関しても重要な示唆を与える。AGG を再活性化する  $\beta$  グルクロニダーゼは炎症や腫瘍で強く発現されるという報告がある。

### アルクチゲニンのがん幹細胞様細胞に対する効果

がん幹細胞に対するアルクチゲニンの効果を検討した。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

果を指標に照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ては特に生体内では強い効果を示すのではないかと考えてきた。そこでヒト膵がん細胞株 PANC 1 細胞を低グルコース条件にし、CD24, CD44, ESA 陽性細胞への影響をゲムシタピンと比較した。低グルコース条件でグルコース存在条件より約 1.5 倍に増加するが、ゲムシタピンでは減少しなかった。しかしアルクチゲニンではこの割合が約 5 分の 1 へと減少した。スフェロイド形成を MIAPPaCa2 細胞で検討すると、アルクチゲニンは顕著に抑制をし 6  $\mu$ M でほぼ完全に抑制した。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。これらの結果より生体内でもがん幹細胞様細胞を抑制する可能性が高いと考え、ヌードマウスに MiaPaCa2 細胞を移植した後 5 週間アルクチゲニン投与の後、腫瘍を取り出しがん幹細胞様細胞の比率をゲムシタピン処理群と比較した。CD24+, CD44+, ESA+, 細胞の割合を PI-, H-2 k d- 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、ゲムシタピン単剤投与、アルクチゲニン単剤およびアルクチゲニンとゲムシタピン併用投与の場合の比較をした。その結果、無処置腫瘍では、前者の検出法では 1.8% であったものがゲムシタピンでは 2.5% に、アルクチゲニン単剤で、1.5% 併用で 0.6% に減少した。後者の検出法では、無処置が、2.3%、ゲムシタピン単剤が、3.5% アルクチゲニン単剤で 1.7%、併用で 0.7% と併用群で特に顕著な現象を観察した。抗腫瘍効果でも、併用では特に顕著な効果があることは昨年度から各種のモデルで繰り返し確認している。

### D. 考察

アルクチゲニンの体内代謝を規定する、グルクロン酸抱合に関し生体内での大きな規定因子を同定した。この結果は、アルクチゲニンの安全性と、効果規定因子の解明に大きな一歩となる。

がん幹細胞様細胞に対する培養条件および動物個体での効果が確認できたことは、今後のアルクチゲニン臨床開発の大きな曲がり角となる。奇しくもミトコンドリア複合体 I の阻害効果をもつ、2 型糖尿病の治療薬メトフォルミンが世界的に大変に注目されている。がん発生に対する抑制効果、がん治療効果、特にがん幹細胞様細胞に対する抑制効果である。これらの効果はアルクチゲニンと全く同じである。アルクチゲニンは生薬であるが故の安全性がある。その生化学的根拠は今回明らかにしたグルクロン酸抱合であるが、これがあることによりよい安全な薬剤として今後の開発が大いに期待される。

### E. 結論

アルクチゲニンの臨床的有効性、安全性の根拠を明らかにした。今後の臨床開発への大きな一歩となった。

**F. 健康危険情報**

(総括研究報告書に記載)

**G. 研究発表**

1. 論文発表

(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**

(予定を含む。)

1. 特許取得

特願 2014 - 080895 抗癌剤および副作用軽減剤

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

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 相試験による膵がん克服

臨床試験の計画、解析・臨床試験実施支援

研究分担者 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 臨床試験支援室

試験統計デザイン・データ解析

研究分担者 野村尚吾 国立がん研究センター 生物統計部門

薬事業務

研究分担者 渡邊協孝 国立がん研究センター東病院 治験事務局

**研究要旨**

「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 相試」に関して、国立がん研究センター臨床試験支援室によるデータセンター/モニタリング/治験調整事務局の支援（佐藤）、生物統計家による試験デザイン・症例数設計（野村）、薬事専門家による薬事戦略立案、薬事戦略相談の支援（渡邊）を行い、当該試験を開始し当初の予定登録を達成した。モニタリング・治験調整事務局業務・データマネジメント・CRC 業務・監査・総括報告書の作成なども問題なく実施されている。

**A. 研究目的**

「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 相試」に関して、臨床試験の計画、試験統計デザイン、開発薬事戦略の立案及び薬事戦略相談の実施、および臨床試験の実施支援を行う。

**B. 研究方法**

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 早期・探索臨床研究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。

**（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。

**C. 研究結果**

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、プロトコー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、プロトコー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**

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、登録開始から 8 ヶ月で予定登録数の登録を達成した。また、モニタリング・データマネジメント・CRC 業務を臨床試験支援室が実施し、監査・総括報告書の作成については外注先が担当しているが、いずれの業務も大きな問題なく順調に業務が遂行されている。

## **E. 結論**

臨床試験の支援部門（佐藤）および生物統計家（野村）、薬事専門家（渡邊）の支援によって、アカデミア発の医師主導治験を円滑かつ効率的に準備し、平成 25 年度は登録を開始し当初予定された登録を終了した。医師主導治験としての管理・運営に関しても臨床試験の方法論および関連法規に則った倫理的・科学的に実施されている。

今後、プロトコール改訂を行い、症例を追加する予定であるが、来年度も引き続き支援を実施する。

## **F. 健康危険情報**

（総括研究報告書に記載）

## **G. 研究発表**

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

## **H. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

分担研究報告書

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

臨床試験の実施

研究分担者 池田 公史 国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科

研究分担者 上野 秀樹 国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科

研究分担者 石井 浩 公益財団法人がん研究会有明病院 消化器内科

**研究要旨**

ゲムシタピン不応の進行膵癌患者を対象として、アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤 GBS-01 の第Ⅰ相試験を行い、GBS-01 4.0g が推奨用量となった。また、GBS-01 の忍容性は良好で 1 名に部分奏効も認め、有効性が期待できる結果であった。したがって、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て、GBS-01 の有効性と安全性を検討するために GBS-01 の多施設共同の前期第Ⅱ相試験を医師主導治験として行った。2013/03/11 から登録を開始し、2013/11/05 までに 39 例の登録を終了した。本試験の結果を勘案して、今後の開発方針を検討する予定である。

**A. 研究目的**

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に対する GBS-01 の有効性と安全性を探索的に評価する。

Primary endpoint : 8 週の病勢制御割合

Secondary endpoints : 有害事象、奏効割合、無増悪生存期間、全生存期間、薬物動態学的パラメータ

**B. 研究方法**

病理組織学的に診断された進行膵癌で、ゲムシタピンとフッ化ピリミジン系抗癌剤を含む全身化学療法が行われ、両剤に不応と判断された患者を対象とした。GBS-01 は 1 日 1 回朝食食間（食後 2 時間）に 1 回 2 包（牛蒡子エキスとして 4.0 g）を連日経口投与した。有害事象は CTC AE ver 4.0、抗腫瘍効果は RECIST1.1 にて判定した。

本試験は、医師主導治験として行った。

**（倫理面への配慮）**

本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針に従って本試験を実施する。個人情報および診療情報等のプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。

**C. 研究結果**

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。

2013/01/17 初回治験届を提出し、2013/03/11 から登録を開始した。2013/11/05 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ある有害事象は脳梗塞の 1 例のみであった。

**D. 考察**

アルクチゲニンを多く含む牛蒡子エキス製剤である GBS-01 は低酸素、低栄養条件下で抗腫瘍活性を呈する薬剤として、開発された。最近の研究で、アルクチゲニンは Mitochondrial complex I を阻害することが判明した。また、がん幹細胞様細胞に対する効果も確認され、アルクチゲニンによる抗腫瘍活性の機序も徐々に明らかにされており、本臨床試験でも良好な結果が期待できるものと考えている。

**E. 結論**

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て、GBS-01 の有効性と安全性を検討するために GBS-01 の

多施設共同の前期第 II 相試験を医師主導試験として行った。本試験の結果を勘案して、今後の開発方針を検討する予定である。

#### F. 健康危険情報

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

(総括研究報告書に記載)

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
(研究の刊行に関する一覧表に記載)
2. 学会発表
1. Ikeda M, Sato A, Mochizuki N, Toyosaki K, Miyoshi C, Fujioka R, Mitsunaga S, Shimizu S, Ohno I, Takahashi H, Okuyama H, Hasegawa H, Nomura S, Ohkubo T, Yomoda S, Kishino S, Esumi H. A Phase trial of GBS-01 for advanced pancreatic cancer refractory to gemcitabine. ASCO Annual Meeting 2013. May31-June04,2013. Chicago, IL, U.S.A. (Abstract 2559)
2. 池田公史、佐藤暁洋、望月伸夫、豊崎佳代、三好千夏、光永修一、清水怜、長谷川裕美、野村尚吾、大窪敏樹、与茂田敏、岸野史志、江角浩安. ゲムシタピン不応/不耐の膵癌患者に対する GBS-01 の第 相臨床試験 第 72 回日本癌学会学術総会 2013/10/05 横浜市

第 72 回日本癌学会学術総会 Program 誌 pp34,2013.

3. 池田公史、佐藤暁洋、望月伸夫、豊崎佳代、三好千香、光永修一、清水怜、長谷川裕美、野村尚吾、大窪敏樹、与茂田敏、岸野史志、江角浩安. ゲムシタピンに不応の膵癌患者に対する GBS-01 の第 相臨床試験 第 51 回日本癌治療学会学術集会 2013/10/24 京都市 日本癌治療学会誌 48 ( 1 ) : pp983,2013.
4. Ikeda M, Sato A, Mochizuki N, Toyosaki K, Miyoshi C, Fujioka R, Mitsunaga S, Shimizu S, Ohno I, Takahashi H, Okuyama H, Hasegawa H, Nomura S, Ohkubo T, Yomoda S, Kishino S, Esumi H. A Phase I trial of GBS-01 for Advanced Pancreatic Cancer Refractory to Gemcitabine. The 18<sup>th</sup> JFCR-ISCC (第 18 回がん研究会－国際がん化学療法シンポジウム) 2013/12/4 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
アルクチゲニンの製法特許を取得。  
抗癌幹細胞剤としての特許も申請。
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



## 研究要旨

アルクチゲニン臨床試験において収集される治療前後の膵がん生検材料を用いた超並列シーケンスによる網羅的遺伝子変異解析の高成功率、高効率な技術の開発を行った。ホルマリン固定を行った手術、生検組織検体から抽出したゲノム DNA を用い、シーケンス施行前のサンプル調整工程において、至適な DNA 増幅条件の探索を行い、DNA の品質との関連を検討した。多様な質のホルマリン固定検体において、DNA の品質を指標とした、高成功率、高効率の全エクソンシーケンス法を確立できた。

## A. 研究目的

アルクチゲニン臨床試験において収集される治療前後の膵がん生検材料を用いた網羅的遺伝子変異解析を高成功率、高効率に行う技術の開発

## B. 研究方法

手術、生検ホルマリン固定組織からゲノム DNA を抽出し、総 DNA 量、二本鎖 DNA 量、定量 PCR による DNA の品質評価を行った。アジレント社 SureSelect Human All Exon キットによるエクソン領域の濃縮工程において、DNA の高成功、高効率増幅条件の探索を行い、上記の DNA 品質指標との関連を検討した。そののちに、イルミナ社 HiSeq2000 システムによる超並列シーケンスを行い、平均カバレッジを算出し、シーケンスの質の評価を行った。

### （倫理面への配慮）

ゲノム DNA のシーケンス解析はヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に則り、国立がん研究センター倫理審査委員会の承認を得て行った。（2011-137）

## C. 研究結果

結腸直腸癌の手術切除、生検ホルマリン固定標本 173 検体から 10 μm 厚薄切切片 10-20 枚の組織を剔出し DNA を抽出したところ、平均 44.4 μg の総 DNA、5.2 μg の二本鎖 DNA が回収された。二本鎖 DNA 含有率は平均 11.0±4.4%であり、末梢血単核球及び細胞株由来 DNA の二本鎖 DNA 含有率（平均 96.4±3.3%；n=28）と比して明らかな DNA 品質の低下が認められた。エクソン領域濃縮工程の PCR 成功率はこの二本鎖 DNA 含有率に依存し、完全長 DNA で推奨されている 3 μg の二本鎖 DNA よりも減じた 1 μg での調整開始が高成功率であることがわかった。二本鎖 DNA 含有率 10%未満の検体においてはさらに減じた 500ng での開始が

適していることがわかった。また、定量 PCR による増幅効率の評価では、完全長 DNA との  $C_p$  値の差は平均  $-1.9 \pm 1.3$  であり、増幅効率の低下と、検体間でのばらつきが認められた。そのため、一律の PCR サイクル数の設定は難しく、初回 PCR 増幅産物の定量評価後、必要に応じた追加 PCR の施行が高効率であることがわかった。この手法により 173 検体中 152 検体（88%）において平均カバレッジ 50 以上の高質の全エクソンシーケンスデータが得られた。

## D. 考察

生検で得られるような微量のホルマリン固定組織を用いた全エクソン解析においては、特に高成功率の解析が要求される。今回の検討で、多様な質のホルマリン固定組織においても、高成功率、高効率のエクソンシーケンスが可能であることが明らかとなった。

## E. 結論

アルクチゲニン臨床試験における膵がん生検組織材料による網羅的体細胞変異解析の高成功率、高効率技術基盤が確立した。

## F. 健康危険情報

（総括研究報告書に記載）

## G. 研究発表

1.論文発表  
なし

2.学会発表

日本癌学会学術総会（2013）

J-2073 ホルマリン固定標本由来 DNA を用いた全エクソン解析

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特記なし

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 Ⅲ 相試験による膵がん克服  
画像診断による POC 取得と患者層別化

研究分担者 藤井 博史 国立がん研究センター東病院・機能診断開発分野・分野長

## 研究要旨

アルクチゲニンに対する感受性の予測やアルクチゲニンの作用機序の検証のために有用と考えられる分子プローブの開発を行った。

アルクチゲニンに対する感受性の予測のために、がん低酸素環境の存在を *in vivo* で可視化できる分子プローブの開発を、<sup>99m</sup>Tc 標識 SPECT プローブを中心に進めた。その結果、前年までに開発したものよりも、優れた血中安定性を示し、高い血液腫瘍比を示す新規 <sup>99m</sup>Tc 標識 SPECT プローブ(SD-128)を得た。担癌マウスを用いた *in vivo* SPECT イメージングにより、SD-128 の不均一な腫瘍内集積を確認することができた。さらに、オートラジオグラフィおよびピモダゾール染色により、SD-128 が腫瘍内低酸素領域に親和性を示していることが示された。

アルクチゲニンの作用機序の解明のために、アルクチゲニン分子の一部を修飾した分子の合成を行った。アルクチゲニンの抗腫瘍効果に関連すると考えられる水酸基の付近の構造を修飾した化合物を複数合成した。今後、これらの化合物を用いたアルクチゲニンの作用機序の解明が期待される。

## A. 研究目的

アルクチゲニン治療に対する感受性を評価するために、前年度に引き続き、腫瘍内低酸素領域を *in vivo* で可視化するための分子プローブの開発、特に、汎用性の高い SPECT 核種 <sup>99m</sup>Tc で標識した分子プローブの開発を進め、*in vivo* イメージングを試みた。また、アルクチゲニンの抗腫瘍効果の機序 (POC) を解明するために、アルクチゲニン分子の一部を修飾した分子の合成を行った。

## B. 研究方法

### 1. <sup>99m</sup>Tc 標識低酸素イメージング SPECT プローブの開発

これまで開発してきた SPECT 用 <sup>99m</sup>Tc 標識低酸素イメージングプローブの改良を進め、腫瘍内低酸素環境の *in vivo* イメージングに適した体内動態を示す新規分子プローブの開発に取り組んだ。

プローブの分子設計は、これまで通り、低酸素環境で亢進している還元代謝活性により分解され、脱離基が脂溶性を失い細胞内に停滞するようにした。そして、細胞内に停滞する脱離基部分を <sup>99m</sup>Tc で標識した。

この分子設計に基づいて複数の分子プローブを作成し、低酸素環境下の腫瘍細胞に対して良好な集積性を示し、さらに *in vivo* イメージングに適した体内動態を示す化合物を選択した。

それらを担がんマウスに投与し、*in vivo* イメージングを行い、腫瘍集積性を評価した。また、集積が認められた分子プローブについては、オート

ラジオグラフィおよびピモダゾール染色により、分子プローブが腫瘍内低酸素領域に親和性を示していることを確認した。

### 2. アルクチゲニンの抗腫瘍効果の機序解明のための修飾化合物の合成

アルクチゲニンの抗癌剤としての作用機序を解明するために、アルクチゲニンの抗腫瘍効果に関連している可能性がある OH 基 (図 1) およびその周囲構造を修飾した化合物を複数合成した。

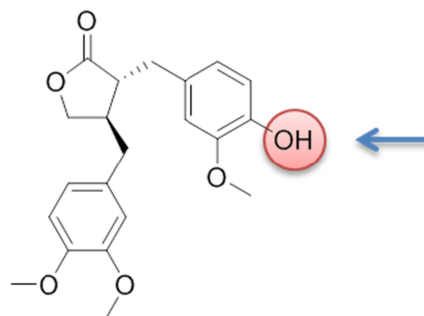


図 1 アルクチゲニンの分子構造

### (倫理面への配慮)

動物を対象とした実験的研究は、国立がん研究センター動物実験倫理委員会の承認を受けて実施した。

## C. 研究結果

### 1. $^{99m}\text{Tc}$ 標識低酸素イメージング SPECT プローブの開発

低酸素環境下の過還元状態において、4-nitrobenzyl 基が還元・脱離し、その結果、水溶性でかつ負電荷をもつ化合物が生じるような化合物を12種類作成して、その体内動態を検討した結果、10種類が血清とのインキュベーションで1時間以上安定であることを確認した。

これらの化合物の体内動態を評価したところ、SD-128 (図 2) が最も良好な腫瘍血液比を示した。

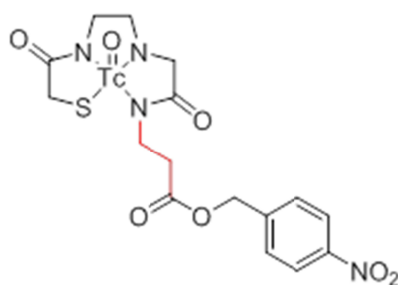


図 2 SD-128 の分子構造

EMT6 腫瘍を移植した Balb/c マウスに SD-128 を投与して SPECT 撮像を行ったところ、SD-128 が腫瘍部に不均一に分布していることが確認できた (図 3)。

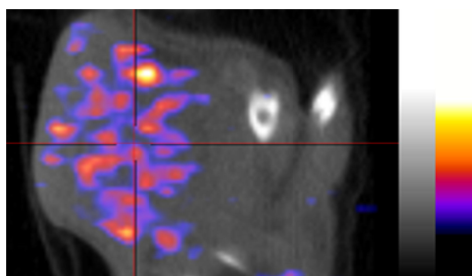


図 3 SD-128 を投与した EMT6 移植腫瘍の SPECT/CT 画像

SD-128 を投与した EMT6 腫瘍のオートラジオグラフィ画像とピモニダゾール染色の所見の比較から、SD-128 が腫瘍内低酸素領域に親和性を示していることが示唆された (図 4 a, b)。

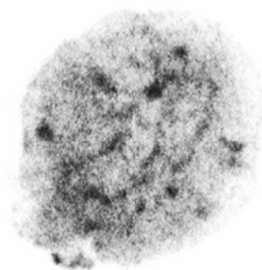


図 4a SD-128 を投与した EMT6 移植腫瘍のオートラジオグラフィ

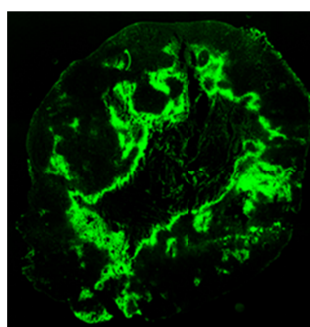


図 4b SD-128 を投与した EMT6 移植腫瘍のピモニダゾール染色

SD-128 化合物を含めて、我々が開発した  $^{99m}\text{Tc}$  標識低酸素イメージング SPECT プローブに関して特許出願を行った。

### 2. アルクチゲニンの抗腫瘍効果の機序解明のための修飾化合物の合成

研究方法の項に示したアルクチゲニンの抗腫瘍効果に関連している可能性がある OH 基およびその周囲構造を修飾するプローブとして以下のような化合物を合成した (図 5~8)。

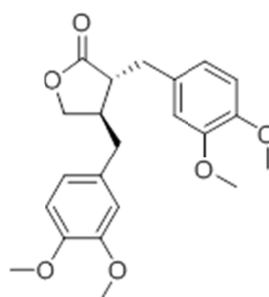


図 5 SD-95

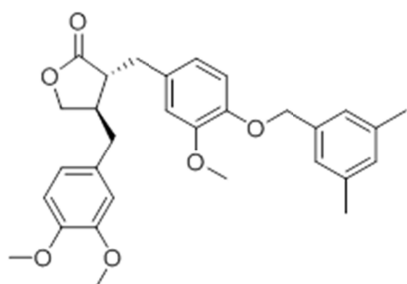


図 6 SD-96

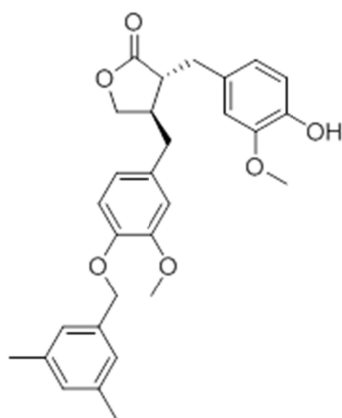


図 7 SD-102

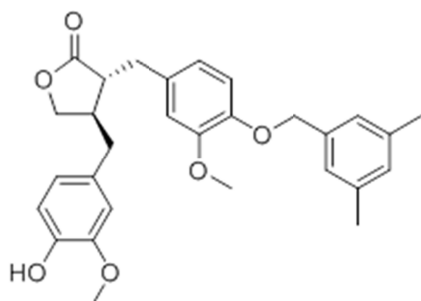


図 8 SD-103

## D. 考察

### 1. $^{99m}\text{Tc}$ 標識低酸素イメージング SPECT プロープの開発

今回、開発した  $^{99m}\text{Tc}$  標識低酸素イメージング SPECT プロープ SD-128 は、血中安定性や腫瘍移行性に優れ、担癌マウスを用いた検討では、その腫瘍内分布を SPECT で *in vivo* イメージングすることができたため、臨床応用が期待できる。今後、小動物用 SPECT 装置よりも感度が劣る臨床用 SPECT 装置でのイメージングに耐えうるか等の検討を行っていく必要がある。

### 2. アルクチゲニンの抗腫瘍効果の機序解明のための修飾化合物の合成

アルクチゲニンの抗腫瘍効果の発現に関係すると考えられる水酸基およびその周囲構造を修飾し

た複数の化合物を合成することができたため、これらの化合物の抗腫瘍効果を評価することにより、アルクチゲニンの抗腫瘍効果の機序の解明に役立てることが期待できる。

## E. 結論

アルクチゲニンに対する感受性の予測に有用性が期待できる  $^{99m}\text{Tc}$  標識低酸素イメージング SPECT プロープ SD-128 を合成した。今後、臨床応用を視野に入れて検討を進めていく予定である。また、アルクチゲニンの作用機序の検証に有用と考えられる複数のアルクチゲニンを修飾した化合物を合成した。今後、これらの化合物を、アルクチゲニンの作用機序の検証に応用していく予定である。

## F. 健康危険情報

該当無し

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

### 2. 学会発表

1) Kimura S, Fujii H, et al: A novel tumor hypoxia PET probe, 18F-FPINI, with high selectivity and rapid background clearance. Kimura S, Kuriyama T, Kojima Y, Umeda IO, Fujii H, SNMMI 2013 Annual Meeting, Vancouver, BC, Canada, 2013/6/9

2) Fujii H, Yoshimoto M, et al: Cu-ATSM hypoxia PET to evaluate the radiosensitivity. The 6<sup>th</sup> CJK conference on nuclear medicine, Jeju, South Korea, 2013/11/15

3) 梅田泉, 藤井博史, 他: 腫瘍内低酸素領域を *in vivo* 可視化する新規  $^{99m}\text{Tc}$  標識分子プロープの開発. 日本薬学会第 134 年会, 熊本, 2014/3/28

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

放射性テクネチウムの結合部位を有する化合物、及び、その放射性テクネチウム錯体 (特願 2013-178801) (発明者: 木村禎亮, 藤井博史, 梅田泉, 出願人: 国立がん研究センター)

### 2. 実用新案登録

該当無し

### 3. その他

該当無し

厚生労働科学研究費補助金(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業)  
分担研究報告書

適応決定のためのスクリーニング技術の開発

研究分担者 佐竹 光夫 独立行政法人国立がん研究センター東病院 放射線診断科長

研究要旨

Dual Energy CT (DECT) は、2つの異なるエネルギーを用いて情報を収集することにより、従来にはない組織組成の弁別、ヨード強調像や減算画像も作成できるとともに、ハードニングアーチファクトの低減した画質改善を可能にする。また、電子密度などの定量値を算出することで、膵がんと周囲組織のコントラストの向上に寄与できる画像を提供できると考える。

A. 研究目的

Dual Energy CT (DECT)は、2つの異なるエネルギーを用いて情報を収集することにより、画像情報として組織組成の弁別、ヨード強調や減算画像を作成する事ができ、Raw-data の処理により仮想単色 X 線画像、実効原子番号と電子密度の定量化が可能な、新しいCT 装置である。この DECT を用いて適応決定のためのスクリーニング技術の開発を行った。

Dual Energy 解析により、CT 検査で最も問題となるものの一つである金属が存在することで生じるハードニングアーチファクトの低減した画質改善と電子密度などの定量値を算出することで、膵がんと周囲組織のコントラストの向上に寄与できる新しい画像の作成について研究した。

B. 研究方法

Aquilion ONE(東芝メディカルシステム株式会社)を使用し、実効原子番号画像を得るためにさまざまな組織を封入した京都科学社製のタフファントムを用いた。タフファントムでは化合物や混合物に X 線を照射し、相互作用が起きた場合、ある原子番号だけで構成されていると仮定して、平均的に原子番号が何番目の物質相当なのかを求めることで算出できる。この原理を利用してハードニングアーチファクトの原因となる物質の特定を試みる。X 線の減衰の程度は物質中の電子密度に比例することを利用した電子密度画像を作成し、両画像のハードニングアーチファクトの低減について視覚的に比較した。前回に引き続き、非切除進行膵がん症例に対して膵管を基準軸とする画像を作成し、最適評価断面について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては説明文書を用いて十分な説

明を行い、患者自身による同意を本人より文書で取得した。また、患者のプライバシー保護に最大の努力を払っている。

患者データの利用に関しては直接個人を識別できる情報を用いず、解析を行う時は患者の個人情報の保護を遵守した状態で研究を行っている。

C. 研究結果

実効原子番号画像では(表 1)の結果で平均誤差は 2.8%であった。電子密度画像では(表 2)に示し、平均誤差は 1.7%であった。

非切除進行膵がん症例に対して、膵管を基準軸とする画像評価は病変の進行による腫瘍血管への侵潤の評価に優れていた。病変の進行状況により、最適評価断面は変更した方が病勢の評価に有効であるが、体積で情報を取得しているため、随時最適評価画像を作成可能でスクリーニング時に取得した画像が治療効果判定に有効であることが判明した。

(表 1)

|      |        | 真値     | 測定値   | 差(%) |
|------|--------|--------|-------|------|
| 緻密骨  | BE-T   | 13.179 | 13.32 | 1.1  |
| 皮質骨  | BE-H   | 11.697 | 11.97 | 2.4  |
| 筋肉   | SZ-208 | 6.090  | 7.39  | 1.9  |
| 軟部組織 | SZ-207 | 7.010  | 7.07  | 0.9  |
| 軟骨   | SZ-160 | 7.350  | 7.98  | 8.6  |
| 脂肪   | SZ-49  | 6.090  | 5.76  | 5.4  |
| 水    |        | 7.420  | 7.31  | 1.5  |

(表 2)

|         |     |
|---------|-----|
| 平均誤差(%) | 1.7 |
| 軟部組織    | 0.8 |
| 骨組織     | 0.4 |
| 肺組織     | 2.8 |

D. 考察

CT の時間分解能に関して極限に近い進歩が遂げ

られている。しかし、CT 画像独自のアーチファクトであるハードニングアーチファクトの発生については、ほぼ CT 装置開発当時と変わらない問題として取り残されていた。特に術後再発例では、手術で用いられたメタルクリップが再発病変の評価に障害になることも多く経験される。難治性の再発症例を対象とする画像評価では、アーチファクトの発生は対象症例の選択にも影響を与え、アーチファクトを軽減することで症例数の拡張に寄与できる。

DECT は、2 つの異なるエネルギーを用いて情報を収集することにより、画像情報として組織組成の弁別、ヨード強調や減算画像を作成する事ができ、Raw-data の処理により仮想単色 X 線画像、実効原子番号と電子密度の定量化が可能で、ハードニングアーチファクトの原因となる金属は、その同定が可能であればその物質に特有のアーチファクトの発生に応じた軽減の方法が可能で、ハードニングアーチファクトの発生に最も大きな影響を与える金属の原子番号の弁別はハードニングアーチファクトの低減に寄与できる可能性が示唆される。

膵がんでは、正常膵と腫瘍部とのコントラストが低く、がんの存在範囲が不明瞭になることがある。従来の CT 診断に加え、電子密度の定量化を画像診断に付加できる技術の開発はがんの範囲を特定し、付随する 2 次性変化である膵炎の存在を顕在化することが可能となる。

通常、CT 診断は横断像で行うのが一般的であるが、膵臓の形態は個人差が大きく、病変の存在部位により読影の難易度が異なることも多い。屈曲した断面で作成した画像では、存在部位による認識の差は生じにくく、病変の大きさと正常膵とのコントラストが病変認識の要因となる。

主膵管を座標軸として膵臓の画像を作成することで、浸潤性膵管がんの問題となる血管への侵潤も再現性を持って容易に認識することができる。主病変の変容に対しても治療効果の客観的な評価ができることも

### 3. その他

なし

利点の一つである。今後この方法を活用し、スクリーニング時に取得した画像が治療効果判定に応用できる。

### E. 結論

DECT は従来診断が困難なハードニングアーチファクトの低減を図り、さらに造影域の強調を取得することで、病変の認識が向上する。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

1. 論文発表  
(研究の刊行に関する一覧表に記載)

2. 学会発表

01. 中神佳宏, 佐竹光夫: P201 陽子線治療の効果判定に FDG-PET/CT が有益であった食道癌の 2 例. 核医学 50(3):5244-5244, 2013.
02. K. Sekiya, H. Kuno, S. Fujii, M. Suemitsu, T. Kaneda, M. Satake.: LL-NRE4373: The Role of MR Imaging in Tongue Cancer Based on Therapeutic Outcomes. RSNA2013. (Cum Laude)

### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

## 研究要旨

アルクチゲニンは、栄養飢餓状態で有効性を示すという独創的なコンセプトを持つ画期的な抗がん剤であり、非臨床だけでなく臨床試験結果からも高い安全性と有効性が期待されている。また、アルクチゲニンを含有する牛蒡子は、原材料も安価であり医療経済性にも優れている。

本研究では、第 Ⅰ 相試験での推奨用量を用いて、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て実施する GBS01 の第 Ⅰ 相試験において、血漿中アルクチゲニン（AG）濃度及びその主代謝物であるアルクチゲニン-グルクロン酸抱合体（AGG）濃度を測定し、第 Ⅰ 相試験での結果との比較を行った。その結果、第 Ⅰ / Ⅱ 相試験間での AG 及び AGG 濃度に有意な違いは認められない事が確認された。

## A. 研究目的

ゲムシタビン不応膵がん患者を対象とした GBS-01 の第 Ⅰ / Ⅱ 相臨床試験において、膵がん患者のアルクチゲニン（AG）及び主代謝物であるアルクチゲニン-グルクロン酸抱合体（AGG）の血中動態を明らかにする。特に、第 Ⅰ 相試験の推奨用量（Level 3: 牛蒡子エキスとして 4.0 g）を用いた第 Ⅰ 相試験での AG 及び AGG の薬物動態を検討し、第 Ⅰ 相試験結果との相同性を評価する。

## B. 研究方法

### 1. 対象試料

血漿

### 2. 検体採取法

第 Ⅰ 相臨床試験: 牛蒡子エキスとして 4.0 g を投与（Level 3）、症例数 9 症例（採血ポイント: 189）。

尚、血液サンプルは、患者の状態に鑑み、経口投与 1 日目と 8 日目の投与前、投与後 0.5、1、1.5、2、3、4、6、12 時間に採取した。また、投与 2 日目、5 日目、9 日目は投与前に採取した。

第 Ⅱ 相臨床試験: 第 Ⅰ 相試験の結果から推奨用量とされた 4.0 g（牛蒡子エキスとして）を投与、症例数 21 症例（採血ポイント: 104）。

尚、血液サンプルは、経口投与 1 日目の投与後 1.5、3、6、12 時間と 8 日目の投与前に採取した。

### 3. 血漿中濃度の測定法

血漿中 AG 濃度及び AGG 濃度は、質量分析器付き高速液体クロマトグラフィー（LC-MS）法にて測定した。尚、本定量法の真度及び精度は、全て

基準の範囲内（真度: 85 ~ 115 %、精度: 15 % 以内）であった。

## 4. PK パラメータ

最高血漿中濃度（ $C_{max}$ ）、最低血漿中濃度（ $C_{min}$ ）は、血漿中濃度推移より求めた。

## C. 研究結果

### 1. 第 Ⅰ / Ⅱ 相臨床試験で確認された血漿中濃度及び PK パラメータ

#### (1) 血漿中 AG 及び AGG 濃度推移

第 Ⅰ 相試験でゲムシタビン不応膵がん患者を対象に GBS-01 を牛蒡子エキスとして 4.0 g（Level 3）を 1 日 1 回単回投与した際の AG、AGG の血中濃度推移を図 1、2 に示す。両者とも、患者間で血中濃度推移に顕著な違いが認められた。

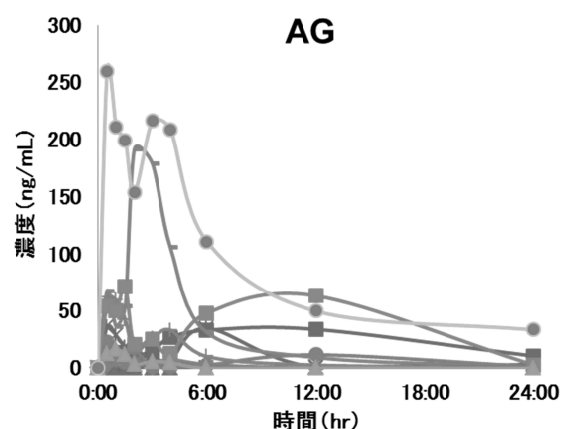


図 1 第 Ⅰ 相試験における血漿中 AG 濃度推移

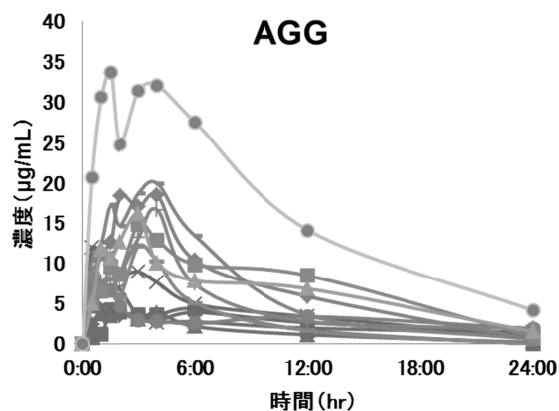


図 2 第 Ⅰ 相試験における血漿中 AGG 濃度推移

第 Ⅰ 相臨床試験における血中 AG、AGG 濃度の分布を図 3、4 に、Cmin、Cmax の箱ひげ図を図 5、6 に示す。GBS-01 は、服用後速やかに AG あるいは AGG として血漿中に検出されたが、第 Ⅰ 相試験での結果と同様、血漿中 AG 濃度は患者間で異なる傾向が認められた。一方、血漿中 AGG 濃度は血漿中 AG 濃度ほど患者間での違いは認められなかった。

図 4 第 Ⅰ 相試験における血漿中 AGG 濃度

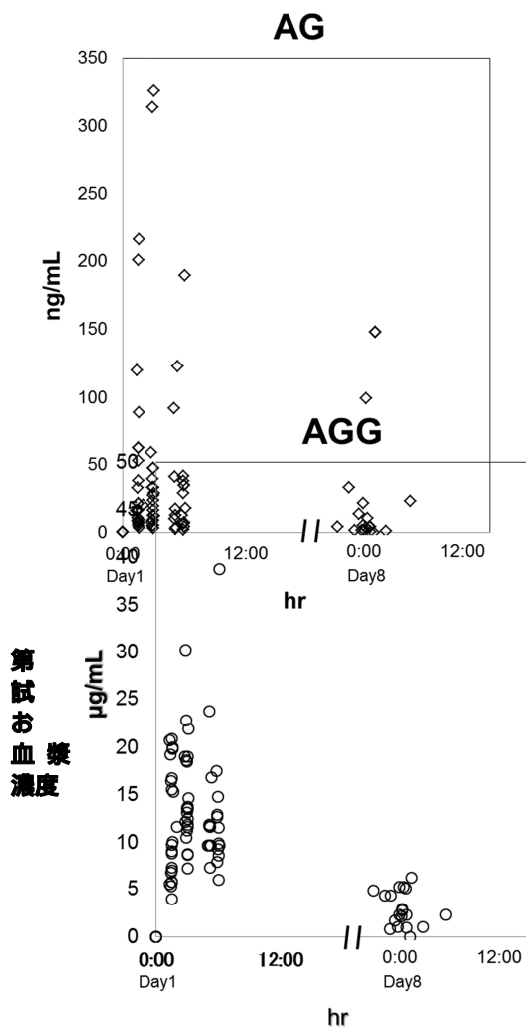


図 3 第 Ⅰ 相試験における血漿中 AG 濃度

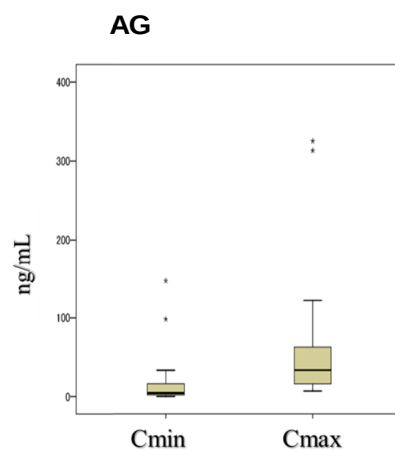
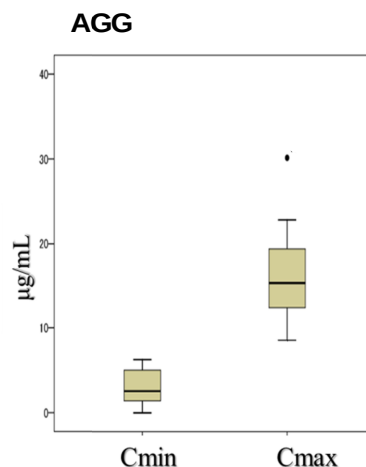
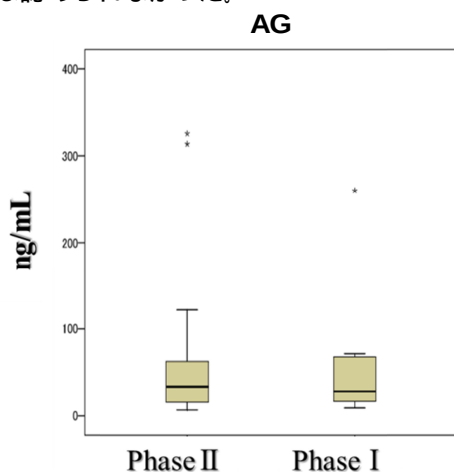


図 5 第 Ⅰ 相試験における血漿中 AG 濃度 (Cmin、Cmax)

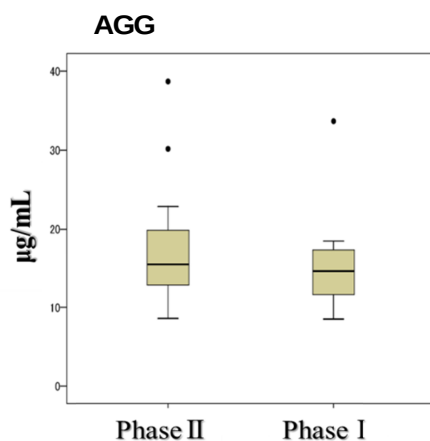


**図6 第Ⅰ相試験における血漿中 AGG 濃度(Cmin, Cmax)**  
(2) 第Ⅰ/Ⅱ相試験の比較

ゲムシタピン不応性がん患者を対象に、第Ⅰ相試験では9例の患者に、第Ⅱ相試験では21例の患者にGBS-01を牛蒡子エキスとして4gを1日1回経口投与した。第Ⅰ/Ⅱ相試験の血漿中AG及びAGG濃度を比較した結果を図7、8に示す。第Ⅰ/Ⅱ相試験の間では、血漿中AG、及びAGG濃度に有意な違いは認められなかった。



**図7 第Ⅰ/Ⅱ相試験における血漿中 AG 濃度(Cmax)**



**図8 第Ⅰ/Ⅱ相試験における血漿中 AGG 濃度(Cmax)**

#### D. 考察

ゲムシタピン不応性がん患者を対象としたGBS-01の第Ⅰ/Ⅱ相試験において、血漿中AG及びその主代謝物AGGの動態学的解析を行なった。前年度で報告した第Ⅰ相試験において、GBS-01は牛蒡子エキスとして1.0～4.0gまで投与した時、吸収は線形を示し用量に依存したCmax及びAUCの上昇を確認

しているが、第Ⅱ相試験では21例の患者に第Ⅱ相試験での推奨用量(牛蒡子エキスとして4.0g)を1日1回経口投与し、第Ⅱ相試験での結果との比較を行った結果、第Ⅰ/Ⅱ相試験間でのAG及びAGG濃度に有意な違いは認められない事が確認された。しかし、血漿中AG濃度は第Ⅰ相臨床試験と同様、第Ⅱ相試験においても患者で異なる傾向が認められた。

したがって、今後はこれらの変動要因を詳細に検討する必要性が強く示唆された。

#### E. 結論

第Ⅱ相試験での推奨用量(牛蒡子エキスとして4.0g)を用いた第Ⅱ相試験より、血漿中AG濃度及びその主代謝物であるAGG濃度は、第Ⅰ/Ⅱ相試験の間で有意な違いは認められない事が確認された。

#### F. 健康危険情報

(総括研究報告書に記載)

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録

なし

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 Ⅰ 相試験による膵がん克服  
病理学的検討

研究分担者 小嶋基寛 国立がん研究センター東病院

### 研究要旨

アルクチゲニン有効症例の臨床病理学的特徴を明らかにし、有効性を予測するマーカーを検索する目的で、外科切除検体を伴う、臨床第Ⅰ相試験の対象症例 7 例に関し、臨床病理学的検討及び免疫組織学的検討を施行した。腺扁平上皮癌で non-PD 症例が 1 例認められた以外には PD 群とそれ以外 (non-PD 群) の二群で明らかな組織学的な違いを認めず、アルクチゲニン有効症例の病理学的な特徴の把握にはいたらなかった。免疫染色の検討においては前年度施行した  $\beta$ -グルクロニダーゼと GRP78 発現をスコア化し詳細に検討したところ PD 群と比較して non-PD 群では発現が高い傾向があることが判明し、症例の蓄積が望ましいと考えられた。

#### A. 研究目的

アルクチゲニン有効症例の臨床病理学的特徴を明らかにし、有効性を予測するマーカーを検索する。

#### B. 研究方法

臨床第Ⅰ相試験の対象となった症例のうち、外科切除検体のある症例 7 例に関して臨床病理学的検討及び免疫組織学的検討を施行した。免疫染色は既存の文献から  $\beta$ -グルクロニダーゼ、GRP78 を選択した。 $\beta$ -グルクロニダーゼ発現は細胞質に見られ、神経の染色を positive control とし、それより強いものを 2+、それ以下を 1+ とし、陽性領域のパーセントと発現スコア（腫瘍内 2+ の (%)  $\times$  2 + (腫瘍内 1+ の (%)  $\times$  1）で評価した。GRP78 はラ氏島を positive control とし、細胞質の発現がラ氏島と同等かそれ以上の場合を 3+、膵管上皮や腸上皮と同等の染色を 2+、それより弱い、血管内皮程度の染色を 1+ とし、それぞれの領域のパーセントを算出し、発現スコア（腫瘍内 3+ の (%)  $\times$  3 + (腫瘍内 2+ の (%)  $\times$  2）で算出した。

#### （倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言および厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針及び、疫学研究に関する倫理指針に従って行った(共同 K22-9)。

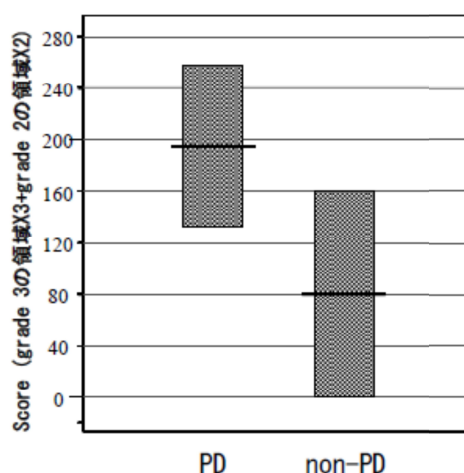
#### C. 研究結果

臨床的有效性は PD 群とそれ以外 (non-PD 群) の二群に分けて検討を行った。両群間で progression free survival に有意な差を認めたが、性別、年齢、over-all survival、腫瘍部位、組織分化度、腫瘍最大径、胆管

浸潤など腫瘍進展度との相関を認めなかった。実験的に観察される上皮間葉系移行との関連性が報告されている budding や低分化胞巣の検討も行ったが、両群間に差を認めなかった。

免疫組織学的な検討としては、 $\beta$ -グルクロニダーゼ発現は PD 群、non-PD 群の間に差を認めなかった。GRP78 においては non-PD 群の発現スコアが平均 80.0、PD 群の発現スコアが平均 195 であり、統計学的な有意差は示されなかったが ( $P=0.08$ )、non-PD 群で低い傾向があった(下図)。

### GRP78 発現スコア



$P=0.08$

#### D. 考察

本年度は病理組織学的検討を詳細に加えることによりアルクチゲニンが有効な腫瘍の特徴を把握したいと考えた。腺扁平上皮癌で non-PD 症例が 1 例認められ、今後も症

例の蓄積が必要とは考えられたが、現状の症例数で有効症例の病理学的な特徴を把握することは困難であった。

免疫染色に関しては昨年度よりさらに詳細な検討を行った結果、GRP78 に関しては効果予測マーカーとしての有用である可能性が示唆され、さらに多数の症例で検討する必要があると考えられた。

## E. 結論

臨床病理学的検討と免疫組織学的検討を臨床第Ⅱ相試験においても詳細に行うことが肝要であると考えられた。

## F. 健康危険情報

(総括研究報告書に記載)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(研究の刊行に関する一覧表に記載)

### 2. 学会発表

1. 小嶋 基寛ら、Consensus development method を用いた脈管侵襲病理判定基準作成の試み 大腸癌研究会プロジェクトより。日本病理学会会誌 102 巻 1 号 Page322, 2013.
2. 北口 和彦, 小嶋 基寛ら、早期肝門部及び肝外胆管癌の肉眼型に関する検討。日本病理学会会誌 102 巻 1 号 Page350, 2013.
3. 佐藤 雄, 小嶋 基寛ら、局所進行下部直腸癌に対する術前 FOLFOX 療法併用 ISR の短期治療成績。日本大腸肛門病学会雑誌 66 巻 6 号 Page446, 2013.
4. 北口 和彦, 小嶋 基寛ら、膵 ITPN(Intraductal tubulopapillary neoplasm)の 1 切除例。日本肝胆膵外科学会・学術集会プログラム・抄録集 25 回 Page505, 2013.
5. 秋田 恵一, 小嶋 基寛ら、いわゆる Treitz の筋の本態について。日本大腸肛門病学会雑誌 66 巻 9 号 Page737, 2013.

6. 塚田 祐一郎, 小嶋 基寛ら、ISR 施行時に必要な肛門管解剖。日本大腸肛門病学会雑誌 66 巻 9 号 Page737, 2013.

7. 落合 淳志, 小嶋 基寛ら、光の臨床応用 レーザ内視鏡によるヒト消化管腫瘍の低酸素イメージング。JSMI Report 6 巻 2 号 Page60, 2013.

8. 柵山 尚紀, 小嶋 基寛ら、S 状結腸癌に日本住血吸虫卵が併存した 1 例。日本臨床外科学会雑誌 74 巻増刊 Page740, 2013.

9. 榎本 直記, 小嶋 基寛ら、肝原発神経内分泌癌の 1 切除例。日本臨床外科学会雑誌 74 巻増刊 Page870, 2013.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

特願 2013-252528 膵癌血清診断マーカー

特願 2014-015878 胆道癌血清マーカー

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

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  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------|----------|------|
| Esumi H.                                                                                                                                                                             | S'ils n'ont pas de pain, qu'ils mangent de la brioche                                                                              | American Journal of Physiology Cell Physiology             | 306    | C320-321 | 2014 |
| Kami K, Fujimori T, Sato H, Sato M, Yamamoto H, Ohashi Y, Sugiyama N, Ishihama Y, Onozuka H, Ochiai A, Esumi H, Soga T, and Tomita M.                                                | 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, Matsuya Y, Kawasaki M, Toyooka N, Miyoshi C, Awale S, Diwe DF, Esumi H, Kadota S, and Tezuka Y.                                                    | Synthesis and antitumor evaluation of arctigenin derivatives based on antiausterity strategy                                       | European journal of medicinal chemistry                    | 60     | 76-88    | 2013 |
| Owada S, Shimoda Y, Tsuchihara K, and Esumi H.                                                                                                                                       | 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 |
| Ueda JY, Athikomkulchai S, Miyatake R, Saiki I, Esumi H, and Awale S                                                                                                                 | (+)-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., Suzuki A., Mima ki S., Matsushima K., Yo K., Goto K., Suzuki Y., Ishii G., Ochiai A., Tsuta K., Shibata T., Kohno T., EsumiH., Tsuchihara K | 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 |

## 研究成果の刊行に関する一覧表

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                         |                               |        |         |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------|---------|------|
| Suzuki A, Mimaki S, Yamane Y, Kawase A, Matsushima K, Suzuki M, Goto K, Sugano S, Esumi H, Suzuki Y, Tsuchihara K.                                                                                                                                                    | 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, Esumi H, Tsuchihara K.                                                                                                                                                                                                                 | 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, Li F, Miyoshi C, Esumi H, Kadota S, Tezuka Y.                                                                                                                                                                                              | 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., Li F., Kadota S., Esumi H., Kobayashi Y., Takahashi N.                                                                                                                                                                             | Arctigenin inhibits osteoclast differentiation and function by suppressing both calcineurin-dependent and osteoblastic cell-dependent NFATc1 pathways                                   | PloS one                      | 9(1)   | e85878  | 2014 |
| <u>Ikeda M</u> , Ioka T, Ito Y, Yonemoto N, Nagase M, Yamao K, Miyakawa H, Ishii H, Furuse J, Sato K, Sato T, Okusaka T.                                                                                                                                              | 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, Yanagimoto H, Bokun N, Fukutomi A, Sugimori K, Baba H, Yamao K, Shimamura T, Sho M, Kitano M, Cheng AL, Mizumoto K, Chen JS, Furuse J, Funakoshi A, Hatori T, Yamaguchi T, Egawa S, Sato A, Ohashi Y, Okusaka T, Tanaka M. | 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 |

## 研究成果の刊行に関する一覧表

|                                                                                                          |                                                                                                                                                                                         |                       |        |             |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------|-------------|------|
| Mitsunaga S, Ikeda M, Shimizu S, Ohno I, Furuse J, Inagaki M, Higashi S, Kato H, Terao K, Ochiai A.      | 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, Ueno H, Kondo S, Shimada K, Kosuge T, Ikeda M, Hiraoka N, Okusaka T.       | Gemcitabine in Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm With an Associated Invasive Carcinoma of the Pancreas.                                                             | Pancreas              | 42     | 889-92      | 2013 |
| Ueno H, 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, Ueno H, 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, Ishii H, Ueno M, Egawa N, Nakao H, Mori M, Matsuo K, Kikuchi S.                  | 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, Ishii H, Kuraoka K, Yukisawa S, Kasuga A, Ozaka M, Suzuki S, Takano K, Sugiyama Y, Itoi T.  | Ultrasound-guided vs endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for pancreatic cancer diagnosis                                                                                | World J Gastroenterol | 19(15) | 2368-73     | 2013 |
| Takeda A, Fujii H, et al                                                                                 | Maximum Standardized Uptake Value on FDG-PET Is a Strong Predictor of Overall and Disease-Free Survival for Non-Small-Cell Lung Cancer Patients after Stereotactic Body Radiotherapy    | J Thorac Oncol        | 9 (1)  | 65-73       | 2014 |
| Ahmed S. Maklad, M.Matsuhiro, H.Suzuki, Y.Kawata, N.Niki, M.Satake, N.Moriyama, T.Utsunomiya, M.Shimada. | Blood vessel-based liver segmentation using the portal phase of an abdominal CT dataset.                                                                                                | Medical Physics       | 40(11) | 113501-1-17 | 2013 |

## 研究成果の刊行に関する一覧表

|                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                        |                                  |         |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------|---------|------|
| M.Ikeda, T.Okusaka, J.Furuse, S.Mitsunaga, H.Ueno, H.Yamamura, Y.Inaba, Y.Takeuchi, M.Satake, Y.Arai.                                  | A multi-institutional phase II trial of hepatic arterial infusion chemotherapy with cisplatin for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis.                                                                                                                      | Cancer Chemother Pharmacol             | 72                               | 463-470 | 2013 |
| M.Ikeda, S.Mitsunaga, S.Shimizu, I.Ohno, H.Takahashi, H.Okuyama, A.Kuwahara, S.Kondo, C.Morizane, H.Ueno, M.Satake, Y.Arai, T.Okusaka. | Efficacy of sorafenib in patients with hepatocellular carcinoma refractory to transcatheter arterial chemoembolization.                                                                                                                                                                     | J Gastroenterol                        | DOI<br>10.1007/s00535-013-0853-7 | 1-7     | 2013 |
| H.Kunio, H.Onaya, S.Fujii, H.Ojiri, K.Otanie, M.Satake.                                                                                | Primary staging of laryngeal and hypopharyngeal cancer: CT, MR imaging and dual-energy CT.                                                                                                                                                                                                  | European Journal of Radiology          | 83                               | e23-e35 | 2014 |
| Y Akashi, T Oda, Y Ohara, R Miyamoto, T Kurokawa, S Hashimoto, T Enomoto, K Yamada, M Satake and N Ohkohchi                            | Anticancer effects of gemcitabine are enhanced by co-administered iRGD peptide in murine pancreatic cancer models that overexpressed neuropilin-1.                                                                                                                                          | BRITISH JOURNAL OF CANCER              | doi:<br>10.1038/bjc.2014.49      | 1-7     | 2014 |
| Kojima M, et al.                                                                                                                       | Human subperitoneal fibroblast and cancer cell interaction creates microenvironment that enhances tumor progression and metastasis.                                                                                                                                                         | PLoS One                               | 9(2)                             | e88018  | 2014 |
| Kojima M, et al.                                                                                                                       | Pathological diagnostic criterion of blood and lymphatic vessel invasion in colorectal cancer: a framework for developing an objective pathological diagnostic system using the Delphi method, from the Pathology Working Group of the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. | Journal of Clinical Pathology          | 66(7)                            | 551-558 | 2013 |
| Kojima M, et al.                                                                                                                       | Practical utility and objectivity: does evaluation of peritoneal elastic lamina invasion in colorectal cancer overcome these contrary problems?                                                                                                                                             | American Journal of Surgical Pathology | 38(1)                            | 144-145 | 2014 |

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌（日本語）

| 発表者氏名                | 論文タイトル名                                                                                                                         | 発表誌名            | 巻号        | ページ     | 出版年  |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------|---------|------|
| 佐々木満仁，上野秀樹，<br>林秀幸，他 | 膵がんに対する術後補助療法の<br>エビデンスと今後の展望                                                                                                   | 腫瘍内科            | 12        | 259-65  | 2013 |
| 森実千種，奥坂拓志，<br>上野秀樹，他 | 【外科医が知っておくべき癌治<br>療の薬物療法】 抗癌薬各論 胆<br>管癌・膵癌の薬物療法 切除不<br>能・再発癌                                                                    | 外科              | 75        | 1369-74 | 2013 |
| 林秀幸，上野秀樹，柴<br>知史     | 【膵・胆道癌薬物療法：臨床試験<br>を読む！-最新の動向と実地診療<br>へのインパクト-】 局所進行ま<br>たは転移性膵癌に対するGEM+S-<br>1併用療法、S-1単剤療法、また<br>はgem単剤療法のランダム化第<br>相試験 GEST試験 | 胆と膵             | 34        | 601-06  | 2013 |
| 梅田泉、藤井博史             | 臨床応用を目指した分子イメ<br>ージング研究の現状と今後の<br>展望                                                                                            | 日本耳鼻咽喉科学<br>会会報 | 116 (8)   | 933-940 | 2013 |
| 小嶋基寛、落合淳志            | 【大腸癌の最新治療- 治癒に向<br>けた最先端研究- 】大腸癌の浸<br>潤・転移機構                                                                                    | 日本臨床            | 72巻1<br>号 | 2-6     | 2014 |