

平成 21 年 4 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591611
 研究課題名（和文） EBUS-TBNA による生検組織の分子生物学的解析に基づく個別化治療法の開発
 研究課題名（英文） Tailor-made treatment for lung cancer using EBUS-TBNA

研究代表者
 鈴木 実（SUZUKI, MAKOTO）
 千葉大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：80312940

研究成果の概要：

EBUS-TBNA を 1000 例以上に施行し、それらの微量サンプルから DNA・RNA を抽出、基礎実験を行う系を確立した。突然変異解析、異常メチル化解析、RNA 発現解析、蛋白発現解析が可能となった。肺癌に対する EBUS-TBNA を取り入れた、治療戦略を確立し、臨床試験を開始した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2, 200, 000	660, 000	2, 860, 000
2008 年度	1, 300, 000	390, 000	1, 690, 000
年度			
年度			
年度			
総計	3, 500, 000	1, 050, 000	4, 550, 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、異常メチル化、遺伝子、外科

1. 研究開始当初の背景

コンベックス走査式超音波気管支鏡ガイド下生検（EBUS-TBNA）は、局所麻酔下で経気道的に気管・気管支周囲病変に対するリアルタイム生検を初めて可能とし、世界でも極めて先進的な医療である。本法による肺癌症例のリンパ節転移の診断率は、従来の非侵襲的な検査法と比較して有意に高く、また低侵襲でありながら縦隔鏡の診断率に匹敵する。

2. 研究の目的

本研究では、EBUS-TBNA によって得られた肺

門・縦隔リンパ節生検材料に対する複数の分子生物学的検討を行い、これらのプロファイルデータを構築することで、術前補助化学療法を必要とする症例や手術不応症例および肺癌術後再発症例に対する抗がん剤感受性および放射線感受性について、プロファイルデータをもとに予測できるシステムを構築し、実際に分子生物学的特徴に基づいた有効性の高い治療を選択・実施することで、進行肺癌の予後の改善を目指す。

3. 研究の方法

(1)EBUS-TBNA検体バンクの構築

●千葉大学医学部附属病院において原発性肺癌と診断された、本研究対象患者について、インフォームド・コンセントを行い、同意書を取得する。さらに対象症例の匿名化を行い、プライバシーの保護を行う。

●対象患者に通常の気管支鏡およびEBUS-TBNAを施行して、原発腫瘍ならびに縦隔・肺門リンパ節サンプルを採取し、ホルマリン固定とともに残りを凍結保存する。

(2)分子生物学的プロファイルデータの構築

●EBUS-TBNA サンプルから DNA と RNA を抽出する実験系の確立。DNA では、突然変異解析、異常メチル化解析を行った。RNA では、cDNA を作製して、発現解析を行った。

●ホルマリン固定標本に関しては、細胞周期調節や細胞分裂、組織低酸素、血管新生等に関連する蛋白の発現を免疫組織学的手法を用いて検討する。

(3)プロファイルデータと臨床情報の統合・解析

●解析を行った症例の総合的なプロファイルデータと、抗がん剤や放射線治療の種類とその反応、臨床背景、臨床病期、術後経過観察期間、再発の有無をチェックし、再発し追加治療を施行した場合にはその内容と反応に関しても確認する。

(4)分子生物学的検討に基づく、個別化治療の開発

●EBUS-TBNA検体の解析によって得られたプロファイルデータをもとに、実際の治療プロトコールを作成する。治療について同意の得られた症例を対象に、個々の特徴に合わせて、感受性が最も高いと予測される治療法を主体に、治療プロトコールを作成する。

(5)分子生物学的検討に基づく、個別化治療の開発

●EBUS-TBNA検体の解析によって得られたプロファイルデータをもとに、実際の治療プロトコールを作成する。治療について同意の得られた症例を対象に、個々の特徴に合わせて、感受性が最も高いと予測される治療法を主体に、治療プロトコールを作成する。

4. 研究成果

①EBUS-TBNA 検体バンクの構築:現在まで、肺癌症例に対する肺門・縦隔リンパ節転移診断目的にて約 1000 症例に対して

EBUS-TBNA を施行した。EBUS-TBNA サンプルから RNA を抽出し cDNA を得、同時に DNA も抽出した。遺伝子解析に耐えうる量および高品質の RNA、cDNA、DNA を安定して得ることのできる実験系を確立した。

②EBUS-TBNA 検体を用いた遺伝子変異解

析:EBUS-TBNA 検体を用いた遺伝子変異解析として、EGFR 遺伝子変異についての解析を行った。変異を有する症例では Gefitinib に対し高い感受性を示すことを報告した。

③EBUS-TBNA 検体を用いた DNA 異常メチル化解析:EBUS-TBNA 検体において異常メチル化の検出する実験系を確立した。

④EBUS-TBNA 検体を用いた免疫組織学的検討:EBUS-TBNA により得られたホルマリン固定標本を用いて、細胞周期調節、細胞分裂、組織低酸素、血管新生等に関連する蛋白発現を検討する実験系を確立した。

⑤約 1000 例の EBUS エコー所見から、転移リンパ節の特徴を、サイズ、内部エコー、形状等の観点から明らかにした。

⑥非小細胞肺癌症例に対し、EBUS-TBNA を行い、リンパ節転移症例を対象とした術前導入療法を行う、臨床試験を開始した。本研究の到達目標である個別化医療に寄与すると考えられる。

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 11 件)

1. Mohamed,S., Yasufuku,K., Nakajima,T., Hiroshima,K., Chiyo,M., Yoshida,S., Suzuki,M., Sekine,Y., Shibuya,K., Agamy,G., El-Shahhat,H., Fujisawa,T., Yoshino,I. Nuclear survivin in pN2 nonsmall cell lung cancer: prognostic and clinical implications. Eur Respir J. 2009;33(1):127-33.査読あり
2. Suzuki M., Ichiro Yoshino. Identification of microRNAs caused by DNA methylation that induce metastasis. Future Oncol. 2008;4(6):775-7.査読なし
3. Tian,L., Suzuki,M., Nakajima,T., Kubo,R., Sekine,Y., Shibuya,K., Hiroshima,K., Nakatani,Y., Fujisawa,T., Yoshino,I. Clinical significance of aberrant methylation of prostaglandin E receptor 2 (PTGER2) in nonsmall cell lung cancer: association with prognosis, PTGER2 expression, and epidermal growth factor receptor mutation. Cancer. 2008 ;113(6):1396-403.査読あり
4. Yamamoto,H., Shigematsu,H., Nomura,M., Lockwood,WW., Sato,M., Okumura,N., Soh,J., Suzuki,M., Wistuba,II., Fong,KM., Lee,H., Toyooka,S., Date,H., Lam,WL., Minna,JD., Gazdar,AF. PIK3CA Mutations and Copy Number Gains in Human Lung Cancers. Cancer Res. 2008; 68: 6913-21.査読あり
5. Suzuki,M., Mohamed,S., Nakajima,T., Kubo,R., Tian,L., Fujiwara,T., Suzuki,H.,

- Nagato,K., Chiyo,M., Motohashi,S., Yasufuku,K., Iyoda,A., Yoshida,S., Sekine,Y., Shibuya,K., Hiroshima,K., Nakatani,Y., Yoshino,I., Fujisawa,T.: Aberrant methylation of CXCL12 in non-small cell lung cancer is associated with unfavorable prognosis. *Int J Oncol.*;33(1):113-9, 2008.査読あり
6. Yasufuku,K., Nakajima,T., Fujiwara,T., Chiyo,M., Iyoda,A., Yoshida,S., Suzuki,M., Sekine,Y., Shibuya,K., Yoshino,I. Role of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in the management of lung cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 56(6):268-76, 2008.査読なし
7. Mohamed,S., Yasufuku,K., Nakajima,T., Hiroshima,K., Kubo,R., Iyoda,A., Yoshida,S., Suzuki,M., Sekine,Y., Shibuya,K., Farouk,A., Fujisawa,T. Analysis of cell cycle-related proteins in mediastinal lymph nodes of N2-NSCLC patients obtained by EBUS-TBNA: Relevance to chemotherapy response. *Thorax* 63(7):642-7, 2008.査読あり
8. Nakajima,T., Yasufuku,K., Iyoda,A., Yoshida,S., Suzuki,M., Sekine,Y., Shibuya,K., Hiroshima,K., Nakatani,Y., Fujisawa,T.: The evaluation of lymph node metastasis by EBUS-TBNA: crucial for selection of surgical candidates in metastatic lung tumors. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 134(6):1485-90, 2007. 査読あり
9. Suzuki,M., Shigematsu,H., Nakajima,T., Kubo,R., Motohashi,S., Sekine,Y., Shibuya,K., Iizasa,T., Hiroshima,K., Nakatani,Y., Gazdar,AF., Fujisawa,T.: Synchronous alterations of Wnt and EGFR signaling pathways through aberrant methylation and mutation in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 15;13(20):6087-92, 2007.査読あり
10. Nakajima,T., Yasufuku,Y., Suzuki,M., Hiroshima,K., Kubo,R., Mohamed,S., Miyagi,Y., Matsukuma,S., Sekine,Y., Fujisawa,T.: Assessment of epidermal growth factor receptor mutation by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Chest* 132(2):597-602, 2007.査読あり
11. Mohamed,S., Yasufuku,K., Hiroshima,K., Nakajima,T., Yoshida,S., Suzuki,M., Sekine,Y., Shibuya,K., Iizasa,T., Farouk,A., Fujisawa,T.: Prognostic implications of cell cycle-related proteins in primary resectable pathologic N2 nonsmall cell lung cancer. *Cancer* 15;109(12):2506-14, 2007.査読あり

[学会発表] (計 7 件)

- 鈴木実、和田啓伸、芳野充、田雷、重松久之、守屋康充、渋谷潔、吉田成利、田村創、藤原大樹、鈴木秀海、長門芳、星野英久、本橋新一郎、廣島健三、中谷行雄、吉野一郎 COPD 合併非小細胞肺癌における遺伝子異常メチル化プロファイルの検討 第 48 回日本肺癌学会総会、2008 年 11 月 13 日、北九州市。
- 鈴木実、芳野充、田雷、守屋康充、吉田成利、渋谷潔、星野英久、吉野一郎. 非小細胞肺癌における NMDAR2 発現調節機構と臨床的意義. 第 61 日本胸部外科学会定期学術集会、2008 年 10 月 13 日、福岡市。
- 田雷、鈴木実、中島崇裕、窪理英子、安福和弘、伊豫田明、吉田成利、関根康雄、渋谷潔、廣島健三、中谷行雄、藤澤武彦、吉野一郎. 非小細胞肺癌における Prostaglandin E Receptor 2 の異常メチル化と EGFR 変異の関係について. 第 25 回日本呼吸器外科学会総会、2008 年 5 月 30 日、宇都宮市。
- 鈴木実、中島崇裕、窪理英子、田雷、安福和弘、伊豫田明、吉田成利、関根康雄、渋谷潔、藤澤武彦、吉野一郎. 非小細胞肺癌における NMDAR2B の発現に関する検討 第 25 回日本呼吸器外科学会総会、2008 年 5 月 29 日、宇都宮市。
- 鈴木実、重松久之、中島崇裕、窪理恵子、本橋新一郎、関根康雄、渋谷潔、飯笹俊彦、廣島健三、中谷行雄、吉野一郎、藤澤武彦. 原発性非小細胞肺癌における Wnt シグナルと EGFR シグナルの同期的異常. 第 47 回日本肺癌学会総会、2007 年 11 月 8 日、名古屋市。
- 鈴木実、大平美紀、芳野充、重松久之、影山肇、飯笹俊彦、中川原章、木村秀樹: 肺癌における DNA ミスマッチ修復遺伝子発現低下が p53・EGFR 遺伝子変異に及ぼす影響について、第 47 回日本肺癌学会総会、2007 年 11 月 8 日、名古屋市。
- 鈴木実、飯笹俊彦、中島崇裕、窪理恵子、伊豫田明、廣島健三、中谷行雄、藤澤武彦: 肺癌における IL-12Rβ2 異常メチル化の検討、第 24 回日本呼吸器外科学会総会、2007 年 5 月 17 日、横浜。

[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

<http://www.ho.chiba-u.ac.jp/18/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 実 (Suzuki, Makoto)
千葉大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：80312940

(旧研究代表者)

安福 和弘 (Yasufuku, Kazuhiro)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60372356

(2) 研究分担者

藤原 大樹 (Fujiwara, Taiki)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：30451743
渋谷 潔 (Shibuya, Kiyoshi)
千葉大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20302565
関根 康雄 (Sekine, Yasuo)
千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：70312957
鈴木 実 (Suzuki, Makoto)
千葉大学・大学院医学研究院・助教
研究者番号：80312940
吉田 成利 (Yoshida, Shigetoshi)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：90334200
中島 崇裕 (Nakajima, Takahiro)
千葉大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：20400913
伊豫田 明 (Iyoda, Akira)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：
廣島 健三 (Hiroshima, Kenzo)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：80218833

(3) 連携研究者

渋谷 潔 (Shibuya, Kiyoshi)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：20302565
吉田 成利 (Yoshida, Shigetoshi)
千葉大学・大学院医学研究院・助教
研究者番号：90334200

廣島 健三 (Hiroshima, Kenzo)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：80218833
中島 崇裕 (Nakajima, Takahiro)
千葉県がんセンター・呼吸器科・医員
研究者番号：20400913