

## 総括研究報告書

### 1. 研究開発課題名：

臨床検体を用いた多層的オミクス解析による分子標的薬の肉腫への適応拡大のための基盤的研究

### 2. 研究開発代表者： 近藤格（国立がん研究センター研究所 希少がん研究分野）

### 3. 研究開発の成果

#### ① ゲノム情報を活用した適応拡大のための分子標的薬候補の同定

高分化型/脱分化型脂肪肉腫に対して次世代シーケンサー解析を行い、新規治療標的の同定を試みた。増幅のある遺伝子の産物を標的とする分子標的薬の有効性を *in vitro* 実験で確認した。

ユーイング肉腫の予後と相関する miRNA を同定および標的分子の同定を試みた。臨床検体から転移 miRNA を同定し、細胞浸潤能を著しく抑制する miRNA、およびその下流 mRNA を同定した。また、ユーイング肉腫の予後因子である TP53 変異に関連し、TP53 関連遺伝子を同定し、その機能を解析した。候補遺伝子の標的分子としての可能性を示唆する結果が得られた。

#### ② プロテオーム解析

パゾパニブの奏効性予測バイオマーカー、およびパゾパニブ抵抗性症例に対して有効な分子標的の同定を試みた。すべてのチロシンリン酸化酵素に対して発現解析を行った。抵抗性に関連するチロシンリン酸化酵素を特定し、その機能的意義を遺伝子抑制実験で調べた。また、チロシンリン酸化酵素の活性を網羅的に調べる実験に着手した。分泌バイオマーカー候補について、その発現パターンをウェスタンと ELISA で確認した。

#### ③ 病理標本を用いた解析

悪性神経鞘腫瘍（MPNST）について、診断バイオマーカーの開発を試みた。本研究では、新規の機能分子の発現検討や病理診断への応用を試みた。その結果、当該分子の完全消失所見は通常型 MPNST に特異性が高く、特に孤発例や非典型例の診断において威力を発揮することがわかった。

#### ④ 血中エクソソーム解析によるバイオマーカーの開発

パゾパニブ処理によって肉腫から分泌されるエクソソーム内 miRNA の網羅的解析を行った。2565 種類の miRNA よりパゾパニブ感受性株由来エクソソーム内に多く存在する miRNA を同定した。そして、細胞が放出するエクソソームの機能的意義を調べる実験に着手した。

#### ⑤ 既存薬の肉腫細胞での効果とその薬効の分子背景の解析

361 種類の阻害剤をスクリーニングし、従来は報告されていなかった阻害剤で顕著に低い濃度で阻害効果を示すものを同定した。また、平成 27 年度の追加配分によって購入した全自動分注装置のメソッドの開発を行い、肉腫細胞パネルを用いた薬剤ライブラリーをスクリーニングする実験系を構築した。

#### ⑥ タンパク質複合体解析から見出された滑膜肉腫に適応拡大可能な抗がん剤の機能解析

現在までに見出していた、滑膜肉腫に効果を示す 2 つの既存抗がん剤について、その薬効の分子背景を明らかにした。また、薬剤投与後に変動する遺伝子群を網羅的解析より見出した。

#### ⑦ バイオマーカー分子の機能解析および治療標的としての可能性の検討

開発済みの Connectivity Map システムを肉腫研究用にカスタマイズした。オリジナルカスタム Connectivity Map データベースおよび Connectivity Map アルゴリズムを構築した。また、公共データベースのメタデータを取り込むシステムを構築した。

### 4. その他

特記事項なし