

臨床試験の施行と総括、研究計画の統括

担当責任者	中里雅光	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	教授
研究協力者	松元信弘	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	助教
研究分担者	有村保次	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	助教
研究分担者	坪内拓伸	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	助教

研究要旨 研究代表者は研究分担者とともに、独自に開発した蛋白質の網羅的末端構造解析法を用い、肺腺癌で特異的に検出される新規尿中腫瘍マーカー候補、蛋白断片 A、蛋白断片 B を同定した。本研究は、肺腺癌の診断における 2 種の尿中腫瘍マーカーの有効性を前向きかつ多面的に検証し、肺腺癌診断への臨床応用を促進することが目的である。本研究は 5 施設の呼吸器外科と呼吸器内科の症例を対象とした多施設共同研究であり、本年度は 5 つのアーム全ての研究プロトコルを確定した。全ての研究計画について本学の倫理審査の承認を得て、平成 26 年 10 月 28 日より患者登録を開始した。本学では 93 名の臨床情報と血清と尿検体収集を、1 名の 1 期肺腺癌症例の肺癌組織試料収集と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。さらに本年度は、肺腺癌予後予測マーカー発現に関して、TTF-1 発現の解析プロトコルを確立した。

A．研究目的

研究代表者は研究分担者(高尾)とともに、独自に開発した蛋白質の網羅的末端構造解析法を用い、肺腺癌で特異的に検出される 2 種類の新規尿中マーカー、蛋白断片A、蛋白断片Bを発見した。これらのマーカーは感度89%、特異度93%と感度86%、特異度88%であり、従来の肺腺癌マーカーの血清CEA (感度47%、特異度89%)と比較して、飛躍的に高精度であった。本研究の目的は、これらの新規尿中マーカー候補について、肺腺癌早期診断における有効性を多面的かつ前向きに検証し、検診への導入を目指した高精度の非侵襲的肺腺癌早期診断技術を確立することである。

B．研究方法

本研究は 5 施設の呼吸器外科と呼吸器内科の症例を対象とした多施設共同研究である。

研究計画(1) 新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度の検証 (平成 26-28 年度)

肺腺癌 200 例、非悪性呼吸器疾患 150 例、他癌腫 100 例、重喫煙者 30 例、健常人 100 例の尿検体を収集する。肺腺癌症例と各群間での新規

尿中マーカー値と血清腫瘍マーカー値を測定する。2 種の尿中マーカーの ROC 曲線を作成し ROC-AUC を算出する。先行研究で得られたカットオフ値を基に感度、特異度、陽性・陰性尤度比を検証する。

研究計画(2) 肺腺癌罹患ハイリスク群を対象とした新規尿中マーカーの早期診断ツールとしての有効性に関する縦断研究 (平成 26-28 年度)

50 歳以上の重喫煙者、特発性肺線維症症例を対象として、各々参加時と4ヶ月毎に採尿、血清採取を行い、12ヶ月毎に胸部CTを施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率を比較する。目標症例数は各群50例、観察期間は2年とする。

研究計画(3) 小型スリガラス病変に対するサロゲートマーカーとしての新規尿中バイオマーカーの有効性に関する縦断研究 (平成 26-28 年度) 胸部画像上の 20 mm 以下のスリガラス病変症例を対象として、参加時と 3ヶ月毎に採尿、血清採取を、参加時と3、6、12、24ヶ月後に胸部 CT を施行する。肺腺癌診断前および診断時での尿中マーカーと血清腫瘍マーカーの陽性率

を比較する。目標症例数は50例、観察期間は2年とする。

研究計画(4) 患者予後とバイオマーカーとしての有効性の検証(平成26-28年度) 肺腺癌80例を対象として診断時に新規尿中マーカーを測定する。観察期間を2年とし予後調査を行う。中央値を基準に尿中マーカー高値群と低値群に群別化し、生存曲線と2年生存率を比較する。肺腺癌手術対象50例の新規尿中マーカーを測定し、術後再発率との相関を検証する。

研究計画(5) 予後・治療効果予測マーカーの発現との関連の検証(平成26-28年度)

肺腺癌手術対象50例の術前術後の新規尿中マーカーを測定する。手術検体を用い、既知の予後予測マーカー(TTF-1発現, p16/CDH13プロモーター領域メチル化)と治療効果予測マーカー(EGFRとEML4-ALKの遺伝子変異)との関連を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)を遵守して実施する。研究開始前に、本学の倫理委員会の審査と承認を得て実施した。

平成26年10月27日 研究計画(1), (4) IRB承認(受付番号2014-155)、平成26年10月31日 研究計画(2) IRB承認(受付番号2014-156)、平成26年10月31日 研究計画(3) IRB承認(受付番号2014-157)、平成26年10月31日 研究計画(5) IRB承認(受付番号2014-159)。

C. 研究結果、およびD. 考察

研究体制発足後間もなく研究代表者及び各研究分担者出席のもと第1回研究会議を開催し、本研究計画の5つのアーム全ての研究プロトコルを確定した。本学では倫理委員会の承認を受け、平成26年10月28日より患者登録を開始した。平成27年3月10日現在、93名の文書で同意を得た研究対象者に本研究を実施した。93名の臨床情報と血清と尿検体収集を、1名のI期肺腺癌症例の肺癌組織試料収集と臨床情報と血清と尿検体収集を終了した。内訳は、研究計画(1)(肺腺癌例10例、非悪性呼吸器疾

患例14例、他癌腫7例、重喫煙者2例、健常者54例)、研究計画(2)(重喫煙者2例)、研究計画(3)(小型スリガラス病変症例2例)、研究計画(4)(肺腺癌例2例、I期肺腺癌1例)、研究計画(5)(肺腺癌例1例)であった(症例数は当該年度に宮崎大学で収集を終了した症例数。重喫煙者で研究計画(1), (2)に同時参加、肺腺癌症例で研究計画(1), (4), (5)に同時参加あり)。5つの全ての臨床研究において有害事象はなかった。さらに本年度は、肺腺癌予後予測マーカー発現に関して、TTF-1発現の解析プロトコルを確立した。

E. 結論

新規尿中マーカーの肺腺癌における診断精度を検証するために、縦断研究を含めた5つの研究計画を立案し、倫理委員会の承認のもと実施した。本学では合計93名の研究対象者の協力を得て、尿検体と血清と臨床情報の収集を行った。臨床試験は安全に遂行することができた。

F. 健康危険情報

委託業務成果報告(総括)にまとめて記入。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oda K, Ishimoto H, Yamada S, Kushima H, Ishii H, Imanaga T, Harada T, Ishimatsu Y, Matsumoto N, Naito K, Yatera K, Nakazato M, Kadota JI, Watanabe K, Kohno S, Mukae H.: Autopsy analyses in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*, 15: 10. (2014)
2. Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M.: Ghrelin relieves cancer cachexia associated with the development of lung adenocarcinoma in mice. *Eur J Pharmacol*, 743: 1-10 (2014)
3. Tsubouchi H, Yanagi S, Miura A, Mogami S, Yamada C, Iizuka S, Hattori T, Nakazato M.: Rikkunshito ameliorates cachexia associated with bleomycin-induced lung fibrosis in mice by stimulating ghrelin secretion.

Nutr Res, 34: 876-85 (2014)

4. Matsumoto N, Miki K, Tsubouchi H, Sakamoto A, Arimura Y, Yanagi S, Iiboshi H, Yoshida M, Souma R, Ishimoto H, Yamamoto Y, Yatera K, Yoshikawa M, Sagara H, Iwanaga T, Mukae H, Maekura R, Kimura H, Nakazato M, Kangawa K.: Ghrelin Administration for Chronic Respiratory Failure: A Randomized Dose- Comparison Trial.

Lung, in press (2015)

5. 柳重久, 坪内拡伸, 中里雅光.: 呼吸器疾患における PTEN の役割.
Annual Review 呼吸器 2015, 107-118 (2015)

2. 学会発表

1. 飯塚正一、柳 重久、坪内拡伸、十枝内厚次、最上祥子、山田ちひろ、服部智久、中里雅光.: プレオマイシン誘発肺線維症モデルにおけるグレリンを介した六君子湯の摂食調節作用 .
第 35 回日本肥満学会 . 宮崎 . 2014.10.24

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

