

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「早期診断マルチバイオマーカー開発」（血中循環乳がん細胞に対するエピジェネティクス・マルチマーカーの実用化開発）

2. 研究開発代表者： 戸井雅和（国立大学法人京都大学大学院医学研究科 乳腺外科）

3. 研究開発の成果

血中浮遊 DNA (cell-free DNA: cfDNA) は癌治療モニタリングのバイオマーカーとして注目されている。しかしがんの早期診断に対する有用性についての報告は少ない。本研究ではこの cfDNA の異常メチル化を検出することで、乳がんのモニタリングのみならず、早期診断までに使用しうるメチル化 DNA マーカーを同定した。また DNA のメチル化のパターンは正常組織と癌組織で異なり、乳癌ではサブタイプにより異なる特徴を有していると報告されている。我々は乳癌に特徴的な DNA のメチル化をマーカーとしたパネルを作成した。乳がん領域で臨床的に解決しなければならない問題として、トリプルネガティブ型乳がんの早期診断とルミナル型乳がんの晩期再発の診断・リスク評価という 2 課題を本研究では取り上げ、このマーカーの有用性を検討した。【方法】乳癌細胞株、乳癌組織と健常者血液の DNA を用いてメチル化マイクロアレイ解析を行い、乳癌組織に共通したメチル化マーカー 4 種、Luminal 乳癌に特徴的なメチル化マーカー 4 種、Triple Negative 乳癌に特徴的なメチル化マーカー 4 種を選択した。これに 4 種類の内部コントロールを加え、digital droplet methylation-specific PCR 法を利用したパネルを作成した。87 例の乳癌症例および 80 例の健常者の cfDNA を学習データとして Support Vector Machine を用いて乳がん診断アルゴリズムを作成し、結果は Diagnostic Index として出力した。更に 58 例の乳癌患者および 53 例の健常者の cfDNA を検証データとして検出アルゴリズムを評価した。【結果】検出アルゴリズムの ROC 曲線下面積は学習データで 0.92、検証データで 0.88 であった。感度は訓練データで 0.91、検証データで 0.84 であり、特異度は訓練データで 0.83、検証データで 0.79 であった。全データを用いたステージごとの感度は 0、I、IIA、IIB、III、転移性乳癌 (MBC) それぞれで 1、0.85、0.87、0.77、1、0.97 であり、全てのサブタイプで Stage0-I の状態から高度の陽性率を示し、この診断モデルが乳がんの早期診断スクリーニングに使用できる可能性を示した。【結論】乳がん組織と血液標本の網羅的エピゲノム解析から、乳がんの診断に有用な 1 2 種のマーカーと内部コントロールマーカー 4 種を同定した。これらを用いたエピジェネティックマーカーパネルは早期乳癌の検出が可能であり、血液を用いた乳癌早期診断に有用であると考えられる。

また、本研究課題で同定した 1 2 種の乳がん診断マーカー、4 種の内部コントロールマーカーと診断アルゴリズムに関して特許を申請した。