

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08602

研究課題名(和文)メタボローム解析を用いた乳癌化学療法の効果予測法の確立

研究課題名(英文)Identification of potential serum biomarkers for the prediction of chemotherapy effect in breast cancer patients

研究代表者

神野 浩光 (Jinno, Hiromitsu)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：20216261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：術前化学療法を施行したstage I-IIIの乳癌患者66症例から化学療法施行前および施行後2週間目の血清を採取し、網羅的メタボローム解析を施行した。サブタイプ分類としてはluminal 16症例、HER2 33症例、triple negative 17症例が含まれている。術前化学療法の治療効果としては30例に病理学的完全奏効 pCRを認めた。pCR群とnon-pCR群の施行前血性のメタボローム解析を比較したところ、3-Indoxylsulfateがnon-pCR群において有意に高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタボローム解析によって得られた効果予測マーカーを臨床情報と合わせて解析することにより、定量的かつ客観的な指標で癌を特徴化することができれば、化学療法の個別化や、さらには予後予測などへの活用も期待できる。医療の標準化で陥りやすい過剰医療を防ぎ、個別医療化に向けたマーカーを同時に探す研究例は、学術的な成果だけでなく、医療経済的なインパクトが高い。

研究成果の概要(英文)：We conducted comprehensive metabolite analysis of serum samples obtained from 66 breast cancer patients who had neoadjuvant chemotherapy, using capillary electrophoresis time-of-flight-mass spectrometry (CE-TOF-MS). 16 luminal, 33 HER2, and 17 triple negative breast cancer were included. Pathological complete response (pCR) was found in 30 cases. One metabolite, 3-Indoxylsulfate was tended to be lower concentrations in pCR patients compared with non-pCR patients.

研究分野：乳がん患者におけるメタボローム解析

キーワード：乳癌 血液 診断 メタボローム マルチオミックス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

乳癌は女性における罹患率第1位の癌であるが、手術、化学療法、内分泌療法および分子標的療法を含む集学的治療により治癒する確率が高い。内分泌療法においては腫瘍におけるエストロゲンレセプター発現が効果予測因子として確立しており、分子標的療法においては腫瘍のHER2発現により症例の選別が可能となっている。しかし、化学療法においては腫瘍、血中いずれにおいても有用な効果予測因子が存在せず、またその奏効率も40%程度であるため多くの患者は無効な治療を受けるのみならず、さらにその有害事象にてQOLが著しく低下することになる。つまり、化学療法における新規開発技術を用いた効果予測方法の確立が急務となっている。近年、代謝物を網羅的に解析するメタボローム解析技術を利用し、乳がんの代謝経路を解析して化学療法の効果を予測する研究が多く報告されている。培養細胞や血清中の代謝物パターンから化学療法の効果予測が可能であり(Maria et al, J Pharma Biol Anal, 2017, Wei et al., Mol Oncol, 2013)、mTOR阻害剤による応答性の違いはそのシグナル経路の下流である解糖系やグルタミン酸経路の代謝の違いと関連していた(Eucedo et al, J Proteome Res, 2017)。また、MYC過剰発現のtriple negative乳癌におけるエネルギー代謝への影響として脂質酸化が重要である(Camarda et al, Nat Med, 2016)ことなどの観測研究から治療ターゲット探索の研究もおこなわれている。申請者らも、代謝物のノンターゲット解析(狙いを定めず網羅的に測定する方法)にて血清や唾液から約500の代謝産物を定量した。ポリアミン類経路やヒスチジン代謝経路の物質など、これまで上記のような報告に含まれていない経路の物質も乳癌患者で特異的に高いことを発見してきた。これらの研究より「学術的な問い」として(1)既存の代謝を網羅的に測定するメタボローム解析は1つの方法で全てを解析できていないために見逃している経路がまだ多数ある。(2)多くの観測データがあっても従来のデータ解析ではごく一部の物質に注目することしかできず、大部分を活用しきれていない。そこで、分析技術的だけでなく特に情報技術的に積極的に新しい解析技術を導入し個人ごとの代謝の状態を多面的に評価できる指標を開発することで、より高精度な化学療法の効果予測が可能となる。そこで本研究では、これらの課題に取り組み、革新的な「メタボローム解析を用いた乳癌化学療法の効果予測法の確立」を目指す。

### 2. 研究の目的

メタボロームは代謝物と呼ばれる低分子を網羅的に測定するが他のオミックス技術と異なりまだ技術的に不十分な点がある。単一方法では一部の化学的な特徴が似ている分子群しか測定できず、網羅性には制約がある。また、微量な物質を検出する種も感度も改善の余地がある。そこで、本研究ではまず網羅性と感度を最大限向上させ(サンプル処理及び測定メソッドを対象とする)臨床検体の取り扱いの規格化とともに更に定量値の再現性の高い状態でその後の解析ができるようなデータの正規化方法の開発・評価を行う。またデータを単なる多変量解析やパスウェイ解析ではなく、人工知能の機械学習を用いて多次元データをできるだけそのまま利用して奏効性の予測モデルを開発する。これは、臨床・分析科学・情報工学が融合して初めて達成できる独創性と創造性の高い研究である。

### 3. 研究の方法

本研究では、以下の2点を到達目標としている。

1. 術前化学療法を施行する乳癌患者における癌組織のマルチ・オミックス(トランスク

リプトーム+メタボローム) および血液のメタボローム解析により、効果予測の候補となるマーカー群を同定する。

2. 化学療法前の臨床情報と1の情報を組み合わせ、化学療法の効果予測法を行う数理モデルを開発する。また、これを期間中に評価試験も行う。

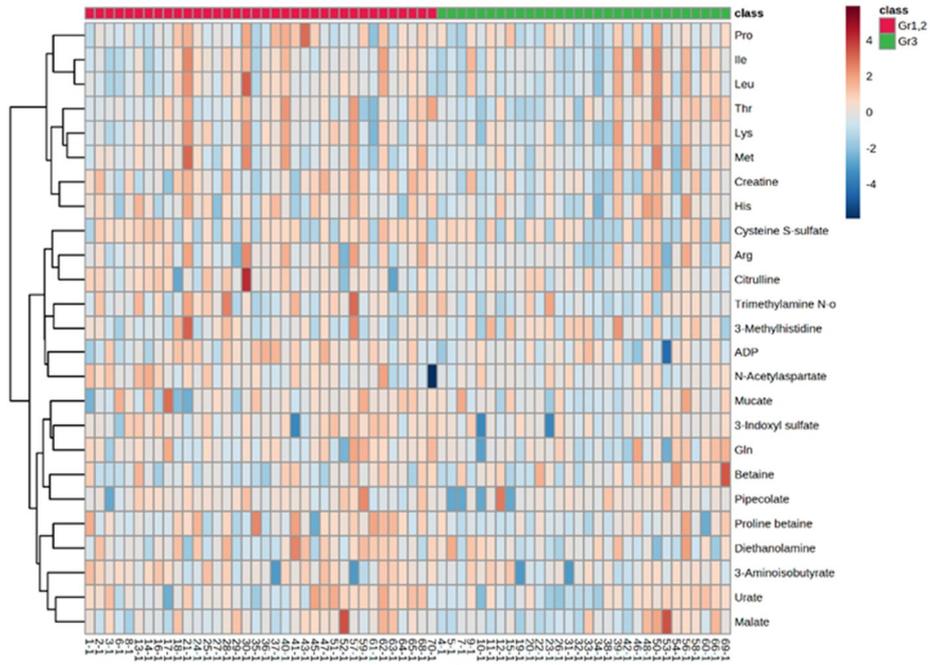
乳癌患者から血液を採取し、腫瘍組織は針生検検体を用いる。血液と腫瘍との代謝プロファイルと比較検討するとともに、患者から得られた臨床情報と代謝プロフィールとの関連性を解析し、病期および腫瘍のバイオロジーに特徴的な代謝物質マーカーを同定する。術前化学療法の奏効群と非奏効群における代謝プロファイルを比較することにより、化学療法の効果予測可能な物群を絞り込む。また、癌組織のマイクロアレイ解析を行い、得られた効果予測マーカーを誘導する遺伝子を解析し、そのメカニズムを解明する。同時に化学療法前の臨床情報も収集し、これら他分野のデータを統合解析し、人工知能の機械学習を用いて予測数理モデルを開発する。

書面にて同意を得た後に、対象患者の血液と針生検組織を採取する。連結可能匿名化を行い、約50例の術前化学療法症例の解析終了後にその結果と各症例の術前化学療法の効果を含む臨床データを比較解析する。測定前にメタボロームは測定方法の最適化を行う。数理モデルにはリンパ転移を高精度に予測できた手法(Sugimoto et al, Int J Biol Markers, 2014)を用いて、お互いに相関する多数の変数も多重共線性を気にせず高精度に予測できる方法を用いる。途中で各データの解析結果にてその精度検証やモデルの適応可能症例の解析を行い、その後の評価試験の設計を柔軟に変更する。評価試験の段階では段階的にデータの取得と解析を繰り返す。研究組織で直接打ち合わせを高頻度に行い、進捗状況の情報共有をしながら進める。

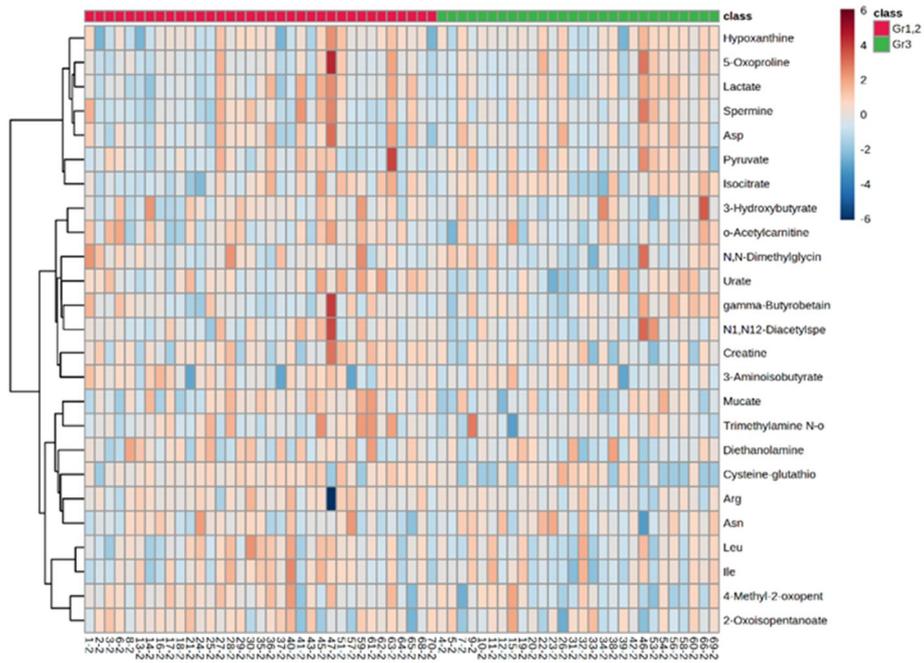
#### 4. 研究成果

前化学療法を施行した stage I-III の乳癌患者 66 症例から化学療法施行前および施行後 2 週間目の血清を採取し、網羅的メタボローム解析を施行した。サブタイプ分類としては luminal 16 症例、HER2 33 症例、triple negative 17 症例が含まれている。術前化学療法の治療効果としては 30 例に病理学的完全奏効 pCR を認めた。pCR 群と non-pCR 群の施行前血性のメタボローム解析を比較したところ、3-Indoxylsulfate が non-pCR 群において有意に高値であった(図1)。施行後 2 週間目の血清では、Cysteine-glutathionedisulphide と Creatine が non-pCR 群において有意に高値であった(図2)。また、サブタイプによりベースラインが明らかに異なることが判明したため、今後はサブタイプごとの pCR 予測モデルを検討する予定である。

図 1.



2.



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 1.Ogiya R, Niikura N, Kumamaru H, Takeuchi Y, Okamura T, Kinoshita T, Aogi K, Anan K, Iijima K, Ishida T, Iwamoto T, Kawai M, Kojima Y, Sakatani T, Sagara Y, Hayashi N, Masuoka H, Yoshida M, Miyata H, Tsuda H, Imoto S, Jinno H.	4. 巻 184
2. 論文標題 Breast cancer survival among Japanese individuals and US residents of Japanese and other origins: a comparative registry-based study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breast cancer research and treatment	6. 最初と最後の頁 585-596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10549-020-05869-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kubo Makoto, Kawai Masaaki, Kumamaru Hiraku, Miyata Hiroaki, Tamura Kenji, Yoshida Masayuki, Ogo Etsuyo, Nagahashi Masayuki, Asaga Sota, Kojima Yasuyuki, Kadoya Takayuki, Aogi Kenjiro, Niikura Naoki, Miyashita Minoru, Iijima Kotaro, Hayashi Naoki, Yamamoto Yutaka, Imoto Shigeru, Jinno Hiromitsu	4. 巻 178
2. 論文標題 A population-based recurrence risk management study of patients with pT1 node-negative HER2+?breast cancer: a National Clinical Database study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Breast Cancer Research and Treatment	6. 最初と最後の頁 647 ~ 656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10549-019-05413-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita Takayuki, Nakayama Takahiro, Fukuma Eisuke, Inokuchi Masafumi, Ishiguro Hiroshi, Ogo Etsuyo, Kikuchi Mari, Jinno Hiromitsu, Yamazaki Naoya, Toi Masakazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Efficacy of Scalp Cooling in Preventing and Recovering From Chemotherapy-Induced Alopecia in Breast Cancer Patients: The HOPE Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2019.00733	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Murata Takeshi, Yanagisawa Takako, Kurihara Toshiaki, Kaneko Miku, Ota Sana, Enomoto Ayame, Tomita Masaru, Sugimoto Masahiro, Sunamura Makoto, Hayashida Tetsu, Kitagawa Yuko, Jinno Hiromitsu	4. 巻 177
2. 論文標題 Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Breast Cancer Research and Treatment	6. 最初と最後の頁 591 ~ 601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10549-019-05330-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seki Hirohito, Sakurai Takashi, Mizuno Shodai, Tokuda Toshiki, Kaburagi Takuji, Seki Minako, Karahashi Tsuyoshi, Nakajima Kenichiro, Shimizu Ken, Jinno Hiromitsu	4. 巻 26
2. 論文標題 A novel nipple?areola complex involvement predictive index for indicating nipple-sparing mastectomy in breast cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Breast Cancer	6. 最初と最後の頁 808 ~ 816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12282-019-00987-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurihara Toshiaki, Matsuda Sachiko, Nakamura Yuki, Suzuki Shunichi, Fuchimoto Daiichiro, Onishi Akira, Saeki Kohei, Nakagawa Takayuki, Fujiwara Reina, Kamata Masatoshi, Kuramoto Junko, Kameyama Kaori, Sekino Masaki, Kusakabe Moriaki, Hayashida Tetsu, Jinno Hiromitsu, Kitagawa Yuko	4. 巻 9
2. 論文標題 Establishment of a model of sentinel lymph node metastasis using immunodeficient swine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-44171-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 村田 健, 柳澤 貴子, 栗原 俊明, 杉本 昌弘, 砂村 眞琴, 林田 哲, 神野 浩光, 北川 雄光
2. 発表標題 人工知能を用いた唾液メタボローム解析による乳癌スクリーニング
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akiko Matsumoto, Saki Naruse, Yuka Sugihara, Miki Yamada, Daisuke Tsukahara, Yasuko Uemoto, Hiromitsu Jinno.
2. 発表標題 Predicting Axillary Pathologic response to Neoadjuvant Chemotherapy for Node-Positive Breast Cancer: Clinical predictive model by Using MRI and Ultrasound.
3. 学会等名 San Antonio Breast Cancer Symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1 . 発表者名 Akiko Matsumoto, Ayana Sato, Miki Yamada, Yasuko Umemoto, Daisuke Tsukahara, Hiromitsu Jinno.
2 . 発表標題 Omission of Axillary Dissection after Neoadjuvant Chemotherapy for Node-Positive Primary Breast Cancer.
3 . 学会等名 European Breast Cancer Conference (EBCC 12) (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 A. Matsumoto, Y. Umemoto, D Tsukahara, H. Jinno .
2 . 発表標題 Validity of omission of axillary lymph node dissection after neoadjuvant chemotherapy for node-positive primary breast cancer.
3 . 学会等名 San Antonio Breast Cancer Symposium 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 A. Matsumoto, Y. Umemoto, H. Jinno .
2 . 発表標題 Validity and Safety of Omission of Axillary Lymph Node Dissection after Neoadjuvant Chemotherapy for Node-Positive Primary Breast Cancer.
3 . 学会等名 ACS Clinical Congress 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 129.T Murata, T Yanagisawa, T Kurihara, M Kaneko, S Ota, A Enomoto, M Tomita, M M Sugimoto, M Sunamura, T Hayashida, H Jinno, Y Kitagawa.
2 . 発表標題 Machine learning methods with salivary metabolomics for breast cancer detection.
3 . 学会等名 2019 ASCO Annual Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	砂村 眞琴  (Makoto Sunamura)  (10201584)	東京医科大学・医学部・兼任教授   (32645)	
研究 分担者	杉本 昌弘  (Sugimoto Masahiro)  (30458963)	東京医科大学・医学部・教授   (32645)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------