

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591750

研究課題名(和文) 肺癌における血管新生阻害剤(ベバシズマブ)のバイオマーカー探索

研究課題名(英文) Biomarker exploration of VEGF inhibitor (bevacizumab) in lung cancer

研究代表者

解良 恭一 (Kyoichi, Kaira)

群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：40400783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：肺癌細胞株におけるFDG集積は、Glucose transporter 1 (Glut1)とHIF-1による糖代謝、低酸素が強く関与していた。In vitroとin vivo研究では、VEGF阻害剤であるbevacizumabを投与すると腫瘍細胞におけるFDG集積はわずかであるが、paclitaxelを併用することでFDG集積は明らかに低下した。また、ヒト肺癌症例における検討でもFDG-PETはbevacizumabの治療効果を予測するのに有用であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The level of FDG accumulation within lung cancer cells was closely associated with glucose metabolism (Glut1) and hypoxia(HIF-1). In vitro and in vivo studies, the uptake of FDG within tumor cells showed a mild change after bevacizumab monotherapy, but that markedly revealed a significant reduction after combination of paclitaxel and bevacizumab. Moreover, we had planned a clinical trial to examine the therapeutic monitoring of platinum-based regimens plus bevacizumab for patients with lung cancer. The results suggest that FDG-PET is useful tool to evaluate the treatment response after the regimens including bevacizumab in patients with lung cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：ベバシズマブ VEGF FDG-PET 肺癌

### 1. 研究開始当初の背景

進行非小細胞肺癌における化学療法の治療効果は乏しく、予後不良な疾患である。プラチナ製剤含む2剤併用療法の治療効果は、奏効率30%程度であるが、最近、血管新生阻害剤である bevacizumab (Bev) を、カルボプラチン+パクリタキセルに併用することで、奏効率を60%まで改善すると報告された。また、様々な血管新生阻害剤の治験が国内外で行われている。日常臨床において我々は、CTによる腫瘍の形態・サイズを評価して抗腫瘍効果を判定するが、これら血管新生阻害剤などは形態だけでなく腫瘍の活動性が低下することも知られている。しかし、腫瘍の代謝活動性はCTでは正確に評価するのは難しいと考えられている。最近、EORTC が提唱した FDG-PET での metabolic response での評価方法が報告されている。我々も、以前、EGFR inhibitor である gefitinib の治療効果を評価するのに、CT と FDG-PET どちらが有効なのかを検討した。Gefitinib 投与後、早期において、CT では形態の変化は明らかではなかったが、FDG-PET では治療効果のある症例は FDG の集積が低下し、治療効果のない症例では逆に集積が上昇した。これは、invitro の研究でも EGFR inhibitor 投与で glucose transporter の signal pathway に影響を及ぼし、FDG の腫瘍細胞への取り込みが阻害されていると報告されている。最近、我々も胸部腫瘍において、FDG の腫瘍細胞への取り込みが、Glucose transporter 1 (Glut1) だけでなく、その上流にある HIF-1 や HIF-1 の下流にある VEGF、microvessel density (MVD) である CD34、apoptosis に関与する p53 の発現と有意な相関があることを臨床病理学的に示し、さらに、invitro における腫瘍細胞での FDG 取り込みと Glut1、HIF-1 の密接な相関があることを証明した。さらに、我々は非小細胞肺癌における FDG 集積と VEGF 発現が有意な相関を示し、腫瘍細胞への FDG 集積と血管新生が関連していることを報告してきた。現状では、血管新生阻害剤の肺癌含めた固形癌に対する有効性は示されているが、有用な biomarker については明らかではない。

### 2. 研究の目的

肺癌治療で、VEGF 阻害剤である bevacizumab は有効であり、現在、日常診療で使われている。しかし、その治療効果含めた有用なバイオマーカーがないのが現状である。VEGF の発現は、その上流にある HIF-1 と関与しており、HIF-1 は Glut1 などの糖代謝にも強く関連している。HIF-1 と Glut1 発現が、FDG 取り込みと密接な関係にあることより、FDG-PET が、VEGF 阻害剤の有用なバイオマーカーになる可能性も示唆される。しかし、invitro, in vivo の実験で検討したものはなく、臨床試験も皆無である。そのため、肺癌細胞株、マウスモデルで、bevacizumab 治療における FDG-PET の有用性を HIF-1、Glut1 な

どのバイオマーカーを用いて検討し、bevacizumab 治療における FDG-PET の有用性を評価する研究を行う。これにより、固形癌における VEGF 阻害剤の治療効果と FDG-PET の役割を明らかにし、バイオマーカーとしての意義を探索する。

### 3. 研究の方法

肺癌細胞株に対して、bevacizumab を投与して、腫瘍細胞における FDG 取り込みと FDG 取り込みのメカニズムに関わる Glut1、HIF-1、VEGF、そしてその上流の signal pathway について検討する。Invitro のレベルにおける bevacizumab による FDG 取り込みの影響、変化などを評価する。次に、細胞株でマウスに腫瘍を形成する。Invivo で、bevacizumab を投与して、FDG 取り込みが治療とどのように相関するかを micro PET を使って評価する。その時、bevacizumab の投与量、投与後経過時間を変えて詳細に調べて、さらに Glut1、HIF-1、VEGF、そしてその上流の signal pathway などのバイオマーカーを治療前後の腫瘍組織を免疫染色して病理学的にも VEGF 阻害剤と FDG 取り込みの変化を基礎的側面から明らかにする。次に、進行非小細胞癌患者に対して、bevacizumab 併用の化学療法を行い、FDG-PET のバイオマーカーとしての意義を評価する研究を行う。Bevacizumab 治療における FDG-PET の治療効果やバイオマーカーとしての有用性を臨床的な側面からも検討する。

### 4. 研究成果

肺癌細胞株 10 株における FDG 取り込みと、Glut1、HIF-1 発現について検討した。Glut1 の高い細胞株は、FDG 取り込みが高く、逆に Glut1 を阻害することにより FDG の細胞への取り込みは有意に低下した。また、これらの上流にある mTOR シグナル伝達系との関係も評価して、mTOR 発現と Glut1 発現、低酸素、血管新生も関係があることが分かった。mTOR 阻害剤を投与することで Glut1 発現、FDG 集積は低下した。しかし、VEGF 阻害剤である Bev 単剤を投与では抗腫瘍効果はわずかであった。そこで、Bev に paclitaxel (PTX) を併用したところ縮小効果は著明であり、腫瘍における FDG 集積も明らかに低下した。また、マウスに腫瘍を作成して、Bev 単剤と Bev+PTX による抗腫瘍効果を micro-PET にて投与後1週間まで評価した。Bev 単剤投与では FDG 集積低下はわずかであったが、Bev+PTX では FDG 集積は明らかであった。この腫瘍組織を治療前後で採取して、VEGF、Glut1、HIF-1 にて免疫染色を施行してタンパク発現を評価したが、治療後は壊死組織などの影響で組織学的評価はやや難しい結果であった。すなわち、残存している腫瘍は治療前後でこれら発現に有意な変化が見られなかった。Invitro, in vivo では Bev 併用により FDG 集積は明らかに低下し、VEGF 阻害と FDG 集積との関係が

重要であることは分かったが、本研究ではその詳細なメカニズムまでは明らかにできなかった。次に、肺癌症例でプラチナ製材含む2剤併用療法に Bev を含む治療を行った症例20例に対してその治療前後に FDG-PET を行い、抗腫瘍効果の意義を検討した。FDG の取り込みの程度の指標である SUV 値は、治療に奏効した症例で有意に低下し、治療抵抗性の症例で SUV 値は有意に低下せず、むしろ上昇していた。また、治療後の SUV はその後の予後にも関係し、FDG での治療効果判定は予後予測に有用なことも示唆された。臨床的側面からも、Bev のバイオマーカーとして FDG-PET が有用な可能性が示唆された。今後の研究課題としては、FDG-PET が Bev のバイオマーカーになるメカニズムの詳細な検討が必要であると考えられた。

## 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9件)

Kaira K, Abe M, Nakagawa K, et al. 18F-FDG uptake on PET in primary mediastinal non-thymic neoplasm: a clinicopathological study. *Eur J Radiol*. 2012 Sep;81(9):2423-9.

Kaira K, Endo M, Shukuya T, et al. <sup>18</sup>F-FDG uptake on PET could be a predictive marker of excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) expression in patients with thoracic neoplasms? *Neoplasma*. 2012;59(3):257-63.

Kaira K, Serizawa M, Koh Y, et al. Relationship between 18F-FDG uptake on positron emission tomography and molecular biology in malignant pleural mesothelioma. *Eur J Cancer*. 2012 May;48(8):1244-54.

Kaira K, Tomizawa Y, Yoshino R, et al. Phase II study of oral S-1 plus cisplatin with bevacizumab for advanced non-squamous non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2013 Oct;82(1):103-8.

Kaira K, Tomizawa Y, Yoshino R, et al. Phase II study of oral S-1 and cisplatin with concurrent radiotherapy for

locally advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2013 Dec;82(3):449-54.

Kaira K, Murakami H, Endo M, et al. Biological Correlation of 18F-FDG Uptake on PET in Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Anticancer Res*. 2013 Oct;33(10):4219-28.

Kaira K, Yamamoto N, Kenmotsu H, et al. Prognostic impact of F-FDG uptake on PET in non-small cell lung cancer patients with postoperative recurrence following platinum-based chemotherapy. *Respir Investig*. 2014 Mar;52(2):121-8.

Kaira K, Yamamoto N, Endo M, et al. 18F-FDG uptake on PET is a predictive marker of thymidylate synthase expression in patients with thoracic neoplasms. *Oncol Rep*. 2014 Jan;31(1):209-15.

Kaira K, Serizawa M, Koh Y, et al. Biological significance of 18F-FDG uptake on PET in patients with non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2014 Feb;83(2):197-204.

[学会発表](計2件)

解良恭一、切除不能局所進行非小細胞肺癌における CDDP+TS-1 と胸部放射線同時併用療法の第Ⅰ相試験、2011年11月22日、第54回日本肺癌学会総会 ホテルニューオータニ東京(東京都)

解良恭一、悪性胸膜中皮腫における FDG 集積の生物学的特性、2013年4月19日、第53回日本呼吸器学会学術講演会、東京国際フォーラム(東京)

[その他]  
ホームページ等

## 6 . 研究組織

研究代表者

解良 恭一 (KAIRA KYOICHI)

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：40400783

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)