

# プロテオーム研究を基盤とする新しいがんの診断と治療法の開発

研究期間 平成17年度～平成21年度(予定)

研究体制

総括 山田 哲司[国立がんセンター]

※平成21年度における研究体制

## がんの新規バイオマーカーと治療標的の発見

Project Keyword

プロテオーム、  
プロテオミクス

プロテオーム (proteome) とは、ゲノム (genome) に制御され細胞、組織、器官などに発現するタンパク質全体を指す。プロテオミクス (proteomics) はそれを研究対象とする技術や学問をさす

バイオマーカー

生理的な状態、疾患の病態の変動や、様々な治療に対する反応などと相関する血液、尿、組織などの生体試料から得られる何らかの客観的な指標

分子標的治療薬

膜タンパク質・酵素・シグナル伝達分子などの細胞内の特定の分子を狙い撃ちしてその機能を抑える治療薬。副作用が少なく、高い効果が期待されている

### 1 研究の背景・意義

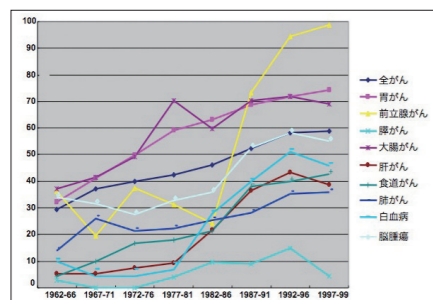
#### がん克服のためには

我々はがん克服のために「がんの早期発見」「治療の個別化」「新規治療薬の開発」の3点が重要であると考え、これらの実現を目標として研究を行った。

がんの早期発見: 無症状の段階でがんを発見し、早期に治療を開始することが望ましいが、実際には進行した段階で診断される症例が後をたたない。特に肺がんは初期には症状が乏しく、検診の方法も確立されておらず、今日でも95%以上の症例が病期III/IV期に進行するまで診断できていない。そのため肺がんの治療成績は主要な固形がんの中で最悪である。

治療の個別化: がんは多様な疾患であり、現在の診断技術では同一のカテゴリーに分類される悪性腫瘍であっても、治療効果や生存期間は症例間で大きく異なっている。本来は症例ごとに最適な治療方法を選択するべきであるが、個別の治療効果や副作用が事前に予測できないために最大公約数的な治療法の選択を行っているのが現状である。

新規治療薬の開発: 近年、細胞内の特定の分子を狙い撃ちしてその機能を抑える分子標的治療薬が、副作用が少なく、効果が高い治療法として様々ながんにおいて開発されているが、急性骨髄性白血病や大腸がんでは創薬の標的となるような分子が今日においても発見されていなかった。



▲国立がんセンター中央病院における様々ながんの5年生存率の年次推移

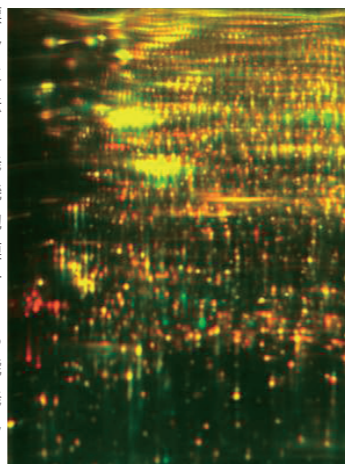
### 2 研究プロジェクトの目標

#### -OMICS解析による診断・治療法の開発

近年、マイクロアレイ、高感度のタンパク質蛍光標識、質量分析などのゲノム・プロテオームの網羅的解析の技術が急速に進歩し、遺伝子発現、タンパク質の発現・翻訳後修飾、シグナル伝達経路などが従来にはない規模とスピードで解析可能になっている。さらには干渉RNAのラブラリーを用いたゲノム網羅的な機能解析も試みられている。これらのテクノロジーの進歩により、がんの発生・進展の分子機構の解明が進むのみならず、臨床応用が期待されている。

本研究プロジェクトはこれらの所謂「-OMICS」と総称される解析技術を用い、がん患者の症例ごとに異なる治療効果および臨床経過を反映する遺伝子・タンパク質の発現、翻訳後修飾を見出し、個々の症例に最適な治療を施す個別化診断法を開発し、さらに臨床検査として実用化することを目標としている。また血漿タンパク質の精密質量分析による肺がんの早期診断法の実用化に取り組んだ。

さらにタンパク質の発現や、相互作用などの機能解析を行い、がん細胞の生存・増殖に必須な膜タンパク質・酵素・シグナル伝達経路などを同定し、民間企業と共同でこれらの分子(分子経路)の機能を阻害する医薬品を開発することをまでを目標とした。



▲高感度のタンパク質蛍光標識法により、レーザーマイクロディセクションにて得られた微量検体でも網羅的な発現解析が可能になった

### 3 研究プロジェクトの成果

#### 早期診断、個別化治療の新規バイオマーカー

肺がんの血漿診断法の実用化に関する研究においては、従来より高分解能の四重極ハイブリッド型質量分析機を用いた血漿タンパク質の精密質量測定にて、臨床病期I/II期の症例も含めて肺がんが高感度に検出できることを報告してきたが、この診断法の実用化のために新たに前処理用磁気ビーズを開発し、検体の前処理から多重の質量測定までの全課程をロボット化した。高い定量再現性を確認するとともに、従来の報告どおり高い正診率をもって肺がん患者を検出できることを明らかにした。技術的には臨床検査として実用レベルに達したものと思われる。

がんの病態把握と個別化治療実現に関する研究においては、低分化型肝細胞がん特有に発現が亢進しているタンパク質としてEB1を特定し、その発現が肝細胞がん患者の術後再発、予後と強く相関することを見出した。胃原発の消化管間質腫瘍(GIST; gastrointestinal stromal tumor)の悪性化のバイオマーカーとしてCD26を同定した。CD26陰性症例の98.0%は術後無再発だったが、陽性例の半数が再発し、両者間には統計学的に明らかな差が見られた。さらに進行肺がん患者で抗がん剤のgemcitabineによる血液毒性の発生と程度を投与前に



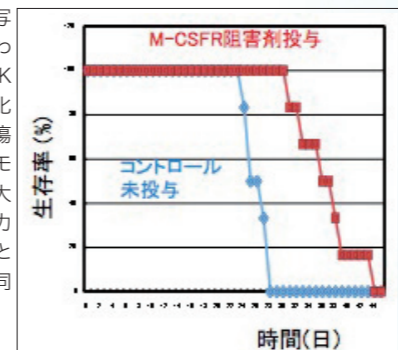
予測できるバイオマーカーを同定した。

◀国立がんセンターで開発された大規模な定量質量分析法にてゲムシタピンの副作用を予測できるバイオマーカーを同定した

#### 白血病と大腸がんの新規治療標的分子の発見

急性骨髄性白血病の分子標的治療薬の開発においては、難治性急性白血病より幹細胞を単離することにより、白血病発症に必須である分子を同定し、新たな標的療法を開発することに取り組んだ。融合遺伝子MOZ-TIF2を導入したマウス骨髄細胞の移植による白血病モデルで、M-CSF (macrophage-colony stimulating factor) 受容体の発現の高い細胞に白血病誘導活性が強いことを見出した。M-CSF受容体の発現の高い細胞特異的にアポトーシスを誘導することによりマウスモデルで白血病が治癒したことから、幹細胞の除去による白血病の治療が期待できる。M-CSF受容体のチロシン酸化阻害剤はこのモデルで白血病の発症を抑制し、治療薬として有望である。

大腸がんの分子標的治療薬の開発においては、転写因子TCF4 (T-cell factor-4) のWntシグナルによる恒常的な活性化で、大腸がんが発生するものと考えられている中、大腸がん細胞から抗TCF4抗体で免疫沈降するタンパク質を質量分析で網羅的に解析し、TCF4をリン酸化し、大腸がん細胞の転写活性化と細胞増殖に係わるリン酸化酵素TCF4-Kを見出した。このリン酸化酵素の発現抑制で腫瘍が退縮することを動物モデルで明らかにした。大腸がんの創薬標的の有力候補と考え、民間企業と共同で阻害化合物を同定した。



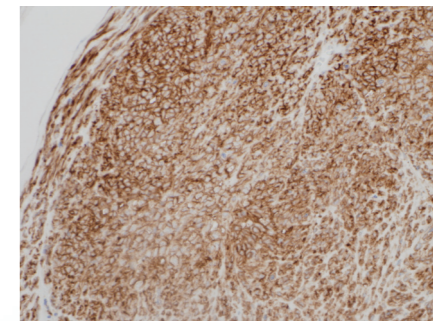
▲白血病幹細胞に発現するM-CSF受容体を阻害することで急性白血病の治療が可能である

### 4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

#### 早期診断、個別化治療の新規バイオマーカー

肺がんの血漿診断法の実用化に関する研究では、海外メーカーに依存せず、独自の国産技術で磁気ビーズを製し、精密質量測定による肺がん診断が可能になった、国立がんセンター以外の施設でも同様の精度で測定が可能であり、臨床検査として一般化が可能であるという2点が達成できた。我々が用いた質量分析機は研究用に開発された非常に高価で高性能な機械であるため、今後操作性に優れ、機械間・測定日間の再現性が良く、高い分解能と質量精度を持つ臨床プロテオームに特化した安価な質量分析機の開発が必要である。今後は個人検診の肺がんスクリーニング法として普及させることを当面の目標として、コストダウンに取り組む。

がんの病態把握と個別化治療実現に関する研究においては、肝細胞がん切除症例145症例の免疫染色の結果、EB1タンパク質の発現が術後再発、予後と強く相関することを明らかにしている。実用化を目的として民間企業との共同研究で特異抗体の作成を進めている。CD26の発現は胃原発のGISTの予後を客観的に判定できるバイオマーカーである。臨床検査用のモノクローナル抗体を作成することで



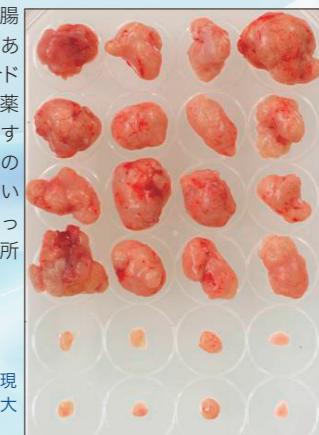
実用化を進める。

◀CD26は胃原発のGISTの予後を客観的に予測できるバイオマーカーであり、陽性症例の約半数が転移・再発する

#### 白血病と大腸がんの新規治療標的分子の発見

急性骨髄性白血病の分子標的治療薬の開発においては、白血病幹細胞特異的に発現するM-CSF受容体を標的とする治療法が動物実験では顕著な効果があることを明らかにした。臨床検体でもM4およびM5型に分類される急性骨髄性白血病の多くでM-CSF受容体の発現が高いことを確認した。既にM-CSF受容体に対し阻害活性のある化合物が見出されており、実用化の可能性が高いと考えられるが、さらにM-CSF受容体を選択的に阻害する化合物を民間企業とともに探索し、治療薬に発展させる計画である。

大腸がんの分子標的治療薬の開発においては、大腸がんで見られるTCF4の異常な転写活性化と細胞増殖に係わるリン酸化酵素を新規に見出した。大腸がんの殆どの症例で見られるc-mycなどのTCF4の標的遺伝子の発現亢進が大腸がん細胞の異常増殖をもたらす原因と考えられており、このリン酸化酵素は大腸がんの有望な治療標的分子である。このリン酸化酵素のATP結合ドメインに競合阻害し、酵素活性を薬理的に抑制する化合物を同定することが可能であれば、大腸がんの治療薬となる可能性が非常に高いため、民間企業と共同研究を行った。現在、現在構造展開を行い、所謂リード最適化の段階にある。



▶TCF4をリン酸化するTCF4-Kの発現を抑制することで、マウスに移植した大腸がんが退縮した

#### 参考文献

Katsumoto et al., MOZ is essential for maintenance of hematopoietic stem cells. Genes Dev. 2006 May 15;20(10):1321-30.

Yamaguchi et al., Distinct gene expression-defined classes of gastrointestinal stromal tumor. J Clin Oncol. 2008 Sep 1;26(25):4100-8.

Matsubara et al., Identification of a predictive biomarker for hematologic toxicities of gemcitabine. J Clin Oncol. 2009 May 1;27(13):2261-8.