

機関番号：24402

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790780

研究課題名（和文） 小細胞肺癌患者血漿でみるトポイソメラーゼ阻害剤の遺伝子作用部位への直接効果の検出

研究課題名（英文） Gene targeting effects by topoisomerase inhibitors using plasma free DNA in patients with SCLC

研究代表者 木村 達郎（KIMURA TATSUO）

大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：50382049

研究成果の概要（和文）：臨床第 I/II 相試験が終了し、塩酸アムルビシンの推奨用量である 40mg/m²にて 26 例の症例登録を行った。塩酸アムルビシンの治療前と治療早期の患者血液、及び、組織の保存を行った。さらに、sensitive relapse 群と refractory relapse 群とにわけて解析し、refractory relapse 群において十分な治療効果を認めため、その結果を 2010 年呼吸器学会に、また、レビューを査読ある英文誌に投稿し掲載された。

研究成果の概要（英文）：Lung cancer is the leading cause of cancer death, and approximately 15% of all lung cancer patients have small-cell lung cancer (SCLC). Although second-line chemotherapy can produce tumor regression, the prognosis is poor. Amrubicin hydrochloride (AMR) is a synthetic anthracycline anticancer agent and a potent topoisomerase II inhibitor. With its predictable and manageable toxicities, AMR is one of the most attractive agents for the treatment of chemotherapy-sensitive and -refractory relapsed SCLC. I reviewed the applicability of AMR therapy for patients with SCLC on Clinical Medicine Insights: Oncology 2011. These clinical trials, including phase III studies, will clarify the status of AMR in the treatment of SCLC.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000 円	570,000 円	2,470,000 円
2010 年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000 円	900,000 円	3,900,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 呼吸器内科学

キーワード：小細胞肺癌、トポイソメラーゼ阻害剤、血漿 DNA、イリノテカン、エトポシド
アムルビシン

1. 研究開始当初の背景

肺癌は現在我が国におけるがん死亡の第一位であり、様々な国においても増加傾向にある。小細胞肺癌は、肺癌全体の 15-20%であり、非小細胞肺癌に比し腫瘍の増殖速度が速く遠隔転移の頻度が高い。病期分類として大きく限局型と進展型に分けられ、進展型は化学療法が標準治療となる。化学療法として、JCOG9511 にて（シスプラチンとエトポシド）EP 療法と（シスプラチンとイリノテカン）IP 療法のランダム化比較試験が行われ IP 療法の有効性が報告され、日本では IP 療法が標準治療とされている。近年、我が国から新規のアントラサイクリン系薬剤であるアムルピシンとシスプラチンの同時併用療法の第 I/II 相試験が報告され、奏効率 87.8%と良好な成績が報告されている。(Ohe Y, et al. Ann Oncol. 2005) このように、小細胞肺癌に対しては白金製剤とトポイソメラーゼ阻害剤との併用が標準治療となっている。これらの併用療法では治療効果は 50-80%と優れている。

我々の研究グループは以前よりトポイソメラーゼ阻害剤の併用研究を基礎実験にて証明してきた。(Kimura T. Osaka City Med J, 2001) さらに、非小細胞肺癌株に対し塩酸アムルピシンとシスプラチンの同時併用において、アムルピシンが DNA に直接結合し DNA-adducts を形成し殺細胞効果をもたらすと同時に、シスプラチンとの相乗効果が見られることを報告した。(Yamauchi S, Kimura T. et al. Osaka City Med J, 2002) また、再発小細胞肺癌症例にアムルピシンを投与する臨床第一相試験の結果を報告した。

(Kudoh S, Kimura T, et al. 2006 ASCO Annual Meeting. #17053)

さらに、今回我々は、トポイソメラーゼ阻害

剤の作用する 11q23 において、RealTime(RT)-PCR にて 11q23 断片を半定量し、トポイソメラーゼ阻害剤の効果を in vitro にて検討した結果、細胞上清において 11q23 断片がコントロールより 2 倍以上検出されることが分かった。

2. 研究の目的

小細胞肺癌に対しては白金製剤とトポイソメラーゼ阻害剤との併用が標準治療となっている。本研究の同意を得た患者より血液、及び、組織の保存を行い症例を蓄積する。目標症例数は各治療群 10 例以上、計 30 例である。小細胞肺癌に対しトポイソメラーゼ阻害剤の治療前と治療早期の患者血漿から抽出した DNA から 11q23 断片を RT-PCR にて測定することによって、トポイソメラーゼ阻害剤の直接作用効果を評価する。また、薬物動態、及び、従来報告されている血漿中 DNA 濃度やヌクレオソーム、及び、臨床効果、副作用と比較検討し、治療効果を早期に判断するマーカーとなりうるかどうか評価する。

3. 研究の方法

①小細胞肺癌に対しては白金製剤とトポイソメラーゼ阻害剤との併用が標準治療となっている。これらの併用療法では治療効果は 50-80%と優れている。近年、我が国から新規のアントラサイクリン系薬剤であるアムルピシンの臨床試験が報告され、我々の施設でも小細胞肺癌症例において、臨床試験を施行した。

②細胞上清中の 11q23 作用部位の測定、殺細

胞効果の測定

肺癌細胞株において、各種薬剤（アムルビシノール、ドキソルビシン、エトポシド、イリノテカン、シスプラチン、パクリタキセル）を用い、上清中に遊離される DNA の測定、トポイソメラーゼ阻害剤の作用する 11q23 の断片の検討を行い、トポイソメラーゼ阻害剤、と白金製剤、タキサンとの DNA における作用の違いを明らかにする。

③血清中の薬物濃度測定、各種 DNA マーカーの測定

患者血清中の薬物濃度測定（アムルビシン、アムルビシノール、シスプラチン、イリノテカン、エトポシド）、血中 DNA マーカーの測定、11q23 の作用部位の検討、及び、治療効果、毒性、生存期間との相関を検討する。

4. 研究成果

①本研究の同意を得た患者よりトポイソメラーゼ阻害剤の治療前と治療早期の患者血液、及び、組織の保存を行い症例の蓄積を行った。現在までに臨床第 I/II 相試験が終了した。推奨用量として塩酸アムルビシン 40mg/m²にて 26 例の症例登録を行っている。さらに、この試験において sensitive relapse 群と refractory relapse 群とにわけて解析し、refractory relapse 群においても治療効果を認めることを発見したため、その結果を 2010 年呼吸器学会にて発表した。また、その結果を踏まえ、最新の小細胞肺癌の治療のレビューを査読ある英文誌に投稿し、掲載された。

②細胞上清中の 11q23 作用部位の測定、殺細胞効果の測定

肺癌細胞株において、各種薬剤（アムルビシ

ノール、ドキソルビシン、エトポシド、イリノテカン、シスプラチン、パクリタキセル）を用い、上清中に遊離される DNA の測定、トポイソメラーゼ阻害剤の作用する 11q23 の断片の検討を行ったが、有意な違いは認められなかった。

③血清中の薬物濃度測定①In vitro Assay (11q23 の検討)

コントロールとして RNase P 遺伝子を RT-PCR のサイバーグリーン法にて測定した。今回我々は、トポイソメラーゼ阻害剤の作用する 11q23 において、トポイソメラーゼ I 切断部位とアポトーシス切断部位、及び、トポイソメラーゼ II 切断部位とアポトーシス切断部位に挟まれた遺伝子断片の外側（切断部位を含む）、及び、遺伝子断片の内側にプライマー設計した。それを用い、サイバーグリーン法にて 11q23 における切断部位の外側（切断部位を含む）、及び、切断部位の内側の比率の検討を行い、コントロールとして RNase P 遺伝子を RT-PCR のサイバーグリーン法にて測定した。しかし、検体からの DNA 量が少なく、RT-PCR にて増幅させても、コントロールと比し有意な差が検出されなかった。

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 6 件）

①Kimura T, Kudoh S, Hirata K. Review of the Management of Relapsed Small-Cell Lung Cancer with Amrubicin Hydrochloride. Clinical Medicine Insights:

Oncology 査読有 2011:5 23-34

②Kimura T, Kudoh S, Tochino Y, Kodama T, Matsumura S, Hirata K

Soft Tissue Squamous Cell Carcinoma in Chest Wall with an Incomplete Border Sign
J Med Cases 査読有 2(1). 2011. 31-33

③Tanaka H, Kimura T, Kudoh S, Mitsuoka S, Watanabe T, Suzumura T, Tachibana K, Noguchi M, Yano S, Hirata K. Reaction of plasma hepatocyte growth factor levels in non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. Int J Cancer. 査読有 Int J Cancer. 2010 [Epub ahead of print] 掲載確定 (Web ではすでに掲載済み)

④Kaneda H, Okamoto I, Kimura T, et al. Phase II trial of amrubicin for second-line treatment of advanced non-small cell lung cancer: results of the West Japan Thoracic Oncology Group trial (WJTOG0401). J Thorac Oncol. 査読有 5. 2010. 105-109

⑤Yoshimura N, Kudoh S, Kimura T, Mitsuoka S, Kyoh S, Tochino Y, Asai K, Kodama T, Ichimaru Y, Yana T, Hirata K
Phase II study of docetaxel and carboplatin in elderly patients with advanced non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol. 査読有 4. 2009. 371-375

⑥Kimura T, Kudoh S, Mitsuoka S, Yoshimura N, Tanaka H, Asai K, Kyoh S, Tochino Y, Umekawa K, Hirata K. Plasma concentration of amrubicinol in plateau phase in patients treated for 3 days with amrubicin is correlated with

hematological toxicities. Anticancer Drugs. 査読有 20(6),2009 513-518.

[学会発表] (計 5 件)

①Tanaka H, Kimura T, Suzumura T, Umekawa K, Nagata M, Mitsuoka S, Kudoh S, Yano S, Hirata K. Reaction of plasma hepatocyte growth factor by administration EGFR-TKIs in lung cancer patients. 35th ESMO Congress 2010. 2010/10/1. ミラノ

②Suzumura T, Kudoh S, Kimura T, Umekawa K, Tanaka H, Mitsuoka S, Yoshimura N, Hirata K. Comparison of adverse events of erlotinib with those of gefitinib in Japanese patients with NSCLC. ASCO Annual '10Meeting 2010/6/1 シカゴ

③Yoshimura N, Kudoh S, Mitsuoka S, Kimura T, Hirata K. Feasibility study of adjuvant vinorelbine and cisplatin in Japanese patients with completely resected stage II-IIIa non-small cell lung cancer. ASCO Annual '10Meeting. 2010/6/1. シカゴ

④Kimura T, Kudoh S, Mitsuoka S, Tanaka H, Kyoh S, Suzumura T, Yoshimura N, Asai K, Tochino Y, Hirata K. Plasma concentration of amrubicinol in gamma phase in patients treated for 3 days with amrubicin and hematological toxicities. ASCO Annual '09Meeting 2009/5/1 オーランド

⑤梅川加奈子, 木村達郎, 井尻尚樹, 武田倫子, 小林大起, 白土直子, 鈴木倫弘, 渡辺徹也, 藤本寛樹, 田中秀典, 松村佐恵子, 児玉豊城, 一丸之寿, 光岡茂樹, 浅井一久, 姜成勲, 吉村成夫, 鴨井博, 金澤博, 工藤新三, 平田一人再発小細胞肺癌における治療抵抗性症例<refractory relapse>の検討 第50回日本呼吸器学会学術講演会 2010/4/1 京都

6. 研究組織

(1)研究代表者

木村 達郎 (KIMURA TATSUO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・病院講師

研究者番号：50382049

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし