

【総説】

Topoisomerase I 阻害剤, irinotecan 臨床研究の現況と至適併用療法の開発

—胃癌・大腸癌領域—

西山 正彦

広島大学原爆放射能医学研究所・分子情報研究分野*

(平成9年11月11日受付・平成9年12月9日受理)

消化器癌における塩酸イリノテカン (CPT-11) について現況を概説し、至適投与、併用について提言した。CPT-11 は、喜樹から抽出・単離されたカンプトテシンの水溶性誘導体で、活性代謝物 SN-38 が DNA トポイソメラーゼ (Topo) I 型と安定な複合体を形成し DNA 合成を阻害するという特徴的な作用機序を有する。前臨床研究にて母化合物よりも低い毒性、高い効果、広い抗腫瘍スペクトルが確認され、内外で臨床試験が行われた。胃癌、大腸癌に対してはそれぞれ 20~25%, 21~32% の奏効率が示され、ことに大腸癌ではきわめて有用な抗癌剤と評価されている。投与量規制因子である白血球 (好中球) 減少と激しい下痢により本邦では関連死亡例も認められたが、いずれも現在では管理可能な副作用ととらえられている。臨床研究は多剤併用へと進み、胃癌におけるシスプラチン (CDDP) 併用で 42%, 大腸癌における 5-フルオロウラシル (5-FU) 併用で 14 から 67% の高い奏効率が報告されている。しかしながらいまだ検討段階で、至適投与 (併用) 法を求めて基礎、臨床両面から研究が進められている。耐性機序の解析もその 1 つであるが、標的である Topo I の量・活性、膜糖蛋白などの既存の耐性因子は必ずしも効果 (耐性) 規定因子とはならないと考えられている。われわれは、あらたに CPT-11 耐性が薬剤の生体内荷電と細胞の膜電位差によって規定され、CPT-11 と同様に陽性荷電するドキシソルピシンなどの薬剤を同時併用すると一部の腫瘍細胞では効果が相殺されることを明らかにした。一方で、CPT-11 投与後に Topo II の発現増加がみられることから、CPT-11 先行 Topo II 阻害剤 24~48 時間後投与は高い抗腫瘍効果を示すことも明らかとなった。その効果は CDDP/CPT-11 よりも高く、今後こうした知見を臨床に還元していくことでさらなる展開が期待できると考えている。

Key words: Irinotecan (CPT-11), Cancer chemotherapy, Gastric cancer, Colo-rectal cancer, Review

塩酸イリノテカン (CPT-11) は、消化器癌治療に大きな変化をもたらさうな新規抗癌剤と考えられている。ことに大腸癌ではいまだ化学療法の効果は低く、5-フルオロウラシル (5-FU) およびそのバイオケミカル モデュレーション療法の成績をこえる抗癌剤、化学療法はない。今後の治療の中心となる薬剤として大きな期待が寄せられ、併用に関する臨床研究が精力的に行われている。消化器癌における CPT-11 について、単剤、併用にわけて概説する。また至適投与 (併用) 法について、われわれの基礎的知見を紹介したい。

I. 単剤評価

CPT-11 はトポイソメラーゼ (Topo) I 型を阻害することにより抗腫瘍効果を発現する本邦で開発された新規抗癌剤である。CPT-11 は肝のカルボキシルエステラーゼによる加水分解により活性代謝物 SN-38 となり、DNA の単鎖切断・再結合に関与する Topo I と安

定な複合体を形成し DNA の再結合を阻害する¹⁾。前臨床試験では、胃癌、大腸癌を含め広い抗腫瘍スペクトル、高い増殖抑制効果、およびドキシソルピシン (ADR) よりも軽度な亜急性毒性が示されている²⁾。また、多剤耐性細胞での効果も報告されている³⁾。

本邦での臨床第 1 相試験の結果は、単回投与では白血球 (好中球) 減少、週 1 回および 2 回投与では白血球 (好中球) 減少および下痢が投与量規制因子、最大許容投与量は単回投与では 250 mg/m² 以上、週 1 回投与では 100~125 mg/m²、2 回投与では 75 mg/m² であった。前期第 II 相試験を経て行われた胃癌ならびに結腸・直腸癌に対する後期第 II 相試験の成績を Tables 1, 2 に示した。完全例における A 法、B 法総計の奏効率は、胃癌 23%, 結腸・直腸癌 32% であった。白血球 (好中球) 減少および下痢は発現頻度および症状から特に注意を要する副作用と考えられ、それぞれ投薬との

Table 1. Response data (single agent)²⁾

	Gastric cancer		Colo-rectal cancer	
	A*	B	A	B
Major response	7**	7	7	10
Complete response	0	0	0	0
Partial response	7	7	7	10
Minor response	1	3	0	2
No change	10	13	9	8
Progressive disease	10	9	8	9
Response rate (%)	7/28 (25)	7/32 (22)	7/24 (29)	10/29 (32)
	14/60 (23)		17/53 (32)	

*A: 100 mg/m² weekly, B: 150 mg/m² every 2 weeks

**number of patients

Table 2. Frequent toxicity (single agent)²⁾

	≥grade 2 (%)			
	Gastric cancer		Colo-rectal cancer	
	A*	B	A	B
Hematological toxicity				
Leukopenia	29/38 (76)	29/38 (76)	19/30 (63)	15/32 (47)
Anemia	21/38 (55)	22/38 (58)	13/30 (43)	9/32 (28)
Thrombocytopenia	3/38 (8)	4/38 (11)	1/30 (3)	2/32 (6)
Non-hematological toxicity				
Diarrhea	14/38 (37)	15/38 (40)	13/31 (42)	7/31 (23)
Nausea, vomiting	15/38 (40)	18/38 (47)	19/31 (61)	13/32 (41)
Anorexia	20/38 (53)	20/38 (53)	17/29 (58)	12/32 (38)

*A: 100 mg/m² weekly, B: 150 mg/m² every 2 weeks

関連性を否定できない死亡症例も各 4 例認められた²⁾。欧米でも大腸癌を中心に多くの臨床試験（欧州, 350 mg/m² 3 週ごと; 米国, 125 mg/m²~150 mg/m² 週 1 回×4 週+2 週休薬）が行われ、本邦と同様 20.5~32% の高い奏効率が得られている⁴⁾。これら大腸癌臨床試験における奏効期間中央値は 5.6~10.6 か月であった。白血球（好中球）減少および下痢は塩酸ロペラミド、抗生物質、緊急措置としての G-CSF 投与などの慎重な対応で管理可能なものと考えられ、5-FU 中心の前治療の有無にも効果が大きな影響を受けないことから大腸癌治療の進歩に大きく貢献する抗癌剤として高く評価されている⁶⁾。大腸癌における従来の化学療法との比較を考慮すれば当然の評価であり、今後さらにその重要性が増すものと考えられる。

II. 多剤併用

前臨床、臨床第 I, II 相試験での良好な成績から当然関心は併用療法に向けられている。大腸癌では 5-FU、胃癌では CDDP との併用が試みられている。本邦では大腸癌で CPT-11 を第 1 および 15 日、5-FU を 600 mg/m² に固定して第 3 日から 5 日間持続投与する併用投与の臨床第 I, II 相試験が検討され、研究進行中の成績ながら CPT-11 100, 125, 150 mg/m² での奏効率

がそれぞれ 0/6 (0), 4/6 (66.7%), 1/7 (14.3%) であったとの報告がある⁶⁾。必ずしも CPT-11 単独投与に比べ良好な成績とはいえないが、CPT-11 150 mg/m² の段階でいまだ最大許容量に到達しておらず、さらには時間差投与の臨床試験も計画されており今後の進展を注目したい。また、胃癌における CDDP 併用臨床第 I, II 相試験は、第 1 日目に CPT-11 投与 2 時間後に CDDP を 80 mg/m² に固定して投与、第 15 日目に CPT-11 単独投与し 4 週間 1 サイクルとする方法で行われ、41.7% の奏効率が得られている⁶⁾。CPT-11 の最大許容投与量は 80 mg/m²、白血球（好中球）減少が投与量規制因子、また激しい下痢も注意すべき副作用と報告されている。結論として、CPT-11 70 mg/m² 第 1 および 15 日、CDDP 80 mg/m² 第 1 日目投与、4 週間 1 サイクルが推奨投与方法としている。治療成績の普遍性評価を待たずに結論することはできないが、いずれも大きな可能性を有する併用療法であることは十分に認識できる。至適併用療法が確定されれば、胃癌・大腸癌の治療に著しい進歩をうながすと考えられる。

III. 併用に関する提言

しかしながら、上記 5-FU あるいは CDDP との併用療法が CPT-11 の効果を最大限に活用しているか否か

には少しく疑問が残る。いずれの薬剤も、作用機序が異なる、単剤でも効果が期待できる。毒性を増強しない、前臨床研究で相加・相乗作用が示されている、という条件を満たしており、併用薬剤としてけっして大きく誤るものではない。われわれの基礎的研究でも単独投与に比べ併用により効果が増強することが確認されている。しかしながら、われわれはさらに高い抗腫瘍効果を示す組み合わせを見い出している。

併用薬剤の選択の重要な条件の1つに耐性機序が交差しないことがあげられる。理想的にこれら耐性機序の把握のもとに併用試験の設定が行われるべきである。しかしながら、CPT-11の耐性機構はまだ明らかではなく、5-FU, CDDPも同様である。CPT-11に関しては標的であるTopo Iの量・活性がCPT-11の耐性に深く関与するとされてきたが、現在では膜糖蛋白などの既存の耐性因子も含め必ずしも効果(耐性)規定因子とはならないととらえられ⁹⁾、ますます混迷化している。そうしたなか、われわれはマウス乳癌細胞FM3AとそのCPT-11の耐性株(50 MT-1)を用い、細胞の膜電位差がCPT-11耐性に深く関与している因子であることを見出した⁹⁾。50 MT-1では親株に比べCPT-11の細胞内濃度の減少が認められた以外、膜輸送系蛋白(GP-170, MRP)の発現、Topo I, II (Table 1), グルタチオン, グルタチオン-S-トランスフェラーゼなどの既知の耐性因子に変化は認められなかった。明らかな相違が認められた因子は唯一細胞膜電位差であった (Table 2)。50 MT-1の細胞膜電位差は親株に比べ有意に低下していた。さらに50 MT-1に膜安定化薬剤セファランチン(CE)処理を施すと細胞膜電位差は増大し、CPT-11の細胞内取り込み量の増加、耐性度の減少が認められた。細胞膜電位差は少なくとも1つのCPT-11耐性規定因子であることを示す結果といえる。生理的条件下でCPT-11は陽性、細胞膜は陰性に荷電している。したがって、電気力学的にCPT-11の膜受動輸送は膜内外の電位差勾配によって

大きく影響を受ける。当然、電位差の低い耐性細胞ではCPT-11の細胞内濃度が減少し、耐性を示すことになる。細胞膜電位差は陽性荷電薬剤に共通の効果規定因子と考えられる。50 MT-1はドキソルビシン(ADR)などの他の陽性荷電薬剤にも耐性であり、50 MT-1と同様に細胞膜電位差の低下したK562/DOX(ヒト白血病細胞K562のADR獲得多剤耐性細胞)もCPT-11に対して高度耐性であった。細胞膜電位差はCPT-11の重要な耐性規定因子と考えられる。

以上の結果は、CPT-11の同時併用薬剤として陽性荷電抗癌剤は不適切であることを示すものである。ADRとCPT-11の同時併用はそれぞれの効果を相殺するものと考えられる。事実、その拮抗作用が確認されている¹⁰⁾ (Table 3)。5-FUあるいはCDDPとの併用によって効果増強が得られたのは両剤ともに非荷電薬剤であることによると考えられる。したがって、5-FU/CPT-11あるいはCDDP/CPT-11は耐性因子からみた理想的な同時併用の組み合わせの1つと言えよう。しかしながら、時間差をおいた投与ではCPT-11/CDDPよりもCPT-11先行ADR 24~48時間後投与が効果が高いことが明らかとなった¹⁰⁾ (Table 4)。これは、

Table 3. Sequential vs co-treatment¹⁰⁾

	Tumor growth inhibition (1-T/C, %)			
	single agent		CPT-11+ADR	
	CPT-11	ADR	co-treatment	sequential
Esophageal cancer				
EH-1	35.0	63.3	5.0	74.5
EH-6	36.8	60.0	51.8	80.9
Gastric cancer				
SH-6	60.1	20.2	38.5	67.6
H-111	61.2	47.7	31.8	82.3
Colon cancer				
CH-5	17.9	34.9	10.6	54.3
CH-6	12.1	30.7	9.8	70.9

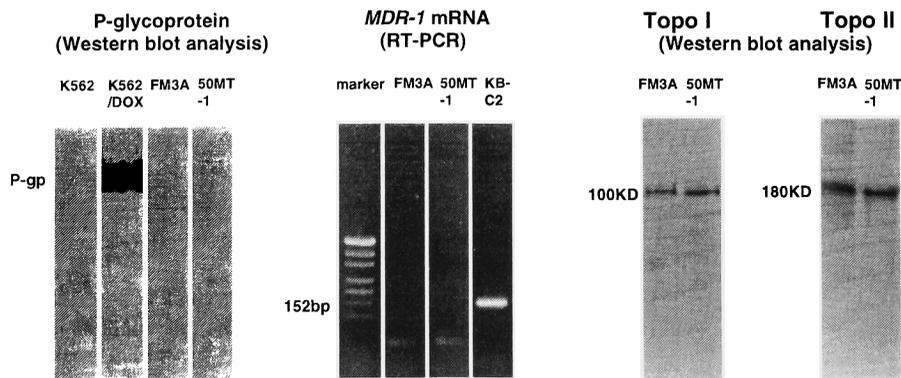


Fig. 1. Expression of P-glycoprotein, *MDR1*, topoisomerase I and II in FM3A- and CPT-11-resistant 50 MT-1 cells⁹⁾. No differences in P-glycoprotein, *MDR1*, and topoisomerases between FM3A and 50 MT-1 cells could be detected.

Table 4. Antitumor effect sequential treatment with CPT-11 and other anticancer agents¹⁰⁾

	Tumor growth inhibition (1-T/C, %)						
	single agent				combination (CPT-11 +)		
	CPT-11	MMC	CDDP	ADR	MMC	CDDP	ADR
EH-6	36.8	23.9	31.0	60.0	35.9	48.7	75.6
H-111	61.2	34.6	35.5	47.7	48.7	44.2	77.1
CH-6	12.1	14.7	15.8	30.7	19.9	28.0	73.4

CPT-11 投与により 24~48 時間後に Topo II の発現が増加することによって考えられた (Fig. 3)。Topo I の阻害により Topo II のレベルが増加しこれを標的とする薬剤の活性が高まる, すなわち CPT-11 がエフェクタ

ーであると同時に Topo II 阻害剤 ADR の効果増強のためのモデュレーターとして働くことが確認されたと考える。CPT-11 先行 ADR 24~48 時間後投与は理想的な Topo I, II 標的治療ともいえ, CPT-11 の効果を最大限に引き出す併用投与と考えている。問題は毒性であり, その治療としての有用性は臨床試験によってはじめて証明されることになる。こうした基礎知見を積極的に取り入れた臨床試験を望みたい。その結果, CPT-11 の臨床での有用性はさらに高まるのではないかと期待している。

IV. おわりに

CPT-11 は胃癌 大腸癌治療において大きな可能性を有する新規抗癌剤である。副作用としての白血球 (好中球) 減少および下痢も慎重な対応で管理可能と考えられている。現在進行中の 5-FU あるいは CDDP との併用に関する臨床研究の成果が注目されているが, 積極的に進められている薬剤特性に関する基礎研究の成果を還元する臨床試験の設定も望みたい。その例として CPT-11 24~48 時間先行投与 ADR 併用療法の基礎知見を提示した。

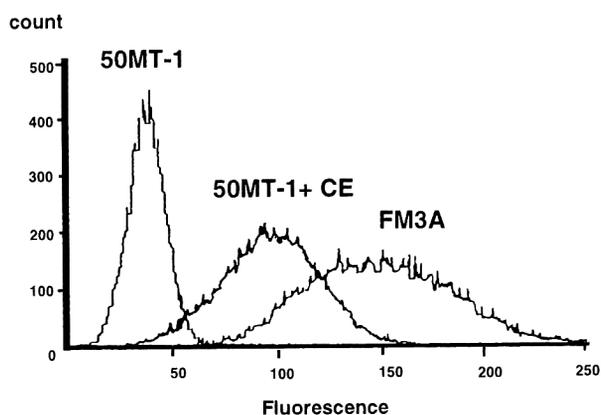


Fig. 2. Plasma membrane potential in FM 3 A cells and CPT-11-resistant 50 MT-1 cells⁹⁾. The membrane potential in 50 MT-1 cells was lower than in FM 3 A cells. Although it was increased in the presence of 1 μ g of cepharanthine (CE) per ml.

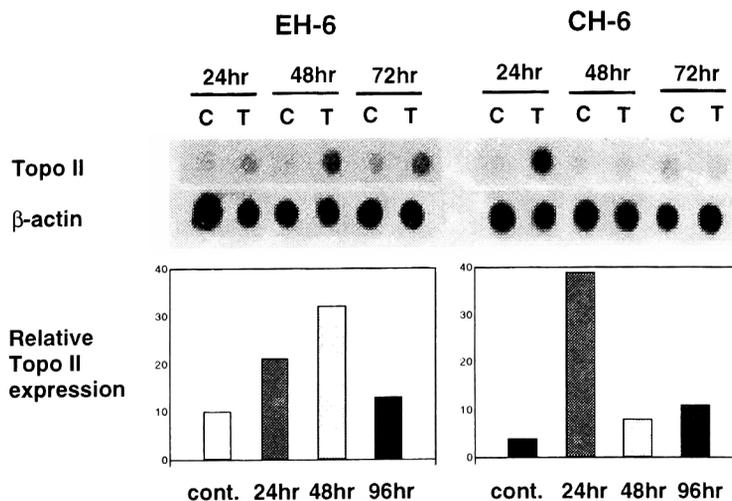


Fig. 3. Topoisomerase-II (Topo II) mRNA expression after CPT-11 treatment in EH-6 and CH-6 tumor cells. Topo II mRNA expression was induced at high levels in CH-6 cells at 24 h and in EH-6 at 24 h after CPT-11 treatment.

文 献

- 1) Kawato Y, Furuta T, Aonuma M, et al.: Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect CPT-11. *Cancer Res.* 51: 4187~4191, 1991
- 2) 新医薬品承認審査概要 (SBA) No. 1 (改訂版) 塩酸イリノテカン、厚生省薬務局審査課編、日本公定書協会、1995
- 3) Tsuruo T, Matsuzaki T, Matsushita M, et al.: Antitumor effect of CTP-11, a new derivative of camptothecin, against pleiotropic drug-resistant tumors in vitro and in vivo. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 21: 71~74, 1988
- 4) Wiseman L R, Markham A: Irinotecan. A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in the management of advanced colorectal cancer. *Drugs*, 52: 606~623, 1996
- 5) Rougier P, Bugat R, Douillard J Y, et al.: Phase II study of irinotecan in the treatment of advanced colorectal cancer in chemotherapy-naïve patients and patients pretreated with fluorouracil-based chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 15: 251~260, 1997
- 6) 山尾剛一, 島田安博, 白尾国昭, 他: 転移性大腸癌に対する CPT-11+5-FU 併用療法の第 I - II 相試験。日癌治学誌 30: 1395, 1995
- 7) Shirao K, Shimada Y, Kondo H, et al.: Phase I - II study of irinotecan hydrochloride combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *J. Clin. Oncol.* 15: 921~927, 1997
- 8) Slichenmyer W J, Rowinsky E K, Donehower R C, et al.: The current status of camptothecin analogues as anti-tumor agents. *J. Nat. Cancer Inst.* 85: 271~291, 1993
- 9) Aogi K, Nishiyama M, Kim R, et al.: Overcoming CPT-11 resistance by using a biscoclaurine alkaloid, cepharanthine, to modulate plasma trans-membrane potential. *Int. J. Cancer* 72: 295~300, 1997
- 10) Kim R, Hirabayashi N, Nishiyama M, et al.: Experimental studies on biochemical modulation targeting topoisomerase I and II in human tumor xenografts in nude mice. *Int. J. Cancer* 50: 760~766, 1992

Irinotecan (CPT-11) in the treatment of gastrointestinal cancers

Masahiko Nishiyama

Department of Biochemistry and Biophysics, Research Institute for Radiation Biology and Medicine,
Hiroshima University, 1-2-3 Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8553, Japan

Irinotecan (CPT-11) is a semi-synthetic derivative of camptothecin (CPT). CPT-11 is metabolized to SN-38 and exerts anticancer activity through its inhibitory action on type-I DNA topoisomerase. SN-38 (CPT-11) has demonstrated potent inhibition of growth of various types of cancer cells. In phase I - II studies, objective response rates ranged from 21 to 32% for colorectal cancer and from 20 to 25% for gastric cancer, and the most frequent adverse events were neutropenia and diarrhea. Those hopeful results have stimulated both clinical and preclinical research to increase its therapeutic efficacy by combination with other anticancer agents. The phase I - II study of CPT-11 with CDDP in Japan has revealed a high response rate of 42% for gastric cancer. A CPT-11/5-fluorouracil (5-FU) combination was investigated in phase I - II studies in patients with advanced colorectal cancer: Response rates ranged from 14% to 67%. In the laboratory, efforts have been directed towards understanding the critical determinants of irinotecan-induced cytotoxicity, seeking the best modalities to improve CPT-11 effectiveness. We have shown that the plasma-transmembrane potential may play an important role in CPT-11 resistance. Since doxorubicin (ADR), like CPT-11 (SN-38), is positively charged in a physiological condition, a synergistic effect in co-treatment with ADR is not hopeful. On the other hand, CPT-11 treatment induces an increase in topo-II mRNA expression after 24 to 48 h. CPT-11 can modulate topo-II levels to enhance the effect of topo-II inhibitors such as ADR. Sequential treatment with CPT-11 and ADR is more active than with CPT-11/MMC and CPT-11/CDDP. Thus we suggest that CPT-11/ADR is the best combination for gastrointestinal cancers.