

れ、FFPE組織を用いるDirect Tissue Proteomicsの有効性が確認された。

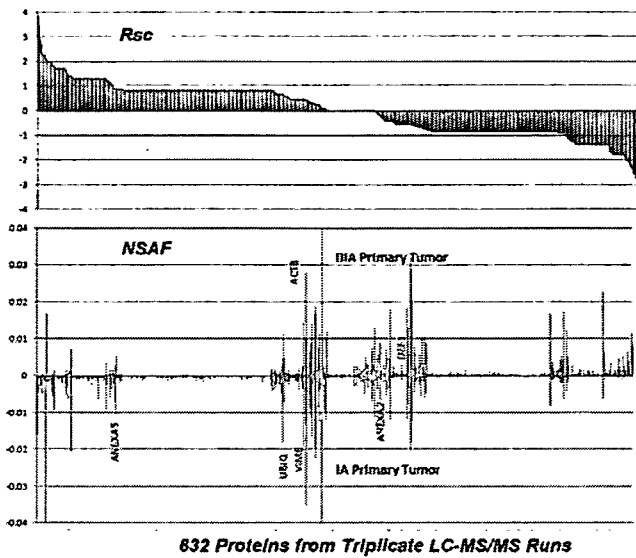


図1. (例) 分子同定に基づくIA期とIIIA期患者由来ホルマリン固定パラフィン切片組織に対する半定量比較解析 (13人の患者原発巣切除組織に対し、プロテオーム解析のための液体クロマトグラフィー・質量分析(LC-MS/MS)を繰り返し回数3で測定)。相対変化(*Rsc*)をlog2で示したものをトップに、また Normalized spectral abundance factor (*NSAF*)を下に示す。(投稿準備中)

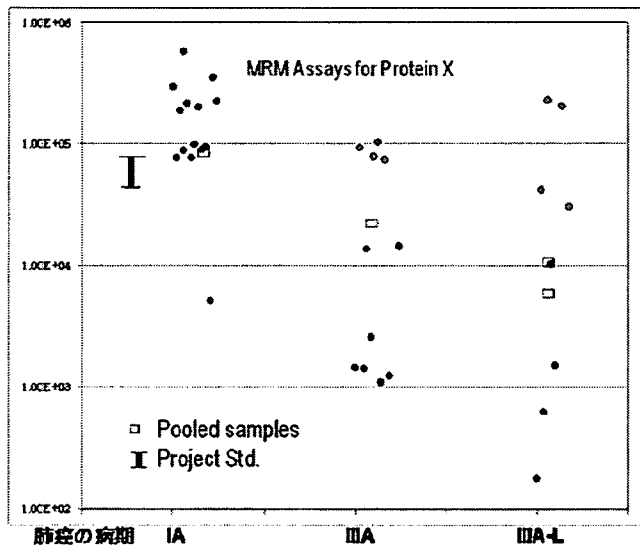


図2. (例) 各患者のタンパク質Xに関するMRM定量アッセイ結果。NSCLCの病期IAとIIIA原発巣、またIIIA期縦隔リンパ節転移巣(IIIA-L)の結果を示している。青○と赤○は3-2カ月後で生存されている患者と亡くなっている患者のデータを示す。プロジェクトスタンダードはすべての病期の原発巣及び転移巣湯由来試料を

すべて混合して作成されたもの、またプール試料(□)は病期、転移巣内で試料をすべて混合して作成したもの。この例の結果は、タンパク質Xが非常によい予後マーカー候補であることを示している。(投稿準備中)

F. 健康危険情報

ホルマリン固定組織試料はごく小さな切片を用い、また蛋白質はすでに架橋・変性しており、本研究のために危険が加わることは無いと考えられる。提供を受けたホルマリン固定組織試料の解析はすべて試料提供者の体外で行うため、試料提供者が被る身体的危険度および副作用はまったくない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Gyolrgy Marko-Varga, Atsushi Ogiwara, Toshihide Nishimura, Takeshi Kawamura, Kiyonaga Fujii, Takao Kawakami, Yutaka Kyono, Hsiao-kun Tu, Hisae Anyoji, Mitsuhiro Kanazawa, Shingo Akimoto, Takashi Hirano, Masahiro Tsuboi, Kazuto Nishio, Shuji Hada, Haiyi Jiang, Masahiro Fukuoka, Kouichiro Nakata, Yutaka Nishiwaki, Hideo Kunito, Ian S. Peers, Chris G. Harbron, Marie C. South, Tim Higenbottam, Fredrik Nyberg, Shoji Kudoh, and Harubumi Kato, Personalized Medicine and Proteomics Lessons from Non-Small Cell Lung Cancer. *J. Proteome Res.*, 2007, **6**, 2925-2935.

2. 学会発表

Toshihide Nishimura, Takashi Hirano, Tomoyo Nakano, Maiko Ebisawa, Masahiro Tsuboi, Masaharu Nomura, Hidetoshi Honda, Masatoshi Kakihana, Kouichi Yoshida, Junichi Maeda, Kiyonaga Fujii, Yasuhiko Bando, Kiyoshi Mukai, Harubumi Kato, Discovery of Metastasis Factors from In-depth Proteome Analysis of Formalin Fixed Lung Carcinoma Tissues, the 55th Annual Conference for American Society on Mass Spectrometry, June 3-7, 2007, Indianapolis USA. ThPZ2_472.

藤井清永、中野智世、碓井史彦、坂東泰彦、西村俊秀、稲垣冬彦、「プロテオーム解析におけるMS³法の有用性に関する研究」、第55回質量分析総合討論会、2007年5月16日、広島国際会議場
西村俊秀、「ホルマリン固定組織材料を用いた臨床プロテオミクスの新戦略」、第57回日本電気泳動

学会シンポジウム、最先端プロテオミクス、タンパク質発現の包括的理解を目指して」、2007年6月22日、横浜市開港記念会館

西村俊秀、「ホルマリン固定肺癌組織切片をもちいたプロテオーム解析による肺癌転移因子の探索」、疾患プロテオミクスの技術開発最前線：ホルマリン固定組織を用いたプロテオミクスの技術開発、日本ヒトプロテオーム機構第5回大会、シンポジウム、2007年7月31日、日本科学未来館

西村俊秀、『組織から血液への新しいプラットフォーム：ホルマリン固定組織を用いたプロテオミクス』、東北大学21世紀COEプログラム、第9回東北生活習慣病研究会、平成19年7月3日、良陵会館記念ホール

西村俊秀、教育講演Ⅱ「パラフィン切片を用いた蛋白定量技術」、実験病理組織技術研究会、第6回関西西部会病理技術研修会プログラム、2007年9月28日、大阪薬業年金会館

Takashi Hirano, Tatsuo Ohira, Masaharu Nomura, Toshihide Nishimura, Ryutaro Nishiyama, Kiyonaga Fujii, Yasuhiko Bando, Kiyoshi Mukai, Harubumi Kato, Discovery of Metastasis Factors from In-depth Proteome Analysis of Formalin-Fixed Lung Carcinoma Tissues, 第66回日本癌学会学術総会、2007年10月3日、パシフィコ横浜

Toshihide Nishimura, Tomoyo Nakano, Ryutaro Nishiyama, Maiko Ebisawa, Hiroko Endo, Koichi Yoshida, Masaharu Nomura, Kuniko Yagura, Kiyonaga Fujii, Sumie Ando, Yasuhiko Bando, Takashi Hirano, Harubumi Kato, IDENTIFICATION OF PREMETASTATIC NICHES BY RETROSPECTIVE DISCOVERY PROTEOMICS USING FORMALIN-FIXED PARAFFIN-EMBEDDED (FFPE) TISSUES OF LUNG ADENOCARCINOMA (IA AND IIIA) AND THEIR MS-BASED VALIDATION, HUPO 6th Annual World Congress, Oct. 7-10, 2007, Seoul

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発
近藤格

プロテオーム バイオインフォマティクス プロジェクト
プロジェクトリーダー

研究要旨

既存の血清腫瘍マーカーのほとんどはがんの発生、進展との機能的関連が解明されていないが、血清腫瘍マーカー分子の背景にある分子機構を解明することは、新しい診断技術の開発や創薬につながる重要な課題である。我々は血清腫瘍マーカー分子そのものががんの形質に関わるのではなく、血清腫瘍マーカー分子と高い相関をもって発現が変動する重要な遺伝子・タンパク質が背景に存在し、その遺伝子・タンパク質ががんの発生や進展に重要な役割を果たしているとの仮説を立てた。この仮説を証明するために、肝細胞癌の血清腫瘍マーカーであるalpha feto-protein (AFP)の発現レベルが異なる肝癌細胞よりmRNAおよびタンパク質を抽出し、それぞれDNAマイクロアレイおよび大型の蛍光二次元電気泳動法にて網羅的に発現を解析した。AFPは肝細胞癌の診断マーカー、悪性度マーカーとして知られているものの、構造的にはアルブミンファミリーのタンパク質であり機能的な意義がほとんど分かっていない。本研究では、mRNAについてAFP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癌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論文などでよく報告されてものが含まれていた。そのようなタンパク質については肝細胞癌の腫瘍組織において特異抗体を用いてAFPとの発現相関を調べたところ高い相関が認められた。また、文献検索よりAFPとそのような遺伝子群は転写因子のネットワークでつながっていることが分かった。同様の手法は他の既知の腫瘍マーカーにも応用可能であり、腫瘍マーカーの背景にある分子機構を解明するために有用であると考えられる。

A. 研究目的

AFPと高い発現相関する遺伝子を探索し、AFPと発癌、癌の進展との関連性を機能的に結ぶ遺伝子を同定すること。

B. 研究方法

B-1. AFPの発現レベルが異なる肝癌細胞株

次に挙げる21種類の肝癌細胞を使用した。HuH-7, JHH-7, JHH-5, HepG2, HT17, HuH-1, Hep3B, Li-7, PLC/PRL/5, KIM-1, KYN-2, HLE, HLF, JHH-4, JH H-6, SK-Hep-1, KYN-3, PH5-CH, PH5-T, RBE and SSP-25。

B-2. mRNAの抽出

培養細胞からRNeasy mini kit（キアゲン社）を用いてRNAを抽出した。

B-4. DNAマイクロアレイ

Human Genome U133 plus 2.0 array（Affimetry社）を用いてRNAの発現を網羅的に調べた。

B-5. 数値解析

MicroArray Quality Control (MAQC) Project databaseに記載される再現性のよい遺伝子を解析対象とした。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。

B-6. 文献検索

MetaCore（GeneGo社）を用いて行った。本ソフトウェアは文献に報告されているデータを元にして遺伝子・タンパク質のつながりを可視化するソフトウェアである。

B-5. 免疫染色

肝細胞癌の23症例を対象に免疫染色を行った。

B-6. RT-PCRによる検証実験

AFPと発現相関する遺伝子についてRT-PCRによる発現検証実験を行った。

B-7. 蛍光二次元電気泳動法による発現実験

上記細胞より高濃度のウレアを含む溶解液でタンパク質を抽出し、タンパク質を超高感度の蛍光色素Cy Dye DIGE Fluor saturation dyeで標識した。大型の二次元電気泳動装置を用いてタンパク質を分離した。一次元目の分離にはイモビライズドライストリップゲル（GEバイオサイエンス社）を用い、二次元目には自作の大型SDS-PAGEゲルを使用した。泳動終了後のゲルはレーザースキャナーでスキャンして二次元電気泳動画像を取得した。

C. 研究結果

C-1. AFPの発現レベル

21腫瘍の細胞株の間でAFPの発現がmRNAレベルでもタンパク質レベルでも異なることが分かった。

C-2. mRNA発現解析

AFPの発現と有意な相関を示す遺伝子を213個同定した。肝臓や他の悪性腫瘍との機能的な関連、発現関連が報告されている遺伝子が多く含まれていた。

C-3. RT-PCRによる検証実験

AFPと発現相関する遺伝子についてRT-PCRによる発現検証実験を行ったところ、マイクロアレイとは異なる発現レベルを示す遺伝子もあったが一致するものもあった。

C-4. 文献データに基づくネットワーク解析

MetaCoreソフトウェアを用いたネットワーク解析を行ったところAFPと発現相関する遺伝子の多くは転写因子を共有していること、同じシグナルパスウェイに含まれるものがあること、などが分かった。

C-5. 臨床検体を用いた検証実験

AFPと発現相関する遺伝子のうち、肝細胞癌との機能的な関連が報告されている遺伝子産物について、免疫染色による検証実験を行った。AFPの染色との相関を調べたところ、高い相関が認められた。

C-6. タンパク質の発現プロファイリング

AFPの発現量に差のある上記培養細胞のタンパク質発現プロファイルを大型蛍光二次元電気泳動法によって作成した。いずれの細胞株からも良好な二次元電気泳動画像を取得することができた。画像解析をこれから行う計画である。

D. 考察

AFPは肝細胞癌のよい腫瘍マーカーとして用いられているが、その機能的な意義は不明である。今回の研究で、AFPと発現相関する遺伝子として多数の遺伝子が同定された。肝細胞癌や他の悪性腫瘍との関わりが報告されている遺伝子などが含まれており、ある遺伝子は肝細胞癌との機能的な関わりがすでに報告されていた。今回の免疫染色の結果でも肝細胞癌の腫瘍組織においてAFPと確かに高い相関があることを確認した。今までの報告からすると、これらの遺伝子の多くは共通の転写因子で制御されている可能性がある。したがって、AFPが肝細胞癌の発生や進展に関わっているように見えるのは、AFP自身のためではなくAFPと連動して発現するこれら癌関連遺伝子のためではないかと考えられる。脂質タン

パク質や補体などの炎症性タンパク質に対応する遺伝子、鉄代謝や血管新生に関係する遺伝子も含まれていた。したがって、本研究によって、1) AFPの背景には機能的に重要な遺伝子が多数含まれていること、2) 非特異的な腫瘍マーカーと呼ばれるものが実用的な腫瘍マーカーと転写因子のネットワークで結ばれる可能性があること、が判明した。

E. 結論

本研究によってAFPの分子背景には機能的に癌に関わる遺伝子群が存在する可能性が示唆された。このような手法はAFP以外の既存の腫瘍マーカーについても当てはめることが可能である。既存の腫瘍マーカーは臨床事象との相関が徹底的に検証されていることから、何らかの分子機構を背景にもっていると考えられる。そのような腫瘍マーカーと高い発現相関する遺伝子を調べることでがんの新しいメカニズムを解明できるだろう。また、本手法は新しいバイオマーカーを探索する手法としても有力であると考えている。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yokoo H, Kondo T, Okano T, Nakanishi K, Sakamoto M, Kosuge T, Todo S, Hirohashi S. Protein expression associated with early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative surgery. *Cancer Sci*, 98, 665-673, 2007
2. Kakisaka T, Kondo T, Okano T, Fujii K, Honda K, Endo M, Tsuchida A, Aoki T, Itoi T, Moriyasu F, Yamada T, Kato H, Nishumura 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 alpha-2-glycoprotein in pancreatic cancer. *J Chromatograph B*, 852, 257-267, 2007
3. Suehara Y, Kondo T, Seki K, Shibata T, Fujii K, Gotoh M, Hasegawa T, Shimada Y, Sasako M, Shimoda T, Kurosawa H, Beppu Y, Kawai A, Hirohashi S. Pftin as a prognostic biomarker of gastrointestinal stromal tumors revealed by proteomics, *Clin Cancer Res*, in press
4. 近藤格「個別化医療のための肺癌のプロテーム解析」最新医学、63: 299-305、2008、最新医学社

5. 近藤格「癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー開発の現状と将来の展望」細胞工学、26:2007、秀潤社
6. 「がんのプロテオーム解析」BioExpress 2: 6-15、2007、ダイアローグ社

2.学会発表

1. Human Proteome Organization Annual Meeting、韓国ソウル市、Tadashi Kondo and Setsuo Hirohashi et al. Cancer Proteomics for Personalized Medicine
2. 日本癌学会総会、横浜、Tadashi Kondo and Setsuo Hirohashi, Proteomics for Biomarker Development
3. International Symposium on Advanced Functional Genomics, 千葉、Tadashi Kondo, Cancer Proteomics for Biomarker Development in National Cancer Center
4. 日本分子生物学会年会シンポジウム、横浜、Tadashi Kondo、Cancer Proteomics for Personalized Medicine
5. 電気泳動学会シンポジウム、横浜、近藤格、「プロテオミクスによる個別化医療のためのバイオマーカー開発」

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願

「肝細胞癌マーカーおよび肝細胞癌の検査方法」特願2007-332596

「消化管間質腫瘍（GIST）を処置するための医薬組成物、ならびに消化管間質腫瘍を患う患者の予後を予測するためのキットおよび方法」特願2007-308856

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

研究成果の刊行に関する一覧表

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, Tsushima 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.

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
エキソソーム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。ー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ー
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]

Ono M.

Glyco-biomarker identification with a new glycoproteome algorithm, the Glycodetector.
Glycobiology. 2007 17(11):1253.

尾野雅哉

LCMS 解析手法 2 DICAL を用いた糖鎖疾病マーカーの探索
遺伝子医学 MOOK11 号 [印刷中]

尾野雅哉、山田哲司

がん診断治療のバイオマーカー
Cancer Frontier [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、斉藤準、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、斉藤準

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.

Tsujie 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.

Hepatogastroenterology. 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.

Hepatogastroenterology. 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-alpha 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 pancreatotomy

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.

Marko-Varga G, Ogiwara A, Nishimura T, Kawamura T, Fujii K, Kawakami T, Kyono Y, Tu HK, Anyoji H, Kanazawa M, Akimoto S, Hirano T, Tsuboi M, Nishio K, Hada S, Jiang H, Fukuoka M, Nakata K, Nishiwaki Y, Kunito H, Peers IS, Harbron CG, South MC, Higenbottam T, Nyberg F, Kudoh S, Kato H.

Personalized medicine and proteomics: lessons from non-small cell lung cancer.

J Proteome Res. 2007 Aug;6(8):2925-35.

Suehara Y, Kondo T, Seki K, Shibata T, Fujii K, Gotoh M, Hasegawa T, Shimada Y, Sasako M, Shimoda T, Kurosawa H, Beppu Y, Kawai A, Hirohashi S.

Pfetin as a prognostic biomarker of gastrointestinal stromal tumors revealed by proteomics.

Clin Cancer Res. 2008 Mar 15;14(6):1707-17.

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.

Yokoo H, Kondo T, Okano T, Nakanishi K, Sakamoto M, Kosuge T, Todo S, Hirohashi S.

Protein expression associated with early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative surgery.

Cancer Sci. 2007 May;98(5):665-73.

近藤格

個別化医療のための肺癌のプロテーム解析

最新医学 2008 Feb; 63(2):299-305.

近藤格

癌のプロテオーム解析によるバイオマーカー開発の現状と将来の展望

細胞工学 2007 Aug 22; 26(9):1039-1044.

近藤格

がんのプロテオーム解析

BioExpress 2007 2:6-15.

特集 バイオマーカーが医療・創薬戦略を変える

序：バイオマーカー探索の現状と展開

Biomarker Discovery by Genomic and Proteomic Approaches

山田哲司

Tesshi Yamada

バイオマーカーは、様々な生理的な状態、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生体から得られる何らかの客観的な指標をさす。近年のマイクロアレイや質量分析などのゲノミクス・プロテオミクスの大規模な解析技術とバイオインフォマティクスの急速な進歩により疾病の予防やテーラーメイド(個別化)医療への応用が期待されている。本特集では特に癌研究の領域にて第一線で活躍されている先生方に基礎から臨床まで幅広い範囲でご執筆いただき、様々なアプローチで行われているバイオマーカー探索の現状と展望を明らかにする。

key words

バイオマーカー, ゲノミクス, プロテオミクス, バイオインフォマティクス

i 山田哲司 国立がんセンター研究所化学療法部部長、腫瘍プロテオミクスプロジェクトリーダー E-mail: tyamada@ncc.go.jp

1981年東京医科大学卒業。呼吸器外科の臨床研修の後、1990年より国立がんセンター研究所病理部にて廣橋説雄博士指導のもと腫瘍病理学の研究を始め、2004年より現職。プロテオームによるバイオマーカー開発に取り組んでいる。

I. バイオマーカーとは

日本のみならず世界中で今日“バイオマーカー (biomarker)”がブームである。PubMedでbiomarkerをキーワードとして検索すれば、何万もの膨大な数の論文が見つかるし、学術的なものに加え、商業的な目的のものを加えるとバイオマーカーの名前の付いたシンポジウム、セミナーは国内外でほぼ毎月のように行われると言っても過言でない。さらにバイオマーカーの探索を請け負うことを業務とするベンチャー企業も多数創設され、これらのバイオベンチャーへの投資セミナーまでが開かれている。

米国FDA (Food and Drug Administration; 食品医薬品局)はバイオマーカーを“A characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biologic processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention”と定義している(<http://www.fda.gov/cder/Offices/Biostatistics/>)。すなわちバイオマーカーは様々な生理的な状態、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であると言える。クレアチニンや血糖値、血中トランスアミラーゼのような酵素の絶対・相対量や活性を測定する生化学検査、病原微生物に対する細菌学・免疫学的検査、内分泌検査、内在性・外来性の微量元素や薬物の検査、また染色体検査なども確立したバイオマーカーを使った臨床検査である。例えばフィラデルフィア染色体^{注1}が慢性骨髄性白血病(CML)のバイオマーカーと呼ばれることに異論はないと思われる。

II. バイオマーカー探索の技術

最近では現在の疾病の罹患や病態の診断のみならず、将来における疾病への罹患、今後の病態の変動・予後、これらから行われる治療への反応性を予測することを目的としたバイオマーカーの開発が研究の主流に移りつつあり、疾病の予防やテーラーメイド(個別化)医療への応用が期待されている。

このようなバイオマーカーブームの根源にあるのは言うまでもなく、ヒトゲノムの塩基配列の解読終了に加え、近年のマイクロアレイや質量分析などのゲノミクス・プロテオミクスの大規模な解析技術とバイオインフォマティクスの急速な進歩である。ゲノミクスやプロテオミクスといったいわゆる“-omics”研究は、何らかの生命現象を既存の知見や仮説によらず、とりあえず大規模・網羅的にすべての遺伝子・タンパク質を解析し、その結果を俯瞰することで理論的には到達できなかったような知見を得ようとするもので、従来の研究手法とは根本的に異なる。この際単なる個人差を排除し、統計学的に安定な結果を導き出すためには十分な症例数の解析が必要である¹⁾。多数症例のゲノミクス・プロテオミクスの大量のデータから意味のある結果を導き出すためにはバイオインフォマティクスの技術は必須である。しかし数学的な検証のみでは不十分で、独立した症例による検証の重要性を強調しておきたい。ここでは詳しくは述

注1 染色体異常の1つ、第22番染色体と第9番染色体間での転座によって、BCRとABL遺伝子が融合し、異常なタンパク質を生じて、造血幹細胞を無限に増殖させるようになる。

べないが、特に多数の変数を組み合わせて解析する多変量解析ではこの重要性が高い。

Ⅲ. バイオマーカーに求められる要件

異論があると思われるが、高い診断精度と臨床上の有用性がバイオマーカーの生命線であり、生物学的、生化学的な理論的な裏付けは必ずしもなくてもかまわない。マイクロアレイデータから多数の遺伝子を用いて様々な癌の予後予測がなされているが、その遺伝子リストから背景となる生物学的現象が容易に推察できないことのほうが多いようである。いわゆるパスウェイ解析やGene Ontology解析を行い、無理な理論を組み立てている論文も散見される。血沈は今日でも多用される臨床上有用性の高いバイオマーカーであるが、その亢進のメカニズムは必ずしも明らかにされたわけではない。

さらに臨床上の有用性を得るために必要なバイオマーカーの特異度・感度は使用目的や疾患の種類・頻度などによって大きく異なる。例えば大腸癌のスクリーニング法として便潜血反応の有用性は確立しているが、その特異度・感度は必ずしも高くない。一方、Kaplan-Meier法^{注2}にて統計学的に有意な値ができれば、予後因子がすべてバイオマーカーとなるわけではない。

Ⅳ. 創薬とバイオマーカー

また、創薬支援のためにバイオマーカーを活用しようという動きがある。例えば何らかの毒性や発癌性を有する薬剤を、長期間の動物実験を行うことなく、創薬の早期の段階で発見・除外できるバイオマーカーがあれば、著しく時間と資源の節約になる。さらに治療効果や有害事象が未然に予測できるバイオマーカーがあれば、対象症例を絞ることにより成功確率が高い臨床試験が可能になり、有効性が見過ごされていた薬剤の再発見につながるかもしれない。無差別な医薬品の使用による医療費の高騰が抑えられ、薬害が減少することは容易に予測でき、バイオマーカー開発は創薬に関わる企業のみならず、社会全体へ及ぼす恩恵は計り知れない。しかし、最終的には患者の生命予後や臨床症状、生活の質の改善をもたらすのが良い治療薬であり、バイオマーカーの改善を中間評価ポイントとすることの危険性を常に意識しなければならない²⁾。抗癌剤による腫瘍縮小効果が必ずしも予後の改善に結び付かないことはすでに良く経験されたことである。

Ⅴ. 本特集の狙いと概要

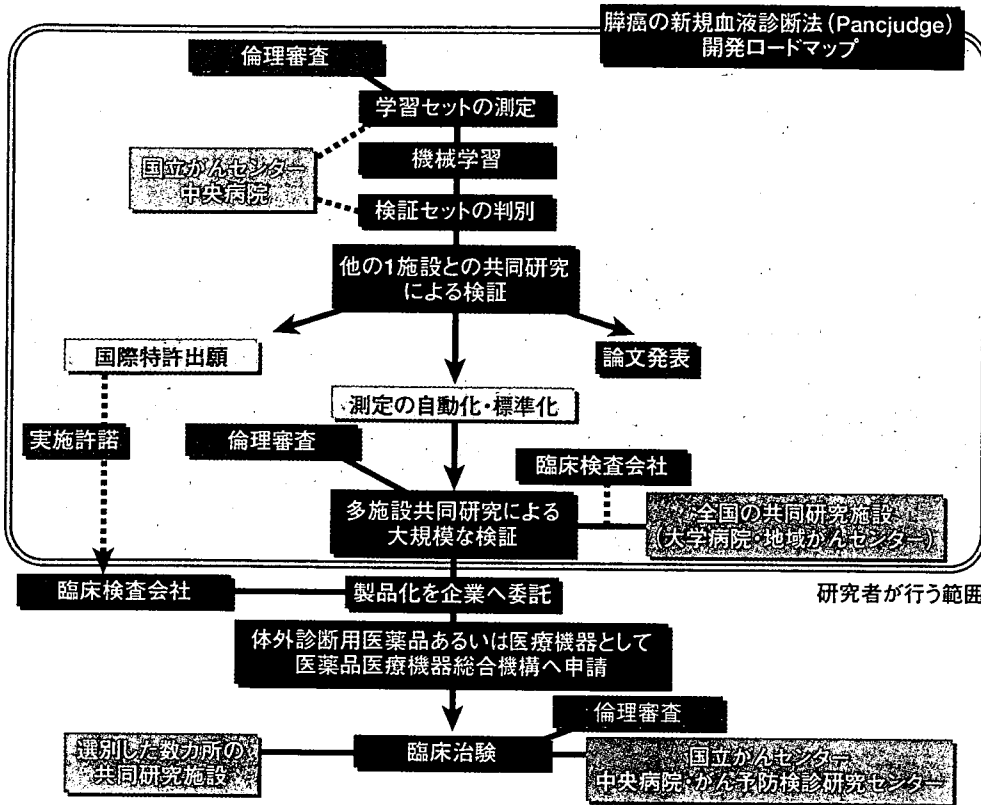
本特集では特に癌研究領域の第一線で活躍されている先生方に基礎から臨床まで幅広い範囲でご執筆いただき、様々なアプローチや対象で行われているバイオマーカー探索の現状と展望を明らかにする。特に疾病の予防やテーラーメイド医療への応用、創薬への応用という点に重点を置き、執筆願った。

津金氏(国立がんセンター)には、発癌感受性や発癌要因の生体暴露量を反映する癌の早期発見や予防に応用可能性のあるバイオマーカーについてご執筆いただいた。井本氏・稲澤氏(東京医科歯科大学)は独自に開発した全ゲノムアレイによるゲノム一次構造異常の解析によって新たに発見された染色体11q22増幅の標的遺伝子についてご執筆いただいた。澤田氏(国立医薬品食品衛生研究所)には、ゲノム薬理学(ファーマコゲノミクス)の立場から明らかになった医薬品の有効性と副作用の発現に関わる薬物代謝酵素の遺伝子多型についてご執筆いただいている。上野氏・戸井氏(京都大学)には乳癌におけるホルモン療法の治療反応性のバイオマーカーとしてエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、増殖因子受容体、あるいはそれらの相互作用、Oncotype DX[®]、Mammprint[®]などの複数遺伝子を用いた予後予測、治療モニタリングのバイオマーカーなどについて執筆していただいた。荒尾氏・西尾氏(近畿大学)には上皮増殖因子受容体(epidermal growth factor receptor; EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬の奏効性を予測するバイオマーカーや臨床的に採取が困難な組織の代替として末梢血単核球などを用いた解析(surrogate tissue analysis)の可能性についてご執筆いただいた。光富氏(愛知県がんセンター中央病院)には肺癌を対象として発見されたバイオマーカーの再現性の欠如や陥りやすい問題点を指摘していただき、また単なる予後因子ではなくテーラーメイド医療に求められるバイオマーカーについてご執筆いただいた。近藤氏(国立がんセンター研究所)には二次元電気泳動法によるテーラーメイド(個別化)医療のためのバイオマーカー開発について執筆していただいた。

Ⅵ. バイオマーカーの実用化

最後にゲノミクス・プロテオミクス解析にてバイオマーカーを探索し、それを実用化するために必要な道筋について、筆者らが現在取り組んでいる膵癌の血漿プロテオーム解析³⁾による診断法を例にして図示する(図1)。本診断法に必要なペプチドマーカーが膵癌と健常者を区別できる最も優れたマーカーであることは、国外の別のグループのまったく独立した研究でも検証され⁴⁾、現在多施設共同にて臨床

注2 患者の生存期間を平均値や中央値のような1つの統計量で表すのではなく、生存率曲線などの関数で推定する方法。



応用に向けた大規模な臨床研究が行われている。この診断法の実用化のためには、操作性と機械間・測定日間の再現性に優れ、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計の開発が必要である。さらに薬事法に対応した臨床診断試薬を開発・製品化しなければならない。現状では質量分析計や試薬のほとんどを海外のメーカーの製品に頼っており、今後国内企業の協力を得て国産化に取り組んでいく必要がある⁵⁾。

図1. 血漿プロテオーム解析による膵癌診断法の実用化

本診断法の実用化のためには、操作性と再現性に優れ、高い分解能と質量精度を持つ質量分析計と薬事法に対応した体外診断医薬品を開発しなければならない。現在、臨床応用に向けた大規模な多施設共同研究を推進している。

文献

- 1) Ein-Dor L, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2006) 103 :5923-5928
- 2) Johnson JR, et al: J Clin Oncol (2003) 21: 1404-1411
- 3) Honda K, et al: Cancer Res (2005) 65: 10613-10622
- 4) Ehmann M, et al: Pancreas (2007) 34: 205-214
- 5) 山田哲司ら: ファルマシア (2007) 43: 32-36



特集関連用語解説

テーラーメイド (個別化) 医療

個人の遺伝子型などに応じて、患者にとって最も効果があり、かつ副作用が発現する可能性が最小となるような薬の選択、投与量・投与方法を選択する治療法。

トランスレーショナルリサーチ

基礎研究の成果を臨床に応用することを目的に行う研究。

サロゲートマーカー

疾患の診断や薬効評価において、因果関係が厳密にわかっているわけではないが代理となる指標のこと。

SNP

一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism) . ある集団で1%以上の頻度で塩基の違いが見られるもの。

前向きコホート研究

多数の健康な人 (数万~数十万人) の集団を対象とし、疾患の原因となる可能性のある要因 (食生活・喫煙・飲酒など) を調査し、その後も追跡調査して、のちに発生する疾患との因果関係について分析する手法。例: 喫煙と肺癌との関連調査。

後向きコホート研究

曝露が起ってしまった後、曝露時の状況などを過去に遡って調査し、さらにその時点から追跡調査を行い、疾患発生との因果関係について分析する手法。例: 放射線被曝と癌発生率の調査。

症例対照研究 (後向き研究)

疾患に罹患した人を「症例」、「症例」と性別が同じで年齢などが近く疾患に罹患していない人を「対照」として、疾患の原因となったと考えられる要因 (食生活や喫煙など) を過去に遡って調査し、両者で比較する手法。

EXPERIMENTAL MEDICINE

実験医学  増刊

別 刷

羊土社

〒101-0052

東京都千代田区神田小川町2-5-1 神田三和ビル

TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212

E-mail : eigyo@yodosha.co.jp

概論

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

尾野雅哉, 山田哲司

現時点で絶対的な治療法のない癌の臨床現場では、現在の医療で治療できる状態の癌患者を効率よく見つけること、現在の癌の状態を正確に判断すること、最も効果の高い治療を選択することに、現在まで蓄えられた知恵を最大限に活用しているが、未だ十分でないことは明らかであり、その解決法がポストゲノム時代の新しい技術から生まれることを強く期待している。その期待を担う最前線は、プロテオーム解析技術と糖鎖解析技術であろう。本稿では、これらの技術の診断応用について方法論、問題点を解説し、本章各論への橋渡しとする。

はじめに

1) 癌診断に求められるもの

癌診断に今求められるものは、早期の段階から可能な簡便な癌の存在診断法、現状の診断法では鑑別困難な癌の確定診断法、最善の治療選択に有用な補助診断法などの開発である。そのような診断法の開発に当たってわれわれが前提とする概念は、癌の発生は生体における変化であり、それから何らかの情報が発せられ、また生体は癌に対して何らかの反応を起こし、その情報も生体内に存在し、それらの情報を的確に判断することで診断が可能となるというものである。しかし、その情報を汲み上げるだけの技術がない、または、存在するすべての情報を検討していないのが現状であり、科学の進歩を利用した最新の技術による癌診断技術の開発(図1)には大きな期待が寄せられている。

2) プロテオーム・糖鎖解析に寄せられる期待

タンパク質相互作用、タンパク質翻訳後修飾など生命に深くかかわる現象は、遺伝子情報だけでは十分に説明できないため、タンパク質そのものからのアプローチの重要性を再認識させた。また、生命をつくる大きな分子集団には糖鎖、脂質が存在し、これらの重要性は古くから認識されていたが、近年その解析手法が飛躍的に進歩し、複雑な生命現象の

[キーワード&略語]

癌診断, プロテオーム, 糖鎖, 大規模解析

2DICAL : 2-dimensional image converted analysis of liquid chromatography and mass spectrometry

Large scale approach of proteomics and glycomics for clinical application

Masaya Ono/Tesshi Yamada : National Cancer Center Research Institute, Chemotherapy Division (国立がんセンター研究所化学療法部)

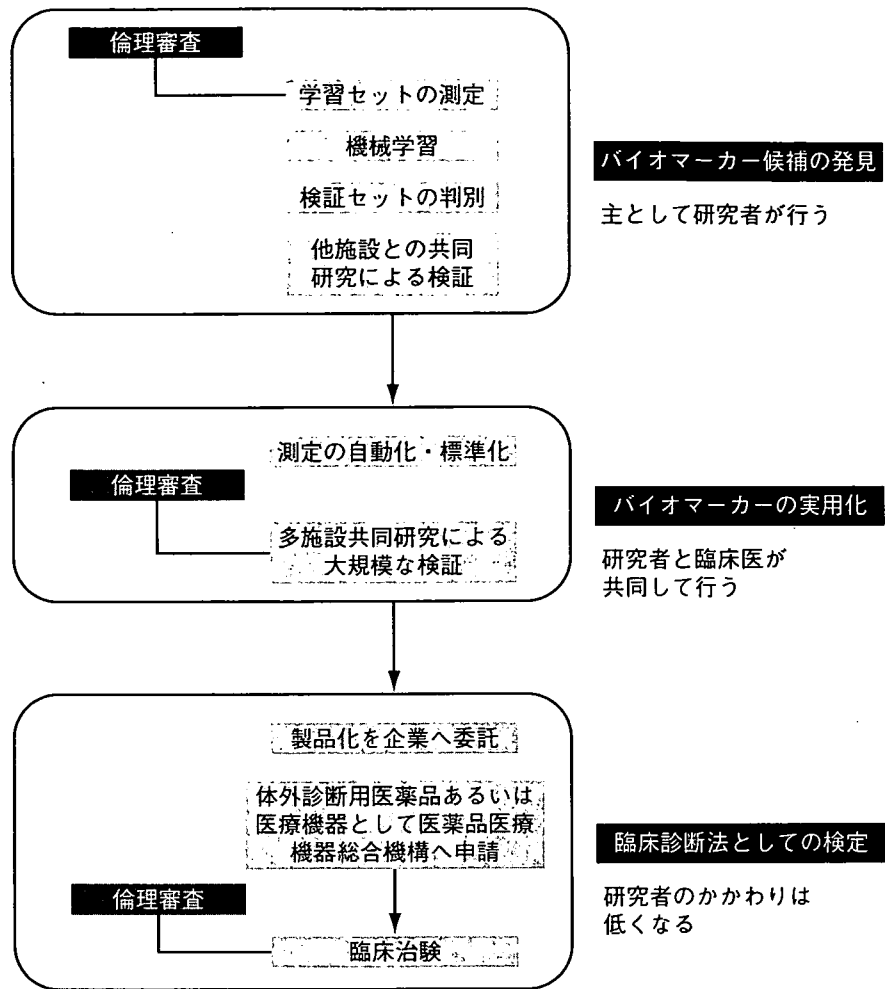


図1 癌の新規診断法開発ロードマップ

解明に大きく寄与している。特に糖鎖研究の近年の進歩は、実験医学増刊号「波及・深化する糖鎖研究」¹⁾に詳しく記載されているごとく著しいものがある。プロテオーム解析の進歩による大規模タンパク質解析、糖鎖科学の進歩による糖鎖解析は、新しい癌診断技術開発の具体的な期待の対象である。

本章では、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癌診断研究の現況についてそれぞれ第一線の立場からご報告いただき、この分野での可能性を明らかにしたい。

1. 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方法論

1) プロテオーム解析手法

i) 質量分析の利用

遺伝子の全配列が解明されたことにより、質量分析計で出力されるタンパク質、ペプチドの質量データが、アミノ酸配列のデータに即座に変換されることになり、質量分析計はどのようなタンパク質がどれだけ存在するかを解析するプロテオーム解析技術の旗手とし