

200924046A

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

がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山田哲司

平成22(2010)年 5月

別添 1

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

がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発

平成 2 1 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山田哲司

平成 2 2 (2 0 1 0) 年 5 月

別添 2

I. 総括研究報告

- がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発 1
山田哲司

II. 分担研究報告

1. 膵がん新規腫瘍マーカーの開発 5
山田哲司、関根茂樹
2. がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発 10
山田哲司、島原政司、弦間昭彦、藤田茂之、土田明彦、
中森正二、井岡達也、八木原一博、西洋孝
3. がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発 30
近藤 格
4. プロテオミクス手法を用いた腫瘍マーカー候補の獲得と
その応用について 34
佐藤雄一
5. 早期大腸がん症例における血清中ダーモカインの解析 40
菊池正二郎

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 45

IV. 研究成果の刊行物・別刷 47

別添 3

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」

平成21年度総括研究報告

研究代表者 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目的とし、下記のような成果が得られた。

膵がんの新規腫瘍マーカーの開発

膵がん症例の予後の改善のためには、根治切除可能な早期の段階で診断することが必要である。我々は、新たに開発された中空糸膜によるサンプル分画技術を用いて血中微量タンパク質を分離濃縮し、膵がんの早期診断に有用な新規腫瘍マーカーを探索した。膵臓がん症例 24 例と健常者 21 例の血漿を上記膜で前処理し、国立がんセンター研究所で開発された 2 Dimensional Image Converted Analysis of Liquid chromatography and mass spectrometry (2DICAL) 法で定量解析を行った結果、膵がん症例で血漿 CXCL7/Platelet Basic Protein (PBP) 濃度が有意に低下することを見出した。ROC 解析にて AUC=0.84 と健常者との判別に有用であり、独立した検証コホート（膵臓がん症例 140 例、健常者 87 例）においても判別能は早期症例を含めて AUC=0.85 であった。CA19-9 と組み合わせることで CA19-9 単独の判別能を有意に改善し (AUC=0.96、P=0.002)、CA19-9 の診断性能を補完する新たな腫瘍マーカーであると考えられた。

早期大腸がん症例における血清中ダーモカインの解析

大腸がん 130 症例で細胞重層化関連分子であるダーモカイン（以下 DK）の血清中濃度を独自に構築したサンドイッチ ELISA 法で測定した。血清 DK は Tis-T1 の早期大腸がんにおいても有意に上昇し、60.7%の症例が DK を含む 4 項目の血

清検査で検出可能であった。免疫組織染色でも、早期大腸がんでDKが強発現しており、ELISAの結果を裏付ける結果であった。新たな細胞重層化関連分子であるG2（仮称）も早期がん組織での発現がみられ、検診への有用性を今後検討する。

【分担研究者】

関根茂樹

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

佐藤雄一

北里大学 准教授

菊池正二郎

兵庫医科大学 講師

島原政司

大阪医科大学 教授

弦間昭彦

日本医科大学 教授

藤田茂之

和歌山県立医科大学 教授

土田明彦

東京医科大学 准教授

中森正二

大阪医療センター 診療統括部長

井岡達也

大阪府立成人病センター 副部長

八木原一博

埼玉県立がんセンター 医長

西 洋孝

東京医科大学 講師

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18年から20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21年度はこの膵がん診断法、対象を膵以外の臓器にも範囲を拡げ、新たな腫瘍マーカーの探索を行った。

B, 研究方法

各地のがん医療の中核となる医療機関が参加する多施設共同研究により同一の採血、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ている。この検体などを用いて新規腫瘍マーカーを探索・検証した。

(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、各施設で倫理委員会あるいはそれに相当する組織による審査を受け、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

膵がんの腫瘍マーカーの開発

膵がん症例24例と健常者21例の血漿各500 μ Lを中空糸膜で前処理し2DICALで両群間の比較解析をしたところ53,009ピークが検出された。その中で最も高い信頼度でペプチド同定されたのはCXCL7であり(score99.6)、U-test P=0.00005、AUC of ROCは0.84であった。そこで、独立した検証セットとして膵がん140例と健常者87例の血漿を用いてCXCL7の診断マーカーとしての意義を検証したと

ころ、 $P=1.40\times 10^{-16}$ 、 $AUC=0.85$ と再現性が得られた。CXCL7濃度はCA19-9濃度とは相関しておらず($r=0.289$)、CA19-9による膵がんの診断精度($AUC=0.915$)はCXCL7と組み合わせることで有意に改善した($AUC=0.961$ 、 $P=0.002$)。

大腸がんの腫瘍マーカー開発

平成22年3月31日時点で内視鏡切除症例血清111検体を収集管理している。これまでの解析では血清DK陽性率は手術大腸がん症例(Tis:28.6%, T1:36.8%)に対して内視鏡切除症例(Tis:10%, T1:33.3%)と内視鏡切除症例(Tis)では決して高くなかった。しかし、腺腫症例での偽陽性は10%でありCEA, p53自己抗体に比較しても低い傾向にあった。また、外科手術症例と同様に既存腫瘍マーカーであるCEA/CA19-9/p53自己抗体との重複陽性例は非常に少なく既存マーカーにDKを加えることで診断感度は改善した。DKは早期大腸がん症例に対する診断マーカーとしては有用であると思われる。

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前向きに採取して輸送・保存した検体を用いことにより、バイアスのないより信頼

性の高い腫瘍マーカーが得られたものと思う。今後症例数を増やして解析するとともに、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、新たな腫瘍マーカーの探索が必要である。

E, 結論

膵がん、大腸がんで早期症例の検出が可能で検診応用可能性のある腫瘍マーカーの候補が得られた。

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

別添 4

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

「膵がんの新規腫瘍マーカーの開発」

	氏名	所属	職名
研究代表者	山田哲司	国立がんセンター研究所	部長
研究分担者	関根茂樹	国立がんセンター研究所	室長

研究要旨

膵がんが難治がんである所以は、早期発見が困難なため多くの症例で根治的外科的治療の適応外であることに起因すると考えられる。そのため早期膵がんを検出する血清・血漿診断マーカーの開発は急務といえる。東レ株式会社で開発されたホロファイバー膜を用いた透析膜技術を基盤とし、アルブミンより高分子量のタンパク質を除去し、比較低分子量のタンパク質を取得する「タンパク質分画デバイス」にて血漿の前処理を行い、国立がんセンターで開発した無標識定量質量分析法で膵がん患者 24 例と健常者 21 例の血漿タンパク質を比較した。全 53009 のペプチドピークを定量解析し、CXC chemokine ligand 7 (CXCL7) に由来するペプチドが両者間で統計学的な有意差を示す [P=0.00005 (Mann-Whitney U-test)] ことを見出した。さらに高密度のタンパク質マイクロアレイを用いて独立した 227 例で検証を行い、病期 1 - 2 期の症例を含めて膵がん患者で血漿 CXCL7 が有意に低下することを明らかにした。

A. 研究目的

化学療法、分子治療薬、放射線療法などのがんの治療法が進歩してきてはいるものの、依然、進行症例の治療は現在利用可能な医療技術では著しく困難な場合が多く、高感度な方法で血漿・血清の腫瘍マーカーなどを用いて微小のがんを発見し、早期に治療を開始することにより、予後の改善を求め

る必要がある。しかし血漿／血清中には多量のアルブミンなどの含有量の多いタンパク質が含まれ、これらが分析の障害となり、微量にしか存在しないがんマーカーが検出できない問題点がある。

このような分析の障害となるタンパク質の多くがアルブミンより高分子量のタンパク質であることに着目

し、東レでは中空糸膜(ホロファイバー膜)を用いた技術を基盤として、血漿・血清からアルブミンより高分子量のタンパク質を除去し、比較低分子量のタンパク質を取得する「タンパク質分画デバイス」を研究開発して来ている (Tanaka et al., *Proteomics*. 2006 Sep;6(17):4845-55)。

一方、国立がんセンターでは多数検体間の質量分析結果を直接比較定量できる定量的プロテオーム解析技術 2-Dimensional Image Converted Analysis of Liquid chromatography and mass spectrometry (2DICAL)を開発している (Ono et al., *Mol Cell Proteomics*. 2006 Jul;5(7):1338-47)。

東レ株式会社との共同研究にてタンパク質分画デバイスと国立がんセンター研究所の定量的プロテオーム解析技術を組み合わせることで、膵がんの早期発見に利用可能な腫瘍マーカーの探索を行った。

B, 研究方法

タンパク質分画デバイス (東レ製) を用いて膵臓がん患者 24 例と健常者 21 例の血漿からアルブミンなど高分子量タンパク質を除去し、分子量の小さいタンパク質をエンリッチした。この試料をトリプシン処理後、低流量液体クロマトグラフィーで分離し、高機能質量分析器にて測定した。得られた質量データより 2DICAL 法を用いて定量比較解析し、両者の間で差のあるタンパク質を探索した。さらに有意さのある腫瘍マーカー候補に関しては特異

抗体を収得し、国立がんセンターで開発された高密度逆相タンパク質マイクロアレイ (reverse-phase protein microarray) で別の 227 例の検体で検証した。

(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、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 が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

膵がん症例 24 例と健常者 21 例の血漿各 500 μ L を中空糸膜で前処理し 2DICAL で両群間の比較解析をしたところ 53,009 ピークが検出された。その中で最も高い信頼度でペプチド同定されたのは CXCL7 であり (score 99.6)、U-test $P=0.00005$ 、AUC of ROC は 0.84 であった。そこで、独立した検証セットとして膵がん 140 例と健常者 87 例の血漿を用いて CXCL7 の診断マーカーとしての意義を検証したところ、 $P=1.40 \times 10^{-16}$ 、AUC=0.85 と再現性が得られた。CXCL7 濃度は CA19-9 濃度とは相関しておらず ($r=0.289$)、CA19-9 による膵がんの診断精度 (AUC=0.915) は CXCL7 と組み合わせることで有意に改善した (AUC=0.961、

P=0.002)。

D, 考察

血漿 CXCL7 の低下は病期 1 あるいは 2 期の症例でも有意であり、膵がんの早期診断に有用である可能性がある。今後さらに症例を増やして検討する必要がある。CXCL7 は炎症細胞の遊走、細胞外基質の合成、血管新生などに関わる血小板由来のサイトカインである。血漿 CXCL7 の低下は膵がん患者の何らかの病態と関わっている可能性がある。進行した骨髄異型症候群で CXCL7 が低下し、逆に発症前の肺がん患者で CXCL7 が上昇することが最近報告されており、本サイトカインの異常はなんらかの早期の発がん機構に関わっている可能性が示唆された。

E, 結論

膵がん患者血漿でサイトカイン CXCL7 が有意に低下することを見出した。

F, 健康危険情報

なし

G, 研究発表

1、論文発表

1: Satow R, Shitashige M, Kanai Y, Takeshita F, Ojima H, Jigami T, Honda K, Kosuge T, Ochiya T, Hirohashi S, and Yamada T

Combined Functional Genome Survey of Therapeutic Targets for Hepatocellular Carcinoma.

Clin Cancer Res. 2010 May

1;16(9):2518-28.

2: Kobayashi E, Masuda M, Nakayama R, Ichikawa H, Satow R, Shitashige M, Honda K, Yamaguchi U, Shoji A, Tochigi N, Morioka H, Toyama Y, Hirohashi S, Kawai A, Yamada T.

Reduced argininosuccinate synthetase is a predictive biomarker for the development of pulmonary metastasis in patients with osteosarcoma.

Mol Cancer Ther. 2010 Mar;9(3):535-44.

3: Matsubara J, Ono M, Honda K, Negishi A, Ueno H, Okusaka T, Furuse J, Furuta K, Sugiyama E, Saito Y, Kaniwa N, Sawada J, Shoji A, Sakuma T, Chiba T, Saijo N, Hirohashi S, Yamada T.

Survival prediction for pancreatic cancer patients receiving gemcitabine treatment.

Mol Cell Proteomics. 2010 Apr;9(4):695-704.

4: Yamaguchi U, Honda K, Satow R, Kobayashi E, Nakayama R, Ichikawa H, Shoji A, Shitashige M, Masuda M, Kawai A, Chuman H, Iwamoto Y, Hirohashi S, Yamada T.

Functional genome screen for therapeutic targets of osteosarcoma.

Cancer Sci. 2009 Dec;100(12):2268-74.

5: Ono M, Matsubara J, Honda K,

Sakuma T, Hashiguchi T, Nose H, Nakamori S, Okusaka T, Kosuge T, Sata N, Nagai H, Ioka T, Tanaka S, Tsuchida A, Aoki T, Shimahara M, Yasunami Y, Itoi T, Moriyasu F, Negishi A, Kuwabara H, Shoji A, Hirohashi S, Yamada T.

Prolyl 4-hydroxylation of alpha-fibrinogen: a novel protein modification revealed by plasma proteomics.

J Biol Chem. 2009 Oct 16;284(42):29041-9.

6: Negishi A, Masuda M, Ono M, Honda K, Shitashige M, Satow R, Sakuma T, Kuwabara H, Nakanishi Y, Kanai Y, Omura K, Hirohashi S, Yamada T.

Quantitative proteomics using formalin-fixed paraffin-embedded tissues of oral squamous cell carcinoma.

Cancer Sci. 2009 Sep;100(9):1605-11.

7: Matsubara J, Ono M, Negishi A, Ueno H, Okusaka T, Furuse J, Furuta K, Sugiyama E, Saito Y, Kaniwa N, Sawada J, Honda K, Sakuma T, Chiba T, Saijo N, Hirohashi S, Yamada T.

Identification of a predictive biomarker for hematologic toxicities of gemcitabine.

J Clin Oncol. 2009 May 1;27(13):2261-8.

2、学会発表

1: Honda K, Ono M, Yamada T.

Detection of early-stage pancreatic cancer by mass spectrometry: a prospective multi-institutional validation study.

Tokyo, Japan (July 7-9, 2009)

2: Honda K, Yamada T.

Early detection of pancreatic cancer using mass spectrometry; a multi-institutional validation study.

2nd DKFZ-NCC Workshop on Cancer Research. Tokyo, Japan (July 7-9, 2009)

3: Yamada T.

Cancer Biomarker and Drug Target Discovery by Proteomics

2nd JST-ETHZ Joint Workshop. Tokyo, Japan (September 22-23, 2009)

4: Shitashige M, Satow R, Yamada T.

Search for potential drug targets in the Wnt signaling pathway of colorectal cancer.

14th Korea-Japan Cancer Research Workshop. Kanazawa, Japan (December 18-19, 2009)

5: Shitashige M, Satow R, Yamada T.

TNIK is a protein kinase essential for Wnt signaling and colorectal cancer growth.

14th Korea-Japan Cancer Research Workshop. Kanazawa, Japan (December 18-19, 2009)

6: Yamada T.

Identification of Biomarkers and Therapy Targets by Proteomics.

8th AACR-Japanese Cancer Association Joint Conference. Waikoloa, Hawaii (February 5-9, 2010)

7: Honda K, Ono M, Yamada T.

Detection of early-stage pancreatic cancer by mass spectrometry: a multi-institutional validation study.

4th International Cancer Biomarker Consortium Conference. Seattle, Washington (March 22-23, 2010)

8: Ono M, Honda K, Yamada T.

Prolyl 4-hydroxylation of alpha-fibrinogen - A novel protein modification discovered by plasma proteomics.

4th International Cancer Biomarker Consortium Conference. Seattle, Washington (March 22-23, 2010)

9: Yamada T.

Identification of biomarkers applicable to the early detection and therapy tailoring of patients with pancreatic cancer by label-free quantitative mass spectrometry.

4th International Cancer Biomarker Consortium Conference. Seattle, Washington (March 22-23, 2010)

H, 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1、特許出願

1. 特許出願

発明の名称：「膵臓癌の検出法」

発明者：本田一文、山田哲司、廣橋説雄

出願日：2009年1月30日、2010年1月29日（国際PCT出願）

出願番号：特願2009-019920（国内出願）、PCT/JP2010/051225（国際PCT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：「早期肺腺がんの予後予測および治療のための医薬品組成物」

発明者：本田一文、山田哲司、野呂林太郎、廣橋説雄

出願日：2010年3月30日

出願番号：特願2010-078772（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：「バイオマーカー」

発明者：本田一文、山田哲司、幕内洋介、逢坂由昭、廣橋説雄

出願日：2010年3月31日

出願番号：特願2010-083198（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

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
「がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発」

	氏名	所属	職名
研究者代表者	山田哲司	国立がんセンター研究所	部長
研究者分担者	島原政司	大阪医科大学	教授
研究者分担者	弦間昭彦	日本医科大学	教授
研究者分担者	藤田茂之	和歌山県立医科大学	教授
研究者分担者	土田明彦	東京医科大学	准教授
研究者分担者	中森正二	大阪医療センター	診療統括部長
研究者分担者	井岡達也	大阪府立成人病センター	副部長
研究者分担者	八木原一博	埼玉県立がんセンター	医長
研究者分担者	西 洋孝	東京医科大学	講師

（順不同）

研究要旨

新たな腫瘍マーカーの探索、および検証のために、本研究班では大規模な血液（血漿・血清）の収集を行う。7つの医療機関（埼玉県立がんセンター、日本医科大学病院、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、和歌山県立医科大学病院）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、卵巣がん、肺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する。

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18年から20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 21 年度よりは前向きに検体を集め、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行う。

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、肺がんなどの比較的罹患率の高いがんの罹患患者、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する。

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 の測定を行う。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する。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 に保存する。

(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書を作成し、参加各施設で倫理委員会あるいは相当する組織による審査を受け、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する。

C. 研究結果

国立がんセンター総長より添付の研

究計画に許可が得られている。

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。新規腫瘍マーカー探索・検証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

多数のため省略

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

2、実用新案登録

なし

3、その他

なし

「がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発」

研究計画書

国立がんセンター研究所 化学療法部
大阪医科大学 感覚器機能形態医学講座口腔外科
和歌山県立医科大学 口腔顎顔面外科学講座
日本医科大学内科学 呼吸器・感染症・腫瘍部門
東京医科大学 第三外科
国立病院機構大阪医療センター
大阪府立成人病センター 検診部
埼玉県立がんセンター 歯科口腔外科
東京医科大学 産科婦人科学
医薬基盤研究所 プロテオームリサーチセンター

平成22年1月18日

平成22年2月17日改訂

添付資料

1. 説明文書例
2. 同意書例

(対象とする臓器は施設により異なるため、〇〇と記載している)

1. 研究概要

【背景】

平成20年度まで実施された厚生労働省科学研究費補助金 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」において、我々はプロテオミクス的手法を用い、膵がんと健常者を比較解析することから、いくつかの有力な新規血漿マーカーを発見し、膵がんの血液診断法の開発に一定の研究成果をあげた（同研究課題総合研究報告）。この研究の過程から、さらにより疾患特異的なマーカーを開発することと、膵がん以外の臓器のがんの発見を目指したマーカー開発が必要であることを認識した。しかし、同研究課題で行った多施設共同研究「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（17-88）（平成21年3月31日にて終了）」で集積された検体は膵がんなどの消化器領域のがんや鑑別疾患の対象となる良性疾患患者のものに限られ、またがん検診に応用した際に比較対象となる健常者の症例数が充分ではなかった。

一方、最近2DICAL（2-Dimensional Image Converted Analysis of Liquid chromatography and mass spectrometry）法やRPPA（Reverse-Phase Protein Arrays）法などの新たなプロテオミクス解析手法が開発されてきている。これらの手法は従来にない感度を有し、今までは困難とされた低発現量のタンパク質の解析も可能であり、これらの方法を応用することで新たな腫瘍マーカーが発見される可能性が出てきた。また、平成20年度よりは厚生労働省科学研究費補助金 創薬基盤推進研究事業 研究課題「疾患関連創薬バイオマーカー探索研究」に研究分担者として加わり、医薬基盤研究所プロテオームリサーチセンターの大規模な研究設備を用いて、さらなる解析能力の向上が得られてきている。

今回種々の臓器のがんに特異的な血液腫瘍マーカーの開発を目的として新規の多施設共同研究を計画する。「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」（以下「研究17-88」とする）で行われた血液収集法は合理性と倫理性が十分確保されたものであることが実証されており、同じ検体収集法を本研究に採用し、「研究17-88」の検体と併合解析する。

【目的】

がん検診に有用な血液腫瘍マーカーを開発することを最終的な達成目標として、種々臓器のがん患者と対照者で量あるいは翻訳後修飾に変化のある血清・血漿タンパク質を同定することを目的とする。

【対象】

下記の疾患患者および健常者を対象とする

1) 肺がん、膵がん、胃がん、大腸がん、卵巣がん、口腔がん、その他の臓器のがん

2) 同じ臓器の良性腫瘍、炎症性疾患等の良性疾患

【方法】多施設共同研究にて、種々のがん患者、良性腫瘍・炎症性疾患等の良性疾患患者、健常者の血清・血漿を集積し、国立がんセンター研究所化学療法部や医薬基盤研究所にてプロテオーム解析手法を用いて臓器・疾患特異的、かつ早期から量や翻訳後修飾が変化するタンパク質を同定する。さらに測定系を構築し、検診への応用可能性を検討する。

2. 多施設共同研究か、班研究か、全体の組織と責任者氏名

1) 本研究は多施設共同研究である。

2) 研究者の一部は平成21年度より23年度の3ヵ年計画で申請する厚生労働省第3次対がん総合戦略研究事業の研究組織に属する。利益相反に関して厚生労働科学研究費補助金の申請時に委員会へ申出る。

3) 全体の組織

研究総括

国立がんセンター研究所 化学療法部 部長 山田哲司

試料採取、匿名化、個人情報管理

大阪医科大学 感覚器機能形態医学講座 口腔外科 教授 島原政司
和歌山県立医科大学 口腔顎顔面外科学講座 教授 藤田茂之
日本医科大学内科学 呼吸器・感染症・腫瘍部門 主任教授 弦間昭彦
国立病院機構大阪医療センター 統括診療部長 中森正二
東京医科大学 第三外科 准教授 土田明彦
大阪府立成人病センター 検診部 副部長 井岡達也
埼玉県立がんセンター 歯科口腔外科 医長 八木原一博
東京医科大学 産科婦人科学 講師 西 洋孝

(順不同)

(上記以外の施設にも今後共同研究者を増やす予定であるが、その際には国立がんセンター倫理審査委員会に変更申請を行う。)

プロテオーム解析、統計解析

国立がんセンター研究所 化学療法部 室長 尾野雅哉
室長 本田一文
医薬基盤研究所 プロテオームリサーチセンター
センター長 朝長 毅

(上記以外の施設にも今後共同研究者を増やす予定であるが、その際には国立がんセンター倫理審査委員会に変更申請を行う。)

さらに上記の研究者が指導・管理する癌研究振興財団のリサーチレジデント、医師または歯科医師、研究補助員が研究協力者として研究を実施する。

4) 責任者氏名

山田哲司 (研究所化学療法部部長)

3. 統計学的背景：症例数と算定根拠など

予定 (目標) 症例数：

膵がん：	60例 (担当：井岡、中森、土田)
口腔がん：	20例 (担当：島原、藤田、八木原)
胃がん：	60例 (担当：中森、土田)
大腸がん：	60例 (担当：中森、土田)
肺がん	40例 (担当：弦間)
卵巣がん	20例 (担当：西)
その他の悪性腫瘍：	50例 (担当：上記全員)
良性腫瘍：	20例 (担当：上記全員)
その他の良性疾患：	100例 (担当：上記全員)
<u>健常者：</u>	<u>200例 (担当：上記全員)</u>
合計	630例

算定根拠：

理想的にはできるだけ多くの症例数を確保したいが、「研究17-88」での実績と厚生労働科学研究費補助金の予算規模、研究期間を加味し、集積予定症例数を集計した。

4. 対象選定基準

20歳以上で、本研究の参加について添付した説明文を用いて、十分な説明を行った後、自由意志に基づいて書面により同意を得ていること。提供者よりの同意の撤回があった場合は迅速に対象から除外し、検体は適切な方法で破棄する。

腫瘍患者（肺がん、膵がん、胃がん、大腸がん、卵巣がん、口腔がん、その他の臓器のがんおよび良性腫瘍）

病理学的診断がなされているか、または 3 ヶ月以内に病理学的診断が予定されている

悪性腫瘍に対する前治療歴のある例は除外する

他のがんの既往や合併のある例は除外する

炎症性疾患患者、良性疾患患者

診断基準に沿った臨床診断がなされている確診例

悪性腫瘍に対する前治療歴のある例は除外する

他のがんの既往や合併のある例は除外する

健常者

各施設を検診や歯科治療、インプラント治療などの目的で受診した例
がんの既往のある例は除外する

5. 研究の実施の場所と方法

研究の実施場所

試料採取、匿名化など個人情報管理、臨床情報収集、検体一時保存

大阪医科大学病院、日本医科大学病院、和歌山県立医科大学病院、東京医科大学病院、国立病院機構大阪医療センター、大阪府立成人病センター、埼玉県立がんセンター

検体一時保存、既存腫瘍マーカーの測定

株式会社エスアールエル

検体保管、プロテオーム解析、統計解析、臨床応用性の検討

国立がんセンター研究所化学療法部

プロテオーム解析

医薬基盤研究所プロテオームリサーチセンター

（上記以外の施設にも今後共同研究者を増やす予定であるが、その際には国立がんセンター倫理審査委員会に変更申請を行う。）