

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) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業

戦略的国際科学技術協力推進事業 (SICP)

(英語) International Collaborative Research Program

Strategic International Research Cooperative Program (SICP)

研究開発課題名：(日本語) ゲノミクス・バイオインフォマティクスを活用した難治性卵巣癌細胞システムの理解と治療候補薬の探索

(英語) Genomics, bioinformatics and systems medicine to facilitate therapy of ovarian cancer

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授 稲澤譲治

所属 役職 氏名：(英語) Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Johji Inazawa

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

オリ・カリオニーミ教授 (ヘルシンキ大学 Institute for Molecular Medicine Finland 所長) らのグループとともに、日本とフィンランド双方のバイオバンクが保有する卵巣癌バイオリソース並びに各種オミックス解析、バイオアッセイシステムなどのインフラを適正な倫理的配慮のもと相互に活用して、薬剤感受性試験、ゲノム構造異常・機能解析、メタボローム解析などのオミックス情報をもとに難治性卵巣癌の precision medicine 推進のための基盤構築を試みた。さらに婦人科癌バイオバンク事業の国際連携をもとに治療戦略に実装することを目的とし研究開発を行い、下記の成果を得た。

① 婦人科癌細胞の薬剤感受性試験

卵巣癌由来樹立細胞を対象に、Institute for Molecular Medicine Finland (FIMM) の有するハイスループットな薬剤ライブラリーとバイオアッセイシステムを用いて、薬剤感受性試験 (Drug sensitivity and resistance testing: DSRT) を施行した。さらに卵巣癌腫瘍組織や腹水中の癌細胞より primary culture を行い、*ex vivo* 薬剤感受性試験および卵巣癌オミックス解析に供した。

② 卵巣癌ゲノム解析

卵巣癌の凍結組織由来ゲノム DNA および同一症例の末梢血単核球由来ゲノム DNA のペア検体を対象に、ゲノムプロファイルを検出した。これらデータは今後、日本-フィンランドの卵巣癌バイオバンク試料を用いた validation 研究に供される。

③ オートファジーを中心とした卵巣癌機能解析

オートファジー基質であり発癌シグナルのハブとしても注目されている p62 に注目した卵巣癌細胞の機能解析および臨床病理学的因子との病態関連性を解析した。

④ バイオインフォマティクスを活用した難治性卵巣癌細胞システムの理解と治療候補薬の探索

①-③のデータをもとに、卵巣癌特異的な代謝産物やゲノムプロファイルを統合的に解釈し、パスウェイ解析ツールやデータベース解析を通じて標的候補として選出された分子に対して臨床薬理学的な評価やドラッグ・リポジショニング(DR)の可能性を追究した。また卵巣癌細胞株パネルを用いた既知代謝拮抗薬の感受性試験や各種アミノ酸の増殖依存性試験から、卵巣癌の悪性化とともに細胞内で起こる本質的な分子変化の理解を試みた。

⑤ 卵巣癌メタボローム解析

抗癌剤感受性・再発等の臨床病理学因子を指標に卵巣癌組織をターゲットにした網羅的代謝物解析(メタボローム解析)を行い、難治性卵巣癌に特異的なグルタミン代謝経路を特定し、治療候補薬の絞り込みを行った。

⑥ 婦人科癌バイオバンク事業の国際連携

相手国のフィンランドはバイオバンクに関する法制化がされており、住民登録制度のもとで医療データとバイオバンクが国家プロジェクトとしてリンクされている。フィンランドの複数のバイオバンクを訪問し、本邦で応用可能な社会システムの検討と国際共同研究の打ち合わせを行った。

Our Japanese-Finnish collaboration groups have established systems medicine for ovarian cancer (OVCA). This is a very timely approach since cancer treatments are undergoing a major transition from the “one drug fits all” concept to precision medicine. Our aim is to establish precision medicine for refractory OVCA based on the omics information regarding drug sensitivity and resistance testing (DSRT), genomic alterations, functional analysis, and metabolomics. Both groups cooperate with international collaborations based on their gynecological biobank project. In the fiscal year of 2016, remarkable research-findings have been obtained as follows:

① Drug sensitivity and resistance testing (DSRT)

Primary cultures of tumor tissues or ascites isolated from patients with OVCA were prepared. DSRT was evaluated in the primary cultured cells using a high-throughput drug library and bioassay system of the Institute for Molecular Medicine Finland (FIMM).

② Genomic analysis

The genomic profiles of OVCA cells were analyzed. After identification of the genomic alterations, validation analysis was performed using the Japan-side biobank samples.

③ Functional analysis

The Japanese group performed a functional analysis that focused on p62 as an autophagy pathway.

④ Metabolomics

A metabolomics analysis was performed on OVCA cells to determine their *in vitro* susceptibility to anticancer agents, and investigated glutamine metabolism in refractory OVCA.

⑤ Bioinformatics approach to identify candidate drugs

Based on the results of ①-④, we set up a systems medicine strategy for treatment of OVCA through a bioinformatics approach as follows. We first, i) combined genomics with multiple fields to study OVCA subtypes, and bioinformatically integrated the data to understand the mechanisms of tumor drivers and vulnerability, and next, ii) compared tumor genomics with the data obtained from direct testing of the drug sensitivity in OVCA cell lines and *ex vivo* primary OVCA cells, and finally, iii) developed predictive models of drug responsiveness for individual patients with OVCA in a translational/personalized medicine setting.

⑥ Bilateral collaboration with the gynecological Biobank Project

After the start of “biobank law” in Finland, medical data and biobank samples have been linked as a national project under the personal registration system. Both groups are starting international collaborative researches using these biobanks.

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 1件、国際誌5件）

1. Mpindi JP, Yadav B, Östling P, Gautam P, Malani D, Murumägi A, Hirasawa A, Kangaspeška S, Wennerberg K, Kallioniemi O, Aittokallio T. Consistency in drug response profiling. *Nature*. 2016, 540(7631):e5-6.
2. 平沢 晃, 青木大輔. バイオリソースを用いた研究基盤整備に関する国内外の動き；婦人科癌治療の基軸. *産科と婦人科*. 2016, 83(1): 13-19.
3. Nuylan M, Kawano T, Inazawa J, Inoue J: Down-regulation of LAPTM5 in human cancer cells. *Oncotarget*. 2016, 7, 28320-8.
4. Okada Y, Muramatsu T, Suita N, Kanai M, Kawakami E, Iotchkova V, Soranzo N, Inazawa J, Tanaka T: Significant impact of miRNA-target gene networks on genetics of human complex traits. *Sci Rep*. 2016, 6, 22223.
5. Morishita M, Muramatsu T, Suto Y, Hirai M, Konishi T, Hayashi S, Shigemizu D, Tsunoda T, Moriyama K, Inazawa J: Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system. *Oncotarget*. 2016, 7, 10182-92.
6. Komura D, Isagawa T, Kishi K, Suzuki R, Sato R, Tanaka M, Katoh H, Yamamoto S, Tatsuno K, Fukayama M, Aburatani H, Ishikawa S: CASTIN: A system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome *BMC Genomics*. *BMC Genomics*. 2016 Nov 9;17(1):899.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Inoue J, Fujiwara N, Yamamoto S, Kawano T, Inazawa J: MicroRNA-based diagnosis and therapy

- in NRF2-stabilized tumor. AACR New Orleans, USA. 2016/4/18, ポスター, 国外
2. Muramatsu T, Tanimoto K, Inazawa J: Exploring target genes of eukaryotic initiation factor 5A in cancer using RNA sequence analysis. AACR2016 Annual Meeting New Orleans, USA. 2016/4/18, ポスター, 国外
 3. Inazawa J: Autophagy, p62-NRF2-Keap1-ARE Pathway and Micro RNAs in Ovarian Cancer. The 4th Annual Meeting of the International Ovarian Cancer Consortium on Tumor Microenvironment and Drug Discovery. Seoul, Korea. 2017/2/23-25, 口頭, 国外
 4. Inazawa J: Identification of Novel Tumor-suppressor Micro-RNAs and Their Application for Cancer Diagnosis and Therapeutics. Third Annual Meeting of the International Ovarian Cancer Consortium in conjunction with International Symposium on Tumor Microenvironment and Therapy Resistance. Oklahoma City, USA. 2016/8/28-30, 口頭, 国外
 5. Hirasawa A, Akahane T, Masuda K, Ninomiya T, Yamagami W, Nomura H, Kataoka F, Banno k, Susumu N, Aoki D. Profiling of epithelial ovarian cancer as BRCAness status with MLPA method. The sixth International Symposium on Hereditary Breast and Ovarian Cancer. Montréal, Canada 2016/5/10-13, 口頭, 国外
 6. 津田 均, 神藤 英二, 上野 秀樹, 長谷 和生, 宮本 守員, 高野 政志, 古谷 健一, 島崎 英幸, 中西 邦昭. 蛍光ナノ粒子を用いた EGFR、CTLA-4 蛋白質定量の治療効果予測バイオマーカーとしての応用可能性の検討. 第 105 回日本病理学会総会、平成 28 年 5 月 12 日～14 日、紙上(本人療養中であつたため紙上のみ)、国内
 7. 河村大輔, 砂河孝行, 鈴木良平, 貴志一樹, 佐藤玲子, 加藤洋人, 田中麻里子, 山本尚吾, 深山正久, 油谷浩幸, 石川俊平. 腫瘍-間質相互作用解析システム. 第 75 回日本癌学会学術総会 2016. 10. 06, ポスター, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 稲澤譲治: がん細胞におけるアミノ酸欠乏時細胞文脈応答とオートファジー機能. 千里ライフサイエンス新適塾・「難病への挑戦」第 26 回会合. 千里ライフサイエンスセンタービル. 大阪. 2016 年 5 月 9 日、国内
2. 稲澤譲治: がん細胞におけるアミノ酸欠乏時細胞文脈応答とオートファジー機能. がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動. 公開シンポジウム. 一橋講堂. 東京. 2016 年 2 月 9 日、国内

(4) 特許出願

なし