

201438099A

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

「膵がん検診の効率化を目指した血液バイオマーカーの実用化研究」

平成 26 年度 委託業務成果総括報告書

業務主任者

本田一文

国立がん研究センター研究所

平成 27 年 3 月

厚生労働科学研究委託費  
革新的がん医療実用化研究事業

「膵がん検診の効率化を目指した血液バイオマーカーの実用化研究」

平成 26 年度 委託業務成果総括報告書

業務主任者

本田一文

国立がん研究センター研究所

平成 27 年 4 月

# 目次

1、平成 26 年度 委託業務成果総括報告書.....	3
A. 「膵がん検診の効率化を目指した血液バイオマーカーの実用化研究」 .....	3
本田 一文	
添付資料 倫理研究計画書.....	12
「新しいプロテオーム解析技術を用いた腫瘍マーカーの探索」 .....	12
「多施設共同研究で集積された血液試料を2次利用して、がん検診に有用な腫瘍マーカーの開発研究」 .....	24
「NCI EDRN との共同研究による膵がん血清バイオマーカーの検証研究」 .....	37
2、委託業務成果分担報告（業務項目） .....	48
A. 「バイオマーカーシーズを用いた膵がん・リスク疾患検診の可能性の検討」 .....	48
本田 一文 他	
B. 「健診ネットワーク構築と各種バイオマーカー候補探索、有効性検証」 .....	55
東 健 他	
3、研究成果の刊行物 .....	59

厚生労働科学研究委託費  
革新的がん医療実用化研究事業

平成 26 年度 委託業務成果総括報告書  
「膵がん検診の効率化を目指した血液バイオマーカーの実用化研究」  
本田一文

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野

**【研究の要旨】**

膵がんの死亡率の改善には、切除可能な早期膵がん、または膵がんリスク疾患患者群を非侵襲的な血液バイオマーカーで濃縮し、画像検査等で精密な検診を行う「膵がん・リスク疾患囲い込み戦略」の導入がブレイクスルーになる可能性がある。本研究班では、先行研究で開発された膵がん・膵がんリスク疾患診断用血液バイオマーカーを実際の健康診断に実験的に導入し、「膵がん・リスク疾患囲い込み戦略」の有用性について、概念実証を行う予定である。バイオマーカーシーズと研究戦略は以下の 4 点で、本年度は解析に向けた倫理面の整理と研究基盤の整備、研究キットの開発を行った。

**1) 実験的バイオマーカー候補**

先行研究から得られたバイオマーカーとは、apolipoprotein-All isoform を検出する Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 法と血漿メタボロームプロファイルを用いた膵がん診断法である。

**2) 神戸健康診断（健診）ネットワークによる実験的膵がん検診**

神戸大学病院を中心とした近畿圏内の健診センターをネットワーク化して、被験者の同意のもと実験的バイオマーカーを用いた「膵がん・膵がんリスク疾患」のための任意型検診を実行する。その発見率を検討する。

**3) 体外診断医薬品の承認のための臨床性能試験**

神戸大学病院、埼玉医科大学国際医療センターを中心に 2 施設 150 症例以上の血液検体を収集し、PMDA の指導のもと体外診断薬承認のための臨床性能試験を行う。

**4) 海外での in vitro diagnosis (IVD) 取得のための国際研究協力**

米国 National Cancer Institute (NCI) の Early Detection Research Network (EDRN) や欧州膵臓センター（ハイデルベルグ）、ドイツがんセンター（dkfz.）の協力を得て、海外での IVD 承認を目指して、バイオマーカーの診断精度の検証を行う。

## 【研究チーム】

### 研究代表

本田 一文 国立がん研究センター研究所  
ユニット長

### 分担研究者

東 健 神戸大学大学院医学研究科・消化  
器内科学分野 教授

久津見 弘 神戸大学大学院医学研究科・  
消化器内科学分野 特命教授

小林 道元 東シ株式会社・先端融合研究  
所 主任研究員

吉田 優 神戸大学大学院医学研究科・病  
因病態解析学 准教授

山田 哲司 国立がん研究センター研究所  
創薬臨床研究分野 主任分野長

大野 良治 神戸大学大学院医学研究科・  
放射線医学分野機能・画像診断学部門 特  
命教授

吉村 健一 金沢大学附属病院先端医療開  
発センター 特任教授

鄭 基晩 東シ株式会社・先端融合研究所  
主席研究員

齋藤 博 国立がん研究センターがん予  
防・検診研究センター・検診研究部 部長

平岡 伸介 国立がん研究センター中央病  
院病理科科長

上野 秀樹 国立がん研究センター中央病  
院・肝胆膵内科 医長

森實 千種 国立がん研究センター中央病  
院 肝胆膵内科 医員

良沢 昭銘 埼玉医科大学国際医療センタ  
ー消化器内科 教授

## A. 【研究目的】

無症候な早期膵がんや膵がんリスク疾患患者群を血液検査で濃縮できれば、その後の画像等を用いた精密検診で効率よく発見できる可能性がある。今回の研究班では、「先行研究で開発されたバイオマーカーを用いて、早期膵がんや膵がんリスク疾患である膵管内乳頭粘液性腫瘍（Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm, IPMN）、膵嚢胞性腫瘍、慢性膵炎などを効率よく発見できるのか？」を命題に模擬検診を行い、その概念を実証する。

## B. 【研究方法（倫理面への配慮）】

1) 実験的バイオマーカー候補に対する研究用キットの開発、2) 神戸健康診断（健診）ネットワークによる実験的膵がん検診の基盤の整備、倫理審査、3) 体外診断医薬品の承認のための臨床性能試験の準備  
4) 海外での in vitro diagnosis (IVD) 取得のための国際研究協力体勢の構築とブラインド測定、の4点を行った。

### （倫理面への配慮）

以下について倫理審査のための研究計画書を作成し、倫理審査委員会から研究実施の承認を得た（添付資料）。

1) 【2008-003】「新しいプロテオーム解析技術を用いた腫瘍マーカーの探索」（添付資料 研究計画書）独立行政法人国立がん研究センター研究倫理審査委員会 2015年2月9日 承認

2) 【2014-146】「多施設共同研究で集積された血液試料を2次利用して、がん検診

に有用な腫瘍マーカーの開発研究」独立行政法人国立がん研究センター研究倫理審査委員会 2014年12月15日 承認

3)【2014-101】「NCI EDRN との共同研究による膵がん血清バイオマーカーの検証研究」独立行政法人国立がん研究センター研究倫理審査委員会 2014年8月7日 承認

### C.【研究結果】

#### バイオマーカーシーズ

今回の研究班で利用する実験的バイオマーカーシーズは以下の2個である。

##### 1) apolipoprotein-All isoform

先行研究にて血漿中に循環するapolipoprotein-All のホモ2量体のうち、C末端からグルタミンが欠失した isoform (apolipoprotein-All ATQ/AT; apoAll-ATQ/AT)が、膵がんやIPMN、慢性膵炎で有意に減少することを見出した。ApoAll-ATQ/AT を定量するためのELISA 検査キットを開発し、検査手法を確定した(分担研究報告書 本田一文ほか記載分 参照)。

##### 2) 質量分析による血清・血漿メタボロームプロファイル

質量分析を用いた血清・血漿内の代謝物一斉分析法を確立し、早期膵がんを検出する血清・血漿メタボロームプロファイルを確立した(分担研究報告書 東 健 ほか記載分 参照)。

#### 神戸健康診断(健診)ネットワークによる実験的膵がん検診

神戸健診コンソーシアムキックオフミーティング(2015年1月20日開催)を開催し、近畿圏6施設の検診センター担当者に研究の参加を呼びかけた。神戸健診ネットワークから臨床検査グレードで検体を回収するための方法の最適化に着手し、臨床検査会社を利用した回収法を考案した。「実験的バイオマーカーを利用した膵がん・およびリスク疾患検診」を行うための研究計画書を策定し、倫理審査委員会への申請を行った(分担研究報告書 東 健 ほか 記載分 参照)。

#### 体外診断医薬品の承認のための臨床性能試験

PMDA から体外診断薬承認を得るためには、薬事法に従った臨床性能試験が求められる、少なくとも2施設150症例以上の疾患と対照症例分の血液が必要になる。2014年10月2日に本研究班の班会議を国立がん研究センターで開催した。神戸大学、国立がん研究センター中央病院、埼玉医科大学国際医療センターの研究分担者に本研究班の研究目的やバイオマーカーシーズの臨床性能を説明し、検体採取や臨床性能試験を実施する上での問題点を整理した。PMDA への薬事戦略相談の準備を開始した。

当研究班では、厚労科学研究費「第3次対がん総合戦略事業」および「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」の支援をプロテオーム研究用血清・血漿バンクを整備してきた。

バイオマーカーシーズの臨床性能を多数検体で迅速に検証するために、本バイオバンクの使用を明記した研究計画書を作成し、

国立がん研究センター倫理審査委員会から研究実施の承認を受けた。これにより多様なプラットフォームでの検証研究が可能になった。

ApoAll-isoforms ELISA キットの性能検証のために、本血清・血漿バイオバンクから 600 例強の検体が提供され、診断学的有用性を確認した（分担研究報告書 本田一文ほか 記載分 参照）（添付資料 研究計画書）。

#### 海外での in vitro diagnosis (IVD) 取得のための国際研究協力

米国での IVD 申請を目指して、NCI EDRN と国立がん研究センターの間で、material transfer agreement (NCC-NCI MTA) を締結後、倫理審査を行い、NCI EDRN で集積された I・II 期膵がん、慢性膵炎、健常者の血清検体（EDRN pancreatic cancer reference set）を NCI から輸入した（添付資料 倫理審査書類）。NCI EDRN pancreatic cancer reference set を apoAll-isoforms ELISA キットを用いてブラインドで測定した。測定結果は、NCI EDRN に報告し、現在、NCI で感度、特異度、Receiver Operating Characteristic (ROC) 解析を行っている。

#### D. 【考察】

本研究計画の平成 26 年度のマイルストーンは、①研究用検査キットの完成、②NCI EDRN pancreatic cancer reference set による検証、③研究機関での倫理審査と承認、④PMDA への薬事戦略相談である。

①、②、③は、ほぼ達成した。④に関して

は、現在準備を進めている。来年度以降は、倫理審査を全て修了させ、バイオマーカーシーズを利用した膵がん・リスク疾患の実験的検診を神戸健診ネットワークで実施する。陽性者に対しては、被験者の同意を得て画像検査等による精査を行い、バイオマーカーシーズの感度を検討する予定である。さらに来年度からは、バイオマーカーシーズが持つ疾患への生物学的意義をオミクス研究や生化学研究から明らかにする。さらに検診検体で偽陽性を示した症例の臨床情報を詳細に検討し、偽陽性原因の特定を目指す。

#### E. 【結論】

1. ApoAll-isoforms ELISA の研究用キットを完成させた。プロテオーム研究用に特化した血漿バイオバンク検体の 600 症例で検証し、早期膵がんやリスク疾患に対する診断学的有用性を確認した。
2. NCI EDRN の Pancreatic Cancer Reference Set の検体を入手し、apoAll-isoforms ELISA キットでブラインド測定を行った。診断学的有用性は、NCI が計算中である。
3. 神戸健診ネットワークによる実験的膵がん検診のための基盤を整備した。
4. 研究を進めるための倫理面の整備を行った。

#### F. 【研究危険情報】

特になし。

#### G. 【研究発表】

【原著論文】

- 1: Watanabe T, Ueno H, Watabe Y, Hira

oka N, Morizane C, Itami J, Okusaka T, Miura N, Kakizaki T, Kakuya T, Kamita M, Tsuchida A, Nagakawa Y, Wilber H, Yamada T and **Honda K**. ACTN4 copy number increase as a predictive biomarker for chemoradiotherapy of locally advanced pancreatic cancer. **Br. J. Cancer**. 2015 Jan 20.

2: Isayama H, Hamada T, Yasuda I, Itoi T, **Ryozaawa S**, Nakai Y, Kogure H, Koike K. *TOKYO criteria 2014 for transpapillary biliary stenting*. **Dig Endosc**. 2015 Jan;27(2):259-64.

3: Aoki T, Kokudo N, Komoto I, Takaori K, Kimura W, Sano K, Takamoto T, Hashimoto T, Okusaka T, **Morizane C**, Ito T, Imamura M. Streptozocin chemotherapy for advanced/metastatic well-differentiated neuroendocrine tumors: an analysis of a multi-center survey in Japan. **J Gastr oenterol**. 2014 Oct 28.

4: Yamamoto Y, **Hiraoka N**, Goto N, Rinyu Y, Miura K, Narumi K, Uchida H, Tagawa M, Aoki K. A targeting ligand enhances infectivity and cytotoxicity of an oncolytic adenovirus in human pancreatic cancer tissues. **J Control Release**. 2014 Oct 28;192:284-93.

5: Yamaguchi T, Machida N, **Morizane C**, Kasuga A, Takahashi H, Sudo K, Nishina T, Tobimatsu K, Ishido K, Furuse J, Boku N, Okusaka T. Multicenter retrospe

ctive analysis of systemic chemotherapy for advanced neuroendocrine carcinoma of the digestive system. **Cancer Sci**. 2014 Sep;105(9):1176-81.

6: Furukawa D, Chijiwa T, Matsuyama M, Mukai M, Matsuo EI, Nishimura O, Kawai K, Suemizu H, **Hiraoka N**, Nakagohri T, Yasuda S, Nakamura M. Zinc finger protein 185 is a liver metastasis-associated factor in colon cancer patients. **Mol Clin Oncol**. 2014 Sep;2(5):709-713.

7: Kishi Y, Shimada K, Nara S, Esaki M, **Hiraoka N**, Kosuge T. Basing treatment strategy for non-functional pancreatic neuroendocrine tumors on tumor size. **Ann Surg Oncol**. 2014 Sep;21(9):2882-8.

8: Qiu Y, Shimada K, **Hiraoka N**, Maeshiro K, Ching WK, Aoki-Kinoshita KF, Furuta K. Knowledge discovery for pancreatic cancer using inductive logic programming. **IET Syst Biol**. 2014 Aug;8(4):162-8.

9: Inagawa Y, Yamada K, Yugawa T, Ohno S, **Hiraoka N**, Esaki M, Shibata T, Aoki K, Saya H, Kiyono T. A human cancer xenograft model utilizing normal pancreatic duct epithelial cells conditionally transformed with defined oncogenes. **Carcinogenesis**. 2014 Aug;35(8):1840-6.

10: Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, **Hiraoka N**, Ichimura T, Sudo T, Ishiko O, Yaegashi



- N, Aburatani H, Konishi I. Potential diagnostic biomarkers: differential expression of LMP2/β1i and cyclin B1 in human uterine leiomyosarcoma. *Tumori*. 2014 Jul-Aug;100(4):99e-106e.
- 11: Yamazaki K, Masugi Y, Effendi K, Tsujikawa H, **Hiraoka N**, Kitago M, Shinoda M, Itano O, Tanabe M, Kitagawa Y, Sakamoto M. Upregulated SMAD3 promotes epithelial-mesenchymal transition and predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Lab Invest*. 2014 Jun;94(6):683-91.
- 12: Watabe Y, Mori T, Yoshimoto S, Nomura T, Shibahara T, Yamada T, **Honda K**. Copy number increase of ACTN4 is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma. *Cancer Med*. 2014 Jun;3(3):613-22.
- 13: Tanaka N, Yamashita T, Yamamoto S, Matsunobu T, Tsuda H, **Honda K**, Yamada T, Tamai S, Shiotani A. Histological growth pattern of and alpha-actinin-4 expression in thyroid cancer. *Anticancer Res*. 2014 Jun;34(6):3157-63.
- 14: Kondo S, Shimazu T, **Morizane C**, Hosoi H, Okusaka T, Ueno H. A retrospective analysis of factors associated with selection of end-of-life care and actual place of death for patients with cancer. *BMJ Open*. 2014 May 2;4(5).
- 15: Shoji H, **Morizane C**, Hiraoka N, Kondo S, Ueno H, Ohno I, Shimizu S, Mitsunaga S, Ikeda M, Okusaka T. Twenty-six cases of advanced ampullary adenocarcinoma treated with systemic chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2014 Apr;44(4).
- 16: Shoji H, Morizane C, **Hiraoka N**, Kondo S, Ueno H, Ohno I, Shimizu S, Mitsunaga S, Ikeda M, Okusaka T. Twenty-six cases of advanced ampullary adenocarcinoma treated with systemic chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2014 Apr;44(4):324-30.
- 17: Masuda M, Chen WY, Miyanaga A, Nakamura Y, Kawasaki K, Sakuma T, Ono M, Chen CL, **Honda K**, Yamada T. Alternative mammalian target of rapamycin (mTOR) signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling. *Mol Cell Proteomics*. 2014 Jun;13(6):1429-38.
- 18: Hori M, Takahashi M, **Hiraoka N**, Yamaji T, Mutoh M, Ishigamori R, Furuta K, Okusaka T, Shimada K, Kosuge T, Kanai Y, Nakagama H. Association of pancreatic fatty infiltration with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Transl Gastroenterol*. 2014 Mar13;5:e53.
- 19: Kobayashi E, Satow R, Ono M, Masuda M, **Honda K**, Sakuma T, Kawai A, Morioka H, Toyama Y, Yamada T. Micro

RNA expression and functional profiles of osteosarcoma. *Oncology*. 2014;86(2):94-103.

20: Ohki R, Saito K, Chen Y, Kawase T, Hiraoka N, Saigawa R, Minegishi M, Aita Y, Yanai G, Shimizu H, Yachida S, Sakata N, Doi R, Kosuge T, Shimada K, Tycko B, Tsukada T, Kanai Y, Sumi S, Namiki H, Taya Y, Shibata T, Nakagama H. PHLDA3 is a novel tumor suppressor of pancreatic neuroendocrine tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jun 10; 111(23):E2404-13.

21: Matsubara A, Nara S, Sekine S, Ojima H, Kosuge T, Shimada K, Kushima R, Kanai Y, Hiraoka N. Intraductal dissemination of papillary adenocarcinoma of the ampulla of Vater in the pancreatic duct. *Pathol Int*. 2014 Jan;64(1):39-44.

#### 【日本語総説】

1: 山田哲司, 野呂林太郎, 本田一文 「肺がんの予後予測と遺伝子シグナチャー (特集 がん分子診断のパラダイムシフト)」 *最新医学* 69 (12), 2512-2519

#### 【著書】

1: 小林信, 山田哲司, 本田一文 「臨床材料を用いたアレイ基盤プロテオミクスを用いた創薬標的・バイオマーカーの開発」、臨床プロテオミクス *医学のあゆみ* 251 (10), 980-983、企画 近藤 格

2: 三浦奈美、紙田正博、本田一文、山田哲司 「プロテオーム解析による膵癌診断方法の開発」 *膵癌治療 up-to-date 2015* ; 91-98 監修 跡見 裕、編集 海野倫明、土田明彦

3: 坂元亨宇、平岡伸介、尾島英知. 肝・胆・膵 腫瘍癌診療指針のための病理診断ブックティス. 2014年. 中山書店

4: 良沢昭銘、岩野博俊、田場久美子、佐藤洋子、谷坂優樹、須藤晃佑、真下由美、新井 晋. 「FNAで胆・膵癌を診断するコツ-手技と検体作成の工夫-」、 *胆と膵* 2014 ; 35 (8) : 721-726

#### 【シンポジウム・シンポジスト・講演・招待講演 (筆頭分のみ)】

1: 本田一文 「がん個別化医療・早期診断バイオマーカーの開発と実用化」「口腔がん治療の均てん化・標準化」.[文部科学省 がんプロフェッショナル養成基盤推進プラン]-高度がん医療開発を先導する専門家の養成-4 大学合同事業：慶應義塾大学・東海大学・東京歯科大学・信州大学, 新宿 NSビル, 東京. 公開講座. 2015年2月8日.

2: 本田一文、「シスプラチン耐性克服に向けた創薬を目指して-進行卵巣がんのシスプラチン耐性腫瘍に対する創薬-」. 日本医療研究開発機構設立準備委員会、医薬基盤研究所、理化学研究所、産業総合研究所共催、【オールジャパンの創薬支援-創薬立国

日本に向けて], グランフロント大阪ナレッジシアター, 大阪市. 創薬支援ネットワーク・シンポジウム. 2015年1月16日.

3: 良沢昭銘. 「胆膵領域における EUS の実際」. 2014 Asian Pacific ERCP Club, Shenyang, China. 特別講演. 2014年12月18日.

4: 本田一文. 「プロテオミクス総括」. 第1回トランスオミクス研究会, 東北メディカルメガバンク, 仙台市. トランスオミクスワークショップ. 2014年12月6日

5: 良沢昭銘. 「超音波内視鏡下穿刺術: コツと注意点」. 第26回日本消化器内視鏡学会東北セミナー, 盛岡, 岩手. 講演. 2014年11月30日.

6: 良沢昭銘. 「胆膵内視鏡診療の最前線」. 第32回日本消化器病学会甲信越支部教育講演会, 新潟. 教育講演. 2014年11月22日.

7: 良沢昭銘. 「EUS による診断と治療」. 日本消化器内視鏡学会埼玉部会第40回学術講演会, 大宮, 埼玉. 教育講演. 2014年11月9日.

8: 良沢昭銘. 「Quality endoscopy: From East to West “-Pancreatobiliary disease- ERCP in patients with surgically altered anatomy”」. UEGW 2014, Vienna, Austria. The 7<sup>th</sup> ESGE-JGES joint symposium. 2014年10月20日.

9: 本田一文. 「唾液腺がん組織マイクロアレイを用いた予後予測バイオマーカーの同定」. 日本口腔外科学会・日本口腔病理学会・日本歯科放射線学会、口腔3学会, 幕張国際会議場, 千葉市. シンポジウム. 2014年10月18日.

10: 本田一文. 「膵臓がんの早期発見 -膵がん検診の効率化を目指した血液バイオマーカーの実用化-」. パープルリボン医療セミナージャパン東京 2014, 星稜会館, 東京. シンポジスト. 2014年10月5日.

11: 森実千種. 「消化器 NET 肝転移治療の治療 内科治療の治療成績」, 第2回日本神経内分泌腫瘍研究会学術総会. シンポジウム. 東京大学伊藤国際学術研究センター, 東京. 2014年9月20日.

12: 本田一文. 「がん個別化医療バイオマーカーの開発と実用化」. 第62回重粒子医科学センター研究交流会, 独立行政法人放射線医学研究所, 千葉. 2015年9月4日.

13: 本田一文. 「がん個別化医療選択のためのバイオマーカー開発と実用化」. 第27回青森呼吸器研究会, ホテル青森, 青森市. 特別講演. 2014年8月30日.

14: 良沢昭銘. 「ERCP in patients with surgically altered anatomy」. The 6<sup>th</sup> Eastern Biliary-Pancreatic Endoscopy Forum, Shanghai, China. 講演. 2014年8月27日.

15: 良沢昭銘. 「安全かつ確実な診断を行うための EUS-FNA の実際」. The 6<sup>th</sup> Eastern Biliary-Pancreatic Endoscopy Forum, Shanghai, China. サテライト講演. 2014 年 8 月 27 日.

16: 良沢昭銘. 「日本における胆膵内視鏡診療の教育」. The 7<sup>th</sup> National ERCP Symposium, Shenyang, China. サテライト講演. 2014 年 8 月 9 日.

17: 本田一文. 「アレイ技術・抗体基盤・質量分析基盤プロテオミクスの融合-がんバイオマーカー探索と検証に向けて-」. 日本プロテオーム学 2014 年大会, つくば国際会議場 つくば市. シンポジウム. 2014 年 7 月 18 日.

#### 【国際学会（筆頭のみ）】

1: Kazufumi Honda, Michimoto Kobayashi, Gimán Jung, Tesshi Yamada. 「Possible Detection of Early-Stage Pancreatic Cancer by Measuring Plasma Apolipoprotein-All isoforms」. Scientific Workshop, National Cancer Institute (NCI), Early Detection Research Network (EDRN), Hyatt Regency Bethesda ML, USA. October 10<sup>th</sup> 2014.

2: Kazufumi Honda, and Tesshi Yamada. 「Gene amplification of ACTN4 is a predictor of cancer metastasis」. 15th International Biennial Congress of the Metastasis Research Society. German Cancer Research Center. DkFz. Heidelberg, Germany. June 30<sup>th</sup> 2014.

3: Kazufumi Honda, Yukio Watabe, Takeshi Nomura, Takahiko Shibahara, Wilber Huang, Wei-Yu Chen, Chi-Long Chen, Tesshi Yamada. 「Actinin-4 is a predictive biomarker for late metastasis of stage I-II tongue cancer to cervical lymph nodes」. 2014 Annual Congress of ROC Association of Oral and Maxillofacial Surgeons, Taiwan, Tainan, ROC. March 8th 2014.

#### 【国内学会】

省略

#### 【知的財産】

2014 年度 特許出願 2 件  
公開前のため記載せず。

添付資料 倫理研究計画書

「新しいプロテオーム解析技術を用いた腫瘍マーカーの探索」

研究計画書

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野  
本田 一文、尾野 雅哉、山田 哲司

初版 平成20年4月  
平成24年2月23日改訂(2版)  
平成24年11月9日改訂(3版)  
平成25年10月15日改訂(4版)  
平成26年9月3日 (5版)  
平成27年1月5日 (6版)

## 1. 研究の背景

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。血清あるいは血漿を検体に用い、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各種がんの腫瘍マーカーを開発できれば、大小規模に係らず全国のどこの医療施設でも、同じ条件で、被験者の負担が少なく、非侵襲的にがんの早期発見率を向上させられるのみならず、医療費の削減、医療の全国均てん化が期待できる。

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野ではプロテインチップでの前処理し、高分解能の四重極ハイブリッド型質量分析 QqTOF-MS (hybrid Quadrupole Time-Of-Flight mass spectrometry) 機で測定することで定量再現性の高い血漿プロテオーム解析を行っている。現在までに膵がん患者 71 例と健常者 71 例を学習セットとして、support vector machine (SVM) (線形カーネル) 法の教師付機械学習を行い、両者を感度 97.2%、特異度 94.4% で識別できる低分子タンパク質を抽出したことを報告してきた (参考文献 1)。

平成 18 年度より開始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の課題名「がん検診に有用な新しい腫瘍マーカーの開発」の分担研究者および研究協力者が参加する多施設共同研究「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 (国立がんセンター倫理審査委員会 (倫理審査受付番号 17-88))、以下「研究 17-88」とする) は、本低分子タンパク質による膵がん診断能の検証を主な目的として、浸潤性膵管がん患者、他臓器の悪性疾患患者、良性疾患患者 (膵良性疾患を含む)、および健常者の血漿・血清検体を、臨床情報とともに前向きに集積し、検証実験を行い、現在までに良好な成績を得ている。その成績については平成 20 年 1 月 29 日に行われた「平成 19 年度第 3 次対がん総合戦略研究事業 研究成果報告会」および平成 20 年 2 月 28 日に行われた「第 3 次対がん 10 年総合戦略第 2 回合同シンポジウム」にて中間報告した。

一方、これら一連の研究を開始した当初は血清・血漿プロテオーム解析にプロテインチップ法以外に有効な手段がなかったが、近年この領域では急速な技術革新がなされ、2DICAL (2-Dimensional Image Converted Analysis of Liquid chromatography and mass spectrometry) 法や大型ゲルを用いた二次元電気泳動法、リバースマイクロアレイ法などの方法で血清・血漿の微量なタンパク質がより高感度・網羅的に検出可能になってきている (参考文献 2、3)。これらの新しいプロテオーム解析技術を用いて、新たにがん患者の血清・血漿のプロ

テオーム解析を行うことで、より高感度・高特異度の腫瘍マーカーが発見できる可能性がある。

本研究では、「研究 17-88」で集積した血清・血漿検体を二次利用し、これらの最新のプロテオーム解析技術でタンパク質の発現と翻訳後修飾をより詳細に解析し、膵がんおよび他の消化器悪性腫瘍の診断に応用できる新たな腫瘍マーカーの開発を行う。

## 2. 研究の対象と目的

### 研究の対象

「研究 17-88」で解析の終了した血清・血漿検体を研究開始前採取試料として用いる。

### 研究の目的

消化器悪性腫瘍の診断に応用できる新たな腫瘍マーカーの開発

## 3. 多施設協同研究か、班研究か、全体の組織と責任者氏名

1) 本研究は多施設協同研究である。

2) 研究者の一部は平成18年度より20年度の3ヵ年計画で厚生労働省第3次対がん総合戦略として申請する班組織に属する。

3) 全体の組織

### 研究総括

国立がん研究センター研究所 創薬臨床研究分野 ユニット長 本田一文

### 試料採取、匿名化、個人情報管理

自治医科大学 消化器・一般外科	教授	佐田尚宏
福岡大学 再生・移植医学講座	教授	安波洋一
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
国立病院機構大阪医療センター	統括診療部長	中森正二
国立がん研究センター中央病院 肝胆膵腫瘍科副科長		奥坂拓志
国立がん研究センター中央病院	副院長	小菅智男

大阪医科大学 口腔外科 教授 島原政司 (順不同)

検体前処理・免疫学的測定法の開発

東レ株式会社 先端融合研究所 主席研究員 河合英樹  
研究員 小林道元

国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 新薬開発分野  
分野長 松村保広

プロテオーム解析、統計解析

国立がん研究センター研究所 創薬臨床研究分野  
分野長 山田哲司  
ユニット長 尾野雅哉

東北大学大学院薬学研究科 薬物送達学分野 教授 寺崎哲也  
准教授 立川正憲  
助教 内田康雄

熊本大学大学院生命科学研究部 教授 大槻純男  
東京大学大学院新領域創成科学研究科 特任准教授 植田幸嗣

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) 研究責任者氏名

本田一文 (国立がん研究センター研究所 創薬臨床研究分野ユニット長)

4. 統計学的背景：症例数と算定根拠など

症例数および算定根拠：

本研究は、「研究 17-88」で集積した検体（平成 20 年 2 月 18 日時点で合計 740 例）を研究開始前採取試料として、後ろ向き研究に再利用するものである。症例の内訳（実数）は下記のとおりである。



膵がん：	132 例
膵良性疾患：	64 例
胃がん：	176 例
大腸がん：	170 例
その他の臓器のがん：	101 例
その他の良性疾患：	58 例
健常者：	39 例
<hr/>	
合計	740 例

## 5. 対象選定基準

「研究 17-88」の対象症例は下記の基準で選定されている。以下、「研究 17-88」の研究計画書より転記。

20 歳以上

可視的黄疸のない例

本研究の参加について文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。

浸潤性膵管がんの患者

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

浸潤性膵管がん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。

慢性膵炎の患者

日本膵臓学会慢性膵炎臨床診断基準（2001 年）による確診例。

がんの既往や合併のある例は除外する。

他の消化器がん（胃がん、大腸がん、十二指腸がん、肝がん、肝内胆管がん、胆道がんなど）

病理学的診断がなされている、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。

膵疾患の既往や合併のある例は除外する。

浸潤性膵管がん以外の膵腫瘍・膵嚢胞の患者、他臓器の良性疾患患者

当該膵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

## 6. 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

本研究は、「研究 17-88」で集積された症例の検体および臨床情報を利用するものであり、新たに収集することはない。「研究 17-88」で集積された症例の血清・血漿検体および臨床情報は、既に 8 文字の英数字で符号化・匿名化された状態で国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野に保存されている。症例・符号対応表は、自治医科大学病院、国立がん研究センター中央病院、東京医科大学病院、大阪医療センター、福岡大学病院、大阪医科大学病院の各施設の上記共同研究者により厳重に管理されている。

### プロテオーム解析、統計解析、臨床応用性の検討

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野  
東北大学大学院薬学研究科 薬物送達学分野  
熊本大学大学院生命科学研究部

### 検体保管

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野

## **[研究の方法]**

### 検体の種類・量

「研究 17-88」で収集され、膵がん血液診断法の有用性の検証実験にもちいた検体の余剰分で、国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野にて、検体識別番号以外の個人情報に関連するような事項は記載されない専用の凍結保存チューブに分注され、-80℃で専用の冷凍庫で凍結保存されている血漿と血清、各約 1 mL である。

### 検体の採取

本研究では、新たに検体を採取することはない。

### 検体の保存および廃棄

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野で専用の検体識別番号以外の個人情報に関連するような事項は記載されない凍結保存チューブに 100  $\mu$ L ないし 500  $\mu$ L 再分注し、再度-80℃に凍結保存し、国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野などの各研究グループに配布する。提供者との同意事項などにより検体を廃棄する場合には、充分の水道水で希釈し、廃棄する。

### 個人識別情報の管理と符号化の方法

本研究は、「研究 17-88」で集積された症例の検体および臨床情報を利用するものであり、検体は既にすべて符号化されている。具体的には症例登録時に検体に対応する個人識別情報は施設、症例番号を示す 8 文字の英数字に変換されており、症例・符号対応表は、各施設の共同研究者により厳重に保管されている。

#### 測定結果の開示

本研究の成果は特許申請の可能性を検討後、多施設共同研究として学術論文や学会発表として発表し、その成果を広く医療の進歩のために還元する。個々の被験者（提供者）に解析結果を開示することはしない。

#### プロテオーム解析方法

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野などにて、質量分析や二次元電気泳動、リバースマイクロアレイなどのタンパク質解析技術を用いてタンパク質の発現や翻訳後修飾を解析し、対照者に比べがん患者で統計学的に有意に変化をしめすタンパク質を同定する。さらにウェスタンブロット法や ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法などを用いた定量的な解析を行い、既存の腫瘍マーカー CEA・CA19-9・Dupan-2 と感度、特異度を比較し、臨床応用可能性を検討する。

### **7. 観察項目、臨床検査項目、観察方法、追跡観察期間**

本研究は、「研究 17-88」にて集積された症例の検体、既存の腫瘍マーカー CEA・CA19-9・Dupan-2 の測定値、臨床情報を再利用して行うものであり、臨床検査や追跡観察項目を新たに追加することはない。

### **8. 患者およびその家族に対する説明と同意を得る方法**

「研究 17-88」では検体採取前に、担当医師あるいは担当医師が指導・指定した代理人により、研究の内容・目的、不同意による不利益がないこと、さらに同意がいつでも撤回できること、個人情報厳重に管理されることを平易な言葉と説明文書で十分に詳しく説明し、文書にて同意を得ている。

「研究 17-88」の研究計画書では「検体は研究期間終了後も同所に保管され、国立がんセンターの倫理審査委員会による審査と承認後、別の研究に使用される場合がある。ただし、更なる研究の目的は腫瘍マーカーの開発に限定した（遺