

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) ゲノム医療実用化推進研究事業  
(英語) Program for Promoting Practical Applications of Genomic Medicine
- 研究開発課題名： (日本語) HER2陽性乳癌に対する手術省略を目指したバイオマーカー開発研究  
(英語) Exploring biomarker research aiming at avoiding unnecessary surgical treatment for HER2 positive early breast cancer.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター東病院 乳腺・腫瘍内科  
医長 向井 博文
- 所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Hospital East, Department of Breast and  
Medical Oncology, Head, Hirofumi Mukai
- 実施期間： 平成28年 9月 20日 ～ 平成29年 3月 31日
- 分担研究 (日本語) *HER2*陽性乳癌における *HSD17B4*メチル化の有用性評価試験 (PII試験)  
の実施
- 開発課題名： (英語) HER2-positive breast cancer phase II study whether *HSD17B4*  
methylation predicts treatment efficacy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター東病院 乳腺・腫瘍内科 医長 向井 博文
- 所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Hospital East, Chief, Division of Breast  
and Medical Oncology.
- 分担研究 (日本語) *HSD17B4*メチル化の診断キット化
- 開発課題名： (英語) Development of a diagnostic kit using *HSD17B4* methylation
- 研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 分野長 牛島 俊  
和
- 所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Research Institute, Division of Epigenomics,

chief, Toshikazu Ushijima

分担研究 (日本語) HER2 陽性乳癌に対する術前放射線療法における治療戦略研究  
開発課題名: (英語) Research of treatment strategy in preoperative radiotherapy for  
HER2 positive early breast cancer  
研究開発分担者 (日本語) 滋賀県立成人病センター放射線治療科 科長 山内 智香子  
所属 役職 氏名: (英語) Shiga Medical Center for Adults Department of Radiation Oncology,  
Chief, Chikako Yamauchi

分担研究 (日本語) HER2 陽性乳癌における HSD17B4 メチル化の有用性評価試験 (PII 試験)  
の実施と薬物療法のクオリティコントロール  
開発課題名: (英語) Quality control of HER2-positive breast cancer phase II study whether  
*HSD17B4* methylation predicts treatment efficacy.  
研究開発分担者 (日本語) 北海道がんセンター 乳腺外科 統括診療部長 高橋 将人  
所属 役職 氏名: (英語) NHO Hokkaido Cancer Center, Department of Breast Surgery,  
Vice President, Masato Takahashi

分担研究 (日本語) HER2 陽性乳癌における HSD17B4 メチル化の有用性評価試験 (PII 試験)  
の実施と薬物療法のクオリティコントロール  
開発課題名: (英語) Quality control of HER2-positive breast cancer phase II study whether  
*HSD17B4* methylation predicts treatment efficacy.  
研究開発分担者 (日本語) 四国がんセンター 乳腺科・化学療法科 医師 原文 文堅  
所属 役職 氏名: (英語) National hospital organization Shikoku Cancer Center,  
Department of Breast Oncology, Fumikata Hara

分担研究 (日本語) HER2 陽性乳癌に対する手術省略を目指したバイオマーカー開発研究  
(事務局担当)  
開発課題名: (英語) Exploring biomarker research aiming at establishing surgery-free  
treatment for HER2 positive early breast cancer.  
研究開発分担者 (日本語) 武蔵野赤十字病院 腫瘍内科 常勤医師 山口 雄  
所属 役職 氏名: (英語) Japanese Red Cross Musashino Hospital, Department of Oncology,  
Takeshi Yamaguchi

## II. 成果の概要（総括研究報告）

- (1) 研究開発分担者（日本語） 国立がん研究センター東病院 乳腺・腫瘍内科 医長 向井 博文  
研究プロトコールの完成、施設 IRB への提出、研究体制の構築完了（各種契約締結作業含む）
- (2) 研究開発分担者（日本語） 国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 分野長 牛島俊和  
臨床検体中の癌細胞含有量測定、臨床検査会社への技術導出、HSD17B4 メチル化の感受性メカニズムの解析
- (3) 研究開発分担者（日本語） 滋賀県立成人病センター 放射線治療科 科長 山内 智香子  
研究プロトコールの完成、施設 IRB への提出
- (4) 研究開発分担者（日本語） 北海道がんセンター 乳腺外科 統括診療部長 高橋 将人  
研究プロトコールの完成、施設 IRB への提出
- (5) 研究開発分担者（日本語） 四国がんセンター 乳腺科・化学療法科 医師 原 文堅  
研究プロトコールの完成、施設 IRB への提出
- (6) 研究開発分担者（日本語） 武蔵野赤十字病院 腫瘍内科 常勤医師 山口 雄  
研究プロトコールの完成、施設 IRB への提出

全体としての成果、進捗状況については以下の通りである。

### 1. 臨床試験の実施

当初の計画では *HSD17B4* メチル化陽性症例のみを臨床試験の登録対象としていたが、*HSD17B4* メチル化陰性症例での効果についても評価するべき（両方で比較が可能なため）と考え、必要症例数を 90 例から 200 例とした。現在、国立がん研究センター東病院の倫理委員会でプロトコールの審査中である。

### 2. 臨床検体中の癌細胞含有量測定

*HSD17B4* メチル化マーカーの臨床検査導入のためには、癌細胞含有率を用いて検体全体で得られたメチル化レベルを補正する必要がある。H28 年度は、DNA メチル化を利用した癌細胞含有率測定に用いる候補ゲノム領域の同定を進めた。HER2 陽性乳癌組織、乳癌細胞株で高頻度にメチル化、非癌部乳腺組織、末梢血で全くメチル化してないゲノム領域を HumanMethylation450 を用いて探索し、13 個の遺伝子領域を同定した。このうち遺伝子 C のメチル化レベルは、病理診断による癌細胞含有率算出結果とよい相関 ( $R = 0.6$ ) を示し、癌細胞含有率測定に有用と考えられた。

### 3. 臨床検査会社への技術導出

臨床検査会社におけるメチル化測定系の確立に向けて、H28 年度は、*HSD17B4* メチル化測定法に関する情報を株式会社エスアールエルに提供し技術導出を開始した。

4. *HSD17B4* メチル化の感受性メカニズムの解析

H28年度は、*HSD17B4* マーカー領域がメチル化された乳癌細胞株 BT20 に脱メチル化剤を投与、*HSD17B4* の発現が回復することを示し、メチル化が *HSD17B4* のサイレンシングに寄与することを明らかにした。*HSD17B4* 発現を変動させることにより感受性の分子機構を明らかにするために、乳癌細胞株 BT474 に siRNA を導入して *HSD17B4* をノックダウンした。しかし通常の培養条件では *HSD17B4* 発現の有無でトラスツズマブ感受性の差は認められなかった。*HSD17B4* がその代謝に関わるとされるエストロゲンの濃度を調節することで感受性の差が認められる条件の特定を進める。

1. Total sample size was amended from 90 to 200 because patients with *HSD17B4* methylation negative should be also enrolled for the precise comparison. Research protocol has been submitted to institutional review board of National Cancer Center Hospital East and now under consideration.

2. Development of cancer cell content marker

To use *HSD17B4* methylation as a clinical biomarker, we have to normalize the cancer cell content in the clinical specimens analyzed. In 2016, we screened genomic regions methylated in breast cancer cells, but not in normal mammary cells or blood cells using HumanMethylation450 microarray, and isolated 13 genomic regions. Among these, the methylation level of gene C correlated well with the pathological cancer cell content (R=0.6).

3. Technology transfer to a diagnostic company

To commercialize the diagnostic method, we transferred technical information on *HSD17B4* methylation analysis to SRL, Inc.

4. Biological basis for the *HSD17B4* methylation in trastuzumab sensitivity

In 2016, we confirmed that methylation of *HSD17B4* promoter silences its expression by observing its re-expression after treatment of the BT20 breast cancer cell line with its methylation. We successfully knocked down *HSD17B4* expression in the BT474 breast cancer cell line. However, in normal culture conditions, we were unable to observe differential sensitivity to trastuzumab with and without *HSD17B4* expression. We are thus now trying different conditions by carefully controlling E2 concentration, whose metabolism *HSD17B4* expression is involved in.

### 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 1 件）

1. Fujii S, Yamashita S, Yamaguchi T, Takahashi M, Hozumi Y, Ushijima T, Mukai H. Pathological complete response of HER2-positive breast cancer to trastuzumab and chemotherapy can be predicted by *HSD17B4* methylation. *Oncotarget*. 2017, 8(12), 19039-19048.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Poster, USA, Takahashi M, Nishiyama Y, Hara F, Naito Y, Baba M, Sasaki M, Sato M, Watanabe K, Uemura Y, Yamaguchi T, Mukai H, A Randomized Phase II Study of ki67 Response Guided Preoperative Chemotherapy for HER2 Positive Breast Cancer, San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, USA, Dec. 9, 2016

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 無
- 2.

(4) 特許出願