

## 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 25 年 5 月 13 日 現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591782

研究課題名（和文）前立腺がん患者免疫能のゲノム・エピゲノム解析

研究課題名（英文）Genomic and epigenetic analysis for immune responses in patients with prostate cancer

研究代表者

野口 正典（NOGUCHI MASANORI）

久留米大学・先端癌治療研究センター・教授

研究者番号：10140691

研究成果の概要（和文）：

前立腺がんはホルモン感受性であることや進行が比較的緩やかであること、抗がん剤抵抗性、更には、無症状で進行して病理解剖時に始めて検出されるなどの特性を有する。これらより、がん進行や予後には生体の免疫能が大きく関与していることが推察されている。そこで、前立腺がん患者におけるがん細胞に対する宿主免疫反応を検討し、更に進行がん症例への個別化治療への科学的根拠を得るために免疫能のゲノム解析を実施することを目的とした。初年度は、テラメイドペプチドワクチン療法を受けた去勢抵抗性前立腺がん患者の内、900 日以上生存できた Long-term survivor 20 例と 300 日以内に死亡した short-term survivor 20 例について、ワクチン投与前の末梢血中の各種サイトカイン、ケモカイン、グロースファクターの測定ならびにワクチン投与前後の末梢血単核中の遺伝子発現を cDNA マイクロアレイを用いて測定し両群間における発現パターンを比較検討した。昨年度は、引き続き前立腺がんに関して遺伝子発現プロファイル解析を行い、当初より生存期間と相関の認められる複数の遺伝子の再現性が確認された。本年度は、これまでに見いだした MDSC などに発現の認められる遺伝子群の他、別の特徴を持つ遺伝子群が新たに見いだされてきたため、検証を実施中である。SNP 解析はこれまでに見いだした遺伝子領域の解析が良好であったため、その更なる解析に重点を置いた。さらに、見出した SNP による診断キットを試作し、その評価に前立腺がん検体を中心に検体を拡充し、そのバイオマーカーとしての有用性について検証した。

研究成果の概要（英文）：

We characterized the gene expression profiles in peripheral blood of vaccinated patients to identify biomarkers to predict patient prognosis. Peripheral blood was obtained from advanced castration-resistant prostate cancer patients, who survived for >900 days (long-term survivors, n . 20) or died within 300 days (short-term survivors, n . 20) after treatment with personalized peptide vaccination. Gene expression profiles in prevaccination and postvaccination peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were assessed by DNA microarray. There were no statistically significant differences in the clinical or pathological features between the 2 groups. Microarray analysis of prevaccination PBMCs identified 19 genes that were differentially expressed between the short-term and long-term survivors. Among the 15 up-regulated genes in the short-term

survivors, 13 genes, which were also differentially expressed in postvaccination PBMCs, were associated with gene signatures of granulocytes. When a set of 4 differentially expressed genes were selected as the best combination to determine patient survival, prognosis was correctly predicted in 12 of 13 patients in a validation set (accuracy, 92%). These results suggested that abnormal granulocytes present in the PBMC fraction may contribute to poor prognosis in advanced prostate cancer patients receiving personalized peptide vaccination. Gene expression profiling in peripheral blood might thus be informative for devising better therapeutic strategies by predicting patient prognosis after cancer vaccines.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
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・泌尿器科学

キーワード：前立腺がん、がんワクチン、遺伝子発現、ゲノム解析、バイオマーカー

### 1. 研究開始当初の背景

前立腺がんはホルモン感受性であることや進行が比較的緩やかであること、抗がん剤抵抗性、更には、無症状で進行して病理解剖時に始めて検出されるなどの特性を有する。これらより、がん進行や予後には生体の免疫能が大きく関与していることが推察されている。しかしながら前立腺がん患者の免疫能を網羅的に解析した研究はこれまでに存在しない。一方、近年、前立腺がん細胞に関しては、ゲノム及びエピゲノムレベルでの研究が急速に進展して、予後予測の原因遺伝子群が次々と解明され、更にエピゲノム解析によりがん幹細胞増殖を制御する遺伝子群も解明されつつある。我々は最近、ゲノム及びエピゲノム解析技術を宿主免疫能解析に活用して興味深い結果を得た。即ち、これまでの9年間で臨床試験としてのテーラーメイドペプチドワクチン投与をうけた進行前立腺が

ん患者164例のなかから予後不良群(300日以内で死亡)20例と予後良好群(900日以上生存)20例のワクチン投与前の末梢血単核球からmRNAを抽出し21,215遺伝子の発現パターンを比較検討した。

その結果、約300遺伝子が2群間で統計学的有意に発現レベルが異なっていた。これらはペプチドワクチン無効例の投与前予測バイオマーカーとしての有用性のみならず、前立腺がん患者の免疫能を網羅的に解析する手法としても有用と想定される。即ち、予後良好群では免疫機能が温存されているためワクチン感受性である一方、不良群では免疫能が低下しているためにワクチン不応答であると想定される。

そこで、当該研究では、根治手術可能な早期がん患者と抗がん剤を含む標準治療抵抗性がん患者のサンプルを用いて、同様のアレイ

解析を実施して両群の免疫能をゲノム・エピゲノムレベルで解析する。

## 2. 研究の目的

前立腺がん患者におけるがん細胞に対する宿主免疫反応への理解を深め、更に進行がん症例への個別化治療への科学的根拠を得るために免疫能のゲノム・エピゲノム解析を実施する。

具体的には早期前立腺がん患者と抗がん剤を含む標準治療に抵抗性の高度進行前立腺がん患者の末梢血単核球 mRNAにおける遺伝子群の発現パターンを比較検討することにより、病態進行に伴うゲノム・エピゲノムレベルでの免疫関連遺伝子の変動を明らかにする。

## 3. 研究の方法

- 1)根治手術可能な前立腺がん患者 20 例(初期がん群)と抗がん剤(ドセタキセル)を含む標準治療抵抗性再燃前立腺がん患者 20 例(高度進行がん群)の末梢血単核球の mRNA抽出。
  - 2)上記サンプルをマイクロアレイシステム(イルミナ)を用いて、網羅的ゲノム遺伝子発現、フォーカス遺伝子発現を解析。
  - 3)上記発現プロファイルと標準治療抵抗性再燃前立腺がんワクチン治療予後別遺伝子発現プロファイルと比較検討。
- 1)-3)にて同定された候補遺伝子群の検証を新規のサンプルにて実施する。

## 4. 研究成果

テーラメイドペプチドワクチン療法を受けた去勢抵抗性前立腺がん患者の内、900 日以上生存できた Long-term survivor 20 例と 300 日以内に死亡した short-term survivor 20 例について、ワクチン投与前の末梢血中の各種サイトカイン、ケモカイン、グロースファクターの測定ならびにワクチン投与前後の末

梢血単核中の遺伝子発現を cDNA マイクロアレイを用いて測定し両群間における発現パターンを比較検討した。引き続き前立腺がんに関して遺伝子発現プロファイル解析を行い、当初より生存期間と相関の認められる複数の遺伝子の再現性が確認された。これまでに見いだした MDSC などに発現の認められる遺伝子群の他、別の特徴を持つ遺伝子群が新たに見いだされてきたため、検証を実施中である。SNP 解析はこれまでに見いだした遺伝子領域の解析が良好であったため、その更なる解析に重点を置いた。さらに、見出した SNP による診断キットを試作し、その評価に前立腺がん検体を中心に検体を拡充し、そのバイオマーカーとしての有用性について検証した。

## 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 10 件)

1. Noguchi M, Sasada T, Itoh K. Personalized peptide vaccination: a new approach for advanced cancer as therapeutic cancer vaccine. *Cancer Immunol Immunother* 62:919-929, 2013. (peer review)
2. Yamada A, Sasada T, Noguchi M, Itoh K. Next-generation peptide vaccines for advanced cancer. *Cancer Sci* 104: 15-21, 2013. (peer review)
3. Sasada T, Noguchi M, Yamada A, Itoh K. Personalized peptide vaccination: A novel immunotherapeutic approach for advanced cancer. *Hum Vaccin Immunother* 8(9): 1309-1313, 2012. (peer review)
4. Yoshiyama K, Terazaki Y, Matsueda S, Shichijo S, Noguchi M, Yamada A, Mine T, Ioji T, Itoh K, Shirouzu K, Sasada T, Takamori S. Personalized peptide vaccination in patients with refractory non-small cell lung cancer. *International Journal of Oncology* 40: 1492-1500, 2012. (peer review)
5. Komatsu N, Matsueda S, Tashiro K, Ioji

T, Shichijo S, Noguchi M, Suekane S, Moriya F, Matsuoka K, Kuhara S, Itoh K, Sasada T. Gene expression profiles in peripheral blood as a biomarker in cancer patients receiving peptide vaccination. Cancer 15: 3208-3221, 2012. (peer review)

6. Noguchi M, Moriya F, Suekane S, Matsuoka K, Arai G, Matsuoda S, Sasada T, Akira Yamada A, Itoh K. Phase II study of personalized peptide vaccination for castration-resistant prostate cancer patients who failed in docetaxel-based chemotherapy. Prostate 71:470-479, 2011. (peer review)

7. Yamada A, Noguchi M, Komatsu N, Suekane S, Yutani S, Moriya F, Mine T, Momozono K, Kawano K, Itoh K. Phase I clinical study of a personalized peptide vaccination available for six different human leukocyte antigen (HLA-A2, -A3, -A11, -A24, -A31 and -A33)-positive patients with advanced cancer. Experimental and therapeutic medicine 2:109-117, 2011. (peer review)

8. Matsumoto K, Noguchi M, Satoh T, Tabata K, Fujita T, Iwamura M, Yamada A, Komatsu N, Baba S, Itoh K. A phase I study of personalized peptide vaccination for advanced urothelial carcinoma patients who failed treatment with methotrexate, vinblastine, adriamycin and cisplatin. BJU Int 108:831-838, 2011. (peer review)

9. Noguchi M, Mine T, Komatsu N, Suekane S, Moriya F, Matsuoka K, Yutani S, Shichijo S, Yamada A, Toh Uhi, Kawano K, Azuma K, Uemura H, Okuno K, Matsumoto K, Yanagimoto H, Yamanaka R, Oka M, Todo S, Sasada T, Itoh K. Assessment of immunological biomarkers in patients with advanced cancer treated by personalized peptide vaccination. Cancer Biology & Therapy 12:1266-79, 2011. (peer review)

10. Noguchi M, Uemura H, Naito S, Akaza H, Yamada A, Itoh K. A phase I study of personalized peptide vaccination using 14 kinds of vaccine in combination with low-dose estramustine in HLA-A24-positive patients with castration-resistant prostate cancer. Prostate 71:470-9, 2011. (peer review)

[学会発表] (計 4 件)

1. Noguchi M, et al. Delayed PSA responses in personalized peptide vaccination for castration-resistant prostate cancer: Phase II study 2012 AUA Annual Meeting 2012年5月20日 Atolanta, USA

2. 野口正典、他 去勢抵抗性前立腺がんに対するペプチドワクチン療法の予後規定バイオマーカー: 中間解析 第49回日本癌治療学会学術集会 2011年10月29日、名古屋

3. Noguchi M, et al. Open-label phase II study evaluating the efficacy and safety of personalized peptide vaccination (PPV) in patients with castration-resistant prostate cancer (CRPC) 2011 AUA Annual Meeting 2011年5月17日, Washington DC, USA

4. 野口正典、他 進行癌に対するがんペプチドワクチン療法における免疫学的バイオマーカーの検討 第48回日本癌治療学会 2010年10月29日、京都国際会議場(京都)

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

1. 名称: がんの検査用試薬及び検査方法  
発明者: 伊東恭悟、野口正典、他  
権利者: 久留米大学  
種類: PCT/JP2012  
番号: 065993  
出願年月日: 平成 22 年 6 月 22 日  
国内外の別: 海外

2. 名称: 癌患者に対する免疫療法の治療効果および/または免疫療法後の予後の予測方法、ならびに該方法に用いる遺伝子セットおよびキット  
発明者: 伊東恭悟、野口正典、他  
権利者: 久留米大学  
種類: PCT/JP2010  
番号: 067088  
出願年月日: 平成 22 年 9 月 30 日  
国内外の別: 海外

3. 名称: 特異免疫機能診断キット  
発明者: 伊東恭悟、野口正典、他  
権利者: 久留米大学  
種類: (米国仮出願)  
番号: 61/500816  
出願年月日: 平成 23 年 6 月 24 日  
国内外の別: 海外

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med>

/sentanca/research/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野口 正典 (NOGUCHI MASANORI)  
久留米大学・先端癌治療研究センター・  
教授

研究者番号：10140691

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

小松 誠和 (KOMATSU MASAKAZU)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：50343687

(4) 研究協力者

守屋 普久子 (MORIYA FUKUKO)  
久留米大学・医学部・助手  
研究者番号：80449917