

201438041A

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業

乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 向井 博文

平成 27 (2015) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（革新的がん医療実用化研究事業）による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センターが実施した平成26年度「乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究」の成果を取りまとめたものです。

報告書の差し替えについて

資料の利用制限措置を解除したため、以下の通り差し替えしました。

文献番号：201438041A

補助金名：厚生労働科学研究費委託費

研究事業名：革新的がん医療実用化研究事業

年度・研究成果の区別：平成 26 年度 委託業務成果報告書

研究課題名：乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究

研究代表者名：向井 博文

【修正箇所】

P.13 研究要旨 6 行目 7 行目

P.14 左段 27 行目 34 行目 右段 3 行目 25 行目

修正前： 非表示

修正後： *HSD17B4*

【修正理由】

特許申請済みのため

平成 30 年 12 月 7 日

研究代表者 向井 博文

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業

乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 向井 博文

平成 27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 研究組織	-----	1
II. 委託業務成果報告		
乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究(総括)	-----	3
国立がん研究センター東病院 向井博文		
(資料) 登録数の推移		
(資料) 研究実施計画書の概要		
臨床面での研究	-----	11
自治医科大学付属病院 穂積康夫		
橋渡し研究	-----	13
国立がん研究センター研究所 山下聡		
III. 学会等発表実績	-----	17
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	23

I . 研究組織

区分	氏名	所属	職名
研究代表者	向井 博文	国立がん研究センター東病院 乳腺・腫瘍内科	医長
研究分担者	穂積康夫	自治医科大学附属病院 乳腺・総合外科	准教授
	藤井誠志	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター臨床腫瘍病理分野	ユニット 長
	山下聡	国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野	ユニット 長
	山口雄	武蔵野赤十字病院 腫瘍内科	医師
	上村夕香理	東京大学医学部附属病院 臨床研究支援センター中央管理ユニット 生物統計・データ管理学部門	助教

研究協力施設	<p> 四国がんセンター 乳腺・内分泌外科 大阪市立大学医学部附属病院 乳腺・内分泌外科 名古屋市立大学病院 乳腺内分泌外科 三重大学医学部附属病院 腫瘍内科 群馬県立がんセンター 乳腺科 北海道がんセンター 乳腺外科 JA 北海道厚生連 旭川厚生病院 乳腺外科 杏林大学医学部附属病院 乳腺外科 相良病院 乳腺科 東邦大学医療センター佐倉病院 乳腺外科 熊本市民病院 乳腺・内分泌外科 近畿大学医学部附属病院 乳腺・内分泌外科 関西医科大学附属枚方病院 乳腺外科 国立がん研究センター東病院 乳腺外科 </p>
--------	---

Ⅱ. 委託業務成果報告

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

乳癌に対する術前薬物療法における治療戦略研究
業務主任者 向井 博文 国立がん研究センター東病院

研究要旨

本研究は、手術可能 HER2 陽性乳癌を対象に、トラスツズマブを含む術前化学療法の中で癌の生検を行い、薬剤に対する腫瘍の生物学的反応に基づいて薬剤の変更を行う治療戦略が、従来型の治療よりも有効であるかどうかを検討した前向き多施設共同ランダム化第Ⅱ相試験である。治療途中の生物学的反応として、乳がん領域において予後因子としてのデータが豊富な Ki-67 値を用いた。また、治療前、治療中、治療後（手術時）の検体を、次世代シーケンサーを用いて体細胞突然変異、エピゲノム解析、遺伝子発現解析を行い、トラスツズマブの新たな効果予測マーカーの探索、治療奏効性・不応性の分子基盤の解明も並行して行っている（Translational Research：TR）。

我々は 2011 年から本研究を開始し、当初の目標症例数は 200 例であったが、患者集積スピードが計画を上回る進捗で推移したため、統計学的な検出力を十分に確保するため目標症例数を 300 例とした。2015 年 2 月 1 日時点で 208 人の対象患者を集積しており、本研究は順調に進行している。本研究の参加施設数は 13 施設であったが、患者集積の更なる促進のため、新たに 3 施設を加え 16 施設とした。さらに集積データを厳格に管理し解析するため、日本臨床研究支援ユニット（JCRSU）をデータセンターとし、班員に経験豊富な統計家を加えた。TR においては、次世代シーケンサーを用いて HER2 陽性乳癌の分子生物学的特徴の同定を行い、結果を論文化した。またトラスツズマブの効果予測マーカーの探索も行っており、すでに候補になり得るマーカーが見つかっている。

また 2015 年 2 月から外科的付随研究を開始した。

今後も計画に沿った患者集積・TR が達成できるように研究グループを運営し、新たな付随研究の立案・実施も積極的に行っていく予定である。

研究分担者

穂積康夫	自治医科大学附属病院 乳腺・総合外科
藤井誠志	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 臨床腫瘍病理分野
山下聡	国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野
山口雄	武蔵野赤十字病院 腫瘍内科
上村夕香理	東京大学医学部附属病院 臨床研究支援センター 中央管理ユニット 生物統計・データ管理学部門

A. 研究目的

HER2 陽性乳癌における術前薬物療法は、患者ごと一律に同じ治療が行われており、使用する薬剤も投与期間も決まった通りに行われているのが現状である。しかしながら、患者ごとに癌の生物学的特性、薬物に対する反応は異なっている。したがって、治療途中で癌の生検を行い薬剤に対する腫瘍の生物学的反応に基づいて薬剤の変更を行うことで、治療効果を高める事が可能かどうかを検討する。治療途中の生物学的反応として、乳がん領域において予後因子としてのデータが豊富な Ki-67 値を用いた。

また、治療前、治療中、治療後（手術時）の検

[テキストを入力]

体を用いてトラスツズマブの新たな効果予測マーカーの探索、治療奏効性・不応性の分子基盤の解明も並行して行う (Translational Research: TR)。

B. 研究方法

本研究は前向き多施設共同ランダム化第Ⅱ相試験である。標準治療であるトラスツズマブ+パクリタキセル療法を4コース行う群と、Ki-67 based 治療群の治療効果を比較する。プライマリーエンドポイントは病理学的完全奏効割合である。Ki-67 based 治療群では、1コース目はトラスツズマブ+パクリタキセル療法を行い、原発巣から癌組織を採取し、Ki-67 値を測定する。その値が治療前と比較して良好な低下を示した場合はトラスツズマブ+パクリタキセル療法を3コース行い、良好でない低下を示した場合はエピルビシン+シクロホスファミド+トラスツズマブ療法を3コース行うように治療を変更する。

TRにおいては、治療前、治療中、治療後(手術時)の検体を、次世代シーケンサーを用いて体細胞突然変異、エピゲノム解析、遺伝子発現解析を行い、トラスツズマブの新たな効果予測マーカーの探索、治療奏効性・不応性の分子基盤の解明を行う。解析に用いる検体は、分子生物学的解析に適した PAXgene Tissue System を用いて採取・保存を行っている。さらに、癌組織検体は Leica7000 を用いて Laser microdissection (LMD) を行い、癌細胞のみならず間質細胞においても検討を行う。

(倫理面への配慮)

被験者への安全性確保については対象選択条件、研究治療の中止基準を厳密に設定しており、試験参加による不利益は最小化されている。また、「ヘルシンキ宣言」「臨床研究に関する倫理指針」ICH-GCP 等の国際倫理原則に従い以下を遵守している。

①実施計画書は独立した臨床試験審査委員会の承認を受ける。

②研究に参加している全施設が各施設の倫理委員会の承認を得る。

③協力患者に対して十分な説明を行い、本人の理解に基づく自発的同意を必須とする。

④データの取り扱いに際して、患者氏名など個人を識別できる情報は用いない。

⑤データベースのセキュリティを確保し、個人情報(プライバシー)保護を厳守する。

C. 研究結果

本研究は2011年にがん研究開発費を用いて開始され、2014年度から厚生労働科学研究委託費を用いて研究が継続されている。当初は2014年12月までに目標症例数200例を集積する予定であったが、患者集積スピードが計画を上回る進捗で推移したため、統計学的な検出力を十分に確保するため目標症例数を300例とした。2015年2月1日までに208人が登録されており、症例登録スピードは順調である。本研究の参加施設数は13施設であったが、患者集積の更なる促進のため、新たに3施設を加え16施設とした。さらに集積データを厳格に管理し解析するため、日本臨床研究支援ユニット(JCRSU)をデータセンターとし、班員に経験豊富な統計家を加えた。TRにおいては、すでに結果が得られ始めている。HER2陽性乳癌24例を対象として、次世代シーケンサーを用いてHER2陽性乳癌の分子生物学的特徴の同定を行った。その結果、がんの増殖シグナル経路は遺伝子変異のみならず、エピジェネティックな異常も頻繁に認められる事が判明した。この結果は論文化している (Oncology, 2015 Jan 14.)。また、LMDを行っていない組織検体を用いてトラスツズマブの効果予測マーカーの探索も行っており、見つかった候補マーカーは、登録症例の別コホートをを用いて Validation を行った。Validationはすでに完了しており、結果は近日中に論文化予定である。現在はLMDを行った組織検体を用いてトラスツズマブの効果予測マーカーの探索を行っており、判明した候補マーカーの Validation を進めている。

付随研究の実施も精力的に行っており、術前化学療法前後で乳房温存可能率がどの程度向上するのかを検討する外科的付随研究が2015年2月から開始している。またTRの結果より、効果予測マーカーにより非常に高い確率でpCRが見込める患者集団の同定が可能である。それらのマーカーを用いた新たな臨床試験のコンセプトをすでに計画し始めている。

D. 考察

治療途中で組織採取することは、海外の研究では稀に行われることがあるが、それらはすべてTR目的に限っている。本研究の特色は、治療途中の癌の生物学的な反応をKi-67により評価し、それにより治療内容を変更するという点であり、このような前向きのランダム化比較試験は世界でも行われていない。本研究により有望な結果が得られれば、新規薬剤を導入することなく、治療戦略の見直しのみにより治療の有効性が向上し、新たな形の個別化医療を提示する事が可能である。

本研究のTR用の検体は、新鮮凍結保存と同程度のDNA・RNA精製が可能なPAXgene Tissue Systemによって採取、保存されており、非常に質の高い検体といえる。その検体に対してLMDを行い、癌部と間質部を分けて解析する点も特徴的であり、腫瘍浸潤リンパ球浸潤などの検討を合わせて行うことにより、腫瘍免疫のメカニズム解明に寄与するであろう。本研究のように治療途中の組織検体を採取する臨床試験は、本邦ではほとんど行われておらず実施困難と考えられている。これは研究のために、日常臨床では行われない治療途中の生検を、果たして被験者が受け入れるかという懸念が、ひとつの理由である。しかしながら、その懸念は稀有に終わり、本試験の登録スピードは計画を上回るものである。したがって、患者に丁寧なインフォームドコンセントを実施すれば、本研究のようなスタイルの臨床試験実施は可能である事の証明であり、この事実は乳がん領域のみならず他癌腫における臨床試験に与える影響も大きい

と考えられる。

E. 結論

本試験は、患者集積、TRともに順調に推移しており、成果も出始めている。このまま継続すれば今後も多くの成果が得られると考える。得られた結果は、国際学会での発表、論文化しハイレベルな国際ジャーナルへの投稿をすみやかに行っていく。今後も計画に沿った患者集積・TRが達成できるように研究グループを運営し、新たな付随研究の立案・実施も積極的に行っていく予定である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamaguchi T, Mukai H, Yamashita S, Fujii S, Ushijima T. Comprehensive DNA Methylation and Extensive Mutation Analyses of HER2-Positive Breast Cancer. *Oncology*. Jan 14, 2015.
2. Mukai H, Saeki T, Shimada K, Naito Y, Matsubara N, Nakanishi T, Obaishi H, Namiki M, Sasaki Y. Phase 1 combination study of Eribulin mesylate with trastuzumab for advanced or recurrent human epidermal growth factor receptor 2 positive breast cancer. *Invest New Drugs*. 33(1):119-27, 2015.
3. Aihara T, Yokota I, Hozumi Y, Aogi K, Iwata H, Tamura M, Fukuuchi A, Makino H, Kim R, Andoh M, Tsugawa K, Ohno S, Yamaguchi T, Ohashi Y, Watanabe T, Takatsuka Y, Mukai H. Anastrozole versus tamoxifen as adjuvant therapy

- for Japanese postmenopausal patients with hormone-responsive breast cancer: efficacy results of long-term follow-up data from the N-SAS BC 03 trial. *Breast Cancer Res Treat.* 148(2):337-43, 2014.
4. Matsubara N, Mukai H, Masumoto M, Sasaki M, Naito Y, Fujii S, Wada N. Survival outcome and reduction rate of Ki-67 between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients with non-pCR. *Breast Cancer Res Treat.* 147(1):95-102, 2014.
 5. Ohsumi S, Mukai H, Ohashi Y. Factors affecting enrollment in a randomized controlled trial for Japanese metastatic breast cancer patients (SELECT BC-FEEL)--a prospective study. *Jpn J Clin Oncol.* 44(7):696-701, 2014.
 6. Tanioka M, Sasaki M, Shimomura A, Fujishima M, Doi M, Matsuura K, Sakuma T, Yoshimura K, Saeki T, Ohara M, Tsurutani J, Watatani M, Takano T, Kawabata H, Mukai H, Naito Y, Hirokaga K, Takao S, Minami H. Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy in HER2-overexpressing breast cancer according to hormonal receptor status. *Breast.* 23(4):466-72, 2014.
 7. Mukai H, Ohno S, Ohashi Y. Prospective cohort study: whether or not patients benefit from participation itself in randomized-controlled trials (SELECT BC ECO). *Jpn J Clin Oncol.* 44(3):296-9, 2014.
2. 学会発表
 1. Safety, pharmacokinetics (PK) and efficacy of cyclin-dependent kinase (CDK) 4 and 6 inhibitor, paldoiclib (PD-0332991) Developmental therapeutics. Mukai H, Yoshino T, Osera S, Sasaki M, Shimizu C, Yonemori K, Koudaira M, Tanabe Y, Matsuda N, Mizutani N, Mori Y, Hashigaki S, Nagasawa T, Umeyama Y, Randolph S, Tamura K. ESMO2014. 2014. 9. Spain.
 2. Transition of recurrence-free survival for early-stage breast cancer at National Cancer Center Hospital East (Poster Presentation (Display) Breast cancer early stage). Kaneko M, Hosono A, Sasaki M, Matsubara N, Naito Y, Saito S, Yamanaka T, Wada N, Mukai H. ESMO2014. 2014. 9. Spain.
 3. 転移・再発乳癌に対するタキサン系薬剤と TS-1 のランダム化比較試験 (SELECT-BC). 相良吉昭、高島勉、原文堅、渡辺隆紀、穂積康夫、鶴谷純司、井本滋、西村令喜、大橋靖雄、向井博文. 第22回日本乳癌学会. 2014. 7. 10 大阪
 4. Luminal タイプ乳癌における予後因子としての組織グレードの意義. 佐々木政興、内藤陽一、藤井誠志、細野亜古、

松原伸晃、和田徳昭、米山公康、向井博文、第 22 回日本乳癌学術学会。
2014. 7. 11 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

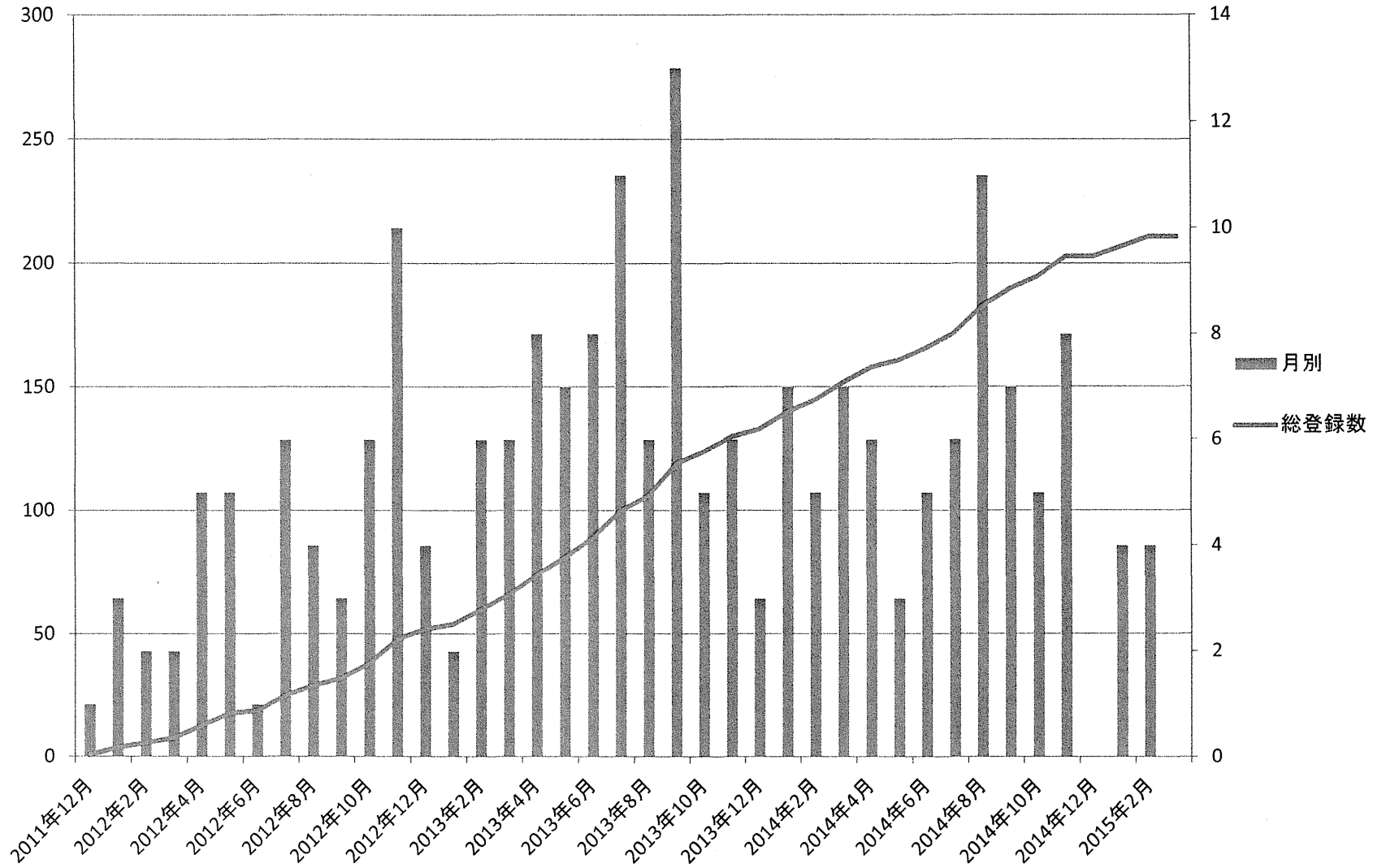
該当なし。

3. その他

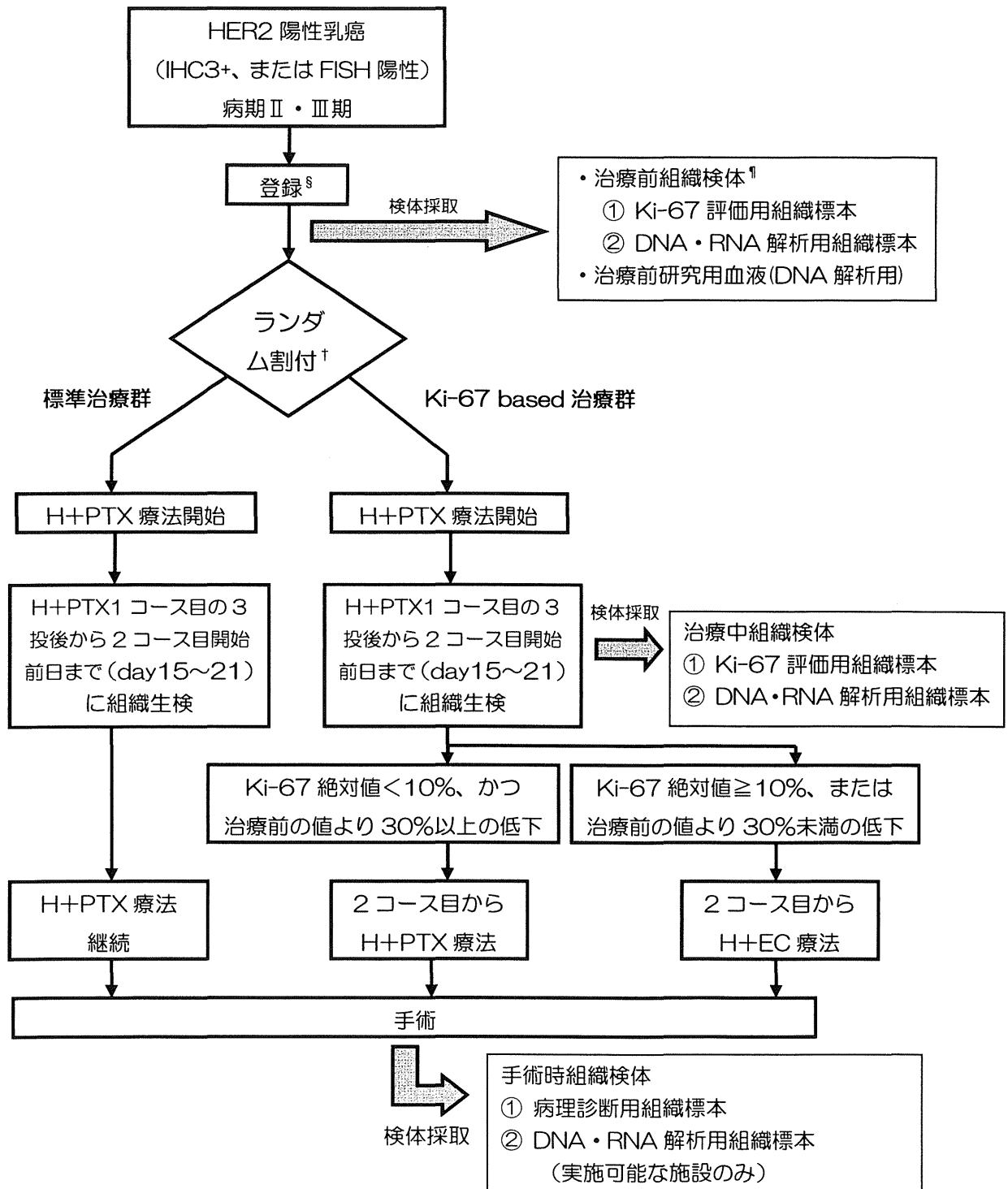
該当なし。

登録数の推移

8



試験実施計画書の概要



H: トラスツズマブ、PTX: パクリタキセル、EC: エピルビシン+サイクロフォスファミド

分担研究者 穂積康夫 自治医科大学

研究要旨

HER2 陽性乳癌の術前化学療法前の腫瘍検体を用いてマイクロ RNA (miRNA) を網羅的に調べ、pCR 症例と非 pCR 症例間で発現差を検討した。病理学的効果と関連する miRNA は HER2 陽性のサブタイプ間で異なった。

A. 研究目的

マイクロ RNA (miRNA) は、20 から 25 塩基(nt) 長の 1 本鎖 RNA 分子である。miRNA は多様な機能を持ち、疾患の種類やタイプによって特異的に発現することから、乳癌の予後や薬剤感受性に関連したバイオマーカーとして注目されている。本研究では、HER2 陽性乳癌の術前化学療法症例の治療前生検検体を用いて miRNA 発現を網羅的に調べ、pCR 症例と非 pCR 症例間で発現差のある miRNA を用いて、より効率の良い治療効果予測を目指すことを目的とした。

B. 研究方法

自治医科大学附属病院乳腺科で術前化学療法が施行された HER2 陽性乳癌 40 例を対象とした。化学療法前生検検体のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織から、腫瘍部分をレーザーマイクロダイセクション法で切り出して収集し、miRNA を含む total RNA を抽出した。100ng の RNA サンプルと Agilent SurePrint G3 Human miRNA microarray, 8x60K, release 19.0 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) を用いて、マイクロ RNA 発現データを収集・解析した。

本研究は自治医科大学遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認（承認番号：遺 13-10 号）を受けて、自治医科大学個人情報管理室による匿名化を行った上で遂行した。

C. 研究結果

取得された miRNA の発現データをもとに、教師なし階層クラスタリングを行ったが、pCR と non-pCR は区別できなかった。全 40 症例の発現データを用いて pCR と non-pCR 間で発現に差のあった miRNA は 21 種類であった。HER2 enrich 群 (ER 陰性 HER2 陽性) の解析では 14 種類、Luminal-HER2 hybrid 群 (ER 陽性 HER2 陽性) の解析では 17 種類の miRNA で発現差がみられた。病理学的効果と関連する miRNA は HER2 陽性のサブタイプ間で異なった。

D. 考察

病理学的効果によって発現差のあった miRNA の中には、乳癌と関連した機能が報告されているものだけでなく、報告されていないものも含まれていた。この miRNA の中から、新たに乳癌と関連した機能が見つかる可能性があり、miRNA の機能解析実験が必要である。また、マイクロアレイで候補となった miRNA はリアルタイム PCR によって発現量を検証している。候補がさらに絞り込まれたら、独立したセットで検証を行い、最終的には、複数の miRNA を用いた治療効果予測モデルの構築を目指している。

E. 結論

病理学的効果と関連する miRNA は HER2 陽性のサブタイプ間で異なった。今後は本研究のデータを検証する過程が必要となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

現在英文で投稿中である。

2. 学会発表

なし

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

乳癌の術前薬物療法による各種分子生物学的マーカーの変化に関する研究
分担研究者 山下 聡
国立がん研究センター研究所・エピゲノム解析分野・ユニット長

研究要旨

HER2 陽性乳がんの予後は、抗 HER2 薬の登場後明らかに改善しているが、HER2 陽性であっても、効果を予測する因子を探索する意義は大きい。治療前の HER2 陽性乳がんを用いた 3 種類のゲノム網羅的解析（DNA メチル化・遺伝子変異・遺伝子発現）から HER2 陽性乳がん治療奏効性マーカー候補を同定することを目的として研究を進めた。本年度は網羅的 DNA メチル化解析を進め、候補遺伝子について、パイロシークエンス法を用いて閾値を設定、別のサンプル群を用いて確認を進めた。*HSD17B4* 遺伝子については、pCR 症例でメチル化レベルが高く、統計的に有意に pCR を判別できることが確認された。*HSD17B4* 遺伝子のメチル化は有望な HER2 陽性乳がん治療奏効性マーカー候補と考えられる。

A. 研究目的

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2, ERBB2) は、乳癌の約 15-25% を占める「HER2 陽性乳がん」の発がんや進展に深く関与している。トラスツズマブ（ハーセプチン）を皮切りに、HER2 を標的とする分子標的治療薬が次々と開発され、かつては予後不良とされたこのタイプの乳がんの予後を劇的に改善させた。しかしながら、HER2 陽性乳がんであっても、全例で抗 HER2 薬が奏効するわけではなく、また、効果の持続する期間も様々であるため、効果や耐性化を予測する因子を探索する意義は大きい。本研究では、治療前の HER2 陽性乳がんを用いて、3 種類のゲノム網羅的解析（DNA メチル化・遺伝子変異・遺伝子発現）を行い、それらの結果から HER2 陽性乳がん治療奏効性マーカー候補を同定することを目的とした。本年度は、網羅的 DNA メチル化解析を進め、DNA メチル化レベルと、手術後判明する術前治療の効果判定結果とを比較することにより、HER2 陽性乳がん治療奏効性マーカー候補を同定した。

B. 研究方法

乳がんからの DNA 抽出

乳がん試料は各施設において治療（トラスツズマブ+パクリタキセル）前の HER2 陽性乳がんから針生検により採取された。乳がん試料の固定は、PaxGene Tissue System (Qiagen) を用いて行った。固定された試料からの DNA 抽出は、PAXgene Tissue DNA Kit (Qiagen) を用いて行った。腫瘍細胞の含有率は経験豊富な病理医により、鏡検下にて算出された。

DNA メチル化解析

ゲノム DNA の網羅的メチル化解析には、Illumina 社の HumanMethylation450 beadchip を用いた。重亜硫酸処理したゲノム DNA を増幅後、482, 421 CpG 部位が解析可能な BeadChip にハイブリダイズして、プライマー伸長反応後、iSCAN (Illumina) スキャナを用いてデータを取得した。完全メチル化を 1、完全非メチル化を 0 とする β 値を用いてメチル化の程度を判定した。領域特異的なメチル化解析は、Pyrosequencing 法を用いて行った。

(倫理面の配慮)

臨床材料は同意を得て採取した材料を、厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」に従い、国立がん研究センターの倫理委員会に研究の承認を得て使用した。

C. 結果

網羅的 DNA メチル化解析

手術後の病理判定により、術前治療（トラスツズマブ+パクリタキセル）の効果が pCR と判定された 10 例、non-PCR と判定された 11 例について、HumanMethylation450 beadchip を用いてゲノム網羅的 DNA メチル化解析を行った。いずれかの症例群において、症例群中 70%以上で特異的にメチル化しているゲノム領域（連続したプローブ 3 個以上）を探索した結果、pCR 症例で特異的にメチル化している 14 領域、non-PCR 症例で特異的にメチル化している 3 領域を同定した。

個別領域のメチル化解析による候補遺伝子・閾値決定

上記候補領域中、遺伝子転写開始点近傍の CpG island に該当する 2 領域について、Pyrosequencing 法により DNA メチル化レベルを測定した。その結果、*GABBR2* 遺伝子については、HumanMethylation450 と Pyrosequencing の結果の相関が低かった一方、もうひとつの *HSD17B4* 遺伝子については、HumanMethylation450 と Pyrosequencing の結果がよく一致しており、腫瘍細胞含有率で補正した DNA メチル化レベルが 50%を閾値とすると、正答率 76%で pCR を判定できた。

検証群を用いた確認

上記で用いた以外の 46 症例を用いて、Pyrosequencing により *HSD17B4* 遺伝子のメチル化レベルを測定した結果、この検証群においても、pCR 症例でメチル化レベルが高く、同様の閾値を用いた判定の結果、正答率 78%で pCR が判定できた。

D. 考察

網羅的 DNA メチル化解析により、HER2 陽性乳がんの治療効果を予測するマーカー候補として有望な *HSD17B4* 遺伝子が同定できた。この遺伝子のメチル化レベルは、pCR 症例で高い値を示す。検証群でも同様の結果が認められたことから、マーカー候補として有望と考えられる。しかし一方で、本マーカー単独では、正答率は 80%に到達しておらず、臨床に用いるには性能が不足していると考えられる。

さらに解析を拡充し、DNA メチル化マーカーをさらに同定、組み合わせることにより、性能が向上する可能性がある。また、DNA メチル化は、他の遺伝子発現や遺伝子変異とは異なる生物学的機能があるため、これらをベースにした他のマーカーとの組み合わせによっても性能が向上する可能性があると考えられる。そこで現在は、Laser Capture Microdissectionを施したサンプルを用いて、3種類のゲノム網羅的解析（DNA メチル化・遺伝子変異・遺伝子発現）を行い、これらの結果の組み合わせで、より性能の優れたマーカー（セット）を同定する研究を進めている。

E. 結論

HSD17B4 遺伝子のメチル化は有望な HER2 陽性乳がん治療奏効性マーカー候補と考えられる。今後は Laser Capture Microdissection を施したサンプルを用いて、網羅的解析を拡充することにより、より性能の優れたマーカー（セット）を同定する。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Takahashi T, Yamashita S, Matsuda Y, Kishino T, Nakajima T, Kushima R, Kato K, Igaki H, Tachimori Y, Osugi H, Nagino M and Ushijima T. ZNF695 methylation predicts a response of esophageal squamous cell carcinoma to

definitive chemoradiotherapy. J Cancer Res Clin Oncol, 141:453-463 (2015).

2. Yamaguchi T, Mukai H, Yamashita S, Fujii S and Ushijima T. Comprehensive DNA methylation and extensive mutation analyses of HER2-positive breast cancer. Oncology, online.
3. Zong L, Hattori N, Yoda Y, Yamashita S, Takeshima H, Takahashi T, Maeda M, Katai H, Nanjo S, Ando T, Seto Y, and Ushijima T. Establishment of a DNA Methylation Marker to Evaluate Cancer Cell Fraction in Gastric Cancer. Gastric Cancer, in press.

3. その他
なし

学会発表

1. Yamashita S, Nanjo S, Rehnberg E, Ando T, Maekita T, Ichinose M, Sugiyama T, Ushijima T. CpG islands and genomic regions with basal low-level methylation to aberrant DNA methylation induction. 第8回日本エピジェネティクス研究会年会 2014年5月26日 東京
2. 山下 聡, 岸野 貴賢, 永野 玲子, 牛島 俊和 遺伝子点突然変異のターゲットシークエンシングによる高感度解析法の開発と Genetic な発がんの素地の解析 第29回発癌病理研究会 2014年9月3日 いわき
3. Yamashita S, Kishino T, Nagano R, Ushijima T. High-Sensitivity Analysis of Aberrant DNA Methylation by Targeted Deep Sequencing using a Benchtop Sequencer. 第73回日本癌学会学術総会 2014年9月25日 横浜

H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし