

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新規バイオマーカーPRDM14による難治性乳がん・すい臓がんの診断法の開発
2. 研究開発代表者：今井浩三（東京大学医科学研究所）
3. 研究開発の成果

幹細胞特性を担う転写因子である PRDM14 が、乳がんにおいてがん部特異的に発現亢進しており、腫瘍の悪性形質に関連することを示した。これらをもとに申請した乳がんの診断に関する特許が成立している。PRDM14 は有効な治療法が未開発、早期発見が困難なため難治性となっているがんにおいて発現亢進する特性を有し、難治性がんを対象とした診断バイオマーカーとして最適な候補であり、当該年度（平成 27 年度）は以下の研究を完了した。

### ①血清診断バイオマーカー候補同定：発現マイクロアレイ、サスペンションアレイによるスクリーニング

【方法 1】乳がん患者の切除標本由来の組織切片を用いて PRDM14 の発現解析を実施していた。同一患者由来の血清をサスペンションアレイにより解析した。サスペンションアレイの検証で非常に多くの液性因子(83 種類)の中から PRDM14 の蛋白発現と相関する有望な候補があるか検証した。その結果、相関係数が 0.5 以上(強い相関)で p 値<0.01 である候補を複数得た。

【方法 2】マイクロダイセクション法を併用した乳がん臨床検体を用いたマイクロアレイ解析のデータおよび検証のための遺伝子発現解析の結果から、PRDM14 標的治療の効果バイオマーカーとして期待できる血清分泌タンパクを同定した。また、マイクロアレイデータから PRDM14 遺伝子の発現量と強い関連を示した有意差上位 38 サイトカインについて、患者血清を用いたサスペンションアレイによる乳がん組織 PRDM14 遺伝子発現量との相関解析を行った結果、4 つの血清タンパクがバイオマーカー候補として同定された。

②ELISA 法によるバリデーション：統合的オミックス解析によるスクリーニングで得られた候補を検証：乳がん臨床検体を用いたマイクロアレイ解析のデータから、PRDM14 標的治療の効果バイオマーカーとして期待できる血清分泌タンパクを同定し、ELISA による検証実験を終了、1タンパクについて再現性が検証された。同定された 1 タンパクと、サスペンションアレイにより同定された 2 タンパクの合計 3 血清タンパクを組み合わせることで、患者乳がん組織の PRDM14 遺伝子発現を高精度に予測し得る可能性が示唆された。

③流血中の腫瘍細胞 (CTC: Circulating Tumor Cells) の解析：蛋白 Y (仮称) 分子が腫瘍の転移にも強く関与することから CTC の分取を行い、蛋白 Y 陽性 CTC を検出できるか検討を行った。EpCAM 等の抗体を用いて CTC を分取し、蛋白 Y の発現を ICC 法により検討した結果、多くの症例で CTC の中に蛋白 Y 陽性細胞が含まれることが判明した。

④PRDM14 分子の病理診断バイオマーカーの評価：PRDM14 分子は核内転写因子であるため組織診断が必要となる。組織診断に用いることが至適な抗体の査定を進め、うち 1 種類が比較的良好な結果を示した。本抗体については、PRDM14 の全長タンパクで免疫した抗体であるが、一部、non specific と考えられる所見があり、次年度、共同研究先でさらに適した抗体を作成する計画である。また、同じ切片を用いて in situ hybridization (ISH)法で PRDM14 の mRNA 発現を評価し、そのうち、シグナルが得られた切片を fluorescence in situ hybridization (FISH)法で検証、遺伝子増幅が確認された。

⑤膵臓がん前がん病変における対象分子 PRDM14 の切除切片での発現評価：膵臓発生母地の一つとされる慢性膵炎病変の再生性膵管細胞に陽性像を認めた。コントロール用の正常組織（周辺正常膵）、前がん病変（慢性膵炎）を対象に必要な最低限の時間で固定した組織、及び、凍結組織切片を収集し本分子の発現解析を行った。

4. その他