

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 5月13日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22790746

研究課題名（和文）循環腫瘍細胞における EGFR 耐性遺伝子変異同定に基づく肺癌個別化治療の開発

研究課題名（英文）Individualized treatment of lung cancer based on the resistant mutation in EGFR gene from circulating tumor cells

研究代表者

井上 彰（INOUE AKIRA）

東北大学・病院・特任准教授

研究者番号：70361087

研究成果の概要（和文）：上皮増殖因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤に耐性を来した肺癌患者の血液にて循環腫瘍細胞（CTC）の測定を行い、同時に回収された CTC の DNA から耐性遺伝子変異 T790M の有無に基づいて、その後の個別化治療を行う臨床試験を行った。6 例解析した段階で、CTC の陽性率が極めて低く、CTC-DNA からの T790M の同定も困難と判断され、本試験は終了となった。

研究成果の概要（英文）：Prospective study of individualized treatment for lung cancer resistant to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase based on the T790M resistant mutation status detected from DNA of circulating tumor cells (CTC) was conducted. At the point when 6 enrolled patients were analyzed, it was revealed that the positive rate of CTC was quite lower than expected and that obtained DNA of CTC was too small to detect the T790M mutation. Thus the study was terminated halfway.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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：EGFR、個別化治療、循環腫瘍細胞

1. 研究開始当初の背景

非小細胞肺癌に対する分子標的治療薬（上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤;EGFR-TKI）は現在の肺癌治療において重要な役割を果たしているが、奏効例においても治癒に至ることはない病態のため再増悪が必発であり、EGFR-TKI 耐性例に

対する治療戦略が新たな課題となっている。耐性例に EGFR-TKI を再投与する有用性も報告されているが、頻度が高い耐性機序である T790M 遺伝子変異を有する場合とそれ以外では再投与時の効果が大きく異なることが推察されるため、侵襲の少ない方法でその存在を確認することは有用である。

2. 研究の目的

肺癌治療で重要な役割を担う EGFR-TKI に対する治療抵抗性を規定する遺伝子変異 T790M を、高感度 PCR 測定法の応用により循環腫瘍細胞 (CTC) の DNA から高感度かつ簡便に同定し、その後の個別化治療の臨床研究へ繋げることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)EGFR-TKI ゲフィチニブにて治療中に臨床的増悪を認めた肺癌患者から、1 回約 10ml の採血を複数回行い、血液中の CTC を Cell Tracks オートプレップ (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティック社) にて数値を測定する。さらに回収された微量な腫瘍 DNA を抽出し、CTC-DNA における EGFR 耐性遺伝子変異 T790M の有無を PNA-LNA PCR クランプ法を用いて同定する。

(2)T790M 陰性例に対しては、EGFR-TKI エルロチニブによる再治療を行い、その有効性および安全性について前向き臨床試験として検討する。

4. 研究成果

初年度は、パイロット試験としてゲフィチニブ耐性患者から得た末梢血中から、Cell Tracks オートプレップ (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティック社) にて CTC を回収することを試みたところ、7.5ml あたり数個の CTC が確認され、上記システムによって進行肺癌患者における CTC 測定が可能であることを確認した。その後、同じ末梢血から回収された CTC の DNA を抽出し、それらから PNA-LNA PCR クランプ法にて耐性 EGFR 遺伝子変異 T790M を同定することを試みたが、回収された DNA 量が少なく解析が困難であった。

次年度は、上記 Cell Tracks オートプレップシステムの改良を試みるとともに、採血量を 40ml と増やしたうえでより多くの CTC 回収を目指し、さらに肺癌患者における治療戦略として本法の妥当性を検証するため

の臨床試験プロトコールを開始した。

しかし 6 例について解析した段階で、CTC が検出できたのが 3 例 (3 個/7.5ml が 1 例と 1 個/7.5ml が 2 例)で、いずれの CTC-DNA から T790M の同定は困難であった。この間、他の研究から肺癌症例の末梢血における CTC 量は乳がん等と比べてわずかであることが報告され、一方で血中循環腫瘍 DNA から T790M を同定できる高感度検査法の開発が進んだことから、本試験は終了することとした。

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 11 件)

- 1) Katakami N, Atagi S, Inoue A (6 番目), et al. LUX-Lung 4: A Phase II Trial of Afatinib in Patients with Advanced, Non-Small Cell Lung Cancer who progressed on Prior Treatment with Erlotinib, Gefitinib, or Both. J Clin Oncol 2013 (in press). **査読有**
- 2) Lee CK, Brown C, Inoue A (15 番目), et al. Impact of epidermal growth factor receptor inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and overall survival: a meta-analysis. J Natl Cancer I 2013;105:595-605. doi: 10.1093/jnci/djt072. **査読有**
- 3) Akamatsu H, Inoue A, Mitsudomi T, et al. Interstitial Lung Disease associated with Gefitinib in Japanese Patients with EGFR Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Combined analysis of two phase III trials (NEJ 002 and WJTOG 3405). Jpn Clin Oncol 2013;43:664-8. doi: 10.1093/jjco/hyt049. **査読有**

- 4) Inoue A, Kobayashi K, Maemondo M, et al. Updated Overall Survival Results from A Randomized Phase III Trial Comparing Gefitinib with Carboplatin-Paclitaxel for Chemo-Naïve Non-Small Cell Lung Cancer with Sensitive EGFR Gene Mutations (NEJ002). *Ann Oncol* 2013;24:54-9.
doi: 10.1093/annonc/mds214. 査読有
- 5) Oizumi S, Kobayashi K, Inoue A, et al. Quality of Life with Gefitinib in Patients with EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Quality of Life Analysis of North East Japan Study Group 002 Trial. *Oncologist* 2012;17:863-70.
doi: 10.1634/theoncologist.2011-0426. 査読有
- 6) Maemondo M, Minegishi Y, Inoue A, et al. First-Line Gefitinib in Patients Aged 75 or Older With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Harboring Epidermal Growth Factor Receptor Mutations: NEJ 003 Study. *J Thorac Oncol* 2012;7:1417-22.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22895139> 査読有
- 7) Soda M, Isobe K, Inoue A, et al. A prospective PCR-based screening for the EML4-ALK oncogene in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2012;18:5682-9.
doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2947. 査読有
- 8) Mochizuki S, Nishimura N, Inoue A, et al. Miliary brainmetastases in 2cases with advanced non-small cell lung cancer harboring EGFR mutation during gefitinib treatment. *Respiratory Investigation* 2012;50:117-21.
doi: 10.1016/j.resinv.2012.06.002. 査読有
- 9) Kobayashi M, Miki Y, Inoue A (11 番目), et al. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules as surrogate markers for EGFR inhibitor sensitivity in human lung adenocarcinoma. *Brit J Cancer* 2012;107:1745-53.
doi: 10.1038/bjc.2012.422. 査読有
- 10) Satoh H, Inoue A, Kobayashi K, et al. Low-dose Gefitinib Treatment for Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer Harboring Sensitive Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. *J Thorac Oncol* 2011;6 1413-7.
doi:10.1097/JTO.0b013e31821d43a8. 査読有
- 11) Chmielecki J, Foo J, Inoue A (17 番目), et al. Optimization of Dosing for EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer with Evolutionary Cancer Modeling. *Sci Transl Med* 2011;3:90ra59. doi: 10.1126/scitranslmed.3002356. 査読有
- [学会発表] (計 17 件)
- 1) 井上彰：肺癌の臨床における抗 EGFR 療法の展開。第 9 回日本臨床腫瘍学会 シンポジウム 03、横浜、2011/07/22
- 2) 井上彰、ほか：クリゾチニブによる薬剤性肺障害を発症した後、同剤を再投

- 与した一例. 第 96 回日本呼吸器学会東北地方会、秋田、2013/03/23
- 3) 井上彰: 肺癌治療に関連する臨床的な知見. 第 32 回日本画像医学会 教育講演 15、東京、2013/02/23
 - 4) 井上彰: 進行肺がんの薬物療法. 第 7 回医療の質・安全学会学術集会シンポジウム 10、大宮、2012/11/24
 - 5) 井上彰: EGFR-TKI が教えてくれたこと. 第 53 回日本肺癌学会総会シンポジウム 1、岡山、2012/11/08
 - 6) 井上彰、ほか: Randomized phase II trial comparing carboplatin with weekly paclitaxel and docetaxel alone for elderly patients with non-small cell lung cancer: NJLCG0803. 第 10 回日本臨床腫瘍学会 International session 7. 大阪、2012/07/28
 - 7) 井上彰、ほか: クリゾチニブによる急性肺障害の一例. 第 51 回日本肺癌学会東北支部会、弘前、2012/07/21
 - 8) 井上彰: EGFR. 第 38 回肺癌診断会シンポジウム 2、越後湯沢、2012/06/23
 - 9) 井上彰: 臨床論文の書き方. 第 7 回日本緩和医療薬学会教育セミナー、東京、2012/06/29
 - 10) 井上彰: 分子標的治療. 第 29 回日本呼吸器外科学会総会教育講演、秋田、2012/05/17
 - 11) 井上彰: 肺癌の分子標的治療の進歩 (EGFR-TKI)、第 52 回日本肺癌学会シンポジウム 1、大阪、2011/11/03
 - 12) 井上彰: Mutation-based clinical trials of EGFR-TKI in Japan、第 9 回日本臨床腫瘍学会 International session 3、横浜、2011/07/23
 - 13) Inoue A. Molecular mechanisms of resistance to EGFR-TKI. 16th Congress of APSR (Symposium 18), Shanghai, China 2011/11/06
 - 14) Inoue A. Evidences of EGFR-targeted therapy for NSCLC in Asia. 16th Congress of APSR (Symposium 16), Shanghai, China 2011/11/06
 - 15) Inoue A, Kobayashi K, Maemondo M, et al. Final overall survival results of NEJ002, a phase III trial comparing gefitinib to carboplatin (CBDCA) plus paclitaxel (TXL) as the first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) with EGFR mutations. ASCO annual meeting, Chicago, USA 2011/06/06
 - 16) Inoue A. What we can do after present TKI failure- Acquired resistance? TSPCCM annual meeting, Taipei, Taipei 2010/12/11
 - 17) Inoue A. Recent topics about the individualized treatment for advanced non-small cell lung cancer. KASLC annual meeting, Seoul, Korea 2010/11/19
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
井上 彰 (INOUE AKIRA)
東北大学・病院・特任准教授
研究者番号: 7 0 3 6 1 0 8 7
 - (2) 研究分担者
なし ()
 - (3) 連携研究者
なし ()