

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390145

研究課題名(和文) がんの病勢制御と健康寿命延長に寄与する統合的分子病態診断システムの開発

研究課題名(英文) Development of integrated molecular pathological diagnostic systems for cancer

研究代表者

醍醐 弥太郎 (DAIGO, YATARO)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：30345029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：癌は予後不良な重篤疾患の一つであり、我が国と世界において年々患者数は増加している。標準的な癌治療で効果が得られる場合はまだ限られており、完全に治癒できる早期の段階で癌を発見できる診断マーカーは実用化されていない。本研究においては、新しい癌の診断バイオマーカーの開発に利用可能な癌関連分子を複数発見した。これらのバイオマーカーは、早期癌の発見、治療効果の確認、治療法の選択のみならず、癌の新薬の開発に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cancer is one of the most serious diseases which has a notably poor prognosis, and its incidence is annually increasing in Japan and worldwide. The number of patients responding well to current standard cancer therapies is still small, and no diagnostic marker has been sufficiently useful in the detection of curative stage cancers. In this study, we identified various cancer-related molecules, which are being applied as new diagnostic biomarkers. These biomarkers could be useful for early cancer detection, monitoring, and for the choice of therapies, as well as being a suitable therapeutic target.

研究分野：病態検査学

キーワード：分子病態診断 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

癌は我が国で年間 34.5 万人が死亡する死亡原因第 1 位の疾患である。とりわけ我が国における 5 大癌とされる胃癌、大腸癌、肝臓癌、肺癌、乳癌は悪性腫瘍による死亡数の第 1 位から 5 位までを占め、壮年期に好発し早期発見が困難なこと、根治的手術による治療後も高率に再発し予後が不良であることから、より分子病態に基づいた定量的な発症予防と早期診断、手術後の集学的治療(化学療法・放射線療法)の適切な選択指標となる診断法の開発が切望される。2005 年、米国食品医薬品局(FDA)が薬剤の開発・使用に際してバイオマーカーの活用を推奨し、さらに 2007 年には新薬の臨床開発コスト削減の切り札として先端的バイオマーカーの探索・開発・応用を提唱した Critical Path Opportunity プログラムを開始し、産学官が一体となったコンソーシアムの設立を進めてきたことが物語るとおり、癌の診断・治療に応用可能なバイオマーカーは、癌克服に向けた最有力の基盤資源として国際的な開発競争が激化している。2011 年、FDA は、治療薬とその効果予測に有用なコンパニオン診断薬の同時開発に関するガイドラインを策定したが、実際、両者を同時承認する事例が続いている。安定的な国民医療保険制度を維持し、国民の医療福祉を守るためにも、疾患関連遺伝子・蛋白研究を早急に推進し知的財産権を確保する必要が生じている。一方、近年の全ゲノム DNA タイピング、マイクロアレイ解析、質量分析等のゲノム・プロテオーム解析技術の進歩により、患者の全ゲノム・蛋白の多様性を発癌リスクのバイオマーカーとして、また腫瘍特異的に産生され癌の悪性化に関わる蛋白や腫瘍から血液に放出される分泌蛋白を分子病態のバイオマーカーとして網羅的に探索することが可能となってきた。これらの研究を患者の病態を反映した生体試料を用いてより体系的に進めて成果を集約し、実用化を念頭に置いた研究デザインで診断系を構築していけば、低侵襲の癌リスク診断や早期診断に加え、癌の悪性度に基づいた化学・放射線療法選択と綿密なフォローアップによる再発の予防・早期加療等の癌患者の病態進行に最適な対応をした個別化医療が実現可能となる。

2. 研究の目的

本研究では我が国の癌の 3 分の 2 を占める 5 大癌(胃癌、大腸癌、肝臓癌、肺癌、乳癌)等の組織・血清試料とこれまで培ってきた網羅的ゲノム・プロテオーム解析技術を基盤として、癌の発症リスクから未病状態および疾患発症・増悪を早期に感知する統合的病態診断系を開発し、その迅速な癌予防・診断・治療への展開による癌年齢層の健康寿命の延長をめざす。ゆえに本研究の目的は以下の 3 項目よりなる。

(1) 癌の遺伝素因(発症リスク)、未病状態

および疾患発症の早期段階を検出する統合的診断系の開発

(2) 癌の病勢制御を目的とした集学的治療適用指標となる悪性度診断系の開発

(3) 癌の低侵襲迅速病態診断系の基盤確立と検証

3. 研究の方法

(1) 5 大癌(胃癌、大腸癌、肝臓癌、肺癌、乳癌)等の臨床試料収集と迅速多検体解析:それぞれの癌種につき各種サンプルセットの蓄積を行い、解析可能な試料から血清プロテオーム解析と網羅的遺伝子発現情報解析で独自に同定した血清腫瘍バイオマーカーの ELISA 解析を行う。

(2) 5 大癌等のゲノム・プロテオーム解析情報と臨床情報の統合化:得られた血清蛋白のプロテオーム情報と癌組織検体および正常臓器組織の約 32,000 個の遺伝子発現を網羅するゲノム解析データ等を統合し癌特異的バイオマーカーのデータベースを構築する。

(3) 5 大癌組織マイクロアレイ等による臨床病理学的評価:選出された血清バイオマーカーおよび網羅的発現情報解析で同定されたバイオマーカーの抗体を用いて、多数の癌患者群での発現分布(組織型、分化度、病期、予後等との相関)を検討する。独自に作製した詳細な臨床情報を備えた 5 大癌等の組織マイクロアレイを使用し免疫組織染色を行い、蛋白発現が各癌種の患者の生命予後の短縮やリンパ節・遠隔転移等の臨床的な癌の悪性度に相関する組織染色バイオマーカーを抽出し、生検、手術標本を用いた癌の悪性度診断法を確立する。複数のバイオマーカーを統合した新規診断システムの構築を検討する。

(4) 血清バイオマーカーによる癌の診断法構築:バイオマーカー候補に対する抗体を用いた ELISA 法や PCR 法等による癌の早期血清診断システムの構築を行う。また同一プロトコールで治療を受けた癌患者の生命予後と血清バイオマーカー値との相関を検討し、血清診断で癌の悪性度を予測可能か検討する。この段階で構築されたアッセイ系は、さらに複数のマーカーを組み合わせて、最小のマーカー数で最大の感度・特異度を示す診断系を検討する。

(5) 免疫組織学的マーカーによる癌の迅速悪性度診断:同定した組織染色マーカーは 5 大癌等の組織マイクロアレイを用いて各癌種の臨床病理・予後情報との相関を検討し、最小のマーカー数で定量的に悪性度を予測

し、治療方針の決定や再発の早期発見、病勢制御を目的とした早期からの集学的治療選択に応用可能な組織標本を用いた癌の悪性度診断法を検討する。

(6)癌の迅速病態診断系の検討と適用拡大・検証研究への取り組み：上記の非常に選別されたマーカーを各臨床診断段階で有機的に使い分ける低コスト・簡易・迅速解析の可能な癌の包括的迅速病態診断系を検討する。また、最終選定されたマーカーがすみやかに検証試験に入り有用性の検討と適用拡大に向けた診断キットの開発に進むための基盤整備を行う。

以上、本研究では臨床応用を含む社会還元を念頭に置き、ヒト腫瘍の診断・治療の標的分子となる候補バイオマーカー群の同定、ゲノム情報を含めたデータの情報基盤を集積し、選別された複数のバイオマーカーの迅速病態診断法を検討して、成果を発表する。

4．研究成果

(1)5大癌等の臨床試料収集と迅速多検体解析：それぞれの癌種につき各種サンプルセットの臨床試料(組織・血清等)の蓄積を行い、解析可能な試料を用いて網羅的遺伝子発現情報解析等で独自に同定した癌バイオマーカー候補の血清解析や免疫組織化学染色を行った。

(2)5大癌等のゲノム・プロテオーム解析情報と臨床情報の統合化：得られた血清、癌組織検体の臨床情報の収集を進めるとともに、これまで同定した癌バイオマーカー候補につき、正常臓器組織やがん組織におけるゲノム解析情報、予後関連情報を各種データベースならびに独自解析により集積し、癌特異的バイオマーカー開発の情報基盤の構築と拡充を行った。

(3)5大癌組織マイクロアレイ等による臨床病理学的評価：同定されたバイオマーカーの抗体を用いて、多数の癌患者群での発現分布を検討し、蛋白発現が各癌種の患者の生命予後の短縮やリンパ節・遠隔転移等の臨床的な癌の悪性度に相関する組織染色バイオマーカーを抽出した。

(4)血清バイオマーカーによる癌の診断法構築：同定した血清バイオマーカーに対する抗体を用いたELISA法やPCR法等による肺癌の早期血清診断システムの構築を行った。また、複数の診断アッセイ系を組み合わせた診断系の可能性を検討した。

(5)免疫組織学的マーカーによる癌の迅速悪性度診断：同定した組織染色マーカーにつき肺癌、乳癌、大腸癌等の組織マイクロアレイを用いて臨床病理・予後情報との相関を検

討し、癌の悪性度を予測に基づいた治療方針の決定や再発の早期発見、病勢制御を目的とした早期からの集学的治療選択に応用可能な組織標本を用いた癌の悪性度診断法の構築を検討した。

(6)癌の迅速病態診断系の検討と適用拡大・検証研究への取り組み：上記のマーカーを各臨床診断段階で使い分ける癌の迅速病態診断系の構築に向けたアッセイ系を検討した。また、各種の癌種への適用拡大や検証研究に向けた試料収集を行った。

以上、本研究では癌の迅速病態診断系の基盤の確立を行い、国内外において成果の一部を論文および学会発表した。

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14件)

Kusakabe K, Ide N, Daigo Y, Itoh T, Yamamoto T, Hashizume H, Nozu K, Yoshida H, Tadano G, Tagashira S, Higashino K, Okano Y, Sato Y, Inoue M, Iguchi M, Kanazawa T, Ishioka Y, Dohi K, Kido Y, Sakamoto S, Ando S, Maeda M, Higaki M, Baba Y, Nakamura Y. Discovery of imidazo[1,2-b]pyridazine derivatives: selective and orally available Mps1 (TTK) kinase inhibitors exhibiting remarkable antiproliferative activity. J Med Chem 58: 1760-1775, 2015. 査読有 DOI: 10.1021/jm501599u.

Ohshio Y, Teramoto K, Hanaoka J, Tezuka N, Itoh Y, Asai T, Daigo Y, Ogasawara K. Cancer-associated fibroblast-targeted strategy enhances antitumor immune responses in the dendritic cell-based vaccine. Cancer Sci 106: 134-142, 2015. 査読有 DOI: 10.1111/cas.12584.

Tomita Y, Yuno A, Tsukamoto H, Senju S, Kuroda Y, Hirayama M, Yatsuda J, Hamada A, Jono H, Irie A, Tsunoda T, Daigo Y, Kohroggi H, Yoshitake Y, Nakamura Y, Shinohara M, Nishimura Y. Identification of immunogenic LY6K long peptide encompassing both CD4₊ and CD8₊ T-cell epitopes and eliciting CD4₊ T-cell immunity in patients with malignant disease. Oncoimmunology 3: e28100, 2014. 査読有 URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>

/articles/PMC4203508/

Nishii T, Yokose T, Miyagi Y, Daigo Y, Ito H, Isaka T, Imai K, Murakami S, Kondo T, Saito H, Oshita F, Yamada K, Matsukuma S, Tsuboi M, Nakayama H, Masuda M. Clinicopathological features and EGFR gene mutation status in elderly patients with resected non-small-cell lung cancer. *BMC Cancer* 14: 610, 2014. 査読有
DOI: 10.1186/1471-2407-14-610.

Fujitomo T, Daigo Y, Matsuda K, Ueda K, Nakamura Y. Identification of a nuclear protein, LRRC42, involved in lung carcinogenesis. *Int J Oncol* 45: 147-156, 2014. 査読有
DOI: 10.3892/ijo.2014.2418.

Daigo Y, Takano A, Teramoto K, Chung S, Nakamura Y. A Systematic Approach to the Development of Novel Therapeutics for Lung Cancer using Genomic Analyses. *Clin Pharmacol Ther* 94: 218-223, 2013. 査読有
DOI: 10.1038/clpt.2013.90.

Oshita H, Nishino R, Takano A, Fujitomo T, Aragaki M, Kato T, Akiyama H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y, Daigo Y. RASEF is a novel diagnostic biomarker and a therapeutic target for lung cancer. *Mol Cancer Res* 11: 937-951, 2013. 査読有
DOI:10.1158/1541-7786.MCR-12-0685-T

Kamada Y, Kinoshita N, Tsuchiya Y, Kobayashi K, Fujii H, Terao N, Kamihagi K, Koyama N, Yamada S, Daigo Y, Nakamura Y, Taniguchi N, Miyoshi E. Reevaluation of a lectin antibody ELISA kit for measuring fucosylated haptoglobin in various conditions. *Clin Chim Acta* 417: 48-53, 2013. 査読有
DOI: 10.1016/j.cca.2012.12.014.

Kusakabe K, Ide N, Daigo Y, Tachibana Y, Itoh T, Yamamoto T, Hashizume H, Hato Y, Higashino K, Okano Y, Sato Y, Inoue M, Iguchi M, Kanazawa T, Ishioka Y, Dohi K, Kido Y, Sakamoto S, Yasuo K, Maeda M, Higaki M, Ueda K, Yoshizawa H, Baba Y, Shiota T, Murai H, Nakamura Y. Indazole-based Potent and Cell-Active Mps1 Kinase Inhibitors: Rational Design from Pan-Kinase Inhibitor Anthrapyrazolone

(SP600125). *J Med Chem* 56: 4343-4356, 2013. 査読有
DOI:10.1021/jm4000215.

Kogurea M, Takawa M, Cho HS, Toyokawa G, Hayashi K, Tsunoda T, Kobayashi T, Daigo Y, Sugiyama M, Atomi Y, Nakamura Y, Hamamoto R. Deregulation of the histone demethylase JMJD2A is involved in human carcinogenesis through regulation of the G1/S transition. *Cancer Lett* 336: 76-84, 2013. 査読有
DOI: 10.1016/j.canlet.2013.04.009

Shiraishi K, Kunitoh H, Daigo Y, Takahashi A, Goto K, Sakamoto H, Ohnami S, Shimada Y, Ashikawa K, Saito A, Watanabe S, Tsuta K, Kamatani N, Yoshida T, Nakamura Y, Yokota J, Kubo M, Kohno T. A genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for lung adenocarcinoma in the Japanese population. *Nature Genetics* 44: 900-903, 2012. 査読有
DOI: 10.1038/ng.2353.

Fujitomo T, Daigo Y, Matsuda K, Ueda K, Nakamura Y. Critical function for nuclear envelope protein TMEM209 in human pulmonary carcinogenesis. *Cancer Res* 72: 4110-4118, 2012. 査読有
DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0159.

Cho HS, Shimazu T, Toyokawa G, Daigo Y, Maehara Y, Hayami S, Ito A, Masuda K, Ikawa N, Field HI, Tsuchiya E, Ohnuma S, Ponder BA, Yoshida M, Nakamura Y, Hamamoto R. Enhanced HSP70 lysine methylation promotes proliferation of cancer cells through activation of Aurora kinase B. *Nature Communications* 3: 1072, 2012. 査読有
DOI: 10.1038/ncomms2074.

Nguyen MH, Ueda K, Nakamura Y, Daigo Y. Identification of a novel oncogene, MMS22L, involved in lung and esophageal carcinogenesis. *Int J Oncol* 41: 1285-1296, 2012. 査読有
DOI: 10.3892/ijo.2012.1589.

[学会発表](計13件)

Daigo Y, Nakamura Y. Characterization of Serine/Threonine phosphatase LAPP1 as a diagnostic and therapeutic target for lung cancer. The 11th International Conference on Protein Phosphatase,

2014.11.13, 仙台

醍醐弥太郎、中村祐輔「セリン・スレオニンフォスファターゼ LAPP1 の肺発がんにおける機能解析と診断・治療への応用」第 87 回日本生化学会大会シンポジウム, 2014.10.18, 京都

Daigo Y, Nakamura Y. Development of therapeutic cancer vaccine for lung cancer. 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association Symposium, 2014.9.25~27, 横浜

Daigo Y. Recent advances of cancer immunotherapy and future prospects towards personalized medicine. 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association Morning Lecture, 2014.9.25~27, 横浜

Daigo Y, Takano A, Teramoto K, Nakamura Y. Cancer Genomics-based Approach for Development of New Immunotherapeutics for Lung Cancers. 2014 ASCO Annual Meeting, 2014.5.29~6.2, McCormick Place Convention Center (Chicago, USA)

Daigo Y, Takano A, Nakamura Y. Ras and EF-hand domain containing as a novel tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer. 2014 AACR Annual Meeting, 2014.4.5~9, San Diego Convention Center (San Diego, USA)

醍醐 弥太郎、がんの分子病態研究に基づいた個別化医療開発、第 761 回千葉県がんセンター集談会, 2013.12.17, 千葉

Daigo Y, Nakamura Y. Development of new cancer peptide vaccine therapy against lung cancer. 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association Core Symposium, 2013.10.3~5, 横浜

Daigo Y, Nakamura Y. Development of therapeutic cancer peptide vaccines for lung cancer. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会ワークショップ, 2013.8.29~31, 仙台

Daigo Y, Takano A, Nakamura Y. Systematic approach for development of new immunotherapeutics for lung cancers through cancer genomics analysis. 2013 ASCO Annual Meeting, 2013.5.31~6.4, McCormick Place Convention Center (Chicago, USA)

Daigo Y, Takano A, Nakamura Y.

Epstein-Barr Virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer. 2013 AACR Annual Meeting, 2013.4.6~10, Walter E. Washington Convention Center (Washington, DC, USA)

Daigo Y. Development of new cancer peptide vaccine therapy against lung cancer. 第 10 回日本臨床腫瘍学会学術集会シンポジウム, 2012.7.26, 仙台

Daigo Y, Miki D, Nakamura Y. Genome-wide association study of lung cancer: Variation in TP63 gene confers the risk of lung adenocarcinoma. 2012 AACR Annual meeting, 2012.4.2, McCormick Place Convention Center (Chicago, USA)

〔図書〕(計7件)

醍醐 弥太郎、北隆館、BioClinica、2015、87

醍醐 弥太郎、科学評論社、雑誌 呼吸器内科、2014、74

醍醐 弥太郎、科学評論社、雑誌 腫瘍内科、2014、161

醍醐 弥太郎、呼吸研究、呼吸、2013、106

醍醐 弥太郎、日本薬学会、薬学雑誌フアルマシア、2013、98

醍醐 弥太郎、日本癌病態治療研究会、WWaves、2013、94

醍醐 弥太郎、日本臨床社、日本臨床、2012、180

〔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：
出願年月日：
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

醍醐 弥太郎 (DAIGO, Yataro)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号： 30345029

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：