様式Ｃ－１９

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２４年５月２５日現在

機関番号：７２６０２
研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2009～2011
課題番号：２１３００１０９
研究課題名（和文）　ケミカルバイオロジーにおける創薬をめざす化合物情報解析のための統計的方法論の開発
研究課題名（英文）　Development of statistical methodology for analyses of chemical compounds for drug discovery in chemical biology
研究代表者
松浦　正明（MATSUURA MASAAKI）
公益財団法人がん研究会・がん研究所がんゲノム研究部・部長
研究者番号：40173794

研究成果の概要（和文）：70 の抗がん剤を含む 3700 化合物を癌細胞パネル 39 系（JFCR39）に作用させて得られた 50％増殖阻害濃度値のデータを用いて、ヒト癌細胞株に対する新規の生物学的活性指標として、細胞増殖曲線から得られる複数の統計学的指標を開発し、さらにマイクロアレイデータを用いて化合物と疾病との関連を探索するための Connectivity Map を利用した解析法も同時に検討した。

研究成果の概要（英文）：We developed a statistical methodology to find optimal compounds for drug discovery, using JFCR-39 cell line panel.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００９年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
２０１０年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
２０１１年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総　計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

研究分野：総合領域
科研費の分科・細目：情報学・統計科学
キーワード：統計数学，バイオインフォマティクス，創薬，生体生命情報学，ケミカルバイオロジー

１．研究開始当初の背景

米国国立がん研究所の NCI60 と呼ばれるがん細胞株 60 系は、創薬研究等で世界的に利用されており、特に化合物や薬剤に対する生物学的活性指標として、従来より 50％増殖阻害剤濃度（GI50 値）が用いられてきた。しかし、この GI50 値では、用量反応曲線における局所的な情報しか利用されておらず、十分な情報利用がなされていない。従って、GI50 値のみを利用した解析だけでは、新規化合物の特性の探索において重要な薬効特性を見逃す可能性がある。そこで、細胞増殖阻害濃度反応曲線において GI50 値以外の重要な生物活性指標を開発を行うことが重要である。さらにケミカルバイオロジーにおける創薬をめざした化合物情報解析においては、細胞株などへの化合物の作用に対するマイクロアレイを用いたハイスループットな遺伝子発現変化や、プロテオームの質量分析データの解析において、十分な統計学的データ解析手法が開発されていない状況にあり、これら問題に対する早急な検討が必要な状況にある。

２．研究の目的

細胞増殖阻害濃度反応曲線において GI50 値以外の重要な生物活性指標を開発を行なう。また、細胞株の遺伝子発現情報と疾患の表現型との関連を調べるための手法として Golub らが開発した Connectivity Map に関しても、創薬における有用性と問題点に関して統計学的見地からの検討を進める。さらに、質量分析データを用いたケミカル探索に基づく創薬のための統計学的方法論の検討およびソフトウェア開発を行い、創薬のためのケミカルバイオロジーに対する情報解析手法の開発研究を行う。

３．研究の方法

連携研究者の矢守博士から提供される 70 の抗がん剤を含む 3700 化合物を癌細胞パネル 39 系(JFCR39)に作用させて得られた 50%増殖阻害濃度値（GI50）のデータを用いて、(1) ヒト癌細胞株に対する統計学的新規生物学的活性指標の開発を行う。次に、化合物を作用させる前と作用させた後の遺伝子発現情報の変化に対する網羅的プロファイルデータを用いて(2) 創薬に向けたバイオプローブの探索・評価のための統計的手法の開発を行なう。さらに、(3)マイクロアレイ、化合物アレイや質量分析計、顕微質量装置から得られるハイスループットデータを利用し、創薬に役立つ低分子化合物の探索法の研究と化合物構造情報に基づいた新た構造活性相関分析法の開発を行ない、ケミカルバイオロジーにおける統計解析システムを構築する。

４．研究成果

創薬のシーズ探索における必要条件として、毒性が低く、高い生物学的活性を示す新規化合物が必要である。一方、同一の低分子化合物であっても、生物活性は種々の細胞に対して多様性がある。平成 21 年度は、この多様性を統計学的に評価して創薬のシーズとなる新規化合物を探索するための方法論の確立のため、研究協力者の矢守隆夫部長（がん研）より提供を受けたヒトがん細胞株 39 系（JFCR39）に対する 3700 化合物にわたる細胞増殖阻害に関するオリジナルデータソースを使用し、従来より用いられてきた生物学的活性指標である 50%増殖阻害剤濃度（GI50 値）に対して併用可能な新規の生物学的活性指標を開発した。これら指標の開発のため、本研究では 3700 種の化合物のがん細胞株 39 系における GI50 値のオリジナルデータの整備を行い、細胞増殖曲線データを用いた生物学的活性指標の開発を進めた。今後の創薬研究に資するための有効な抗がん剤効果を乳がん患者に関して調査した論文を２編、Connectivity Map の実際の利用における統計学的問題点を 10 月の癌学会で報告した。さらに３月には統計数理研究所のリスク解析戦略研究センターとの共催で、「分子診断研究のための統計的手法の開発：研究成果と今後の課題」の研究集会を行ない、今後の研究開発の方向性に関して関連研究者と討論を行った。

平成 22 年度は、当初の予定通り、「創薬に向けたバイオプローブの探索・評価のための統計的手法の開発と応用」に関する研究を行った。特定の細胞株に対して、化合物を作用させる前と作用させた後の遺伝子発現変化のプロファイルデータを使用した。この遺伝子発現プロファイルデータを用いて、化合物の作用により変動した遺伝子を抽出する統計学的手法を検討した。さらに、生物学的機能を有する各種パスウェイとの関連性を評価するための統計学的方法論について検討し、実データに対して解析と結果の評価を行い、化合物ごとに変動する遺伝子とパスウェイの情報を抽出した。また、Connectivity Map の実際の利用における統計学的問題点に関しても研究を継続した。具体的には、複数の関連化合物が真に関連している場合に、これら複数の化合物を探索できるように Connectivity Map の方法論を改良し、のプログラミングを行ない解析システムを構築し、これを基にシミュレーション実験を行い、その問題点と妥当性を評価した。これらの解析結果などに関しては、統計数理研究所の研究者などと議論を行い、今後の研究に向けての方向性の探索や改良点などに関して検討を行った。

最終年度である平成 23 年度は、これまでの研究を継続し、特に、各化合物を細胞株に作用させた遺伝子発現変化の情報解析の方法論を検討することに力点をおいた。さらに今年度は、研究計画で予定していたハイスループット化合物構造情報に基づく構造活性相関分析法の研究を開始した。従来の構造活性相関解析では人口知能分野のエキスパート法の他に統計学的な多重回帰分析が使用されてきた。このように、構造活性相関解析は基本的には多変量解析の枠組みの中で取り扱われてきた経緯を持ち、本研究では、化合物アレイや質量分析計などのハイスループットデータやなど、他次元のオミックスデータから複数のメカニズムを考慮した上で、創薬に重要な化合物候補を探索できる構造

活性相関分析法の新規の検討を進めた。これらの解析結果などに関しては、未だ再現性のある十分な結果は得られなかったため、今後、統計数理研究所の研究者などと議論を行い、今後の研究に向けての方向性の探索や改良点などに関して検討を行なう予定である。また、これまで進めてきた種々の研究内容に関して論文作成の準備を本年度中に行った。

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８件）

①Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S, Tsukahara S, Sakurai J, Sato S, Kondo H, Ushijima M, Matsuura M, Watanabe T, Tomida A. Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-in duced cyto toxicity during glucose deprivation. Mol Cancer Ther. 11 (5), 1082-1091, 2012. 査読有り.doi:10.1158/1535-7163.MCT-11-0871.

②Fujiwara T, Hiramatsu M, Isagawa T, Ninomiya H, Inamura K, Ishikawa S, Ushijima M, Matsuura M, Jones M. H., Shimane M, Nomura H, Ishikawa, Y, Aburatani H. ASCL1-coexpression profiling but not single gene expression profiling defines lung adenocarcinomas of neuroendocrine nature with poor prognosis. Lung Cancer, 75 (1), 119-125, 2012. 査読有り. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016950021100328X

③Hara, T., Iriyama, S., Makino, K., Terada, H. and Ohya, M., Mathematical description of drug movement into tumor with EPR effect and estimation of its configuration for DDS, Colloids Surf B Biointerfaces 75, 42-46, 2010. 査読有り. http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.08.013,

④Wang L, et al. （Isomura M 25人中14番目）Whole-exome sequencing of human pancreatic cancers and characterization of genomic instability caused by MLH1 haploinsufficiency and complete deficiency. Genome research 22, 208-219, 2012. 査読有り.
http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.123109.111.

⑤Ito Y, Nagasaki K, Miki Y, Iwase T, Akiyama F, Matsuura M, Horii R, Makita M, Tokudome N, Ushijima M, Yoshimoto M, Takahashi S, Noda T, Hatake K. Prospective randomized phase II study determines the clinical usefulness of genetic biomarkers for sensitivity to primary chemotherapy with paclitaxel in breast cancer. Cancer Science, 102, 2011, 130-136. 査読有り.
DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01740.x

⑥Aida J, Yokoyama A, Izumiyama N, Nakamura K, Ishikawa N, Poon SS, Fujiwara M, Sawabe M, Matsuura M, Arai T, Takubo K. Alcoholics show reduced telomere length in the oesophagus. Journal of Pathology 223, 410-416, 2011. 査読有り.
DOI: 10.1002/path.2817

⑦Osako T, Ito Y, Ushijima M, Takahashi S, Tokudome N, Sugihara T, Iwase T, Matsuura M, Hatake K. Predictive factors for efficacy of capecitabine in heavily pretreated patients with metastatic breast cancer. Cancer Chemother. Pharmacol. 63, 2009.865-871, 2009. 査読有り.http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18670777

⑧Osako T, Horii R, Matsuura M, Ogiya A, Domoto K, Miyagi Y, Takahashi S, Ito Y, Iwase T, Akiyama F. Common and discriminative clinicopathological features between breast cancers with pathological complete response or progressive disease in response to neoadjuvant chemotherapy. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 136 (2) 2010.233-241. 査読有り. DOI: 10.1007/s00432-009-0654-9

〔学会発表〕（計４件）

①牛嶋 大、瀬藤光利、松浦正明. イメージング質量分析データに対するソフトウェアの開発. 第70回日本癌学会総会. 2011年10月4日，名古屋（国際会議場）

②Hara, T. Ohya, M. Some mathematical techniques to study life sciences. 32nd International Conference on Quantum Probability and Related Topics. 2011年6月2日 Levico Terme, Italy.

③牛嶋 大，宮田 敏，松浦正明 Statistical issues on the use of Connectivity Map. 第68回日本癌学会学術総会，2009年10月3日，横浜.

④磯村 実，松浦正明，野田哲生，三木義男、少数サンプルから癌化学療法の副作用に関

連するSNPを同定する方法の開発. 第69回日本癌学会総会. 2010年9月22日, 大阪.

〔図書〕(計2件)
①松浦正明. 南江堂、「バイオインフォマティクス」新臨床腫瘍学：がん薬物療法専門医のために 改訂第2版, 90-93, 2009.
②宮田 敏, 牛嶋 大, 松浦正明. 金芳堂、「マイクロアレイデータの解析における統計処理」. がん分子標的治療研究実践マニュアル, 270-276, 2009.

〔産業財産権〕
○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

６．研究組織
(1)研究代表者
松浦 正明（MATSUURA MASAAKI）
公益財団法人がん研究会・がん研究所がんゲノム研究部・部長
研究者番号：40173794

(2)研究分担者
星川 裕（HOSHIKAWA YUTAKA）
公益財団法人がん研究会・がん研究所がんゲノム研究部・研究員
研究者番号：80280626
宮田 敏（MIYATA SATOSHI）
公益財団法人がん研究会・ゲノムセンター・研究員
研究者番号：60360343
牛嶋 大（USHIJIMA MASARU）
公益財団法人がん研究会・ゲノムセンター・研究員
研究者番号：60328565
磯村 実（ISOMURA MINORU）
島根大学・医学部病態病理学講座・講師
研究者番号：40272497
原 利英（HARA TOSHIHIDE）
東京理科大学・理工学部情報科学科・助教
研究者番号：30579769

(3)連携研究者
矢守 隆夫（YAMORI TAKAO）
公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター分子薬理部・部長
研究者番号：60200854
旦 慎吾（DAN SHINGO）
公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター分子薬理部・研究員
研究者番号：70332202