

肺癌治療における  
癌組織内チミジル酸合成酵素発現の意義

日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野

中川 喜子

2013年

指導教員 橋本 修

## 目次

1. 概要.....	1
2. 緒言.....	3
3. 進行肺癌に対する治療の現状.....	5
4. チミジル酸合成酵素とは.....	7
5. 進行非小細胞肺癌における癌組織内チミジル酸合成酵素 mRNA 発現とペメトレキセドの治療効果との関係	
a) 背景.....	8
b) 対象と方法.....	9
c) 結果.....	11
d) 考察.....	13
6. 進行非小細胞肺癌における癌組織内チミジル酸合成酵素蛋白発現と化学療法の治療効果との関係	
a) 背景.....	15
b) 対象と方法.....	15
c) 結果.....	17
d) 考察.....	18
7. 結語.....	21
8. 謝辞.....	22
9. 図表.....	23
10. 引用文献.....	40
11. 研究業績目録.....	49

## 1. 概要

背景・目的：肺癌は発見時には進行期であることが多く、治療は化学療法が主体となるが、5年生存率は未だに13%程度と予後不良な癌腫の一つである。しかし、近年においては分子標的薬の開発により、ある特定の肺癌のグループにおいては予後の改善がみられてきている。また、新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬の開発により高い治療効果が報告されるようになってきているが、それらのバイオマーカーは今のところ明確ではない。

新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬のペメトレキセド(Pemetrexed: Pem)はパクリタキセル(Paclitaxel: Pac)と並び、進行肺癌治療において重要な key drug として汎用されている。Pem は葉酸代謝拮抗薬であり、同じ葉酸代謝拮抗薬には以前から5-fluorouracil(5-FU)や S-1 といった抗癌剤があるが、特に消化器系癌においてはチミジル酸合成酵素 (Thymidylate synthase: TS)と治療効果、予後との関連の報告が多い。また、TS は細胞増殖に必要な酵素であり、癌の悪性度との関連も示唆されているが、進行肺癌については TS 発現と抗癌剤の効果について不明なことが多い。そのため、今回私は進行肺癌治療において癌組織内 TS 発現が抗癌剤の薬剤選択のバイオマーカーになり得るかどうか、臨床検体を用いて検討を行った。

方法： まず、進行肺癌患者の癌組織検体を用いて、癌組織内 TS messenger ribonucleic acid (mRNA)と蛋白発現を測定し、Pem の治療効果との関係を検討した。TS mRNA 発現は、レーザーマイクロディセクションを用いて肺癌細胞のみを分離し、Real-time RT-PCR 法を用いて行った。次に TS 蛋白発現とカルボプラチン (Carboplatin: Cb)+Pac 併用化学療法(CbPac 療法)、Cb+Pem 併用化学療法(CbPem 療法)の治療効果との関係を検討した。TS 蛋白発現は免疫組織化学 (immunohistochemistry: IHC)法 を用いることにより測定した。治療効果は、奏効率(response rate: RR)、無増悪生存期間(progression-free survival: PFS)、全生存期間(overall survival: OS)で評価した。

結果： TS mRNA 発現は有意に Pem 治療による奏効度と相関していた。PFS は TS mRNA 低発現群が高発現群に比べ延長し、肺癌組織内 TS mRNA 発現は Pem の効果予測因子になる可能性があると思われた。

カルボプラチン(Carboplatin: Cb)+Pac 併用化学療法(CbPac 療法)の治療効果と TS 蛋白発現の関係は、奏効群の TS 蛋白発現が非奏効群よりも高い傾向にあり、TS 蛋白発現は CbPac 療法の効果に影響していると思われた。

TS 高発現の場合、Pac は Pem に比べて治療効果が有効である傾向があり、TS 高発現における CbPac 療法の有効性が示唆された。

TS 低発現の場合、Pem が Pac より治療効果が有効である傾向あり、TS 低発現における Cb+Pem 併用化学療法(CbPem 療法)療法の有効性が示唆された。

結語： 癌組織内 TS 発現は、進行肺癌で使用される代表的な抗癌剤である Pem と Pac の治療効果に影響し、抗癌剤の薬剤選択において有用である可能性が示唆された。

## 2. 緒言

肺癌は日本では1998年から悪性腫瘍による死因の第一位となり、年間約6万人が肺癌で死亡している。一次予防としての禁煙対策や検診事業による早期発見、手術療法、化学療法や放射線療法の進歩により予後の改善はみられてきているが、肺癌患者全体の5年生存率は未だに13%程度に過ぎず、他の癌に比べると十分な治療成績が得られていない。肺癌の多くは進行期で発見され、治療は化学療法が主体となり、一次治療としてはプラチナ併用化学療法が標準治療となっている。しかし、近年においては分子標的薬や新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬の登場により治療の選択肢が広がってきている。上皮成長因子受容体(epidermal growth factor receptor: EGFR)遺伝子の変異がある肺腺癌にはEGFRチロシンキナーゼ阻害薬である gefitinib(1,2)や erlotinib(3)が治療効果を示す。また、EML4(echinoderm microtubule-associated protein-like 4)と未分化リンパ腫リン酸化酵素(anaplastic lymphoma kinase: ALK)の融合遺伝子 EML4-ALK 陽性例では ALK 阻害薬である crizotinib が著効する(4)。このように遺伝子情報に基づく肺癌の個別化医療は広がってきている。

抗癌剤は以前より代謝拮抗薬や微小管作用薬、DNA合成阻害薬、植物アルカロイド、抗癌性抗生物質などがあるが、いずれも癌の無限増殖に伴うDNA合成や細胞分裂を阻害することにより癌の死滅、すなわち抗癌活性を示す。最近は様々な遺伝子や蛋白発現異常と抗癌剤の治療効果との関係が数多く検討されているが、多くの抗癌剤においては薬剤選択のためのバイオマーカーは今のところ明確ではない。肺癌の予後の改善のためには、抗癌活性の高い治療薬の開発とともに、個々に対しより効果の高い治療薬を選択することが強く求められてきている。

Thymidylate synthase (TS)は核酸合成に関わる主要な酵素であり、DNA合成や修復に関与している。細胞増殖に必要な酵素であり、癌細胞におけるTS発現と癌の悪性度との関連が示唆されている(5,6,7)。また、抗癌剤である5-fluorouracil(5-FU)やS-1、新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬のペメトレキセド

(Pemetrexed: Pem)といった葉酸代謝拮抗薬の主な標的蛋白であり、今までに抗癌剤の臨床効果と TS 発現との関係については報告されているが、進行肺癌については不明なことが多い。

今回、私は進行肺癌患者の癌組織検体を用いて、癌組織内 TS messenger ribonucleic acid (mRNA)と蛋白発現を測定し、抗癌剤の治療効果との関係を調べ、進行肺癌治療において癌組織内 TS 発現が抗癌剤の薬剤選択のバイオマーカーになり得るか検討した。

### 3. 進行肺癌に対する治療の現状

肺癌は非小細胞肺癌と小細胞肺癌に大別されるが、多くは非小細胞肺癌であり全体の80~85%を占める。一般に非小細胞肺癌は小細胞肺癌と比較して、化学療法や放射線療法による効果が不十分であり、癌が限局している場合は手術が第一選択となる。しかし、診断時には遠隔転移が存在し治癒的切除が困難なことが多く、このような場合は化学療法を中心とした治療が選択される。進行非小細胞肺癌の標準的治療は化学療法であり(8)、状況により放射線療法が追加される。また、診断時に癌の進行により全身状態が不良な場合は、Best supportive care(BSC)が選択されることが多い。

非小細胞肺癌における化学療法は、1980年代にシスプラチン(Cisplatin: CDDP)が登場し、1995年にNon-small Cell Lung Cancer Collaborative Groupによって初めてCDDPを含む併用化学療法の有効性が示されて以来、殺細胞性抗悪性腫瘍薬の開発が進められてきた(9)。しかし、化学療法の奏効率は約30%、中間生存期間は約1年と、十分な治療効果は得られていなく予後は不良である(10)。

2000年代になり分子標的薬の導入、新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬の開発により、一部の患者集団においては従来の標準治療と比べ高い治療効果を認めた。2008年にはIPASS試験でEGFR遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌患者におけるgefitinibの効果が報告され、奏効率が71.2%と驚くべき結果であった(11,12)。血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)に対するヒト化モノクローナル抗体のBevacizumab(BV)は、出血の副作用から対象患者を非扁平上皮非小細胞肺癌に限定し、カルボプラチン(Carboplatin: Cb)+パクリタキセル(Paclitaxel: Pac)+BV併用療法とCb+Pac療法を比較した臨床第Ⅲ相試験を行い、全生存期間(overall survival: OS)でBV併用療法が有意にOSを延長(中央値12.3ヶ月vs10.3ヶ月)することが報告された(13)。また、2007年にSodaらにより肺癌の新しい原因遺伝子として2番染色体短腕内の逆位により生じるEML4とALKの融合遺伝子EML4-ALKが同定され(14)、ALK阻害薬であるcrizotinibは良好な結果が得られており(15)、現在

臨床に導入されている。

新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬の Pemetrexed (Pem) においては、CDDP+Pem 併用化学療法と CDDP+ゲムシタビン(Gemcitabine: GEM)併用化学療法とのランダム化比較第Ⅲ相試験が報告されており、全体では両群で同等の効果が示された。サブセット解析では非扁平上皮癌において、CDDP+Pem 併用化学療法が CDDP+GEM 併用化学療法に比べ OS が有意に延長し (11.8 ヶ月 vs10.4 ヶ月、 $p=0.005$ )、Pem は非扁平上皮非小細胞肺癌において高い抗腫瘍効果が示された(16)。

進行非小細胞肺癌の治療は、従来のプラチナ製剤併用化学療法だけでなく、分子標的薬や新規殺細胞性抗悪性腫瘍薬の登場により併用療法の組み合わせ方や投与薬剤の選択が多岐にわたるようになってきている。そのため EGFR 遺伝子変異や EML4-ALK 融合遺伝子などの特有の遺伝子異常の検索を行うとともに、個々にとってより有効な治療法を選択することが求められている。



#### 4. チミジル酸合成酵素とは

チミジル酸合成酵素(thymidylate synthase: TS)は DNA 合成に必要なチミンヌクレオチドを生成するために、活性型葉酸(5,10-methylenetetrahydrofolate;CH<sub>2</sub>THF)と共にデオキシウリジン-リン酸(deoxyuridylate 5' -monophosphate;dUMP)を還元的メチル化反応によってデオキシチミジン-リン酸(deoxythymidine 5' -monophosphate;dTMP)に代謝し、ピリミジン合成に関わっている(Figure 1)。TS はピリミジン代謝の律速酵素であり、核酸合成において中心的な酵素になっており、腫瘍細胞の増殖に関与している。葉酸代謝においては、TS 以外にも DHFR(dihydrofolate reductase) や GARFT(glycinamide ribonucleotide formyltransferase) 、 AICARFT(5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase)といった様々な酵素が核酸合成に関係している。DHFR はメソトレキセートの標的酵素であり、Pem は TS や DHFR、GARFT、AICARFT を阻害し、これらの酵素は抗癌剤の作用点になっている(17)。

TS mRNA 発現は転写因子である E2F-1 に制御されている(18)。E2F-1 は通常は RB(Retinoblastoma gene product)と結合し複合体を形成することで不活性化されているが、細胞周期における G1 期から S 期の移行期において RB がリン酸化されると E2F-1 が RB から解離し、TS 等の DNA 合成に必要な遺伝子の転写を活性化させる(19) (Figure 2)。E2F-1 を細胞にトランスフェクトさせると TS が過剰発現し(20)、肺癌(21)や胃癌(22)、骨肉腫(23)などにおいて E2F-1 発現と TS 発現との相関が報告されている。

抗癌剤により TS 活性が阻害されると、dTMP の減少と dUMP の増加というデオキシリボヌクレオチドの不均衡を生じ、DNA 合成において dUMP が DNA に誤って取り込まれ DNA 傷害を引き起こす(24)。TS 阻害の結果、DNA 傷害や DNA 合成の低下が生じると S 期で細胞周期が停止し、caspaseなどを介してアポトーシスが惹起され、腫瘍細胞の細胞増殖は抑制される(25)。

## 5. 進行非小細胞肺癌における癌組織内チミジル酸合成酵素 mRNA 発現とペメトレキセドの治療効果との関係

### a) 背景

Pem は非小細胞肺癌と悪性胸膜中皮腫の治療において有効な治療薬である。既治療非小細胞肺癌患者を対象とした第Ⅲ相試験によると Pem はドセタキセル (Docetaxel: DOC) と同等の効果と安全性を認めた(26)。また、未治療非小細胞肺癌患者の第Ⅲ相試験では、CDDP+Pem 併用化学療法は CDDP+GEM 併用化学療法と比べ非劣性と高い忍容性が示された(16)。Pem は進行非小細胞肺癌の標準的な治療薬の一つとして広く使用されている(27)。

Pem はマルチターゲットな葉酸代謝拮抗薬であり、3 つの重要な葉酸依存性酵素である thymidylate synthase(TS)、dihydrofolate reductase(DHFR)、glycinamide ribonucleotide(GARFT)を抑制する。Pem はこれら 3 つの酵素のうち TS を最も強く抑制し(28,29,30,31)、TS の過剰発現は Pem に対する感受性を減少させる(32)。

2 つの大規模な非小細胞肺癌における第Ⅲ相試験では、Pem は扁平上皮癌よりも腺癌でより効果を示した(16,26)。このように、Pem の効果は組織型により異なる(33)。Ceppi らは手術検体での検討で、TS mRNA と蛋白発現は、扁平上皮癌に比べ腺癌で著しく低かったと報告している(34)。これらの結果より Pem の効果が TS 発現に影響している可能性が示唆された。しかし、肺癌組織内における葉酸代謝酵素の発現と Pem の臨床効果との関係については不明なことが多い(35,36,37,38,39)。特に、進行非小細胞肺癌患者の微小生検検体における葉酸代謝酵素の mRNA 発現については明らかではない。

## b) 対象と方法

### 対象

2009年7月から2010年11月までに日本大学医学部附属板橋病院でPemを投与された進行非小細胞肺癌患者50例。全例において、書面にてインフォームドコンセントを得た。

### サンプルとマイクロダイゼクション

治療前に経気管支的または経皮的腫瘍生検で得られた検体を用い、ホルマリン固定後のパラフィン包埋微小検体より厚さ $10\mu\text{m}$ の連続切片を作成し、トルイジンブルーで染色した(Wako Pure Chemical Industries,Ltd.,Osaka,Japan)。肺癌細胞は病理医によって顕微鏡下でレーザーマイクロダイゼクションを用いて分離された。

### RNA抽出と Complementary DNA 合成

検体は $5\mu\text{l}$ のProteinase K(Takara Bio Inc.,ShigaJapan)で24時間、 $55^{\circ}\text{C}$ で加熱し、検体懸濁液に2M酢酸ナトリウムの $20\mu\text{l}$ を加え、その後 $220\mu\text{l}$ フェノール/クロロフォルム/イソアミルアルコール(250:50:1希釈)を $220\mu\text{l}$ 加えた。その後懸濁液は $10000\times\text{g}$ 、15分間で遠心分離を行った。この上澄液に $2\mu\text{l}$ グリコーゲンと $200\mu\text{l}$ イソプロパノールを加え30分間、 $-80^{\circ}\text{C}$ で保管した。その後 $4^{\circ}\text{C}$ で $10000\times\text{g}$ 、30分間で遠心分離を行い、上澄を除去しRNAをペレットとして回収した。ペレットは $5\mu\text{l}$  RNase freeの水で再懸濁した。cDNAはQuantiTect® Reverse transcription Kit(Qiagen,Hilden,Germany)を使用して合成を行った。

### Real time RT-PCR

Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)を内因性のリファレンス遺伝子として使用した。200nM probe、200nM dATP、dCTP、dGTP、dTTP、3.5nM  $\text{MgCl}_2$ 、 $1\times$  Taqman Universal PCR Masterを混ぜ最終的に $20\mu\text{l}$ に調整した(Applied Biosystems,Foster City,CA,USA)。プライマーのシーケンスは以下の通りである。

TS:forward:5'-GAATCACATCGAGCCACTGAAA-3',  
reverse:5'-TTCGAAGAATCCTGAGCTTTGG-3';  
DHFR:forward:5'-TAAACTGCATCGTCGCTGTGT-3',  
reverse:5'-GGGCAGGTCCCCGTTCT-3';  
GARFT:forward:5'-GACAGTACTCGGGAACCAAATAGC-3',  
reverse:5'-ACTGCGGCTTTGTTGGAGAT-3';  
GAPDH:forward:5'-GTCGGAGTCAACGGATTTGG-3',  
reverse:5'-GGCAACAATATCCACTTTACCAGAG-3'.

PCR の条件は 50°C で 2 分間、95°C で 10 分間、95°C で 15 秒、60°C で 1 分を 46 サイクル行った。検体における mRNA 量は正常肺組織を 1 として、それにおける mRNA 量に対する相対値として表した。

#### TS 蛋白発現

パラフィン包埋微小検体から 4  $\mu$  m 厚の切片を作成し、免疫組織化学 (immunohistochemistry: IHC) 法を用いて TS 蛋白発現を調べた。切片を 100%キシレンで 3 回、各 2 分間の脱パラフィンを施行した後、99%、90%、70%エタノール各 1 分で親水し、3 分間流水で洗浄。その後 0.3%過酸化水素加メタノール中に 15 分間室温で反応させ、内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止を行った。5 分間水洗をした後 0.01M Citrate Buffer に移し microwave 処理を 15 分行ない抗原の賦活化を行った。室温に戻してから 0.01M リン酸緩衝液(PBS)で洗浄し、非特異反応を阻止する目的で 2%BSA/PBS で 15 分間、室温で静置した後、1 次抗体としてモノクローナルマウス抗 TS 抗体(Invitrogen,Camarillo,CA,USA)を使用し、PBS で 100 倍に希釈したものをを用いて 4°C 一晩で反応させた。続いて、PBS で洗浄後に 2 次抗体としてペルオキシダーゼ標識デキストラン 70 結合抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗ポリクロナール抗体及びペルオキシダーゼ標識デキストラン 500 結合抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗ポリクロナール抗体(Dako North America Inc.,CA,USA)を用いて室温で 30 分反応させた。PBS で再度洗浄後に 0.04%ジアミノベンチジン(DAB)にて発色させ、ヘマトキシリンで核染色を行い水洗した後、

70%、80%、90%、99%、99%エタノールで脱水し 100%キシレンで透徹してから封入し鏡検した。TS 蛋白発現は腫瘍細胞と間質を区別し、腫瘍細胞の IHC スコアを用い評価した(34)。TS 蛋白発現は半定量的に低発現と高発現に分類した。H スコアは染色強度(0,陰性; 1,弱陽性; 2,中等度陽性; 3,強陽性)に陽性細胞の割合を乗じたものとした。

#### 統計解析

TS、DHFR、GARFT mRNA 発現と Pem の治療効果との関係、TS mRNA と蛋白発現の関係、TS mRNA と患者背景との比較には Mann-Whitney の U 検定を行なった。また、TS、DHFR、GARFT mRNA 発現と無増悪生存期間(Progression free survival: PFS)、OS との関係は Kaplan-Meier 法を用い、群間比較は Logrank 検定を行ない、平均値±標準誤差で示した。有意水準は  $p<0.05$  とした。解析は SPSS 11.0. 1J(SPSS Inc.,Chicago,IL,USA)を使用した。

#### c) 結果

##### 患者背景 (Table 1)

平均年齢は 66.8 歳で、男性 29 人、女性 21 人であった。組織型は腺癌が多かった。EGFR 遺伝子変異陽性者は 5 人であった。17 人は前治療がなく、33 人はタキサンを含む化学療法や放射線治療を受けていた。Pem による奏効率は 30.0%で、PFS の中央値は 16.7 週であった。

##### TS、DHFR、GARFT mRNA 発現と Pem 治療による奏効度との関係

TS mRNA 発現のレベルは 0.001~41.613(平均  $4.638 \pm 1.357$ )であった。奏効度は Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) ガイドラインに基づいて判定した。化学療法の奏効度が、完全奏効(Complete response: CR, すべての標的病変の消失)もしくは部分奏効(Partial response: PR, ベースライン長径和と比較し

て標的病変の最長径の和が 30%以上減少)であったものを奏効群とし、不変 (Stable disease: SD, PR とするには腫瘍の縮小が不十分で、かつ PD とするには治療開始以降の最小の最長径の和に比して腫瘍の増大が不十分) もしくは増悪 (Progression disease: PD, 治療開始以降に記録された最小の最長径の和と比較して標的病変の最長径の和が 20%以上増加) であったものを非奏効群とした。奏効群の TS mRNA レベルは  $1.671 \pm 0.844$ 、非奏効群は  $5.978 \pm 1.895$  であった。TS mRNA 発現は非奏効群に比べ奏効群で有意に低い結果であった( $p=0.0142$ )。DHFR mRNA と GARFT mRNA 発現においては Pem の奏効度と相関は認めなかった(Figure 3)。

TS、DHFR、GARFT mRNA 発現とペメトレキセド治療による PFS、OS との関係

各々の mRNA 発現が、正常肺組織の mRNA 量より高いものを高発現群、低いものを低発現群とした。TS mRNA 発現において、低発現群は高発現群に比べ PFS が延長する傾向を認めたが、統計学的な有意差は認めなかった(18.0 週 vs 13.3 週、 $p=0.3001$ )(Figure 4)。DHFR mRNA と GARFT mRNA 発現においては、PFS と相関は認めなかった。また、OS については TS、DHFR、GARFT mRNA 発現と相関は認めなかった。

TS mRNA 発現と患者背景との関係 (Figure 5)

TS mRNA 発現と性別、組織型、臨床病期との有意な相関は認めず、患者背景因子への影響は認めなかった。

TS 蛋白発現と TS mRNA 発現との関係 (Figure 6)

TS 蛋白発現は IHC スコアで評価し、TS 蛋白低発現と高発現に分類し、TS mRNA 発現との関係を調べたところ、癌組織内における TS 蛋白発現と TS mRNA 発現は有意に相関を認めた( $p=0.0299$ )。

症例提示

TS 発現が Pem の治療効果に影響した典型的な 2 症例を Figure 7 に示す。症例 1 は 67 歳男性で EGFR 遺伝子変異陰性の肺腺癌患者である。TS 蛋白は低発現で、TS mRNA 発現は極めて低く 0.004 であった。入院時の胸部 X 線では左上葉に腫瘤影を認めた。初回治療で Cb と Pem を投与したところ、腫瘍の著明な縮小を認め、Pem が著効した。症例 2 は 50 歳女性で EGFR 遺伝子変異陰性の肺腺癌患者である。TS 蛋白は高発現であり、TS mRNA 発現も 2.161 と高値であった。入院時の胸部 X 線と CT で右上葉に腫瘤影を認めた。初回治療で Cb と Pem の投与を行ったが腫瘍は増大し、Pem の効果は認めなかった。

#### d) 考察

Pem は葉酸代謝酵素を標的とし、DNA 合成を阻害し抗腫瘍効果を発揮する。癌細胞株の実験において、TS の過剰発現は Pem の感受性を低下させる(40,41,42)。標的酵素の過剰発現は薬剤耐性の一つのメカニズムである。癌組織内における葉酸代謝酵素発現は Pem 耐性に関与していると思われ、Pem を投与する非小細胞肺癌患者における癌組織内葉酸代謝酵素の発現を調べることは重要であると考えられる。今回、ホルマリン固定包埋検体から肺癌細胞特異的な TS、DHFR、GARFT mRNA 発現を測定することができた。ほとんどの検体は経気管支的腫瘍生検により得られたため、検体は微小であった。癌細胞は一般的に間質細胞と混在しているため、癌特異的 mRNA 発現を測定するためには癌細胞を組織から分離する必要がある。外科切除検体では癌細胞の分離は比較的容易だが、生検検体では困難である。本研究ではレーザーマイクロダイゼクションを用いることで、微小検体から癌細胞を分離した。微小検体から癌特異的 mRNA 発現を調べるために、レーザーマイクロダイゼクションは有用であると思われた。

IHC 法もモノクローナル抗体を用いることで、癌組織内における特定の酵素発現を解析することができる。IHC 法で癌組織内 TS 蛋白発現を測定したところ TS mRNA 発現と有意に関連しており、IHC 法は肺癌組織内 TS 発現の解析に有用であると思われた。

今回の検討で、TS mRNA 発現は有意に Pcm 治療による奏効度と相関していた。PFS は TS mRNA 低発現群が高発現群に比べ延長する傾向にあった。従って、肺癌組織内 TS mRNA 発現は Pcm の効果予測因子になる可能性があると思われた。悪性胸膜中皮腫においても同様な報告がある(43)。また、肺癌組織型にける TS 発現の検討において、扁平上皮癌は腺癌に比べ TS 発現が高く、Pcm の治療効果が低いことが報告されている(44)。しかし、今回の検討における肺扁平上皮癌患者の TS mRNA は低く、予後も良好であった。肺扁平上皮癌患者であっても、癌組織内 TS mRNA 発現が低ければ Pcm 治療の効果が期待できると思われる。TS mRNA 発現のほうが肺癌組織型よりも Pcm の治療効果予測因子として有用であると考え。DHFR、GARFT については、TS と同様に Pcm の標的酵素ではあるが(45,46)、Pcm の治療効果との相関は認めなかった。TS、DHFR、GARFT 発現と OS に相関は認めなかった原因として、多くの患者対象において Pcm 治療後に他の抗癌剤治療を受けていたことが影響したと思われる。加えて、TS mRNA 発現と性別、組織型、臨床病期との間に有意な相関は認めず、TS 発現が患者背景因子によって影響を受けないと思われた。

微小生検検体における TS mRNA 発現は進行非小細胞肺癌患者の Pcm の治療効果に影響すると考える。多くの肺癌患者は診断時に進行しており、そのため肺癌組織の決定には一般に生検組織を利用する。肺生検において大きな検体を得ることは難しく、レーザーマイクロダイゼクションを用いて微小検体を分析することは個々の肺癌の特性を知るうえで有用である。

結論として、癌組織内 TS mRNA 発現は非小細胞肺癌における Pcm の治療効果予測因子として有用である可能性が示唆された。



## 6. 非小細胞肺癌における TS 蛋白発現と治療効果について

### a) 背景

進行肺癌治療の key drug の一つである Pem において、葉酸代謝酵素である TS、DHFR、GARFT の mRNA と治療効果について検討したところ、癌組織内 TS mRNA 発現は Pem 治療予測に有用である可能性が示唆された。しかし、レーザーマイクロダイセクション法を用いた mRNA 発現の解析は煩雑であり、実地医療への応用は問題点が多い。前回の検討では TS mRNA 発現と TS 蛋白発現は相関がみられており、実地医療においても IHC 法を用いた蛋白発現解析は mRNA 発現の解析に比べより簡便に行うことができ実用的であると思われる。そのため、今回私は癌組織内 TS 蛋白発現に着目し、進行肺癌患者の癌組織内 TS 蛋白発現を調べることにより、それが進行非小細胞肺癌治療の標準的な治療である Cb+Pac 併用化学療法(CbPac 療法)と Cb+Pem 併用化学療法(CbPem 療法)の治療効果や予後に関係しているかについて検討を行った。

### b) 対象と方法

#### 対象

2004 年 6 月から 2010 年 12 月までに当院で肺癌と診断し、治療前に癌組織検体が得られた肺癌患者 120 例を対象とした。全例において、文書にてインフォームドコンセントを得た。癌組織検体は手術または気管支鏡検査にて採取され、ホルマリン固定された後パラフィン包埋ブロックを作製し TS 蛋白発現について免疫染色を行った。患者背景を Table 2 に示す。平均年齢は 65.7 歳、男性 78 例、女性 42 例、腺癌 81 例、扁平上皮癌 17 例、非小細胞癌 12 例、大細胞癌 7 例、小細胞癌 3 例であり、EGFR 遺伝子変異陽性は 11 例、Performance Status(PS)は 0~1 が

103 例、病期はⅢB とⅣで 100 例、非喫煙者は 29 例であった。また、一次治療の多くは化学療法のみ（85 例, 71%）で、そのうち CbPac 療法が最も多く 50 例であった。

### TS 免疫染色

治療前に採取した肺癌組織のパラフィンブロックを用いて、IHC 法で TS 蛋白の発現を調べた。パラフィンブロックを 4 $\mu$ m 厚に切片を作成し、免疫染色を行った。切片を 100%キシレンで 3 回、各 2 分間の脱パラフィンを施行した後、99%、90%、70%エタノール各 1 分で親水し、3 分間流水で洗浄。その後 0.3%過酸化水素加メタノール中に 15 分間室温で反応させ、内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止を行った。5 分間水洗をした後 0.01M Citrate Buffer に移し microwave 処理を 15 分行ない抗原の賦活化を行った。室温に戻してから 0.01M リン酸緩衝液(PBS)で洗浄し、非特異反応を阻止する目的で 2%BSA/PBS で 15 分間、室温で静置した後、1 次抗体としてモノクローナルマウス抗 TS 抗体を使用し、PBS で 100 倍に希釈したものを用いて 4 $^{\circ}$ C 一晩で反応させた。続いて、PBS で洗浄後に 2 次抗体としてペルオキシダーゼ標識デキストラン 70 結合抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗ポリクロナール抗体及びペルオキシダーゼ標識デキストラン 500 結合抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗ポリクロナール抗体を用いて室温で 30 分反応させた。PBS で再度洗浄後に 0.04%ジアミノベンチジン(DAB)にて発色させ、ヘマトキシリンで核染色を行い水洗した後、70%、80%、90%、99%、99%エタノールで脱水し 100%キシレンで透徹してから封入し鏡検した。

### 免疫染色の評価 (Figure 8)

腫瘍細胞と間質を区別し、腫瘍細胞で評価を行った。TS 蛋白の発現は H score を用いて評価を行った。染色の強度を 0(陰性)、1(弱陽性)、2(中等度陽性)、3(強陽性)に分類し、それに陽性細胞の割合(%)をかけたものを H score とした(47)。

### 統計処理

患者背景因子において、2群のTS蛋白発現の比較には Mann-Whitney の U 検定を行なった。TS 蛋白発現と治療効果との関係について、治療効果は奏効度(RR)、PFS、OS で評価し、2群の奏効率の比較は  $\chi^2$  検定を行い、PFS と OS は Kaplan-Meier 法を用い、2群間の比較は Logrank 検定を行ない平均値±標準誤差で示した。有意水準は  $p < 0.05$  とした。

### c) 結果

#### TS 蛋白発現と患者背景因子 (Figure 9)

H score の平均値は腺癌  $173.1 \pm 99.5$ 、扁平上皮癌  $200.0 \pm 71.5$ 、大細胞癌  $193.7 \pm 110.0$ 、小細胞癌  $266.7 \pm 57.7$  で、組織型では腺癌に比べ小細胞癌で TS 発現が高い傾向にあったが( $p=0.0974$ )、各組織間で有意な差は認めなかった。その他の背景因子では性別、EGFR 遺伝子変異の有無、PS ではそれぞれ有意差は認めなかった。しかし非喫煙と喫煙においては非喫煙が  $150.7 \pm 87.2$ 、喫煙が  $192.3 \pm 97.6$  と喫煙者で有意に TS 蛋白発現が高かった( $p=0.0429$ )。

#### TS 蛋白発現と生存期間 (Figure 10)

非小細胞肺癌の H score の中央値は 200 であり、この中央値よりも高いものを TS 蛋白高発現群(63 例, 53.8%)、低いものを TS 蛋白低発現群(54 例, 46.1%)とした。OS(中央値)は TS 低発現群では 95.6 週、TS 高発現群は 50.7 週であり、TS 低発現群のほうが TS 高発現群に比べ有意に生存期間の延長を認めた( $p=0.0203$ )。

#### TS 蛋白発現と治療効果

全対象の中で非小細胞肺癌は 117 例認め、そのうち一次治療として CbPac 療法をおこなったものが 50 例あり、これらを対象として TS 蛋白発現と CbPac 療法の治療効果との関係を検討した。TS 蛋白高発現群は 31 例(62.0%)、TS 蛋白低発現群は 19 例(38.0%)であった。RR が CR(0 例)もしくは PR(19 例)であったものを

Response群(19例)、SD(20例)もしくはPD(11例)であったものをNon-response群(31例)とした。Response群のH scoreの平均は $222.4 \pm 68.1$ でありNon-response群では $167.4 \pm 105.6$ であり、Response群でTS発現が有意に高かった( $p=0.0486$ ) (Figure 11)。

次に、非小細胞肺癌のTS高発現群に限定して、一次治療におけるCbPac療法(31例)とCbPem療法(9例)の治療効果を比較検討した。RRはCbPac療法群42.0%、CbPem療法群33.3%であった( $p=0.5274$ )。PFS(中央値)はCbPac療法群18.7週、CbPem療法群14.0週であった( $p=0.1370$ )。OS(中央値)はCbPac療法群36.9週、CbPem療法群22.7週でCbPac療法群が有意に延長した( $p=0.0343$ )(Figure 12)。

一方、TS低発現群に対象を限定してCbPac療法(19例)とCbPem療法(5例)の比較を行ったところ、RRはCbPac療法群26.3%、CbPem療法群40.0%であった( $p=0.5492$ )。PFS(中央値)はCbPac療法群18.7週、CbPem療法群32.1週であった( $p=0.8432$ )。OS(中央値)はCbPac療法群53.0週、CbPem療法群では中間生存期間に達していなかった( $p=0.1853$ )(Figure 13)。

#### d) 考察

進行非小細胞肺癌においては、プラチナ製剤を含む2剤併用療法がBSCに比べ生存期間中央値を6~8週延長させ、1年生存率を15%から25%に改善する(9)として標準治療となっている。プラチナ製剤との組み合わせで推奨される薬剤の一つがPacであり、肺癌治療においてCbPac療法は標準的な治療方法の一つになっている。進行非小細胞肺癌において化学療法に対する期待は大きく、薬剤を合理的に選択し効果を高めるために、効果予測因子の検索がすすめられてきている。プラチナ製剤の効果予測因子のひとつとしてDNA修復蛋白であるExcision repair cross-complementing 1(ERCC1)がある(48)。また、Pacの効果予測因子としてはclass III  $\beta$  tubulinが知られている(49)。しかし、ERCC1や $\beta$  tubulinの進行非小細胞肺癌におけるCbPac療法の治療効果予測因子の有用性は明らかではない。

TS は 5-fluorouracil(5-FU)の標的酵素でもあり、5-FU の活性代謝物である 5-fluorodeoxyuridine monophosphate(FdUMP)は TS と活性型葉酸と結合し TS-FdUMP-CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub> ternary complex を形成し、TS が競合的に阻害されることにより細胞内での DNA 合成が阻害され抗腫瘍効果が現れる。したがって、腫瘍細胞内の TS 蛋白量が多いと 5-FU の抗腫瘍効果が低く、TS 蛋白量が少ないと 5-FU の感受性が高いことが報告されている(50)。特に 5-FU は進行・再発消化器癌に対して最も頻繁に用いられている薬剤であり、胃癌(50)、大腸癌(51)においては TS 発現の低い群で予後が良好であること、また奏効率が高いことが報告されている。乳癌(52)や膵癌(53)においても TS と 5-FU の治療効果、予後との関係について数多くの報告が認められている。TS 蛋白は細胞増殖シグナルの下流に位置し、癌細胞の増殖に深く関与しているため、癌細胞における TS 蛋白発現は様々な抗癌剤の効果に影響している可能性があると思われる。

今回、我々は肺癌組織における TS 蛋白発現と組織型、患者背景因子、予後、化学療法の治療効果との関係について検討した。組織型と TS 蛋白発現の関係については有意差は認めなかったが、腺癌に比べ小細胞癌、扁平上皮癌で TS 発現量が高く、既存の報告とも一致していた(54)。患者背景因子と TS 蛋白発現の関係については、性別、EGFR 遺伝子変異、臨床病期、PS において有意な差は認めなかったが、喫煙者の方が非喫煙者より TS 蛋白発現が高かった。これまでに喫煙により遺伝子変異が増加することが報告されており(55,56,57)、何らかの遺伝子変異により TS 発現が高くなったことが考えられた。予後と TS 蛋白発現の関係については、TS 低発現群のほうが TS 高発現群に比べ有意に OS の延長を認めた。TS 蛋白発現が肺癌の予後に影響することが示唆された。原発巣における TS 蛋白発現量とその悪性度と相関するとの報告もあり(58)、癌の生物学的悪性度に関与していると思われた。

CbPac 療法の治療効果と TS 蛋白発現の関係については、Response 群の TS 蛋白発現が Non-Response 群よりも高い傾向にあった。TS 蛋白発現が高いほうが CbPac 療法の効果が高いと思われた。さらに、TS 高発現群を対象を限定して CbPac 療法と CbPem 療法の治療効果について比較を行った。RR は CbPac 療法群のほうが

高い傾向にあり、PFS も CbPac 療法が長い傾向にあった。OS は CbPac 療法で有意な延長を認めた。以上より Pac は Pem に比べて TS 高発現の非小細胞肺癌に対し有効であり、TS 高発現群における CbPac 療法の有効性が示唆された。これは TS 蛋白量と 5-FU の抗腫瘍効果の関係とは対照的であるが、そのメカニズムについては不明である。一方、TS 低発現群に対象を限定して CbPac 療法と CbPem 療法の比較を行ったところ、RR は CbPem 療法群が高い傾向にあり、PFS、OS ともに CbPem 療法群が延長傾向であった。TS 低発現群では Pem が Pac より有効であった。Pem は主に TS 阻害作用により腫瘍細胞の増殖阻害や細胞死を誘発して抗腫瘍効果を表し、TS 低発現細胞において高い感受性を示すことが報告されている(34)。そのため Pem は TS 低発現の非小細胞肺癌において効果を発揮したと思われる。

今回の研究では、TS 蛋白発現を免疫染色により測定した。蛋白発現を調べる方法としては mRNA の定量もあるが、免疫染色は少ない検体で手技も簡便であり、臨床において実施しやすい検査法である。現在、非小細胞肺癌の一次治療として、標準的治療法は CbPac 療法もしくは CbPem 療法である。そのため、Pac と Pem の治療効果予測は臨床的に意義が高い。免疫染色による TS 蛋白発現の測定は、Pac ベースもしくは Pem ベースのプラチナダブレットを治療選択するにあたり有用であると思われる。そして、肺癌組織における TS 蛋白発現量により有効な一次治療を選択することで、EGFR 遺伝子変異の有無と同様に、肺癌治療の予後の改善につながると思われる。

## 7. 結語

今回私は進行肺癌における TS 発現と抗癌剤治療の臨床効果との関係について研究した。肺癌組織内の TS mRNA 発現は、レーザーマイクロダイセクションを用いることによって、標的となる腫瘍組織から正確に測定することができ、肺癌化学療法の代表的な薬剤の一つである Pem の治療効果と相関していた。Pem は TS 以外にも他の葉酸代謝酵素も標的にしているが、DHFR、GARFT 発現は Pem の治療効果に影響していなく、TS が Pem の治療効果予測因子であると考えられた。

癌組織内における TS 蛋白発現と TS mRNA 発現は相関しており、臨床応用に向けて、測定がより迅速で簡便な免疫組織化学法を用いて、TS 蛋白発現と抗癌剤の効果との関係について検討した。TS 蛋白が低発現の集団では、CbPac 療法に比べ、CbPem 療法の高い治療効果を認める傾向にあった。一方、TS 蛋白が高発現の集団では、CbPem 療法に比較して、CbPac 療法が有効である傾向があった。以上より、進行非小細胞肺癌に対する治療戦略として、肺癌組織内において TS 低発現の場合は Pem、高発現の場合は Pac を使用することで、治療効果や予後の改善につながるのではないかと考えられる。肺癌患者の癌組織内 TS 発現の測定は、抗癌剤の薬剤選択において有用であると考ええる。

事前に治療効果を予測し薬剤を選択する個別化治療は多くの疾患で試みられているが、薬剤費が高く、副作用の大きい癌治療においては特に重要である。現在、個別化治療を推進していくために様々なバイオマーカーが研究されているが、癌組織内 TS 発現は、肺癌の個別化治療において重要なバイオマーカーになる可能性が示唆された。今後の臨床応用に向けて、これからも更なる研究を進めていきたいと考える。

## 8. 謝辞

本研究は日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野において実施し、また本研究の一部は日本大学医学部病態病理学系病理学分野との共同研究であります。

本研究を遂行するにあたり、研究ならびに学位論文の御指導、御校閲を直接賜りました同医局の清水哲男博士、高橋典明博士ならびに研究の補助をしてくださいました研究員の竹下郁子さんに深謝いたします。

本研究に対し多大なるご尽力を賜りました日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野 橋本修主任教授、ならびに日本大学医学部病態病理学系病理学分野 根本則道教授に深謝いたします。また、教室の先生方にもこの場を借りまして心から厚く御礼申し上げます。



Table 1  
Patient characteristics

	n=50
Age (years)	66.8(40-85)
Gender (m:f)	29 : 21
Histology	
Adenocarcinoma	38
Squamous cell carcinoma	3
Non-small cell carcinoma	7
Large cell carcinoma	2
EGFR mutation positive	5
Stage IIIA : IIIB : IV	3 : 9 : 38
Prior regimens	
0	17
1	12
2	8
3 or more	13
Response rate	30.0%
Progression-free survival	16.7weeks

Table 2

Patient characteristics and treatment methods

EGFR, epidermal growth factor receptor; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group;

TS, thymidylate synthase;

<Characteristic>	n=120
Value,n(%)	
Age (years)	
Mean(range)	65.7(23-85)
Gender	
Male	78(65.0)
Female	42(35.0)
Histology	
Adenocarcinoma	81(67.5)
Squamous cell carcinoma	17(14.2)
Non-small cell carcinoma	12(10.0)
Large cell carcinoma	7(5.8)
Small cell carcinoma	3(2.5)
EGFR mutation	
Positive	11(9.2)
Negative	58(48.3)
Unknown	51(42.5)
ECOG performance status	
0	32(26.7)
1	71(59.2)
2	12(10.0)
3,4	5(4.2)
Stage of disease	
I , II	8(6.7)
III A	12(10.0)
III B	27(22.5)

IV	73(60.8)
Smoking status	
Former/current smoker	89(74.2)
Never-smoker	29(24.2)
Unknown	2(1.7)
TS protein expression	
High	66(55.0)
Low	54(45.0)
Treatment	
Operation	7(5.8)
Thoracic radiotherapy	2(1.7)
Chemotherapy plus radiotherapy	23(19.2)
Chemotherapy	
Carboplatin plus paclitaxel	50(41.7)
Gemcitabine	2(1.7)
Cisplatin plus S-1	1(0.8)
Docetaxel	1(0.8)
Gefitinib	3(2.5)
Carboplatin plus Irinotecan	2(1.7)
Carboplatin plus Gemcitabine	2(1.7)
Carboplatin plus Pemetrexed	14(11.7)
Cisplatin plus Vinorelbive	1(0.8)
Irinotecan	1(0.8)
Pemetrexed	1(0.8)
TS1	4(3.3)
Vinorelbive	3(2.5)
Others	3(2.5)

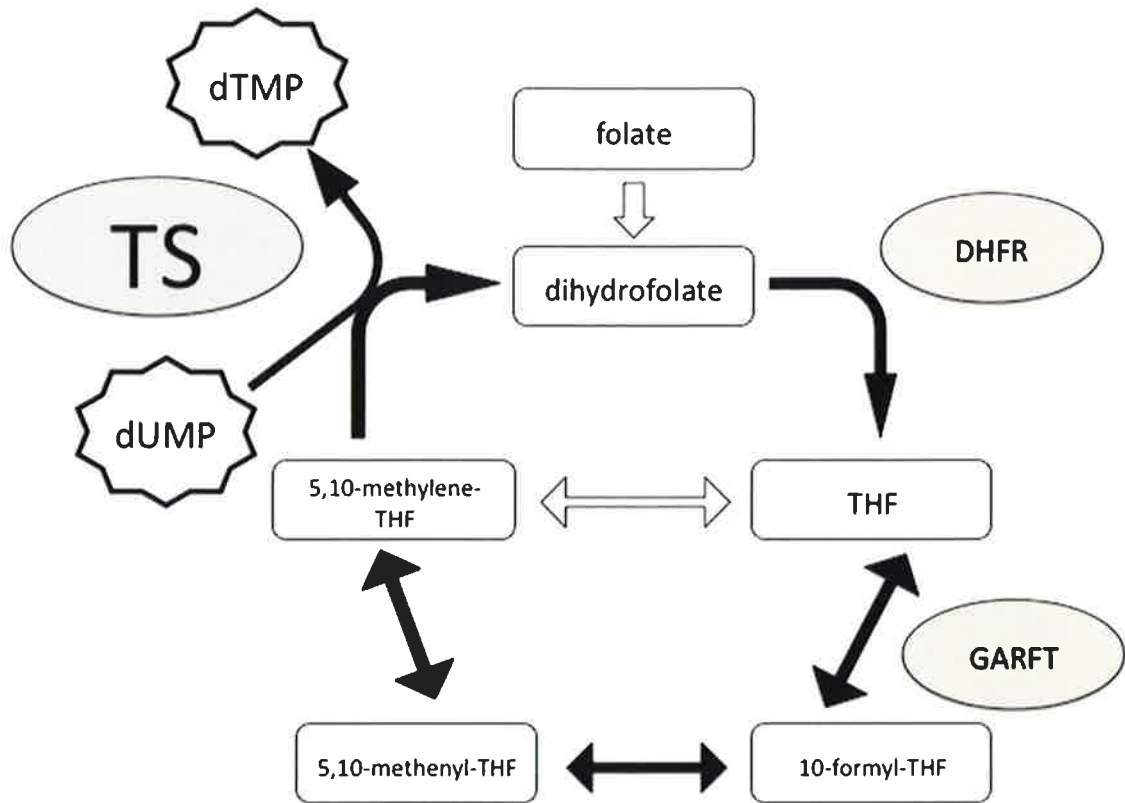


Figure 1. Folate metabolism pathway

TS: Thymidylate synthase

DHFR: Dihydrofolate reductase

GARFT: Glycinamide ribonucleotide formyltransferase

THF: Tetrahydrofolic acid

dUMP: Deoxyuridine monophosphate

dTMP: Deoxythymidine monophosphate

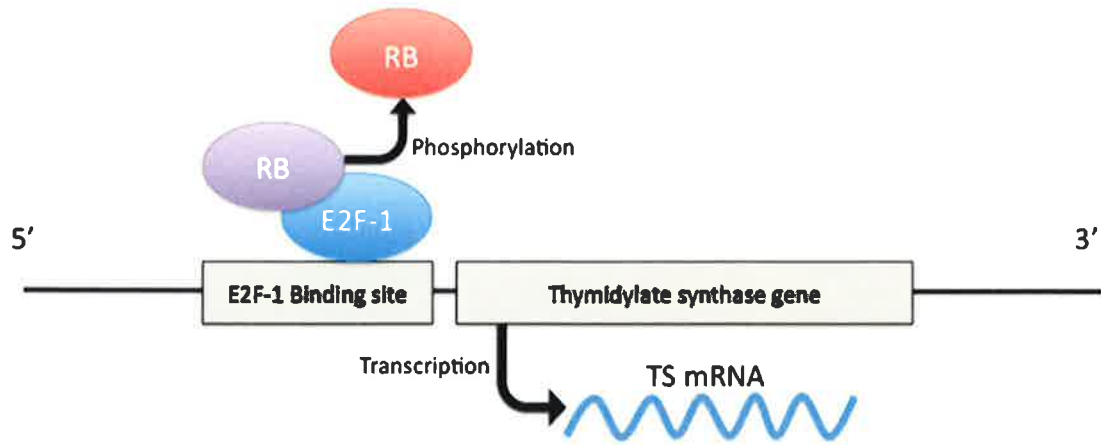


Figure 2. Thymidylate synthase mRNA expression

RB: Retinoblastoma gene product

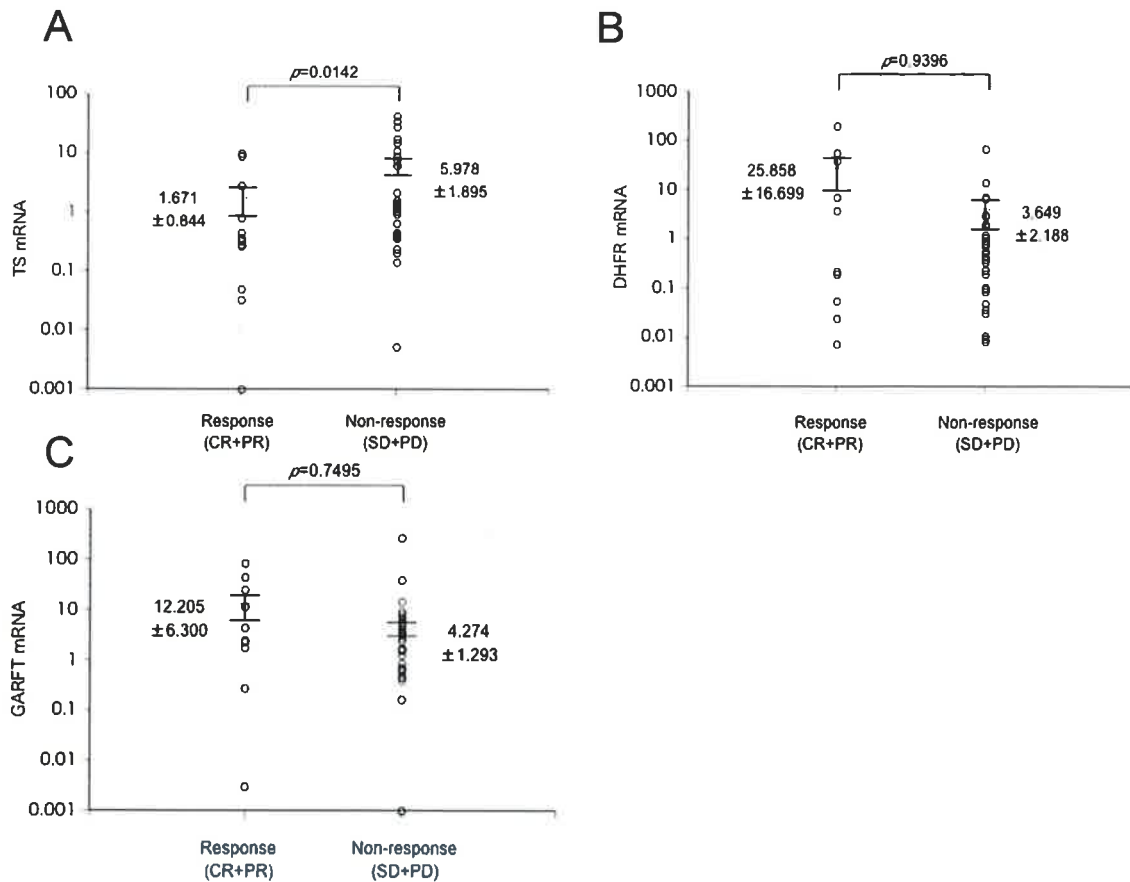


Figure 3

Comparison of TS (A), DHFR (B), and GARFT (C) mRNA levels between response group and non-response group to anti-cancer therapy with pemetrexed.

Response 群は Pemetrexed の投与で完全奏効(Complete response: CR) もしくは部分奏効(Partial response: PR) であったものであり、non-response 群は不変(Stable disease: SD) もしくは増悪(Progression disease: PD) であったものとした。

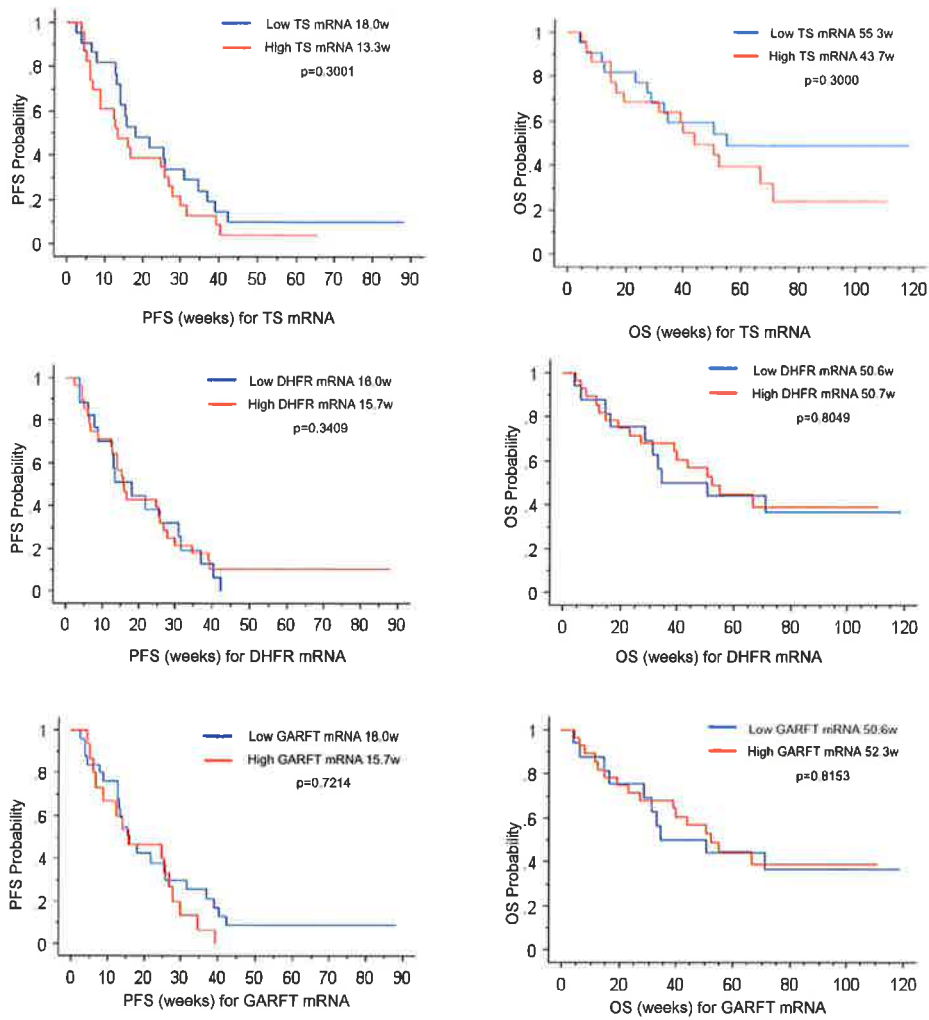


Figure 4

Kaplan-Meier progression-free survival and overall survival curves for mRNA expression of TS (top), DHFR, (middle), and GARFT (bottom) in lung cancer cells.

青線は mRNA 低発現群を表し、赤線は mRNA 高発現群を表している。

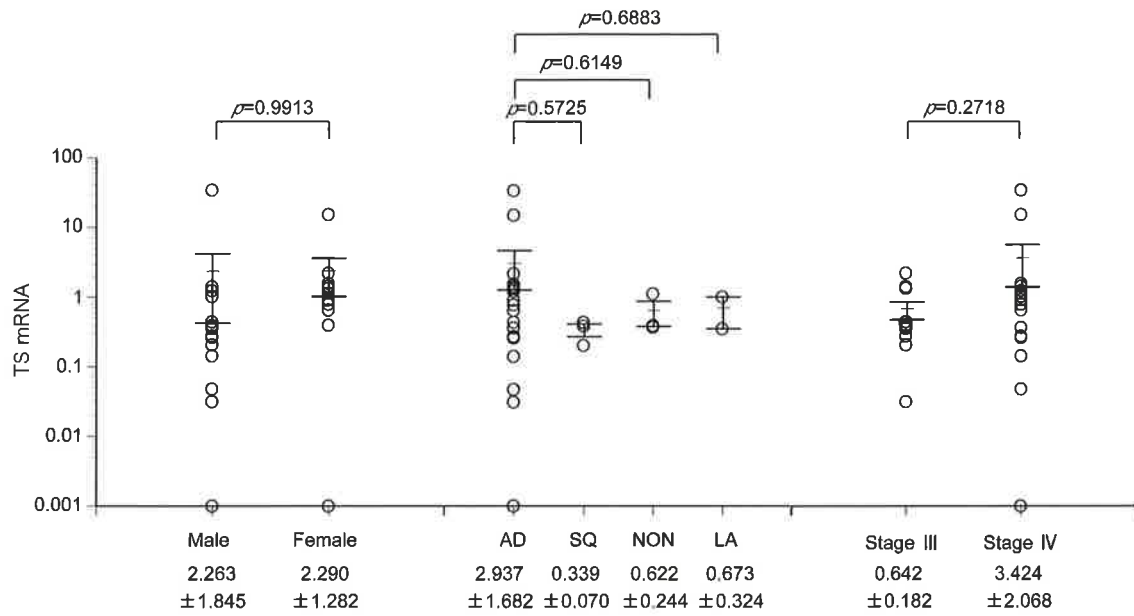


Figure 5

TS mRNA expression according to patient characteristics

AD, adenocarcinoma; SQ, squamous cell carcinoma; NON, non-small cell carcinoma; LA, large cell carcinoma.

non-small cell carcinoma は検体が微小で、組織が小細胞癌以外であるがそれ以上の組織鑑別が困難であったものである。



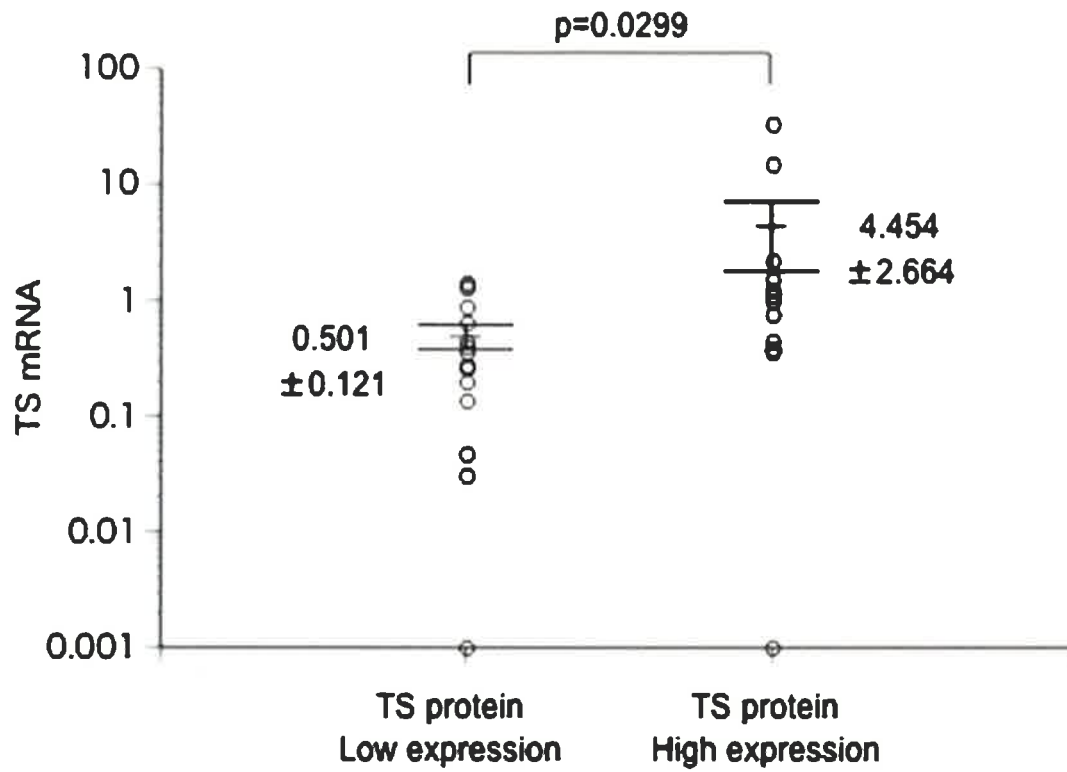


Figure 6

Comparison of mRNA levels between TS protein low expression group and TS protein high expression group.

Case 1



Case 2

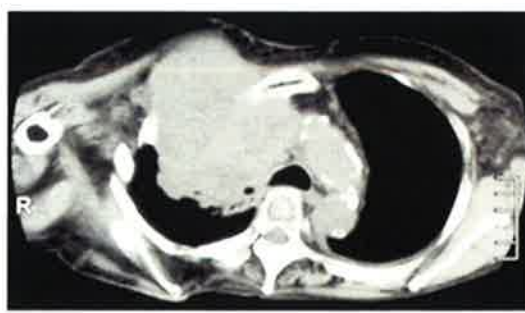
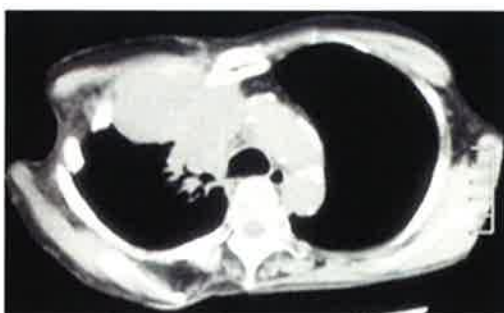
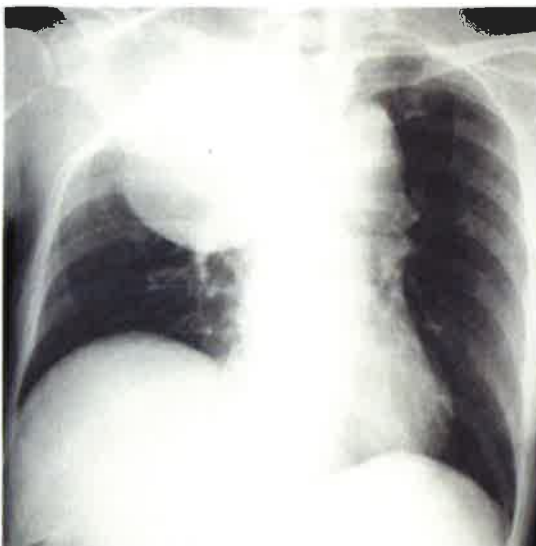


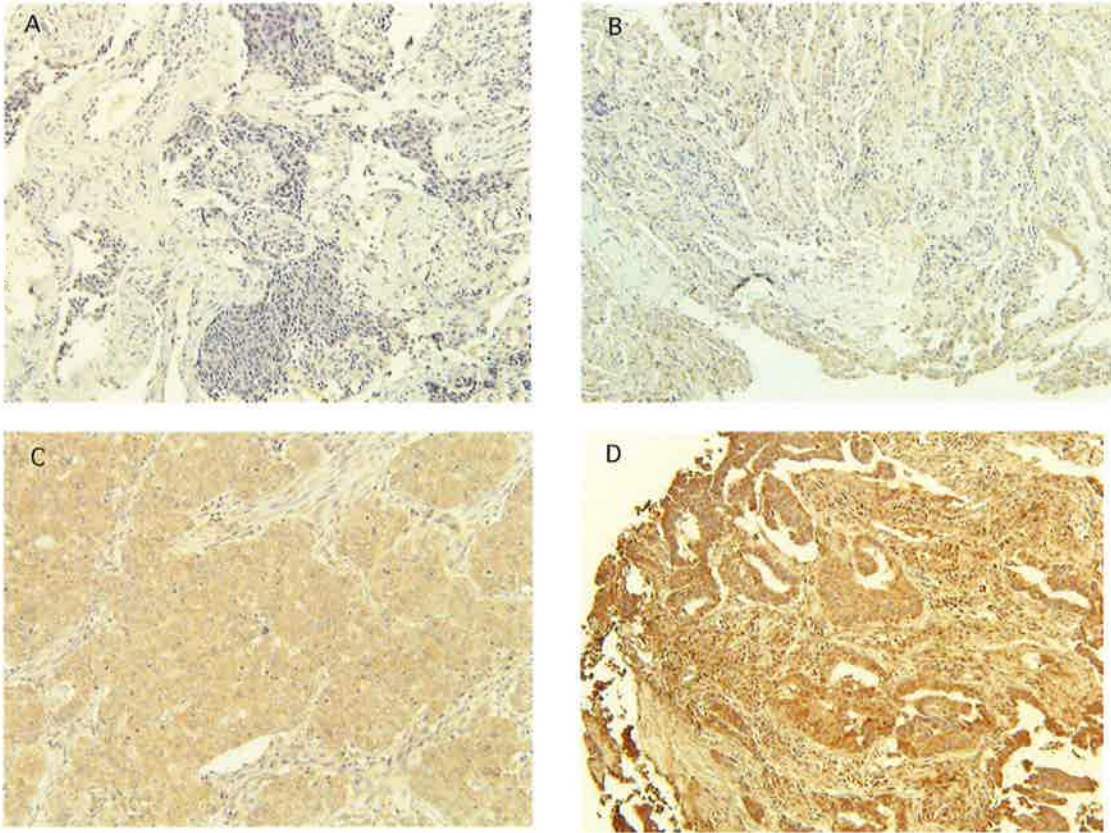
Figure 7

#### Case 1

67 歳男性、EGFR 遺伝子変異陰性の肺腺癌患者である。TS mRNA 発現は低かった (0.004)。胸部 X 線で入院時にみられた左上肺野の腫瘤影は、pemetrexed の投与により縮小がみられた。

#### Case 2

50 歳女性、EGFR 遺伝子変異陰性の肺腺癌患者である。TS mRNA 発現は高かった (2.161)。入院時、胸部 X 線と胸部 CT では右上葉に腫瘍をみとめ、pemetrexed の投与を行っても腫瘍は増大がみられた。



**Figure 8**

Immunohistochemical (IHC) staining of human NSCLC tissue. Representative sections of carcinomas showing negative staining (A), weak expression (B), strong expression (C), very strong expression of TS (D). Magnification, 200 $\times$ .

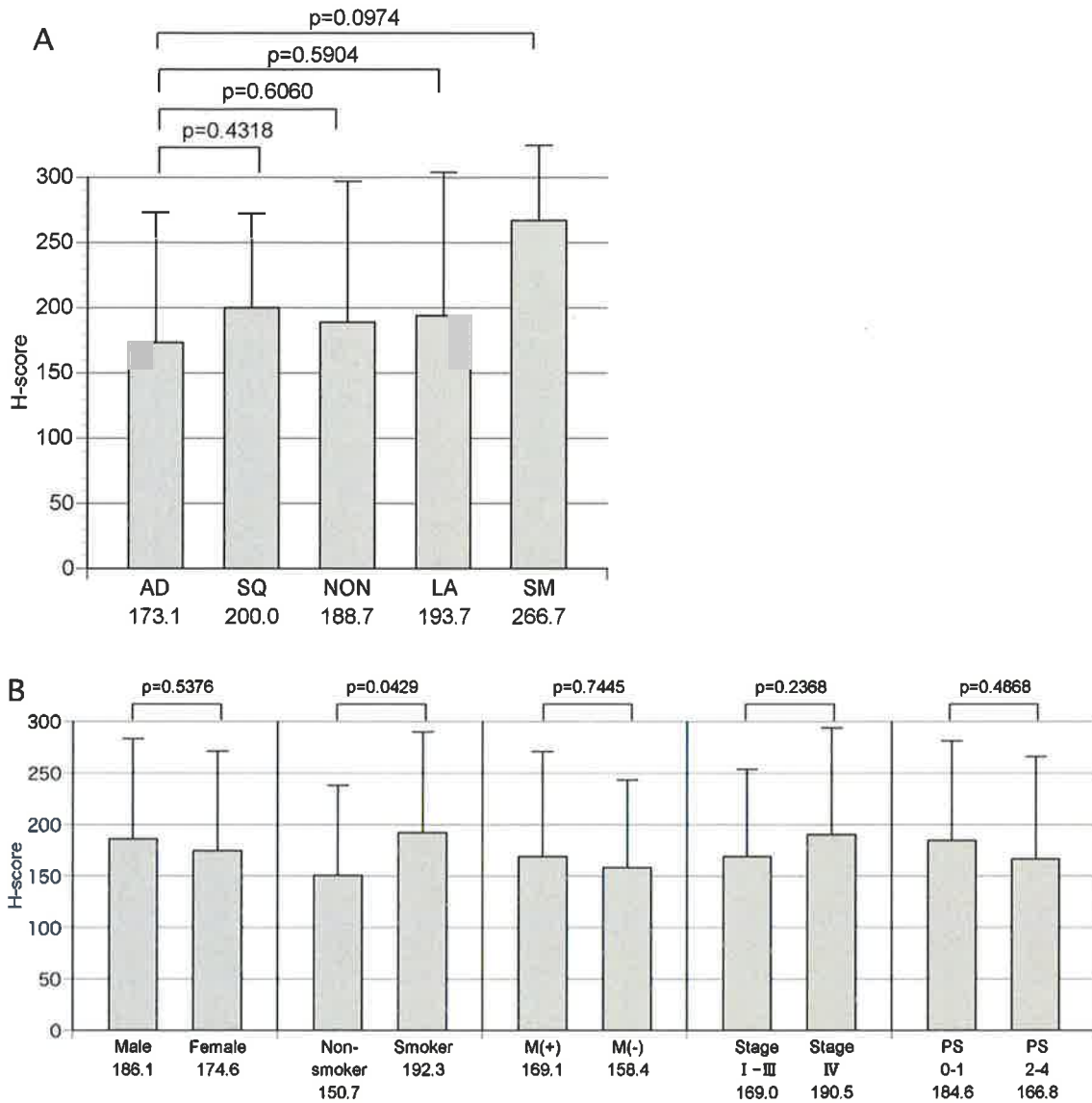


Figure 9

TS protein expression in lung cancer according to (A) tumor and (B) patient characteristics. AD, adenocarcinoma; SQ, squamous cell carcinoma; NON, non-small cell carcinoma; LA, large cell carcinoma; SM, small cell carcinoma; M, EGFR mutation; PS, performance status.

non-small cell carcinoma は検体が微小で、組織が小細胞癌以外であるがそれ以上の組織鑑別が困難であったものである。

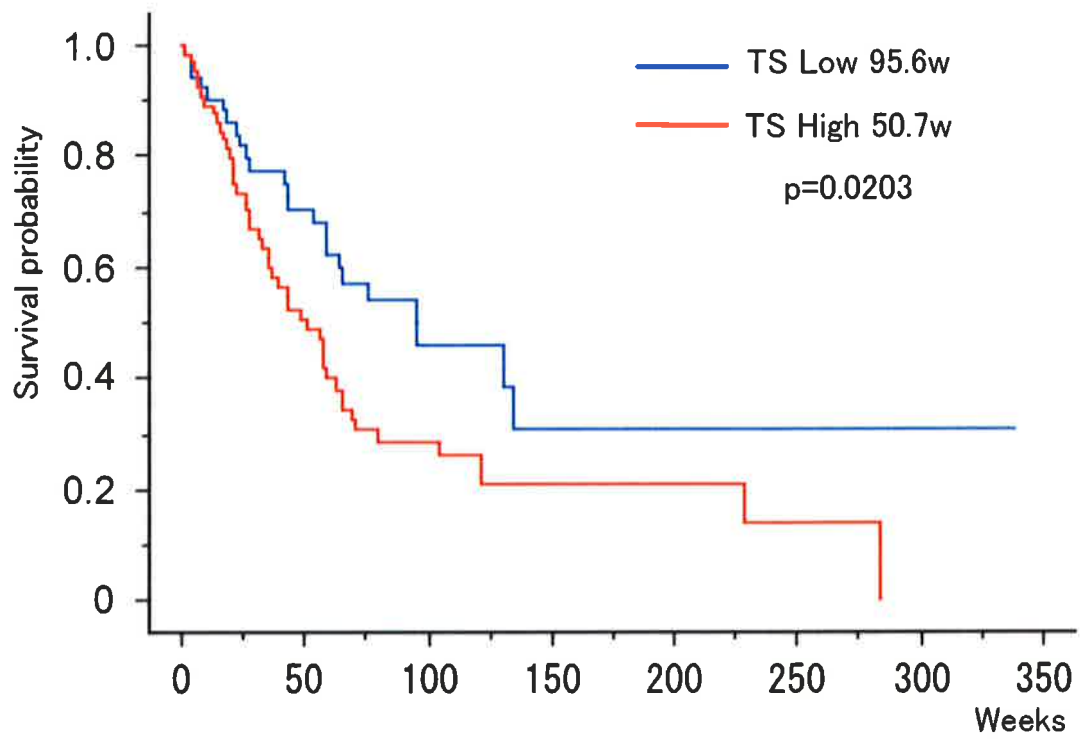


Figure 10  
 Thymidylate synthase (TS) protein expression of non-small cell lung cancer (NSCLC) according to overall survival.

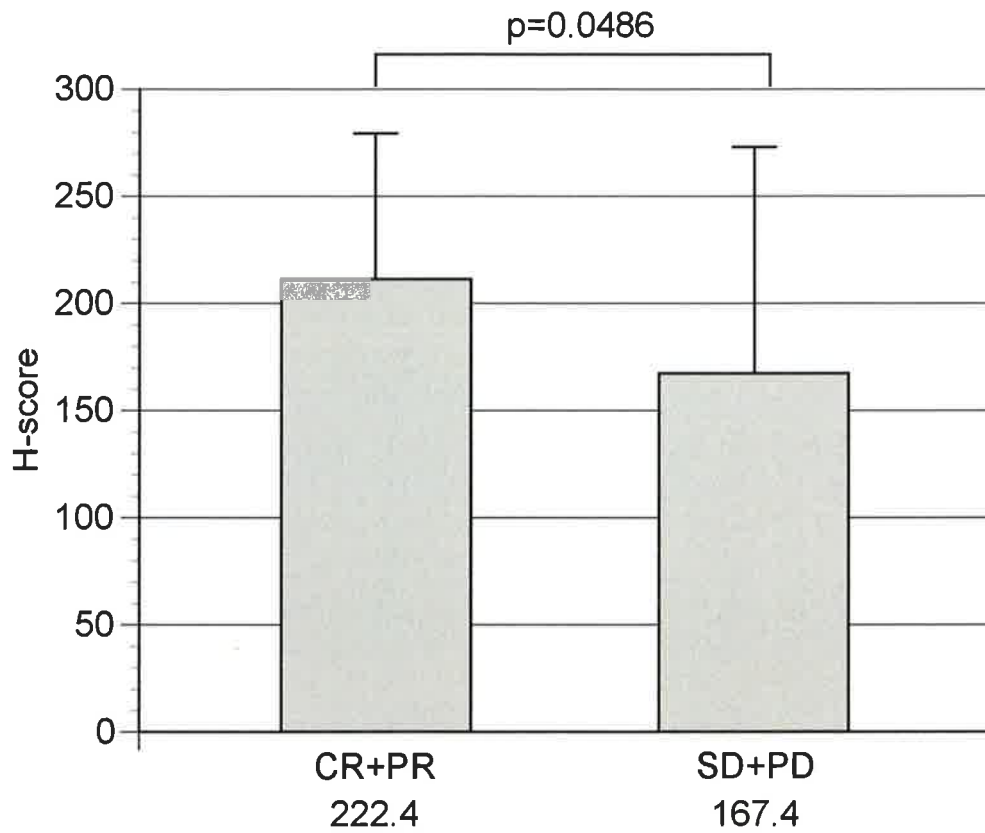


Figure 11

Response rate according to the expression level of TS in non-small cell lung cancer (NSCLC) in patients treated with CbPac. CR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease.

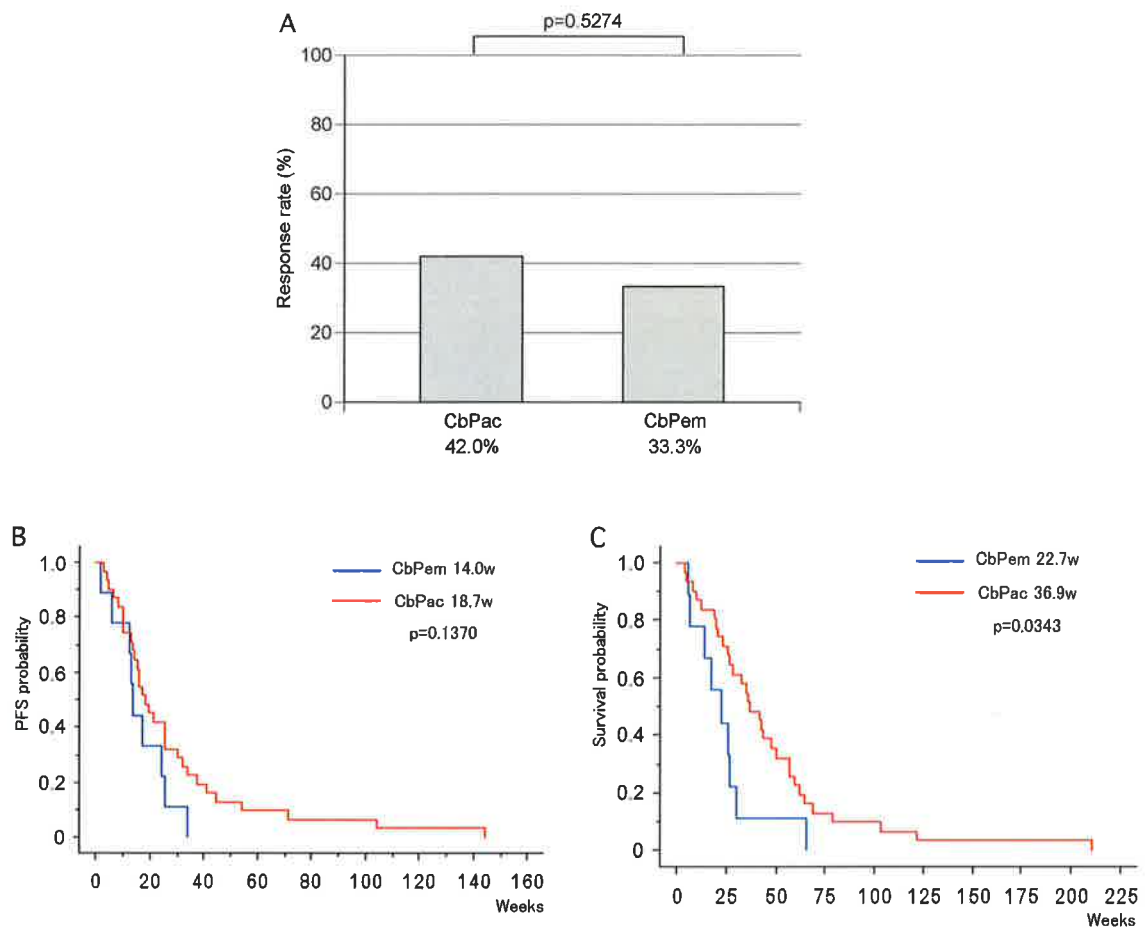


Figure 12

(A) Response rate, (B) progression-free survival and (C) overall survival in non-small cell lung cancer (NSCLC), indicating a high level of TS expression in patients treated with CbPac or CbPem. CbPac, carboplatin + paclitaxel combined chemotherapy; CbPem, carboplatin + pemetrexed combined chemotherapy.



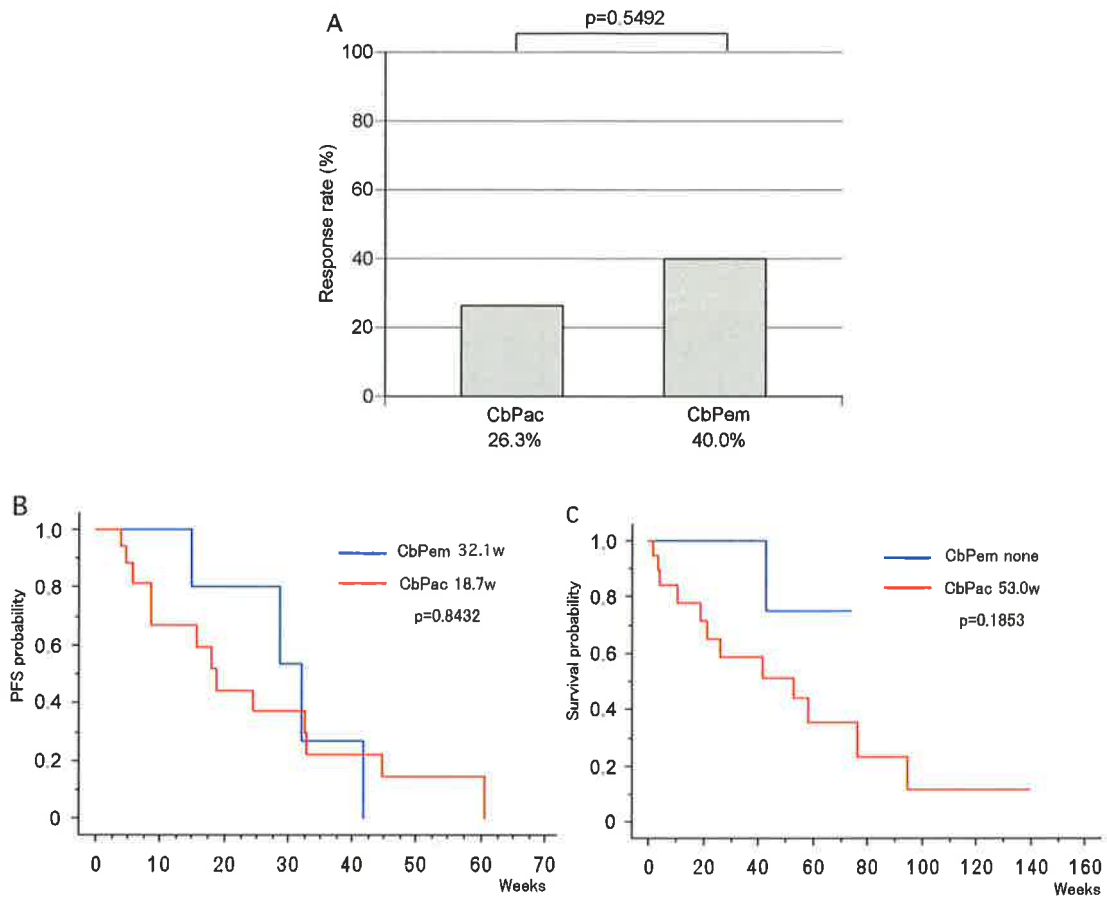


Figure 13

(A) Response rate, (B) progression-free survival (PFS) and (C) overall survival in NSCLC, indicating a low level of TS expression in patients treated with CbPac or CbPem. CbPac, carboplatin + paclitaxel combined chemotherapy; CbPem, carboplatin + pemetrexed combined chemotherapy.

## 8. 引用文献

(1) Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al.: Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 11(2):121-128,2010.

(2) Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al.: Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 362(25): 2380-2388, 2010.

(3) Zhou C, Wu YL, Chen G, et al.: Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study 12(8): 735-742, 2011.

(4) Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al.: Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 363(18): 1693-1703, 2010.

(5) Ferguson PJ, Collins O, Dean NM, et al.: Antisense down regulation of thymidylate synthase to suppress growth and enhance cytotoxicity of 5-FUdR, 5-FU and Tomudex in HeLa cells. *Br J Pharmacol* 127: 1777-1786, 1999.

(6) Flynn J, Berg RW, Wong T, et al.: Therapeutic potential of antisense oligodeoxynucleotides to down-regulate thymidylate synthase in mesothelioma. *Mol Cancer Ther* 5: 1423-1433, 2006.

(7) Lin SB, Ts'o PO, Sun SK, ET al.: Inhibition of thymidylate synthase activity by

antisense oligodeoxynucleotide and possible role in thymineless treatment. *Mol Pharmacol* 60: 474-479, 2001.

(8) Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al.: The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumors. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2: 706-714, 2007.

(9) Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *BMJ* 311: 899-909, 1995.

(10) Ohe Y, Ohashi Y, Kubota K, et al.: Randomized phase III study of cisplatin plus irinotecan versus carboplatin plus paclitaxel, cisplatin plus gemcitabine, and cisplatin plus vinorelbine for advanced non-small-cell-lung cancer: Four-Arm Cooperative Study in Japan. *Ann Oncol* 18: 317-323, 2007.

(11) Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al.: Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 361: 947-957, 2009.

(12) Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert, et al.: Biomarker Analyses and Final Overall Survival Results From a Phase III, Randomized, Open-Label, First-Line Study of Gefitinib Versus Carboplatin/Paclitaxel in Clinically Selected Patients With Advanced Non-Small-Cell lung Cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol* 29: 2866-2874, 2011.

(13) Sander A, Gray R, Perry MC, et al.: Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell-lung cancer. *N Engl J Med* 355: 2542-2550, 2006.

- (14) Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al.: Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448: 561-566, 2007.
- (15) Kwak EL, Clark J, Shapiro GI, et al.: G6 Clinical activity observed in a phase I dose escalation trial of an oral c-met and ALK inhibitor, PF-02341066. *Eur J Cancer* 7: 1, 2009.
- (16) Scagliotti GV, Parikh J, von Pawel J, et al.: Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 26: 3543-3551, 2008.
- (17) 清水哲男.: 肺癌個別化治療におけるバイオマーカー チミジル酸合成酵素 (TS). *呼吸と循環* 60(12):1235-1242, 2012.
- (18) DeGregori J, kowalik T, Nevins JR.: Cellular targets for activation by the E2F1 transcription factor include DNA synthase- and G1/S –regulatory genes. *Mil Cell Biol* 15: 4215-4224, 1995.
- (19) Dyson N: The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev* 12: 2245-2262, 1998.
- (20) Banerjee D, Schnieders B, Fu JZ, et al.: Role of E2F-1 in chemosensitivity. *Cancer Res* 58: 4292-4296, 1998.
- (21) Huang CL, Liu D, Nakano J, et al.: E2F1 overexpression correlates with thymidylate synthase and survivin gene expressions and tumor proliferation in non small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 13(23): 6938-6946, 2007.

(22) Kasahara M, Takahashi Y, Nagata T, et al.: Thymidylate synthase expression correlates closely with E2F1 expression in colon cancer. *Clin Cancer Res* 6(7): 2707-2711, 2000.

(23) Sowers R, Toguchida J, Qin J, et al.: mRNA expression levels of E2F transcription factors correlate with dihydrofolate reductase, reduced folate carrier, and thymidylate synthase mRNA expression in osteosarcoma. *Mol Cancer Ther* 2(6): 535-541, 2003.

(24) Longley DB, Harkin DP, Johnston PG.: 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer* 3(5): 330-338, 2003.

(25) Takazawa K, Okamoto I, Tsukioka S, et al.: Identification of thymidylate synthase as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer* 103(3): 354-361, 2010.

(26) Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, et al.: Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol* 22: 1589-1597, 2004.

(27) Rossi A, Ricciardi S, Maione P, et al.: Pemetrexed in the treatment of advanced non-squamous lung cancer. *Lung Cancer* 66: 141-149, 2009.

(28) Shin C, Chen VJ, Gossett LS, et al.: LY231514, a pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-based antifolate that inhibits multiple folate-requiring enzymes. *Cancer Res* 57: 1116-1123, 1997.

(29) Mendelsohn LG, Shih C, Chen VJ, et al.: Enzyme inhibition, polyglutamation, and the effect of LY231514(MTA) on purine biosynthesis. *Semin Oncol* 2(suppl 6): 42-47,

1999.

(30) Taylor EC, Kuhnt D, shih C, et al.: A dideazatetrahydrofolate analogue lacking a chiral center at C-6,N-[4-[2-(2-amino-3,4-dihydro-4-oxo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-5-yl)ethyl]benzoyl]-L-glutamic acid, is an inhibitor of thymidylate synthase. *J Med Chem* 35: 4450-4454, 1992.

(31) Schultz RM, Patel VF, Worzalla JF, et al.: Role of thymidylate synthase in the antitumor activity of the multitargeted antifolate, LY231514. *Anticancer Res* 19: 437-443, 1997.

(32) Sigmond J, Backus HH, Wouters D, et al.: Induction of resistance to the multitargeted antifolate Pemetrexed(ALIMTA) in WiDr human colon cancer cells is associated with thymidylate synthase overexpression. *Biochem Pharmacol* 66: 431-438, 2003.

(33) Scagliotti G, Hanna N, Fossella F, et al.: The differential efficacy of pemetrexed according to NSCLC histology : a review of two Phase III studies. *The Oncologist* 14: 253-263, 2009.

(34) Ceppi P, Volante M, Saviozzi S, et al.: Squamous cell carcinoma of the lung compared with other histotypes shows higher messenger RNA and protein levels for thymidylate synthase. *Cancer* 107: 1589-1596 2006.

(35) Chen CY, Chang YL, Shin JY, et al.: Thymidylate synthase and dihydrofolate reductase expression in non-small cell lung carcinoma: the association with treatment efficacy of pemetrexed. *Lung Cancer* 74: 132-138, 2011.

(36) Uramoto H, Onitsuka T, Shimokawa H, et al.: TS,DHFR and GARFT expression in non-squamous cell carcinoma of NSCLC and malignant pleural mesothelioma patients treated with pemetrexed. *Anticancer Res* 30: 4309-4315, 2010.

(37) Cang MH, Ahn JS, Lee J, et al.: The efficacy of pemetrexed as a third- or fourth-line therapy and the significance of thymidylate synthase expression in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 69: 323-329, 2010.

(38) Metro G, Chiari R, Mare M, et al.: Carboplatin plus pemetrexed for platinum-pretreated, advanced non-small cell lung cancer: a retrospective study with pharmacogenetic evaluation. *Cancer Chemother Pharmacol* 68: 1405-1412 ,2011.

(39) Sun JM, Han J, Ahn JS, et al.: Significance of thymidylate synthase and thyroid transcription factor 1 expression in patients with nonsquamous non-small cell lung cancer treated with pemetrexed-based chemotherapy. *J Thorac Oncol* 6: 1392-1399, 2011.

(40) Takezawa K, Okamoto I, Okamoto W, et al.: Thymidylate synthase as a determinant of pemetrexed sensitivity in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 104: 1594-1601, 2011.

(41) Giovannetti E, Mey V, Nannizzi S, et al.: Cellular and pharmacogenetics foundation of synergistic interaction of pemetrexed and gemcitabine in human non-small-cell lung cancer cells. *Mol Pharmacol* 68: 110-118, 2005.

(42) Ozawa H, Oguri T, Uemura T, et al.: Significance of thymidylate synthase for resistance to pemetrexed in lung cancer. *Cancer Sci* 101: 161-166, 2010.

(43) Righi L, Papotti MG, Ceppi P, et al.: Thymidylate synthase but not excision repair cross-complementation group 1 tumor expression predicts outcome in patients with malignant pleural mesothelioma treated with pemetrexed-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 28: 1534-1539, 2010.

(44) Scagliotti G, Brodowicz T, Shepherd FA, et al.: Treatment-by-histology interaction analyses in three phase III trials shows superiority of pemetrexed in nonsquamous non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 6: 64-71, 2011.

(45) Shin C, Habeck LL, Mendelsohn LG, et al.: Multiple folate enzyme inhibition: mechanism of a novel pyrrolopyrimidine-based antifolate LY231514(MTA). *Adv Enzyme Regul* 38: 135-152, 1998.

(46) Schultz RM, Chen VJ, Bewley JR, et al.: Biological activity of the multitargeted antifolate, MTA(LY231514), in human cell lines with different resistance mechanisms to antifolate drugs. *Semin oncol* 2(Suppl 6): 68-73, 1999.

(47) Chung-Yu Chen, Yie-Leong Chang, Jin-Yuan Shin, et al.: Thymidylate synthase and dihydrofolate reductase expression in non-small cell lung carcinoma: The association with treatment efficacy of pemetrexed. *Lung Cancer* 74: 132-138, 2011.

(48) Olausson KA, Dunant A, Fouret P, et al.: IALT Bio Investigators. DNA repair by ERCC1 in non-small cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Eng J Med* 355: 983-91, 2006.

(49) Shanghua Y, RAjat B, Fernando C.: Human mutations that confer paclitaxel resistance. *Mol Can ther* 9: 327-335, 2010.



(50) Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, et al.: Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Onc* 14: 176-182, 1996.

(51) Shirota Y, Stoehmacher J, Brabender J, et al.: ERCC1 and thymidylate synthase mRNA level predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 19: 4298-4304, 2001.

(52) Nishimura R, Nagao K, Miyayama H, et al.: Thymidylate synthase levels as a therapeutic and prognostic predictor in breast cancer. *Anticancer Res* 19: 5621-5626, 1999.

(53) Takamura M, Nio Y, Yamasawa K, et al.: Implication of thymidylate synthase in the outcome of patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas and efficacy of adjuvant chemotherapy using 5-fluorouracil or its derivatives. *Anticancer Drugs* 13: 75-85, 2002.

(54) Paolo C, Marco V, Silvia S, Ida R, Silvia N, Alberco C, et al.: Squamous cell carcinoma of the lung compared with other histotypes shows higher messenger RNA and protein levels for thymidylate synthase. *Cancer* 107: 1589-1596, 2006.

(55) Suzuki H, Takahashi T, Kuroishi T, et al.: p53 mutations in non-small cell lung cancer in Japan: association between mutations and smoking. *Cancer Res* 52: 734-736, 1992.

(56) Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, et al.: Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer (Phila)* 92: 1525-1530, 2001.

(57) Mitsudomi T, Oyama T, Nishida K, et al.: Loss of heterozygosity at 3p in non-small cell lung cancer and its prognostic implication. *Clin Cancer Res* 2: 1185-1189, 1996.

(58) Johnston PG, Fisher ER, Rocktte HE, et al.: The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 12: 2640-2647, 1994.

## 9. 研究業績目録

中川 喜子

1	発表	①一般発表	35
		②特別発表	0
2	論文	①原著論文	2 (共 2)
		②症例報告	4 (共 4)
		③総説	なし
3	著書		なし

以上

## 研究業績

中川喜子

### 1 発表

#### ① 一般発表

1. 宮田直子、古市祥子、中川喜子、三浦勝浩、中山智子、小林朋子、大森千春、高橋典明、斉藤修、橋本修、赤柴恒人、堀江孝志：両側びまん性粒状影を呈し、経気管支肺生検で病変を確認し得たマイコプラズマ細気管支炎の1例、第99回日本気管支学会関東支部会、東京、2002年3月
2. 中川喜子、山崎哲男、竹井和大、八田善弘、三浦勝浩、澤田海彦、竹内仁：エンドキサンによると考えられる二次性骨髄異型性症候群が薬剤中止により自然寛解した濾胞性リンパ腫の1例：第68回日本血液学会・第48回日本臨床血液学会・合同総会、福岡、2006年10月
3. 辻野一郎、高橋典明、清水哲男、中川喜子、寺門正裕、花田清美、高橋美樹、大地康司、橋本修、赤柴恒人：合併症を有する高齢者非小細胞肺癌に対する vinorelbine 単剤化学療法の有用性について、第48回日本肺癌学会総会、名古屋、2007年11月
4. 佐藤真紀、辻野一郎、中川喜子、清水哲男、須金紀雄、大地康司、高橋典明、橋本修：肺腺癌細胞における Tween-80 によるシクロスポリン A の殺細胞効果増強に関する検討、第49回日本肺癌学会総会、小倉、2008年11月
5. 佐藤真紀、辻野一郎、浅井康夫、中川喜子、寺門正裕、清水哲男、水村賢司、高橋典明、橋本修：肺腺癌細胞における Tween-80 による

cyclosporinA の殺細胞効果増強に関する検討、第 49 回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2009 年 6 月

6. 清水哲男, 高橋典明, 須金紀雄, 寺門正裕, 浅井康夫, 中川喜子, 赤星俊樹, 辻野一郎, 大地康司, 橋本修: 肺癌治療における動注化学療法の適応について、第 32 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、東京、2009 年 5 月
7. 細川芳文, 中川喜子, 伊藝孔明, 岡本直樹, 児浦利哉, 須金紀雄, 庄田利明, 権寧博, 橋本修: S1-1 中枢気道狭窄に対する tapered spiral z-stent (TSZS) の有用性について、第 32 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、東京、2009 年 5 月
8. 清水哲男, 高橋典明, 須金紀雄, 中川喜子, 浅井康夫, 寺門正裕, 佐藤真紀, 辻野一郎, 大地康司, 橋本修: 局所進行非小細胞肺癌における動注化学療法の適応について、第 50 回日本肺癌学会総会、東京、2009 年 11 月
9. 辻野一郎, 高橋典明, 清水哲男, 佐藤真紀, 寺門正裕, 中川喜子, 浅井康夫, 須金紀雄, 高橋美樹, 大地康司, 橋本修: 高齢者肺癌の治療における併存合併症の影響について、第 50 回日本肺癌学会総会、東京、2009 年、11 月
10. 中川喜子, 清水哲男, 寺門正裕, 平沼久人, 浅井康夫, 佐藤良博, 佐藤真紀, 須金紀雄, 辻野一郎, 大地康司, 高橋典明, 橋本修: 縦隔に発生した滑膜肉腫の 1 例、第 187 回日本呼吸器学会関東地方会、東京、2009 年 11 月
11. 清水哲男, 高橋典明, 佐藤良博, 中川喜子, 浅井康夫, 寺門正裕, 須金

- 紀雄，辻野一郎，橋本修：高齢者肺癌における悪性胸水に対する OK-432 胸腔内投与の有用性について、第 107 回日本内科学会総会、東京、2010 年 4 月
12. 清水哲男，高橋典明，須金紀雄，佐藤良博，中川喜子，浅井康夫，寺門正裕，佐藤真紀，辻野一郎，大地康司，橋本修：非小細胞肺癌におけるペメトレキセド投与症例の臨床的検討、第 50 回日本呼吸器学会学術講演会、京都、2010 年 4 月
13. 須金紀雄，高橋典明，清水哲男，中川喜子，浅井康夫，寺門正裕，佐藤真紀，高橋美樹，辻野一郎，大地康司，橋本修：気管支拡張症に対するクラリスロマイシン少量持続投与の効果、第 50 回日本呼吸器学会学術講演会、京都、2010 年 4 月
14. 大木隆史、小林朋子、畑岡つかさ、中川喜子、伊藤玲子、服部知洋、林伸一、高橋典明：右下葉浸潤影を呈し ANCA 高値が持続した Propylthiouracil による薬剤性血管炎の一例、第 190 回日本呼吸器学会関東地方会、東京、2010 年 7 月
15. 浅井康夫，大地康司，佐藤良博，中川喜子，寺門正裕，佐藤真紀，清水哲男，須金紀雄，辻野一郎，高橋典明，橋本修：当科における神経内分泌癌の治療と予後についての検討、第 51 回日本肺癌学会総会、広島、2010 年 11 月
16. 中川喜子，清水哲男，佐藤良博，浅井康夫，寺門正裕，佐藤真紀，須金紀雄，辻野一郎，大地康司，高橋典明，橋本修：進行肺癌における癌組織内チミジル酸合成酵素(TS)発現の臨床的検討、第 51 回日本肺癌学会総会、広島、2010 年 11 月

17. 須金紀雄, 高橋典明, 佐藤良博, 浅井康夫, 中川喜子, 寺門正裕, 佐藤真紀, 清水哲男, 高橋美樹, 辻野一郎, 大地康司, 橋本修: 肺癌症例における診断時血清 D ダイマー値と病期, 予後の関連性についての検討、第 51 回日本肺癌学会総会、広島、2010 年 11 月
18. 清水哲男, 中西陽子, 中川喜子, 須金紀雄, 辻野一郎, 大地康司, 生沼利倫, 高橋典明, 橋本修, 根本則道: LAMD 法を用いて測定した肺癌組織内 TS mRNA 発現が Pem の治療効果に及ぼす影響、第 51 回日本肺癌学会総会、広島、2010 年 11 月
19. 佐藤良博, 高橋典明, 中川喜子, 浅井康夫, 佐藤真紀, 清水哲男, 須金紀雄, 高橋美樹, 林伸一, 辻野一郎, 小林朋子, 橋本修: 末梢肺癌確定診断時の気管支鏡検査における細菌学的検査の必要性について、第 33 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、横浜、2010 年 6 月
20. 須金紀雄, 林健太郎, 佐藤良博, 浅井康夫, 中川喜子, 清水哲男, 辻野一郎, 大地康司, 高橋典明, 橋本修: 進行肺扁平上皮癌症例に対するカルボプラチン, パクリタキセル(CP)併用化学療法 of 検討、第 51 回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2011 年 4 月
21. 小山大輔, 小林朋子, 新谷栄崇, 畑岡つかさ, 石渡祐作, 関山晶子, 大木隆史, 中川喜子, 伊藤玲子, 林伸一, 高橋典明, 橋本修: 当院における肺結核死亡例の臨床的検討、第 51 回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2011 年 4 月
22. 中川喜子, 清水哲男, 寺門正裕, 佐藤真紀, 須金紀雄, 辻野一郎, 大地康司, 高橋典明, 橋本修: 進行性非小細胞肺癌の化学療法における肺癌

組織内チミジル酸合成酵素(TS)発現の影響について、第51回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2011年4月

23. 畑岡つかさ，林伸一，丸岡秀一郎，中川喜子，平沼久人，関山晶子，小林朋子，高橋典明，橋本修：低分子ヘパリン投与後にびまん性肺胞出血を来した一例、第194回日本呼吸器学会関東地方会、東京、2011年、5月
24. 清水哲男，中西陽子，中川喜子，須金紀雄，辻野一郎，大地康司，生沼利倫，高橋典明，橋本修，根本則道：進行非小細胞肺癌におけるペメトレキシドの効果と癌組織内TS，DHFR，GARFT mRNA発現の関係、第52回日本肺癌学会総会、大阪、2011年11月
25. 辻野一郎，浅井康夫，中川喜子，寺門正裕，佐藤真紀，清水哲男，須金紀雄，大地康司，高橋典明，橋本修：シスプラチン耐性肺癌細胞における抗癌剤増感並びに高温高感受性に関する検討、第52回日本呼吸器学会学術講演会、神戸、2012年4月
26. 林健太郎，畑岡つかさ，佐藤良博，中川喜子，清水哲男，須金紀雄，高橋美樹，辻野一郎，高橋典明，橋本修：進行肺癌患者における低ナトリウム血症の検討、第52回日本呼吸器学会学術講演会、神戸、2012年4月
27. 中川喜子，清水哲男，浅井康夫，寺門正裕，佐藤真紀，須金紀雄，辻野一郎，大地康司，高橋典明，橋本修：切除不能な未治療非小細胞肺癌に対するペメトレキシド+カルボプラチン併用化学療法 of 臨床第2相試験、第52回日本呼吸器学会学術講演会、神戸、2012年4月
28. 中川喜子，清水哲男，中西陽子，畑岡つかさ，浅井康夫，須金紀雄，辻



野一郎，大地康司，生沼利倫，高橋典明，橋本修，根本則道：気管支鏡検体を用いた肺癌 EGFR 遺伝子変異における迅速診断の意義、第 35 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、東京、2012 年 6 月

29. 清水哲男，中西陽子，中川喜子，辻野一郎，高橋典明，根本則道，橋本修：進行非小細胞肺癌における治療選択因子としての癌組織内チミジル酸合成酵素発現の意義、第53回日本肺癌学会総会、岡山、2012年11月
30. 浅井康夫，前林俊哉，畑岡つかさ，中川喜子，清水哲男，辻野一郎，大地康司，高橋典明：局所進行肺癌に対する化学放射線療法の効果と有害事象について、第53回日本肺癌学会総会、岡山、2012年11月
31. 林健太郎，佐藤良博，中川喜子，浅井康夫，清水哲男，高橋美樹，辻野一郎，高橋典明，橋本修：進行肺癌患者における低ナトリウム血症について、第53回日本肺癌学会総会、岡山、2012年11月
32. 鹿野壮太郎，中川喜子，伊藝孔明，石渡裕作，林伸一，丸岡秀一郎，小林朋子，高橋典明，橋本修：急性呼吸不全で死亡し、剖検で診断された、胃癌のpulmonary tumor thrombotic microangiopathy (PTTM)の1例、第202回日本呼吸器学会関東地方会、東京、2012年11月
33. 林健太郎，高橋典明，佐藤良博，浅井康夫，中川喜子，清水哲男，高橋美樹，辻野一郎，大地康司，橋本修：脳転移を有する非小細胞肺癌の臨床検討 - 特に無症候性脳転移例に対する化学療法の意義について、第53回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2013年4月
34. 浅井康夫，前林俊哉，畑岡つかさ，中川喜子，清水哲男，辻野一郎，大地康司，高橋典明，橋本修：肺癌に対する化学放射線療法後の肺障害に

関する臨床的、第53回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2013年4月

35. 中川喜子, 清水哲男, 畑岡つかさ, 浅井康夫, 辻野一郎, 大地康司, 高橋典明, 橋本修: 進行非小細胞肺癌に対するペメトレキセド+カルボプラチン併用療法の臨床第II相試験における治療効果とチミジル酸合成酵素発現との関係、第53回日本呼吸器学会学術講演会、東京、2013年4月

② 特別発表

なし

## 2 論文

### ① 原著論文

1. Shimizu T, Nakanishi Y, Nakagawa Y, Tsujino I, Takahashi N, Nemoto N, Hashimoto S. Association between Expression of Thymidylate Synthase, Dihydrofolate Reductase, and Glycinamide Ribonucleotide Formyltransferase and Efficacy of Pemetrexed in Advanced Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res.* 2012 Oct;32(10):4589-96.
2. Nakagawa Y, Shimizu T, Takahashi N, Hashimoto S. Impact of thymidylate synthase protein expression on efficacy of chemotherapy in advanced lung cancer patients. *Molecular and Clin Onc.* 2013;1:411-417.

② 症例報告

1. 野崎高正, 武井正美, 中川喜子, 竹井和大, 猪股弘武, 白岩秀隆, 三田村巧, 細川芳文, 掘越昶, 松田昌和, 澤田滋正 : SLE に合併した巨大腭嚢胞の 1 症例、日大医学雑誌, 64(2) : 99-101, 2005
2. Nakagawa Y, Miura K, Yamazaki T, Ishizuka H, Takei K, Sawada U, Kura Y, Hatta Y, Takeuchi J : A case of treatment-related myelodysplastic syndrome spontaneously resolved by drug discontinuance. Int J Hematol. 2010 Apr;91(3):530-3. Epub 2010 Feb 13.
3. Mizumura K, Machino T, Sato Y, Ooki T, Hayashi K, Nakagawa Y, Fukunaga M, Sato M, Kiyofuji K, Hayashi S, Kobayashi T, Yoshizawa T, Takahashi N, Hashimoto S. Tuberculous retropharyngeal abscess associated with spinal tuberculosis well controlled by fine-needle aspiration and anti-tuberculous chemotherapy. Intern Med. 2010;49(12):1155-8.
4. 中川喜子, 清水哲男, 寺門正裕, 平沼久人, 松本健, 高橋典明, 橋本修 : 縦隔に発生した滑膜肉腫の 1 例、日本呼吸器学会雑誌 48(10) : 734-738, 2010.