

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成23年 5月25日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700902

研究課題名（和文） 大腸がんの治療効果・予後予測システムの開発

研究課題名（英文） Development of diagnostic system to predict chemosensitivity and prognosis of colorectal cancer.

研究代表者

高橋 信（TAKAHASHI SHIN）

東北大学・病院・助教

研究者番号：20431570

研究成果の概要（和文）：

本研究は、進行再発大腸がんの予後を改善するため、進行再発大腸がんの予後を予測する方法を開発することを目的としている。網羅的遺伝子変異解析の結果、大腸がんは2つの遺伝子群によってそれぞれ2つ、計4つのサブタイプに分類されることが示された。それぞれのサブタイプで臨床病理学的背景因子や、抗癌剤の治療効果が異なることが示された。このサブタイプ分類は臨床的に有用であると考えられ、2012年3月に特許申請を行った。

研究成果の概要（英文）：

The object of this study is to develop biomarkers of advanced colorectal cancer (CRC). We showed that CRC divided into 4 subtypes by 2 gene sets by comprehensive gene expression analysis. Some clinicopathological factors and efficacy of chemotherapy were different between clusters. We applied the patent of this outcome in March, 2012.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍診断学

キーワード：バイオマーカー、遺伝子発現プロファイル

1. 研究開始当初の背景

世界一の長寿国となっている日本において、癌は国民病であり、2人に1人はがんを発症し、3人に1人はがんで亡くなる時代となっている。大腸がんは罹患者数で男性で第

2位、女性で1位を占める疾患である。また死亡者数では第3位(2004年約40,000人)を占め、2015年にはさらに増加(約66,000人)すると予測される。大腸がんの治療成績を改善させることは、総死亡の30%を占めるがん

死亡数を低下させることに大きく寄与するものと考えられる。がんの治療成績を改善するためのアプローチとして、近年個別化医療（テーラーメイド医療）が注目されている。それぞれの症例についてがんの「個性」を診断し、予後、悪性度、抗がん剤感受性などを予測し、その予測に基づいて最適の治療を行うことで治療成績を改善しようとする試みである。近年の分子診断法の急速な進歩に伴い、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析や SNPs、miRNA などを利用した多方面からの検討が行われている。申請者らはこれまでの研究で、マイクロアレイを利用して、乳がんの独立予後因子である TP53 遺伝子の変異の有無（以下 TP53 ステータス）を予測できる遺伝子発現プロファイル（以下 TP53 プロファイル）を作成した。また、この TP53 プロファイルによって予測された TP53 ステータスは、免疫組織染色法や直接シーケンス法によって決定された TP53 ステータスよりも予後の予測性が明らかに高いことを報告した（Takahashi et al. *Cancer Sci.* 2008 Feb;99(2)324-32）。またこの成果で特許を取得し（「がんの予後予測法」特許第 4370409 号、2009 年 9 月 11 日特許登録）、臨床応用に向け、より簡便で安価な Multiplex RT-PCR 法を用いた方法の開発を進めているところである。

進行再発大腸がんの予後を改善するためには、抗癌剤単剤の効果予測ではなく、標準的な抗癌剤レジメンすべてについて効果予測をおこなうことが必要である。それぞれの治療レジメンについて治療効果が予測できれば有効性の高いものから順次使用していくことができる。腫瘍の縮小により治癒切除が見込める症例でも治療効果の高いレジメンを選択可能となる。また逆に治療効果が見込めないレジメンは使用しないという選択

肢も生まれ、無駄な抗癌剤治療を回避できる。これは余計な副作用の回避による QOL の改善のみならず、医療経済的にもメリットが大きい。

2. 研究の目的

進行再発大腸がんの予後を改善するため、進行再発大腸がんの予後を予測する方法を開発する。

3. 研究の方法

対象症例は手術を行った進行再発大腸がん症例で標準的化学療法を施行中、施行後の症例。研究計画について説明し、同意の得られた症例 100 例（遺伝子選択症例群）。また、検証のため、現在進行中の臨床試験の随伴研究として、臨床試験参加症例（検証症例群）で前向き試験を行う。

（1）進行再発大腸がんの手術検体（FFPE）100 例から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行う。

大腸がんの手術標本（FFPE 検体）の薄切スライドを作成し、実体顕微鏡下に腫瘍細胞部分を採取する。採取した腫瘍細胞から FFPE 検体用の RNA 抽出キットを用いて RNA を抽出する。RNA の増幅、蛍光色素によるラベリング、マイクロアレイを行い、遺伝子発現データを得る。

（2）同じレジメンで治療された症例を集め、治療奏効例群と無効例群の間で統計学的に有意に発現差のある遺伝子セットを抽出する。

治療有効群と無効群（RESIST 評価、無増悪生存期間などの指標）の間で統計学的に有意に発現差のある遺伝子を選択する（Wilcoxon rank sum test）。進行再発大腸がんの二次治療では一次治療で行わなかった治療レジメンが使用される。一次治療の効果予測プロファイルによって二次治療の効果を予測可能

かについて検証を行う。(例：一次治療で FOLFOX 療法を施行した症例 (FOLFOX 療法の治療効果予測プロファイル作成に使用された症例) では二次治療で通常 FOLFIRI 療法を行う。FOLFIRI 療法の効果を予測する遺伝子発現プロファイルで治療効果を予測し、実際の治療効果と比較する。)

(3) 抽出された各遺伝子セットについて Multiplex RT-PCR を用いた予測システムを構築する。

(4) 臨床試験の随伴研究として、治療効果の予測性を前向きに検証する。

4. 研究成果

2011 年度末までに、計 100 例の進行再発大腸がん患者より本研究に関する同意を得、検体を収集し、網羅的遺伝子発現解析を行った。また、TP53、KRAS、BRAF、PIK3CA 等の大腸がん関連遺伝子変異解析および、ミスマッチ修復遺伝子の免疫組織染色を行った。教師なし階層的クラスタリング解析および主成分分析の結果、大腸がんは 2 つの遺伝子群によってそれぞれ 2 つに分類することが可能であり、計 4 つのサブタイプに分類されることが示された。一つ目の遺伝子群で分類すると、大腸がんの標準治療薬の一つである抗 EGFR 抗体薬の治療効果が異なることが示された。抗 EGFR 抗体の治療効果は KRAS 遺伝子の変異の有無によって異なることが知られており、変異型では無効であるとされている。野生型の場合には治療効果が得られる可能性があるが、野生型の中でも、この 2 つのサブタイプの間で治療効果が明らかに異なり、治療効果の劣る群では KRAS 遺伝子変異型と同等の治療成績であることが示された。また二つ目の遺伝子群で分類すると、FOLFOX 療法や FOLFIRI 療法などの古典的殺細胞性抗癌剤の治療効果が異なることが示された。また、

既存のバイオマーカーである KRAS 遺伝子変異の割合がサブタイプ間で異なることが示された。これらの結果から、抗癌剤治療の治療効果を予測可能な新規バイオマーカーとして 2012 年 3 月 10 日付けで特許申請を行った (特願 2012-053883)。また、研究成果について現在英文論文として投稿中である。

現在、前向き臨床試験 (臨床第 II 相、臨床第 III 相) の付随研究として、本研究成果を検証する研究を準備している所である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

①井上正広、高橋信、網羅的遺伝子発現解析による大腸癌の臨床像と分子生物学的特徴の解析、第 109 回日本内科学会、2012 年 4 月 13 日、京都

②井上正広、高橋信、Predictive of colorectal cancer prognosis by gene expression profile using FFPE sample. 第 70 回日本癌学会、2011 年 10 月 4 日、名古屋

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

①名称：遺伝子発現解析による大腸がんの病型分類に基づく抗癌剤応答性及び予後の予測方法

発明者：石岡千加史、高橋信、井上正広

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特願

番号：2012-053883

出願年月日：2012年3月10日

国内外の別：国内

○取得状況（計0件）

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 信 (SHIN TAKAHASHI)

東北大学・病院・助教

研究者番号：20431570

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者