

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23501314

研究課題名(和文) 分子標的治療薬の新規薬力学評価法 非小細胞肺癌のがん性胸膜炎をモデルとして

研究課題名(英文) Nobel pharmacodynamics evaluation of molecular targeting agents:
Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Assessment on Malignant Effusions (PHAME)

研究代表者

久保 昭仁 (Kubo, Akihito)

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：60416245

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)：非小細胞肺癌の癌性胸水(MPE)および血液検体を用いて、分子標的治療における経時的な生体および腫瘍細胞の変化を解析し、同時に血液および胸水の薬物動態を評価した。18F-FDG-PETを用いたイメージングによっても薬力学的検討を行い、殺細胞性抗癌剤との比較を行った。MPEは分子標的治療開始早期からの薬物動態・薬力学的評価系として優れる。MPEは分子標的治療薬の薬力学評価系として優れること、PETを用いた薬力学評価は殺細胞性抗癌剤よりも分子標的治療薬により適していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Objective: Pharmacokinetics (PK) / pharmacodynamics (PD) of molecular targeting agents (MTAs) in non-small cell lung cancer (NSCLC) with malignant pleural effusion (MPE) are evaluated. Methods: MPE and blood samples are serially collected from patients with NSCLC and MPE undergoing molecular targeting therapy (MTT) and chest tube drainage, and analyzed for targeted signaling pathways. PD is also evaluated by bio-imaging using 18F-FDG-PET in NSCLC patients undergoing MTT and those undergoing cytotoxic chemotherapy (CC). Results: MPE is a suitable condition for intensive PK/PD assessments of MTAs with less hematologic toxicities. PD evaluation using PET more clearly predicts clinical outcomes in patients undergoing MTT compared with those undergoing CC.

研究分野：臨床腫瘍学、臨床試験、分子生物学、呼吸器内科学

キーワード：非小細胞肺癌 癌性胸膜炎 分子標的治療 薬力学 薬物動態 FDG-PET 化学療法 サイトケラチン

1. 研究開始当初の背景

がん治療における分子標的薬の開発はめざましく、現在開発中の新規抗がん剤は80-90%が分子標的治療薬である。上皮成長因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) ゲフィチニブ(イレッサ)およびエルロチニブ(タルセバ)については、正常皮膚、肺癌、乳癌、消化器癌における薬力学試験が報告されているが、その病理学的検討は治療開始最も早期の報告でも治療開始7日以降である。薬力学的評価目的の腫瘍検体採取に伴う死亡例も報告され、安全性への懸念もある。すなわち、標的分子に対する薬剤の作用と宿主およびがん組織の薬物投与による反応を評価する方法(薬力学)は未確立で、薬剤の吸収・分布・代謝・排泄(薬物動態)との関連も明らかではない。治療早期の効果判定法も確立しておらず、これらはがんの分子標的治療を進展させるために解決すべき重要な課題である。

2. 研究の目的

非小細胞肺癌のがん性胸膜炎をモデルとする、分子標的治療薬の薬力学評価系確立が本研究の目的である。

3. 研究の方法

本研究は二つの前向き臨床試験を含む。いずれも倫理委員会で承認され、患者から書面による同意を得て実施した。両試験とも登録開始当時は EGFR-TKI の効果予測因子である EGFR 遺伝子変異解析は保険承認されておらず、遺伝子解析は研究として実施し、EGFR 野生型の症例が含まれている。

[1] 癌性胸膜炎試験 (臨床試験登録番号: UMIN00002953)

癌性胸水が病理学的に確認され、かつドレナージが必要な癌性胸膜炎合併非小細胞肺癌患者 20 例(全例腺癌)が EGFR-TKI ゲフィチニブによる治療を受けた。PS は 0-3 を許容した。ゲフィチニブ経口投与と同時に、胸水の間欠的ドレナージとサンプリングを治療開始 72 時間まで実施した。ゲフィチニブの血中・胸水中薬物動態、種々の EGFR リガンドと関連シグナル伝達分子について経時的検討を行った。

[2] 分子標的治療と殺細胞性抗癌剤治療におけるバイオイメージング薬力学 (臨床試験登録番号: UMIN000006682)

病理学的に診断された進行非小細胞肺癌患者を対象として、担当医の最適の選択として EGFR-TKI ゲフィチニブ (19 例) または殺細胞性化学療法カルボプラチン/パクリタキセル (CBDCA+PTX) 併用療法 (CP 療法, 19 例) を行った。いずれも治療 Day 0, 3, 28 に FDG-PET/CT による薬力学的検討を行った。

形態学的効果判定は RECIST ver. 1.0 に従って行い、メタボリックレスポンスは standardized uptake value (SUV) 25%以上の減少と定義した。

4. 研究成果

本研究における癌性漿膜炎の病態を利用して行う薬物動態・薬力学的検討を PHarmacokinetic/PHarmacodynamic Assessment on Malignant Effusions (PHAME 法)と命名した。PHAME 法の 1 モデルとして実施したのが癌性胸膜炎試験である。その結果、癌性胸膜炎合併肺癌の分子標的治療において経時的な胸水・血液サンプリングが安全に実行できることが示された。登録症例の 60%に EGFR-TKI 感受性変異が、5%に T790M 耐性変異、5%に K-ras 変異が認められた(表 1)。

表1. EGFRおよびK-ras遺伝子変異

EGFR gene:	wild type	7
	mutant	13
	L858R/dex19/others	9 / 2 / 3
	T790M	1
EGFR amplification:	yes / no / not done	12 / 7 / 1
K-ras codon12:	wildtype	17
	mutant	1
	not done	2

EGFR-TKI の胸水移行および効果発現は非常に早く、奏効例では治療開始 3 時間で胸水中薬物濃度が治療域に達し胸水中がん細胞がアポトーシスを起こすこと、治療効果が持続する症例では血中および胸水中の薬物濃度が早期に上昇する(分布が早い)ことを明らかにした。ゲフィチニブの血中・胸水中薬物動態と奏効・無増悪生存期間(PFS)の関連では、血中・胸水中ともに腫瘍縮小よりも PFS との関連がより強く見られた。特に治療効果が持続した PFS 延長例において有意に胸水中ゲフィチニブの最大濃度(Cmax)が高く薬物濃度曲線下面積(AUC)が大きいたことが明らかとなった。ゲフィチニブの胸水中への移行が良好な症例において癌性胸膜炎合併肺癌に対する治療効果が大きいものと思われた(表 2、図 1、発表論文 #20)。

表2. 血中および胸水中薬物動態

血中薬物動態			胸水中薬物動態		
Single dosing	Mean	SD	Single dosing	Mean	SD
C _{max} (nM)	532.2	1.52	C _{max} (nM)	134.7	3.78
T _{max} (h)	5.1	2.5	T _{max} (h)	18.9	7.6
AUC _{0-24h} (nM ² h)	8,796	3.8	AUC _{0-24h} (nM ² h)	2,192	4.03
			Ratio AUC _{0-24h} PE/plasma	0.249	1.059

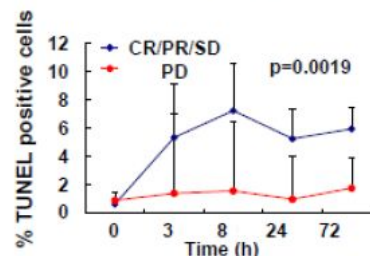


図1. 治療開始後の胸水中癌細胞アポトーシスとゲフィチニブ治療効果

EGFR リガンドである Transforming growth factor- α (TGF α)、 amphiregulin (AR)および ETKI 耐性に関する hepatocyte growth factor (HGF)について検討した。AR および HGF は血中に比較して胸水中の発現レベルが 3-5 倍高いのに対し、TGF α は胸水における発現レベルは極めて低値である。血中 TGF α は ETKI 投与によってほとんどの患者で低下しており ETKI による EGFR 阻害との関連が密接である (表 3)。

表3. 血中および胸水中EGFRリガンドの変化

		0h		72h	
		Mean	sd	mean	sd
TGF α (pg/ml)	serum	8.2	14.6	3.4	12
	PE	3.3	11.9	3.5	13.7
AR (pg/ml)	serum	58.1	186.1	57.9	193.4
	PE	308.8	458	206.1	278.9
HGF (pg/ml)	serum	845.4	1534.7	762	1378.8
	PE	2740.5	1693.7	3022.5	1532.9

TGF α , transforming growth factor α ; AR, amphiregulin; HGF, hepatocyte growth factor; PE, pleural effusion

分子標的治療のバイオイメージングによる薬力学的評価法として FDG-PET を用い、従来の殺細胞性化学療法における薬力学的評価法との比較検討を行った(表 4)。

表4. 分子標的治療と殺細胞性抗癌剤治療におけるバイオイメージング薬力学の患者背景

Characteristic	Gefitinib (n = 19), n (%)	CBDCA+PTX (n = 19), n (%)
Median Age (Range), Years	61 (34-84)	66 (53-76)
Sex		
Male	4 (21)	14 (74)
Female	15 (79)	5 (26)
Smoking Status		
Ever-smoker	2 (11)	13 (68)
Never-smoker	17 (89)	6 (32)
Performance Status		
0	8 (42)	8 (42)
1-2	11 (58)	11 (58)
Stage		
IIIb	4 (21)	3 (16)
IV	15 (79)	16 (84)
Line of Therapy		
First	7 (37)	19 (100)
Second	11 (58)	0 (0)
Third or more	1 (5)	0 (0)
Histology		
Adenocarcinoma	19 (100)	15 (79)
Nonadenocarcinoma	0 (0)	4 (21)
EGFR Status		
Mutated	12 (63)	2 (11)
Exon19 deletion	7	1
L858R mutation	5	1
Wild type	7 (37)	17 (89)

CBDCA+PTX, carboplatin plus paclitaxel.

その結果、殺細胞性 CP 療法よりもゲフィチニブ療法において、早期(治療開始 48 時間後=Day 3)の FDG-PET における FDG 集積低下がよりよく腫瘍縮小効果、腫瘍再増大までの期間(無増悪生存期間)、全生存期間と相関することが明らかとなった (図 2、図 3、発表論文 #6)。

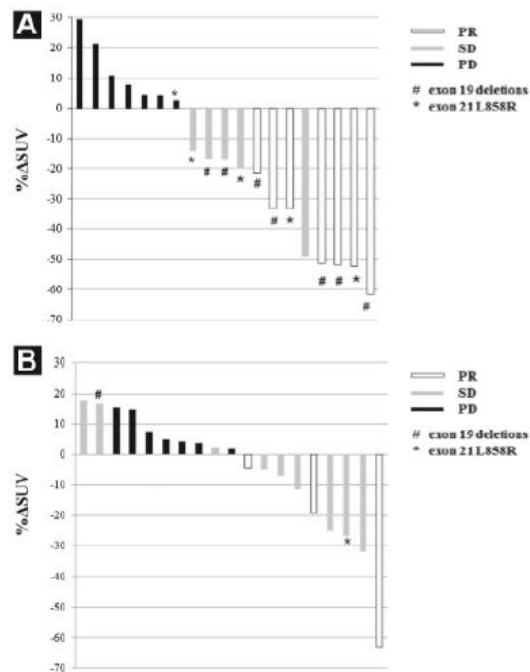


図2. Day 3における maximal standardized uptake value 減少 (% Δ SUV $_{max}$)と治療効果 (A) ゲフィチニブ療法、(B) Carboplatin plus paclitaxel 治療効果はResponse evaluation criteria in solid tumors ver 1.0による。PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease.

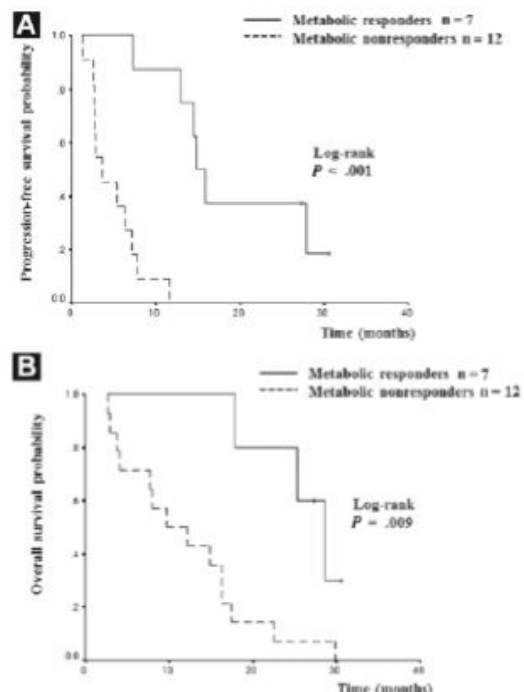
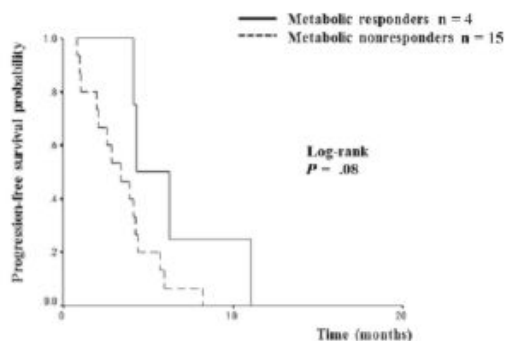


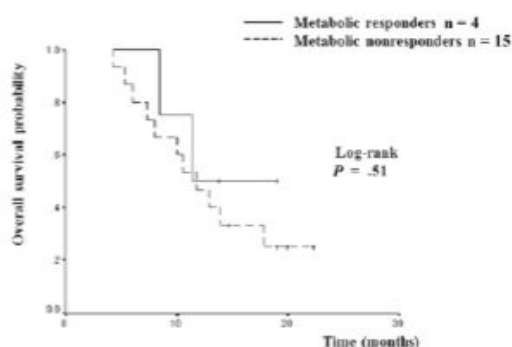
図3. Day 3においてFDG-PETで評価したmetabolic responseと無増悪生存期間 (A, C) と全生存期間 (B, D) (A, B) ゲフィチニブ療法、(C, D) Carboplatin plus paclitaxel.

(図3 続き)

C



D



NSCLC に高発現するサイトケラチン(CK)8を薬力学マーカーとして評価し、CK8が細胞浸潤を負に制御する一方で、血中CK8は予後不良因子であり、血中CK8は腫瘍量を反映することを報告した。非小細胞肺癌に高発現するCK8は、細胞浸潤を負に制御する一方で、血中CK8は予後不良マーカーである。CK8は薬力学マーカーとしても期待できる(発表論文 #22、図書 #1)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 24 件)

1. [Kawaguchi T, Isa S-I, Kubo A, Koh Y et al.](#) (計 18 人中 6 番目、査読あり) Ultra-sensitive detection of the pretreatment EGFR T790M mutation in non-small-cell lung cancer patients with an EGFR-activating mutation using picodroplet digital PCR. *Clin Cancer Res*, 2015 (in press), DOI 10.1158/1078-0432.CCR-14-2151
2. [Kubo A, et al.](#) (計 16 人中 16 番目、査読あり). Therapeutic and Preventive Antiemetic Effect of Aprepitant in Japanese Patients with Thoracic Malignancies Who Truly Need It. *Support Care Cancer* 23, 905-12, 2015, DOI 10.1007/s00520-014-2430-x
3. [Kawaguchi T, Kubo A, et al.](#) (計 3 人中 3 番目、査読あり). Reply to G Spitzer, et al; F Zhou, et al; and B Biswas. *J Clin Oncol* 33, 526-7, 2015 DOI: 10.1200/JCO.2014.58.5315
4. [Kubo A, Kawaguchi T, Takada M, et al.](#) (計 12 人中 7 番目、査読あり) The role of smoking status on the progression-free survival of non-small-cell lung cancer patients harboring activating epidermal growth factor (EGFR) mutations receiving first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor: a meta-analysis of prospective randomized trials. *Oncologist* 20, 1-9, 2015, DOI 10.1634/theoncologist.2014-0285
5. [Kubo A, et al.](#) (計 11 人中 11 番目、査読あり). Metastatic embryonal carcinoma mimicking locally-advanced non-small cell lung cancer. *Internal Medicine* 54, 59-61, 2015, DOI 10.2169/internalmedicine.54.2884
6. [Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, et al.](#) (計 14 人中 14 番目、査読あり). Early pharmacodynamic assessment using 18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography on molecular targeted therapy and cytotoxic chemotherapy for clinical outcome prediction. *Clin Lung Cancer* 15, 182-7, 2014
7. [Isa S-I, Takada M, Kawaguchi T, Kubo A, et al.](#) (計 11 人中 11 番目、査読あり). Long-term complete response in a patient with disseminated pulmonary pleomorphic carcinoma induced by cisplatin and gemcitabine. *Internal Medicine* 53, 2625-8, 2014; DOI: 10.2169/internalmedicine.53.2637
8. [Kubo A, et al.](#) (計 5 人中 5 番目、査読あり). Relapsed small cell lung cancer: treatment options and latest developments. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 6, 69-82, 2014; DOI: 10.1177/1758834013517413
9. [Kubo A, Kawaguchi T, et al.](#) (計 5 人中 3 番目、査読あり). Will the requirement by the US FDA to simultaneously co-develop companion diagnostics (CDx) delay the approval of receptor tyrosine kinase inhibitors for RTK-rearranged (ROS1-, RET-, AXL-, PDGFR- α -, NTRK1-) non-small cell lung cancer globally? *Front. Oncol* 4, 1-8, 2014 | doi: 10.3389/fonc.2014.00058
10. [Kawaguchi T, Isa S, Takada M, Kubo A, et al.](#) (計 19 人中 19 番目、査読あり). Randomized phase III trial of erlotinib versus docetaxel as second- or third-line therapy in patients with advanced non-small cell lung cancer: Docetaxel and Erlotinib Lung cancer Trial (DELTA). *J Clin Oncol* 32, 1902-8, 2014. doi/10.1200/JCO.2013.52.4694
11. [Kubo A, et al.](#) (計 4 人中 4 番目、査読あり). Successful crizotinib re-challenge after crizotinib-induced organizing pneumonia in anaplastic lymphoma kinase-rearranged non-small cell lung cancer. *Case Reports in*

- Oncology 7, 681-4, 2014, DOI: 10.1159/000366516
12. Kubo A, et al. (計 3 人中 3 番目、査読あり). Successful crizotinib re-challenge after crizotinib-induced interstitial lung disease in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 15, e33-5, 2014, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clcc.2013.12.004>.
 13. Kubo A, Isa SI, Takada M, Kawaguchi T, et al. (計 10 人中 3 番目、査読あり). Human papilloma virus in non-small cell lung cancer in never smokers: A systematic review of the literature. *Lung Cancer* 8, 8-13, 2014. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.10.002.
 14. Kawaguchi T, Kubo A, Takada M, et al. (計 6 人中 4 番目、査読あり). Role of consolidation chemotherapy after concurrent chemo-radiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014 Jan;9(1):e7-8. doi: 10.1097/JTO.0000000000000035
 15. Kawaguchi T, Kubo A, Isa S, Takada M, et al. (計 10 人中 5 番目、査読あり). Is Consolidation Chemotherapy after Concurrent Chemo-Radiotherapy Beneficial for Patients with Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer?: A Pooled Analysis of the Literature. *J Thorac Oncol* 8, 1181-9, 2013 doi: 10.1097/JTO.0b013e3182988348. PubMed PMID: 23883782.
 16. Kawaguchi T, Isa SI, Kubo A, Koh Y, et al. (計 10 人中 8 番目、査読あり). Rationale and Design of the Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study. *Clin Lung Cancer* 14, 596-600, 2013; doi: 10.1016/j.clcc.2013.03.001.
 17. Kawaguchi K, Kubo A, Takada M, et al. (計 15 人中 12 番目、査読あり). Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors beyond progressive disease: A retrospective analysis for Japanese patients with activating EGFR mutations. *J Thorac Oncol* 7, 1722-7, 2012. doi: 10.1097/JTO.0b013e31826913f7.
 18. Kawaguchi T, Kubo A, Takada M, et al. (計 15 人中 9 番目、査読あり). Polymorphisms in intron 1 of the EGFR gene in non-small cell lung cancer patients. *Exp Ther Med* 4, 785-789. 2012. PubMed PMID: 23226726
 19. Kubo A, et al. (計 10 人中 10 番目、査読あり). ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose uptake and apparent diffusion coefficient in lung schwannoma. *Clin Imaging* 36, 65-67, 2012. doi: 10.1016/j.clinimag.2011.05.004.
 20. Kubo A, Koh Y, Kawaguchi T, Isa S, Takada M, et al. (計 10 人中 1 番目、査読あり). Malignant pleural effusion from lung adenocarcinoma treated by gefitinib. *Internal Medicine* 50(7), 745-8, 2011
 21. Kawaguchi T, Kubo A, Isa S-I, Takada M, et al. (計 11 人中 3 番目、査読あり). Ethnic difference in hematological toxicity in non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy: A pooled analysis on Asian vs. non-Asian in phase II and III clinical trials. *J Thoracic Oncol* 6(11), 1881-8, 2011.
 22. Kubo A, et al. (計 7 人中 7 番目、査読あり). Cytokeratins Negatively Regulate Invasive Potential in Lung Cancer Cell Lines. *Oncology Reports* 26, 763-8, 2011
 23. Kawaguchi T, Kubo A, Takada M, et al. (計 10 人中 3 番目、査読あり). Long exposure of environmental tobacco smoke associated with activating epidermal growth factor receptor mutations in never-smokers with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 17, 39-45, 2011
 24. Kubo A, et al. (計 6 人中 4 番目、査読あり). A case of lung cancer with unilateral anhidrosis and contralateral hyperhidrosis as the first clinical manifestation. *J Am Acad Dermatol* 65, 438-40, 2011
- 〔図書〕(計 1 件)
1. Kubo A, et al. *Cytokeratin 8: The Dominant Type II Intermediate Filament Protein in Lung Cancer*. In: *Cytokeratins – Tools in Oncology* (ISBN 978-953-308-10-7), InTech, Rijeka, Croatia, pp67-96, 2012
- 6 . 研究組織
- (1) 研究代表者
久保 昭仁 (KUBO, Akihito)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 60416245
- (2) 研究分担者 なし
- (3) 連携研究者
洪 泰浩 (KOU, Yasuhiro)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号 : 80426519
- 福岡 順也 (FUKUOKA, Junya)
長崎大学・医学部・教授
研究者番号 : 00324575
- 高田 實 (TAKADA, Minoru)
阪和第二泉北病院・副院長
研究者番号 : 20373516
- 川口 知哉 (KAWAGUCHI, Tomoya)
大阪市立大学・医学部・教授
研究者番号 : 70254422

伊佐 俊一 (ISA, Shun-Ichi)
独立行政法人国立病院機構・近畿中央
胸部疾患センター臨床研究センター・
研究員
研究者番号：60421913