

Name : 清水 祐吾
Title : 異なる癌タイプ間の発現パターン比較による既存薬の薬効再評価
Institute: 京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター
Partner institute: Bioinformatics Program, Boston University
Duration: 2010年11月29日～2011年2月19日
Report: <u>研究生活</u> ITPの支援により2010年の11月末より約3ヵ月間、アメリカ、ボストンにある Boston University(BU)の Bioinformatics Program, DeLisi 研究室に滞在させていただいた。BUは全米で4番目の規模を誇る大学であり、学部のバラエティーはアメリカ合衆国内の大学の中でも有数であると言われており、非常に多岐にわたった分野の建物がずらりと並んでいた。DeLisi 研究室はそのような BU の Charles River Campus にある Life Science and Engineering Bldg.(写真右)に入っており、私はその中の学生部屋にある机をお借りして研究を行うことができた。DeLisi 研究室に在籍している学生やポスドクは他大学などとの共同研究を行っている方が多数おり、大学の枠を超えた研究が盛んに行われていることに驚かされた。私の英語はつたないものであったが、皆正しく理解しようと非常に親切な態度で接していただき、非常にありがたかった。日本においても普段から英語を聞く機会は多く、Listening に関してはあまり問題がなかったがやはり speaking の機会が絶対的に不足しており、今回の滞在においてその必要性を強く再認識させられた。DeLisi 研究室では定期ミーティングが毎週水曜の午後に行われており、ここでは、各々の各週の研究の進捗状況の報告に加えて、研究内容のまとまってきた人がプレゼンを行ったり、論文投稿前の本文検討を行ったり、事前に指定した論文について討論を行うといったことが行われていた。このミーティングには DeLisi 研究室のメンバーのみならず Department of Mathematics and Statistics から Mark Kon 教授が参加するなど、幅広い視点からの討論が行われており、学生やポスドク、教授といった身分にとらわれず非常に活発に議論を行っている様子が印象的であった。また、ごく基本的なことに関するような討論においても研究室の構成メンバーそれぞれの認識の差を確認しあい、再確認を行うといったことが行われており、研究室共通の知識としてまと
 
写真(左) : DeLisi 研究室への最寄り駅 Blandford St.駅(路面電車)からの眺め
写真(右) : DeLisi 研究室の入っている Life Science and Engineering Bldg. の入口

められていく作業がしっかり行われていると感じた。DeLisi 教授は 12 月に手術を受け、一時期ミーティングに参加されることが難しかったが、1 月には順調に回復されその後のミーティングは BU から車で 30 分ほどの距離にある DeLisi 教授のご自宅で開催され、非常にアットホームな環境で行われ貴重な体験となった。残念ながら私の滞在期間中には体験できなかったが、教授宅でピザを食べながらランチミーティングを行うといったことも計画されていたようである。毎週月曜には朝から昼にかけて無料のベーグルと飲み物が **Bioinformatics Program** において提供されており、そこに所属する様々な研究室の人が集まっていた。ボストンには BU の他にもハーバード大学やマサチューセッツ工科大学(MIT)といった有名な大学が多数あり、それらの大学で行われるセミナーの情報なども研究室で提供されていた。ボストンにおいては大学や研究室といった枠にとらわれないような研究活動が手軽に行え、非常にフレキシブルな環境が整っていることを実感させられた。

### 研究成果

本プログラムによる滞在において、重水博士および Hu 博士と抗癌剤に対する既存薬の薬効再評価について共同研究を行うことができた。重水博士らは今まで癌に対する既存薬の薬効を見直すことで新規薬剤の探索を行ってきた。その手法はマイクロアレイの発現データを用いて、癌特異的に **up-regulate**(または **down-regulate**)されている遺伝子に対してその発現を抑える(または促進する)ような薬剤を探索するものであり、その概要は下記のとおりである。

1) 癌細胞と正常細胞の遺伝子発現データを **t-test(Welch)**により比較し、癌特異的に **up-regulate** または **down-regulate** されている遺伝子を検出し、その **t-score** によって **up-regulate** および **down-regulate** の度合いをランキング化する

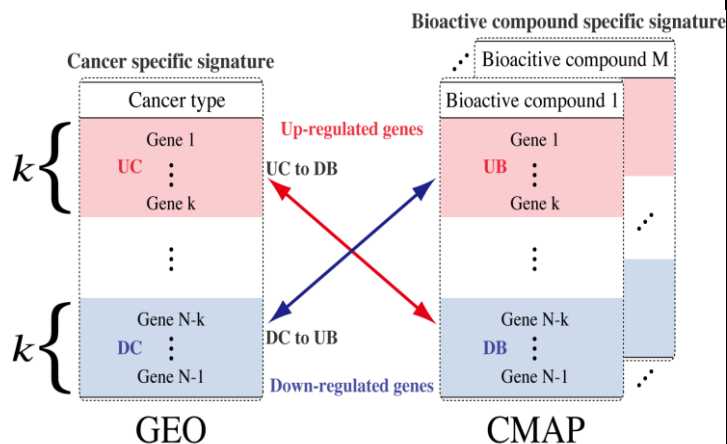
2) 癌細胞とその癌細胞にある化合物(既存薬を含む)を投与した時の遺伝子発現データを 1)と同様に比較し、ランキング化する

3) 1)のランキングの上位遺伝子  $k$  個と 2)のランキングの下位遺伝子  $k$  個を比較し、重複個数をカウントする。また、同様に 1)の下位遺伝子  $k$  個と 2)の上位遺伝子  $k$  個を比較する(図)

4) 3)の  $k$  の数値を変化させ、それぞれの重複個数が統計的に有意であるかどうかを **Fisher's exact test** を用い検定する

5) 4)で有意であると判断された化合物を新規薬剤の候補としてその詳細を調査する

ここでマイクロアレイデータには NCBI で提供されているアレイデータのデータベース **Gene Expression Omnibus(GEO)**とハーバード大学と MIT の共同研究機関である **Broad Institute** が提供している **Connectivity map(CMAP)**と呼ばれるデータベースが用いられた。CMAP には **Breast cancer(BC)**, **Leukemia(LE)**, **Prostate cancer(PC)**の 3種類の癌タイプの細胞に対して FDA 承認薬を含む生化学活性のある化合物を投与した時のアレイデータが含まれている。以前の研究ではこの 3種の癌タイプを用いた新規薬剤候補の探索が行われたが、今回、私は上記 3種以外の 9種の癌タイプ(表 1)について上記解析の拡張を試みた。しかしながら、9種の新規癌タイプについては CMAP にデータが存在しないことから、今回の解析では薬剤投与時のデータとして **BC,LE,PC** のデータを流用して解析



図：解析 3)における比較の模式図

することにした。この際、必要となるのは調査する癌タイプが利用する BC,LE,PC のうちのどれかと似たような発現パターンを持っていることである。そこで t-test を用いて新規癌タイプ(A)と BC,LE,PC(B)の発現パターンが類似しているかどうかを調べた。ここでは A と B の平均が一致していることを類似していると定義し、各遺伝子における FDR>0.001 の割合を調べた(FDR:複数回検定において P-value を補正したもの)。その結果、8つの組み合わせにおいて 40%以上の遺伝子が類似していると判定され(表 2、赤字部分)、これらについて上記解析 1)~5)を行った。その結果、どの組み合わせにおいても一定の k 以上で有意な化合物が検出できた。癌タイプによって up-regulate されているものを化合物投与により抑制する化合物(UCtoDB)の数とその逆のパターン(DCtoUB)の数の傾向は異なった。Colorectal, Thyroid は DCtoUB の方が検出される化合物の数が多く、Esophageal はその逆であった。Glioma は双方において非常に多くの化合物が検出された。今回は時間の都合でできなかったが、今後、検出された化合物が実際薬として利用されているかどうかを文献等を用いて調べ、specificity や sensitivity を調べていく必要がある。また、異なる癌タイプを比較する際にアレイデータを normalize しているが、これについても問題点があり、今後改善が必要と思われる。また、この解析の内容は Java 言語でコーディングを行っており、DeLisi 研究室で Hu 博士が開発されている VisANT プログラムに搭載される予定であり、今後も引き続き DeLisi 研究室との連絡を取っていく予定である。

Colorectal cancer	Glioma blastoma	Pituitary Adenoma
Esophageal squamous cell carcinoma	Lung cancer	Renal cell carcinoma
Gastric tumor	Mesothelioma (pleural)	Thyroid cancer

表 1 : GEO より用いた新規癌タイプ 9 種

From GEO	From CMAP		
	Breast Cancer	Leukemia	Prostate Cancer
Colorectal Cancer	15.7% (3495 genes)	40.6% (9051 genes)	22.8%(5071 genes)
Esophageal	49.0% (10910 genes)	47.0% (10469 genes)	48.0% (10676 genes)
Gastric tumor	9.0% (2002 genes)	10.1% (2253 genes)	9.9% (2212 genes)
Glioma blastoma*	21.7% (4381 genes)	33.2% (7375 genes)	40.6% (9018 genes)
Lung cancer	8.4%(1862 genes)	9.5% (2126 genes)	9.2% (2056 genes)
Mesothelioma	31.5% (7051 genes)	31.3% (6966 genes)	31.8% (7087 genes)
Pituitary Adenoma	12.2% (2718 genes)	37.1% (8280 genes)	19.2% (4279 genes)
Renal cell carcinoma	34.0% (7549 genes)	33.8% (7533 genes)	33.9% (7557 genes)
Thyroid cancer	55.6% (12379 genes)	51.8% (11543 genes)	54.9% (12224 genes)

表 2: t-test(FDR>0.001)の割合、全遺伝子数は約 22,268(Glioma のみ 22,215)

#### 参考文献

- [1] Lamb, J., et al., The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease. Science, 2006. 313(5795): 1929-35.

## 若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム(ITP)

### バイオインフォマティクスとシステムズバイオロジーの国際連携教育研究プログラム 報告書

[2] Hu, Z., et al., VisANT 3.5: multi-scale network visualization, analysis and inference based on the gene ontology. *Nucleic Acids Res*, 2009. 37(Web Server issue): W115-21.

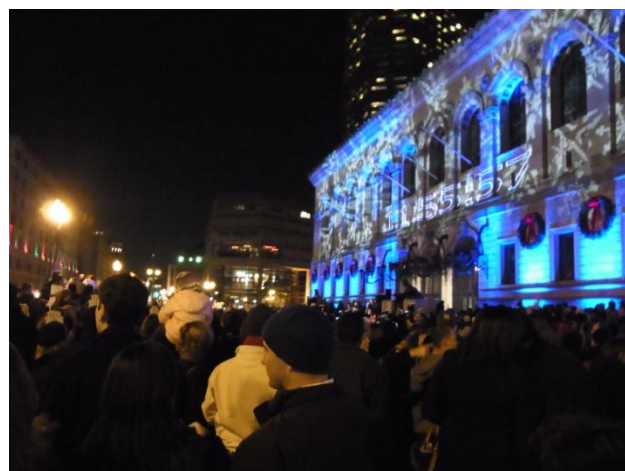
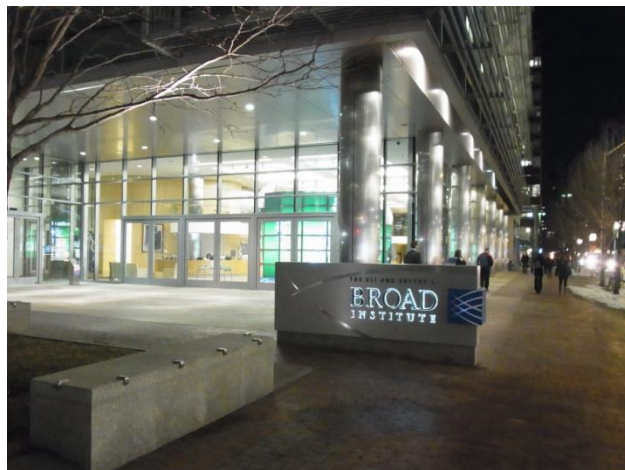
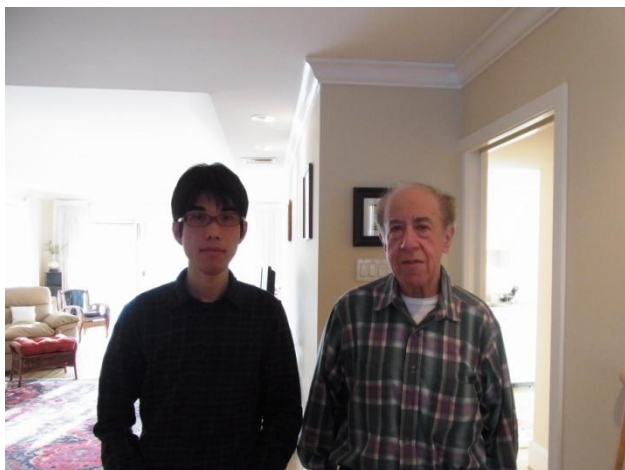
[3] Kamb, A., S. Wee, and C. Lengauer, Why is cancer drug discovery so difficult? *Nat Rev Drug Discov*, 2007. 6(2): 115-20.

[4] Chong, C.R. and D.J. Sullivan, Jr., New uses for old drugs. *Nature*, 2007. 448(7154): 645-6.

[5] Lee, J.K., et al., A strategy for predicting the chemosensitivity of human cancers and its application to drug discovery. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. 104(32): 13086-91.

#### 謝辞

3 ヶ月間の国際交流という大変貴重な機会を与えてくださった本プログラム代表である金久實教授、滞在期間の前後を含め全面的にサポートしてくださった馬見塚拓教授、五斗進准教授に深く感謝いたします。また、滞在を快く受け入れてくださった Charles DeLisi 教授、現地で非常によく面倒を見てくださった Zhenjun Hu 博士、重水大智博士、滞在中、前後における事務手続きでお世話になった Caroline Lyman さんに感謝いたします。最後に、ミーティングでお世話になった Mark Kon 教授、普段の生活でもお世話になった現地の学生、ポストクの皆さまに感謝いたします。



写真左上：左が清水(本プログラム参加者)、右が Charles DeLisi 教授。DeLisi 教授のご自宅にてミーティングの際に

写真右上： MITにある Broad Institute、入口ではゲノム関連の研究に関する一般向けの様々な展示が行われていた

写真左下：12月31日～1月1日にかけてのカウントダウンイベントの様子。住民が一体となって新年の到来をお祝いした。また、12月31日にはボストン市街で新年を迎える様々な催しが開催されていた

写真右下：住んでいたアパート周辺の様子。冬のボストンは寒く、気温が-10℃を下回る日も