

(平成 27 年度研究報告書)

26-A-13 個別化がん医療を目指した新規バイオマーカーの開発：基盤整備と実用化

山田 哲司

国立がん研究センター 研究所

## 研究分類・属性

TR/早期開発分野

## 研究計画の概要

### 1. 国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備

国立がん研究センターで発見された新規バイオマーカーを体外診断薬として早期に実用化するため、包括的な連携契約の下、シスメックス株式会社と産学連携の共同研究開発体制を構築した。本研究課題の主任研究者・分担研究者からなるステアリングコミティーを組織し、新規バイオマーカーのシーズを発掘・提案した。

### 2. *ACTN4* 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発

国立がん研究センターで発見された転移関連分子 actinin-4 (遺伝子名 *ACTN4*) の発現と遺伝子増幅のホルモン受容体陽性・Her2 陰性・リンパ節転移陰性の乳がんにおける臨床的意義を明らかにし、体外診断薬として実用化に貢献する。さらに actinin-4 に対する阻害化合物を探索する。

### 3. 循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究

末梢血の循環腫瘍細胞の再現性の良い分離技術を確立し、リキッドバイオプシー法を用いた個別化がん診断へ応用する。

### 4. 治療の個別化を目的としたバイオマーカー開発基盤の構築

シグナル伝達経路の活性化部位を詳細にマッピング可能な逆相タンパク質アレイ技術を国立がん研究センターに導入し、新規分子標的治療薬の耐性メカニズムの解明やコンパニオンバイオマーカーの探索に応用する。国際逆相タンパク質アレイ・ソサイエティーに組織委員として参加し、国際貢献する。

## 平成 27 年度研究経費

22,976 千円

## 研究班の組織

研究者名	所属研究機関名・職名	分担研究課題名
山田 哲司	国立がん研究センター研究所・創薬臨床研究分野・主任分野長	(研究総括)

落合 淳志	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・分野長	国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備
近藤 格	国立がん研究センター研究所・希少がん研究分野・分野長	国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備
土原 一哉	国立がん研究センター先端医療開発センター・トランスレーショナルリサーチ分	国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備
青志 津男	国立がん研究センター研究支援センター・研究管理部・シニアリサーチ・アド	国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備
鈴木 健司	順天堂大学医学部・呼吸器外科学講座・主任教授	<i>ACTN4</i> 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発
弦間 昭彦	日本医科大学大学院研究科・呼吸器内科学分野・主任教授	<i>ACTN4</i> 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発
吉田 正行	国立がん研究センター中央病院・病理科・医員	<i>ACTN4</i> 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発
本田 一文	国立がん研究センター研究所・創薬臨床研究分野・ユニット長	<i>ACTN4</i> 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発
後藤 悌	国立がん研究センター中央病院・呼吸器内科・医員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究
原 智彦	国立がん研究センター中央病院・泌尿器・後腹膜腫瘍科・医員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究

高橋 雅道	国立がん研究センター中央 病院・脳脊髄腫瘍科・医員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究
小林 英介	国立がん研究センター中央 病院・骨軟部腫瘍・リハビリテーション科・医員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究
落合 大樹	国立がん研究センター中央 病院・大腸外科・医員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究
藤森 浩彰	国立がん研究センター研究 所・創薬臨床研究分野・研 究員	循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究

## 研究の目的と到達目標及び実績要点

### 全期間

#### (目的)

がんは多彩な病態を示す疾患であり、同一の病期や組織型に分類される悪性腫瘍であっても、症例間で臨床病型や経過は大きく異なる。がんの治療成績を向上させるためには個々の症例の病型や経過、治療応答性、発がんリスクなどを正確に診断する必要がある。このようながんの個性を診断する体外診断薬の実用化を促進するため、本研究課題では①産学連携体制の確立、②有望な新規バイオマーカーの実用化研究、③バイオマーカー研究のための基盤技術の開発を対象とする。

### 第2年次

#### (平成27-28年度の到達目標)

本研究課題は当初平成26年度のみ1年間の予定で計画したものであり、また分担研究者の一部が国立がん研究センター外へ異動することもあり、27年度の継続にあたり全面的な見直しを行った。

#### 1. 国立がん研究センターにおける体外診断薬開発の基盤整備

体外診断薬開発では国内随一の実績を持つシスメックス株式会社との包括的な連携契約の下、バイオマーカー開発の所謂「死の谷」を埋め、早期に体外診断薬として実用化できる体制を維持する(下図)。

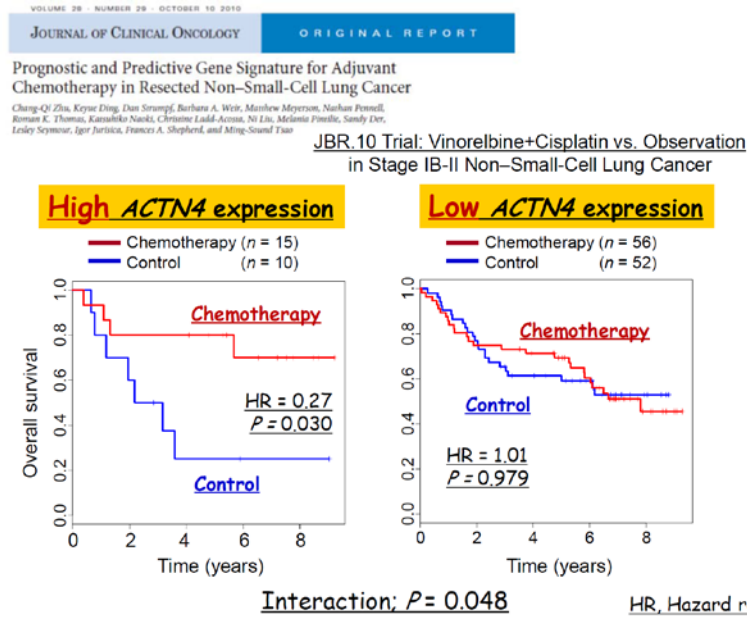
**国立がん研究センターとシスメックス株式会社の  
連携協定の締結(2013年10月28日に記者会見)**



**新しいバイオマーカーを  
体外診断用医薬品として実用化するには**



**2. ACTN4 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発**



平成26年度に行った「病期I期肺腺がんの予後予測バイオマーカー開発」では、海外の臨床試験のデータや国立がん研究センター中央病院で術後補助化学療法が行われた肺がんの検体を用いて、actinin-4 (ACTN4) の遺伝子やタンパク質の発現が術後再発や予後の予測因子であるのみならず、肺非小細胞がんの術後補助化学療法の症例選択にも役立つことを明らかにした(左図)。27年度よりはACTN4の遺伝子増幅、actinin-4 タンパク質の過剰発現の臨床的な意義を肺がん以外でも検討する。我が国で約5-6割の乳がん患者は初診時に腋窩リンパ節陰性であるが、その10-15%で局所、または遠隔転移をきたすとされている。

予後改善のためには腋窩リンパ節陰性症例の中でも、このような高リスク症例を同定し、術後補助療法の対象とする必要がある。本研究では腋窩リンパ節陰性の乳がん、特にホルモン受容体陽性・HER2陰性のいわゆる luminal タイプの症例において、ACTN4の遺伝子増幅が予後不良因子、術後化学療法の効果予測因子となるかを明らかにする。

このように肺がん以外にも対象疾患を拡げ、また27年度よりは新たに actinin-4 タンパク質を標的とした新規治療薬の開発に取り組むため、「ACTN4 遺伝子の増幅を標的としたバイオマーカーと治療薬の開発」と改題する。

**3. 循環腫瘍細胞を利用した新規バイオマーカーの確立を目指した研究**

がん患者の末梢血中にごん細胞が循環していることが明らかになり、循環腫瘍細胞(Circulating Tumor Cells: CTC)と呼ばれている。CTCは、乳がんや前立腺がん、大腸がんなどの転移性のがん症例において治療効果の判定や予後予測因子として有用性が認められ、米国 Veridex 社の CellSearch System を用いた CTC 検査は、米国食品医薬品局の承認を得ている。しかし、血液中に循環しているがん細胞は極微量であり、定量性や再現性において解決すべき問題も多い。さらに肉腫や神経膠腫など、上皮マーカーである EpCAM に対する抗体が使え

ない腫瘍の CTC 分離には応用できない。

平成 27 年度よりは新たに国立がん研究センター中央病院・頭頸部腫瘍科、呼吸器内科、泌尿器・後腹膜腫瘍科、脳脊髄腫瘍科、骨軟部腫瘍・リハビリテーション科、大腸外科等と研究所・創薬臨床研究分野との共同研究で、CTC を分離する技術として CytoQuest™ CR System を検討する。本装置は様々な膜蛋白に対する抗体が使用できるため、上皮性腫瘍以外の悪性腫瘍にも応用可能であると期待される。

#### **4. 治療の個別化を目的としたバイオマーカー開発基盤の構築**

逆相タンパク質アレイはシグナル伝達経路の詳細なマッピングが可能な画期的な技術として、米国 NCI の TCGA (The Cancer Genome Atlas) プロジェクトや様々な臨床試験にも取り入れられているが、我が国での普及は殆ど進んでいない。本課題では逆相タンパク質アレイ技術を国立がん研究センターに導入し、分子標的治療薬の耐性メカニズムの解明やコンパニオンバイオマーカーの探索などの基礎的な研究に応用する。国際逆相タンパク質アレイ・ソサイエティーに日本の組織委員(\*)として参加し、同ソサイエティーが実施する抗体の検証、データの共用、解析プログラムの構築に貢献し、国際的な地位を確保する。

\*国際逆相タンパク質アレイ・ソサイエティー・組織委員名簿 (2015 年 12 月現在)

Karl-Friedrich Becker, Munich, Germany  
Neil Carragher, Edinburgh, UK.  
Leanne de Koning, Paris, France  
Ulrike Korf, Heidelberg, Germany  
Steven Kornblau, Houston, USA.  
Lance Liotta, Manassas, USA.  
Satoshi Nishizuka, Iwate, Japan.  
Gordon Mills, Houston, USA.  
Emanuel Petricoin, Manassas, USA.  
Bryan Serrels, Edinburgh, UK.  
Tesshi Yamada, Tokyo, Japan.

#### **倫理面への配慮**

ヒト試料を研究に使用する際には、ヘルシンキ宣言を遵守し、「疫学研究に関する倫理指針」などの指針に沿って研究を行った。研究計画は事前に倫理委員会あるいはそれに相当する各施設の組織の審査を受け、研究によって研究の科学的な妥当性を検討し、提供者の不利益が生じないこと、個人情報厳重に管理されていること、提供者に同意を得る方法に倫理的な問題がないことを確認し、承認を得た後に行った。

利益相反や民間企業との共同研究は、それぞれの施設の規程に従って厳格に扱った。

動物実験については「国立がんセンターにおける動物実験に関する指針」などの指針を遵守し、計画は施設の動物実験倫理委員会の審査を受け、動物愛護の立場から、動物の生命の尊重と苦痛をとまなう実験への十分な配慮のもとに、必要最低限の個体数を用いて、実験を遂行した。

遺伝子組み換え実験は事前に施設の安全委員会等に申請し、安全性や科学的な妥当性について審査を受け、承認を受けた後に実施した。

#### **本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等**

##### **第 2 年次**

(国立がん研究センター研究開発費による成果であることが記載されているもの、および関連の深いもの)

1: Fukumoto M, Kurisu S, Yamada T, Takenawa T.

$\alpha$ -Actinin 4 Enhances Cell Invasion by Suppressing Maturation of Focal Adhesions.

*PLoS One*. 2015 Apr 10;10(4):e0120616.

2: Fukuizumi A, Miyanaga A, Seike M, Kato Y, Nakamichi S, Chubachi K, Matsumoto M, Noro R, Minegishi Y, Kunugi S, Kubota K, Gemma A.

Effective Crizotinib schedule for an elderly patient with ALK rearranged non-small-cell lung cancer: a case report.

*BMC Res Notes*. 2015 Apr 23;8:165.

3: Takahashi A, Ishii G, Neri S, Yoshida T, Hashimoto H, Suzuki S, Umemura S, Matsumoto S, Yoh K, Niho S, Goto K, Ohmatsu H, Nagai K, Gemma A, Ohe Y, Ochiai A.

Podoplanin-expressing cancer-associated fibroblasts inhibit small cell lung cancer growth.

*Oncotarget*. 2015 Apr 20;6(11):9531-41.

4: Miyanaga A, Masuda M, Tsuta K, Kawasaki K, Nakamura Y, Sakuma T, Asamura H, Gemma A, Yamada T.

Hippo Pathway Gene Mutations in Malignant Mesothelioma Revealed by RNA and Targeted Exon Sequencing.

*J Thoracic Oncol*. 2015 May;10(5):844-51.

5: Suzuki K, Watanabe S, Mizusawa J, Moriya Y, Yoshino I, Tsuboi M, Mizutani T, Nakamura K, Tada H, Asamura H; Japan Lung Cancer Surgical Study Group (JCOG LCSSG).

Predictors of non-neoplastic lesions in lung tumours showing ground-glass opacity on thin-section computed tomography based on a multi-institutional prospective study.

*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Aug;21(2):218-23.

6: Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, Ball D, Kim J, Lyons G, Rice T, Suzuki K, Thomas CF Jr, Travis WD, Wu YL; IASLC Staging and Prognostic Factors Committee, Advisory Boards and Participating Institutions.

The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revisions of the T Descriptors in the Forthcoming

Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer.

*J Thorac Oncol*. 2015 Jul;10(7):990-1003.

7: Honda K.

The biological role of actinin-4 (ACTN4) in malignant phenotypes of cancer.

*Cell Biosci*. 2015 Aug 18;5:41.

8: Fujimoto Y, Togo S, Tulafu M, Shimizu K, Hayashi T, Uekusa T, Honma Y, Namba Y, Takamochi K, Oh S, Suzuki K, Takahashi K.

Variation in the expression levels of predictive chemotherapy biomarkers in histological subtypes of lung adenocarcinoma: an immunohistochemical study of tissue samples.

*Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Sep 1;8(9):10523-33.

9: Matsunaga T, Suzuki K, Imashimizu K, Banno T, Takamochi K, Oh S.

Body Mass Index as a Prognostic Factor in Resected Lung Cancer: Obesity or Underweight, Which Is the Risk Factor?

*Thorac Cardiovasc Surg*. 2015 Oct;63(7):551-7.

10: Sawa M, Masuda M, Yamada T. Targeting the Wnt signaling pathway in colorectal cancer.

*Expert Opin Ther Targets*. 2015 Oct 6:1-11.

11: Kozu Y, Takamochi K, Oh S, Suzuki K.

Long-term survival after superior vena cava resection and reconstruction for bulky local recurrence from lung cancer.

*Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015 Oct;21(4):545-7.

12: Honda K, Kobayashi M, Okusaka T, Rinaudo JA, Huang Y, Marsh T, Sasajima Y, Nakamori S, Sanada M, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Miura N, Kamita M, Sakamoto T, Shouji H, Jung G, Srivastava S, Yamada T.

Plasma biomarker for detection of early stage pancreatic cancer and risk factors for pancreatic

malignancy using antibodies for apolipoprotein-AII isoforms.

*Sci. Rep.* 2015 Nov 9;5:15921.

13: Sugano T, Seike M, Noro R, Soeno C, Chiba M, Zou F, Nakamichi S, Nishijima N, Matsumoto M, Miyanaga A, Kubota K, Gemma A.

Inhibition of ABCB1 Overcomes Cancer Stem Cell-like Properties and Acquired Resistance to MET Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer.

*Mol Cancer Ther.* 2015 Nov;14(11):2433-40.

14: Ueno H, Hattori A, Matsunaga T, Takamochi K, Oh S, Suzuki K.

Is lower zone mediastinal nodal dissection always mandatory for lung cancer in the lower lobe?

*Surg Today.* 2015 Nov;45(11):1390-5.

15: Arai E, Gotoh M, Tian Y, Sakamoto H, Ono M, Matsuda A, Takahashi Y, Miyata S, Totsuka H, Chiku S, Komiyama M, Fujimoto H, Matsumoto K, Yamada T, Yoshida T, Kanai Y.

Alterations of the spindle checkpoint pathway in clinicopathologically aggressive CpG island methylator phenotype clear cell renal cell carcinomas.

*Int J Cancer.* 2015 Dec 1;137(11):2589-606.

16: Hattori A, Maeyashiki T, Matsunaga T, Takamochi K, Oh S, Suzuki K.

Predictors of pathological non-invasive lung cancer with pure-solid appearance on computed tomography to identify possible candidates for sublobar resection.

*Surg Today.* 2016 Jan;46(1):102-109.

17: Mimae T, Suzuki K, Tsuboi M, Nagai K, Ikeda N, Mitsudomi T, Saji H, Okumura S, Okumura M, Yoshimura K, Okada M.

Surgical Outcomes of Lung Cancer in Patients with Combined Pulmonary Fibrosis and Emphysema.

*Ann Surg Oncol.* In press.

18: Hisakane K, Saruwatari K, Fujii S, Kirita K, Umemura S, Matsumoto S, Yoh K, Niho S, Ohmatsu H, Kuwata T, Ochiai A, Gemma A, Tsuboi M, Goto K, Ishii G.

Unique intravascular tumor microenvironment predicting recurrence of lung squamous cell carcinoma.

*J Cancer Res Clin Oncol.* In press.

19: Masuda M, Sawa M, Yamada T.

Therapeutic targets in the Wnt signaling pathway: feasibility of targeting TNK1 in colorectal cancer.

*Pharmacology & Therapeutics.* In press.

20: Sato Y, Kinoshita T, Suzuki J, Jimbo K, Asaga S, Hojo T, Yoshida M, Tsuda H.

Preoperatively diagnosed ductal carcinoma in situ: risk prediction of invasion and effects on axillary management.

*Breast Cancer.* In press.

21: Fukui M, Suzuki K, Matsunaga T, Oh S, Takamochi K.

Outcomes of lung cancer resection for patients with combined pulmonary fibrosis and emphysema.

*Surg Today.* In press.

22: Kurihara H, Shimizu C, Miyakita Y, Yoshida M, Hamada A, Kanayama Y, Yonemori K, Hashimoto J, Tani H, Kodaira M, Yunokawa M, Yamamoto H, Watanabe Y, Fujiwara Y, Tamura K.

Molecular imaging using PET for breast cancer.

*Breast Cancer.* In press.