

平成30年6月20日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06860

研究課題名(和文) 基礎研究解析データに基づく大腸がん新規治療薬のバイオマーカー探索

研究課題名(英文) Identification of biomarkers for novel therapeutic agents in colorectal cancer based on preclinical analysis.

研究代表者

末永 光邦 (MITSUKUNI, SUENAGA)

公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器内科・医長

研究者番号：70462223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：新規抗がん剤による治療におけるバイオマーカーの選択と開発は容易ではない。本研究では、基礎研究により蓄積されたデータベースと方法論を駆使し、大腸癌の新規薬剤の効果予測マーカーを開発する新規手法を試みた。血液学的検査による治療前のCCL5と治療開始後のVEGF-Aの変化、ならびにCCL5遺伝子多型が大腸癌患者におけるレゴラフェニブの治療効果や有害事象を予測できる可能性が示された。TAS-102についてはがん細胞株の薬剤感受性に関する独自のデータベース JFCR39(がん細胞パネル)、及び、包括的トランスクリプトーム解析を用いて効果予測因子の候補を見出ししており、大腸癌患者での臨床応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Identification of biomarkers for novel agents that highly correspond to clinical outcome is hard to detect in oncology practice. In this study, we performed preclinical omics analysis and translational validation study to identify the candidate biomarkers for regorafenib and TAS-102 efficacy in metastatic colorectal cancer patients. Serum CCL5 and VEGF-A, and CCL5 genotypes were demonstrated as candidate biomarker predicting efficacy and toxicity of regorafenib. On the other hand, some candidate predictive markers for efficacy of TAS-102 have been recognized by gene expression and database analysis. Further preclinical data-based translational validation study is warranted in metastatic colorectal cancer patients.

研究分野：腫瘍内科

キーワード：効果予測マーカー

## 1. 研究開始当初の背景

本邦における大腸がんによる死亡率は近年胃癌と並び大きな問題となっており、レゴラフェニブなどの新しい薬剤が年々導入されている。しかし新薬においても万能を期待できない以上、事前にその有効性を予測し、効果を早期に判断し、治療の続否を迅速に判断することが重要であるが、これらを可能にするバイオマーカーは極めて不十分である。これまでに大腸がんに対して臨床応用が承認されたバイオマーカーは、抗EGFR抗体の適応基準に利用されるKRAS遺伝子変異、イリノテカンの副作用予測に利用されるUGT1A1遺伝子多型の2例にすぎない。そのため、新しい効果的なバイオマーカーが切望されている状況にある。しかし、バイオマーカーの選択と開発は、研究の種類に関わらず、客観的な方法論がなく、特に前向き研究においては容易ではない。斬新で客観性を備えた手法・戦略が求められているが、国内外においてもこのような取り組みに関する報告はまだ殆ど無い。

## 2. 研究の目的

新規抗がん剤による治療を最適化する上で、適切な患者選択および治療の続否の判断を可能にするバイオマーカーは不可欠である。しかしながら、これらを可能にするバイオマーカーの選択と開発は、客観的で有効な指標がないことから容易ではない。本研究は、基礎研究により蓄積されたデータベースと方法論を駆使し、大腸がんの新規薬剤レゴラフェニブおよびTAS-102について、効果予測マーカーを開発する新規手法を試みるものである。具体的には、がん研究会独自の薬剤感受性関連データベース、「がん細胞パネル-インフォーマティクス」及び「包括的トランスクリプトーム解析」を用いた新しいバイオマーカー開発法の構築を目指す。

## 3. 研究の方法

大腸がん新規治療薬レゴラフェニブ及びTAS-102の効果予測マーカーの同定を以下のように進める。

1) マーカー候補を「がん細胞パネル-インフォーマティクスを用いるマーカー探索」、「包括的トランスクリプトーム解析に基づくバイオマーカー探索」により絞り込む。  
がん細胞パネル-インフォーマティクスを用いるバイオマーカー探索におけるヒトがん細胞株パネルを用いた薬剤感受性関連データベースは、がん研究会において開発されたもので、39株のがん細胞株について1000種類を超える各種抗がん剤・阻害剤の感受性データと各細胞株についてのゲノムワイドな遺伝子発現、変異、タンパク発現等の情報が集積されている。この細胞パネルにおける

両薬剤の薬剤感受性パターンを調べ、各細胞の遺伝子発現、変異との相関解析を行うことにより、バイオマーカーの候補因子を選択する。一方、包括的トランスクリプトーム解析は、大腸がん由来の細胞株をいろいろな抗癌剤で処理した際にみられる遺伝子発現の変化をデータベース化したもので、現在もその構築が大腸がん化学療法センターにおいて進められている。

2) 上記において選択されたマーカー候補因子について、臨床サンプルを用いて血中レベルを測定する。各薬剤100症例の解析を予定する。液性因子については、血清を用いたELISAにより測定する。EGFRなどの細胞表面抗原については、末梢循環がん細胞(CTC: Circulating tumor cell)上の発現解析を行う。ELISAやCTCの系で測定が難しいものについては、手術切除検体のパラフィンブロックを用いた病理免疫組織化学検査による標的マーカーの発現解析を行う。

3) 上記の測定値と治療効果とを照合し、効果予測バイオマーカーとしての有用性を総合的に検討する。また、この方法論の有用性、一般性も検討する。

4) 確立されたマーカーについて、薬剤感受性との因果関係等についてメカニズムの解析を行う。

## 4. 研究成果

レゴラフェニブは血管新生に関連するキナーゼ(VEGFR1-3、TIE2)、腫瘍微小環境に関連する間質キナーゼ(PDGFR、FGFR)、腫瘍形成に関連するキナーゼ(KIT、RET、BRAF)など、複数のプロテインキナーゼ活性を有する薬剤である。本研究における血液学的検査において、レゴラフェニブ治療開始前の血清CCL5レベルと治療開始21日後の血清VEGF-Aレベルの変化が、標準化学療法に不応・不耐となった大腸癌患者の無増悪生存期間、全生存期間に関連する事が示された。更なる研究により、CCL5の遺伝子多型がVEGF-Aの産生能に関連している可能性が見出された。さらにCCL5の遺伝子多型のホモ接合体の頻度には人種差があり、西欧人に比較して、特に日本人では高頻度であることと、日本人での手足症候群の発症が高い事に関連があることを発見した。以上から、血清CCL5とVEGF-A、ならびにCCL5遺伝子多型はレゴラフェニブにおける治療効果や手足症候群発症の予測マーカーになりうる事が示唆された。

TAS-102(FTD/TPI)は経口のヌクレオシド系抗悪性腫瘍剤であり、抗腫瘍活性を持つFTDがDNA伸長を阻害することなくDNA中に取り込まれることによって生じるDNA機能障害が腫瘍増殖抑制効果の主な機序とされている。我々は最初のステップとしてがん細胞株の薬剤感受性に関する独自のデータベースJFCR39(がん細胞パネル)、及び、包括的トランスクリプトーム解析を用いてFTDの効果予測因子の候補を抽出した。次にTAS-102

を投与される群 (TAS-102 群)、レゴラフェニブを投与される群 (control) とで候補因子の治療中における血清学的定量を行った。その結果、候補因子の一部は TAS-102 群において preclinical と同様な結果を示し、control 群では示さなかったことから大腸がん患者における TAS-102 の効果予測因子になりうる可能性が示された。得られた知見についての機序解明のためさらなる研究を行っている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Suenaga M, Mashima T, Kawata N, Wakatsuki T, Horiike Y, Matsusaka S, Dan S, Shinozaki E, Seimiya H, Mizunuma N, Yamaguchi K, Yamaguchi T. Serum VEGF-A and CCL5 levels as candidate biomarkers for efficacy and toxicity of regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016;7:34811-23.
2. Sugita K, Kawakami K, Yokokawa T, Sugisaki T, Takiguchi T, Aoyama T, Suzuki K, Suenaga M, Yamaguchi K, Inoue A, Machida Y, Yamaguchi T, Hama T. Self-reported adherence to trifluridine and tipiracil hydrochloride for metastatic colorectal cancer: a retrospective cohort study. *Oncology*. 2016;91:224-30.
3. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, et al. Genetic variants of DNA repair-related genes predict efficacy of TAS-102 in patients with refractory metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2017; 28: 1015-1022.
4. Kawakami K, Yokokawa T, Sugita K, Sugisaki T, Suzuki K, Suenaga M, Yamaguchi K, Inoue A, Machida Y, Yamaguchi T, Hama T. Self-Reported Adherence to Capecitabine on XELOX Treatment as Adjuvant Therapy for Colorectal Cancer. *Oncol Res*. 2017;25:1625-31.
5. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, et al. Potential role of polymorphisms in the transporter genes ENT1 and MATE1/OCT2 in predicting TAS-102 efficacy and toxicity in patients with refractory metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2017;86:197-206.
6. Suenaga M, Akiyoshi T, Shinozaki E, et al. A feasibility study of capecitabine and oxaliplatin (CAPOX) for patients with stage II/III colon cancer -ACTOR study-. *Anticancer Res*. 2018;38:1741-7.
7. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, Zhang W, Yang D, Ning Y, Cremolini C, Antoniotti C, Borelli B, Mashima T, Okazaki S, Berger MD,

Miyamoto Y, Gopez R, Barzi A, Lonardi S, Yamaguchi T, Falcone A, Loupakis F, Lenz HJ. Gene polymorphisms in the CCL5/CCR5 pathway as genetic biomarker for outcome and hand-foot skin reaction in metastatic colorectal cancer patients treated with regorafenib. *Clin Colorectal Cancer*. 2018;17:e395-e414.

〔学会発表〕(計 6 件)

1. Suenaga M, Mashima T, Kawata N, Dan S, et al. Identification of biomarkers for TAS-102 efficacy in metastatic colorectal cancer patients based on preclinical analysis and clinical validation. ASCO Gastrointestinal Cancer Symposium. Jan 20, 2018 (San Francisco)
2. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, et al. Matrix metalloproteinase-related gene polymorphisms to predict efficacy of regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer. ASCO Gastrointestinal Cancer Symposium. Jan 20, 2018 (San Francisco)
3. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, et al. Role of genetic polymorphisms in CCL5/CCR5 axis to predict efficacy of regorafenib in patients with refractory metastatic colorectal cancer. ASCO Gastrointestinal Cancer Symposium. Jan 21, 2017 (San Francisco)
4. Suenaga M, Schirripa M, Cao S, et al. Genetic variants of genes in CCL5/CCR5 pathway to predict regorafenib-induced hand-foot skin reaction in patients with refractory metastatic colorectal cancer: A report of ethnic difference. ASCO Gastrointestinal Cancer Symposium. Jan 21, 2017 (San Francisco)
5. 野々宮悠真、横川貴志、川上和宜、杉田一男、瀧口友美、杉崎崇人、青山剛、鈴木賢一、杉本芳一、若槻尊、末永光邦、山口研成、濱敏弘。レゴラフェニブにおける手足症候群発現に関する後ろ向き観察研究。第 54 回日本癌治療学会学術集会、横浜、2016
6. 副島梓、川上和宜、杉田一男、横川貴志、杉崎崇人、瀧口友美、鈴木賢、井上彩花、町田昌明、末永光邦、水沼信之、山口俊晴、濱敏弘。レゴラフェニブの服薬コンプライアンスの調査研究。第 25 回日本医療薬学会年会、神奈川、2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：マルチキナーゼ阻害剤の有効性と安全性を予測する検査方法、検査キット、及びバ

イオマーカー

発明者：末永光邦、馬島哲夫、水沼信之、清宮啓之

権利者：同上

種類：特許

番号：2015-251386号

出願年月日：2015年12月24日

国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

〔その他〕なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

末永 光邦 (Suenaga, Mitsukuni) 公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器内科・医長

研究者番号：70462223

### (2)研究分担者 なし

### (3)連携研究者

馬島 哲夫(Mashima, Tetsuo) 公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター 分子生物治療研究部・主任研究員

研究者番号：30311228

旦 慎吾(Dan, Shingo) 公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター 分子薬理部・部長

研究者番号:70332202

### (4)研究協力者 なし