

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15282

研究課題名(和文)世界初抗癌剤のDNA取り込み量高感度測定法を利用したTFTD感受性機序の評価

研究課題名(英文) Detection of trifluridine in tumors of patients with metastatic colorectal cancer treated with trifluridine/tipiracil

研究代表者

中西 良太 (NAKANISHI, Ryota)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：90771254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：TFTD(ロンサーフ：TAS-102)の進行再発大腸癌に対する効果発現機序の解明を目指した。当教室で発見したFTDの特異的抗体を用いた免疫組織化学染色にて、末梢血単核球内以外にも、癌組織(肝転移巣、リンパ節転移巣、腹膜播種巣)の核内にFTDを同定できた。腹膜播種マウスを用いた検討において、FTDの癌組織内での薬物動態を解析できた。これらの結果よりFTDが骨髄細胞(非癌組織)よりも癌組織において長期にとどまることが示唆され、血液毒性と抗腫瘍効果に関わる薬物動態についての新知見となった。以上の結果を国際英文誌(Cancer Chemotherapy and Pharmacology)に報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は癌組織(肝転移巣、リンパ節転移巣、腹膜播種巣)の核内に抗癌剤の有効成分を直接同定でき、さらにその経時的な発現の変化を記述した初めての報告となった。また正常組織における評価も行うことで癌部と非癌部における薬物動態の違いを評価できている。これらの結果よりTFTD(ロンサーフ)が非癌部(末梢血内)よりも癌組織において長期にとどまり、血液毒性と抗腫瘍効果に関わる薬物動態についての新知見となった。

研究成果の概要(英文)：We aimed to assess the working mechanism of trifluridine/tipiracil for metastatic colorectal cancer. Tumors and normal tissue specimens were obtained from metastatic colorectal cancer patients who were administered FTD/TPI. On the other hand, tumors and bone marrow were resected from mice with peritoneal dissemination treated with FTD/TPI. To detect FTD incorporated into DNA, immunohistochemical staining was performed with newly discovered anti-FTD antibody. FTD was detected in metastatic tumors obtained from mCRC patients who were administered FTD/TPI. In a peritoneal dissemination mouse model, FTD was still detected longer in tumors than in bone marrow after the cessation of FTD/TPI treatment. These results indicate that FTD persists longer in tumors than in bone marrow, which may cause a sustained antitumor effect with tolerable hematotoxicity. We reported this result to a international peer-reviewed journal (Cancer Chemotherapy and Pharmacology: impact factor 3.008).

研究分野：大腸癌

キーワード：rifluridine/tipiracil colorectal cancer chemosensitivity Pharmacokinetics

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)大腸癌は先進国にて徐々に増加傾向を認め、本邦でも癌関連死の女性1位、男性3位である。大腸癌治療ガイドラインにおいて現在 3rd line 以降で使用することが推奨されている TFTD(Trifluridine and Tipiracil hydrochloride)は、Phase III 臨床試験において進行再発大腸癌に対する有効性が報告された代謝拮抗薬である。進行再発大腸癌の一次治療での有用性の検証も臨床試験で行われており、TFTD を含む化学療法は今後さらに適応拡大が予想される大腸癌治療における大きなトピックスの一つである。

(2)我々は、細胞株や動物を用いた系において DNA 中の FTD が市販の抗 BrdU 抗体により特異的に検出されることを初めて報告した。さらに同抗体を用いた詳細な検討、条件設定により、TFTD を投与された大腸癌症例における末梢血単核球細胞の DNA に取り込まれた FTD の高感度測定法を開発、報告した。

2. 研究の目的

(1)本研究の目的は、TFTD の効果発現のメカニズムの解明と、新規感受性予測因子の発見による治療最適化である。

(2)抗 FTD 特異的抗体を用いてヒト、マウスにおける薬物動態を解明する。

3. 研究の方法

(1)TFTD の DNA 取り込み量高感度測定法を用いて、TFTD を使用した大腸癌症例における DNA 取り込み量を測定する。

(2)遠隔転移を伴う大腸癌症例において、TFTD 投与後に日常臨床内で採取された腫瘍組織及び非腫瘍組織を収集した。また大腸癌腹膜播種担癌マウスの骨髄および腫瘍組織を採取した。

(3)ヒト検体およびマウス検体を用いて抗 FTD 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、薬物の投与歴やその他の臨床病理学的因子と比較し FTD の薬物動態を解析した。

(4)マウスの腫瘍および骨髄から採取した DNA を用いて slot-blot 解析を行い、同様に薬物の動態を解析した。

4. 研究成果

TFTD(ロンサーフ：TAS-102)の進行再発大腸癌に対する効果発現機序の解明と感受性予測因子の検索を行った。効果発現機序の解明においては、当教室で発見したTFTDの有効成分FTDの特異的抗体を用いた免疫組織化学染色にて、末梢血単核球内以外にも、癌組織(肝転移巣、リンパ節転移巣、腹膜播種巣)の核内にFTDを同定できた(図1)。TFTD投与中止後の症例においても腫瘍内のFTDがわずかに認められる症例が存在した。一方、TFTD投与後に日常臨床として施行された胃生検の検体など、非癌組織の細胞内には

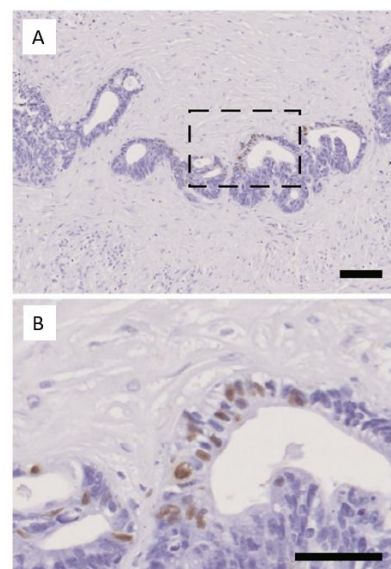


図1 ヒト腫瘍組織におけるFTDの同定(腹膜播種巣 A:弱拡大、B:強拡大)

FTDを同定できなかった。これらの結果より投与後に腫瘍内に取り込まれ、時間経過とともに消退していくこと、また非腫瘍組織においてはFTDの取り込みがない/少ない、または取り込まれても早期に招待する可能性が示唆された。

(2)腹膜播種モデルマウスを用いた検討において、免疫組織化学染色FTDは癌組織にFTD投与13日後にも認められたが、非癌組織（骨髄）では術後6日目にはFTDが消失していた。またslot-blot解析においても、腫瘍部由来DNAにおいてはFTD投与中止後もFTDが一定の割合で認められるのに対し、骨髄由来DNAにおいては投与後に認められたFTDが経時的に速やかに認められなくなった。

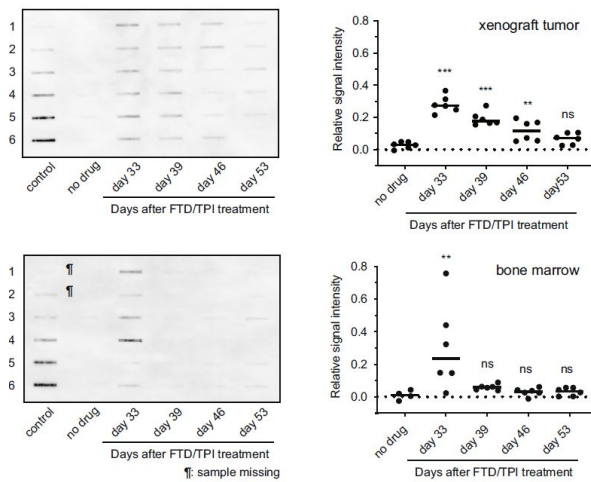


図2 マウス腹膜播種モデルにおけるFTDの同定と薬物動態
(上段；腹膜播種巣(腫瘍部)、下段：骨髄(非腫瘍部))

(3)これらの結果はFTDが骨髄細胞（非癌組織）よりも癌組織において長期にとどまることを示唆しており、血液毒性と抗腫瘍効果に関わる薬物動態についての新知見となった。

(4)我々の施設をプロトコル責任者施設として行われている、TFTDを用いた1次治療のPhase II試験の付随研究として、TFTDの末梢血単核球取り込み割合の推移と化学療法感受性や血液毒性の頻度との比較を行った。症例登録は計画通り進み、現在結果の解析中である。本結果については現在論文執筆を行っており、近日中に国際英文誌に投稿予定である。またその成果を第120回日本外科学会学術集会（COVID-19により延期中）、第75回日本消化器外科学会総会にて発表予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujimoto Yoshiaki, Nakanishi Ryota, Nukatsuka Mamoru, Matsuoka Kazuaki, Ando Koji, Wakasa Takeshi, Kitao Hiroyuki, Oki Eiji, Maehara Yoshihiko, Mori Masaki	4. 巻 なし
2. 論文標題 Detection of trifluridine in tumors of patients with metastatic colorectal cancer treated with trifluridine/tipiracil	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Chemotherapy and Pharmacology	6. 最初と最後の頁 なし
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00280-020-04072-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤本 禎明
2. 発表標題 ロンサーフ（FTD/TPI）投薬患者における腫瘍細胞のトリフルリジン（FTD）取り込 み解析法の開発
3. 学会等名 第119回日本外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本 禎明, 胡 慶江, 笠木 勇太, 津田 康雄, 中島 雄一郎, 安藤 幸滋, 佐伯 浩司, 沖 英次, 森 正樹
2. 発表標題 大腸癌腫瘍組織におけるトリフルリジン検出法の開発
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本 禎明
2. 発表標題 ロンサーフ（FTD/TPI）投薬患者における腫瘍細胞のトリフルリジン（FTD）取り込 み解析法の開発
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----