

分子標的化学療法班報告

(消化器癌に対する分子標的化学療法開発研究班)

班長 西山 正彦

研究班メンバー

● 班長

西山正彦 広島大学原爆放射能医学研究所
分子情報

● 班員

長町幸雄 群馬大学医学部第一外科
桑野博行 同上
浅尾高行 同上
栗原 稔 昭和大学豊洲病院消化器科
山本 亘 同上
峠 哲哉 広島大学原爆放射能医学研究所
腫瘍外科
金 隆史 同上

はじめに

抗癌剤に対する応答には顕著な個人差がある。化学療法が著効を示す症例もあれば、有害事象のみが強くほとんど抗腫瘍効果が認められない場合もある。本研究班の大目的は、遺伝子解析により薬剤応答の個性を把握し、これに最も効果的な化学療法を行う、いわゆる Personalized Medicine (オーダー・メイド療法) の開発にある¹⁾。平成9・10年度には、消化器癌で汎用される5種の抗癌剤の「効き目」を規定する因子を求め、それを標的とした増強化学療法(分子標的化学療法)の確立研究(基礎研究)を行った。得られた結果をまとめ、最終的に、個々の効果規定因子に関する遺伝子発現プロファイルに応じて最も有効な化学療法が選択可能な治療系(フローチャート)の設定に至った²⁾。臨床応用可能と判断されたことから、11年度一年間の研究継続を申請し、実践のた

めの最終検討と、その可能性を探る臨床パイロット・スタディを行った。

研究成果

本治療系を臨床でひろく展開するにはいくつかの課題があった。

1) 少量の検体で多症例の遺伝子発現解析が可能な方法, 2) 遺伝子診断基準の設定, 3) その標準化, 4) 複数の治療候補からの最も効果的な治療の選択法, などである。

1. 遺伝子発現解析(診断)法の確立

a) 解析法

候補となったのは、すでに普遍化された解析法リバーサス・トランスクリプション-ポリメラーゼ・チェイン・リアクション(RT-PCR)法³⁾(図1)とDNAマイクロアレイ技術⁴⁾(図2)である。DNAマイクロアレイによって遺伝子発現解析の幅は飛躍的に増大する。cDNAやその一部、またはEST(エクスペッション・シーケンス・タグ)といわれるcDNA断片を基板にスポットし、蛍光標識(Cye3-dUTP, Cye5-dUTP)した検体をハイブリダイゼーションさせ、その蛍光強度をイメージスキャナーで測定、連動ソフトウェアにてデータを解析する。現在、一枚のチップで20,000にも及ぶ超多量の遺伝子の発現解析が可能であり、やがては数十万といわれるヒト全遺伝子の発現解析も可能となる。しかしながら、現状では超多量の発現情報の解析や再現性解析の方法論など多くの課題がある。臨床研究で用いる遺伝子発現解析法は1) RT-PCR法, 2) DNAマイクロアレイ(DNAチップ)法, 3) ノーザン法とするが、実際の治療

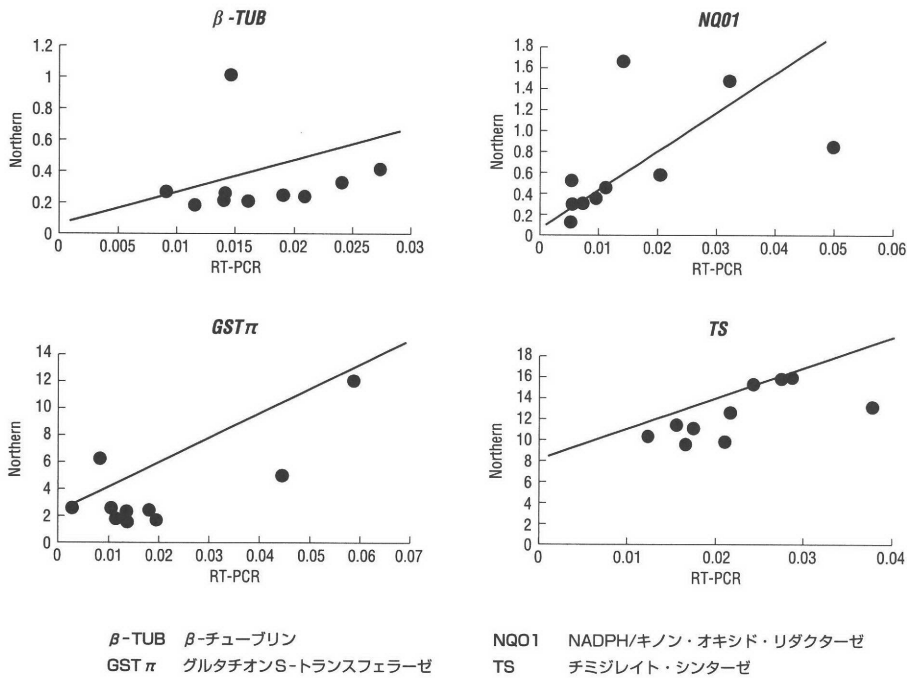


図1 リバース・トランスクリプション-ポリメラーゼ・チェーン・リアクション(RT-PCR)法とノーザン法を用いた遺伝子発現解析の比較

の選択にはRT-PCR法を用い、DNAマイクロアレイ法は将来的な展開のための情報収集⁵⁾、ノーザン法は遺伝子発現の再現性確認を目的とした補助解析として用いることとした¹⁾。

b) 診断基準とその標準化

先駆け研究であることから、ヒトにおける遺伝子発現プロファイルと臨床効果の相関についての情報を予め得ることはできない。そこで臨床効果の評価が可能であった患者の胸腹水から樹立した細胞の感受性を参考に、因子ごとに基準となる細胞の候補を定めた。該当する因子の遺伝子発現量(GAPDH発現比)を求め、この値を仮基準とした遺伝子発現プロファイルで細胞を群分けした。5抗癌剤すべての感受性を正確に把握できる設定条件を検討し、最終的に因子ごとに発現解析の基準となりうる細胞を決定した。

c) 選択すべき治療の決定

上記基準により各因子の遺伝子発現量を決定し、効果規定因子の重複や、効果規定因子の特異的修飾療法と他治療の効果比較の上に最も高い効果(相乗効果)が得られる抗癌剤(併用療法)を求め^{6~8)}、最終的に図3のようなフローチャートが完成した。5抗癌剤を用い、7遺伝子の発現解析により、11通りのプロファイルに分かれることになった。いずれの発現プロファイルにも該当しない症例では、薬物療法は行うべきではないと考えられ、臨床研究ではbest supportive care(最善支持療法)とすることとした。一部選択すべき治療に重複が認められるが、理想的な治療ではないものの該当治療が最も有効であるという群もある。腫瘍高感受性薬剤の選択および耐性因子の特異的修飾によって必要薬剤の少量化を図り、有害事象の軽減をも実

現させ得る治療モデルとなっている。

2. 臨床パイロット・スタディ

文書および口頭説明で十分なインフォームド・コンセントを行い、5症例でパイロット・スタディを行った(表1)。いずれも全身に転移の認められる高度進行胃癌症例あるいは再発症例である。症例1から3までは遺伝子発現解析による治療(最善支持療法も含めて)を選択しなかった症例であるが、症例2, 3では施行された治療による有害事象や病状の進行のために治療の継続を断念せざるを得なかった。症例1では、ジヒドロピリミジン脱水素酵素による5-FU変成阻害という予測された化学療法とほぼ同一の作用機序を有する薬剤が投与されたことから、延命効果が得られているものと考えられる。しかしながら、徐々に全身状態が悪化し、有害事象の発現も認められている。5例中3例がすでに死亡しているが、これら症例間で治療の有無による生存期間の差はみられない。

最善支持療法となった場合、当然のことながら生存期間の延長は期待できない。しかしながら、症例4は症例3と異なり治療による無意味な有害事象は回避されている。遺伝子発現解析による治療を選択した症例5では、腫瘍の縮小は認められないものの、NCが72日間続いた。治療による有害事象は認められなかった。この治療系の目的は、1) 無意味な化学療法を回避すること、2) 有害事象の発現頻度の低い効果的薬物療法を個別に選択することであり、その達成が可能であることを示唆する結果と考えられる。

パイロット・スタディの結果を受けて、広島大学では図3をやや縮小した形で、厚生省の認可薬剤のみを用い、有効性の有無を検証するための無作為比較試験を開始している(平成11年10月19日付け広島大学倫理委員会承認)。対象症例は高度進行胃癌症例、発現解析対象遺伝子は6種、選択できる治療はマイトマイシンC(MMC)、5-フル

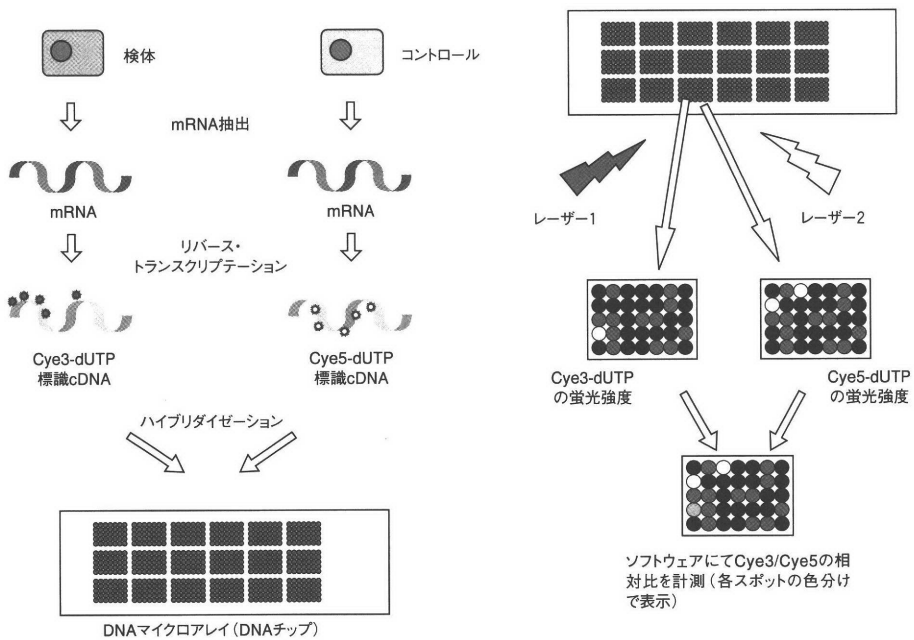


図2 DNAマイクロアレイ法による発現解析の概略

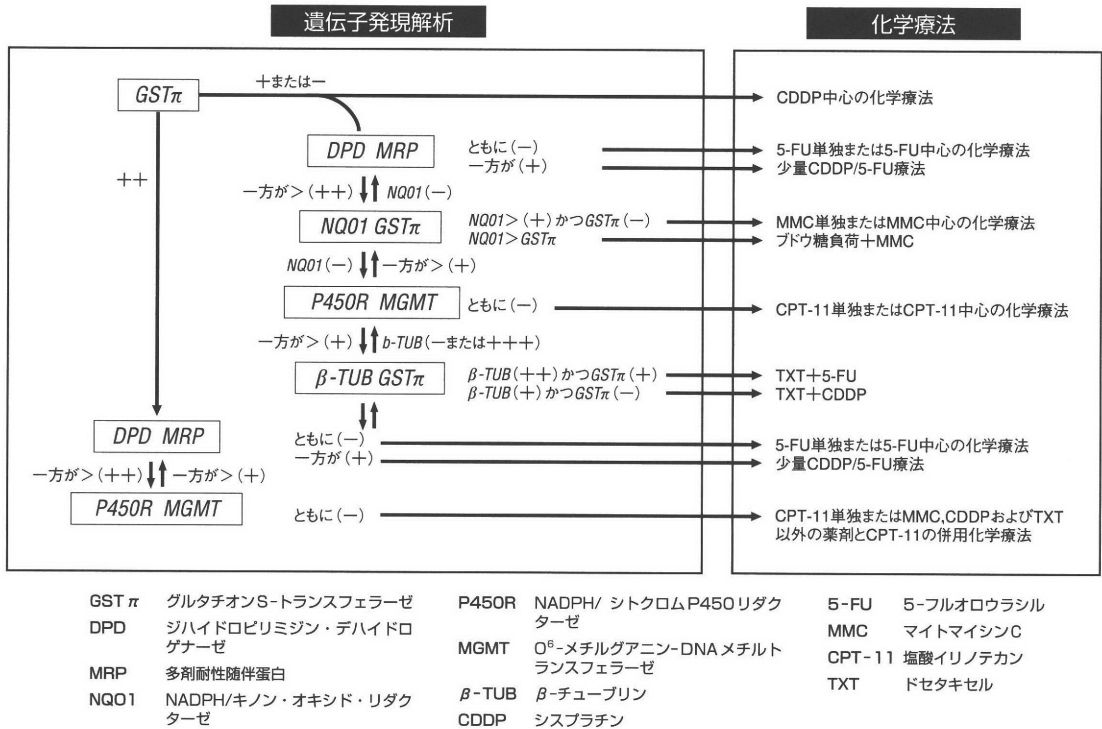


図3 オーダー・メイド化学療法の概略

表1 臨床パイロット・スタディの結果

症例	病期・転移	解析結果	実際の治療	直接効果	有害事象(grade)	生存期間
1. 74y.o. F	T3, N3, P1, CYX, M1 (LYM)	少量CDDP/5-FU	TS-1	PD	嘔気 (1) 顆粒球減少 (2)	105日生存
2. 68y.o. F	T4 (PANC), N3, P0, CYX, M0	最善支持療法	1) CDDP/5-FU (中止) 2) 5 ^u FUR+CDDP (中止)	PD	口内炎 (2)	96日死亡
3. 59y.o. M	T4 (PANC), N2, P1, CY1, M0	最善支持療法	5-FU/OK-432	PD	嘔気・下痢 (1) 発熱・疼痛 (2)	41日死亡
4. 72y.o. M	T3, N3, H1, P1, CYX, M1 (PLE, OTH*) * pericardium retroperitoneum	最善支持療法	最善支持療法			40日死亡
5. 72y.o. F	T3, N3, H1, P1, CYX, M1 (OSS)	少量TXT/5-FU または 少量CDDP/5-FU	少量TXT/5-FU	NC (72日)	疼痛 (1)	115日生存

オロウラシル (5-FU), シスプラチン (CDDP), 塩酸イリノテカン (CPT-11) の4剤を用いた計8パターンである。いずれにも該当しない症例は支持療法のみを行っており, 厳密には9通りの治療の選択となる。オーダー・メイド化学療法群では治療1サイクル終了ごとに遺伝子診断および治療選択を繰り返すこととし, 経験的治療選択群との無作為比較試験で有効性の有無を検証している。

□ おわりに

21世紀への移行にあたり, 癌化学療法に新しい流れがもたらされようとしている。個の医療, Personalized Medicine (オーダー・メイド化学療法) である。その基盤はいうまでもなく遺伝子研究の進歩にある。遺伝子は生命要素の暗号表示であり, 4つの化学記号で記された暗号が, DNA分子のなかに連続した配列として示されているに過ぎない。しかしながら, この暗号をもとに, 蛋白質の構造や機能が決定され, 細胞が組み立てられ, 組織や器官が形成され, 生体としての統一性をもった機能が維持される。複雑な生命現象の集合体である「個」も原点は遺伝子にあり, 個体の応答反応も遺伝子レベルで規定されているものと考えられる。3年間の班研究は, 現状で可能なオーダー・メイド化学療法のひとつのモデルとして結実した。臨床での有用性評価は現在進行中の研究終了を待たねばならず, また, 対象とする遺伝子数の問題や遺伝子多型解析が含まれていないなど, 今後の改良が必要な初步的モデルではあるが, 癌化学療法に新たな一石を投じるものと自負している。

臨床の進歩に貢献して初めて意義をもつ医科学研究である。本会誌 *W' Waves* の名の由来どおり, 臨床に結ぶ基礎研究として, 本研究を暖かく見守りご支援いただいた日本癌病態治療研究会の諸先生方および関係各位の皆様へ厚く御礼申し上げます。

[参考文献]

- 1) 西山正彦, 他. 抗癌剤の耐性因子の遺伝子診断—オーダー・メイド療法へ. *新医療*, 27 : 102-105, 2000.
- 2) 西山正彦. 分子標的化学療法班報告. *W' Waves*, 4 : 63-68, 1998.
- 3) Kinoshita T, Imamura J, Nagai H, Shimotohno K. Quantification of gene expression over a wide range by the polymerase chain reaction. *Anal Biochem*, 206 (2) : 231-5, 1992.
- 4) Duggan DJ, Bittner M, Chen Y, et al. Expression profiling using cDNA microarrays. *Nature Genet*, 21 : 10, 1999.
- 5) Scherf U, Ross DT, Waltham M, et al. A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nature Genet*, 24 : 236, 1999.
- 6) Nishiyama M, Suzuki K, Kumazaki T, Yamamoto W, Toge T, Okamura T, Kurisu K. Molecular targeting of mitomycin C chemotherapy. *Int J Cancer*, 72 : 649-656, 1997.
- 7) Nishiyama M, Yamamoto W, Park JS, Okamoto R, Hanaoka H, Takano H, Saitoh N, Matsukawa M, Shirasaka T, Kurihara M. Low-dose cisplatin and 5-fluorouracil in combination can repress increased gene expression of cellular resistance determinants to themselves. *Clin Cancer Res*, 5, 2620-2628, 1999.
- 8) Okamura T, Kurisu K, Nishiyama M, et al. NADPH/quinone oxidoreductase is a priority target of glioblastoma chemotherapy. *Int J Oncol*, 16 : 295, 2000.