

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590538
 研究課題名（和文） ゲフィチニブ血中濃度モニタリングによる肺癌患者の個別化治療の可能性の検討
 研究課題名（英文） POSSIBILITY OF PERSONALIZED TREATMENT IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER BY MONITORING OF SERUM CONCENTRATION OF GEFITINIB
 研究代表者
 中村 洋一（NAKAMURA YOICHI）
 長崎大学・医学部・歯学部附属病院・助教
 研究者番号：20432974

研究成果の概要：ゲフィチニブで治療を受けた、進行非小細胞肺癌症例のゲフィチニブ血中濃度を測定し、その抗腫瘍活性との相関を統計学的に解析した。その結果、内服開始後 8 日目の血中濃度（トラフ値）と 3 日目の血中濃度（トラフ値）の比が、ゲフィチニブの抗腫瘍活性と相関することが明らかとなった。一方で、有害事象と血中濃度の相関は統計学的に認めなかった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：臨床薬理学、肺癌、分子標的治療、上皮成長因子受容体阻害薬、血中濃度、トラフ値

1. 研究開始当初の背景

EGF受容体チロシンキナーゼ阻害薬 gefitinibは肺非小細胞肺癌の新規分子標的薬である。女性、非喫煙者、腺癌に奏効例が多く、EGF受容体遺伝子変異が効果予測因子の有力な候補として考えられている。しかしながら、EGF受容体遺伝子変異だけでは必ずしも効果予測が確実でないこと、その測定のためには十分な組織量が必要であり、末梢血液検体を用いた新たなマーカーが求められている。また、gefitinibによる薬剤性肺障害は時に

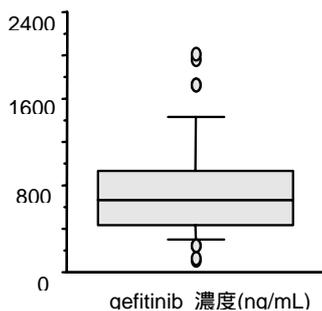
重篤となるが、未だ高リスク群を同定するマーカーや予防方法も発見されていない。また、同じEGF受容体チロシンキナーゼ阻害薬erlotinibは海外の報告では、組織型や喫煙歴と関係なく効果が認められると報告されている。erlotinibと gefitinibの効果の差異については用量設定の違いが原因ではないかと推測されているが明らかでない。

申請者はこれまで gefitinibが細胞表面に発現する薬剤排出ポンプ（MDR1、BCRP）の機能を抑制することを in vitro

で証明した (Nakamura Y, et al. Cancer Res 65:1541-1546, 2005; Kitazaki T, Nakamura Y, et al. Lung Cancer 49:337-343, 2005)。これらの薬剤排出ポンプは消化管粘膜上皮や肝内毛細胆管上皮にも発現しており、gefitinibが経口薬であることより吸収や排泄の個人差を生じる可能性が示唆される。また、申請者は受容体結合型の薬剤は通常の薬剤の薬物動態と異なり、受容体結合による代謝経路が大きく影響することを証明した

(Fukuda M, Soda H, et al. Antimicrob Agents Chemother 45: 1947-1951, 2001)。故に、EGF受容体の変異による薬剤の受容体結合の差異も薬物動態に影響を及ぼす可能性がある。

申請者はgefitinibの血中濃度の測定法 (HPLC法) を樹立し、gefitinib投与後の測定を行ったところ、患者間で血中gefitinib濃度 (トラフ値) の散布度が大きいことを見だし (下図)、なんらかの因子が薬物動態と関わっている可能性と薬物動態の差異が臨床効果や有害事象と関連するのではないかと仮説をたてた。



2. 研究の目的

本研究の目的は gefitinib の血中薬物動態と臨床効果 (奏効率・生存率)、有害事象 (特に肺障害) との関連性について検証することである。さらに、血中薬物動態が、既知の効果予測因子とされる性別、喫煙歴、組織型、EGF 受容体遺伝子変異との相関があるのかについても検討を行う。本研究によって gefitinib の血中薬物動態と臨床効果、肺障害との関連性が証明されれば、gefitinib の Therapeutic Drug Monitoring (TDM) システムが確立され、肺癌の個別化治療が構築できる。

3. 研究の方法

(1) 研究対象：原発巣あるいは転移巣からの組織診または細胞診で非小細胞肺癌であることが診断された症例で、手術不能もしくはは

化学療法後の症例。2) 年齢が 20 歳以上の症例。3) 本試験についての医師の説明を十分に理解し、文書によって参加の同意が得られる症例。以上であるが、以下のような除外規定を設ける。1) 明らかな間質性肺炎または肺繊維症を有する症例。2) 精神疾患または重度の精神症状を合併している症例。3) 妊娠中または授乳中の女性。

(2) 治療内容：Gefitinib 250 mg を 1 日 1 回朝食後に連日内服する。

(3) 症例数および試験期間：50 例を目標とし、登録期間 (集積) は 2 年間とする。

(4) 試料の収集：薬物動態解析のための採血は、gefitinib 治療前、投与 3 日、8 日目、15 日目、29 日目のトラフ値を採血する。EGF 受容体遺伝子変異解析のための試料は、診断時に得られた生検組織、胸水がん細胞、手術時に摘出した肺癌組織 (術後再発例) を用いる。これらは情報管理者による匿名化後に解析が行われる。

(5) Gefitinib 血中濃度の測定：Gefitinib の血中濃度は JUSCO PU-1580 pump と JUSCO 870-UV UV/vis detector (JUSCO Inc., 東京)、Shimazu C-R4A integrator (島津製作所、京都) を用いた HPLC 法にて測定する。なお、Isocratic elution は guard column (5 μ m, 4.6x5 mm) で、Mightysil RP-18 (L) GP column (5 μ m, 4.6x150 mm; 関東化学、東京) を用いて行う。

(6) EGF 受容体遺伝子変異解析：肺癌の生検組織、胸水中の癌細胞、あるいはパラフィン包埋切片から DNA を抽出する。Exon 19 欠失と G719A、L858R の変異はそれぞれに対して独自に作成した primer pair を用い、Exon 19 欠失に対しては PCR 法で、G719A、L858R に対しては PCR-RFLP 法を用いる。制限酵素は G719A については Ban II、L858R については Asu I を用いて判定する。電気泳動で PCR 産物を確認し判定する。

(7) 患者の臨床情報の収集：基本情報 (性別、年齢、喫煙歴、PS、組織型等)、腫瘍縮小効果、生存期間 (Progression-free survival, Overall survival)、有害事象等の臨床情報を収集する。

(8) 統計解析：各 Gefitinib 血中トラフ値、Accumulation index 等の薬物動態パラメーターと各臨床情報との相関解析を行う。また、生存期間については単変量解析は Kaplan-Meier 法による生存率曲線を描き、Log-rank 検定を行う。多変量解析は Cox

比例ハザードモデルを用いて評価する。

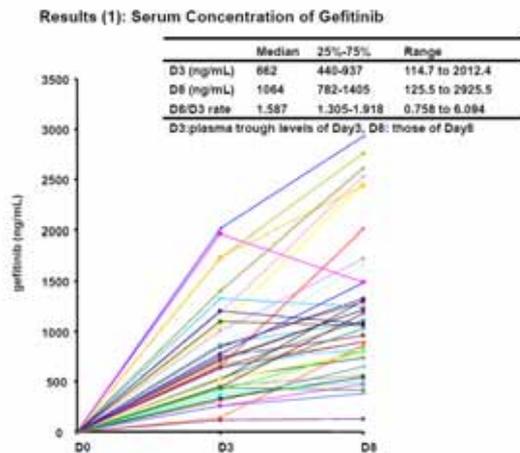
4. 研究成果

(1)下記表に示すように、計 50 名の患者より同意が得られ、最終的に 44 名の患者が解析対象となった。患者背景についても下記表 1 に示す通りである。

Patient Characteristics	
No. assessable/entered	44*/50
Median age (range; yrs)	64.5 (47-76)
<69	29
≥70	15
Men/Women	28/16
WHO performance status	
0 to 1	32
2 to 3	12
Median body surface area (m ²)	1.489
range	1.281-1.826
Stage IIIB/IV	5/39
Prior chemotherapy	
0 to 1 Regimen	15
2 to 4 Regimens	29
Smoking/Never smoking	23/21
Histological subtype	
Adenocarcinoma	40
Non-adenocarcinoma	4

*Reasons for non assessment: sampling failure (4), treatment refusal (1), progressive disease before day7 (1).

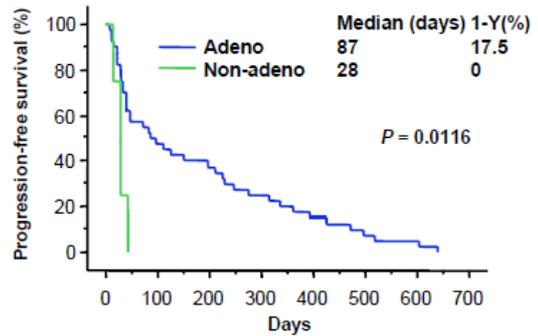
(2)個々の患者におけるゲフィチニブ血中濃度を下図に示す。投与 3 日目 (D3) における血中濃度トラフ値の中央値は 662ng/ml、投与 8 日目 (D8) における血中濃度トラフ値の中央値は 662ng/ml、D8/D3 の中央値は 1.587 であった。



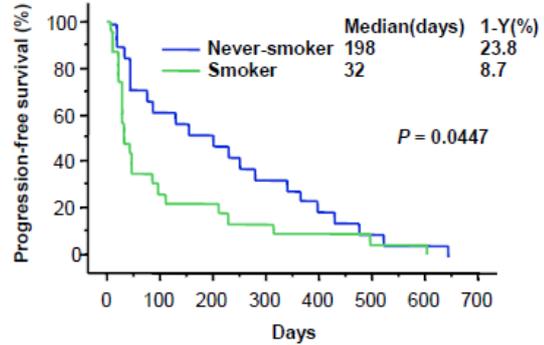
(3)各々の因子と無増悪生存期間の相関関係について単変量解析を行った結果、非喫煙者、腺癌、D8/D3 高値 (中央値以上) がそれぞれ $P = 0.0494$ 、 0.0207 、 0.0158 で有意に予後良好であった。それらの結果をもとに描いた Kaplan-Meier 法による生存率曲線と

Log-rank 検定の結果を示す。

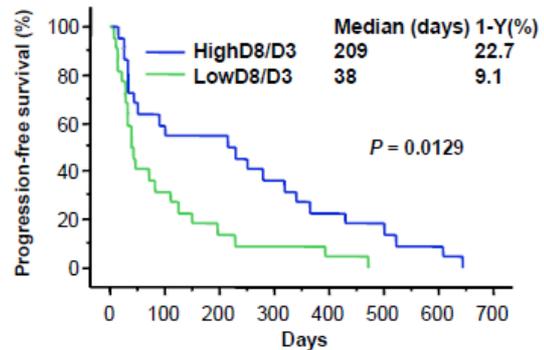
腺癌 vs 非腺癌



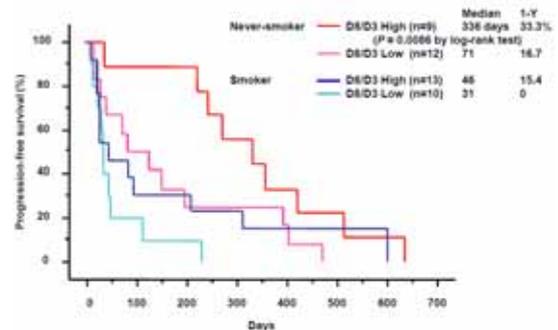
喫煙者 vs 非喫煙者



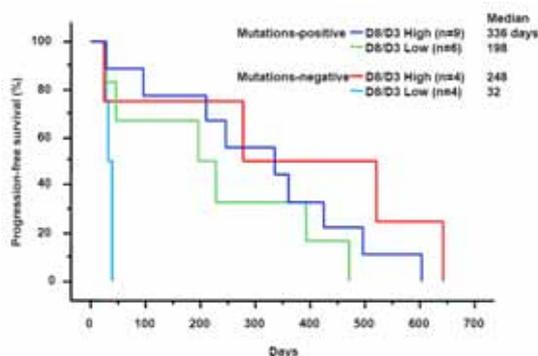
D8/D3 高値 vs D8/D3 低値



これらの因子を対象に Cox 比例ハザードモデルで多変量解析を行った結果、非喫煙者および D8/D3 高値 (中央値以上) がそれぞれ $P = 0.0160$ 、 0.0110 と独立した予後因子であることが明らかとなった。



(4)近年、ゲフィチニブの予後因子としてEGF受容体遺伝子変異が指摘されている。本試験に登録した症例のうち、測定可能な症例より同遺伝子変異を解析し、D8/D3値と層別化した生存解析をした結果、D8/D3値の高値かつEGF受容体遺伝子変異陽性群が最も良好な無増悪生存期間を示した。一方で、D8/D3値の低値かつEGF受容体遺伝子変異陰性群が最も予後不良であった。



(5)以上の結果より、D8/D3値はゲフィチニブの効果予測因子となりうることを示された。D8/D3値は薬剤のAccumulation indexに相当すると考えられるため、同値の改善を図るようなゲフィチニブ投与方法を工夫すれば、同薬剤の抗腫瘍効果をより高めることができる可能性がある。

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 7件)

Nakano H, Soda H, Nakamura Y, et al.: Different epidermal growth factor receptor gene mutations in a patient with 2 synchronous lung cancers. Clin Lung Cancer 8: 562-564, 2007. 査読有

Fukuda M, Soda H, Nakamura Y, et al.: Irinotecan and cisplatin with concurrent split-course radiotherapy in locally advanced nonsmall-cell lung cancer: a multiinstitutional phase 2 study. Cancer 110: 606-613, 2007. 査読有

Takatani H, Soda H, Nakamura Y, et al.: Phase I study of irinotecan and gemcitabine in previously untreated patients with advanced non-small cell lung cancer. Jpn J Clin Oncol 37: 353-357, 2007. 査読有

Nakamura Y, Satake K, Sano K, et al.: Gefitinib increases serum concentrations of oral irinotecan and SN-38 without increasing the biliary

concentration of SN-38 in rats. Chemotherapy 54 : 485-491, 2008. 査読有

Nakano H, Nakamura Y, Soda H, et al.: Methylation status of breast cancer resistance protein detected by methylation-specific polymerase chain reaction analysis is correlated inversely with its expression in drug-resistant lung cancer cells.

Cancer 112 : 1122-1130, 2008. 査読有

Tomonaga N, Nakamura Y, Soda H, et al.; Nagasaki Thoracic Oncology Group: Phase I study of vinorelbine and irinotecan in previously untreated patients with advanced non-small cell lung cancer. Cancer Chemother Pharmacol 62 : 43-49, 2008. 査読有

Soda H, Nakamura Y, Nakatomi K, et al.: Stepwise progression from ground-glass opacity towards invasive adenocarcinoma: long-term follow-up of radiological findings. Lung Cancer 60 : 298-301, 2008. 査読有

[学会発表](計 3件)

Fukuda M, Nakamura Y, Sano K, et al.: Pharmacokinetics of gefitinib predicts the antitumor activity for advanced non-small cell lung cancer. 14th European Cancer Conference, September 25th, 2007, Barcelona.

Iida T, Nakamura Y, Soda H, et al.: Pharmacokinetics of gefitinib predicts the antitumor activity for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). 12th World Conference on Lung Cancer, September 9th, Seoul.

中村、佐野、早田ら: Pharmacokinetics of gefitinib predicts the antitumor activity for NSCLC patients: adding the analysis of EGFR-mutations 第67回日本癌学会学術総会, 2008年10月28日, 名古屋

[図書](計 1件)

中村ら: 中外医学社「抗悪性腫瘍治療薬マニュアル」2007年 485ページ

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

[その他]

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中村 洋一 (NAKAMURA YOICHI)

長崎大学・医学部・歯学部附属病院・助教

研究者番号：20432974

(2)研究分担者

(3)連携研究者

早田 宏 (SODA HIROSHI)

長崎大学・大学院医歯薬総合研究科・客員研

究員

研究者番号：60244042