

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870610

研究課題名(和文) 小細胞肺癌における個別化医療を目指して：アムルピシン治療バイオマーカーの解明

研究課題名(英文) Investigation for renewal treatment strategy for small cell lung cancer: Imaging biomarker of neutropenia in amrubicin treatment

研究代表者

高桑 修 (Takakuwa, Osamu)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10647332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は既治療小細胞肺癌の中心的治療薬になりつつあるアムルピシンについて個別化医療につながるバイオマーカーを明らかにすることである。まず我々は主要な薬剤排泄ポンプの一つであるP-glycoprotein (ABCB1)の一塩基多型とアムルピシン治療中の好中球減少の程度の間に関連性を見出した。続いてアムルピシノールのAUC値が好中球減少の程度に關与する結果を得たが、アムルピシノールの血中濃度を制御する因子は特定できなかった。現在、アムルピシンの薬理作用に關与しうる新たな因子として薬剤取り込みポンプであるorganic cation transporterに着目して研究を継続中である。

研究成果の概要(英文)：Aim of this study is to find a clinical biomarker for amrubicin treatment and its mechanism. We found that polymorphisms of ABCB1 have relationship with amrubicin-induced neutropenia. Also, we had a result that area under the plasma concentration versus time curve (AUC) values of amrubicinol have a significant relation with grade of neutropenia during amrubicin treatment. However, we could not reach to identify the factor which regulates AUC value of amrubicinol. We now focus on organic cation transporter (OCT) and have continued to investigate factors which regulate pharmacological function of amrubicin.

研究分野：肺癌化学療法

キーワード：小細胞肺癌 抗癌剤治療 一塩基多型 アムルピシン

1. 研究開始当初の背景

小細胞肺癌 (Small cell lung cancer: SCLC) の罹患患者数は肺癌の 10-15% であるが、非小細胞肺癌 (non-SCLC: NSCLC) に比べ腫瘍の増殖が早く予後が不良のため、死亡者数では肺癌の 25% を占める。SCLC では手術が可能な段階で発見されることはほとんどなく、基本的には化学療法で治療されるが、5 年生存率は 5% 未満と悪性腫瘍のなかでも極めて不良である。このため治療予後改善にむけて特に既治療症例に対する新たな治療戦略の構築が強く望まれている。

アムルビシンは本邦で開発されたアントラサイクリン系抗癌剤であり SCLC について標準治療を大きく上回る成績が報告され、その役割が世界的にも注目されている。SCLC の治療では臨床応用可能な分子標的が未だ解明されておらず、近未来的な SCLC の治療成績改善にはアムルビシンの果たす役割が大きいと考えられる。本研究はアムルビシンを安全かつ有効的に使用するための効果や副作用を予測するバイオマーカーの解明が求められる。

2. 研究の目的

アムルビシンの薬剤排泄や代謝に関わる遺伝子多型の検討から効果や副作用予測バイオマーカーを同定し、安全性、有効性に優れた治療戦略を構築する。

3. 研究の方法

(1) アムルビシンの効果や副作用に関連する SNPs の解明

アムルビシンの副作用としては血液毒性の頻度が高く、グレード 4 の好中球減少は 50% を超え、発熱性好中球減少も 10% 以上とされている。当院でアムルビシン治療を行った肺癌症例を連続的に調査し、アムルビシン初回治療時の副作用を評価した。

また、ABCB1 (MDR1; P-glycoprotein (P-gp)) は ATP-binding cassette transporter の一つで、アムルビシンとその活性体であるアムルビシノールはいずれも ABCB1 の基質である。我々はこれまでに ABCB1 の発現がアムルビシノールの細胞内濃度に関与し、アムルビシンの獲得耐性に関与することを報告している。この ABCB1 遺伝子には多くの一塩基多型 (SNP) が報告されており、このうち C3435T、G2677T/A、C1236T については ABCB1 の機能や発現への関与が報告されている。本研究ではこれらの ABCB1 遺伝子多型を含む SNPs とアムルビシン治療成績との関係を検討する。

SNP の検討については遺伝子解析研究について文書で同意を得た患者を対象に、DNA extraction kit (Qiagen) を用いて末梢血から DNA を採取した。遺伝子型の決定は StepOnePlus Real-Time PCR System と Taqman

Drug Metabolism Genotyping Assays (いずれも Applied Biosystems) を用いて行った。検討した主な遺伝子型の Assay-ID は下記の通り。C1236T; C_7586662_10, C3435T; C_7586657_20, G2677T; C_11711720D_40, G2677A; C_11711720C_30

(2) アムルビシン治療におけるアムルビシノール血中濃度と臨床成績の関連の検討

アムルビシンは生体内でアムルビシノールに還元されて効果を発揮する。アムルビシノールの血中濃度と好中球減少との関連を明らかにするとともに、アムルビシノールの濃度に影響を与える因子を検討する。

アムルビシン初回治療時のアムルビシンとアムルビシノールの血中濃度を測定し、治療中の好中球数最低値と患者背景との関係を検討する。本研究ではアムルビシン治療を開始する肺癌患者のうち、研究への参加について本人から文書同意が得られた患者を対象とし、治療開始前の血液検査値で高度の臓器機能障害を有する患者や 85 歳以上は除外した。アムルビシンおよびアムルビシノールの血中濃度は初回のアムルビシン治療直後から翌日までの 7 点で血液を採取し HPLC 法で測定した。

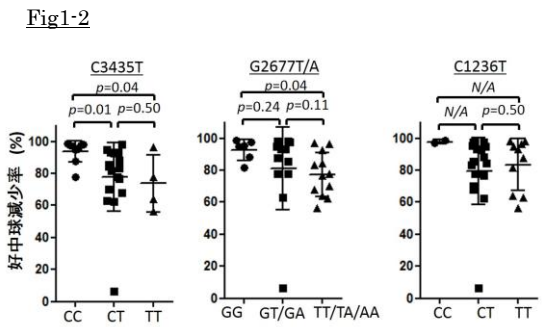
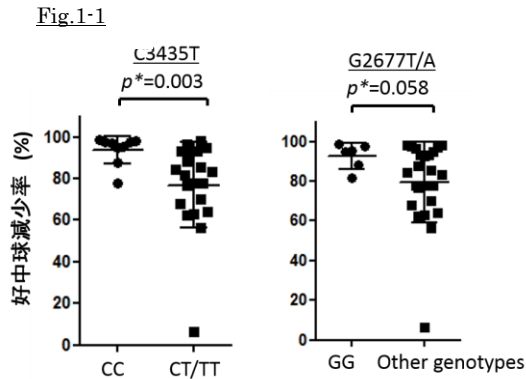
(3) アムルビシノールの薬物動態パラメーターを規定する因子の解明

アムルビシンの臨床成績に影響する薬物動態パラメーターについて、その値を規定する因子を検討する。具体的には腎機能や年齢などの患者因子や ABCB1 遺伝子を含む SNPs との関係性を検討する。

4. 研究成果

(1) アムルビシンの効果や副作用に関連する SNPs の解明

アムルビシンで治療を行った肺癌患者 53 名について、アムルビシン治療の用量と初回治療時の好中球減少の程度の間関連を検討した。その結果、40mg/m² で治療した症例 (N=30) では減量して治療した症例 (N=23) に比べ、G4 好中球減少の頻度が有意に高かった。そこで、40mg/m² で治療した症例において ABCB1 の SNPs (C3435T, G2677T/A, C1236T) の遺伝子型と好中球減少率との関連を検討した。その結果、いずれの SNPs においても野生型ホモの遺伝子型を有する症例では他の遺伝子型に比べて好中球減少率が高い傾向がみられた (Fig1-1)。そこで、C3435T と G2677T/A について野生型ホモとそれ以外の 2 群で好中球の減少率を比較した。CC の症例では、CT および TT の症例に比べ好中球数減少率が有意に大きく、G2677T/A についても GG の症例では、G アレルを有さない遺伝子型の症例に比べ好中球減少率が有意に高かった (Fig1-2)。



また、C3435T が CC 型の症例における G4 好中球減少の頻度は、その他の遺伝子型の症例の頻度に比べ有意に高かった (P=0.03)。一方、35mg/m² 以下で治療した症例に関してはこれらの遺伝子型と好中球減少率との間に有意な関係は認めなかった。

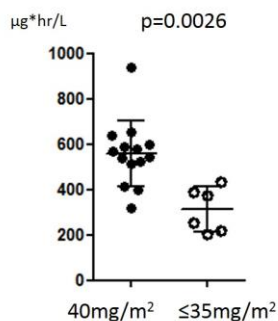
これらの結果から、ABCB1 の SNPs はアムルビシンによる好中球減少の発現に関与し、40mg/m² での治療症例において重篤な好中球減少の発症を予測するバイオマーカーとなる可能性が考えられた。

(2) アムルビシン治療におけるアムルビシノール血中濃度と臨床成績の関連の検討

文書で同意が得られた 20 名についてアムルビシンおよびアムルビシノールの血中濃度を測定し治療内容および副作用との関係を検討した。

40mg/m² 治療症例では 35mg/m² 以下での治療例に比べてアムルビシノール AUC 値が有意に高値く (Fig2-1)、治療中の Nadir 好中球数も有意に低かった。このことからアムルビシン治療の好中球減少の程度はアムルビシノールの血中濃度に依存することが示唆された。

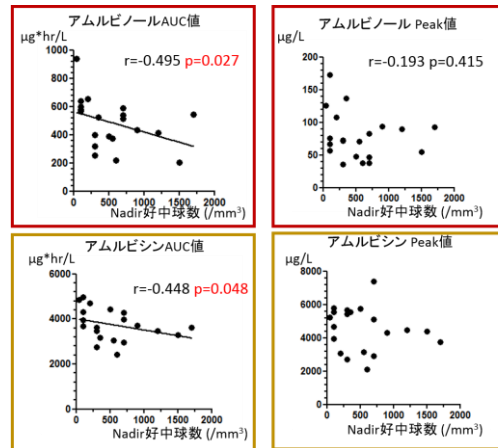
Fig2-1



次にアムルビシノールおよびアムルビシンの薬物動態パラメータ

一値と AUC 値と Nadir 好中球数の関係を検討した。その結果、アムルビシンおよびアムルビシノールの AUC 値と Nadir の好中球値の間に有意な負の相関を認めた (Fig2-2)。一方 Peak 値と Nadir 好中球数の間には有意な相関を認めなかった。

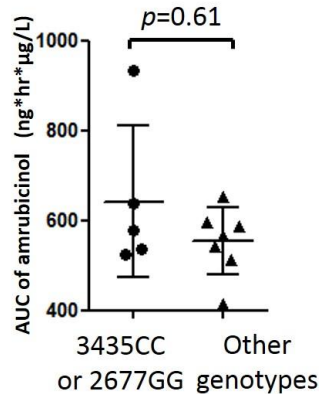
Fig2-2



(3) アムルビシノールの薬物動態パラメータを規定する因子の解明

ここまでの検討で ABCB1 の SNPs がアムルビシン治療に伴う重度の好中球減少を予測するバイオマーカーとなりえること (検討 1)、アムルビシン治療の好中球減少の程度にはアムルビシノールの AUC 値が関連することが明らかになった。また、同じ用量で治療した症例においてもアムルビシノールの AUC 値にはばらつきが大きく、そのことが好中球減少の程度に影響していることが判明した。検討 1 での結果から、ABCB1 の SNPs がこの AUC を規定する因子であるとの推測しその関係性を検討したが、これらの SNPs の遺伝子型と血中濃度の間には有意な関係を見出すことはできなかった (Fig3-1)。ABCB1 は血中濃度への影響とは異なる点でアムルビシンの好中球減少に影響していることが考えられた。

Fig3-1

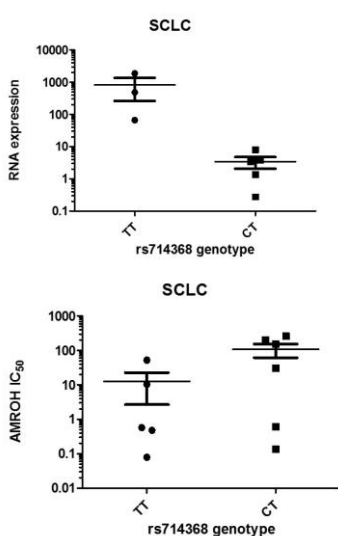


また、腎機能、対表面積、年齢などの患者背景因子についてもアムルビシノール AUC 値との間に有意な関係は見出せず、アムルビシノールの血中濃度については未知の要因が関与している可能性が考えられアムルビシンの薬理作用に

関与する新たな因子の解明を試みた。

アムルビシンと同じアントラサイクリン系抗癌剤である Doxorubicin (DTX) は薬剤取り込みポンプである organic cation transporter (OCT) の器質であり、OCT-6 の責任遺伝子である SLC22A16 の SNPs が基質薬剤の臨床アウトカムの関連することが複数報告されている。そこでアムルビシンおよびアムルビシノールの薬理作用への OCT の関与について小細胞肺癌細胞株を用いて基礎的に検討した。その結果、SLC22A16 の SNP が野生型の細胞株では変異型の細胞株に比べて SLC22A16 遺伝子の発現量が高く、アムルビシノールに対する感受性が高い傾向であった (Fig3-2)。このことから OCT-6 はアムルビ

Fig3-2



シンおよびアムルビシン-OH を基質とし、同薬の薬理作用に関与している可能性が考えられる。現在同遺伝子を knock-out した細胞株の樹立中であり、アムルビシンと OCT-6 と関係性について更に検討を継続する予定である。

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 1 件)

Takakuwa O, Oguri T, Uemura T, Kunii E, Nakao M, Hijikata H, Kawaguchi Y, Ohkubo H, Takemura M, Maeno K, Niimi A. ABCB1 Polymorphism as a Predictive Biomarker for Amrubicin-induced Neutropenia. Anticancer Res 34: 3517-22, 2014. 査読有

[学会発表] (計 3 件)

Takakuwa O, Oguri T, Uemura T, Kunii E, Hijikata H, Yokoyama M, Ohkubo H, Takemura M, Maeno K, Niimi A. ABCB1 polymorphisms as a predictive biomarker of neutropenia induced by amrubicin. European Cancer Congress 2013. 2013 年 9 月 27 日～10 月 1 日 オランダ・アムステルダム.

高桑 修、小栗鉄也、國井英治、上村剛大、

浅野貴光、市川博也、竹村昌也、前野 健、新実彰男.

アムルビシンによる好中球減少における ABCB1 遺伝子多型の関与

第 54 回日本肺癌学会 2013 年 11 月 21 日
ホテルニューオータニ (東京都・千代田区)

高桑 修、小栗鉄也、上村剛大、國井英治、福光研介、武田典久、川口裕子、大久保仁嗣、竹村昌也、前野 健、新実彰男

アムルビシン治療におけるアムルビシノール血中濃度と好中球減少症の関連の検討

第 55 回日本肺癌学会 2014 年 11 月 15 日
国立京都国際会館 (京都府・京都市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高桑 修 (Takakuwa, Osamu)

名古屋市立大学・医学研究科・助教

研究者番号: 10647332