

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590864

研究課題名（和文）非小細胞肺癌のファーストライン治療の個別化

研究課題名（英文）Personalized cancer medicine for non-small cell lung cancer

研究代表者

磯部 威（ISOBE TAKESHI）

島根大学・医学部・教授

研究者番号：70284198

研究成果の概要（和文）：

ヒトの肺癌細胞を用いたマウスの同所性移植モデル（マウスの肺に肺癌が増殖するモデル）を確立し、分子標的治療薬や新規抗がん薬の前臨床での評価を可能とした。肺癌の診断時微小検体（気管支鏡やCTガイド下生検で得られるもの）を用い、治療前に治療効果の予測が可能となる検出系を確立した。さらに、術前治療効果が予測可能な薬剤を用いた臨床試験を行った。本研究により、肺癌治療の個別化と高度先進医療への発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：

We developed a reliable, reproducible, and simple orthotopic model for human lung cancer cell line using nude mice, multiple models with different biologic and clinical phenotypes may allow a better understanding of the behavior and treatment effects. We also showed correlation of the biomarker expression between biopsy specimens and surgical specimens assessed by IHC. Finally, we conducted a phase I/II clinical study of combination chemotherapy with EGFR-tyrosine kinase inhibitor and cytotoxic agent for recurrent lung cancer.

These results lead to individualized chemotherapy and benefit patients with advanced non-small-cell lung cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医師薬学

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：非閉塞性肺疾患、肺線維症、呼吸器感染症

## 1. 研究開始当初の背景

がん化学療法の進歩に伴い、非小細胞肺癌においては多くの抗がん薬が使用可能となった。なかでも、第3世代抗がん薬と呼ばれる薬剤は、単剤で治療効果が認められ、かつ従来のプラチナ薬を主体とした併用化学療法に比して、患者側が最も嫌う副作用である嘔気、嘔吐が軽微であるとともに、再発、最増悪時のセカンドライン以降の治療薬剤として使用が可能である。罹患率、死亡率ともに増加傾向のある日本人肺癌において、男女ともに約80%を占める非小細胞肺癌に対する適切な薬物使用方法の検討が必要となる。大規模比較試験の結果、アジア人の腺癌においては、ファーストライン治療としてEGFR(上皮成長因子受容体:Epidermal Growth Factor Receptor) 阻害薬であるゲフィチニブを用いた場合に特にEGFR変異陽性例では従来のプラチナを含む抗がん薬の併用療法に比して有意に無増悪生存期間を延長させることが明らかとなり(Mok T, et al. *New Engl J Med.* 2009)、日本の肺癌治療に新たな選択肢が加わった。

非小細胞肺癌における薬物療法の新たな方向性として、注目されているものは、扁平上皮癌と非扁平上皮癌の治療効果の差である。第III相試験のサブセット解析の結果ではあるが、進行非小細胞肺癌において、シスプラチンと併用する際には、腺癌ではペメトレキセドが有意に生存を改善すると報告し、非小細胞肺癌として組織型による効果の差は認めないとされ過去30年以上に及んで続けられてきた化学療法に一石を投じることとなった(Scagliotti GV, et al. *J Clin Oncol.* 2008)。現在、非小細胞肺癌は個別化医療に向けて大きく前進しつつある。一方、薬物の投与前効果予測因子として、プラチナ

薬に対してはERCC1(Excision repair cross-complementation group 1)の関係が知られており、抗がん薬の効果予測因子としてすでに欧州では臨床試験が行われている(Cobo M, et al. *J Clin Oncol* 2007)。

現時点でのファーストライン治療は、EGFR変異陽性例にはEGFR-TKIを、非扁平上皮癌にはシスプラチンとペメトレキセドの併用療法、またはカルボプラチンとパクリタキセルにベバシズマブを加えた治療を行うことではコンセンサスが得られているものの、扁平上皮癌や、プラチナの使用が困難な症例に対する治療効果予測因子は選択の方法がない。初回治療に引き続く、セカンドライン治療薬についても、従来のドセタキセルに加え、ペメトレキセド、エルロチニブ、ゲフィチニブがそれぞれに有用性が確立しつつあり、他にも、TS-1、CPT-11、アムルビシンなどの単剤で効果を有する治療薬が使用可能な状況にあるため、予後不良とされる肺癌は、確実に生存期間延長しつつある。さらに、これらの肺癌治療の進歩は、さらに高齢者肺癌の治療へと拡大されつつある。2007年4月に施行されたがん対策基本法では、がん患者がその居住する地域にかかわらず等しく科学的知見に基づく適切ながん医療を受けることができるようにすること。また、がん患者の置かれている状況に応じ、本人の意向を十分尊重してがんの治療方法等が選択されるようがん医療を提供する体制の整備がなされることが理念として掲げられており、医療人育成のための大学間連携プログラムであるがんプロフェッショナル養成プランの推進と共にがん治療が可能な施設、地域、高齢者治療の需要が着実に拡大しつつある。

進行肺癌は腫瘍生物学的に40回の細胞分裂前後の進行がんとして発見され、さらに2回

の分裂後に死に至らしめられるとされる。従って、ファーストラインが成功し、腫瘍量が減少することで、セカンドライン以降の治療も多種類の使用が長期間可能となる。今後の個別化医療のためには適切なファーストライン治療の選択のために、必要な予測因子の選定は急務と考えられる。

肺癌の治療は予後因子の選択から、効果予測因子の選択へとシフトしており、その評価のためには、適切な動物モデルの作成と、使用するがん細胞のプロファイリングが重要であるが、現時点で複数の細胞株を用いたモデルは作成されていない。次々と新しい分子標的薬が開発され、抗がん薬も第3世代から第4世代へ向かいつつある肺がん治療域において、確実な *in vivo* モデルを作成することが、トランスレーショナルリサーチや、個別化治療の推進に有用と考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は以下の3点である

- ① 適切な動物モデルの確立
- ② 微小検体を用いた治療前評価と個別化
- ③ 個別化医療を指向した臨床試験の実施

## 3. 研究の方法

ペントバルビタールを用いて麻酔したスードマウスの左肺に癌細胞を移植する。移植後の増殖、進展を評価し、肺癌モデルとして確立させる。引き続き、抗癌剤、分子標的薬の投与を行い、治療モデルとして確立させる。非小細胞肺癌で外科的に切除された32症例の腫瘍組織を用い、DNAを抽出後にEGFR（上皮成長因子受容体）変異の検出、ras遺伝子変異の検出を行った。同一症例の気管支鏡検体と手術検体を用い、ERCC-1 (excision repair cross-complementation group 1)、RRM1 (ribonucleotide reductase M1)、TS (チミジル酸合成酵素)、 $\beta$  チュブリンの発現の有無について免疫組織化学法による検討を行った。CPT-11+ErIotinibの第1相併用療法を行った。治療前効果と毒性予測のためEGFR遺伝子解析とUGT1A1のSNP解析を事前に行った。

## 4. 研究成果

### 1) 適切な動物モデルの確立

肺腺癌：A549, PC9, PC14, H441, 肺小細胞癌 N417, H187, H61 を用いた肺癌モデルが作成され（図1）、抗癌薬、分子標的薬を用いた治療モデルとして確立した。

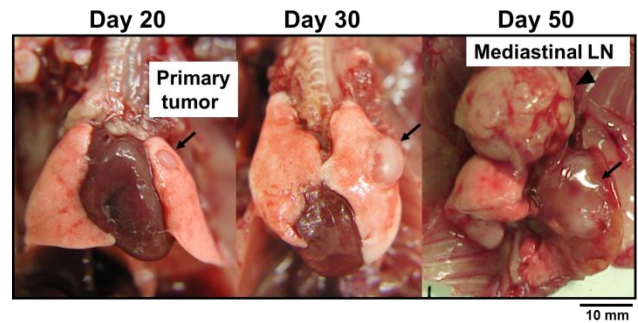


図1 肺癌細胞移植後に左肺で増殖進展する肺癌の肉眼像（細胞株：N417）

### 抗がん薬治療後の肉眼像



### HE標本のルーペ像

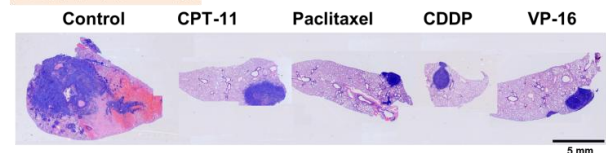


図2: 抗がん薬を用いた治療モデルの確立（細胞株：N417）

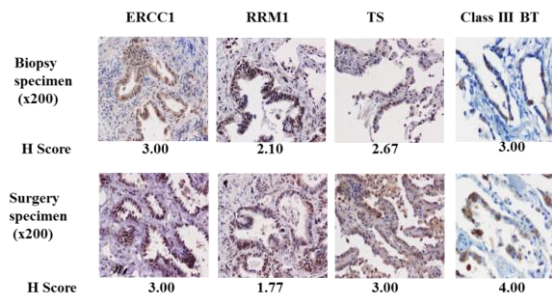
### 2) 微小検体を用いた治療前評価と個別化

対象は当院で気管支鏡検査あるいはCTガイド下生検で診断され手術を受けた64症例。男性42例、女性26例。腺癌54例、扁平上皮癌7例、腺扁平上皮癌1例、大細胞癌1例、多型癌1例であった。生検によって採取された微小検体と切除組織における抗がん薬感受性因子の発現比較検討では、相関係数  $r$  と  $p$  値はそれぞれ、ERCC1 ( $r=0.512$ ,  $p=0.003$ )、RRM1 ( $r=0.439$ ,  $p=0.012$ )、TS ( $r=0.301$ ,  $p=0.094$ )、class III beta tubulin ( $r=0.457$ 、

p=0.011)であった。免疫染色を用いることで、ほぼ全例でバイオマーカーの発現を検討することができた(図③)。

生検方法(TBLB or CTガイド下生検)や腫瘍の大きさ(T1 or T2以降)で分けて検討を行ったが、バイオマーカーの発現の一致率に有意差を認めなかった。バイオマーカーの発現が、生検検体とそれに対応する手術検体との間で相関があることが明らかとなり、生検による微小検体から効果を予測できる可能性が示唆された(図④)。

図③



図④

#### TBLBとCTガイド下生検での一致率の比較

ERCC1	Concordance	Discordance	Total	RRM1	Concordance	Discordance	Total
CT guided biopsy	12	4	16	CT guided biopsy	11	5	16
TBLB	13	3	16	TBLB	13	3	16
Total	25	7	32	Total	24	8	32

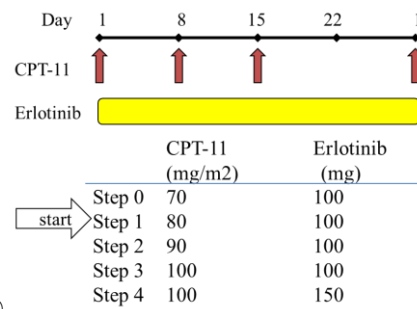
- CTガイド下: 75.0%
- TBLB: 81.3%
- P=0.50
- CTガイド下: 68.8%
- TBLB: 81.3%
- P=0.34

TS	Concordance	Discordance	Total	Class III BT	Concordance	Discordance	Total
CT guided biopsy	11	5	16	CT guided biopsy	7	7	14
TBLB	9	7	16	TBLB	9	7	16
Total	20	12	32	Total	16	14	30

- CTガイド下: 81.3%
- TBLB: 56.3%
- P=0.53
- CTガイド下: 50.0%
- TBLB: 56.3%
- P=0.12

#### 3) 個別化医療を指向した臨床試験の実施

対象は 1) 組織診あるいは細胞診で肺癌と診断された症例、2) 肺癌治療後の再発症例、3) Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) の基準で Performance Status (PS) が 0 から 1 のものとした。投与方法は図⑤の通りである。



図⑤

表 1 CPT-11, Erlotinib 併用療法の第 1 相試験結果

Step	Case	Age	Gender	PS	Histotype	Treatment line	EGFR mutation	UGT1A1	Efficacy	Adverse Event	DLT	Notes
1	1	80	F	1	Ad	3rd	+	*28 Hetero	SD	Amylase↑ G4 Neutropenia G3	+	5 courses after dose reduction
	2	79	M	1	NSCLC	3rd	-	Wild	SD	Neutropenia G4 Anemia G3	+	2 courses after dose reduction
	3	67	F	1	Ad	4th	+	*6 Hetero	SD	Diarrhea G2 Neutropenia G2	+	4 courses Administration Delay
0	4	78	F	1	Ad	3rd	-	Wild	SD	Neutropenia G3	+	3 courses after dose reduction Administration delay
	5	49	F	1	Ad	3rd	-	*6 Hetero	SD	Nausea G3	+	
	6	80	M	1	Ad	3rd	+	wild	PR	Neutropenia G2 Diarrhea G2	-	20 courses biweekly Administration

CPT-11 と Erlotinib の併用は相乗効果により毒性が増強し継続困難であった。一方でいずれの症例も 3 次治療以降での治療であったにもかかわらず増悪症例がないことから、投与スケジュールを変更した第 2 相試験によって効果と安全性を評価する予定である。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

① Okimoto T, Hotta T, Koba N, Nishikawa E, Maehara M, Miura K, Karino F, Iwamoto S, Tsubata Y, Hamaguchi S, Honda T, Mitsuhiro T, Ohe M, Sutani A, Kuraki T, Takeyama H, M, Hamada A, Isoobe T: Phase I/II and pharmacological clinical study of combination chemotherapy with irinotecan and erlotinib for recurrent lung cancer. American Thoracic Society 2013. 5. 17~5. 22, Philadelphia (米国)

②Isobe T , Nishio Y, Fuchita H, Koba N, Nishikawa E, Hotta T, Okimoto T, Iwamoto S, Karino F, Tsubata Y, Miura K, Tada M, Suzuki T, Honda T, Hamaguchi S, Hanada M, Ohe M, Sutani A, Kuraki T, Takayama H, Onn A, Roy S. Herbst: Evaluation of novel orthotopic nude mouse models for human small cell lung cancer. Japanese Cancer Society 2012.9.19-9.21, Ruyton Sapporo (北海道)

③Okimoto T, Tsubata Y, Sutani A, Fuchita H, Koba N, Nishikawa E, Hotta T, Okimoto T, Iwamoto S, Karino F, Miura K, Tada M, Suzuki T, Honda T, Hamaguchi S, Ohe M, Sutani A, Kuraki T, Isobe T: Comparison of biomarker expression between biopsy and surgical specimens of non-small-cell lung cancer. Assessment by immunohistochemical staining. American Thoracic Society 2012.5.18~5.23, San Francisco (米国)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

磯部 威 (ISOBE TAKESHI)  
島根大学・医学部・教授  
研究者番号：70284198

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし