

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（業務項目）

新規バイオマーカーPRDM14による難治性乳がん・すい臓がんの診断法の開発
統合的オミックス解析によるPRDM14の発現と高い相関性を有する
分泌タンパク遺伝子(血清診断バイオマーカー候補)のスクリーニング
担当責任者 前佛 均 国立がん研究センター研究所 遺伝医学研究分野 ユニット長

研究要旨

難治性のトリプルネガティブ乳がん(TNBC)や膵がん(PC)において高頻度に高発現しているPRDM14分子は、難治性がんを対象とした診断バイオマーカーとして最適な候補である。アントラサイクリン、タキサン系薬剤に高感受性のTNBCがサブカテゴリーとして判明しているが、一方でこれらに耐性を示すTNBCが半数存在するが、これらを判別するバイオマーカーは現存しないため、臨床現場において治療薬の選択に難渋している。さらに、PCにおいては、早期検出可能なバイオマーカーの欠如、抗がん剤耐性、遠隔転移などが低い治療成績の原因となっている。本研究では、これらの臨床的課題の克服を目的に、PRDM14分子をTNBCやPCの診断バイオマーカーとして開発する研究を実施する。

A. 研究目的

患者数が増加し社会的に解決が急務である「乳がん」を対象に、PRDM14を標的とした核酸治療薬が開発されつつある。一方PRDM14は薬剤耐性乳がんと深く関係していることも報告されており、PRDM14をバイオマーカーとした治療法の選択はTNBCなど難治性乳がんの有効な治療法につながるものと期待されている。本研究では、難治性乳がん、膵がんの治療成績向上のため、PRDM14を診断バイオマーカーとした治療法の開発と同時に、PRDM14の発現量と強く相関する分泌タンパクを同定することで、実用的なバイオマーカーを同定し、臨床応用可能なコンパニオン診断薬の開発を目指す。

B. 研究方法

組織型など臨床情報を有する凍結乳癌組織よりmRNAを抽出し、quality checkを行う。網羅的な遺伝子発現プロファイルを解析するためにマイクロアレイ解析を行う。

PRDM14 遺伝子発現量と強い相関をもつ分泌タンパクと考えられている遺伝子を同定する。

他の乳がんマイクロアレイデータとの比較から発現量の高相関が再現されている遺伝子を同定する。

マイクロアレイ解析に用いた乳がん症例の血清検体を用いてELISA法などを用いて、PRDM14 遺伝子発現量と相関の高い分泌タンパクの定量を行う。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立がん研究センター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。(研究課題番号2014-158)

C. 研究結果

これまでに乳がん臨床検体112例を用いたPRDM14の発現解析が終了した。その結果ほとん

どの乳がん臨床組織において、正常乳腺に比べて PRDM14 の発現が亢進していることが明らかとなった。

また、112 例中 79 例については独立した 2 サンプルセット(乳がん臨床検体 29 例および 50 例)にてマイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現プロファイル解析が行われた。その結果 29 例のマイクロアレイ解析結果より PRDM14 遺伝子の発現量と相関を有し、かつ分泌タンパクをコードする遺伝子として、ENOX2 (Ecto-NOX Disulfide-Thiol Exchanger 2) 遺伝子が同定された(相関係数 $r=0.75$)。乳がん組織における PRDM14 遺伝子の発現量と同一乳がん患者の血清を用いて、ELISA 法にて血中 ENOX2 タンパクの定量を行ったが、有意な相関を認めなかった。また、血中 CEA タンパク量と同一患者の乳がん組織における PRDM14 の発現量を検討したが、有意な相関を認めなかった。

D. 考察

転写因子である PRDM14 遺伝子は転写制御を受ける遺伝子がいくつか報告されているものの、PRDM14 による転写制御を受けることが知られていない、未知の遺伝子が多数存在し得ることが推測されている。PRDM14 遺伝子は分泌タンパクである可能性は低く、血中 PRDM14 タンパクを定量化した報告は存在しない。そのため、PRDM14 の発現量と強い相関を有する分泌タンパク、つまり PRDM14 発現量の surrogate marker を同定することで、薬剤耐性を示す難治性の乳がんや膵がんに対する適切な治療法を選択するうえで、非常に臨床有用性が高いものと期待されている。

E. 結論

マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現情報より、PRDM14 遺伝子の発現量と強い相関を示す候補分泌タンパク遺伝子を同定した。今後これらの候補タンパクについて ELISA などの血中タンパク定量により、PRDM14 の surrogate marker となるようなタンパクを同定し、血中マーカーの測定系を確立する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Zembutsu H.** Pharmacogenomics toward personalized tamoxifen therapy for breast cancer. *Pharmacogenomics*. 2015 Mar;16(3):287-96.
- 2) Kutomi G, Ohmura T, Satomi F, Takamaru T, Shima H, Suzuki Y, Otokoza S, **Zembutsu H**, Mori M, Hirata K. Lymph node shape in computed tomography imaging as a predictor for axillary lymph node metastasis in patients with breast cancer. *Exp Ther Med*. 2014 Aug;8(2):681-685.
- 3) Aguilar H, Urruticoechea A, Halonen P, Kiyotani K, Mushiroda T, Barril X, Serra-Musach J, Islam A, Caizzi L, Di Croce L, Nevedomskaya E, Zwart W, Bostner J, Karlsson E, Pérez Tenorio G, Fornander T, Sgroi DC, Garcia-Mata R, Jansen MP, García N, Bonifaci N, Climent F, Soler MT, Rodríguez-Vida A, Gil M, Brunet J, Martrat G, Gómez-Baldó L, Extremera AI, Figueras A, Balart J, Clarke R, Burnstein KL, Carlson KE, Katzenellenbogen JA, Vizoso M, Esteller M, Villanueva A, Rodríguez-Peña AB, Bustelo XR, Nakamura Y, **Zembutsu H**, Stål O, Beijersbergen RL, Pujana MA. VAV3 mediates resistance to breast cancer endocrine therapy. *Breast Cancer Res*. 2014 May 28;16(3):R53.
- 4) Chhibber A, Mefford J, Stahl EA, Pendergrass SA, Baldwin RM, Owzar K, Li M, Winer EP, Hudis CA, **Zembutsu H**, Kubo M, Nakamura Y, McLeod HL, Ratain MJ, Shulman LN, Ritchie MD, Plenge RM, Witte JS, Kroetz DL. Polygenic inheritance of paclitaxel-induced sensory peripheral neuropathy driven by axon outgrowth gene sets in CALGB 40101 (Alliance). *Pharmacogenomics J*. 2014 Aug;14(4):336-42
- 5) Province MA, Goetz MP, Brauch H, Flockhart

DA, Hebert JM, Whaley R, Suman VJ, Schroth W, Winter S, **Zembutsu H**, Mushiroda T, Newman WG, Lee MT, Ambrosone CB, Beckmann MW, Choi JY, Dieudonné AS, Fasching PA, Ferraldeschi R, Gong L, Haschke-Becher E, Howell A, Jordan LB, Hamann U, Kiyotani K, Krippel P, Lambrechts D, Latif A, Langsenlehner U, Lorzio W, Neven P, Nguyen AT, Park BW, Purdie CA, Quinlan P, Renner W, Schmidt M, Schwab M, Shin JG, Stingl JC, Wegman P, Wingren S, Wu AH, Ziv E, Zirpoli G, Thompson AM, Jordan VC, Nakamura Y, Altman RB, Ames MM, Weinshilboum RM, Eichelbaum M, Ingle JN, Klein TE; International Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium. CYP2D6 genotype and adjuvant tamoxifen: meta-analysis of heterogeneous study populations. Clin Pharmacol Ther. 2014 Feb;95(2):216-27.

6) **Zembutsu H**. Precision Medicine for Cancer and Pharmacogenomics. 血液内科 2015 in pres.

2. 学会発表

- 1) **前佛均**, 中村 清吾, 明石 定子, 桑山 隆志, 渡邊 知映, 武井 寛幸, 石川 孝, 長谷川 善枝, リー スーチン, 松方 絢美, 松本 広志, 九富 五郎, 中村 祐輔. CYP2D6 genotype とタモキシフェン治療反応性の関係を解明する多施設共同前向き研究. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜市 (2014.9)
- 2) 高田 亮, 加藤 陽一郎, **前佛均**, 片桐 豊雅, 角田 達彦, 藤岡 知昭, 中村 祐輔, 小原 航網羅的遺伝子発現解析による筋層浸潤性膀胱がんのオーダーメイド医療. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜市 (2014.9)
- 3) 清谷 一馬, 蕙田 泰誠, **前佛均**, 中村 祐輔. PGx によるタモキシフェン治療効果予測: CYP2D6 研究から学ぶこと. 第 73 回日本癌学会学術総会, 横浜市 (2014.9)

- 4) **前佛均**, 中村 清吾, 明石 定子, 桑山 隆志, 渡邊 知映, 武井 寛幸, 石川 孝, 長谷川 善枝, リー スーチン, 松方 絢美, 松本 広志, 九富 五郎, 中村 祐輔. CYP2D6 genotype とタモキシフェン治療反応性の関係を解明する多施設共同前向き研究. 日本人類遺伝学会 第 59 回大会, 東京都 (2014.11)

G. 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
3. その他 なし