

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究委託事業）
委託業務成果報告（総括）

膵癌、胆道癌の検出と薬物治療効果予測を可能にする血清マイクロRNA検査の臨床導入

研究代表者：小嶋 基寛 国立がん研究センター東病院臨床開発センター臨床腫瘍病理分野 ユニット長

研究要旨

我々はこれまでの先行研究によって、膵癌、胆道癌患者と健常人の血清中マイクロRNAを網羅解析することにより、膵癌、胆道癌患者で高発現するマイクロRNAを複数同定し、それらを組み合わせることで血清マイクロRNAを用いた膵癌・胆道癌検出用マーカー（複数のマイクロRNAの組合せによる判別指数）を確立し、報告（PlosONE 2015）および特許出願を実施済みである。本マーカーは既存の腫瘍マーカーより高い感度と特異度をもって膵癌、胆道癌患者を検出できるのみならず、早期再発予測と発見、微小転移検出による手術適応患者の選別や、病勢評価の均てん化にも貢献しうる。また、膵癌・胆道癌検出用マーカーを確立した際に使用した枠組みを治療有効症例と治療無効症例において使用することで膵癌治療効果予測マーカーが構築される可能性がある。

本研究の目的は、

1. 我々が確立した膵癌・胆道癌検出用マーカーについて体外診断用医薬品として臨床導入価値があるか否かを検証する。
2. そのマーカーが早期再発予測と発見、微小転移検出による手術適応患者の選別や病勢評価の均てん化に応用可能であるか検討する。
3. 膵癌・胆道癌検出用マーカーの確立と同じ枠組みで膵癌治療効果予測法の構築が可能か検討する。

ことである。

本年度においてこれまでの我々の成果を基に東レが開発した膵癌、胆道癌検査製品（miRpanel®膵臓・胆道miRNA検査キット）を用いて膵癌、胆道癌患者における再現性を確認し、予後予測に対する有用性を示し、臨床導入の可能性を検討した。また、来年度以降に行う臨床導入に必要な前向き検討や薬事申請に向けた準備を行った。

A 研究目的

要旨に記載された本研究の目的を完遂するため、本年度は以下の項目を検討した。

臨床導入価値の検証

我々の開発した膵癌、胆道癌患者検出マーカー（Diagnostic index）が、切除可能膵癌、胆道癌患者の予後予測を行う上で有用であるかを検討する目的で、外科的に切除された膵癌45例、膵管内乳頭状腫瘍 31例、胆道癌50例などの術前血清における判別指数を測定し、再発、予後との相関を検討することで体外診断用医薬品として臨床導入価値があるかを検証する（須藤、高橋、小嶋）。

臨床導入に必要な検討の準備

来年度以降に早期再発予測と発見、病勢評価や治療効果予測を行う検討の実現可能性を検討し、より適切な画像評価を検討することで、来年度以降の臨床研究開始に向けた準備を行う（高橋、光永、小林）。

薬事承認申請に向けた準備

薬事承認申請に向けて、必要となる非臨床、臨床データ（臨床性能試験等）に関して検討を行い、臨床導入に向けての薬事面からの戦略を練る（佐藤）。

B 研究方法

臨床導入価値の検証

2009年1月-2011年3月までに、国立がん研究センター東病院で切除され、術前血清がBio-Bankに保存された症例の臨床病理所見を研究分担者（高橋）と検索した。症例の詳細は高橋らの分担報告資料1に示した。血清は血液採取当日に分離され-80℃で解析まで保存した。Diagnostic indexの診断マーカーとしての再現性を確認し、再発、予後との相関を比較検討する目的で術前に計測したCEA、CA19-9を診療録より記録した。miRpanel®膵臓・胆道miRNA検査キットを用い、3D-Gene Scanner 3000（東レ）を用いて発現を数値化し、判別指数を測定した（須藤）。判別指数と測定と臨床情報との関連は共同研究者（須藤）と検討した。

臨床導入に必要な検討の準備

当院で一年間に切除される膵癌、胆道癌患者の数、進行膵癌、胆道癌で治療前後の血清が保存されている症例数、一年間に初発治療をつける膵癌患者数を算出し、臨床導入に必要な検討の実行可能性を検討した。320列ADCTと、Dual Energy CTを用いた新しいIC Tが、喉頭癌と下咽頭癌における軟骨浸潤の診断に有用であるかを検討することで、将来的な膵癌・胆道癌の早期診断と再発診断への応用性を検討した。

薬事承認申請に向けた準備

定期的な打ち合わせを行い、薬事承認に向けて必要な助言を受けた。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従って本研究を実施した。研究について国立がん研究センター研究倫理審査委員会に申請し理事長より承認を得た(研究課題番号 2010-096)。また、本研究は国立がん研究センターの新包括的同意書に同意が得られている症例を対象として行い、研究概要は国立がん研究センターホームページに公開した。

C. 研究結果

臨床導入価値の検証

Diagnostic indexの診断マーカーとしての再現性が今回の検討でも確認された。Bio-Bankに後ろ向きに保存された血清には初発時と再発時の血清が揃っている症例は少なかったが、3症例/4症例において初発、再発の両者を陽性と判定することができた。また、通常型膵管癌に加えて膵管内乳頭状腺癌 (IPMC) においてもCA19-9を上回る高い診断能を有することが判明した。

臨床導入に必要な検討の準備

当院における切除材料は膵癌、胆道癌いずれも年間約50症例であった。保存血清を有する進行膵癌症例は195例、胆道癌は50例あり、初発治療として化学療法を施行する膵癌患者は年間90例であった。

320列ADCTと、Dual Energy CTを用いた新しいICTが、喉頭癌と下咽頭癌の軟骨浸潤診断に有用であり、今後膵癌・胆道癌の早期診断と再発診断への応用が期待された。

薬事承認申請に向けた準備

体外診断法としての開発を行う上で関連当局の確認を行いつつ非臨床、臨床性能試験の計画立案することとした。

D. 考察

本年度の研究から、血清マイクロRNAを用いた検査は実用化が可能で、臨床導入の価値が再確認された。膵癌においては、通常型膵癌のみならず、IPMCの診断においても我々の開発した diagnostic index の有用性が示された。さらに、臨床性能試験など臨床導入に必要な検討が実行可能であることが判明した。また、薬事承認に向けて、薬事面からの協力の重要性が認識された。臨床導入に向けて必要な多岐にわたる検討項目を、関係者との協力を密にして研究する必要性が認識された。並行して、膵癌治療効果予測法の構築の検討も行う。

E. 結論

我々の開発した膵癌、胆道癌患者検出マーカー (Diagnostic index) は確実性、再現性を有する臨床導入が可能で膵癌・胆道癌の診断が可能な体外診断薬である。早期再発予測と発見、病勢評価における有用性を示すことで臨床導入するために必要な検討を来年度以降に行う。

F. 健康危険情報

業務項目の担当責任者や研究協力者の把握した健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kitaguchi K, Kato Y, Kojima M, Okubo S, Takahashi D, Okada R, Nakayama Y, Nishida Y, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M. A resected case of intraductal tubulopapillary neoplasm of the pancreas: report of a case. *Int Surg.* 2015 100(2):281-6.

2) Yokota M, Kojima M, Higuchi Y, Nishizawa Y, Kobayashi A, Ito M, Saito N, Ochiai A. Spread of tumor microenvironment contributes to colonic obstruction through subperitoneal fibroblast activation in colon cancer. *Cancer Sci.* 2015 in press.

3) Sugimoto M, Takahashi S, Kobayashi T, Kojima M, Gotohda N, Satake M, Ochiai A, Konishi M. Pancreatic perfusion data and post-pancreaticoduodenectomy outcomes. *J Surg Res.* 2014 in press.

4) Sugimoto M, Takahashi S, Kojima M, Gotohda N, Kato Y, Kawano S, Ochiai A, Konishi M. What is the nature of pancreatic consistency? Assessment of the elastic modulus of the pancreas and comparison with tactile sensation, histology, and occurrence of postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Surgery.* 2014 156(5):1204-11.

5) Yamada E, Ishii G, Aramaki N, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Kojima M, Nagai K, Ochiai A. Tumor-size-based morphological features of metastatic lymph node tumors from primary lung adenocarcinoma. *Pathol Int.* 2014 64(12):591-600.

6) Saito N, Ito M, Kobayashi A, Nishizawa Y, Kojima M, Nishizawa Y, Sugito M. Long-term outcomes after intersphincteric resection for low-lying rectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2014 21(11):3608-15.

7) Kaneko K, Yamaguchi H, Saito T, Yano T, Oono Y, Ikematsu H, Nomura S, Sato A, Kojima M, Esumi H, Ochiai A. Hypoxia imaging endoscopy equipped with laser light source from preclinical live animal study to first-in-human subject research. *PLoS One.* 2014 Jun 10;9(6):e99055.

8) Yokota M, Kojima M, Nomura S, Nishizawa Y, Kobayashi A, Ito M, Ochiai A, Saito N. Clinical impact of elastic laminal invasion in colon cancer: elastic laminal invasion-positive stage II colon cancer is a high-risk equivalent to stage III. *Dis Colon Rectum.* 2014 Jul;57(7):830-8.

9) Sato M, Kojima M, Nagatsuma AK, Nakamura Y, Saito N, Ochiai A. Optimal fixation for total preanalytic phase evaluation in pathology laboratories: a comprehensive study including immunohistochemistry, DNA, and mRNA assays. *Pathol Int.* 2014 May;64(5):209-16.

10) Sugimoto M, Mitsunaga S, Yoshikawa K, Kato Y, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Ikeda M, Kojima M, Ochiai A, Kaneko H.

Prognostic impact of M2 macrophages at neural invasion in patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas. *Eur J Cancer.* 2014 Jul;50(11):1900-8.

11) Ueno H, Shirouzu K, Shimazaki H, Kawachi H, Eishi Y, Ajioka Y, Okuno K, Yamada K, Sato T, Kusumi T, Kushima R, Ikegami M, Kojima M, Ochiai A, Murata A, Akagi Y, Nakamura T, Sugihara K; Study Group for Perineural Invasion projected by the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR). Histogenesis and prognostic value of myenteric spread in colorectal cancer: a Japanese multi-institutional study. *J Gastroenterol.* 2014 Mar;49(3):400-7.

12) 小嶋基寛; State of the art 大腸癌取扱い規約第8版について 病理医の視点から. 大腸癌 Perspective 2014 1(2):102-9.

13) 癌診療指針のための病理診断プラクティス 肝・胆・膵腫瘍; 腫瘍類似病変. 中山書店 2014 10: 287-293.

14) 松永 理絵, 杉藤 正典, 山崎 信義, 齋藤 典男, 櫻庭 実, 小嶋 基寛; Pagetoid spreadを伴う肛門管癌に対し腹会陰式直腸切断術, 後大腿皮弁形成術後に内ヘルニアを呈した1例. *臨床外科* 2015 70(2):231-236.

2. 学会発表

1) 小嶋基寛. 膵臓における腫瘍類似病変 腫瘍と鑑別を要する膵病変. 第103回日本病理学会春季総会. 2014.4. 広島

2) 小嶋基寛、須藤裕子、河内淳平、近藤哲司、信正均、滝澤聡子、落合淳志. MicroRNA 網羅解析を用いた膵臓癌、胆管癌診断マーカーの検索. 第73回日本癌学会学術総会. 2014.9. 横浜

3) 小嶋基寛. がん検査の最前線～病理検査から体液中マイクロRNAまで～. 第73回日本癌学

会学術総会．2014.9．横浜

4) 漿膜弾性板を越えて浸潤する大腸癌に生じる形態変化と形成される微小環境の解明．第60回日本病理学会秋季特別総会．2014.11．沖縄

5) Kojima M, Shimazaki H, Iwaya K, Kage M, Akiba J, Ohkura Y, Horiguchi S, Shomori K, Kushima R, Ajioka A, Ochiai M. Pathological diagnostic criterion of blood and lymphatic vessel invasion in colorectal cancer: a framework for developing an objective pathological diagnostic system using Delphi method. 26th European Congress of Pathology. 2014.8. London.

6) Kojima M, Shimazaki H, Iwaya K, Kage M, Akiba J, Ohkura Y, Horiguchi S, Shomori K, Kushima R, Ajioka A, Ochiai M. Construction of an Objective Pathological Diagnostic System of Blood and Lymphatic Vessel Invasion. 103th United States and Canadian Academy of Pathology. 2015.3. Boston.

7) Kawano S, Kojima M, Sugimoto M, Takahashi S, Saito N, Ochiai A. Corelation Between the Elastic Modulus of Colorectal Cancer Tissue and Clinicopathological and Histological Findings. 103th United States and Canadian Academy of Pathology. 2015.3. Boston.

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特記記載事項なし。

