

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）
分担研究報告書

キナーゼ活性化レベル測定 SRM 法による抗 EGFR 抗体薬効果予測法の検証に必要な臨床
検体の収集

研究分担者

松原久裕 千葉大学大学院医学研究院 教授
星野敢 千葉大学医学部附属病院消化器外科学 助教

研究要旨

キナーゼ活性化レベル測定 SRM 法による、抗 EGFR 抗体薬効果予測法の検証に必要な臨床検体を 82 検体収集した。

A. 研究目的

キナーゼ活性化レベル測定 SRM 法で、抗 EGFR 抗体薬の効果予測が可能かどうかを検証するために必要となる臨床検体を収集した。

B. 研究方法

臨床検体の収集・保存

千葉大学医学部附属病院食道胃腸外科を受診する者のうち、検査結果から消化管腫瘍と診断された者の外科的切除標本を収集した。

タンパク質の安定性やキナーゼの活性化指標リン酸化修飾を維持すること目的に、標本は可能な限り 1～2 時間以内に凍結保存した。切除後から凍結までの間は、生理食塩水を含ませたガーゼに包んだ状態で、低温下（4℃）で保存した。

倫理面への配慮

< 研究対象となる個人の人権の擁護 >

研究対象患者には、人権擁護について明確に記した文書で説明を行った。特に下記の 2 点に配慮した。

1. 試料提供に同ずるか否かは対象者の自由意思であり、試料提供しない場合でも不利益を受けない。
2. いったん同意した場合でも不利益を受けることなく、いつでも撤回することができる。

本研究は、平成 17 年 4 月 1 日施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、千葉大学大学院医学研究院生命倫理審査委員会で承認されたプロトコル（課題

名：消化管腫瘍における遺伝子・蛋白動態解析研究）に従って行われた。

<対象者に理解を求め同意を得る方法>

患者本人に対し文書を用いて以下の項目を説明し、自由意思に基づく文書による同意を受けた。

- 1．研究概要
- 2．研究の意義・目的
- 3．研究の方法
- 4．費用について
- 5．個人情報の保護
- 6．予測される結果について、遺伝子解析結果・研究計画の開示について
- 7．研究成果の公表について
- 8．試料などの他の研究への利用について
- 9．研究協力することによる利益と不利益
- 10． 遺伝カウンセリングについて
- 11． 問い合わせ等の連絡先

<個人情報の保護の方法>

患者の個人情報が外部に洩れることのないように厳重に管理した。試料は個人情報管理者及び分担管理者を設け、連結可能匿名化することにより研究者に患者の特定ができないようにした。

C. 研究結果

約一年間の間に 82 症例の大腸癌切除標本（癌部および周辺非癌部組織）を収集した。そのうち、23 検体は 1 時間以内に凍結保存した。抗 EGFR 抗体薬であるセツキシマブもしくはパニツムマブが投与された症例は 3 例であった。また、本研究においては、報告すべき倫理的問題事象は発生しなかった。

D. 結論

昨年度に収集した 70 検体と合わせると、2 年間で収集した検体数は 152 となった。そのうち、切除後 1 時間以内に凍結保存したものは 61 検体であり、抗 EGFR 抗体薬投薬症例は 9 例であった。これらの検体を用いることで、キナーゼ活性化レベル測定による、抗 EGFR 抗体薬効果予測法の初期的検証を行う事ができる。

E. 研究発表

< 論文発表 >

1. Fujishiro T, Shuto K, Hayano K, Satoh A, Kono T, Ohira G, Tohma T, Gunji H, Narushima K, Tochigi T, Hanaoka T, Ishii S, Yanagawa N, Matsubara H. Preoperative hepatic CT perfusion as an early predictor for the recurrence of esophageal squamous cell carcinoma: Initial clinical results. *Oncol Rep*, 2014, 31: 1083-1088.
2. Tachimori Y, Ozawa S, Fujishiro M, Matsubara H, Numasaki H, Oyama T, Shinoda M, Toh Y, Udagawa H, Uno T. Comprehensive Registry of Esophageal Cancer in Japan, 2005. *Esophagus*, 2014, 11: 1-20.
3. Tachimori Y, Ozawa S, Fujishiro M, Matsubara H, Numasaki H, Oyama T, Shinoda M, Toh Y, Udagawa H, Uno T. Comprehensive Registry of Esophageal Cancer in Japan, 2006. *Esophagus*, 2014, 11: 21-47.
4. Yusup G, Akutsu Y, Mutallip M, Qin W, HU X, Komatsu-Akimoto A, Hoshino I, Hanari N, Mori M, Akanuma N, Isozaki Y, Matsubara H. A COX-2 inhibitor enhances the antitumor effects of chemotherapy and radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*, 2014, 44: 1146-1152.
5. Sazuka S, Katsuno T, Nakagawa T, Saito M, Saito K, Maruoka D, Matsumura T, Arai M, Miyauchi H, Matsubara H, Yokosuka O. Fibrocytes Are Involved in Inflammation as well as Fibrosis in the Pathogenesis of Crohn's Disease. *Dig Dis Sci*, 2014, 59: 760-768.
6. Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, Murakami K, Isozaki Y, Maruyama T, Yusup G, Qin W, Toyozumi T, Takahashi M, Suito H, Hu X, Sekino N, Matsubara H. MicroRNA-133a regulates the mRNAs of two invadopodia-related proteins, FSCN1 and MMP14, in esophageal cancer. *Br J Cancer*, 2014, 110: 189-198.
7. Akutsu Y, Kono T, Uesato M, Hoshino I, Narushima K, Hanaoka T, Tochigi T, Semba Y, Qin W, Matsubara H. S-1 Monotherapy as Second- or Third-Line Chemotherapy for Unresectable and Recurrent Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Oncology*. 2013, 84: 305-310.
8. Matsushita K, Tamura M, Tanaka N, Tomonaga T, Matsubara H, Shimada H, Levens D, He L, Liu J, Yoshida M, Nomura F. Interactions between SAP155 and FUSE-binding protein-interacting repressor bridges c-Myc and P27Kip1 expression. *Mol Cancer Res*, 2013, 11: 689-698.
9. Akutsu Y, Matsubara H. Lymph node dissection for esophageal cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2013, 61: 397-401.
10. Takeshita N, Hoshino I, Mori M, Akutsu Y, Hanari N, Yoneyama Y, Ikeda N, Isozaki Y, Maruyama T, Akanuma N, Komatsu A, Jitsukawa M, Matsubara H. Serum microRNA

- expression profile: miR-1246 as a novel diagnostic and prognostic biomarker for oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, 2013, 108: 644-652.
11. Yokota H, Hoshino I, Sugamoto Y, Fukunaga T, Fujimoto H, Matsubara H, Uno T. Internal hernia associated with colostomy after laparoscopic abdominoperineal resection. *Clin Imaging*, 2013, 37: 590-592.
 12. Hoshino I, Matsubara H. MicroRNAs in cancer diagnosis and therapy: from bench to bedside. *Surg Today*, 2013, 43: 467-478.
 13. Kajiwara T, Matsushita K, Itoga S, Tamura M, Tanaka N, Tomonaga T, Matsubara H, Shimada H, Habara Y, Matsuo M, Nomura F. SAP155-mediated c-myc suppressor far-upstream element-binding protein-interacting repressor splicing variants are activated in colon cancer tissues. *Cancer Sci*, 2013, 104: 149-156.
 14. Akutsu Y, Uesato M, Shuto K, Kono T, Hoshino I, Horibe D, Sazuka T, Takeshita N, Maruyama T, Isozaki Y, Akanuma N, Matsubara H. The overall prevalence of metastasis in t1 esophageal squamous cell carcinoma: a retrospective analysis of 295 patients. *Ann Surg*, 2013, 257: 1032-1038.
 15. Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, Shuto K, Shiratori T, Kono T, Uesato M, Sato A, Isozaki Y, Maruyama T, Takeshita N, Matsubara H. Primary esophageal adenocarcinoma arising from heterotopic gastric mucosa: report of a case. *Surg Today*, 2013, 43: 446-451.
 16. Hyano K, Miura F, Amano H, Toyota N, Wada K, Kato K, Sano K, Takeshita K, Aoyagi T, Shuto K, Matsubara H, Asano T, Takada T. Correlation of apparent diffusion coefficient measured by diffusion-weighted MRI and clinicopathologic features in pancreatic cancer patients. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2013, 20: 243-248.
 17. Isozaki Y, Hoshino I, Akutsu Y, Akimoto A, Akanuma N, Takeshita N, Maruyama T, Matsubara H. Role of IGF1BP4 and IGF-I expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus*, 2013, 10: 79-85.
 18. Usui A, Akutsu Y, Kano Y, Shuto K, Sakata H, Yoneyama Y, Ikeda N, Oide T, Matsubara H. Diffusely infiltrative squamous cell carcinoma of the esophagus presenting diagnostic difficulty: report of a case. *Surg Today*, 2013, 43: 794-799.
 19. Ikeda N, Akutsu Y, Shuto K, Tohma T, Matsubara H. Tracheal compression by the gastric tube in esophageal cancer with ankylosing spondylitis and an analysis of the mediastinal condition in 84 cases of esophagectomy: report a case. *Surg Today*, 2013, 43: 1071-1074.
 20. Imanishi S, Shuto K, Aoyagi T, Kono T, Saito H, Matsubara H. Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging For Predicting and Detecting the Early Response to Chemoradiotherapy of Advanced Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dig Surg*, 2013, 30: 240-248.

21. Sazuka S, Katsuno T, Nakagawa T, Saito M, Saito K, Maruoka D, Matsumura T, Arai M, Miyauchi H, Matsubara H, Yokosuka O. Fibrocytes Are Involved in Inflammation as well as Fibrosis in the Pathogenesis of Crohn's Disease. *Dig Dis Sci*, 2013, 59: 760-768.
22. Saito S, Harada Y, Morodomi Y, Onimaru M, Yoshida K, Kyuragi R, Matsubara H, Yonemitsu Y. Ex Vivo Generation of Highly Purified and Activated Natural Killer Cells from Human Peripheral Blood. *Hum Gene Ther Methods*, 2013, 24: 241-252.
23. Kuga T, Kume H, Kawasaki N, Sato M, Adachi J, Shiromizu T, Hoshino I, Nishimori T, Matsubara H, Tomonaga T. A novel mechanism of keratin cytoskeleton organization through casein kinase I α and FAM83H in colorectal cancer. *J Cell Sci*, 2013, 126:4721-4731.
24. Tokita K, Seimiya M, Matsushita K, Tomonaga T, Onodera K, Ohki S, Tanizawa T, Uesato M, Shimada H, Matsubara H, Nakatani Y, Nomura F. Clathrin heavy chain is a useful immunohistochemical marker for esophageal squamous intraepithelial neoplasia. *Esophagus*, 2013, 10:193-198.
25. Maruyama T, Uesato M, Akutsu Y, Hoshino I, Semba Y, Takeshita N, Akanuma N, Isozaki Y, Horibe D, Mori M, Kono T, Shuto K, Matsubara H. High-resolution impedance manometric findings after surgery for epiphrenic diverticulum. *Esophagus*, 2013, 10: 223-229.
26. Fujishiro T, Shuto K, Shiratori T, Kono T, Akutsu Y, Uesato M, Hoshino I, Murakami K, Imanishi S, Tochigi T, Yonemori Y, Matsubara H. A case report of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy (PTTM) caused by esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus*, 2013, 10: 247-251.

<学会発表>

1. 松原久裕. Staging of Esophageal Cancer from point of view in Japanese Classification of Esophageal Cancer, Japan Esophageal Society, 10th edition、第 67 回日本食道学会学術集会, 2013 年 6 月, 大阪.
2. 松原久裕. 千葉大学バイオバンクの立ち上げ、千葉大学 COE スタートアップシンポジウム「戦略的臨床検体活用による消化器癌研究拠点」特別シンポジウム, 2013 年 3 月, 千葉.
3. 松原久裕. 右開胸・開腹による 3 領域リンパ節郭清を伴う胸部食道癌手術、第 68 回日本消化器外科学会総会, 2013 年 7 月, 宮崎.
4. 松原久裕. 進行食道癌に対する治療戦略、日本放射線腫瘍学会第 26 回学術大会, 2013 年 10 月, 青森.
5. 星野敢, 阿久津泰典, 河野世章, 上里昌也, 村上健太郎, 栃木透, 小倉由起子, 高橋理彦, 渡邊裕樹, 松原久裕. 肥満症例における食道アカラシア根治術、第 26 回日本内視鏡外科学会総会, 2013 年 11 月, 福岡
6. 星野敢, 竹下修由, 松本泰典, 阿久津泰典, 村上健太郎, 赤沼直毅, 磯崎由佳, 丸山哲

- 郎，豊住武司，水藤広，高橋理彦，関野伸史，松原久裕．新規バイオマーカーとしての血中 circulating microRNA の有用性、第 51 回日本癌治療学会学術集会、2013 年 10 月，京都。
7. 星野敢，阿久津泰典，河野世章，上里昌也，村上健太郎，松原久裕．消化器外科エキスパート養成を目的とした新教育システムの構築、第 75 回日本臨床外科学会総会、2013 年 11 月，愛知
 8. 星野敢，丸山哲郎，松原久裕．消化器癌腹膜播種の病態解明と新治療戦略 ICG 含有リポソームを用いた審査腹腔鏡の有用性の基礎的検討、第 21 回日本消化器関連学会週間、2013 年 10 月，東京。
 9. 星野敢，阿久津泰典，遠藤悟史，赤沼直毅，磯崎由佳，丸山哲郎，竹下修由，豊住武司，鈴木孝禎，松原久裕．食道扁平上皮癌におけるヒストン脱メチル化酵素阻害による誘導遺伝子の検討、第 67 回日本食道学会学術集会、2013 年 6 月，大阪。
 10. 星野敢，阿久津泰典，竹下修由，豊住武司，河野世章，上里昌也，赤沼直毅，磯崎由佳，丸山哲郎，松原久裕．遺伝子，microRNA 発現情報に基づく食道癌個別化治療への取り組み、第 68 回日本消化器外科学会総会、2013 年 7 月，宮崎
 11. 星野敢，阿久津泰典，遠藤悟史，赤沼直毅，磯崎由佳，丸山哲郎，竹下修由，豊住武司，鈴木孝禎，松原久裕．食道扁平上皮癌細胞株におけるヒストン脱メチル化阻害剤誘導遺伝子の検討、第 72 回日本癌学会総会、2013 年 6 月，大阪。
 12. 星野敢，磯崎由佳，竹下修由，赤沼直毅，丸山哲郎，豊住武司，阿久津泰典，村上健太郎，遠藤悟史，松原久裕．エピゲノム機構に基づく新たな診断・治療法の開発、第 113 回 日本外科学会定期学術集会、2013 年 4 月，福岡。

F. 知的財産権の出願・登録状況

< 公開 >

1. 発明の名称：リポソーム複合体。
発明者：岡本芳晴、田村裕、菅波晃子、林秀樹、真殿智行、松原久裕、豊田太郎。
国際公開日：平成 25 年 4 月 11 日
国際公開番号：WO2013/051732
2. 発明の名称：近赤外線波長特性を利用した非侵襲性医療装置
発明者：岡本芳晴、田村裕、菅波晃子、豊田太郎、林秀樹、真殿智行、松原久裕
公開日：平成 25 年 11 月 14 日
公開番号：特開 2013-230211
3. 発明の名称：内視鏡用の穿刺針（届出時：内視鏡下ドリル式組織採取針）
発明者：上里昌也、松原久裕
出願日：平成 25 年 11 月 1 日
出願番号：特願 2013-228683 号