

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2007～2009
課題番号：19590901
研究課題名（和文） 上皮成長因子受容体阻害薬のサーファクタント分泌抑制効果による肺癌個別化治療の構築
研究課題名（英文） Establishment of personalized therapy with epidermal growth factor receptor inhibitors for lung cancer based on the inhibitory effects of surfactant secretion
研究代表者
早田 宏 (SODA HIROSHI)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・客員研究員
研究者番号：60244042

研究成果の概要（和文）：上皮増殖因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬は非小細胞肺癌の患者の一部に劇的な効果を有する。EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の効果を予測する非侵襲的方法が臨床において必要とされている。サーファクタント蛋白の産生は EGFR からのシグナルによって調整されていると報告されている。今回の研究では、腫瘍中 EGFR 遺伝子変異と治療前の血清サーファクタント蛋白 D 高値が、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の効果を予測できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors have dramatic effects in selective patients with non-small cell lung cancer. A non-invasive method for predicting the efficacy of EGFR tyrosine kinase inhibitors is needed in clinical settings. The production of surfactant proteins is reported to be regulated through the EGF signaling pathway. The present study suggested that EGFR mutations in the tumor and high levels of serum surfactant protein-D before treatment may predict the efficacy of EGFR tyrosine kinase inhibitors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：肺癌，分子標的治療，個別化治療

1. 研究開始当初の背景

上皮増殖因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ阻害薬は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、EGFR 遺伝子変異が効果予測因子として考えられている。しかしながら、EGFR 遺伝子変異だけでは必ずしも効果予測は確実ではない。また、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬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。

申請者はこれまで EGFR チロシンキナーゼ阻害薬が肺癌細胞表面の ABC トランスポーター (MDR1/ABCB1, BCRP/ABCG2) の排出機能を抑制するとともに、抗腫瘍の抗腫瘍効果が高めることを *in vitro* で証明した (Cancer Res 65: 1541-1546, 2005; Lung Cancer 49: 337-343, 2005)。ABC トランスポーターの一つである ABCA3 は正常肺胞 2 型上皮にも存在し、surfactant 蛋白の肺胞内への分泌に関わっている。ABCA3 の基質である surfactant protein C (SP-C) は、その遺伝子異常により肺胞内に分泌されずに肺胞 2 型上皮の障害を引き起こし、間質性肺炎との関与が報告されている。申請者は既に EGFR チロシンキナーゼ阻害薬が粘液産生肺癌の患者で喀痰量を減少させることを報告し、*in vitro* で肺胞 2 型上皮の性格を有する肺癌細胞の粘液 MUC5AC 産生を抑制することを発見した (Lung Cancer 50: 19-24, 2005)。

一方、肺癌マウスモデルにおいては、肺腺癌細胞から SP-D が産生され、血中 SP-D レベルと腫瘍の進展との関連が報告され、EGF シグナルによって Surfactant 蛋白の産生が調整されていることが報告されている。

2. 研究の目的

肺胞 2 型上皮細胞やクララ細胞から産生される surfactant 蛋白は ABC トランスポーターによって肺胞内へ分泌されるが、surfactant 蛋白や ABC トランスポーター遺伝子変異が間質性肺炎の発症と関連することが知られている。一方、マウスモデルにおいて、肺癌細胞から surfactant 蛋白が分泌され、その血中レベルと腫瘍進展が相関するとともに、EGF シグナルが surfactant 蛋白産生に関与することが報告されている。EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の surfactant 蛋白産生・分泌の抑制効果が、抗腫瘍効果とともに肺障害の一因となっている可能性があり、この機序を解明することによって肺癌治療成

績の向上と薬剤性肺障害の予防に展開することを研究目的とする。

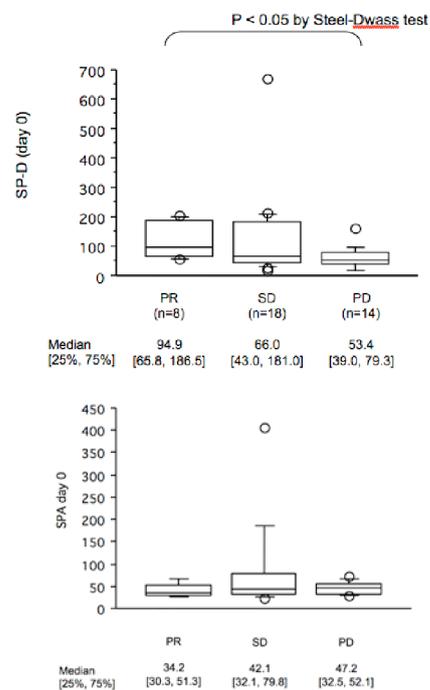
3. 研究の方法

Gefitinib の投与を受けた進行肺非小細胞癌患者の治療前と治療後 29 日目血清 SP-A と SP-D を prospective に測定し、患者の基本情報 (性、年齢、喫煙歴、PS、組織型)、生検組織の EGFR 遺伝子変異の有無、腫瘍縮小効果、無増悪生存期間 (PFS)、間質性肺炎の出現との関連性の解析を行った。

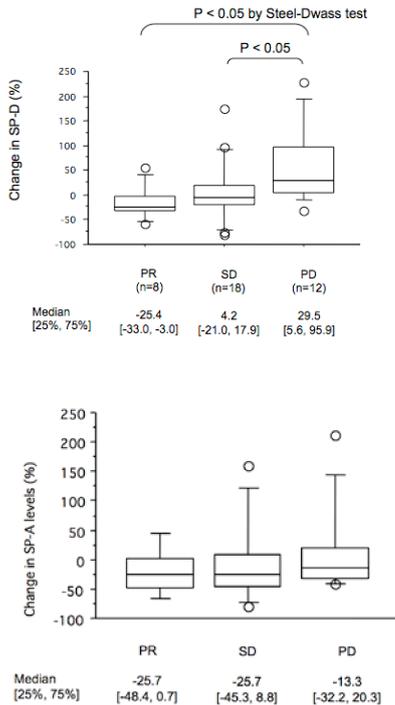
4. 研究成果

肺非小細胞肺癌 40 例が登録された。40 例中、女性 18 例 (45.0%)、腺癌 35 例 (87.5%)、非喫煙者 14 例 (35.0%) であった。Gefitinib 治療により、8 例 (20%) が PR、18 例 (45%) が SD、14 例 (35%) が PD であった。間質性肺炎は 3 例に生じたが、治療前の血清 SP-A、SP-D に類似の傾向は認められなかった。

PR 症例は、PD 症例と比較して、治療前血清 SP-D が有意に高値であった。奏効率と治療前血清 SP-A では関連はなかった。

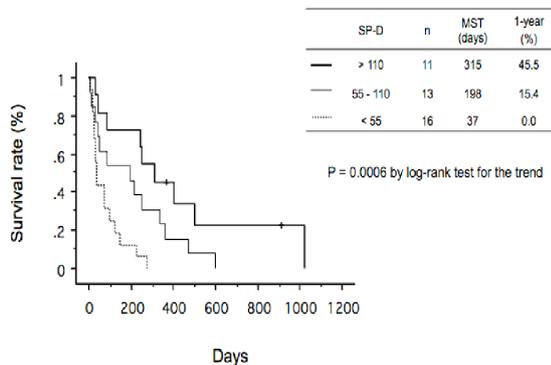


治療前後での血清 SP-D は、PR や SD 症例は PD 症例と比較して有意に減少が認められた。一方、血清 SP-A の治療前後の変動は奏功とは関連はなかった。



PFS の単変量解析では、腺癌、非喫煙者、血清 SP-D 高値例では PFS は有意に良好であった。

Progression-free survival according to SP-D (day 0)

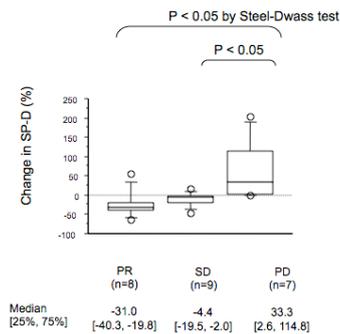
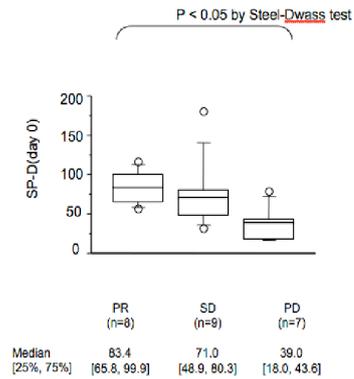


PFS の多変量解析でも、腺癌 (ハザード比 0.102、95%信頼区間 0.031-0.334)、血清 SP-D 10 ng/mL 毎の高値 (ハザード比 0.939、95%信頼区間 0.892-0.989) は独立した治療後の予後予測因子であった。

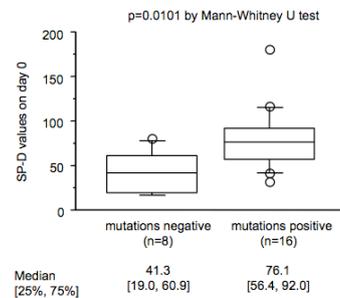
肺癌組織 EGFR 遺伝子変異と血清 SP-D との関連を検証するために、extension study として、24 例の追加検討を行った。24 例中 EGFR 遺伝子変異が 16 例に認められ、L858R が 8 例、

Exon 19 欠失が 4 例、両異常が 4 例であった。EGFR 遺伝子変異 16 例中、PR が 8 例、SD が 4 例、PD が 3 例であったが、野生型 8 例では PR はなく、SD が 4 例、PD が 4 例であった。EGFR 遺伝子変異と奏効率には有意な相関があった ($p=0.0192$)。

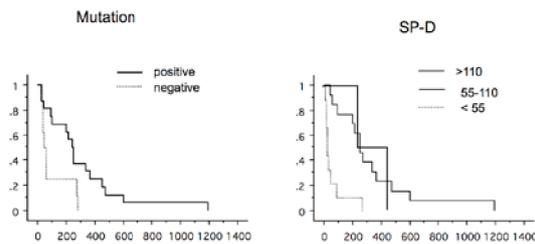
この 24 例の集団においても、前記の 40 例の集団と同様に PR 症例は、PD 症例と比較して治療前血清 SP-D が有意に高値であり、PR や SD 症例では治療による血清 SP-D の減少が認められた。



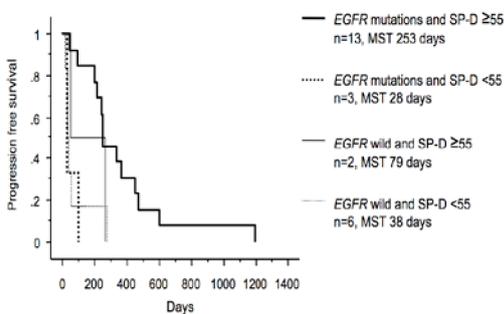
また、EGFR 遺伝子変異例では優位に治療前血清 SP-D が高値であり、EGFR 遺伝子変異と血清 SP-D 上昇には関連が認められた。



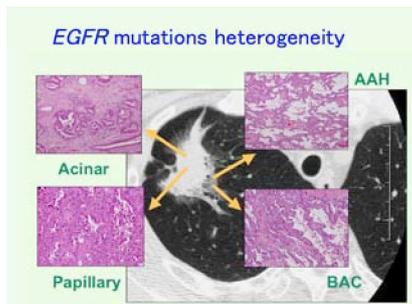
PFSを検討すると、EGFR 遺伝子変異陽性例、血清 SP-D 高値例が良好であった。



上記の二つの因子を組み合わせると、EGFR 遺伝子変異陽性かつ血清 SP-D 高値例で PFS が最も良好であった。



また、EGFR 遺伝子変異陽性のある腺癌症例において、microdissection にて EGFR 遺伝子変異を調べたところ、heterogenous な発現をしており、生検組織の EGFR 遺伝子変異の有無では肺癌の全体像を示さない可能性があった。



部位別のEGFR遺伝子変異

Histology type	Homozygous deletion in exon 19	Heterozygous deletion in exon 19	No deletion
AAH areas (n=4)	0	2	2
BAC areas (n=4)	0	2	2
Papillary adenoca. (n=4)	3	1	0
Acinar adenoca. (n=4)	0	0	4

以上の結果より、血清 SP-D は EGFR 遺伝子変異の非侵襲的なサロゲート・マーカーとなる可能性が示唆された。また、EGFR 遺伝子変異陽性では奏功は予測できても、変異陽性例内での PFS の長短の予測は不可能である。Gefitinib への耐性がそれに関与していると考えられるが、その原因の一つとして腫瘍内での EGFR 遺伝子変異の heterogeneity が考えられた。一方、血清 SP-D は奏功の予測には EGFR 遺伝子変異と比べて劣るものの、PFS に関しては EGFR 遺伝子変異陽性例内での予後予測因子となる可能性が示唆された。肺癌組織 EGFR 遺伝子変異と血清 SP-D の組み合わせによって、奏効率のみならず PFS を正確に予測できる可能性があり、さらに大規模な集団において追試を行う価値がある。また、血清 SP-A や SP-D は間質性肺炎との関連は認められなかったが、正常肺胞細胞内での SP-C や SP-B の変動の検討は今後の課題である。今回の血清 SP-D の研究の結果は、今後の肺癌の個別化治療の進歩に貢献できるものと考えられる。

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 6 件)

- ① Yamaguchi H, Soda H, Nakamura Y, Takasu M, Tomonaga N, Nakano H, Doi S, Nakatomi K, Nagashima S, Takatani H, Fukuda M, Hayashi T, Tsukamoto K, Kohno S. Serum levels of surfactant protein D predict the anti-tumor activity of gefitinib in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 査読有, in press.
- ② Ide S, Soda H, Hakariya T, Takemoto S, Ishimoto H, Tomari S, Sawai T, Nagashima S, Furukawa M, Nakamura Y, Kohno S. Interstitial pneumonia probably associated with sorafenib treatment: an alert of an adverse event. *Lung Cancer*, 査読有, 67: 248-250, 2010.
- ③ Nakamura Y, Stake K, Sano K, Ito A, Yoshikawa M, Ikegami Y, Yoshida H, Nakano H, Oka M, Sawada S, Soda H, Kohno S. Gefitinib increases serum concentrations of oral irinotecan and SN-38 without increasing the biliary concentration of SN-38 in rats. *Chemotherapy*, 査読有, 54: 485-491, 2008.
- ④ Soda H, Nakamura Y, Nakatomi K, Tomonaga N, Yamaguchi H, Nakano H, Nagashima S,

Anami M, Hayashi T, Tsukamoto K, Kohno S. Stepwise progression from ground-glass opacity towards invasive adenocarcinoma: long-term follow-up of radiological findings. Lung Cancer, 査読有, 60: 298-301, 2008.

- ⑤ Nakano H, Soda H, Takasu M, Tomonaga N, Yamaguchi H, Nakatomi K, Fujino S, Hayashi T, Nakamura Y, Tsukamoto K, Kohno S. Heterogeneity of epidermal growth factor receptor mutations within a mixed adenocarcinoma lung nodule. Lung Cancer, 査読有, 60: 136-140, 2008.
- ⑥ Nakano H, Soda H, Nakamura Y, Uchida K, Takasu M, Nakatomi K, Izumikawa K, Hayashi T, Nagayasu T, Tsukamoto K, Kohno S. Different epidermal growth factor receptor gene mutations in a patient with two synchronous lung cancers. Clin Lung Cancer, 査読有, 8: 562-564, 2007.

[学会発表] (計8件)

- ① 早田 宏. シンポジウム: 肺癌・胸膜中皮腫の治療戦略, 化学療法. 第35回肺癌診断会 (日本肺癌学会主催), 2009, 6/25-27 (長崎)
- ② 石本裕士, 坂本憲穂, 原 信太郎, 井手昇太郎, 竹本慎之輔, 泊 慎也, 長島聖二, 澤井豊光, 早田 宏, 迎 寛, 河野茂. 当院で経験した薬剤性肺障害の検討. 第49回日本呼吸器学会学術講演会, 2009, 6/12-14 (東京)
- ③ 中村洋一, 佐野和美, 早田 宏, 塚元和弘, 高谷 洋, 長島聖二, 福田 実, 山口博之, 土井誠志, 中富克己, 岡 三喜男, 河野 茂. ゲフィチニブ血中濃度の肺癌患者における抗腫瘍活性に与える影響 EGFR遺伝子解析の追加報. 第67回日本癌学会学術総会, 2008, 10/28-30 (名古屋)
- ④ 山口博之, 中村洋一, 朝永七枝, 中野浩文, 土井誠志, 中富克己, 早田 宏, 塚元和弘, 河野 茂. Gefitinib効果予測因子としての血清SP-Dの検討. 第67回日本癌学会学術総会, 2008, 10/28-30 (名古屋)
- ⑤ 朝永七枝, 山口博之, 中野浩文, 土井誠志, 中富克己, 中村洋一, 林 徳真吉, 早田 宏, 塚元和弘, 河野 茂. リンパ節転移巣において原発巣と異なるEGFR遺伝子変異を示した肺扁平上皮癌の一例. 第31回日本呼吸器内視鏡学会学術集会, 2008, 6/13-14 (大阪)
- ⑥ Iida T, Nakamura Y, Fukuda M, Takatani H, Nagashima S, Kinoshita A, Fukuda M, Soda H, Oka M, Kohno S.

Pharmacokinetics of gefitinib predicts the antitumor activity for advanced non-small cell lung cancer. 12th World Conference on Lung Cancer, 2007, 9/2-6 (Seoul)

- ⑦ 山口博之, 中村洋一, 朝永七枝, 中野浩文, 中富克己, 早田 宏, 河野 茂. Gefitinib効果予測因子としての血清SP-Dの検討. 第48回日本肺癌学会総会, 2007, 11/8-9 (名古屋)
- ⑧ 高巢峰代, 卜部 奏, 小林 奨, 中野浩文, 山口博之, 中富克己, 中村洋一, 早田 宏, 橋口浩二, 福田正明, 福田 実, 木下明敏, 岡 三喜男, 河野 茂, 塚元和弘. 肺腺癌のEGFR変異と gefitinib による治療効果との相関解析. 第48回日本肺癌学会総会, 2007, 11/8-9 (名古屋)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早田 宏 (SODA HIROSHI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・客員
研究員

研究者番号: 60244042

(2) 研究協力者

中村 洋一 (NAKAMURA YOICHI)

長崎大学・病院・助教

研究者番号: 20432974