

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461152

研究課題名(和文) 肺癌に対する抗VEGF治療に血管内皮前駆細胞が及ぼす影響に関する検討

研究課題名(英文) The number of endothelial progenitor cells predicts the treatment response in non-squamous non-small-cell lung cancer patients treated with combined chemotherapy and bevacizumab

研究代表者

佐藤 一洋 (Kazuhiro, Sato)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：30436191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Bevacizumabは腫瘍血管新生を標的とし、化学療法に併用される。循環EPC数は、腫瘍血管新生マーカーであるが、この研究の目的は、NSCLC患者のBev.併用化学療法の効果とEPC数との関連の調査である。

未治療NSCLC患者、EPCのレベルに関連して2つの群に分け、各群において、Bev.併用の有無による腫瘍縮小率、無増悪生存期間、客観的奏効率、および疾患制御率を比較した。高EPC群においてのみ、Bev.併用化学療法は、有意に腫瘍減少率、ORRおよびPFSの上乗せをもたらした。EPCの数は、NSCLC患者でBev.の上乗せ効果を予測するバイオマーカーとなりえる。

研究成果の概要(英文)：Bevacizumab targets tumor angiogenesis, which is the standard approach to be combined with chemotherapy. Also, the number of circulating EPCs is known to be tumor angiogenesis marker. This study aimed to investigate the association between the number of EPCs when treated with chemotherapy in combination with bevacizumab and the disease outcomes in NSCLC patients.

We identified NSCLC patients who had not received any treatment. We divided into two groups relative to the level of EPCs. In each group we compared the tumor reduction ratio, progression-free survival, the objective response ratio, and the disease control ratio with or without administering Bevacizumab in combination. Only in the high EPC group, chemotherapy in combination with bevacizumab produced a significantly higher tumor reduction ratio and ORR and significantly longer PFS compared to the absence of bevacizumab. The number of EPCs may act as a biomarker for predicting the additional effect of Bev. in NSCLC patients.

研究分野：肺癌

キーワード：腫瘍血管新生

1. 研究開始当初の背景

(1) 肺癌領域では新規抗癌剤が多数開発され、最近では、癌の組織型、EGFR 遺伝子変異などから、より効果の高い薬剤を選択するテーラーメイド治療が行われ始めている。非扁平上皮癌では腫瘍血管新生をターゲットにした抗 VEGF 薬である bevacizumab が治療適応となっており、同様に治療効果を予測しうるバイオマーカーが必要となる。

(2) 腫瘍血管新生は腫瘍細胞の増殖速度に大きな影響を与え、血管新生を抑制することは腫瘍の進展抑制、増殖抑制、転移の防止など抗腫瘍効果につながる。EPC は骨髄から動員され、血管内皮へと分化する細胞であり、腫瘍血管内皮にも分化している。EPC は、癌細胞由来の IL-8 や VEGF-A の影響を強く受けて増殖、成熟している点、EPC 数が腫瘍血管新生と関連があることから、肺癌の腫瘍血管のマーカーと考えられる。

自験例でも健常者にくらべ肺癌患者では末梢血中の EPC は高値であり、EPC 数は化学療法による腫瘍縮小率および、無増悪生存期間の間に負の相関認められている。

(3) Bev. は VEGF-A を中和することで血管新生を抑制する分子標的治療薬であるが、Bev. 併用化学療法の効果は EPC の高低にかかわらず同等との報告が多い。この結果は、化学療法の効果に劣る EPC 高値群でも Bev. を併用することで、治療抵抗性を改善できるのではないかと可能性を示唆している。従来化学療法でも有効な EPC 低値群には Bev. の上乗せ効果が低く、効果が得られにくい EPC 高値群で Bev. の上乗せ効果が大きい可能性を考えた。そして、Bev. 併用化学療法が選択されるべきか否かのマーカーとして EPC が有用との仮説をたて検証を行うこととした。

2. 研究の目的

Bev. 併用化学療法により、EPC 高値群の治療効果が改善することを検証。続いて、EPC 高値の非扁平上皮肺癌患者を対象に Bev. 併用化学療法と非併用化学療法の比較を行うことで、Bev. 併用療法の適応を確立する。

3. 研究の方法

非扁平上皮癌患者にける Bev. 併用による効果の上乗せが EPC 値と関連していることを明らかにする。

そのため、手術不能未治療非扁平上皮癌患者を対象とする多施設共同の臨床研究で Bev. 併用化学療法と通常化学療法を行い、EPC の高低と奏効率、腫瘍縮小率、無増悪生存期間などとの関連を評価する。研究期間後も経過を追い、生命予後との関連も検証する。

(1) 肺癌患者の登録

患者は倫理委員会の承認が得られた参加施設もしくは当施設で治療を行うが、治療前に肺癌患者の背景因子として組織型、分化度、転移の有無、腫瘍径、PET による SUV 値を評価する。評価は一般に臨床で用いられている

基準で行う。

(2) 患者の EPC とサイトカインの測定

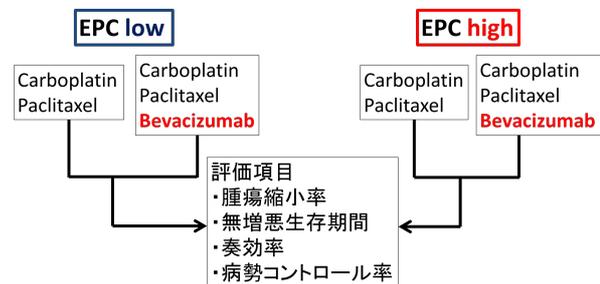
EPC、サイトカインの測定は、すべて当施設へ血液をみつめて行う。EPC はフローサイトメトリーを用い、CD34+、VEGFR2+、CD133+ ポジティブな細胞をカウントして用いる。EPC に関与しうるサイトカインとして VEGF-A、EGF、IGF-1、PDGF、bFGF、MMP-9、IL-8 も同時に測定する。測定は ELISA 法で行う。

(3) 治療

治療内容は Bev. 併用 carboplatine + Paclitaxel 療法または非併用化学療法を選択する。本来は治療の振り分けはランダム化すべきではあるが、この検討では十分な症例数を確保するため、Bev. 適応症例は優先的に Bev. 併用治療を行う。

(4) 統計

治療前の EPC 値の高低により患者を 2 群に分け、治療毎で効果を比較する。EPC 高低の cutoff 値は 1000/ml とする。Primary endpoint としては腫瘍縮小率を secondary endpoint として、奏効率、無増悪生存期間を用いる。



4. 研究成果

(1) 患者の特徴

2012 年 1 月から 2015 年 11 月まで、未治療非扁平上皮癌の 25 人の患者をこの研究に登録した。患者の年齢は中央値 65 歳 (範囲: 50~76 歳) で男性 20 人、女性 5 人であった。患者にはそれ以外の悪性腫瘍、重度の糖尿病、創傷、および EPC の数に影響を及ぼす可能性のある炎症性疾患はなかった。しかし、5 人の患者は高血圧を有し、3 人は異常脂質血症を有し、1 人は気管支喘息を有した。合計 25 人の患者のうち、20 人が元喫煙者であり、5 人が喫煙歴がなかった。すべての患者は腺癌で、1 例は a 期、2 例は b 期、22 例は c 期であった。カルボプラチン (AUC = 5mg/L/h)、パクリタキセル (1 日目は 200mg/m²)、およびベバシズマブ (15mg/kg) もしくはカルボプラチン (AUC = 5mg/L/h) およびパクリタキセル (1 日目に 200mg/m²) からなる化学療法を受けた。化学療法は 3 週間にわたって投与された。

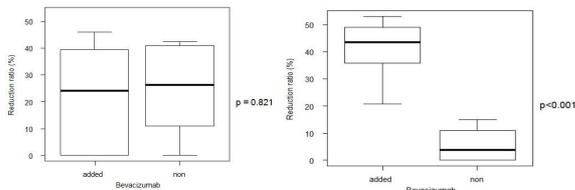
化学療法前の平均循環 EPC 数は、末梢血 1,128 ± 680.3/mL であった。末梢血中 EPC 中央値は 976/mL であった。

VEGF-A、IL-8、IL-10、および PDGF-BB の血清レベルを、化学療法の投与前に ELISA を用いて測定したが、EPC 数との間には相関はみ

られなかった。

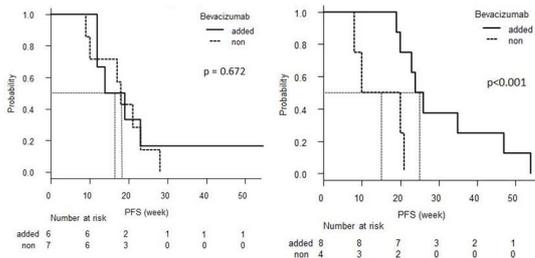
(2)EPC 中央値で患者を「高 EPC」および「低 EPC」群 2 つの群に分けた。高 EPC 群は 12 人、低 EPC 群は 13 人であったが、高 EPC 群と低 EPC 群の間の特性のいずれにおいても有意差はなかった。

化学療法へ Bev. の併用有無において、各々高 EPC 群と低 EPC 群との間で腫瘍縮小率、無増悪生存率、客観的奏功率および疾患制御率を比較した。高 EPC 群では、Bev. で治療した患者の腫瘍縮小率は、化学療法のみを受けた患者よりも有意に高かった ($P < 0.001$) しか、低 EPC 群では、Bev. 併用の有無にかかわらず腫瘍縮小率に有意差はなかった ($P = 0.821$) 。



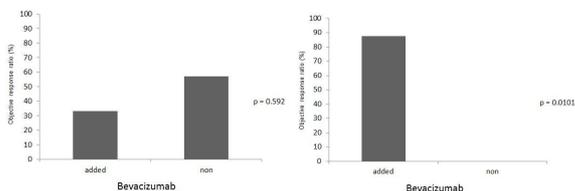
Low EPCs group High EPCs group
図 1 : Comparison of reduction rate according to the presence or absence of bevacizumab.

高 EPC 群では、Bev. 併用により無増悪生存期間は有意に長くなった ($P < 0.001$) が、低 EPC 群では、Bev. 併用の有無にかかわらず無増悪生存期間に有意差はなかった ($P = 0.672$) 。



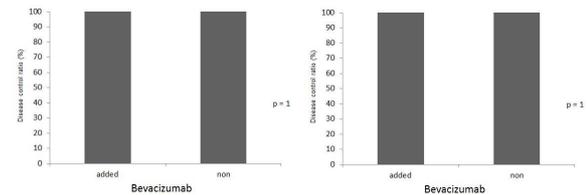
Low EPCs group High EPCs group
図 2 : Comparison of reduction rate according to the presence or absence of bevacizumab.

高 EPC 群では、Bev. 併用により客観的奏功率は有意に高かった ($P = 0.0101$)。低 EPC 群では Bev. 併用の有無にかかわらず有意差はなかった ($P = 0.592$) 。



Low EPCs group High EPCs group
図 3: Comparison of objective response rate according to the presence or absence of bevacizumab.

また EPC はその高低にかかわらず、Bev. の併用有無で疾患制御比に有意差はなかった ($P = 1$) 。



Low EPCs group High EPCs group
図 4 : Comparison of disease control rate according to the presence or absence of bevacizumab.

< 引用文献 >

Angelo LS, Kurzrock R. Vascular endothelial growth factor and its relationship to inflammatory mediators Clin Cancer Res 13:2007.2825-2830
doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2416

Asahara T et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis Science (New York, NY) 275:1997.964-967

Dome B, Hendrix MJ, Paku S, Tovari J, Timar J Alternative vascularization mechanisms in cancer: Pathology and therapeutic implications The American journal of pathology 170:2007.1-15
doi:10.2353/ajpath.2007.060302

Dome B et al. Identification and clinical significance of circulating endothelial progenitor cells in human non-small cell lung cancer Cancer Res 66:2006.7341-7347
doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-4654

Eisenhauer EA et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) European journal of cancer (Oxford, England : 1990) 45:2009.228-247
doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026

Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D .Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia

Nature 339: 1989. 58-61
doi:10.1038/339058a0

George ML, Tutton MG, Janssen F, Arnaout A, Abulafi AM, Eccles SA, Swift RI .VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D in colorectal cancer progression Neoplasia 3:2001.420-427

Goldstraw P et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer 2:2007.706-714
doi:10.1097/JTO.0b013e31812f3c1a

Gridelli C, Rossi A, Maione P. Treatment of non-small-cell lung cancer: state of the art and development of new biologic agents Oncogene 22:2003.6629-6638
doi:10.1038/sj.onc.1206957

Hatanaka H et al. Significant correlation between interleukin 10 expression and vascularization through angiopoietin/TIE2 networks in non-small cell lung cancer Clin Cancer Res 7:2001.1287-1292

Hellberg C, Ostman A, Heldin CH .PDGF and vessel maturation Recent results in cancer research Fortschritte der Krebsforschung Progres dans les recherches sur le cancer 180:2010.103-114
doi:10.1007/978-3-540-78281-0_7

Herbst RS, Onn A, Sandler A . Angiogenesis and lung cancer: prognostic and therapeutic implications J Clin Oncol 23:2005.3243-3256
doi:10.1200/jco.2005.18.853

Hilbe W et al. CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer

Journal of clinical pathology 57:2004.965-969

doi:10.1136/jcp.2004.016444

Horinouchi H. Anti-vascular endothelial growth factor therapies at the crossroads: linifanib for non-small cell lung cancer Translational lung cancer research 5:2016.78-81

doi:10.3978/j.issn.2218-6751.2015.06.08

Hristov M, Erl W, Weber PC .Endothelial progenitor cells: isolation and characterization Trends in cardiovascular medicine 13:2003.201-206

Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics Bone marrow transplantation 48:2413.52-458
doi:10.1038/bmt.2012.244

Laack E et al. (2002) Pretreatment serum levels of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in non-small-cell lung cancer Ann Oncol 13:1550-1557

Maeda R et al. Number of circulating endothelial progenitor cells and intratumoral microvessel density in non-small cell lung cancer patients: differences in angiogenic status between adenocarcinoma histologic subtypes Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer 7:2012.503-511
doi:10.1097/JTO.0b013e318241780e

Morita R et al. Endothelial progenitor cells are associated with response to chemotherapy in human non-small-cell lung cancer J Cancer Res Clin Oncol 137:2011.1849-1857
doi:10.1007/s00432-011-1043-8

Nakaya A et al. Retrospective analysis of

bevacizumab-induced hypertension and clinical outcome in patients with colorectal cancer and lung cancer *Cancer medicine* 5:2016.1381-1387 doi:10.1002/cam4.701

②①Niho S et al. Randomized phase II study of first-line carboplatin-paclitaxel with or without bevacizumab in Japanese patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer *Lung Cancer* 76:2012.362-367 doi:10.1016/j.lungcan.2011.12.005

②②Nowak K, Rafat N, Belle S, Weiss C, Hanusch C, Hohenberger P, Beck G. Circulating endothelial progenitor cells are increased in human lung cancer and correlate with stage of disease *Eur J Cardiothorac Surg* 37:2010.758-763 doi:10.1016/j.ejcts.2009.10.002

②③Orditura M et al. Elevated serum levels of interleukin-8 in advanced non-small cell lung cancer patients: relationship with prognosis *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research* 22:2002.1129-1135 doi:10.1089/10799900260442557

②④Richter-Ehrenstein C, Rentzsch J, Runkel S, Schneider A, Schonfelder G Endothelial progenitor cells in breast cancer patients *Breast cancer research and treatment* 106:2007.343-349 doi:10.1007/s10549-007-9505-z

②⑤Risau W, Drexler H, Mironov V, Smits A, Siegbahn A, Funa K, Heldin CH. Platelet-derived growth factor is angiogenic in vivo *Growth factors (Chur, Switzerland)* 7:1992.261-266

②⑥Ronzoni M et al. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as predictive markers of clinical response to bevacizumab-based first-line treatment in

advanced colorectal cancer patients *Ann Oncol* 21:2010.2382-2389 doi:10.1093/annonc/mdq261

②⑦Sanmamed MF et al. Serum interleukin-8 reflects tumor burden and treatment response across malignancies of multiple tissue origins *Clin Cancer Res* 20:2014.5697-5707 doi:10.1158/1078-0432.ccr-13-3203

②⑧Siegel RL, Miller KD, Jemal A *Cancer statistics, 2016 CA: a cancer journal for clinicians* 66:2016.7-30 doi:10.3322/caac.21332

②⑨Willett CG et al. Surrogate markers for antiangiogenic therapy and dose-limiting toxicities for bevacizumab with radiation and chemotherapy: continued experience of a phase I trial in rectal cancer patients *J Clin Oncol* 23:2005.8136-8139 doi:10.1200/jco.2005.02.5635

③⑩Yu M, Men H-T, Niu Z-M, Zhu Y-X, Tan B-X, Li L-H, Jiang J. Meta-Analysis of Circulating Endothelial Cells and Circulating Endothelial Progenitor Cells as Prognostic Factors in Lung Cancer *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16:2015.6123-6128 doi:10.7314/apjcp.2015.16.14.6123

③⑪Zhao Y, Adjei AA. Targeting Angiogenesis in Cancer Therapy: Moving Beyond Vascular Endothelial Growth Factor *The oncologist* 20:2015.660-673 doi:10.1634/theoncologist.2014-0465

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2件)

H. Kobayashi, K. Sato, T. Niioka, M. Takeda, Y. Okuda, M. Asano, H. Ito, M. Miura, Effects of polymorphisms in CYP2D6 and ABC transporters and side effects induced by gefitinib on pharmacokinetics of the gefitinib metabolite, O-desmethyl gefitinib. Medical oncology 33, 2016, 57-64. DOI 10.1007/s12032-016-0773-5

H. Kobayashi, K. Sato, T. Niioka, H. Ito, M. Miura. Relationship among gefitinib exposure, polymorphism of its metabolizing enzymes and transporters, and side effects in Japanese patients with non small cell lung cancer. Clon Lung Cancer. 16. 2015. 274-281. DOI: 10.1016/j.clonc.2014.12.004

[学会発表](計7件)

佐藤一洋. 今東北から発信する呼吸器臨床の未来. 日本呼吸器学会東北地方会、招待講演. 2015年3月7日. 仙台.

奥田佑道、佐藤一洋、三浦昌朋、小林裕幸、新岡文典、坂本祥、浅野真理子、三浦肇、高田正英、飯野健二、佐野正明、渡邊博之、塩谷隆信、伊藤宏. Gefitinib 血中濃度と治療効果の関係について. 日本肺癌学会各術集会. 2015年11月26日. 横浜

須藤和久、佐藤一洋、奥田佑道、浅野真理子、守田亮、竹田正秀、佐野正明、渡邊博之、塩谷隆信、伊藤宏. 非扁平上皮癌における血管内皮前駆細胞高値症例に対する Bevacizumab 併用化学療法の治療交換移管する検討. 第56回日本呼吸器学会学術講演会. 2016年4月8日. 京都.

K.Sudo, K. Sato, Y. Okuda, Y. Hasegawa, M. Asano, M. Takeda, K. Iino, M. Sano, M. Miura, H. Watanabe, T. Shioya, H. Ito. High endothelial progenitor cells induce a high response in patients treated with chemotherapy in combination with bevacizumab in non small non squamous cell lung cancer. The 21st congress of Asian pacific society of respirology. 11/12/2016. Thailand.

Y. Okuda, K. Sato, K.Sudo, Y. Hasegawa, M. Asano, M. Takeda, K. Iino, M. Sano, M. Miura, H. Watanabe, T. Shioya, H. Ito. High plasma concentration of gefitinib in patients with EGFR exon21 L858R point mutation is compared to low plasma concentration, progression free survival was prolonged. The 21st congress of Asian pacific society of respirology. 11/12/2016. Thailand.

Y.Okuda, K. Sato, H. Ito. Low plasma concentration of gefitinib in patients

with EGFR exon21 L858R point mutation shorten progression free survival. The ATS international conference. 5/15/2015. USA. [図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等
<http://www.med.akita-u.ac.jp/~naika2/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤一洋 (SATO, Kazuhiro)
秋田大学・医学部・講師
研究者番号: 30436191

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()