

201220045A

厚生労働科学研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業

遺伝子多型解析による乳癌ホルモン療法の有効性
及び副作用予測診断システムの確立

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 前 佛 均
平成25年(2013年)年3月

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

遺伝子多型解析による乳癌ホルモン療法の有効性
及び副作用予測診断システムの確立

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 前 佛 均

平成25年(2013年)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

遺伝子多型解析による乳癌ホルモン療法の有効性 及び副作用予測診断システムの確立	1
前佛 均	

II. 分担研究報告書

1. CYP2D6 遺伝子型と術前タモキシフェン治療効果の関係を 解明する前向き臨床研究	5
平田 公一	
2. 乳癌症例における予後予測に関する研究	8
中村 清吾	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	11
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	15
-----------------------	----

I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
〔総括〕・分担）研究報告書

遺伝子多型解析による乳癌ホルモン療法の有効性及び副作用予測診断システムの確立

研究代表者 前佛 均 札幌医科大学・道民医療推進学講座 特任講師

研究要旨

乳癌内分泌療法は効果的な治療法であるが、十分な薬剤効果が認められない症例も少なくない。本事業ではタモキシフェン治療の反応性と同薬剤の代謝酵素である CYP2D6 の遺伝子型などとの関係を検討し遺伝子診断による効果的な乳癌ホルモン療法を開発し乳癌再発率・死亡率の低下を目指す。

研究分担者

平田公一・札幌医科大学・教授
中村清吾・昭和大学・教授

A. 研究目的：

本研究ではタモキシフェン適応症例を対象とし、CYP2D6など後ろ向き試験の結果からタモキシフェンの有効性・副作用と関連する可能性が強い遺伝子多型について前向きに検証することで、臨床応用可能なタモキシフェン有効性診断、副作用診断システムの確立を目標とする。術前ホルモン治療が行われる症例を対象に血液検体より抽出されたゲノムDNAを用いてCYP2D6などのgenotypeを行い、治療反応性との関係を前向きに検討する。

B. 研究方法：

ホルモン受容体陽性乳癌を対象に術前タモキシフェン療法を行い、Ki-67値や組織学的効果とCYP2D6 遺伝子型（患者血液由来）などとの関係を検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は、札幌医科大学臨床研究審査委員会の承認を得て実施し、臨床検体の取り扱いについては同委員会の指針に従って行った。（承認番号 24-37）

C. 研究結果：

CYP2D6の遺伝子型とタモキシフェン治療効果の関係を証明し、CYP2D6の遺伝子型に応じたタモキシフェンの投与量調節や個別化投薬が有効な治療につながるのかを証明するための現実的な前向き臨床試験デザインについて多数の乳癌臨床医や臨床統計専門家を交えて会合を重ね議論を続けた。その結果当初予定していた術後タモキシフェン補助療法症例を対象として臨床試験を行った場合、観察期間が10年以上必要となり、実臨床への還元までに長期間を要してしまうため、本研究で

は術前タモキシフェン治療を受ける症例を対象とし、治療後の予後のsurrogate markerとして Ki-67 Labeling Indexの低下率を指標としCYP2D6 genotypeとの関連性を検討することとした。全国の医療機関の協力のもと研究計画書を作成し本臨床試験の運営委員会において承認を受け、各医療施設の倫理審査委員会における審議・承認を経て、平成24年7月から順次症例登録が開始されている。現在のところ、14医療機関が本臨床試験に参加しており、そのうち札幌医科大学外科学第一講座、札幌乳癌外科クリニック、医療法人東札幌病院乳癌外科、広域紋別病院外科、埼玉県立がんセンター乳癌外科、昭和大学医学部乳癌外科、相良病院乳癌科、Cancer Science Institute of Singapore, National University of Singapore、横浜市立大学附属市民総合医療センター乳癌甲状腺外科、中頭病院の10医療機関においてはすでに倫理審査委員会の承認が得られており、更に日本医科大学病院、横浜市立みなと赤十字病院乳癌外科、マラー工科大学（マレーシア）、マヒドン大学（タイ）の4機関で倫理審査委員会での審議予定となっている。現在のところ、本試験の登録症例数は約80例であるが、協力医療機関の年間乳癌手術件数の合計は3,000例以上に達するため、期間内に300症例を目標に登録する予定である。

これまでにCYP2D6のgenotyping、Ki-67 Labeling Index測定を行った症例を用いて行われた解析結果について以下に項目別に記す。

①CYP2D6 Genotype 頻度

*1/*1: 50%, *1/*10: 41.7%, *1/*5: 8.3% であった。

② CYP2D6 アレル頻度

*1: 75%, *10: 20.8%, *5: 4.2%であった。

①のgenotype頻度の結果とともに、これまでに報告されてきた大規模日本人集団を用いた際のgenotype頻度、アレル頻度と若干の乖離はあるが、現在のところサンプルサイズが不十分なため、今後登録症例数が増加するにつれて過去の報告における結果に近づいていくものと考えられる。

③ Ki-67 Labeling Index

1.生検検体(術前タモキシフェン治療前)における平均Labeling Index: 28.0% (3.44% - 78.9%)

2.手術摘出標本(術前タモキシフェン治療後)における平均Labeling Index: 15.3% (0.51% - 83.5%)

3.術前タモキシフェン治療によるLabeling Index 平均低下率: 12.8% (-5.48% - 62.1%)

2週~4週間の術前タモキシフェン治療により有意にKi-67 Labeling indexが低下する結果となった(P = 0.037)。

④ 臨床効果(超音波断層撮影による腫瘍サイズの変化)

1.術前タモキシフェン治療前における平均長径: 11.1mm (7.8mm - 17.1mm)

2.術前タモキシフェン治療後における平均長径: 9.15mm (7.1mm - 12.9mm)

3.術前タモキシフェン治療前における平均短径: 7.15mm (5.3mm - 8.3mm)

4.術前タモキシフェン治療後における平均短径: 6.1mm (5.0mm - 7.0mm)

5.術前タモキシフェン治療による平均縮小率(2方向測定): 31.5% (14.1% - 56.3%)

2週~4週間の術前タモキシフェン治療により腫瘍サイズが低下する傾向を認めた(P = 0.086)

⑤ CYP2D6 genotypeとKi-67 Labeling Indexの関連

CYP2D6 *1を酵素活性正常型(wt)、CYP2D6 *10, *5を酵素活性低下・消失型(*V)アレルとして、CYP2D6 wt/wtとCYP2D6 wt/*Vの間でKi-67 Labeling Index低下率を比較したが統計学的有意な関連は現在のところ認められていない(P=0.25)。

D. 考察:

これまでの後ろ向き試験の報告でも正常型のホモ(CYP2D6 wt/wt)とヘテロ(CYP2D6 wt/*V)の2群間ではタモキシフェン治療後の無再発生存率において有意差を認めていないことから、今回の結果は過去の報告と矛盾するものではないものの、今後登録症例数を増やし活性消失型ホモ(CYP2D6 *V/*V)を加えて検討していくことが必要と考えられる。

乳癌ホルモン治療の有効性や副作用があらかじめ診断可能になることにより、一人一人の乳癌患者にとってより適切な治療、つまり効果的かつ副作用の少ない治療を提供することが可能になると考えられる。これにより現在本邦における悪性腫瘍の中で女性が最も罹患しやすくかつ増加傾向にある乳癌に対する根治率を高めることが期待でき、また乳癌は他の癌に比べると比較的若年者に多くみられる疾患であることから、本研究成果が臨床応用された場合、乳癌治療後の生存率向上による労働人口の確保にもつながるものと考えられる。さらに現在閉経後乳癌のホルモン治療として、薬価の高いアロマターゼ阻害剤が用いられており、平均的な投薬期間である3-5年間の同薬剤による内服治療が経済的に

も困難である場合が少なくないが、本研究成果によりタモキシフェンが十分効果的であることが予測される症例に対しては安価な薬剤であるタモキシフェンを用いることにより、乳癌患者の経済的負担を軽減することが可能になるものと期待される。本邦の医療費を考慮した場合においても、現在年間約368億円の乳癌ホルモン剤治療費が使われているが、タモキシフェンの治療効果を予測し、有効な症例にのみ安価なタモキシフェンを用いた場合約253億円にまで治療費が抑制可能になるものと考えられ、年間115億円の医療費削減効果が期待される。

タモキシフェンの薬理遺伝学に関する国際共同研究として、米国Mayo Clinicを中心に7カ国20施設からなるInternational Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium (ITPC)が存在するが、このコンソーシアムにおいて約5,000例のタモキシフェン治療症例を集積して解析を進めており、本研究の成果とこれらの大規模集団のデータの照合も行う予定である。またシンガポール国立大学も本試験に参加しており、タイのマヒドン大学およびマレーシアのマラ工科大学も本試験に参加を表明しており、本研究成果は我が国のみならず類似した遺伝子多型頻度を有するアジア諸国の医療経済にも影響を与え国際貢献にもつながるものと考えられる。

E. 結論:

これまでの研究成果より、2週間のタモキシフェン治療によりKi-67 labeling Indexの有意な低下を認めており、タモキシフェン治療効果のsurrogate markerとして有用となる可能性が示唆された。今後、登録症例数を増やしPrimary EndpointであるCYP2D6のgenotypeとKi-67 Labeling Indexの変動との関係を解析する必要がある。

F. 健康危険情報:

特記事項なし

G. 研究発表 :

1. 論文発表

- 1: Wheeler HE, Gamazon ER, Wing C, Njiaju UO, Njoku C, Baldwin RM, Owzar K, Jiang C, Watson D, Shterev I, Kubo M, Zembutsu H, Winer EP, Hudis CA, Shulman L, Nakamura Y, Ratain MJ, Kroetz D, Cox NJ, Dolan ME. Integration of cell line and clinical trial genome-wide analyses supports a polygenic architecture of paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy. *Clin Cancer Res*. 2013 Jan 15;19(2):491-9.
- 2: Nyholt DR, Low SK, Anderson CA, Painter JN, Uno S, Morris AP, Macgregor S, Gordon SD, Henders AK, Martin NG, Attia J, Holliday EG, McEvoy M, Scott RJ, Kennedy SH, Treloar SA, Missmer SA, Adachi S, Tanaka K, Nakamura Y, Zondervan KT, Zembutsu H, Montgomery GW. Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. *Nat Genet*. 2012 Oct 28;44(12):1355-9.
- 3: Elgazzar S, Zembutsu H, Takahashi A, Kubo M, Aki F, Hirata K, Takatsuka Y, Okazaki M, Ohsumi S, Yamakawa T, Sasa M, Katagiri T, Miki Y, Nakamura Y. A Genome-wide association study identifies a genetic variant in the SIAH2 locus associated with hormonal receptor-positive breast cancer in Japanese. *J Hum Genet*. 2012 Dec;57(12):766-71.
- 4: Baldwin RM, Owzar K, Zembutsu H, Chhibber A, Kubo M, Jiang C, Watson D, Eclor RJ, Mefford J, McLeod HL, Friedman PN, Hudis CA, Winer EP, Jorgenson EM, Witte JS, Shulman LN, Nakamura Y, Ratain MJ, Kroetz DL. A genome-wide association study identifies novel loci for paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy in CALGB 40101. *Clin Cancer Res*. 2012 Sep 15;18(18):5099-109.
- 5: Cha PC, Zembutsu H, Takahashi A, Kubo M, Kamatani N, Nakamura Y. A genome-wide association study identifies SNP in DCC is associated with gallbladder cancer in the Japanese population. *J Hum Genet*. 2012 Apr;57(4):235-7.
- 6: Kiyotani K, Uno S, Mushiroda T, Takahashi A, Kubo M, Mitsuhata N, Ina S, Kihara C, Kimura Y, Yamaue H, Hirata K, Nakamura Y, Zembutsu H. A genome-wide association study identifies four genetic

markers for hematological toxicities in cancer patients receiving gemcitabine therapy. *Pharmacogenet Genomics*. 2012 Apr; 22(4):229-35.

- 7: Low SK, Takahashi A, Cha PC, Zembutsu H, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA. *Hum Mol Genet*. 2012 May 1;21(9):2102-10.
 - 8: Kiyotani K, Mushiroda T, Tsunoda T, Morizono T, Hosono N, Kubo M, Tanigawara Y, Imamura CK, Flockhart DA, Aki F, Hirata K, Takatsuka Y, Okazaki M, Ohsumi S, Yamakawa T, Sasa M, Nakamura Y, Zembutsu H. A genome-wide association study identifies locus at 10q22 associated with clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients in Japanese. *Hum Mol Genet*. 2012 Apr 1;21(7):1665-72.
 - 9: ゲノムワイド関連解析によるジェムシタビン副作用関連遺伝子の同定、前佛 均、清谷 一馬、宇野 智子、木村 康利、筵田 泰誠、光畑 直喜、伊奈 志乃美、鬼原 史、山上 裕機、平田 公一、中村 祐輔、胆と膝(0388-9408)34巻2号 Page143-148(2013.02)
 - 10: CYP2D6遺伝子多型によるTAM投与量調節治療、笹 三徳、清谷 一馬、筵田 泰誠、今村 知世、谷川原 佑介、細野 直哉、前佛 均、中村 祐輔、日本乳癌学会総会プログラム抄録集第20回 Page 273 (2012.05)
2. 学会発表
- 1: ゲノムワイド関連解析によるジェムザール副作用関連遺伝子の同定、前佛 均、清谷 一馬、宇野 智子、筵田 泰誠、光畑 直喜、木村 康利、山上 裕機、平田 公一、中村 祐輔、日本人類遺伝学会 第57回大会、東京(2012.10)
 - 2: ゲノムワイド関連解析による膵癌発症関連遺伝子およびジェムシタビン副作用関連遺伝子の同定、前佛 均、口羽 文、Siew-Kee Low, 清谷 一馬、宇野 智子、筵田 泰誠、久保 充明、平田 公一、木村 康利、山上 裕機、吉田 輝彦、坂本 裕美、中村 祐輔、第71回日本癌学会学術総会、札幌市(2012.09)
 - 3: 局所浸潤性膀胱癌に対するネオアジュバント療法感受性予測前向き試験、加藤 陽一郎、前佛

均、高田 亮、岩崎 一洋、小原 航、角田 達彦、
中村 祐輔、藤岡 知昭、第71回日本癌学会学術
総会、札幌市(2012.09)

4: 遺伝子発現プロファイルに基づく乳がん術前化
学療法感受性予測システムの構築、鈴木 やす
よ、前佛 均、西舘 敏彦、植木 知身、九富 五
郎、高丸 智子、平田 公一、第71回日本癌学会
学術総会、札幌市 (2012.09)

5: 遺伝子診断による乳癌オーダーメイド医療、前
佛 均、平田 公一、安井 寛、神津 英至、和田
卓郎、第3回日本プライマリ・ケア連合学会学
術大会、福岡市 (2012.9.2)

6: CYP2D6遺伝子多型によるTAM投与量調節治療、
笹 三徳、清谷 一馬、笹田 泰誠、今村 知世、
谷川原 佑介、細野 直哉、前佛 均、中村 祐輔、
第20回日本乳癌学会総会、熊本市 (2012.06)

H. 知的財産権の出願・登録状況：
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
（総括・分担）研究報告書

CYP2D6 遺伝子型と術前タモキシフェン治療効果の関係を解明する前向き臨床研究

研究代表者 平田 公一 札幌医科大学・外科学第一講座 教授

研究要旨

血液検体を用いて CYP2D6 遺伝子型がホルモンレセプター陽性乳がん患者における術前タモキシフェン療法に対する反応性に与える影響を前向きに検討する。

A. 研究目的：

タモキシフェンの反応性と同薬剤代謝酵素 CYP2D6 などの遺伝子型との関係を前向きに検証し、臨床応用可能な薬剤反応性診断システムを確立することで乳癌再発率・死亡率を低下させ、労働人口の確保につなげること。

B. 研究方法：

ホルモン受容体陽性乳癌を対象に、本試験の適格基準である、①ER陽性(10%以上のER陽性細胞を有する)、②Stage IIIA以下の浸潤性乳がん、③Her-2陰性などを満たした症例に対し、本試験の十分な説明を行い、同意の得られた症例を本試験に登録する。術前タモキシフェン療法を行い、Ki-67値や組織学的効果とCYP2D6 遺伝子型（患者血液由来）などとの関係を検討する。

（倫理面への配慮）

本研究への参加はあくまで自由意思であることを説明し、不参加による患者-医師を含む医療従事者との関係に影響は全くないことを説明する。同意撤回はいつでも表明することができ、同意撤回書に署名の上医療機関担当者に書類を提出する。可能な限り他の検査目的で採血を要すると判断した際に本研究用の採血を同時に行うように配慮する。本研究における身体的な危険は5mlの採血だけであり、健康上無視できる範囲である。個人識別情報は、個人情報管理者により研究協力施設にて管理され、研究実施機関には情報の伝達は行われない。個人情報管理者は、患者に対して独自のIDを付与し、病院での患者ID、患者氏名、住所、電話番号、生年月日を削除する連結可能匿名化を行う。また、本研究は、札幌医科大学臨床研究審査委員会の承認を得て実施し、個人情報および臨床検体の取り扱いについては同委員会の指針に従う。

（承認番号24-37）

C. 研究結果：

札幌医科大学におけるゲノム倫理審査委員会、およびIRBにて本試験について審議を行い、承認を得ることができた。2012年7月より試験登録を開始し、できるだけ多くの適格症例を登録する

ように配慮した。現在のところ、Informed Consent取得率は100%であり、脱落症例も存在していない。これまで登録した症例の臨床効果（超音波断層撮影による腫瘍サイズの変化）については、

- 1.術前タモキシフェン治療前における平均長径：11.1mm (7.8mm - 17.1mm)
 - 2.術前タモキシフェン治療後における平均長径：9.15mm (7.1mm - 12.9mm)
 - 3.術前タモキシフェン治療前における平均短径：7.15mm (5.3mm - 8.3mm)
 - 4.術前タモキシフェン治療後における平均短径：6.1mm (5.0mm - 7.0mm)
 - 5.術前タモキシフェン治療による平均縮小率(2方向測定)：31.5% (14.1% - 56.3%)
- であり、2週～4週間の術前タモキシフェン治療により腫瘍サイズが低下する傾向を認めた (P = 0.086)

D. 考察：

当院における手術待機期間を利用した臨床試験であるため、患者の理解を得られやすく、副作用が発現する可能性も低いことから、Informed Consent取得率が100%に達したものと考えられる。術前タモキシフェン治療を2-4週行うことでも超音波検査上、腫瘍サイズの縮小を示す傾向を認めたが、更に症例数を増やして検討する必要があるものと考えられた。

E. 結論：

今後更に積極的に登録症例数を増やしていくことで、腫瘍評価項目であるCYP2D6のgenotypeとKi-67 Labeling Indexの変動との関係を解析する必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Prognosis and Predictors of Surgical Complications in Hepatocellular Carcinoma Patients With or Without Cirrhosis after Hepatectomy. Mizuguchi T, Kawamoto M, Meguro M, Nakamura Y, Ota S, Hui TT, Hirata K. *World J Surg*. 2013 Mar 12. in press.
 2. A phase II study of neoadjuvant combination chemotherapy with docetaxel, cisplatin, and S-1 for locally advanced resectable gastric cancer: nucleotide excision repair (NER) as potential chemoresistance marker. Hirakawa M, Sato Y, Ohnuma H, Takayama T, Sagawa T, Nobuoka T, Harada K, Miyamoto H, Sato Y, Takahashi Y, Katsuki S, Hirayama M, Takahashi M, Ono M, Maeda M, Takada K, Hayashi T, Sato T, Miyanishi K, Takimoto R, Kobune M, Hirata K, Kato J. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013 Mar;71(3):789-97.
 3. Expression and function of FERMT genes in colon carcinoma cells. Kiriya Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Kubo T, Tamura Y, Kanaseki T, Takahashi A, Nakazawa E, Saka E, Ragnarsson C, Nakatsugawa M, Inoda S, Asanuma H, Takasu H, Hasegawa T, Yasoshima T, Hirata K, Sato N. *Anticancer Res*. 2013 Jan;33(1):167-73.
 4. Alterations in the human epidermal growth factor receptor 2-phosphatidylinositol 3-kinase-v-Akt pathway in gastric cancer. Sukawa Y, Yamamoto H, Nosho K, Kunimoto H, Suzuki H, Adachi Y, Nakazawa M, Nobuoka T, Kawayama M, Mikami M, Matsuno T, Hasegawa T, Hirata K, Imai K, Shinomura Y. *World J Gastroenterol*. 2012 Dec 7;18(45):6577-86.
 5. Treatment of pancreatic fibrosis with siRNA against a collagen-specific chaperone in vitamin A-coupled liposomes. Ishiwatari H, Sato Y, Murase K, Yoneda A, Fujita R, Nishita H, Birukawa NK, Hayashi T, Sato T, Miyanishi K, Takimoto R, Kobune M, Ota S, Kimura Y, Hirata K, Kato J, Niitsu Y. *Gut*. 2012 Nov 20. in press.
 6. Immunotherapeutic benefit of α -interferon (IFN α) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients. Kameshima H, Tsuruma T, Kutomi G, Shima H, Iwayama Y, Kimura Y, Imamura M, Torigoe T, Takahashi A, Hirohashi Y, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sato N, Hirata K. *Cancer Sci*. 2013 Jan;104(1):124-9.
 7. Zoledronic acid but not somatostatin analogs exerts anti-tumor effects in a model of murine prostatic neuroendocrine carcinoma of the development of castration-resistant prostate cancer. Hashimoto K, Masumori N, Tanaka T, Maeda T, Kobayashi K, Kitamura H, Hirata K, Tsukamoto T. *Prostate*. 2012 Sep 19. in press.
 8. Differentiation capacity of hepatic stem/progenitor cells isolated from D-galactosamine-treated rat livers. Ichinohe N, Tanimizu N, Ooe H, Nakamura Y, Mizuguchi T, Kon J, Hirata K, Mitaka T. *Hepatology*. 2013 Mar;57(3):1192-202.
 9. Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity. Tamura Y, Torigoe T, Kukita K, Saito K, Okuya K, Kutomi G, Hirata K, Sato N. *Immunotherapy*. 2012 Aug;4(8):841-52.
 10. Heat shock enhances the expression of cytotoxic granule proteins and augments the activities of tumor-associated antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. Takahashi A, Torigoe T, Tamura Y, Kanaseki T, Tsukahara T, Sasaki Y, Kameshima H, Tsuruma T, Hirata K, Tokino T, Hirohashi Y, Sato N. *Cell Stress Chaperones*. 2012 Nov;17(6):757-63.
 11. Genome-wide analysis of DNA methylation identifies novel cancer-related genes in hepatocellular carcinoma. Shitani M, Sasaki S, Akutsu N, Takagi H, Suzuki H, Nojima M, Yamamoto H, Tokino T, Hirata K, Imai K, Toyota M, Shinomura Y. *Tumour Biol*. 2012 Oct;33(5):1307-17.
2. 学会発表
 - 1: ゲノムワイド関連解析によるジェムザール副作用関連遺伝子の同定、前佛 均、清谷 一馬、宇野 智子、筵田 泰誠、光畑 直喜、木村 康利、山上 裕機、平田 公一、中村 祐輔、日本人類遺伝学会 第57回大会、東京(2012.10)
 - 2: ゲノムワイド関連解析による膵癌発症関連遺伝子およびジェムシタピン副作用関連遺伝子の同定、前佛 均、口羽 文、Siew-Kee Low、清谷 一馬、宇野 智子、筵田 泰誠、久保 充明、平田 公一、木村 康利、山上 裕機、吉田 輝

彦、坂本 裕美、中村 祐輔、第71回日本癌学会学術総会、札幌市(2012.09)

3: 遺伝子発現プロファイルに基づく乳がん術前化学療法感受性予測システムの構築、鈴木 やすよ、前佛 均、西舘 敏彦、植木 知身、九富五郎、高丸 智子、平田 公一、第71回日本癌学会学術総会、札幌市 (2012.09)

4: 遺伝子診断による乳癌オーダーメイド医療、前佛 均、平田 公一、安井 寛、神津 英至、和田 卓郎、第3回日本プライマリ・ケア連合学会学術大会、福岡市 (2012.9.2)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
（総括・分担）研究報告書

乳癌症例における予後予測に関する研究

研究分担者 中村清吾 昭和大学・医学部 教授
研究協力者 明石定子 昭和大学・医学部 准教授

研究要旨

早期乳癌（非浸潤癌）の中で将来浸潤癌に移行しない乳癌と、早期に浸潤を来す乳癌と
か鑑別可能となれば、効果的な乳癌検診、非手術の選択肢などの可能性がある。今回その
予測可能なバイオマーカー候補であるオンコタイプ DCIS で検討したが、非浸潤癌におけ
る浸潤の有無との相関は認めなかった。

A. 研究目的：

マンモグラフィ検診で見つけている一定の割合の
非浸潤癌は将来浸潤癌に移行しない可能性が指摘
されている。非浸潤癌を同定できれば、将来これ
らの非浸潤癌には手術で対応可能となるかもしれ
ない。浸潤癌に移行しない非浸潤癌を予測できる
可能性のあるバイオマーカー（オンコタイプDCIS
など）を検索する。これにより診断精度を向上さ
せ、効果的な検診の導入と乳癌再発率・死亡率を
低下させ、労働人口の確保につなげること。

B. 研究方法：

術前の針生検で非浸潤癌と診断された検体を用い
てオンコタイプ DCISを測定し、DCISスコアと手
術検体における浸潤傾向とに相関を認めるか検証
した。

（倫理面への配慮）

本研究は倫理委員会にて承認済みである。
通常の診療において採取した病理検体に対し
ての再検査であり、患者本人にはなんら危害、
不利益を与えるものではない。試験はホーム
ページ上に掲載した。検査実施に当たり連結
匿名化を実施した。

C. 研究結果：

微小浸潤の有無と DCIS スコアの間には関連を見
出せなかった。

D. 考察：

オンコタイプDCISは非浸潤癌の乳房内再発予測
するマーカーとして開発された。今回は少数例で
の検討であったが、残念ながら非浸潤癌の浸潤癌
への移行 は予測不可能であった。

E. 結論：

針生検でのオンコタイプDCISを測定することによ
り微小浸潤の予測可能か検討したが、少数例での結
果ではあるが今回はその傾向はみとめなかった。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Axillary lymph node dissection in sentinel node positive breast cancer: is it necessary? Nakamura S. Curr Opin Obstet Gynecol. 2013 Feb 19.
2. Analysis of Ki-67 expression with neoadjuvant anastrozole or tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer. Iwata H, Masuda N, Sagara Y, Kinoshita T, Nakamura S, Yanagita Y, Nishimura R, Iwase H, Kamigaki S, Takei H, Tsuda H, Hayashi N, Noguchi S. Cancer. 2013 Feb 15;119(4):704-13.
3. Preoperative CT evaluation of intraductal spread of breast cancer and surgical treatment. Akashi-Tanaka S. Breast Cancer. 2013 Jan;20(1):21-5. doi: 10.1007/s12282-011-0306-1. Epub 2011 Dec 10.
4. 術前化学療法(NAC)前 cN0 乳癌に対する NAC 後センチネルリンパ節生検(SNB)の成績(会議録)、桑山 隆志、山内 英子、矢形 寛、吉田 敦、林 直輝、鈴木 高祐、中村 清吾、日本乳癌学会総会プログラム抄録集 20 回 Page322(2012.05)
5. ER(+), HER2(-)、腋下リンパ節転移陽性乳癌における Ki67 値とリンパ節浸潤の検討(会議録) 沢田 晃暢、内田 諭子、繁永 礼奈、大山 宗土、鈴木 研也、榎戸 克年、広田 由子、廣瀬 正典、明石 定子、中村 清吾、日本乳癌学会総会プログラム抄録集 20 回 Page298(2012.05)

6. 【がん薬物治療を考える】乳癌の薬物療法（解説
/特集） 中村 清吾、クリニシアン(0387-1541)59
巻 6 号 Page504-509(2012.06)

2. 学会発表

第21回日本乳癌学会学術集会,
2013/6/27-29 浜松 ポスター

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Hitoshi Zembutsu	Tamoxifen Pharmacogenetics.		Tamoxifen Pharmacogenetics.	The McGraw-Hill Companies		2013	In press
明石定子	乳がんの化学予防	戸井雅和	インフォームドコンセントのための図説シリーズ 乳がん薬物療法 第2版	医薬ジャーナル社	大阪	2012	42 ～ 47

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Wheeler HE, Gamazon ER, Zembutsu H, et al.	Integration of cell line and clinical trial genome-wide analyses supports a polygenic architecture of paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy.	Clin Cancer Res.	19巻2号	491 ～ 499	2013
Nyholt DR, Low SK, Zembutsu H, et al.	Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci.	Nat Genet.	44巻12号	1355 ～ 1359	2012
Elgazzar S, Zembutsu H, et al.	A Genome-wide association study identifies a genetic variant in the SIAH2 locus associated with hormonal receptor-positive breast cancer in Japanese.	J. Hum Genet.	57巻12号	766 ～ 771	2012
Baldwin RM, Owzar K, Zembutsu H, et al.	A genome-wide association study identifies novel loci for paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy in CALGB 40101.	Clin Cancer Res.	18巻18号	5099 ～ 5109	2012
Cha PC, Zembutsu H, et al.	A genome-wide association study identifies SNP in DCC is associated with gallbladder cancer in the Japanese population.	J. Hum Genet.	57巻4号	235 ～ 237	2012
Kiyotani K, Uno S, Zembutsu H, et al.	A genome-wide association study identifies four genetic markers for hematological toxicities in cancer patients receiving gemcitabine therapy.	Pharmacogenet Genomics.	22巻4号	229 ～ 235	2012

Low SK, Takahashi A, Cha PC, <u>Zembutsu H</u> , et al.	Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA.	Hum Mol Genet.	21巻9号	2102 ~ 2110	2012
Kiyotani K, Mushiroda T, <u>Zembutsu H</u> , et al.	A genome-wide association study identifies locus at 10q22 associated with clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients in Japanese.	Hum Mol Genet.	21巻7号	1665 ~ 1672	2012
前佛 均, 清谷 一馬, 平田 公一, 中村 祐輔 他7名	ゲノムワイド関連解析によるジェムシタビン副作用関連遺伝子の同定	胆と膵	34巻2号	143 ~ 148	2013
笹 三徳, 清谷 一馬, 前佛 均, 中村 祐輔 他4名	CYP2D6 遺伝子多型による TAM 投与量調節治療	日本乳癌学会 総会プログラム 抄録集	第20回	273	2012
Mizuguchi T, Kawamoto M, <u>Hirata K</u> , et al.	Prognosis and Predictors of Surgical Complications in Hepatocellular Carcinoma Patients With or Without Cirrhosis after Hepatectomy.	World J Surg.	37巻	1379 ~ 1387	2013
Hirakawa M, Sato Y, <u>Hirata K</u> , et al.	A phase II study of neoadjuvant combination chemotherapy with docetaxel, cisplatin, and S-1 for locally advanced resectable gastric cancer: nucleotide excision repair (NER) as potential chemoresistance marker.	Cancer Chemother Pharmacol.	71巻3号	789 ~ 797	2013
Kiriyama K, Hirohashi Y, <u>Hirata K</u> , et al.	Expression and function of FERMT genes in colon carcinoma cells.	Anticancer Res.	33巻1号	167 ~ 173	2013
Kameshima H, Tsuruma T, <u>Hirata K</u> , et al.	Immunotherapeutic benefit of α -interferon (IFN α) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients.	Cancer Sci.	104巻1号	124 ~ 129	2013
Sukawa Y, Yamamoto H, <u>Hirata K</u> , et al.	Alterations in the human epidermal growth factor receptor 2-phosphatidylinositol 3-kinase-v-Akt pathway in gastric cancer.	World J Gastroenterol	18巻45号	6577 ~ 6586	2012
Ishiwatari H, Sato Y, <u>Hirata K</u> , et al.	Treatment of pancreatic fibrosis with siRNA against a collagen-specific chaperone in vitamin A-coupled liposomes.	Gut.	in press		2012

Hashimoto K, Masumori N, Tanaka T, Maeda T, Kobayashi K, Kitamura H, <u>Hirata K</u> , Tsukamoto T.	Zoledronic acid but not somatostatin analogs exerts anti-tumor effects in a model of murine prostatic neuroendocrine carcinoma of the development of castration-resistant prostate cancer.	The Prostate.	73巻	500 ～ 511	2012
Ichinohe N, Tanimizu N, <u>Hirata K</u> , Mitaka T. et al.	Differentiation capacity of hepatic stem/progenitor cells isolated from D-galactosamine-treated rat livers.	Hepatology.	57巻3号	1192 ～ 1202	2012
Tamura Y, Torigoe T, <u>Hirata K</u> , Sato N. et al.	Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity.	Immunotherapy.	4巻8号	841 ～ 852	2012
Takahashi A, Torigoe T, <u>Hirata K</u> , et al.	Heat shock enhances the expression of cytotoxic granule proteins and augments the activities of tumor-associated antigen-specific cytotoxic T lymphocytes.	Cell Stress and Chaperones.	17巻6号	757 ～ 763	2012
Shitani M, Sasaki S, <u>Hirata K</u> , et al.	Genome-wide analysis of DNA methylation identifies novel cancer-related genes in hepatocellular carcinoma.	Tumour Biol.	33巻5号	1307 ～ 1317	2012
<u>Nakamura S.</u>	Axillary lymph node dissection in sentinel node positive breast cancer: is it necessary?	Curr Opin Obstet Gynecol.	in press		
Iwata H, <u>Nakamura S</u> , et al	Analysis of Ki-67 expression with neoadjuvant anastrozole or tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer.	Cancer	119(4)	704 ～ 713	2013
<u>Akashi-Tanaka S.</u>	Preoperative CT evaluation of intraductal spread of breast cancer and surgical treatment.	Breast Cancer	Jan;20(1)	21 ～ 25	2013
桑山 隆志、 山内 英子、 中村 清吾、 他4名	術前化学療法(NAC)前cN0乳癌に対するNAC後センチネルリンパ節生検(SNB)の成績	日本乳癌学会 総会プログラム 抄録集	第20回	322	2013
沢田 晃暢、 内田 諭子、 明石 定子、 中村 清吾 他6名	ER(+), HER2(-)、腋下リンパ節転移陽性乳癌におけるKi67値とリンパ節浸潤の検討	日本乳癌学会 総会プログラム 抄録集	第20回	298	2013
中村 清吾	乳癌の薬物療法 (解説/特集)	クリニシアン	59巻6号	504 ～ 509	2012

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Integration of Cell Line and Clinical Trial Genome-Wide Analyses Supports a Polygenic Architecture of Paclitaxel-Induced Sensory Peripheral Neuropathy

Heather E. Wheeler¹, Eric R. Gamazon², Claudia Wing¹, Uchenna O. Njiaju¹, Chidiamara Njoku¹; Robert Michael Baldwin³, Kouros Owzar⁴, Chen Jiang⁴, Dorothy Watson⁴, Ivo Shterev⁴, Michiaki Kubo⁵, Hitoshi Zembutsu⁵, Eric P. Winer⁶, Clifford A. Hudis⁷, Lawrence N. Shulman⁶, Yusuke Nakamura^{1,5}, Mark J. Ratain¹, and Deanna L. Kroetz³ for the Cancer and Leukemia Group B; Nancy J. Cox², and Mary Eileen Dolan¹

Abstract

Purpose: We sought to show the relevance of a lymphoblastoid cell line (LCL) model in the discovery of clinically relevant genetic variants affecting chemotherapeutic response by comparing LCL genome-wide association study (GWAS) results to clinical GWAS results.

Experimental Design: A GWAS of paclitaxel-induced cytotoxicity was conducted in 247 LCLs from the HapMap Project and compared with a GWAS of sensory peripheral neuropathy in patients with breast cancer ($n = 855$) treated with paclitaxel in the Cancer and Leukemia Group B (CALGB) 40101 trial. Significant enrichment was assessed by permutation resampling analysis.

Results: We observed an enrichment of LCL cytotoxicity-associated single-nucleotide polymorphisms (SNP) in the sensory peripheral neuropathy-associated SNPs from the clinical trial with concordant allelic directions of effect (empirical $P = 0.007$). Of the 24 SNPs that overlap between the clinical trial ($P < 0.05$) and the preclinical cytotoxicity study ($P < 0.001$), 19 of them are expression quantitative trait loci (eQTL), which is a significant enrichment of this functional class (empirical $P = 0.0447$). One of these eQTLs is located in *RFX2*, which encodes a member of the DNA-binding regulatory factor X family. Decreased expression of this gene by siRNA resulted in increased sensitivity of Neuroscreen-1 (NS-1; rat pheochromocytoma) cells to paclitaxel as measured by reduced neurite outgrowth and increased cytotoxicity, functionally validating the involvement of *RFX2* in nerve cell response to paclitaxel.

Conclusions: The enrichment results and functional example imply that cellular models of chemotherapeutic toxicity may capture components of the underlying polygenic architecture of related traits in patients. *Clin Cancer Res*; 19(2); 491–9. ©2012 AACR.

Introduction

Paclitaxel is a tubulin-targeting agent, widely used in the treatment of malignant disease, including ovarian, breast, lung, and head and neck cancers. Its long-term use is often limited by sensory peripheral neuropathy, although the

mechanism of this toxicity is poorly understood. In one recent large study of more than 1,500 patients with breast cancer, severe (grade 3) sensory peripheral neuropathy occurred in 4% of patients treated with 4 cycles and 10% of patients treated with 6 cycles of single-agent paclitaxel (1). Currently, genetic prediction of which patients with cancer may experience severe side effects induced by paclitaxel treatment is not possible (2), but several preliminary genetic associations have been made (3–8). If patients likely to experience such toxicities could be identified before beginning a paclitaxel regimen, patient care might be improved by implementing a reduced dose or an alternative treatment.

Because accruing large patient cohorts receiving the same drug regimen for discovery genome-wide and replication studies in oncology is challenging, several groups of investigators have used lymphoblastoid cell lines (LCL) as a discovery tool and for follow-up functional studies (9–13). LCLs are easy to experimentally manipulate and the genetic background and expression environment is known. The LCL model also permits functional validation studies of

Authors' Affiliations: Sections of ¹Hematology/Oncology and ²Genetic Medicine, Department of Medicine, University of Chicago, Chicago, Illinois; ³Department of Bioengineering and Therapeutic Sciences, School of Pharmacy and Medicine, University of California, San Francisco, San Francisco, California; ⁴Department of Biostatistics and Bioinformatics, Duke University, Durham, North Carolina; ⁵Center for Genomic Medicine, RIKEN, Yokohama, Japan; ⁶Dana-Farber Cancer Institute, Boston, Massachusetts; and ⁷Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York

Note: Supplementary data for this article are available at Clinical Cancer Research Online (<http://clincancerres.aacrjournals.org/>).

Corresponding Author: Mary Eileen Dolan, Section of Hematology/Oncology, Department of Medicine, University of Chicago, 900 E. 57th St., Chicago, IL 60637. Phone: 773-702-4441; E-mail: edolan@medicine.bsd.uchicago.edu

doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2618

©2012 American Association for Cancer Research.