

平成21年 4月30日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790969

研究課題名（和文） 術後再発症例に特異的発現パターンの同定と感受性予測を含む
個別化診断手法の構築研究課題名（英文） Gene set-based identification of oncogenic pathways
related to relapse-related death in lung adenocarcinomas

研究代表者

富田 秀太 (TOMIDA SHUTA)

名古屋大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10372111

研究成果の概要：研究代表者らは、“機能的に関連した一連の遺伝子セット”を解析単位とする解析手法を用いる事によって、肺腺癌の多様性に関する“ターゲットパスウェイ”の抽出に成功した。この“ターゲットパスウェイ”を基にした判別モデルを用いて、独立した肺腺癌データを解析したところ、統計的に有意に、術後予後良好群と予後不良群に分類することができた。また、肺腺癌細胞株を用いた検討により、“ターゲットパスウェイ”に対する阻害活性を持つ薬剤の感受性予測モデルの構築にも成功した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	2,700,000	300,000	3,000,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺癌、マイクロアレイ、バイオインフォマティクス、オーダーメイド医療、感受性予測、予後予測、再発予測、パスウェイ解析

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノムプロジェクトの進行とともに発展してきたマイクロアレイ解析技術により取得された数千～数万個に及ぶ膨大な遺伝子発現データを効率的かつ効果的に解析する手法として、癌化に関与するシグナル伝達系に特異的

な発現プロファイルの解析（E2F系（Huang E. Nat. Gen. 2003）、サイクリンD1系（Lamb J. Cell 2003））や、肺癌・乳癌・前立腺癌といった腺癌に共通する再発パターンの解明（Ramaswamy S. Nat. Gen. 2003）が地道ではあるが着実に進められ、腫瘍の発症・進展に

寄与する経路 (Oncogenic Pathway) が解明されつつある。現在、これらマイクロアレイを用いて解明された Oncogenic Pathway を用いて、患者の分類と共に治療ターゲットの同定を行い、より効率的かつ効果的な化学治療を選択・適用しようとする研究が注目を集めている。

Duke 大学の J. Nevins らは、細胞株を用いて、主要な癌化経路である Myc・Ras・E2F3・Src・ β -catenin 経路の制御不全により惹起される発現パターンを解析し、これらの Oncogenic Pathway を用いて肺癌症例を解析し、それぞれ特徴的なサブクラスに分類すると共に、予後との相関を解析している (Bild AH. Nature 2006)。

マイクロアレイを用いて同定された Oncogenic Pathway を用いて、種々のがん患者を分類しようとするこの先端的な取組みは、化学療法に抵抗性を示す難治性固形腫瘍に対して、①患者を個別分類化し、②Oncogenic Pathway 特異的な分子標的治療を施す事により、③従来の化学治療より高い奏効率を期待できる、という今後のオーダーメイド医療の展開を可能にするという意味で極めて高く評価されている。

一方で、患者予後に関していえば、従来臨床で用いられている手法を凌駕するものではない。考えられる理由の1つとして、この成果が細胞株という極めて特異的な実験系に由来した Oncogenic Pathway を用いている事があげられる。

2. 研究の目的

本研究課題では機能的な Gene Set を解析単位とし、ヒト腫瘍検体を用いて

Oncogenic Pathway を抽出することにより、腫瘍の発生・進展に関与する Oncogenic Pathway の探索を行う。抽出した Oncogenic Pathway を用いたスコア化とリスク評価手法を構築し、術後再発症例に固有な Oncogenic Pathway を用いた感受性評価および新規治療ターゲットの探索を進める。

3. 研究の方法

本研究課題の研究方法を以下に示す。

(1) 150 症例×22,000 遺伝子からなる肺癌データベースを解析対象として、機能性遺伝子セットと単位とした Bioinformatics 解析を行い、術後の再発・転移による予後不良群と相関する「肺癌特異的な Oncogenic Pathway」の抽出を行う

(2) 抽出した pathway を基に、予後不良群に特徴的な「再発・転移指向性発現パターン」をデータベースから抽出する

(3) 「再発・転移指向性発現パターン」との類似度から、各症例の発現パターンをスコア化 (得点化) する

(4) 本研究とは独立したデータベースを利用して、スコア化手法の汎用性を評価する

(5) 肺癌細胞株を用いて、スコアと薬剤感受性が相関していることを確認することにより、スコア化手法を用いた感受性予測手法を確立する。

4. 研究成果

(1) 145 症例×22,000 遺伝子からなる肺癌データベースを作成した。本データベースは肺腺癌 90 症例、扁平上皮癌 35 症例、大細胞癌 20 症例を含む。

(2) 外科切除を受けた肺腺癌 90 症例を解析対象とし、GSEA 法を用いることにより、「術後再発死亡群」と「外科切除による治癒群」の 2 群間で発現が異なる遺伝子が特徴付け

る一連の“ターゲットパスウェイ”の抽出に成功した。

(3)この“ターゲットパスウェイ”を基にしたスコア化手法を開発し、本研究とは独立した米国スローンケタリングがんセンターで取得された肺腺癌データを解析したところ、統計的に有意に、術後予後良好群と予後不良群に分類することができた。

(4)また、培養細胞にFDA認可の化合物を加えた際に観察された mRNA 発現プロファイルの変化をデータベース化した Connectivity Map を用いて、肺癌患者における「再発死亡群」類似のプロファイルから「外科切除による治癒群」類似のプロファイルに変化させる薬剤を探索した結果、我々が GSEA 法を用いて抽出した“ターゲットパスウェイ”の阻害と抗腫瘍活性をもつ阻害剤が含まれていた。

(5)これらの結果は、2つの全く独立したバイオインフォマティクス解析手法による網羅的発現データの活用が、癌化に重要な作用点の一つとして同じ“ターゲットパスウェイ”の抽出に帰結した信頼性を示している。

(6)さらに、肺腺癌細胞株を用いた検討により、“ターゲットパスウェイ”を用いたスコア化手法が、“ターゲットパスウェイ”に対する阻害活性を持つ薬剤の感受性予測に応用可能であることを確認した。

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7件)

- 1) **Tomida S**, Takeuchi T, Shimada Y, Arima C, Matsuo K, Mitsudomi T, Yatabe Y, Takahashi T.
Relapse-related molecular signature in lung adenocarcinomas identifies patients with dismal prognosis.
J Clin Oncol. (in press).2009
査読有

- 2) Ebi H, **Tomida S**, Takeuchi T, Arima C, Sato T, Mitsudomi T, Yatabe Y, Osada H, Takahashi T
Relationship of deregulated signaling converging onto mTOR with prognosis and classification of lung adenocarcinoma shown by two independent in silico analyses.
Cancer Res. (in press).2009
査読有
- 3) Suzuki M, Niimi A, Limsirichaikul S, **Tomida S**, Miao HQ, Izuta S, Usukura J, Itoh Y, Hishida T, Akashi T, Nakagawa Y, Kikuchi A, Pavlov Y, Murate T, Takahashi T.
PCNA Mono-ubiquitination and Activation of Translesion DNA Polymerases by DNA Polymerase α .
J Biochemistry. (in press).
査読有
- 4) Osada H, **Tomida S**, Yatabe Y, Tatematsu Y, Takeuchi T, Murakami H, Kondo Y, Sekido Y, Takahashi T.
Roles of achaete-scute homologue 1 in DKK1 and E-cadherin repression and neuroendocrine differentiation in lung cancer.
Cancer Res. 2008 68(6):1647-55.
査読有
- 5) **Tomida S**, Yanagisawa K, Koshikawa K, Yatabe Y, Mitsudomi T, Osada H, Takahashi T.
Identification of a metastasis signature and the DLX4 homeobox protein as a regulator of metastasis by combined transcriptome approach.
Oncogene. 2007 26(31):4600-8.
査読有
- 6) Yanagisawa K, **Tomida S**, Shimada Y, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T.
A 25-signal proteomic signature and outcome for patients with resected non-small-cell lung cancer.
J Natl Cancer Inst. 2007 99(11):858-67.
査読有
- 7) Tanaka H, Yanagisawa K, Shinjo K, Taguchi A, Maeno K, **Tomida S**, Shimada Y, Osada H, Kosaka T, Matsubara H, Mitsudomi T, Sekido Y, Tanimoto M, Yatabe Y, Takahashi T.

Lineage-specific dependency of lung adenocarcinomas on the lung development regulator TTF-1.
Cancer Res. 2007 67(13):6007-11.
査読有

〔学会発表〕（計 3 件）

- 1) 富田秀太
Gene set-based identification of oncogenic pathways related to relapse-related death in lung adenocarcinomas
第 67 回 日本癌学会学術総会
2008 年 10 月 29 日
名古屋
査読有
- 2) Tomida Shuta
In Silico screening of differentially expressed microRNAs in lung cancer
AACR-NCI-EORTC International Conference
2007 年 10 月 24 日
San Francisco, USA
査読有
- 3) 富田秀太
バイオインフォマティクス手法を用いた肺癌のマイクロRNA発現解析
第 66 回 日本癌学会学術総会
2007 年 10 月 4 日
横浜
査読有

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：肺腺癌患者の術後再発を予測するための方法及び組成物
発明者：富田秀太・他
権利者：同上
種類：特許権
番号：特願 2007-339214
出願年月日：2007 年 12 月 28 日
国内外の別：国内、国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田 秀太 (TOMIDA SHUTA)
名古屋大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：10372111