

厚生労働科学研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業

がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山田哲司

平成20（2008）年 4月

I. 総括研究報告書

がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発 1
山田哲司

II. 分担報告書

1. プロテオーム解析による新しい膵がん血液診断法の有用性を検討する多施設
共同研究 7
安波洋一、土田明彦、中森正二、佐田尚宏、奥坂拓志、井岡達也、
島原政司、山田哲司

2. 血漿ペプチドプロファイルを用いた膵がん診断法の実用化 17
本田一文

3. 新規プロテオーム解析技術 2DICAL 法による血中腫瘍マーカーの開発 28
尾野雅哉

4. がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発 38
西村俊秀

5. がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発 41
近藤 格

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 44

IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

「がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発」

総括研究報告

主任研究者 山田哲司 国立がんセンター研究所 部長

研究要旨

がん検診で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は有効ながん対策法の一つと考えられる。本研究班では、非浸襲的に得られる血液を検体に用い、精密検診を行うべき症例を効率良く絞るプレスクリーニングに使用できる新規腫瘍マーカーを開発することを目的とし、下記の5項目を分担して研究を行った。

1. 多施設共同研究による血漿・血清検体の収集

7つの医療機関（自治医科大学病院、国立がんセンター中央病院、東京医科大学病院、大阪府立成人病センター、国立病院機構大阪医療センター、大阪医科大学、福岡大学病院）が参加する班組織により全く同一の採血・輸送・保存のプロトコールで、平成19年12月27日採血分までに、774名の方から検体の提供を受けた。

2. 膵がんの血液診断法の検証とマーカー分子の構造解明

上記の多施設共同研究で前向きに収集した検体などの解析が終了し、平成20年1月29日に行われた「平成19年度第3次対がん総合戦略研究事業 研究成果報告会」および平成20年2月28日に行われた「第3次対がん10か年総合戦略 第2回合同シンポジウム」にて中間報告した。また精密質量分析とデータベース検索により診断に必要なマーカーペプチドのアミノ酸配列と翻訳後修飾を決定した。

3. 血清・血漿のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

独自に開発したハイスループットな定量的ショットガンプロテオミクス解析手法である2DICAL (2 Dimensional Image Converted Analysis of Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (LC/MS))法により膵がん患者で特異的に翻訳後修飾を受ける血漿腫瘍マーカー候補を同定した。

4. 腫瘍組織のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

ホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin-fixed Paraffin Embedded: FFPE)組織切片よりタンパク質をペプチドとして抽出し、タンデム質量分析計を用いた

スペクトラル・カウウント法による半定量解析を行い、原発性肺線がんのリンパ節転移と相関するタンパク質を同定した。

5. 腫瘍細胞の遺伝子発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

肝細胞がんの血清腫瘍マーカーである alpha feto-protein (AFP) の発現と有意な相関を示す遺伝子を 214 種類同定した。これらには既に悪性腫瘍での機能的関連が報告されているものに加え、脂質タンパク質、アルブミンファミリー、炎症性タンパク質、など血清腫瘍マーカー候補を同定した。

【分担研究者】

本田一文

国立がんセンター研究所 室長
尾野雅哉

国立がんセンター研究所 室長
近藤格

国立がんセンター研究所 プロジ
ェクトリーダー

西村俊秀

東京医科大学 客員教授

佐田尚宏

自治医科大学 教授

井岡達也

大阪府立成人病センター 副部長
土田明彦

東京医科大学 准教授

奥坂拓志

国立がんセンター中央病院 医長
安波洋一

福岡大学 教授

中森正二

大阪医療センター 診療統括部長

【研究協力者】

島原政司

大阪医科大学 教授

中村治彦

国立国際医療福祉大学 教授

A. 研究目的

がん検診で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有効ながん対策法の一つと考えられる。本研究班では、全国どの医療施設でも同じ条件で、被験者の負担が少なく、非侵襲的に得られる血液を検体に用い、精密検診を行うべき症例を効率良く絞るプレスクリーニングに使用できる新規腫瘍マーカーを開発することを最終的な目的としている。平成から15年から17年度までの第3次対がん総合戦略研究事業研究課題「がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発」では、高分解能・高質量精度の質量分析装置を使用し、難治性の高い膵がん患者を90%以上の正診率で診断でき、さらに既存の腫瘍マーカーであるCA19-9と組み合わせることで、病期I期の早期症例を含めた100%が検出可能な新規腫瘍マーカーを開発した。この成果は血液バイオマーカーによるがん検診に現実性があることを示したものである。

平成19年度はこの質量分析法の膵がん診断能について検証すること、対象を膵以外の臓器にも範囲を拡げ、

より汎用性の高いがん検診に応用可能な血液診断法に発展させること、遠隔地を含めた全国の医療機関にも対応できる搬送システムを確立することを目的とした研究を行った。

B. 研究方法

多施設共同研究による血清・血漿の収集

各地のがん医療の中核となる7つの医療機関が参加する班組織により添付する研究計画書のように全く同一の採血、輸送、保存プロトコールで、膵がん以外にも胃がん、大腸がん、などの比較的罹患率の高いがんの罹患者、および鑑別疾患の対象となる良性疾患患者および健常者から血清・血漿を匿名化された精度の高い臨床情報とともに前向きに集める多施設共同研究を行った。

膵がんの血液診断法の検証とマーカー分子の構造解明

昨年度までに本検査の実用化に向けた技術開発として逆相磁気ビーズクロマトグラフィー (magnetic bead based hydrophobic interaction chromatography system: MBHICs) と MALDI-QqTOF-MS 法を組み合わせた MBHICs-MALDI-QqTOF-MS 法を考案し、「①測定装置と試薬の安定性と再現性の確保、②測定の自動化と高速化システムの確立、③得られたデータの品質管理法と多検体計測時の解析結果統合法の確立」の3点に重点を置き、

開発を進めてきた。

本年度は、SELDI-QqTOF-MS 法によって抽出され報告されてきた4本のペプチドピーク候補のアミノ酸配列と翻訳後修飾状態を決定し、さらに実用化に向けて確立された MBHICs-MALDI-QqTOF-MS による血漿プロファイル法による膵がん診断法の診断精度を独立した4つ集団を用いて (計549症例分血漿検体) 検証を行った。

血清・血漿のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

膵がん患者血漿および健常者血漿を国立がんセンター中央病院にてそれぞれ38症例、39症例、東京医科大学病院にてそれぞれ5症例、4症例集積し、計86症例を解析対象とした。アルブミンなどの血中に存在する大量のたんぱく質の影響を除外するために、特異糖鎖を認識するコンカナバリン A (ConA) にて血漿を前処理し、ConA に吸着する分画を抽出した。

抽出したペプチドを 2DICAL で解析し、膵がん患者群と健常者群間で U 検定で有意差 ($p < 0.0005$) のあるピークを拾い出し、目視にて確認したものをマーカー候補とした。

腫瘍組織のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

東京医科大学病院における原発性膵臓がん手術症例 (2003年から2004年) の内、IA期 (リンパ節転移なし) 7症例、IIIA期 (リンパ節転移あり) 6症

例のホルマリン固定パラフィン包埋切除標本よりレーザーマイクロダイセクション(LMD)法で腫瘍細胞からタンパク質抽出し、Liquid Tissue™(Expression Pathology社)により可溶化した。トリプシン消化後、低流速液体クロマトグラフィーとナノエレクトロスプレーイオン化インターフェースをもつタンデム質量分析計により解析した。タンパク質同定には検索ソフト MASCOT v2.1.04 を用いた。

腫瘍細胞の遺伝子発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

HuH-7, JHH-7, JHH-5, HepG2, HT17, HuH-1, Hep3B, Li-7, PLC/PRL/5, KIM-1, KYN-2, HLE, HLF, JHH-4, JHH-6, SK-Hep-1, KYN-3, PH5-CH, PH5-T, RBE and SSP-25 の肝細胞がん培養細胞から RNeasy mini kit (キアゲン社) を用いて RNA を抽出し、Human Genome U133 plus 2.0 array (Affimeterix社) を用いて RNA の発現を網羅的に調べた。ピアソン相関係数の計算を行うことでAFPに関連する遺伝子の同定を行った。

(倫理面への配慮)

多施設共同研究の実施にあたっては「臨床研究に関する倫理指針(平成15年厚生労働省告示第255号、平成16年12月28日改正)」等の指針に沿った計画を作成し、国立がんセンターおよび自治医科大学、東京医科大学、大阪府立成人病センター、大阪医療セ

ンター、大阪医科大学、福岡大学の7施設で倫理委員会による審査を受け、研究によって提供者に危険や不利益が生じない事、匿名化が厳重に行われ、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、施設審査委員会の承認を得た後に研究を開始した。

C. 研究結果

多施設共同研究による血清・血漿の収集

全国7施設から血液検体を集める方法を統一した。平成19年12月27日採血分までで774症例分の血漿・血清検体を収集した。血清ビリルビン値と既存の腫瘍マーカーのCEA、CA19-9、DuPan-2の値を測定した。

膵がんの血液診断法の検証とマーカー分子の構造解明

標準血漿検体を用いて、全実験の定量再現性を確認した。検出されたペプチドピークの総数は2100本以上であり、その再現性は、前ピークの相関係数の平均値±標準偏差は 0.993 ± 0.0029 で、変動係数の平均値は 0.0392 ± 0.0161 であった。

プロテインチップ法で同定された4マーカーの内3マーカーの和は、膵がん患者血漿に統計学的に有意に低下した。また症例数が少なく確定的なことはいえないが、臨床病期I, II期の膵がん患者でも低下する傾向が観察

された。

精密質量分析とデータベース検索により PancJudge の診断に必要な 17252 と 8756 m/z のマーカーペプチドのアミノ酸配列と翻訳後修飾を決定した。

血清・血漿のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

2DICAL 法で検出したピークは 115, 325 ピークあり、そのピークから上記方法で絞り込んだマーカー候補は 6 ピークであった。それぞれピークの (質量電荷比 (m/z)、保持時間 (RT)) は、(412 m/z、RT 13.7min)、(546 m/z、RT 8.3min)、(552 m/z、RT 8.3min)、(827 m/z、RT 8.3min) (1141 m/z、RT 29.0min) (1185 m/z、RT 9.2min)、であった。これらのピークは東京医科大学病院症例にても差が認められ、検証された。

特に有意な差を認めた 3 つのピーク (552 m/z、RT 8.3min)、(827 m/z、RT 8.3min) (1141 m/z、RT 29.0min) による判別率、ROC 曲線下面積は、552 m/z、827 m/z、1141 m/z の順に、それぞれ、81%、0.83、89%、0.92、86%、0.91 であった。そしてこれらのペプチド配列とその配列内のアミノ酸の翻訳後修飾が解明され、有力な腫瘍マーカー候補と考えられた。

腫瘍組織のタンパク質発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

病期 IA 期と IIIA 期間を比較したところ、特に IIIA 期の肺腺がんでは腫瘍

の進行、悪性化、転移と関連と云われているタンパク質が多く検出された。また逆に IA 期を特徴づけるタンパク質も多く見出された。

腫瘍細胞の遺伝子発現解析による新規腫瘍マーカーの探索

AFP の発現量と高い相関を示す遺伝子を 214 種類同定した。同定した遺伝子の中には肝がんなどの悪性腫瘍との機能的関連が報告されているタンパク質に加え、脂質タンパク質、アルブミンファミリー、炎症性タンパク質、など血清腫瘍マーカーとして報告されてものが含まれていた。また肝細胞がんの腫瘍組織で特異抗体を用いて AFP との発現相関を調べたところ高い相関が認められた。AFP と共通の転写因子のネットワークで制御されていることが示唆された。

D, 考察

臨床検体のプロテオーム解析を行う場合は、その検体の採血、保存方法で、結果は大きく左右される。今回われわれは日本全国の地理的に異なる計 7 施設から同一の方法で検体を採取して輸送・保存する実際の臨床検査を想定したシステムを構築した。この検体を用いことにより、実用化した場合に近いデータが取得できると考えられる。

E, 結論

全国7施設の病院から膵がん患者を中心にその他の消化器疾患や健常者の血液検体を同一のプロトコールで収集するシステムを構築した。平成19年12月27日現在、774症例の分の血液（血漿・血清）検体の収集し、質量分析法による膵がんの血漿診断法の診断能について良好な成績がえられた。今後さらに胃がんや大腸がんなどの範囲を拡げ、より汎用性の高いがん検診に応用可能な血液診断法を開発するため、腫瘍マーカーの探索を行う。

F, 健康危険情報

なし

G, 研究発表

分担研究報告書に記載

H, 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1、特許出願

分担研究報告書に記載

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

厚生労働科学補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）分担研究報告
がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発

「プロテオーム解析による新しい膵がん血液診断法の
有用性を検討する多施設共同研究」

	氏名	所属	職名
分担研究者	安波洋一	福岡大学	教授
分担研究者	土田明彦	東京医科大学	准教授
分担研究者	中森正二	大阪医療センター	統括診療部長
分担研究者	佐田尚宏	自治医科大学	教授
分担研究者	奥坂拓志	国立がんセンター中央病院	医長
分担研究者	井岡達也	大阪府立成人病センター	副部長
研究協力者	島原政司	大阪医科大学	教授
主任研究者	山田哲司	国立がんセンター研究所	部長

（順不同）

研究要旨

平成17年度までに開発した膵がんの血液診断法の検証、および新規腫瘍マーカーの探索のために、本研究班では大規模な血液（血漿・血清）の収集を進めている。7つの医療機関（自治医科大学病院、国立がんセンター中央病院、東京医科大学病院、大阪府立成人病センター、国立病院機構大阪医療センター、大阪医科大学病院、福岡大学病院）が参加する班組織により全く同一の採血・輸送・保存のプロトコールで、膵がん以外にも胃がん、大腸がん、などのがんの罹患者、および鑑別疾患の対象となる良性疾患患者および健常者から、匿名化された臨床情報とともに、血清・血漿の前向きに収集し、平成19年12月27日採血分までで、774名分の検体を保存・管理している。

A, 研究目的

がん検診で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は有効ながん対策法の一つと考えられる。本研究班では、全国どの医療施設でも同じ条件で、被験者の負担が少なく、

非侵襲的に得られる血液を検体に用い、精密検診を行うべき症例を効率良く絞るプレスクリーニングに使用できる新規腫瘍マーカーを開発することを最終的な目的としている。平成から15年から17年度までの第3次

対がん総合戦略研究事業研究課題「がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発」では、高分解能・高質量精度の質量分析装置を使用し、難治性の高い膵がん患者を90%以上の正診率で診断でき、さらに既存の腫瘍マーカーであるCA19-9と組み合わせることで、病期I期の早期症例を含めた100%が検出可能な新規腫瘍マーカーを開発した。この成果は血液バイオマーカーによるがん検診に現実性があることを示したものと思われる。

平成18年度よりは前向きに検体を集め、この質量分析法の膵がん診断能について検証すること、対象を膵以外の臓器にも範囲を拡げ、より汎用性の高いがん検診に応用可能な血液診断法に発展させること、遠隔地を含めた全国の医療機関にも対応できる搬送システムを確立することを目的とした多施設共同研究を開始した。

B. 研究方法

プロテオーム解析による血液診断法を検診に応用し、実用化していくためには、複数施設から同一のプロトコールで採血し収集された多数の症例を用いて、その感度、特異度を検証していく必要がある。今年度は各地のがん医療の中核となる7つの医療機関が参加する班組織により全く同一の採血、輸送、保存プロトコールで、膵がん以外にも胃がん、大腸がん、などの比較的罹患率の高いがんの罹患者、および鑑別疾患の対象となる良性疾患

患者および健常者から血清・血漿を匿名化された精度の高い臨床情報とともに集める多施設共同研究を開始した。

また将来の臨床検査への展開が迅速に可能なように、血液検体は通常の臨床検査と同様に臨床検査会社の株式会社エスアールエルによって各施設より収集され、同社にて血漿・血清分離を行った。さらに同社は1週間に1回、凍結状態で国立がんセンター研究所腫瘍プロテオミクスプロジェクトに搬出するシステムを構築した。

さらに既存の膵がん血液腫瘍マーカーとの優劣を検討するため血清のCA19-9、DUPAN-2、CEA、およびビリルビン値の測定を行った。搬入された血漿・血清は解析までは国立がんセンター研究所の冷凍庫にて凍結保存した。症例の臨床情報もすべて匿名番号を用いて匿名化を行い、所定の様式の採血前確認書および症例報告書にて収集し、セキュリティの整備された国立がんセンター研究所腫瘍プロテオミクスプロジェクトの中央サーバーNCC-ProteoJudgeに保存した。

(倫理面への配慮)

「臨床研究に関する倫理指針(平成15年厚生労働省告示第255号)」等の指針に沿った計画を作成し、国立がんセンターおよび自治医科大学、東京医科大学、大阪府立成人病センター、大阪医療センター、大阪医科大学、福岡大学の7施設で倫理委員会による審査を受け、研究によって提供者に危険や

不利益が生じない事、匿名化が厳重に行われ、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、承認を得た後に研究を開始した。

C, 研究結果

平成19年12月27日採血分までで774症例分の血液検体の収集が進んでいる。症例の内訳は下記のとおりである。

症例内訳（平成19年12月27日採血分まで）

	症例報告書受け取り	採血前確認書まで	合計
浸潤性膵管がん	172	41	213
その他の膵腫瘍	41	13	54
慢性膵炎	13	1	14
胃がん	82	52	134
大腸がん	73	63	136
胆のう・胆道がん	23	7	30
肝内胆管がん	9	7	16
肝がん	6	19	25
食道がん	4	15	19
十二指腸がんなど	5	3	8
他臓器の良性疾患・ 健常者	59	40	99
その他	2	7	9
除外症例	17	0	17
合計	506	268	774

D, 考察

臨床検体のプロテオーム解析を行う場合は、その検体の採血、保存方法で、結果は大きく左右される。今回われわれは日本全国の地理的に異なる計7施設から同一の方法で検体を採取して輸送・保存する実際の臨床検査を想定したシステムを構築した。この検体を用いことにより、実用化した場合に近いデータが取得できると考えられる。

E, 結論

全国7施設の病院から膵がん患者を中心にその他の消化器疾患や健常者の血液検体を同一のプロトコールで収集した。腫瘍マーカーの開発や検証において、正確な臨床情報が付随し、採血方法、保存状態がそろった大規模な血液収集が重要である。質量分析による膵がん診断法の検証のみならず、新規腫瘍マーカー探査に有用な研究資材になるものと思われる。

F, 健康危険情報

なし

G, 研究発表

1、論文発表

Shitashige M, Satow R, Honda K, Ono M, Hirohashi S, Yamada T.

Regulation of Wnt Signaling by the Nuclear Pore Complex.

Gastroenterology. [in press]

Shitashige M, Hirohashi S, Yamada T.

Wnt signaling inside the nucleus (Review).

Cancer Sci. [in press]

Huang L, Shitashige M, Satow R, Honda K, Ono M, Yun J, Tomida A, Tsuruo T, Hirohashi S, Yamada T.

Functional Interaction of DNA Topoisomerase II α with the β -Catenin and T-Cell Factor-4 Complex

Gastroenterology. 2007

Nov;133(5):1569-78.

Shitashige M, Satow R, Honda K, Ono M, Hirohashi S, Yamada T.

Increased susceptibility of Sfl(+/-) mice to azoxymethane-induced colon tumorigenesis.

Cancer Sci. Dec;98(12):1862-7.

Yamamoto S, Tsuda H, Honda K, Kita T, Takano M, Tamai S, Inazawa J, Yamada T, Matsubara O.

Actinin-4 expression in ovarian cancer: a novel prognostic indicator independent of clinical stage and histological type.

Mod Pathol. 2007 Dec;20(12):1278-85.

Kikuchi S, Honda K, Handa Y, Kato H, Yamashita K, Umaki T, Shitashige M, Ono M, Tsuchida A, Aoki T, Hirohashi S, Yamada T.

Serum albumin-associated peptides of patients with uterine endometrial cancer.

Cancer Sci. 2007 Jun;98(6):822-9.

Kakisaka T, Kondo T, Okano T, Fujii K, Honda K, Endo M, Tsuchida A, Aoki T, Itoi T, Moriyasu F, Yamada T, Kato H, Nishimura T, Todo S, Hirohashi S.

Plasma proteomics of pancreatic cancer patients by multi-dimensional liquid chromatography and two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE): up-regulation of leucine-rich α -2-glycoprotein in pancreatic cancer.

J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007 Jun 1;852(1-2):257-67.

下重美紀, 本田一文, 尾野雅哉, 山田哲司

プロテオミクスによる発現蛋白の解析—疾患関連蛋白の同定—

分子消化器病 2007 Apr; 4(3):201-207.

佐藤礼子, 山田哲司

エキソナーレイを用いた癌特異的スプライシングバリエーションの探索

バイオテクノロジージャーナル 2007 (5-6):302-306.

山田哲司

ゲノミクス、プロテオミクスの立場から

ゲノム医学 2007 7(2):121-124.

本田一文, 尾野雅哉, 下重美紀, 山田哲司

質量分析を用いた血清・血漿プロテオーム解析による癌診断マーカー開発法

細胞工学 別冊 2007 2007 Jul 5; 97-103.

本田一文, 山田哲司

がん転移・浸潤に対するアクチン結合タンパク質アクチニン-4の生物学的機能

生化学 2007 79(7):643-654.

山田哲司

プロテオーム解析によるがん診断法の開発

日本医事新報 2007 4329:89.

山田哲司

バイオマーカーの探索の現状と展開

細胞工学 2007 26(9):1006-1008.

本田一文, 尾野雅哉, 山田哲司

血漿・血清がん診断法、新たな検診方法はあるのか。—血漿ペプチドプロファイルによる難治がん患者検出の可能性—

呼吸器コモンディジーズ 肺がんのすべて [印刷中]

尾野雅哉, 山田哲司

プロテオーム・糖鎖解析技術を活用した
大規模解析による診断の現況
実験医学増刊 2007 25(17):2714-22.

本田一文、山田哲司
ダイレクトタンパク質プロファイルに
よる膵癌血漿診断への応用
実験医学増刊 2007 25(17):2732-8.

山田哲司
ゲノム・プロテオーム研究の成果
Pharma Medica 2008 26(1):17-20.

本田一文、尾野雅哉、下重美紀、山田哲司
膵がんのプロテオミクス解析と高感度
診断法を実用化に向けた試
Cancer Frontier 2007 Aug 5;9(1):119-126.

下重美紀、佐藤礼子、本田一文、尾野雅哉、山田哲司
プロテオーム解析によるバイオマーカー
探索と臨床応用
生物物理化学 [印刷中]

佐藤礼子、下重美紀、本田一文、山田哲司
プロテオミクスによる治療標的分子の
探索
癌の分子標的治療 [印刷中]

Yoshida D, Kono S, Moore MA, Toyomura K, Nagano J, Mizoue T, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N.
Colorectal polypectomy and risk of colorectal cancer by subsite: the Fukuoka Colorectal Cancer study.
Jpn J Clin Oncol. 2007 Aug;37(8):597-602.

Yin G, Kono S, Toyomura K, Moore MA, Nagano J, Mizoue T, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N.
Alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and colorectal cancer: the Fukuoka Colorectal Cancer Study.
Cancer Sci. 2007 Aug;98(8):1248-53.

Kimura Y, Kono S, Toyomura K, Nagano J, Mizoue T, Moore MA, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K,

Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N.
Meat, fish and fat intake in relation to subsite-specific risk of colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study.
Cancer Sci. 2007 Apr;98(4):590-7.

Tao H, Shinmura K, Suzuki M, Kono S, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N, Sugimura H.
Association between genetic polymorphisms of the base excision repair gene MUTYH and increased colorectal cancer risk in a Japanese population.
Cancer Sci. 2008 Feb;99(2):355-60.

Kajiwara T, Tomita Y, Okano S, Iwai T, Yasunami Y, Yoshikai Y, Nomoto K, Yasui H, Tominaga R.
Effects of cyclosporin A on the activation of natural killer T cells induced by α -galactosylceramide.
Transplantation. 2007 Jan 27;83(2):184-92.

Satoh M, Yasunami Y, Matsuoka N, Nakano M, Itoh T, Nitta T, Anzai K, Ono J, Taniguchi M, Ikeda S.
Successful islet transplantation to two recipients from a single donor by targeting proinflammatory cytokines in mice.
Transplantation. 2007 Apr 27;83(8):1085-92.

Iwai T, Tomita Y, Shimizu I, Kajiwara T, Onzuka T, Okano S, Yasunami Y, Yoshikai Y, Nomoto K, Tominaga R.
The immunoregulatory roles of natural killer T cells in cyclophosphamide-induced tolerance.
Transplantation. 2007 Dec 27;84(12):1686-95.

Yi SQ, Ohta T, Tsuchida A, Terayama H, Naito M, Li J, Wang HX, Yi N, Tanaka S, Itoh M.
Surgical anatomy of innervation of the gallbladder in humans and *Suncus murinus* with special reference to morphological understanding of gallstone formation after gastrectomy.
World J Gastroenterol. 2007 Apr 14;13(14):2066-71.

Itoi T, Sofuni A, Fukushima N, Itokawa F, Tsuchiya T, Kurihara T, Moriyasu F,

Tsuchida A, Kasuya K.

Ribonucleotide reductase subunit M2 mRNA expression in pretreatment biopsies obtained from unresectable pancreatic carcinomas. *J Gastroenterol.* 2007 May;42(5):389-94.

Nakamura Y, Yi SQ, Terayama H, Naito M, Li J, Moriyama H, Tsuchida A, Itoh M. Sequential histopathology of pancreatic tissues in *aly/aly* mice. *Cells Tissues Organs.* 2007;186(3):204-9.

Ota Y, Takagi Y, Osaka Y, Shinohara M, Hoshino S, Tsuchida A, Aoki T, Honda K, Yamada T. Usefulness of serum protein profiling for prediction of preoperative chemoradiosensitivity of esophageal cancer. *Oncol Rep.* 2007 Sep;18(3):653-7.

Enomoto M, Tsuchida A, Miyazawa K, Yokoyama T, Kawakita H, Tokita H, Naito M, Ihoh M, Ohyashiki K, Aoki T. Vitamin K2-induced cell growth inhibition via autophagy formation in cholangiocellular carcinoma cell lines. *Int J Mol Med.* 2007 Dec;20(6):801-8.

永川裕一、土田明彦、小澤隆、粕谷和彦、齊藤準、池田隆久、青木利明、青木達哉 尾側膵切除における切離方法と膵液瘻の検討
日本外科系連合学会誌 2007 32(4):622-6.

石崎哲央、安倍知見、小柳泰久、勝又健次、和田建彦、土田明彦、青木達哉 mFOLFOX6 の肝障害により肝不全に陥った大腸癌肝転移切除の1例
癌と化学療法 2007 34(6):945-8.

榎原克典、土田明彦、青木達哉 移植免疫寛容における Ras 経路の関与.
東京医科大学雑誌 2007 65(2):100-5.

高木融、星野澄人、片柳創、須藤日出男、逢坂由昭、篠原玄夫、吉村真奈、土田明彦、青木達哉
センチネルリンパ節同定 RI 法
臨床消化器内科 2007 22(8):1049-54.

須田健、高木融、片柳創、星野澄人、芹沢博美、土田明彦、青木達哉
TS-1/CDDP の術前化学療法により組織学的効果判定 Grade 3 が得られた4型胃癌

の1例

日本臨床外科学会雑誌 2007 68(5):1142-7.

青木達哉、土田明彦、小澤隆、永川裕一、粕谷和彦、齊藤準
膵切除・膵切離の工夫. 尾側膵切除の膵切離法、アンケート調査の結果から
手術 2007 61(5):529-34.

片柳創、高木融、須藤日出男、須田健、星野澄人、伊藤一成、土田明彦、青木達哉、河合隆、山岸哲也
長期生存を得ている胃癌術後肝転移症例の1例
癌と化学療法 2007 34(12):2129-31.

Wada H, Nagano H, Yamamoto H, Arai I, Ota H, Nakamura M, Damdinsuren B, Noda T, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Umeshita K, Doki Y, Dono K, Nakamori S, Sakon M, Monden M. Combination therapy of interferon-alpha and 5-fluorouracil inhibits tumor angiogenesis in human hepatocellular carcinoma cells by regulating vascular endothelial growth factor and angiopoietins. *Oncol Rep.* 2007 Oct;18(4):801-9.

Tsujiie M, Nakamori S, Nakahira S, Takahashi Y, Hayashi N, Okami J, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M. Human equilibrative nucleoside transporter 1, as a predictor of 5-fluorouracil resistance in human pancreatic cancer. *Anticancer Res.* 2007 Jul-Aug;27(4B):2241-9.

Yamamoto T, Nagano H, Imai Y, Fukuda K, Matsumoto H, Kondo M, Ota H, Nakamura M, Wada H, Noda T, Damdinsuren B, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Sakon M, Wakasa K, Monden M. Successful treatment of multiple hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches by intraarterial 5-fluorouracil perfusion chemotherapy combined with subcutaneous interferon-alpha and hepatectomy. *Int J Clin Oncol.* 2007 Apr;12(2):150-4.

Nagano H, Sakon M, Eguchi H, Kondo M, Yamamoto T, Ota H, Nakamura M, Wada

H, Damdinsuren B, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Monden M.

Hepatic resection followed by IFN- α and 5-FU for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the major portal branch.

Hepatology. 2007 Jan-Feb;54(73):172-9.

Arai I, Nagano H, Kondo M, Yamamoto H, Hiraoka N, Sugita Y, Ota H, Yoshioka S, Nakamura M, Wada H, Damdinsuren B, Kato H, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Wakasa K, Sakon M, Monden M.

Overexpression of MT3-MMP in hepatocellular carcinoma correlates with capsular invasion.

Hepatology. 2007 Jan-Feb;54(73):167-71.

Yang Y, Nagano H, Ota H, Morimoto O, Nakamura M, Wada H, Noda T, Damdinsuren B, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Dono K, Umeshita K, Nakamori S, Wakasa K, Sakon M, Monden M.

Patterns and clinicopathologic features of extrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection.

Surgery. 2007 Feb;141(2):196-202.

Damdinsuren B, Nagano H, Wada H, Kondo M, Ota H, Nakamura M, Noda T, Natsag J, Yamamoto H, Doki Y, Umeshita K, Dono K, Nakamori S, Sakon M, Monden M.

Stronger growth-inhibitory effect of interferon (IFN)- β compared to IFN- α is mediated by IFN signaling pathway in hepatocellular carcinoma cells.

Int J Oncol. 2007 Jan;30(1):201-8.

Nakahira S, Nakamori S, Tsujie M, Takahashi Y, Okami J, Yoshioka S, Yamasaki M, Marubashi S, Takemasa I, Miyamoto A, Takeda Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M.

Involvement of ribonucleotide reductase M1 subunit overexpression in gemcitabine resistance of human pancreatic cancer.

Int J Cancer. 2007 Mar 15;120(6):1355-63.

Nakamura M, Nagano H, Sakon M, Yamamoto T, Ota H, Wada H, Damdinsuren B, Noda T, Marubashi S, Miyamoto A, Takeda Y, Umeshita K, Nakamori S, Dono K, Monden M.

Role of the Fas/FasL pathway in combination therapy with interferon- α and fluorouracil against hepatocellular carcinoma in vitro.

J Hepatol. 2007 Jan;46(1):77-88.

Nakahira S, Nakamori S, Tsujie M, Takeda S, Sugimoto K, Takahashi Y, Okami J, Marubashi S, Takemasa I, Miyamoto A, Takeda Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M.

Pretreatment of S-1, a Oral Derivative of 5-Fluorouracil, Enhances Gemcitabine Effects in Pancreatic Cancer Xenografts.

Anticancer Res. 28(1A): 179-186, 2008.

Uchide K, Sakon M, Ariyoshi H, Nakamori S, Tokunaga M, Monden M.

Cancer cells cause vascular endothelial cell (vEC) retraction via 12(S)HETE secretion; the possible role of cancer cell derived microparticle.

Ann Surg Oncol. 2007 Feb;14(2):862-8.

中森正二、柏崎正樹、池永雅一、宮崎道彦、平尾素宏、藤谷和正、三嶋秀行、辻仲利政、中平伸、辻江正徳、武田裕、門田守人

膵癌化学療法における gemcitabine 有効性向上のための基礎的・臨床的検討
膵臓 2007 22(1):21-25.

中森正二

肝細胞癌の発生・進展および肝転移に関与する遺伝子
最新医学 2007;3:699-712.

中森正二、辻江正徳、柏崎正樹、安井昌義、池永雅一、宮崎道彦、平尾素宏、藤谷和正、三嶋秀行、辻仲利政、宮本敦史、武田裕、門田守人

膵癌の放射線化学療法
外科治療 97(3):292-299, 2007.

中森正二、辻江正徳、宮本敦史、安井昌義、池永雅一、宮崎道彦、平尾素宏、藤谷和正、三嶋秀行、辻仲利政
膵癌の再発診療に関する最新のデータ
臨床外 2007 62(11):327-335.

中森正二
胆道癌
コンセンサス癌治療 2007 6(3):141-143.

Sata N, Koizumi M, Nagai H.
Alcoholic pancreatopathy: a proposed new diagnostic category representing the preclinical stage of alcoholic pancreatic injury.
J Gastroenterol. 2007 Jan;42 Suppl 17:131-4.

Sata N, Kuroguchi A, Endo K, Shimura K, Koizumi M, Nagai H.
Follicular lymphoma of the pancreas: a case report and proposed new strategies for diagnosis and surgery of benign or low-grade malignant lesions of the head of the pancreas.
JOP. 2007 Jan 9;8(1):44-9.

佐田尚宏、志村国彦、遠藤和洋、小泉大、栗原克巳、永井秀雄
MD-CT (Multi detector-row CT) を用いた仮想胆道鏡・膵管鏡の有用性
臨床雑誌外科 2007, 69:19-26.

佐田尚宏、小泉大、安田是和、永井秀雄
膵臓の剥離と切離
手術 2007, 61(10):1429-1434.

佐田尚宏、小泉大、永井秀雄
『最新 肝胆膵手術アトラス』
III. 膵臓 15. 慢性膵炎に対する Partington 手術・Frey 手術
手術 2007 年度臨時増刊号 2007, 61:933-937.

佐田尚宏、小泉大、安田是和、永井秀雄
肝内結石症と肝内胆管癌における慢性炎症の関与
臨床消化器内科 2007, 22:983-989.

佐田尚宏、栗原克巳、小泉大、塚原宗俊、永井秀雄
Duct oriented pancreatectomy
手術 2007 61:573-577.

佐田尚宏、小泉大、安田是和、永井秀雄
「肝内結石症-最近の知見」診断と治療
5. 肝内結石症の新しい画像診断指針(案)
胆と膵 2007, 28:501-504.

小泉大、佐田尚宏、永井秀雄

【腫瘍マーカー 遺伝子・分子・蛋白マーカーの活用】 膵癌の腫瘍マーカー
Surgery Frontier 2007, 13:376-380.

小泉大、佐田尚宏、永井秀雄
【十二指腸乳頭部腫瘍をめぐる最近の話題】 乳頭部腫瘍に対する低侵襲性治療の展開と問題点 外科側の見解
肝胆膵 2007 54:779-784.

Ueno H, Okusaka T, Funakoshi A, Ishii H, Yamao K, Ishikawa O, Ohkawa S, Saitoh S.
A phase II study of weekly irinotecan as first-line therapy for patients with metastatic pancreatic cancer.
Cancer Chemother Pharmacol, 2007 Mar;59(4):447-54.

Ueno H, Okusaka T, Ikeda M, Morizane C, Ogura T, Hagihara A, Tanaka T.
Phase II study of combination chemotherapy with gemcitabine and cisplatin for patients with metastatic pancreatic cancer.
Jpn J Clin Oncol, 2007 Jul;37(7):515-20.

Ikeda M, Okusaka T, Ito Y, Ueno H, Morizane C, Furuse J, Ishii H, Kawashima M, Kagami Y, Ikeda H.
A phase I trial of S-1 with concurrent radiotherapy for locally advanced pancreatic cancer.
Br J Cancer, 2007 Jun 4;96(11):1650-5.

Ikeda M, Okusaka T, Ueno H, Morizane C, Iwasa S, Hagihara A, Kojima Y.
Hepatic arterial infusion chemotherapy with epirubicin in patients with advanced hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombosis.
Oncology, 2007;72(3-4):188-93.

Sugiyama E, Kaniwa N, Kim SR, Kikura-Hanajiri R, Hasegawa R, Maekawa K, Saito Y, Ozawa S, Sawada J, Kamatani N, Furuse J, Ishii H, Yoshida T, Ueno H, Okusaka T, Saijo N.
Pharmacokinetics of gemcitabine in Japanese cancer patients: The impact of a cytidine deaminase polymorphism.
J Clin Oncol, 2007 Jan 1;25(1):32-42.

Shimada K, Sakamoto Y, Esaki M, Kosuge T, Morizane C, Ikeda M, Ueno H,

Okusaka T, Arai Y, Takayasu K.

Analysis of prognostic factors affecting survival after initial recurrence and treatment efficacy for recurrence in patients undergoing potentially curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma.

Ann Surg Oncol, 2007 Aug;14(8):2337-47.

Hamaguchi T, Kato K, Yasui H, Morizane C, Ikeda M, Ueno H, Muro K, Yamada Y, Okusaka T, Shirao K, Shimada Y, Nakahama H, Matsumura Y.

A phase I and pharmacokinetic study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation.

Br J Cancer, 2007 Jul 16;97(2):170-6.

Kaniwa N, Sugiyama E, Kim SR, Saito Y, Sawada J, Furuse J, Ishii H, Yoshida T, Ueno H, Okusaka T, Saijo N.

Genotype-based methods for anticipating gemcitabine-related severe toxicities may lead to false-negative results.

J Clin Oncol, 2007 Oct 20;25(30):4855-4856.

Yonemoto N, Furuse J, Okusaka T, Yamao K, Funakoshi A, Ohkawa S, Boku N, Tanaka K, Nagase M, Saisho H, Sato T.

A multi-center retrospective analysis of survival benefits of chemotherapy for unresectable biliary tract cancer.

Jpn J Clin Oncol, 2007 Nov;37(11):843-51.

Okusaka T, Funakoshi A, Furuse J, Boku N, Yamao K, Ohkawa S, Saito H.

A late phase II study of S-1 for metastatic pancreatic cancer.

Cancer Chemother Pharmacol, 2008 Apr;61(4):615-21.

Tanaka T, Ikeda M, Okusaka T, Ueno H, Morizane C, Ogura T, Hagihara A, Iwasa S.

A phase II trial of transcatheter arterial infusion chemotherapy with an epirubicin-Lipiodol emulsion for advanced hepatocellular carcinoma refractory to transcatheter arterial embolization.

Cancer Chemother Pharmacol, 2008 Apr;61(4):683-8.

Yamazaki H, Nishiyama K, Koizumi M, Tanaka E, Ioka T, Uehara H, Iishi H,

Nakaizumi A, Ohigashi H, Ishikawa O.

Concurrent chemoradiotherapy for advanced pancreatic cancer: 1,000 mg/m² gemcitabine can be administered using limited-field radiotherapy.

Strahlenther Onkol. 2007 Jun;183(6):301-6.

Kataoka TR, Ioka T, Tsukamoto Y, Matsumura M, Ishiguro S, Nishizawa Y.

Nuclear expression of STAT5 in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas.

Int J Surg Pathol. 2007 Jul;15(3):277-81.

井岡達也

すい臓癌の外来化学療法

医学のあゆみ 2007 222(13):1000-05.

井岡達也

がん診療の最前線：膵臓癌

最新医学 2007 62(3): 683-89.

2、学会発表

多数のため省略

H、知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1、特許出願

発明の名称：「大腸がんの治療に用いられる薬物のスクリーニング法」

発明者：山田哲司、下重美紀、黄琳、他

出願日：2007年4月6日

出願番号：特願2007-100680

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明の名称：「胃を原発とする消化管間質腫瘍の悪性化の診断法」

発明者：山田哲司、山口洋、本田一文、他

出願日：2007年7月5日

出願番号：特願2007-177522

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明の名称：「膵癌の新規腫瘍マーカー」

発明者：尾野雅哉、山田哲司、廣橋説雄

出願日：2007年7月25日

出願番号：特願2007-193328（国内出願）

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス
振興財団

発明の名称：「 α -アクチニン-4 遺伝子の
コピー数または発現を指標とした膵癌
の診断法」

発明者：本田一文、山田哲司、廣橋説雄、
稲澤譲治、井本逸勢、津田均

出願日：2007年10月1日

出願番号：特願 2007-257918 (国内出願)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス
振興財団

発明の名称：「アポリポプロテインCⅢ₀
の血中濃度を指標とした胃癌の診断法」

発明者：本田一文、山田哲司、廣橋説雄

出願日：2008年1月25日

出願番号：特願 2008-145238 (国内出願)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス
振興財団

発明の名称：「抗癌剤のスクリーニング
法」

発明者：山田哲司、下重美紀、廣橋説雄

出願日：2008年2月21日

出願番号：特願 2008-039618 (国内出願)

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス
振興財団

発明の名称：「肝癌特異的発現遺伝子によ
る肝癌の検査方法並びに肝癌の治療及び
予防剤」

発明者：山田哲司、下重美紀、佐藤礼子、
廣橋説雄

出願日：2008年3月12日

出願番号：特願 2008-063001

出願人：財団法人ヒューマンサイエンス
振興財団

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

厚生労働科学補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）

分担研究報告

がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発

「血漿ペプチドプロファイルを用いた膵がん診断法の実用化」

分担研究者 氏名 本田一文 所属 国立がんセンター研究所化学療法部 職名 室長

研究要旨

難治がんのひとつである膵がんの死亡率を減少させるためには、治癒可能な早期膵がんを非侵襲的な方法で検出し、治療を開始する戦略が有効である。われわれは、血漿ペプチドプロファイルを利用した膵がん診断法の可能性を報告してきた。従来、本血漿ペプチドプロファイル法は SELDI-QqTOF-MS (surface-enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry)法により行われていたが、本検査の実用化に向けた技術開発として昨年度までに逆相磁気ビーズクロマトグラフィー (magnetic bead based hydrophobic interaction chromatography system: MBHICs) と MALDI-QqTOF-MS 法を組み合わせた MBHICs-MALDI-QqTOF-MS 法を考案し、「①測定装置と試薬の安定性と再現性の確保、②測定の自動化と高速化システムの確立、③得られたデータの品質管理法と多検体計測時の解析結果統合法の確立」の3点に重点を置き開発を進めてきた。

本年度は、SELDI-QqTOF-MS 法によって抽出され報告してきた4本のペプチドピーク候補のアミノ酸配列と翻訳後修飾状態を決定し、さらに実用化に向けて確立された MBHICs-MALDI-QqTOF-MS による膵がん診断法の診断精度について、独立した4個の集団を用いて（計549症例分血漿検体）検証実験を行った。前年度までに報告し特許出願を終えた5本のマーカー候補のうち3個のマーカーは独立した4個の集団でも、高度な統計学的有意差を持って膵がん患者が健常者に比べて低下することが確認できた。さらに、検証された3個のマーカー候補のうち2個と、今回新たに見出されたマーカー候補のイオン化強度の和は、CEA, DUPAN-2 に比べて明らかな診断学的有用性を示し、さらに CA19-9 とは同等な成績であることが確認できた。

A、研究目的および前年度までの概要

膵がんは主要な固形がんの中では最も予後が不良で、その5年生存率は6%と低率である（地域がん登録共同調査）。わが国で1年間に22260人の方が膵がんのために死亡し、がんによる死亡原因の第5位を占めている（平成16年度厚生労働省「人口動態統計」）。膵がんが難治性である理由は、早期から周囲組織に浸潤性増殖をきたし、肝臓

やリンパ節などに転移巣を形成することにより外科的な根治的切除術施行が困難であるだけでなく、臨床症状が乏しいため先に述べた根治切除術を施行可能な患者を有効に検出する方法が存在しないことなどが理由にあげられる。事実、全国膵がん登録20年間の集計によると、膵がん症例の約95%が発見時、臨床病期III期またはIV期の進行がんであると報告されている。このよう

な膵がんの生命予後を改善させるためには、切除可能な膵がんを有効に検出できる診断法の開発が望まれており、もしこのような診断法が開発されれば、飛躍的な予後の向上が期待される。

現在、膵がんで臨床的に使用される腫瘍マーカーは CEA、CA19-9、エラスターゼ I があげられるが、早期膵がんに対する検出感度は十分ではなく膵がんを有効に検出するマーカーとしては、満足できるものではない。

近年、プロテオームの研究手法が急速な進歩をとげ、血液中に含まれる微量タンパク質やペプチドが網羅的に解析できるようになってきた。われわれは、Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass spectrometry (SELDI-TOF-MS)法を独自に改良し、高分解能質量分析装置と SELDI-TOF-MS 法を組み合わせた分析法 (SELDI-QqTOF-MS 法) とその解析結果を解析するソフトウェア (NCC-ProteoJudge) を開発し、多数の膵がんと良性膵臓疾患患者ならびに健常者血漿の血漿ペプチドプロファイルを網羅的に取得してきた。このプロファイルをバイオインフォマティクス的手法を用いて膵がんと健常者を判別するマーカー開発を試みたところ、既存の CA19-9 の値と組み合わせることで、早期膵がんを含めて膵がん患者を 100%検出するペプチドパターンの同定に成功し、臨床応用への可能性について報告してきた (Honda et al. Cancer Res. 2005 65(22):10613-22)。本研究の目的は、この診断法を検診に応用できるように基盤を整備し、それを実用化することにある。本診断法を実用化し検診に応用できれば、

先に記述したように膵がんの生命予後を著しく改善させることが期待できる。

しかしながら、実際の臨床現場で使用するためには、以下の要件が満たされなければならない。

すなわち、

- 1) 米国サイファージェン社に特許が帰属し独占販売権を持つ SELDI-QqTOF-MS 法ではなく、国立がんセンター研究所と周辺企業で開発・改良が可能な検出法であること。
- 2) 自動化による高速計測が可能な検出方法であること。
- 3) 定量再現性に優れ、将来に渡り国立がんセンターと周辺企業による改良が容易に行える技術であること。
- 4) 対費用効果を勘案しても、実用化に見合うだけの費用で検査が行える技術であること。

昨年度は上記 4 条件を満たすための検査法として逆相官能基を磁気ビーズにコートした素材を用いてバイオロボットが全自動で血漿を前処理し、384 穴 MALDI 金蒸着プレート上にマトリックスとともに分注・乾固する全自動システムを完成させた (MBHICs; magnetic bead based hydrophobic interaction chromatography system)。このシステムは、血漿の脱塩前処理を 4 重複で行い、さらにこの 4 重複前処理体を 4 回別々のウェル上に分注・乾固するため、ひとつの検体あたり 16 重複にスポットする。この 16 重複されたスポットを 24 検体分 (このうち、2 検体はシステムの品質管理のための標準血漿) として 384 スポットを、4 重極直行型高分解能質量分析器が全自動計測する MBHICs