

課題番号6

トリプルネガティブ乳がんの予後予測バイオマーカー研究

[1] 組織

代表者：山口茂夫（順天堂大学大学院研究科臨床腫瘍学）

対応者：高橋信（東北大学加齢医学研究所）

分担者：石岡千加史（東北大学加齢医学研究所）
加藤俊介（順天堂大学大学院研究科臨床腫瘍学）

研究費：物件費10万円 旅費5万円

[2] 研究経過

乳がん領域においては、再発リスクが高い乳がん症例に対しては再発率を低下させるために殺細胞性抗癌剤を用いた補助化学療法を施行することが一般的である。正確な再発リスク評価を行うことは殺細胞性抗癌剤の有害事象を考慮し、過剰な治療を避けること、真に予後不良な症例を正しくリスク評価し、現行の治療以外の新たな治療戦略を開発していくという観点から重要である。現在までに、細胞増殖を表すとされるKi-67の免疫染色や多遺伝子アッセイを用いたOncotype DX[®]、MammaPrint[®]、PAM50などが報告されているが、いずれもホルモン陽性乳に対するがんに対する有用性の報告はあるものの、その他のサブタイプに対する有用性に関しては示されていない。さらにKi-67免疫染色は再現性が低く、多遺伝子アッセイは数十万円の費用がかかり、日常臨床で使用は困難である。これらの状況を考えると、日常臨床でも利用可能な、高い再現性が担保され、どのサブタイプでも正確なリスク評価が可能な安価な診断ツールの開発が早急に望まれている。これまでの貴施設・臨床腫瘍学分野では、がん抑制遺伝子TP53構造変異を予測する遺伝子発現プロファイルを作成した。このプロファイルを利用したpublic dataの解析では、手術可能乳がんの予後予測としてTP53遺伝子のDNAシーケンスよりも有用であることを報告していた。この知見を実際の臨床にて診断検査法検査として発展させるためとして、乳がん検体200検体（加齢研保有）、100検体（順天堂大学保有）の乳がんのホルマリン固定パラフィン包埋（Formalin Fixed Paraffin embedded：FFPE）組織、

凍結組織のコホートをを使用したtranslational researchを行うこととした。さらにこの遺伝子発現プロファイルの生物学的な背景をpublic dataを用いて検討も行うこととした。そのために以下の研究を計画した。

- ① 順天堂大学にある遺伝子発現解析機nCounterを用いてTP53構造変異予測遺伝子発現プロファイルの解析を行う。
- ② 検体の遺伝子発現プロファイルデータを用いたバイオインフォマティクスによる予後予測診断モデルの確立。
- ③ The Cancer Genome Atlas (TCGA) データを用いたTP53構造変異予測遺伝子発現プロファイルの生物学的な背景の検討

以下、研究活動状況を記す。

- ① N-counterを用いた遺伝子発現解析
東北大学の乳がんコホートについて、TP53構造変異予測遺伝子発現プロファイルをN-counterにより測定し、解析のプロトコルの最適化とデータ精度の検証を行い、200検体の遺伝子発現プロファイルの測定データを取得した。
- ② 予後予測モデルの確立
N-counterにより取得されたデータを統計解析ソフトであるRを用いて診断アルゴリズムモデルの作成を行った。打ち合わせはメールでのやり取りに加え、東北大学加齢医学研究所などでの会合を重ねた。
- ③ TCGAデータを用いたTP53構造変異予測遺伝子発現プロファイルの生物学的な背景の検討
TCGAでは2014年にNature紙に報告された、乳がんの多層的な遺伝子解析のデータが入手可能である。このデータはwhole genome sequencing、RNA-seq、

methylation array、Reverse Phase Protein Array
のデータに加え、臨床情報が入手可能であり、その
解析を統計ソフト R を用いて、解析を行った。

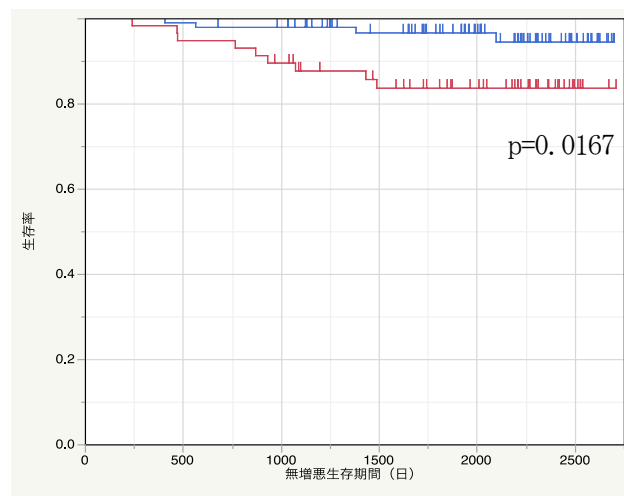
[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、N-counter では FFPE 検体のデータと凍結検体データでの発現プロファイルの相関が非常に高く、日常臨床で多く用いられている FFPE 検体を利用できることが判明した。さらに template RNA の量は 200ng 程度で十分な再現性を示した。

第 2 に、TP53 構造変異予測遺伝子発現プロファイル中の発現上昇遺伝子と発現低下遺伝子のそれぞれの発現和の比率を用いた診断アルゴリズムモデルを用いて、コホートを wild signature、mutatnt signature の 2 群に判別し、予後情報を比較すると、有意に mutatnt signature で予後不良であることが確認された (図 1)。今後各サブタイプごとの解析を検体を追加して行う予定ある。



(図 1)

第 3 に TCGA データを用いた検討により、TP53 構造変異予測遺伝子発現プロファイルで mutatnt type とされるコホートは TP53 遺伝子の体細胞変異がなくとも BRCA 1、BRCA2、RB 1 変異などのゲノム不安定性に関わる遺伝子変異を有する症例がコホート含まれており、このプロファイルに含まれるコホートは総遺伝子変異数が多い傾向にあることが判明した。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究は東北大学と順天堂大学との、それぞれが有する最新の遺伝子発現開発機器を用いた共同研究であり、実際の臨床還元を目的とした研究である。そ

れぞれの大学が有する最新の機器を共有し、比較することで、より精度が高く、臨床還元が可能な手法の開発が進むと考えらる。

また、本研究では、TCGA により公開されている多層的な big data の解析を行った。網羅的な遺伝子解析が可能となり、大規模な解析に関して入手可能なデータベースの利用が今後の研究では必須になると考えられる。網羅的な遺伝子解析のためのバイオインフォマティクスとの交流、巨大サーバーの利用など、ネットワークの拡大も波及効果があったと思われる。

本研究で用いた遺伝子発現プロファイルは乳がんの他に、肺がん、前立腺がん、血液腫瘍の予後予測における有用性が public data を用いた検討では示されており、様々な癌種での応用と発展が期待されるものである。

[4] 成果資料

論文投稿準備中