

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月26日現在

機関番号：14301
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2016～2018
課題番号：16K10455
研究課題名(和文) 乳癌診療情報と基礎解析の統合データベースを用いた診療支援ツール開発に関する研究

研究課題名(英文) Development of tools to support clinical decision-making using integrated database of clinical information and basic research in patients with breast cancer

研究代表者
高田 正泰 (Takada, Masahiro)
京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：50452363
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Webを介し多施設から診療データを収集・管理するデータベースを開発した。10540例の乳癌診療データとそれに紐付けされた4021例分の生体試料を収集した。このリソースを用いて、乳癌発症と関連する病的胚細胞変異の探索と乳癌リスクモデルの構築、および、HER2陽性乳癌の術後再発および脳転移の発現を予測するモデルの構築を行った。
また、患者由来ゼノグラフトを作成し、HER3陽性乳癌に対する抗HER3抗体の抗腫瘍効果を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築した診療情報と生体試料を統合して管理するシステムにより、基礎研究から得られるデータと診療データとの統合解析が迅速・容易となる。本研究により本邦における乳癌と関連する病的胚細胞変異の頻度が明らかとなり、臨床情報と統合することで病的変異保有リスクや乳癌発症リスクの予測が可能となるかもしれない。また、HER2陽性乳癌の個々の症例における再発・脳転移発症リスクの予測が可能となることで、治療最適化が進められる。
発症頻度の比較的低い病態に対しては、患者由来ゼノグラフトを用いて治療反応性を検討することで、治療最適化に繋がると考える。

研究成果の概要(英文)：We developed a multi-institutional database which can collect the data through the Web. We collected clinical data of 10540 patients with breast cancer, and 4021 biological samples linked to the clinical information. Using this resource, we investigated germline mutations in patients with breast cancer and constructed a breast cancer risk model. We also developed mathematical models to predict the probability of post-operative recurrence and brain metastasis of HER2-positive breast cancer.
In addition, patient-derived xenografts were prepared to investigate the anti-tumor effect of anti-HER3 antibody against HER3-positive breast cancer.

研究分野：医歯薬学，外科系臨床医学，外科学一般

キーワード：乳腺外科学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床情報データベースは IT インフラ整備が進み、また、いくつかの施設ではバイオバンク事業が開始され基礎研究における重要なリソースとして期待されている。しかし、蓄積されてきた臨床データや生体試料をどのように臨床にフィードバックすべきか、という問題については検討が十分とは言えない。そこで、本研究では、京都大学とその関連病院で運用する大規模臨床データベースおよびバイオバンクを用いて、臨床情報と基礎研究の結果を統合したデータベースを構築し、高精度の予後予測・治療効果予測を可能とする診療支援ツールを開発・評価する。

(2) 高悪性度の希少な組織型の乳癌に対しては、治療効果予測が急務である。患者由来の腫瘍をマウスに移植して作成する Patient-derived xenograft (PDX) モデルは、腫瘍の動態解析、治療標的の探索、薬剤感受性に関する研究において今後が期待されている。PDX モデルによる薬剤感受性試験、分子レベルの解析結果をデータベースに統合し、治療の最適化を目指した検討を行う。

2. 研究の目的

(1) 診療データベースとバイオバンクリソースを用いた基礎研究により得られた遺伝子・蛋白発現解析結果を統合する。統合データベースを用いて病態・治療効果予測ツールを作成する。作成した予測ツールを前向きに評価し、得られたデータを用いて自動化システムにて予測ツールをアップデートし予測精度向上を図る。

(2) バイオバンクにエントリーされた特殊型乳癌、あるいはトリプルネガティブ乳癌症例を対象に、PDX モデルを樹立する。PDX モデルを用いて薬剤感受性試験を行い、腫瘍の遺伝子・蛋白質等の発現状態の変化と薬剤感受性との関係を解析し、結果をデータベースに統合する。また、この患者に再発イベントが発生した際に、薬剤感受性試験の結果を参考に保険診療内で用いる事が出来る薬剤の中から最も効果が期待できる薬剤を選択し治療効果を検討する。

3. 研究の方法

(1) 統合データベースの構築と予測ツールの確立

Web システムを介して診療情報データを収集するシステムを開発する。これにより、予後の情報がリアルタイムでアップデートされるようになる。収集されるデータは全て匿名化データである。

バイオバンクとして血液(血漿・血清)・尿が治療開始前、治療開始後と継続的に収集され、診療データと対応する匿名化にて管理されている。また、組織サンプルについては生検時・手術時に凍結標本およびホルマリン固定パラフィン包埋ブロックとして採取され保存されている。

こうして得られた生体試料を用い、遺伝子発現解析、タンパク発現解析、microRNA 解析、血中循環腫瘍細胞(CTC)解析、血中循環腫瘍 DNA 解析などを行う。これらの解析で得られた結果を、対応する診療情報と合わせて保管・管理するデータベースを新たに構築する。データベースは京都大学大学院医学研究科乳腺外科学教室内のサーバーで管理する。

申請者らが特許取得済みの予測ツール開発手法を用いて病態・治療効果予測ツールを作成する。具体的には、データマイニング手法を用いてアウトカムの予測性の変数の組み合わせを選択し、変数を組み合わせる数理モデルのパラメータを自動的に最適化する。予測対象とするアウトカムは、治療後の予後、ホルモン療法・化学療法・抗 HER2 療法の効果予測あるいは副作用など、を計画している。

作成された予測ツールを web 上で利用可能とする。新規に診療データベース・バイオバンクに登録された症例に対し、京都大学大学院医学研究科乳腺外科にて病態・治療効果を予測し結果を web 上に表示する。予測結果とその答えとなる実際の予後・治療効果の情報を用いて予測ツールの精度評価を前向きに行う。こうして新規に蓄積されてくるデータを用いて、予測ツールのアップデートを継続し精度向上を図る。アップデートは、申請者らが現在作開発を進めている自動化プログラムを用いて行う。

(2) PDX モデルを用いた治療最適化の検討

バイオバンクエントリー症例のうち、特殊型乳癌、あるいはトリプルネガティブ乳癌を診療データベースから抽出する。抽出された症例の新鮮組織サンプルから PDX モデルを作成し維持する。

PDX モデルを用いて薬剤感受性試験を行い、腫瘍の遺伝子・蛋白質等の発現状態の変化と薬剤感受性との関係を解析し、抽出できた治療効果予測因子候補に関して過去の術前化学療法症例・再発症例の臨床データ・生体試料を用いてレトロスペクティブにその予測効果を検討する。また、再発イベントが生じた際の再発治療の検討において、その症例に対して維持されている PDX モデルを用いて薬剤感受性に関する検討を行う。これらの解析は別プロジェクトで行い、その結果を本研究で構築するデータベースに統合する。

薬剤感受性試験に基づき治療法が選択された結果として、得られた実際の治療効果・予後を診療データベースにより前向きに収集する。収集されたデータを Historical control と対比し

その有用性を探索する。

4. 研究成果

(1) 統合データベースの構築

京都大学医学部附属病院およびその関連施設、計 19 施設から、10540 例の乳癌患者の診療データを集積し、診療データと紐付けされた血液・組織サンプルを 4021 例分収集した。予後情報の迅速・容易なアップデートを実現すべく、Web を介し診療データを集積するシステムの開発を行った。Web データベースは、現在、京都大学医学部附属病院と天理よろづ相談所病院にて試験運用中で、本年中に実運用へ移行する予定である。

(2) 乳癌発症と関連する病的胚細胞変異の探索と乳癌リスクモデルの構築

診療データと紐付けされた血液サンプルから抽出した DNA を用いて、2004 例の乳癌患者の生殖細胞系列の遺伝子変異について標的遺伝子シーケンスを行った。病的胚細胞変異は 105 例(5.2%)で認められ、最も多かったのは BRCA2 の 62 例であった。次いで、BRCA1 15 例、PALB2 9 例、CHEK2 4 例、TP53 4 例、PTEN 4 例であった。これらの遺伝子解析結果を臨床情報と統合しデータベース化した。統合解析の結果、発症年齢は生殖細胞系列に変異を有する症例で 54 歳と変異を有しない症例の 60 歳に比べて有意に若かった ($P < 0.0001$)。病的胚細胞変異を有する症例についてはバイオバンクに収集された腫瘍組織のシーケンスも行い、体細胞変異との関連も解析中である。

今後は臨床情報、遺伝子変異情報および健常者データの統合を進め、日本人の家族性および散发性乳癌における病的胚細胞変異の占める割合を明らかにするとともに、病的胚細胞変異を有する乳癌の臨床的特徴を明らかにし、日本人女性での病的変異保有リスクや乳癌発症リスクを予測するモデルの構築に取り組む。

(3) HER2 陽性乳癌の術後再発および脳転移の発現を予測するモデルの開発

診療データを用いて HER2 陽性乳癌の術前化学療法後の再発リスクを予測するモデルを開発し、論文発表を行った。抗 HER2 療法であるトラスツズマブを含む術前化学療法を施行された症例のコホートデータ(776 例)の診療情報から、術後 5 年以内の再発リスクを予測するモデル、および脳転移の発現リスクを予測するモデルを作成した。モデルの予測精度を表す ROC 曲線下面積(AUC)はそれぞれ 0.785, 0.871 と良好であった。また、病理学的完全奏効の有無やホルモン受容体ステータスと独立して予後の層別が可能であった(図 1)。近年、抗 HER2 療法であるペルツズマブが早期乳癌に対して保険承認となったが、再発リスクに応じて使い分けことが推奨されており、本予測モデルは適応の最適化に有用である可能性がある。また、HER2 陽性乳癌は他のサブタイプの乳癌と比較して、脳転移の発現が多いことが報告されている。本予測モデルにより、脳転移高リスク群の選別が可能となれば、サーベイランスや治療介入に関する検討が可能となるかも知れない。

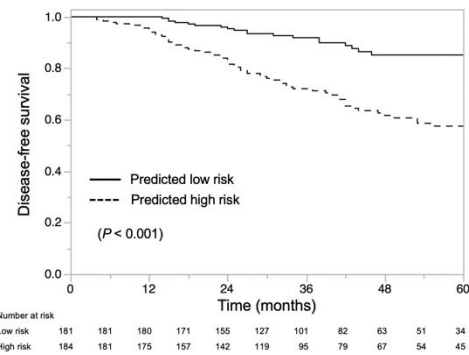


図1 病理学的完全奏効の得られなかった症例の予測モデルによる予後層別

同データと紐付けされた組織サンプルを用い Basal マーカー(EGFR, CK14, CK5/6)発現を測定し、診療情報との統合データから、予後との相関を検討した。その結果、Basal マーカー陽性症例は陰性症例と比較して予後が不良であった(図 2)。さらに、術前化学療法にて病理学的完全奏効の得られた症例における予後の層別が可能であった。この結果は、新規バイオマーカーを従来の診療情報と統合することで予後の予測性が向上することを示唆する。

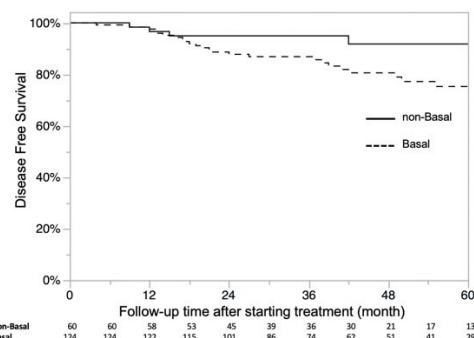


図2 Basalマーカーによる予後の層別

現在、Web システムを用いてモデルの予測能を検証する研究を計画している。

(4) PDX モデルを用いた治療最適化の検討

すでに樹立している患者由来ゼノグラフト (PDX: patient derived xenograft) 2 系統を用いて、同一患者由来の乳癌細胞と免疫細胞を有するヒト化 PDX モデルを作成し、HER3 陽性乳癌に対する抗 HER3 抗体の抗腫瘍効果を検討した。抗 HER3 抗体の投与により高い腫瘍縮小効果を認め、さらに抗腫瘍免疫に対する影響を評価するため切除した腫瘍および脾臓組織を免疫組織化学染色により解析した。腫瘍浸潤 T 細胞における CD137 発現が増強するなど抗 HER3 抗体が抗原特異的 T 細胞活性化を誘導することが示唆された。現在は、治療前後の乳癌細胞と免疫細胞

それぞれの遺伝子変異・発現の変化に注目することで、生体内でのこれらの細胞の相互作用を解明するための解析系を立ち上げているところであり、今後順次解析を行っていく予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

Takada M, Sugimoto M, Masuda N, Iwata H, Kuroi K, Yamashiro H, Ohno S, Ishiguro H, Inamoto T, Toi M. Prediction of postoperative disease-free survival and brain metastasis for HER2-positive breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab using a machine learning algorithm. *Breast Cancer Res Treat.* 査読有, 172(3), 2018, 611-618

doi: 10.1007/s10549-018-4958-9.

Sagara Y, Takada M, Ohi Y, Ohtani S, Kurozumi S, Inoue K, Kosaka Y, Hattori M, Yamashita T, Takao S, Sato N, Iwata H, Kurosumi M, Toi M. Effectiveness of neo-adjuvant systemic therapy with trastuzumab for basal HER2 type breast cancer: results from retrospective cohort study of Japan Breast Cancer Research Group (JBCRG)-C03. *Breast Cancer Res Treat.* 査読有, 171(3), 2018, 675-683.

doi: 10.1007/s10549-018-4873-0.

Takada M, Takeuchi M, Suzuki E, Sato F, Matsumoto Y, Torii M, Kawaguchi-Sakita N, Nishino H, Seo S, Hatano E, Toi M. Real-time navigation system for sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients using projection mapping with indocyanine green fluorescence. *Breast Cancer.* 査読有, 25(6), 2018, 650-655.

doi: 10.1007/s12282-018-0868-2.

Matsumoto Y, Asao Y, Sekiguchi H, Yoshikawa A, Ishii T, Nagae KI, Kobayashi S, Tsuge I, Saito S, Takada M, Ishida Y, Kataoka M, Sakurai T, Yagi T, Kabashima K, Suzuki S, Togashi K, Shiina T, Toi M. Visualising peripheral arterioles and venules through high-resolution and large-area photoacoustic imaging. *Sci Rep.* 査読有, 8(1), 2018, 14930.

doi: 10.1038/s41598-018-33255-8.

Yamaga I, Kawaguchi-Sakita N, Asao Y, Matsumoto Y, Yoshikawa A, Fukui T, Takada M, Kataoka M, Kawashima M, Fakhrejahani E, Kanao S, Nakayama Y, Tokiwa M, Torii M, Yagi T, Sakurai T, Haga H, Togashi K, Shiina T, Toi M. Vascular branching point counts using photoacoustic imaging in the superficial layer of the breast: A potential biomarker for breast cancer. *Photoacoustics.* 査読有, 11, 2018, 6-13.

doi: 10.1016/j.pacs.2018.06.002.

Fukushima A, Sugimoto M, Hiwa S, Hiroyasu T. Elastic net-based prediction of IFN-treatment response of patients with multiple sclerosis using time series microarray gene expression profiles. *Sci Rep.* 査読有, 9(1), 2019, 1822.

doi:10.1038/s41598-018-38441-2.

Kawanishi N, Hoshi N, Masahiro S, Enomoto A, Ota S, Kaneko M, Soga T, Tomita M, Kimoto K. Effects of inter-day and intra-day variation on salivary metabolomic profiles. *Clin Chim Acta.* 査読有, 489, 2018, 41-48.

Iuchi H, Sugimoto M, Tomita M. MICOP: Maximal information coefficient-based oscillation prediction to detect biological rhythms in proteomics data. *BMC Bioinformatics.* 査読有, 9(1), 2018, 249.

Nakajima T, Katsumata K, Kuwabara H, Soya R, Enomoto M, Ishizaki T, Tsuchida A, Mori M, Hiwatari K, Soga T, Tomita M, Sugimoto M, Urinary polyamine biomarker panels with machine-learning differentiated colorectal cancers, benign disease and healthy controls, *Int J Mol Sci,* 査読有, 19(3), 2018, 756.

Kumar N, Hoque A, Sugimoto M, Robust Volcano Plot: Identification of differential metabolites in the presence of outliers, *BMC Bioinformatics,* 査読有, 19(1), 2018, 128. doi: 10.1186/s12859-018-2117-2.

〔学会発表〕(計 8 件)

杉本昌弘, 高田正泰, 増田慎三, 岩田広治, 黒井克昌, 山城大泰, 大野真司, 石黒洋, 稲本俊, 戸井雅和, HER2陽性原発性乳癌の治療最適化 Trastuzumabを含む術前化学療法を施行された HER2陽性原発性乳癌の予後予測数理モデルの開発, 第26回日本乳癌学会総会, 2018年

服部正也, 相良安昭, 高田正泰, 大井恭代, 黒住昌史, 大谷彰一郎, 井上賢一, 高尾信太郎, 佐藤信昭, 山下年成, 小坂愉賢, 黒住献, 森田智視, 岩田広治, 戸井雅和, ER陰性HER2陽性乳癌における basal markerの有用性に関する研究, 第26回日本乳癌学会総会, 2018年

川口展子, 川田有希子, 仙田典子, 川島雅央, 鈴木栄治, 鳥井雅恵, 高田正泰, 山城大泰, 山神和彦, 芳林浩史, 岡村隆仁, 加藤大典, 森口喜生, 山内清明, 稲本俊, 戸井雅和, ネットワークにおけるバイオバンクを基盤とした遺伝性腫瘍の診療体制の構築に

向けた取り組み, 第 26 回日本乳癌学会総会, 2018 年

高田 正泰、竹内 恵、鈴木 栄治、佐藤 史顕、松本 純明、鳥井 雅恵、川口 展子、西野 裕人、瀬尾 智、波多野 悦朗、戸井 雅和, 蛍光色素法センチネルリンパ節生検におけるプロジェクトマッピングを用いたリアルタイムナビゲーション, 第 26 回日本乳癌学会総会, 2018 年

Yukiko Kawata, Kenichi Yoshida, Nobuko Kawaguchi-Sakita, Masahiro Kawashima, Yusuke Shiozawa, Tomomi Nishimura, Noriko Senda, Eiji Suzuki, Yuichi Shiraishi, Kenichi Chiba, Satoru Miyano, Masakazu Toi and Seishi Ogawa, 散発性及び家族性乳癌における遺伝性素因, 第 26 回日本乳癌学会学術総会, 2018 年

Yukiko Kawata, Kenichi Yoshida, Nobuko Kawaguchi-Sakita, Masahiro Kawashima, Yusuke Shiozawa, Tomomi Nishimura, Noriko Senda, Eiji Suzuki, Yuichi Shiraishi, Kenichi Chiba, Satoru Miyano, Masakazu Toi and Seishi Ogawa, Germline mutations in breast cancers of 2000 Japanese women, 第 77 回日本癌学会学術総会, 2018 年

仙田 典子、川口 展子、川田 有希子、川島 雅央、村上 弘美、山田 崇弘、戸井 雅和, BRCA1/2 変異予測モデルの日本人への適応について, 第 26 回日本乳癌学会総会, 2018 年

E. Suzuki, T. Kotake, T. Nishimura, A. Yamaguchi, F. Pu, M. Toi, atritumab (anti-HER3 antibody) augments anti-tumor immune response of adoptive transfer of autologous activated T cells for patient-derived xenograft models of breast cancer, 43rd ESMO Congress, 2018.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 杉本 昌弘

ローマ字氏名: Sugimoto Masahiro

所属研究機関名: 東京医科大学

部局名: 低侵襲医療開発総合センター/健康増進・先制医療応用部門

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 30458963

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 川田 有希子

ローマ字氏名: Kawata Yukiko

研究協力者氏名: 仙田 典子

ローマ字氏名: Senda Noriko

研究協力者氏名: 西村 友美

ローマ字氏名: Nishimura Tomomi

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、研究者個人に帰属されます。