

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：標的タンパク質絶対定量情報を基盤とする悪性脳腫瘍の分子標的療法に関する臨床的特性の分子基盤解明
2. 研究開発代表者：立川 正憲（東北大学大学院薬学研究科）
3. 研究開発の成果

本研究は、質量分析装置を用いた標的タンパク質の高感度絶対定量法 (Quantitative targeted absolute proteomics, QTAP) によって決定される発現量プロファイルを基盤として、膠芽腫 (glioblastoma multiform, GBM) を中心とする悪性脳腫瘍の臨床特性の分子基盤を解明することを目的とした。本年度は、悪性脳腫瘍手術検体の収集を継続し、分子標的薬の薬効標的となるタンパク質の絶対発現量の一斉分析を実施した。GBM 組織 6 検体において、EGFR、PDGFR、IGFR、RET、c-kit などの治療標的となり得るタンパク質 14 種類の絶対発現量を決定した。その結果、EGFR はすべての検体において検出され、発現量は 120 倍の個人差が存在した。PDGFR β は 6 検体中 5 検体で定量値が算出された。その他、RET は 6 検体中 4 検体、c-kit は 6 検体中 1 検体で定量値が算出された。がん分子標的薬の多くはキナーゼ阻害剤であることから薬効標的分子全体の発現量だけでなく、活性本体となるリン酸化体の発現プロファイルが、薬効予測因子となる可能性が高い。そこで、分子標的薬の薬効標的となる epidermal growth factor receptor (EGFR) の複数のリン酸化部位に対する絶対定量系を構築するとともに、GBM 組織 6 検体を用いて EGFR リン酸化修飾体の絶対発現量を決定した。がん分子標的薬の一種である EGFR チロシンキナーゼ阻害剤の阻害標的となる EGFR の自己リン酸化修飾体は、EGFR 発現量が最も大きかった GBM 組織 1 検体で検出され、リン酸化部位 2 か所のリン酸化率が算出された。リン酸化修飾体を含めた標的タンパク質の絶対定量情報を取得し、検体間の差を解明することができた。標的絶対定量プロテオミクス (QTAP) で定量した薬効標的タンパク質で 1 fmol/ μ g protein 以上の発現が検出されず、治療標的候補を同定できないと考えられた GBM 組織 1 検体について、HAMMOC 法によるリン酸化ペプチドの濃縮と網羅的定量プロテオミクス (SWATH 法) を用いて、網羅的定量リン酸化プロテオミクス解析を実施した。細胞増殖に関連するタンパク質のリン酸化レベルが GBM 腫瘍部位で上昇していることが見出されたことから、リン酸化タンパク質の網羅的な定量プロファイルが、分子標的薬の選択基準として有用であることが示唆された。さらに、分子標的薬に対する感受性の異なる glioblastoma 細胞株及び悪性脳腫瘍 xenograft を用いて、薬効標的となる増殖因子受容体等のタンパク質の絶対発現量を一斉分析し、絶対発現量プロファイルに基づく分子標的薬の選択基準作成のための基盤を構築した。本研究結果から、リン酸化修飾体を含めた分子標的薬の薬効標的となるタンパク質の絶対発現量プロファイルに基づく、GBM 患者の層別化及び分子標的薬の選択基準作成の基盤構築の可能性が提示された。

4. その他