

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月23日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591725

研究課題名（和文） 宿主遺伝子多型と腫瘍遺伝子変異による大腸癌化学療法の効果・毒性予測

研究課題名（英文） Novel strategy for prediction of toxicity and efficacy of chemotherapy for patients with metastatic colorectal cancer.

研究代表者

裕 彰一 (HAZAMA SHOICHI)

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：50253159

研究成果の概要（和文）：1. イリノテカンの毒性（グレード3，4の好中球減少）は UGT1A1 *28/*6 アリルにより予測可能であることはすでに報告されているが、今回われわれは、UGT1A7 N129K (G), -57(G), UGT1A9 *22 アリルが新たなリスクファクターであることを確認した。また、Genotype subset selection 法により大腸癌患者に対する FOLFIRI 療法の有効性が予測できることを見いだした。

2. セツキシマブ使用症例においては、BRAF や PI3K、並びに KRAS (CD60, 61, 146)の変異症例では効果が弱いことを再確認するとともに、FcGR3a 遺伝子多型により予後が異なることを見いだした。

研究成果の概要（英文）：1. The toxicity of irinotecan, G3/4 neutropenia, was predicted by UGT1A1 *28/*6 alleles as well as UGT1A7 N129K (G), -57(G), UGT1A9 *22 alleles. Genotype subset selection of multi-UGT1As polymorphisms can predict severe neutropenia and tumor responses of metastatic CRC patients received FOLFIRI regimen.

2. Mutations such as BRAF, and PI3K were also important biomarkers of cetuximab. Furthermore, our data suggest that the FcGR3a polymorphisms may be also useful molecular markers to predict clinical outcome in mCRC pts treated with cetuximab.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：イリノテカン、セツキシマブ、UGT1A1、KRAS、BRAF、PI3K

1. 研究開始当初の背景

癌化学療法では多型により薬物代謝が変化し、毒性や抗腫瘍効果に個体差が生じる。多くの癌腫で頻用されるイリノテカン代謝経路が解明され、解毒代謝酵素 UGT1As family の多型により毒性の予測が可能である。われわれは以前から SN-38 の代謝に最も関与する UGT1A1 遺伝子の TA repeats 多型に着目し、TA7(*28)を持つヒトではイリノテカンの毒性が強くなることから、TA6/TA6 の患者と TA6/TA7 の患者に分けた第 I 相試験を施行した。その結果、推奨投与量は TA6/TA6 の正常型では 150mg/m²、TA6/TA7 の変異ヘテロ型では 70mg/m² であった。その結果に基づいた第 II 相試験を遺伝子型別に実施した結果、それぞれの遺伝子型・投与量においても Grade3 以上の毒性を認める症例が 2-3 割存在し、TA repeats 以外にも毒性感受性因子が存在することから、新たな UGT1As における他の遺伝子多型の解析を加え、*28 以外に UGT1A1*6, UGT1A7*3, UGT1A9*22 が毒性に関与することを明らかにした。

2. 研究の目的

この流れをさらに発展させるため、新たにレトロスペクティブにイリノテカン使用症例を集積するとともに、新たなプロスペクティブな臨床研究を計画する。プロスペクティブには irinotecan/LV5FU2 (FOLFIRI) に cetuximab を併用した切除不能・再発大腸癌を対象として、第 II 相試験を行う。毒性予測因子としては、UGT1A1*28, UGT1A1*6, UGT1A7*3, UGT1A9*22 に加えて、年齢、性別、PS ならびに新たな UGT1As 遺伝子多型やサイトカインの遺伝子多型も加える。

UGT1As は代謝酵素であるため薬物の血中濃度規定因子ではあるが、抗癌剤に対する宿主感受性を規定するものではない。われわれはすでに、5-FU と CDDP を用いた化学療法の毒性出現に IL-6, IL-1 β , TNF- α 等のサイトカイン遺伝子多型が関与していることを報告している。宿主側因子の多型を含め多くの遺伝子多型を網羅的に解析することにより精細な副作用予測と適正投与量を決定することが出来る。

一方、大腸癌の治療戦略に新たに分子標的治療が加わった。Bevacizumab と Cetuximab が本邦で使用可能となったが、なかでも Cetuximab は有効例と無効例を選別する指標が多く存在する。腫瘍における EGFR(epidermal growth factor receptor)の

発現や KRAS mutation の有無、あるいは宿主の Fragment c g receptors (Fc R) の遺伝子多型 (FCGR2A-H131R and FCGR3A-V158 F) など多くの因子が効果に関連している。

これらの効果と毒性の予測因子を、本邦のデータとして報告したものはない。そこで筆者は、大腸癌化学療法の効果と毒性の予測マーカーを、本邦のデータとしてまとめるために本研究を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) レトロスペクティブな FOLFIRI 療法の効果・毒性と遺伝子多型の関連性の再検討。FOLFIRI 療法を施行・あるいは施行予定の進行・再発大腸癌患者から倫理委員会承認のインフォームドコンセントを得た後、末梢血を採取して遺伝子多型測定用の DNA を精製・保存する。同時に FOLFIRI 療法の効果と毒性を記録する。また、すでに集積されているイリノテカン投与症例の毒性・効果と遺伝子多型のデータをあわせ、薬剤代謝酵素と薬剤感受性の遺伝子多型の解析を行う。症例数の増加に伴い、より正確な毒性・効果と遺伝子多型の関連が検討可能となる。

(2) プロスペクティブな FOLFIRI + Cetuximab 併用療法の効果・毒性と腫瘍の遺伝子変異と宿主の遺伝子多型の関連性の検討。倫理委員会の承認を得た後、転移性大腸癌患者の切除標本から、健常部と腫瘍部の DNA を精製・保存する。EGFR 陽性かつ KRAS 変異の無い症例を対象として、FOLFIRI + Cetuximab 療法の第 II 相試験を施行し、効果と毒性を評価する。健常部の遺伝子多型と腫瘍部の遺伝子変異を解析し、効果・毒性との関連を検討する。

4. 研究成果

(1) レトロスペクティブな FOLFIRI 療法の効果・毒性と遺伝子多型の関連性の再検討。5'-DFUR+irinotecan 第 II 相試験から、*28 症例に対する 70mg/m² と、wild type に対する 150mg/m² とで毒性と抗腫瘍効果に大差がなかった。irinotecan 毒性には*28 以外に UGT1A1*6, 1A7*3, 1A9*22 が関与しており、何れも持たない症例では Grade3 以上の毒性を認めなかった。次に FOLFIRI 療法 73 例の解析においても同様に UGT1A1*6, 1A7*3, 1A9*22 が関与していた。「UGT1A1*6, 1A7*3, 1A9*22 の遺伝子型は毒性の予測因子である」

ことは確からしい。その他の遺伝子多型と毒性の間には関連性を認めなかった。一方、抗腫瘍効果は遺伝子多型で予測できるとする報告はほとんど無い。今回の解析でも、個々の遺伝子多型では効果を予測することは出来なかった。新しく開発した Genotype subset selection (遺伝子型選択) 法を用い、奏効するとして選択した 12 例中 8 例が奏効し、効果なしとして選択した 15 例中 13 例で効果がないことが予測できた。

(2) プロスペクティブな FOLFIRI + Cetuximab 併用療法の効果・毒性と腫瘍の遺伝子変異と宿主の遺伝子多型の関連性の検討。

2 次治療として FOLFIRI + Cetuximab 療法の臨床試験では 113 例中 68 例 (60.2%) が KRAS wild type で、61 例が本登録された。CD60 に 1 例、CD61 に 3 例、BRAF (CD600) に 3 例、PI3K に 2 例の変異を認め、都合 9 例に変異が認められた。奏効率は 60 例では 31.7%であったが、変異を認めた症例では奏効例はなく、BRAF 変異例では全例 PD であった。一方、変異の無かった症例の奏効率は 37.2%であった。EGFR ならびに FcγR 遺伝子多型と腫瘍縮小効果には相関を認めなかった。現在予後との関連を検討中である。

本試験では FOLFIRI 毒性と UGT1A s 多型に関連性が無かった。*28*6 ホモ患者でイリノテカン投与量を 100mg/m² に減量し、検索した多型間に連鎖不平衡を認めたためと考える。UGT1As 多型と効果の間にも相関は無かった。

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 15 件)

- ① Kato T, Muro K, Yamaguchi K, Bando H, Hazama S, Amagai K, Baba H, Denda T, Shi X, Fukase K, Sakamoto J, Mishima H. Cediranib in combination with mFOLFOX6 in Japanese patients with metastatic colorectal cancer: results from the randomised phase II part of a phase I/II study. *Ann Oncol.* 2012 Apr;23(4):933-41. Epub 2011 Aug 9. PubMed PMID: 21828378. (査読有り)
- ② Maeda K, Hazama S, Tokuno K, Kan S, Maeda Y, Watanabe Y, Kamei R, Shindo Y, Maeda N, Yoshimura K, Yoshino S, Oka M. Impact of chemotherapy for colorectal cancer on regulatory T cells and tumor immunity. *Anticancer Res.* 2011 Dec;31(12):

4569-74. PubMed PMID: 22199332. (査読有り)

- ③ Okuyama Y, Hazama S, Nozawa H, Kobayashi M, Takahashi K, Fujikawa K, Kato T, Nagata N, Kimura H, Oba K, Sakamoto J, Mishima H. Prospective phase II study of FOLFIRI for mCRC in Japan, including the analysis of UGT1A1 28/6 polymorphisms. *Jpn J Clin Oncol.* 2011 Apr;41(4):477-82. Epub 2011 Feb 7. PubMed PMID: 21303789. (査読有り)
- ④ Hazama S, Oka M. Importance and practice of UGT1A1 polymorphisms. *Nihon Rinsho.* 2011 Apr;69 Suppl 3:351-4. PubMed PMID: 22213983. (査読無し)
- ⑤ Okayama N, Nishioka M, Hazama S, Sakai K, Suehiro Y, Maekawa M, Sakamoto J, Iwamoto S, Kato T, Mishima H, Oka M, Hinoda Y. The importance of evaluation of DNA amplifiability in KRAS mutation testing with dideoxy sequencing using formalin-fixed and paraffin-embedded colorectal cancer tissues. *Jpn J Clin Oncol.* 2011 Feb;41(2):165-71. Epub 2010 Oct 5. PubMed PMID: 20926413. (査読有り)
- ⑥ Hazama S, Nagashima A, Kondo H, Yoshida S, Shimizu R, Araki A, Yoshino S, Okayama N, Hinoda Y, Oka M. Phase I study of irinotecan and doxifluridine for metastatic colorectal cancer focusing on the UGT1A1*28 polymorphism. *Cancer Sci.* 2010 Mar; 101(3):722-7. Epub 2009 Nov 7. PubMed PMID: 20028383. (査読有り)
- ⑦ Ueno K, Hazama S, Mitomori S, Nishioka M, Suehiro Y, Hirata H, Oka M, Imai K, Dahiya R, Hinoda Y. Down-regulation of frizzled-7 expression decreases survival, invasion and metastatic capabilities of colon cancer cells. *Br J Cancer.* 2009 Oct 20;101(8):1374-81. Epub 2009 Sep 22. PubMed PMID: 19773752; PubMed Central PMCID: PMC2768449. (査読有り)

[学会発表] (計 20 件)

- ① 裕彰二, 日野田裕治, 三嶋秀行, 坂本純一, 岡正朗, 大腸がん治療新時代 Personalized Therapy の現状と今後 UGT1As 遺伝子多型で予測する Irinotecan の毒性と効果、日本癌治療学会、2010. 10. 29、京都 国立京都国際会

- 館
- ② 裕彰一, 三嶋秀行, 加藤健志, 高橋賢一, 野澤寛, 木村文彦, 安藤秀明, 小林道也, 坂本純一, 岡正朗、消化器癌化学療法の効果予測(抗癌剤感受性試験など) 新しい遺伝子多型解析による大腸癌化学療法(FOLFIRI)の効果予測システムの開発、日本臨床外科学会、2009. 11. 21、京都 国立京都国際会館
 - ③ 裕彰一, 日野田裕治, 岡山直子, 浜本義彦, 藤田悠介, 三嶋秀行, 坂本純一, 岡正朗、UGT1A 多型の遺伝子型サブセット選択はFOLFIRI 投与mCRC患者の毒性及び腫瘍反応性を予測する(Genotype subset selection of UGT1As polymorphisms can predict toxicity and tumor response of mCRC pts received FOLFIRI)(英語)、日本癌学会、2009. 10. 3、横浜 パシフィコ横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

裕 彰一 (HAZAMA SHOICHI)
山口大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：50253159

(2) 研究分担者

岡山 直子 (OKAYAMA NAOKO)
山口大学・医学部附属病院・副臨床・
衛生検査技師長
研究者番号：40420541
坂本 和彦 (SAKAMOTO KAZUHIKO)
山口大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50420526