

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業

(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution

研究開発課題名： (日本語) タンパク発現シグネチャーに基づいた個別化治療を実現する肺がん化学療法
感受性予測と易罹患性予測検査法の確立

(英語) Development of molecular diagnosis of lung cancer based upon proteomic
signature

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学大学院医学系研究科分子腫瘍学分野
講師 柳澤 聖

所属 役職 氏名： (英語) Division of molecular carcinogenesis, Graduate School of Medicine, Associate
Professor, Kiyoshi Yanagisawa

実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 肺がん化学療法施行症例の血液試料と臨床情報の収集

開発課題名： (英語) Provision of blood samples and clinical information of lung cancer patients
who received chemotherapy

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学
准教授 近藤征史

所属 役職 氏名： (英語) Department of Pulmonology, Nagoya University Graduate School of
Medicine, Associate Professor, Masashi Kondo

分担研究 (日本語) 健常者及び肺がん症例の血液試料と臨床情報の収集、並びに同試料を
対象とした網羅的遺伝子多型解析の遂行

開発課題名： (英語) Analyses of SNPs of lung cancer patients and healthy subjects

研究開発分担者 (日本語) 愛知県がんセンター研究所疫学予防部 室長 伊藤秀美
所属 役職 氏名: (英語) Division of Epidemiology and Prevention, Aichi Cancer Center Research Institute,
Section Head, Hidemi Ito,

分担研究 (日本語) バイオインフォマティクス解析による、分子診断シグネチャーの同定
開発課題名: (英語) Bioinformatic analyses for construction of molecular diagnostic signatures

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学医学部附属病院
先端医療・臨床研究支援センター 病院助教 中朽昌弘
所属 役職 氏名: (英語) Center for advanced medicine and clinical research, Nagoya University Hospital,
Research Associate, Masahiro Nakatochi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

国内の肺癌死亡数は2013年に7.5万人以上、全世界では年間130万人にも上り、先進国のがん死因第一位を占めている。新規患者数は増加の一途をたどり、国内では、2020年には12万人を超えるとも予想されている。この30年間の医療技術の向上により、生存率の改善には一定の効果が認められているが、いまだ全症例の70%以上が死に至る、典型的な難治がんである。分子標的治療を含めた肺癌化学療法感受性群と耐性群の正確な判別は極めて困難であることから、治療開始前、或いは開始後早期の段階で非侵襲的に治療感受性を診断可能な新たな分子診断法が開発され、高い効果が期待される適切な治療法の選択が可能となれば、生存期間の延長や肉体的負担の軽減など、大きな恩恵がもたらされることが期待される。

本研究課題において、我々は、最先端の網羅的、定量的かつハイスループットな質量分析技術であるSWATH (sequential window acquisition of all theoretical fragment-ion spectra) 法を用いて、肺癌の生物学的活性に深く関連すると考えられ、病態診断マルチバイオマーカーの候補となり得る1,000種類にも及ぶタンパク分子の精密定量情報の取得を進め、新たな分子診断法を開発すべく研究を推進した。

非扁平上皮肺癌を対象とする標準的治療法の一つであるカルボプラチンとペメトレキセド (CBDCA+PEM) 治療を受けた症例の集積を、名古屋大学医学部附属病院呼吸器内科とその関連病院を中心として、中部先進医療開発円環コンソーシアムに参画する藤田保健衛生大学・愛知県がんセンターなどの施設との協力体制を構築して進めた。平成28年12月末までに研究開発計画通り、350例の登録を完了し、基盤臨床情報の評価を進めるとともに、当該症例より供与された血液試料の集積を行った。当該治療の感受性予測法の開発を目指して、全登録症例より250例を教師群として選択し、プロテオミクス技術を用いたSWATH法により、肺癌の早期再発危険性との関連性が強く示唆される標的タンパク質約800種類を対象とする解析を遂行した。取得した解析情報に基づいたインフォマティクス解析を遂行し、当該症例における標的タンパク発現情報の抽出を完了した。各症例の治療反応性について、複数名の委員からなる効果判定会を設立し、ガイドライン Response Evaluation Criteria in

Solid Tumors (RECIST) に基づいた客観性のある判定を進め、約 230 症例について評価を完了した。

これまでの評価結果からは、治療効果あり群（完全奏功＋部分奏功）の割合が全体の約 25%、治療効果なし群（進行）の割合が全体の約 15% となっている。以上のように取得されたタンパク発現情報と治療感受性情報とを統合解析することにより、化学療法感受性診断シグネチャーの同定を遂行中である。

さらには、正常肺組織と比較して肺癌組織中における発現量の有意な変動が認められ、肺癌発症への機能的寄与が示唆されるタンパク約 1,000 種類を対象として、SWATH 法を用いたプロテオミクス解析を施行し、肺癌発症危険性と関連するタンパク群の探索を遂行した。

Lung cancer is the leading cause of cancer deaths in Japan with loss of more than 75,000 lives annually, also claiming a great number of lives as the number one cause of cancer death in the United States as well as in many other economically developed countries. Little improvement has been accomplished in the determination of response to chemotherapies at the time of treatment, thus we still make decision of clinical treatment of NSCLC patients relying upon conventional pathological and serological examinations and this strategy is not sufficient to reduce subsequent mortality.

Rapid progress in technology of proteomics has made it possible to analyze protein expression profiles using biological materials to search for molecular markers in human cancers. Especially, proteomic approaches of SWATH (sequential window acquisition of all theoretical fragment-ion spectra) based upon use of mass spectrometry can be used to obtain hundreds of protein expression in clinical specimens, which is helpful to improve understanding of the molecular complexities of human diseases, possibly leading to detection of diagnostic as well as predictive protein expression patterns that reflect clinical feature.

350 non-squamous lung cancer patients who received CBDCA+PEM were registered, and clinical information and blood samples were obtained from them. Proteomic analyses with SWATH method were conducted using selected 250 blood specimens and expression profiles were obtained from these results. Clinical responses were evaluated based upon RECIST guideline and approximately 25% of enrolled patients showed complete or partial response and 15% of them showed progressive disease. We have combined both proteomic and clinical information and are exploring molecular signature that predicts response to CBDCA+PEM.

We further conducted proteomic analyses with SWATH method targeting approximately 1,000 proteins, which are differentially expressed in non-small cell lung cancer compared with normal lung, to explore predictor of risk of lung cancer initiation.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 4 件）

1. Tai MC, Kajino T, Nakatochi M, Arima C, Shimada Y, Suzuki M, Miyoshi H, Yatabe Y, Yanagisawa K, Takahashi T. miR-342-3p regulates MYC transcriptional activity via direct repression of E2F1 in human lung cancer. **Carcinogenesis** 2015, 36, 1464-73. doi: 10.1093/carcin/bgv152. Epub 2015 Oct 18.
2. Yamaguchi T, Lu C, Ida L, Yanagisawa K, Usukura J, Cheng J, Hotta N, Shimada Y, Isomura H, Suzuki M, Fujimoto T, Takahashi T. ROR1 sustains caveolae and survival signaling as a scaffold of cavin-1 and caveolin-1. **Nature Communications**, 2016 Jan 4;7:10060. doi: 10.1038/ncomms10060.
3. Suzuki, M, Cao K, Kato S, Komizu Y, Mizutani N, Tanaka K, Arima C, Chee TM, Yanagisawa K, Tagawa N, Shiraishi T, Usami N, Taniguchi T, Fukui T, Yokoi K, Wakahara K, Hasegawa Y, Mizutani Y, Igarashi Y, Inokuchi J, Iwaki S, Fujii S, Satou A, Matsumoto Y, Ueoka R, Tamiya-Koizumi K, Murate T, Nakamura M, Kyogashima M, Takahashi T. Targeting CERS6-dependent metastasis-prone phenotype in lung cancer cells. **Journal of Clinical Investigation**, 2016 126, 254-65. doi: 10.1172/JCI79775. Epub 2015 Dec 7.
4. Tai MC, Yanagisawa K, Nakatochi M, Hotta N, Hosono Y, Kawaguchi K, Naito M, Taniguchi H, Wakai K, Yokoi K, Takahashi T. Blood-borne miRNA profile-based diagnostic classifier for lung adenocarcinoma. **Scientific Reports**, 2016 6, 31389. doi: 10.1038/srep31389.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. プロテオミクス解析のがん研究への応用（口頭）柳澤 聖，第 7 回 Japan Mesothelioma Interest Group 研究会，平成 28 年 9 月 3 日，国内
2. Proteomic identification of potential biomarkers of thoracic tumors. (Workshop) Yanagisawa K, Fourth Annual US Japan Workshop on Cancer Biomarkers in Collaboration with NCI Early Detection Research Network、平成 29 年 3 月 6 日，海外（アメリカ）

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし