

# 研究課題：Stage II・III大腸癌治療切除例に対する術後補助化学療法としての UFT/Leucovorin 療法における抗癌剤効果予測因子の mRNA 発現分布調査

研究実施責任者

埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科

石橋敬一郎

## 1. 背景と根拠

### 1.1 対象疾患の背景

日本における大腸癌の罹患率、死亡率は増加の一途を辿っている。2003 年における大腸癌の罹患者数は 99,770 人であり、部位別罹患数で男女ともに第 2 位の癌腫となっている。また、2007 年における大腸癌の死亡者数は 42,172 人であり、男性では肺癌、胃癌に次いで 3 番目に多く、女性では最も死亡者数の多い癌腫となっている。2020 年には大腸癌に罹患する患者は 154,137 人に達し、癌による死因では、胃癌、肺癌を抜いて第 1 位になると推測されている。また、欧米においても大腸癌は肺癌について癌による死因の第 2 位を占めており、世界的に見ても大腸癌の治療法の開発は重要な課題である。大腸癌は外科的手術が治療の第一選択肢となっているが、それに加え、術後再発の抑制および生存率向上を目的とした術後補助化学療法の施行による予後の改善が期待される。

### 1.2 対象疾患に対する治療法

#### 欧米における大腸癌術後補助化学療法の現状

欧米では、1990 年代後半に外来で簡便に治療が可能な経口フッ化ピリミジン系抗癌剤に関して、それまで標準治療とされてきた 5-FU/LV との非劣性試験が実施された。1997 年に開始された NSABP C-06 では、Stage II/III 結腸癌症例を対象として、UFT/LV と 5-FU/LV (RPMI 法) の無作為化比較試験 (Randomized control trial: RCT) が実施され、5 年 Disease-free survival (DFS) (67.0% vs 68.2%、HR=1.014)、5 年 Overall survival (OS) (78.5% vs 78.7%、HR=1.004) のいずれも非劣性が証明された 1)。また、1998 年に開始された X-ACT では、Stage III 結腸癌症例を対象として、Capecitabine と 5-FU/LV (Mayo 法) の RCT が実施され、3 年 DFS (64.2% vs 60.6%、HR=0.87)、3 年 OS (81.3% vs 77.6%、HR=0.84) の非劣性が証明された 2)。

更に、1990 年代終わり頃から 2000 年にかけて、5-FU/LV に oxaliplatin (L-OHP) を追加することの意義について検討する 2 つの臨床試験が実施された。Stage II/III 結腸癌症例を対象とし、5-FU/LV (de Gramont 法) と FOLFOX4 の RCT である MOSAIC では、5 年 DFS (67.4% vs 73.3%、HR=0.80; 95% CI, 0.68-0.93; p=0.003) および 6 年 OS (76.0% vs 78.5%、HR=0.80; 95% CI, 0.65-0.97; p=0.023) における L-OHP の上乗せ効果が確認された。しかし、Stage 別に見ると、Stage III 結腸癌では FOLFOX4 群が 5 年 DFS および 6 年 OS において有意に良好であったが、Stage II 結腸癌では 5 年 DFS および 6 年 OS において有意差は認められなかった 3)。また、FOLFOX4 群では、発熱性好中球減少や Grade 3/4 の下痢の発生頻度が高く、Grade 3 の末梢神経障害も 12.4%に認めた。NSABP C-07 においても、急速静注法の 5-FU/LV (RPMI 法) に対する L-OHP の上乗せ効果が確認されたが、MOSAIC 同様、Grade 3/4 の下痢を 38%に、Grade 3/4 の末梢神経障害を 8.4%に認めた 4)。

一方、5-FU/LV に irinotecan (CPT-11) を追加することの意義について検討した 3 つの臨床試験 (CALGB89803、PETACC-3、ACCORD-02) では、いずれも有用性を示すことができず、現時点では術

後補助化学療法において CPT-11 の併用は推奨されていない。

以上より、現在の欧米における StageⅢ結腸癌に対する術後補助化学療法としては、5-FU/LV+L-OHP (FOLFOX、FLOX)、Capecitabine、5-FU/LV が標準的治療とされている。

### 日本における大腸癌術後補助化学療法の現状

日本では、1996年に StageⅢ大腸癌を対象として、手術単独群と手術+UFT 群 (400mg/m<sup>2</sup>、5日間投薬2日間休薬、1年間投与) の RCT である N・SAS-CC (National Surgical Adjuvant Study of Colorectal Cancer) が開始された。2007年の ASCO にて最終解析結果が発表され、直腸癌においては5年DFSが手術単独群 56.3%、手術+UFT 群 68.9% (p=0.033、HR=0.66) であり、術後 UFT 投与が有意に再発を低下させることが確認された。また、5年OSは手術単独 72.1%、手術+UFT 85.3% (p=0.034、HR=0.60) であり、OSにおいてもUFTの有効性が確認された。また、坂本らは直腸癌を対象としたメタアナリシスを行い、UFTを含む術後補助化学療法が有意に無再発生存率を改善させたと報告した。以上のことから、UFTは日本における StageⅢ直腸癌に対する標準治療の1つと考えられる。

また欧米の標準治療であった5-FU/LV(RPMI)をコントロール群とし、StageⅢ結腸癌、直腸S状部(RS)癌、上部直腸(Ra)癌を対象にUFT/LVの非劣性を証明する試験(JCOG0205)が実施され、5-FU/LV(RPMI)に対するUFT/LVの非劣性が検証された。

大腸癌治療ガイドライン(医師用、2010年版)では、大腸癌に対する補助化学療法は「R0切除が行われた症例に対して、再発を抑制し予後を改善する目的で、術後に実施される全身化学療法である。」と規定されている。また推奨される治療法はUFT/LV、5-FU/LV、capecitabine、FOLFOX4またはmFOLFOX6であり、投与期間は6ヶ月が標準とされている。5-FU/LVの投与方法には、RPMI、Mayo、De Gramont、AIOなどがある。日本ではRPMIの週1回投与方法が保険承認の用法であったことから現在まで頻用されているが、投与方法による有効性の差はないと報告されている。また、経口フッ化ピリミジン系抗癌剤による術後補助化学療法(UFT/LV、capecitabine)は、5-FU/LVとの同等性が欧米のRCTにて報告されている(1)2)。

欧米ではStageⅢ結腸癌に対する術後補助化学療法としての5-FU/LVにL-OHPを併用した場合(FOLFOX4、FLOX)の再発抑制および生存期間に対する上乗せ効果がRCTで示されているが、欧米と日本では治療成績が異なり、日本人を対象としたL-OHP併用療法の有用性は検討する臨床試験が現在実施中である。

### 1.3 抗癌剤効果予測因子について

大腸癌化学療法においては5-フルオロウラシル(5-FU)を含む療法が中心となることから、5-FU代謝に関連する酵素、特に5-FUの標的酵素でDNA合成の律速酵素でもあるTS(thymidylate synthase)や、5-FU分解酵素であるDPD(dihydropyrimidine dehydrogenase)について、予後因子あるいは抗癌剤感受性因子としての研究が数多くある。このような大腸癌における予後因子、5-FU系抗癌剤感受性因子、さらには併用薬剤の感受性因子などに関する研究は、進行・再発消化器癌に対する化学療法、あるいは消化器癌術後補助化学療法をより有効なものとし、消化器癌患者個人に適した治療(テーラーメイド治療)を確立していく上において、大きな意義があるものと考えられる。

上記のような感受性因子に関する研究では、酵素活性やタンパク発現量の解析に加え、近年においては、分子生物学の進歩に伴いmRNAレベルでの発現量を解析する研究が増えてきている。米国のResponse

Genetics, Inc.は、通常の病理検査標本であるホルマリン固定パラフィン包埋薄切標本から解析に十分なRNAを抽出する技術を開発し、この技術にreal-time PCR法等の技術を組み合わせてmRNA発現解析を行う方法を開発した（Danenberg Tumor Profile法, DTP法）。

大鵬薬品工業株式会社（以下、大鵬薬品）と医療機関の共同研究「固形癌患者の核酸代謝酵素mRNA発現に関する母集団調査」では、各種固型癌患者の腫瘍組織における核酸代謝酵素TS, DPD, thymidine phosphorylase (TP)等のmRNA発現をDTP法により測定している。本研究により、DTP法は活性測定やELISA法によるタンパク量測定よりも感度が高く、測定精度も劣らないことがわかった。また、癌腫毎の4種の核酸代謝酵素遺伝子発現様式も明らかになった。しかしながら、測定対象が核酸代謝酵素、すなわち5-FU系抗癌剤の感受性因子に限られており、それ以外の汎用抗癌剤の感受性因子の情報は得られていない。また、大腸癌において発生部位、すなわち直腸、右方結腸、左方結腸によって腫瘍の抗癌剤に対する感受性が異なる可能性が報告されているが、部位別の解析は十分なされていない。

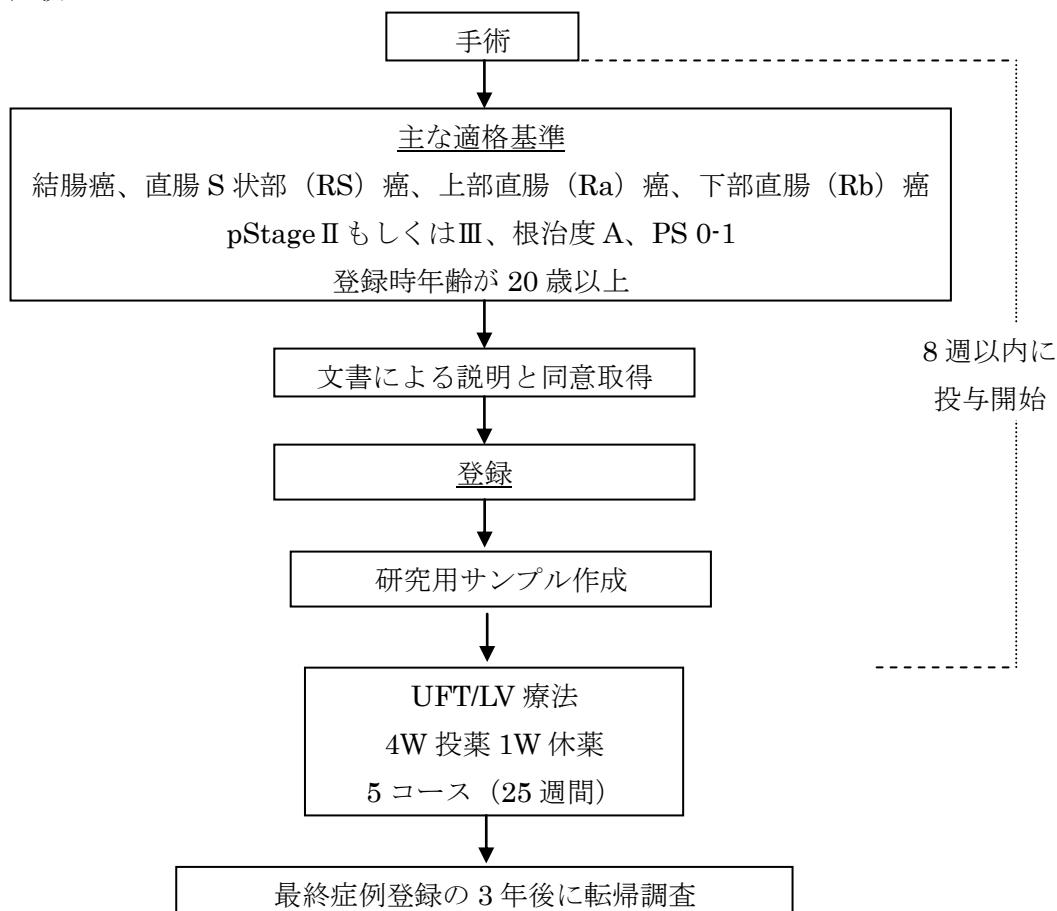
#### 1.4 本試験の目的

以上より、本研究では、治癒切除可能な大腸癌を対象とし、術後補助化学療法の標準治療のひとつであるUFT/Leucovorin療法の効果予測因子としての、TS、DPD、ERCC1、Topo-1、VEGF、COX2のmRNAの発現と発抑制効果や安全性との関連を検討することとした。

## 2. 方法

試験の全体的デザイン

単施設第II相試験



### 3. 研究期間

登録期間 : 倫理委員会承認後～2015年6月30日

試験期間 : 倫理委員会承認後～2018年6月30日

追跡終了日 : 最終症例登録の3年後 (2018年6月30日)

### 4. 予定症例数

目標集積症例数 : 80例

当センター予定症例数 : 80例

### 5. 研究の実施場所

当センター内 (消化管・一般外科における病棟及び外来診療の一環として行う)。

### 6. 患者選択基準・除外基準

適格基準すべてを満たし、除外基準のいずれにも該当しない症例を適格とする。

#### 適格基準

- 1) 組織学的に Stage II もしくは III の腺癌と診断された結腸 (C～S) 癌、直腸 S 状部 (RS) 癌、上部直腸 (Ra) 癌、下部直腸 (Rb) 癌である (虫垂癌は対象外とする)。
- 2) 根治度 A の手術がなされている。
- 3) 登録時年齢が 20 歳以上である。
- 4) PS (ECOG) が 0 あるいは 1 である。
- 5) 対象疾患に対して手術以外の治療が行われていない。
- 6) 経口摂取可能である。
- 7) 登録前 14 日以内 (登録日 2 週間前の同一曜日の検査は可) の臨床検査により主要臓器機能が保持されている。
  - ① 白血球数 :  $\geq 3,000/\text{mm}^3$  かつ  $< 12,000/\text{mm}^3$
  - ② 好中球数 :  $\geq 1,500/\text{mm}^3$
  - ③ 血小板数 :  $\geq 100,000/\text{mm}^3$
  - ④ ヘモグロビン :  $\geq 9.0\text{g/dL}$
  - ⑤ 総ビリルビン :  $\leq 2.0\text{mg/dL}$
  - ⑥ AST (GOT) :  $\leq 100\text{IU/L}$
  - ⑦ ALT (GPT) :  $\leq 100\text{IU/L}$
- 8) 術後 8 週以内に治療を開始できる。
- 9) 患者本人から文書による同意が得られている。

#### 除外基準

- 1) 無病期間が 5 年未満の活動性の多重がんを有する (治癒した皮膚基底細胞癌と子宮頸癌、あるいは内視鏡的粘膜切除により治癒した胃癌、食道癌、大腸 pM 癌の症例は登録可とする)。
- 2) 重篤な術後合併症を有する (例えば、登録時までには回復しない重篤な術後感染症、縫合不全、

消化管出血など)。

- 3) 以下のいずれかの併存疾患がある。
  - ① コントロール不良の糖尿病
  - ② コントロール不良の高血圧症
  - ③ 肝硬変、肝不全
  - ④ 腎不全
  - ⑤ 間質性肺炎、肺線維症、高度の肺気腫
  - ⑥ 活動性の感染症
  - ⑦ 6ヶ月以内の心不全、心筋梗塞、狭心症や、著しい心電図異常
- 4) 重篤な下痢を有する。
- 5) 重篤な薬剤過敏症の既往歴を有する。
- 6) フルシトシンを服用中である。
- 7) 妊婦あるいは妊娠している可能性のある女性、パートナーの妊娠を希望する男性。
- 8) 精神病または精神症状を合併しており、臨床試験への参加が困難と判断した。
- 9) その他、医師が本試験の登録には不相当と判断した。

#### 研究に参加されなかった場合の治療について

本研究に参加しない患者については、担当医師が患者と相談して最善と考える治療を行うこととし、治療内容については規定しないこととする。

#### **7. 被験者に理解を求め同意を得る方法**

登録に先立って、対象者に対し説明者（研究実施責任者＝試験責任医師および試験担当医師）が書類（添付資料②）を用い、外来あるいは病棟のプライバシーの保たれた場所で説明する。説明時期は大腸癌の手術後であり、本研究の目的及び方法、予想される利益と不利益、研究的側面の説明、個人情報保護、本研究に同意しなくても不利益を受けないこと、同意した場合でも随時撤回できることなどについて説明し、承諾を得た場合、本人より署名を得る（添付資料②）。

#### **8. 期待される利益及び不利益、危険性**

本試験における化学療法は、Stage II・III大腸癌において推奨されている術後補助化学療法であるため、特に期待される不利益はない。また、本研究で実施する抗癌剤効果予測因子のmRNA発現分布調査についても手術で摘出した腫瘍組織で行うため、被験者に追加の検査などは必要とならず、測定結果が被験者の今後の治療方針に影響することもないため、不利益が発生することはない。

本試験では、未承認薬の開発治験とは異なり、すでに厚生労働省により認められた抗がん剤を組み合わせ大腸がんの治療を行う。計画書(p21)に記載された有害事象の発現が想定されるが、これは実地医療と同様の程度で起こりうることであり、試験に参加したという理由で変わるものではない。逆に、計画書(p13)に記載されたとおり、減量、中止規準を設けることにより、有害事象の発現リスクを下げることで、有害事象の重篤化を防ぐことが可能であると考えられる。

## 9. 有害事象への対応

本試験の実施に起因して、何らかの健康被害が生じた場合は、適切な治療、その他必要な措置を受けることができるように担当医師、参加施設が対応する。ただし、提供される治療には健康保険を適用し、金銭での補償は行わない。

## 10. 費用負担について

本試験は、通常健康保険の範囲内で行われ、試験期間中の観察・検査、使用薬剤等は患者の健康保険が適用される。

なお、通常診療範囲外の mRNA 発現分布調査に要する費用は、大鵬薬品工業株式会社が負担する。

## 11. 個人情報の取扱い

「ヘルシンキ宣言」、「臨床研究に関する倫理指針」に従って人権擁護の配慮に努める。

患者の識別には、患者識別コードで特定するなど第三者が直接その患者を識別できないよう十分に配慮する。すなわち、登録患者の同定や照会は、施設で任意に付した患者識別コードと登録時に発行される施設症例番号を用いて行う。この匿名化は本研究に直接関与しない芳賀准教授のもとで連結可能匿名化された後、当院個人情報管理責任者である病理部 田丸教授のもとで厳重に管理・保存される。

## 12. 利益相反

本試験では、利害関係が想定される企業・団体からの経済的な利益やその他の関連する利害などについては、適切な利益相反マネジメントを経ているため問題はない。各施設においても、利益相反について IRB および利益相反委員会等において検討を行い、その結果を書面に残す。

## 13. 試料の取扱い

本試験では、mRNA 発現分布調査を行うため、FFPE 薄切標本（手術切除組織標本の場合、5  $\mu$ m 厚 x 1 枚および 10  $\mu$ m 厚 x 4 枚。内視鏡生検組織標本の場合、5  $\mu$ m 厚 x 1 枚および 10  $\mu$ m 厚 x 14 枚）を作成し、ID コードを付した試料を付帯情報（癌腫、試料採取臓器）と共に Response Genetics Inc.（以下 RGI）の測定施設（茨城県日立市または米国カリフォルニア州ロサンゼルス）に送付する。この時点で既に匿名化されており、個人の特定は不可能となっている。

さらに RGI は送付された試料より total RNA を抽出し、4 種の測定対象遺伝子 (TS、DPD、ERCC1、Topo-1、VEGF、COX2) の mRNA および対照として  $\beta$ -Actin mRNA の発現量を定量し、定量結果および試料の写真については RGI より電子化データとして返却される。提供された組織検体および測定に用いた試料は、再測定に備えて、測定後半年間を期限に保存するが、その後は焼却廃棄する。

## 14. 期待される成果、医学上の貢献の予測について

治癒切除可能な Stage II・III 大腸癌の術後補助化学療法において、抗癌剤効果予測因子の mRNA 発現分布より、抗がん剤の有効性と安全性が事前に推定でき、術後補助化学療法の治療選択における、医師・コメディカル、患者に対する本邦での貴重なエビデンスとなりうる。

## 15. 知的財産権について

本試験の結果および知的財産権は埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科のものとする。

## 16. 研究代表者、当センター研究責任者・実施者

<研究代表者>

埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科 教授 石田秀行

<当センター研究責任者>

埼玉医科大学総合医療センター 消化管・一般外科 教授 石田秀行

<研究実施者>

埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	准教授	石橋敬一郎 (実施責任者)
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	講師	隈元 謙介
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	傍島 潤
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	桑原 公亀
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	松澤 岳晃
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	幡野 哲
埼玉医科大学総合医療センター	消化管・一般外科	助教	天野 邦彦

## 参考文献

- 1) Barry C. Lembersky, H. Samuel Wieand, et al.: Oral Uracil and Tegafur Plus Leucovorin Compared With Intravenous Fluorouracil and Leucovorin in Stage II and III Carcinoma of the Colon: Results From National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol C-06. J Clin Oncol. 2006; 24(13): 2059-2064
- 2) Chris Twelves, Alfred Wong, Marek P. Nowacki, et.al. : Capecitabine as Adjuvant Treatment for Stage III Colon Cancer. N Engl J Med 2005; 352: 2696-704
- 3) Thierry Andre, Corrado Boni, Lamia Mounedji-Boudiaf, et al.: Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin as Adjuvant Treatment for Colon Cancer. N Engl J Med 2004; 350: 2343-51
- 4) J. Philip Kuebler, H. Samuel Wieand, Michael J. O'Connell, et al.: Oxaliplatin Combined With Weekly Bolus Fluoro- uracil and Leucovorin As Surgical Adjuvant Chemotherapy for Stage II and III Colon Cancer: Results From NSABP C-07. J Clin Oncol 2007; 25(16): 2198-204