

ゲムシタビンとシスプラチンを含む併用化学療法を
施行した転移性膀胱癌患者の生存に関する
Human equilibrative nucleoside transporter 1
(hENT1) 発現の意義

松村 永秀, 原 勲
和歌山県立医科大学泌尿器科学講座

THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF HUMAN EQUILIBRATIVE
NUCLEOSIDE TRANSPORTER 1 (hENT1) EXPRESSION IN
METASTATIC BLADDER CANCER PATIENTS TREATED
WITH GEMCITABINE-CISPLATIN BASED
COMBINATION CHEMOTHERAPY

Nagahide MATSUMURA and Isao HARA
The Department of Urology, Wakayama Medical University

Systemic combination chemotherapy, such as the methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin (MVAC) regimen, has shown certain activity in advanced bladder cancer, but is associated with a significant toxicity burden, with a treatment-related mortality of about 4%. Therefore, a great deal of interest has been focused on the gemcitabine-cisplatin (GC) combination chemotherapy which showed the same antitumor effect as MVAC chemotherapy with far less toxicity. Indeed, the GC regimen is now frequently administered as the first-line chemotherapy against metastatic bladder cancer. For the present, GC/MVAC regimens constitute alternative platform chemotherapy, until new evidence based strategy can be demonstrated. Accordingly it is important to be able to predict whether a regimen is effective in each patient with bladder cancer before the initiation of chemotherapy. Clinicopathological factors as the Karnofsky performance status and the presence of visceral metastases are well-established prognostic markers for poor survival. However, they are inadequate to predict the optimal therapeutic regimen for each individual patient. As for the predictive marker of cisplatin, ERCC1 may predict survival in bladder cancer treated by platinum-based therapy. The predictive potential of gemcitabine has not been previously considered in advanced bladder cancer treated by gemcitabine-combined systemic chemotherapy. In our retrospective study, the predictive value of a high expression level of hENT1 was assessed in bladder cancer treated by gemcitabine combined combination chemotherapy.

(Hinyokika Kyo 57 : 157-161, 2011)

Key words : Urothelial cancer, Gemcitabine-cisplatin (GC) combination chemotherapy

緒 言

長年にわたり尿路上皮癌に対する全身化学療法は、M-VAC 療法が中心的役割を担ってきた。Gemcitabine (以下 GEM) や taxan 系の新規抗癌剤などの登場に伴い、尿路上皮癌に対する新しいレジメンの有効性が報告された。特に GEM を含んだ多剤併用化学療法は、副作用に関して M-VAC より軽減され、抗腫瘍効果において M-VAC に匹敵するレジメンである事が示されている。新たな治療方法が確立されるまでの間は、尿路上皮癌に対する全身化学療法は、GC 療法/MVAC 療法が二者択一的な治療法と言える。われわれは“個々の症例において GC/M-VAC いずれの療法を選

択するべきか？”テーラーメイド医療の臨床導入を目指している。これまで、化学療法前の performance status や臓器転移の有無といった古典的な臨床病理学的因子に基づいた効果予測は行われてきた。しかし、精度の高いテーラーメイド医療を導入するには、分子生物学的見地から治療効果を予測しえるバイオマーカーが必要である。ベルモントらは、シスプラチンを含んだ全身化学療法を施行した進行性膀胱癌患者において、シスプラチン耐性獲得に関与する ERCC1 の発現の有無が予後予測因子であったと報告している¹⁾。これまで、進行性膀胱癌患者に対して GEM 併用全身化学療法を施行し、GEM の薬学的・薬物動態学的バイオマーカーに注目した検討を行った報告はない。わ

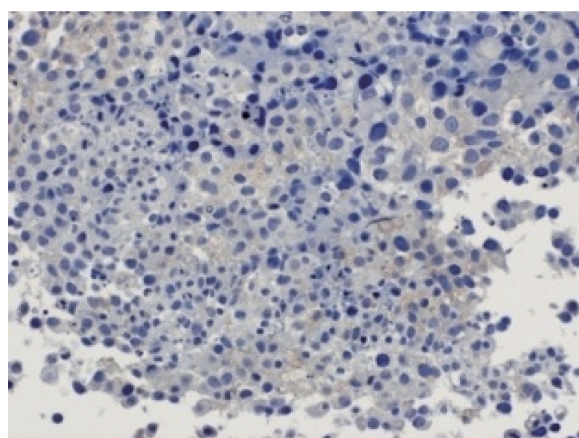
れわれは GEM に関連する予後・効果予測マーカーとして、GEM が細胞内に取り込まれる際の key molecule とされている human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1) の発現についての後ろ向き研究を行った。

対 象 と 方 法

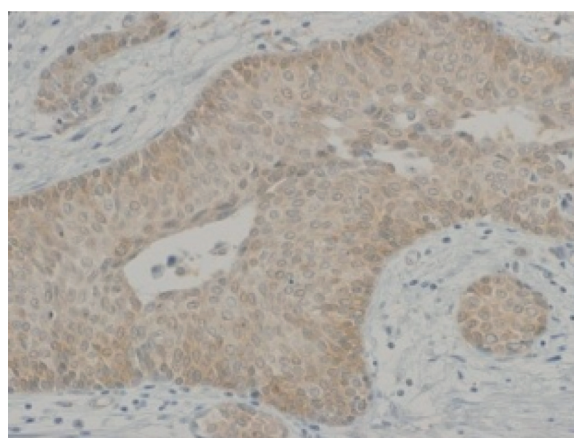
対象症例は2002年6月～2009年7月までの期間に、gemcitabine (GEM) と cisplatin (CDDP) を含む 多剤併用化学療法 (gemcitabine-cisplatin : 以下 GC 療法およびgemcitabine-cisplatin-paclitaxel : 以下 GCT 療法) を施行した評価可能病変を有する転移性膀胱癌患者である。GC 療法は GEM を $1,000 \text{ mg/m}^2$ (day 1, 8, 15), CDDP を 70 mg/m^2 (day 2) に投与し4週サイクルを原則とした。GCT 療法は GEM を $1,000 \text{ mg/m}^2$ (day 1, 8), CDDP を 70 mg/m^2 (day 2), paclitaxel を 80 mg/m^2 (day 1, 8) に投与し3週サイクルを原則とした。原則として2コース終了時に近接効果を評価した。治療・検査目的に採取した膀胱癌組織のパラフィン包埋切片を用い、過去の報告に準じて^{2,3)} hENT1 の免疫染色を施行した。2人の病理医によって細胞質および細胞膜の陽性強度が 3+, 2+, 1+, 0 に分類

Table 1. Patient characteristics

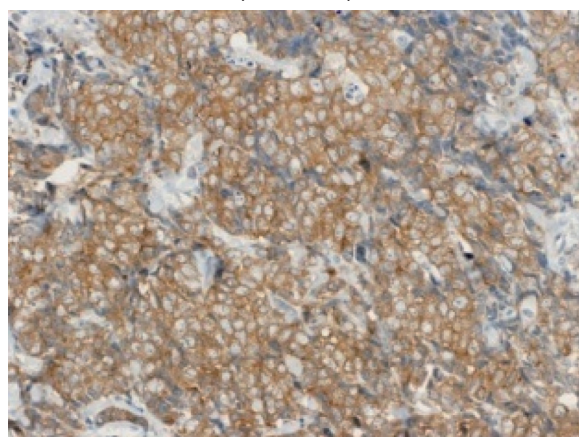
	Patients n (%)
Age	
<65	9 (37.5)
≥65	15 (62.5)
Gender	
Male	22 (91.7)
Female	2 (8.3)
Performance status	
0	15 (62.5)
≥1	9 (37.5)
Histology	
Pure TCC	23 (95.8)
Mixed TCC	1 (4.1)
Previous TCx	
Yes	12 (50.0)
No	12 (50.0)
Visceral metastasis	
Present	13 (54.2)
Absent (LN meta)	11 (45.8)
Chemotherapy	
GC	9 (37.5)
GCT	15 (62.5)



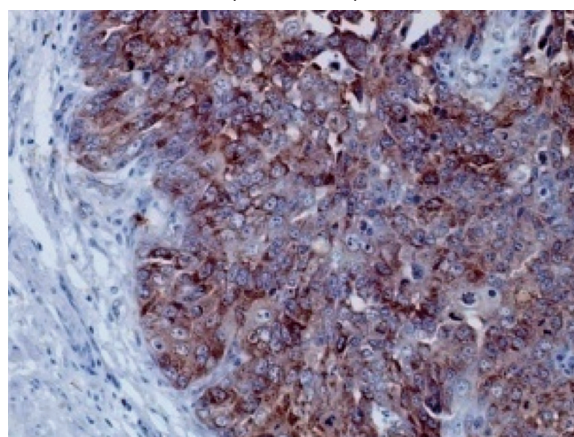
(1+ 20%)



(2+ 100%)



(3+ 100%)



(3+ 100%)

Fig. 1. Immunostaining of hENT1.

され, 陽性細胞の分布頻度は0~100%で表記された. 3+の腫瘍細胞が50%以上を占めるものを hENT1 高発現と分類した上で, 高発現群と低発現群に分類し hENT1 の発現と他の臨床病理学的因子との関係を統計学的に解析した. 2群間の比較は Fisher の直接法を使用し, 生存に関しては全生存を Kaplan-Meier 法を用いて算出し群間の比較は log-rank test を行った. また, hENT1 の発現を含む各種臨床病理学的因子に関しては Cox 比例ハザードモデルを用いて, 抗癌化学療法後の生存期間に関する単・多変量解析を行った. $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した.

結 果

患者の背景は, 男性22例, 女性2例, 化学療法開始時年齢の中央値は69歳 (35~88歳), 化学療法のレジメンは, GC療法: 9例, GCT療法: 15例, 半数で膀胱全摘が施行されていた (Table 1). hENT1 の免疫組織染色のサンプルを Fig. 1 に示した. 膀胱腫瘍は hENT1 の免疫染色に対して種々の陽性像を呈し, 最終的に hENT1 高発現群は10例であり低発現群は14例と分類された. 抗癌化学療法に対する近接効果と hENT1 の発現との関係については, hENT1 高発現群症例では100%の症例で近接効果を認めたのに対し, hENT1 低発現群において近接効果を認めたのは28.6%にすぎなかった ($p < 0.001$). 抗癌化学療法後の生存期間 (全生存) と hENT1 の発現の関係は, Fig. 2 に示した.

hENT1 高発現群の全生存期間の中央値は23.0カ月であったのに対し, hENT1 低発現群は12.3カ月であった ($p = 0.0011$). 単変量解析においては, 化学療法前の performance status 良好群と hENT1 の高発現群が生存に関して統計学的に有意に良好であった ($p = 0.028, 0.003$) (Table 2). 多変量解析においては hENT1 高発現のみが独立予後規定因子であった ($p = 0.004$).

考 察

Bellmunt らは, CDDP 耐性に関与すると報告されている excision repair cross complementing 1 (ERCC1) が, GC および GCT 療法を行った進行性・転移性尿路上皮癌症例において独立した予後予測因子であったと報告している¹⁾. しかしながら, 多剤併用化学療法において1つの物質の発現の有無のみを評価して治療方法の効果を予測するには限界がある. そこで, われわれは GEM の効果予測因子についての検討を行った. GEM が抗腫瘍効果を発揮するためには, 腫瘍細胞内に GEM が取り込まれなければならない. GEM は親水性の分子であるため, 拡散によっては細胞膜を通過しない. すなわち, GEM の腫瘍細胞内への効果的な取り込みには nucleoside transporter の存在が必須である⁴⁾. 数種類報告されている nucleoside transporter の中でも最も重要な役割を果たしているのが human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1)

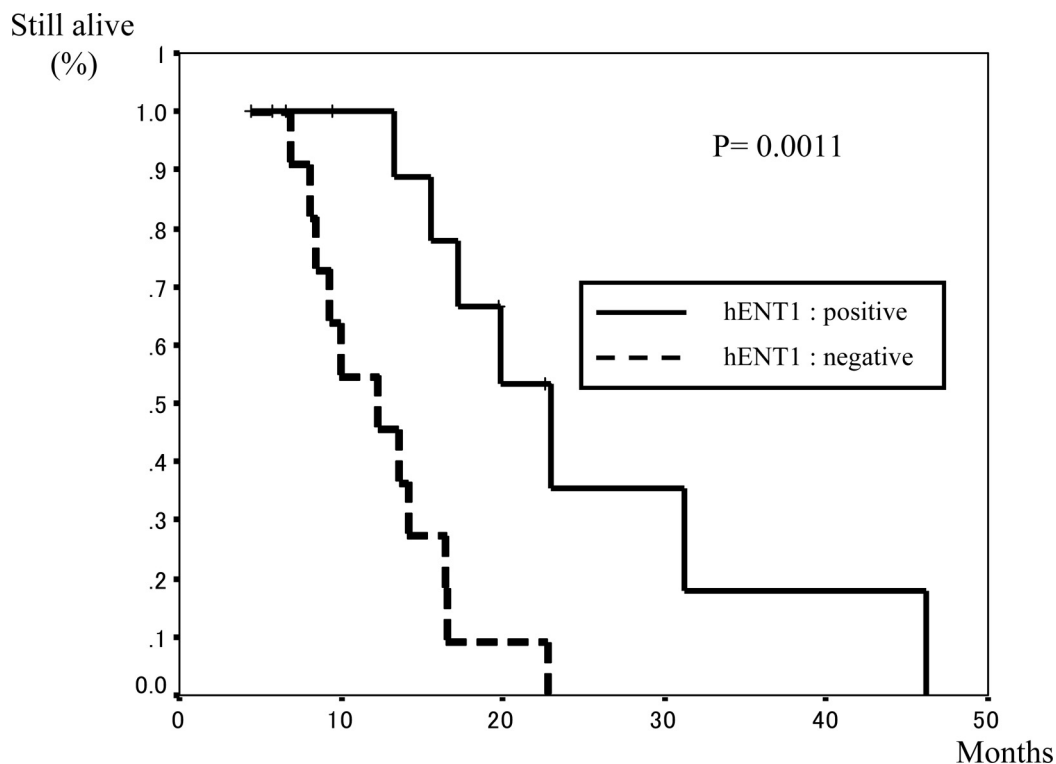


Fig. 2. Kaplan-Meier estimates of overall survival in metastatic bladder cancer patients treated with gemcitabine and cisplatin combined chemotherapy.

Table 2. Univariate analysis of baseline patient characteristics

	No of	Median survival months (95%CI)	Hazard ratio (95%CI)	P*
Age				0.213
<65	9	15.5 (12.0-19.0)	2.075 (0.658- 6.542)	
≥65	15	16.5 (10.8-22.1)	1	
Performance status				0.028
0	9	22.7 (13.9-31.5)	1	
≥1	15	13.3 (11.4-15.2)	3.160 (1.141-10.342)	
Past history of TCx				0.487
Present	12	16.6 (13.2-19.9)	1	
Absent	12	13.6 (10.5-16.8)	1.409 (0.536- 3.710)	
Visceral metastasis				0.043
Present	13	13.6 (11.6-15.6)	3.422 (1.041-11.244)	
Absent (LN meta)	11	22.7 (8.0-37.5)	1	
Chemotherapy				0.42
GC	9	16.6 (9.2-33.1)	0.595 (0.168- 2.102)	
GCT	15	15.5 (11.9-19.1)	1	
ERCC1				0.163
Low	12	17.3 (12.7-21.9)	1	
High	12	13.6 (11.6-15.7)	2.043 (0.749- 5.577)	
hENT1				0.003
Low	14	12.3 (7.6-16.9)	5.898 (1.802-19.301)	
High	10	23.0 (16.3-29.6)	1	

* log-rank test.

である。これまで、膀胱癌や肺癌など他の固形癌において hENT1 の発現が GEM 併用化学療法の効果予測因子になるとの報告は散見される⁵⁻⁹⁾。また、Mey らは表在性膀胱腫瘍に対し GEM 膀胱内注入療法を行い、hENT1 の高発現群は低発現群と比較して良好な抗腫瘍効果が得られたと報告している¹⁰⁾。今回の研究は、GEM と CDDP を併用した全身化学療法を施行した転移性膀胱癌患者において GEM の薬学的な見地から効果予測因子について検討した初めての報告である。われわれの検討結果では、hENT1 高発現群は低発現群と比較して近接効果および生存に関して有意に良好な結果を示した。これらの研究結果は、膀胱癌に対する GEM 併用全身化学療法を施行する上で膀胱癌細胞における hENT1 の発現が効果予測因子と成りえる可能性が示唆された。われわれは、CDDP 耐性に関与すると報告されている ERCC1 についても免疫組織学的に同様の検討を行ってきたが、いずれも統計学的に有意な結果は得られていない。ERCC1 については今後症例数を積んで再度検討が必要であろう。また、hENT1 発現についても mRNA レベルや Western blotting などでの比較検証が未施行である事やスタンダードデザインの問題などの克服すべき課題点が残っている。薬学的・薬物動態学的バイオマーカーを用いて膀胱癌に対する GC 療法の個別化医療導入を確立するためには、GEM の代謝や CDDP の耐性獲得に関与する他の候補物質を検討に含めた前向き研究での

validation が必要であろう。本研究結果は preliminary なものであるが、われわれは進行膀胱癌での hENT1 の高発現は、GEM 感受性規定因子の中で重要な候補物質の 1 つであると考えている。今後、hENT1 を含んだ複数のバイオマーカーを組み合わせ、精度の高いテーラーメイド医療の実現を目指していきたい。

結 語

現在、進行・転移性尿路上皮癌におけるレジメンの選択に GC/MVAC 療法のいずれを選択するか明確な指針はない。Molecular pharmacology marker などを臨床導入した上で、テーラーメイド治療の確立が望まれる。当院での検討では、hENT1 が gemcitabine の感受性規定因子となりえる可能性が示唆された。CDDP の感受性規定因子として期待される ERCC1 などの今後の validation が必要である。

文 献

- 1) Bellmunt J, Paz-Ares L, Cuello M, et al.: Gene expression of ERCC1 as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Ann Oncol* **18**: 522-528, 2007
- 2) Mackey JR, Jennings LL, Clarke ML, et al.: Immunohistochemical variation of human equilibrative nucleoside transporter 1 protein in primary breast cancers. *Clin Cancer Res* **8**: 110-116, 2002
- 3) Dabbagh L, Coupland RW, Cass CE, et al.: Immuno-

- histochemical variation of human equilibrative nucleoside transporter 1 protein in primary breast cancers. *Clin Cancer Res* **9**: 3213-3214, 2003
- 4) Mackey JR, Mani RS, Selner M, et al.: Functional nucleoside transporters are required for gemcitabine influx and manifestation of toxicity in cancer cell lines. *Cancer Res* **58**: 4349-4357, 1998
- 5) Spratlin J, Sangha R, Glubrecht D, et al.: The absence of human equilibrative nucleoside transporter 1 is associated with reduced survival in patients with gemcitabine-treated pancreas adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* **10**: 6956-6961, 2004
- 6) Marechal R, Mackey JR, Lai R, et al.: Human equilibrative nucleoside transporter 1 and human concentrative nucleoside transporter 3 predict survival after adjuvant gemcitabine therapy in resected pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* **15**: 2913-2919, 2009
- 7) Seve P, Mackey JR, Isaac S, et al.: cN-II expression predicts survival in patients receiving gemcitabine for advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **49**: 363-370, 2005
- 8) Farre X, Guillen-Gomez E, Sanchez L, et al.: Expression of the nucleoside-derived drug transporters hCNT1, hENT1 and hENT2 in gynecologic tumors. *Int J Cancer* **112**: 959-966, 2004
- 9) Giovannetti E, Tacca MD, Mey V, et al.: Transcription analysis of human equilibrative nucleoside transporter-1 predicts survival in pancreas cancer patients treated with gemcitabine. *Cancer Res* **66**: 3928-3935, 2006
- 10) Mey V, Giovannetti E, De Braud F, et al.: In vitro synergistic cytotoxicity of gemcitabine and pemetrexed and pharmacogenetic evaluation of response to gemcitabine in bladder cancer patients. *Br J Cancer* **95**: 289-297, 2006
- (Received on November 18, 2010)
(Accepted on November 19, 2010)