

4. 研究の対象

本研究では NCI EDRN が膵がんの血清早期診断マーカーの有用性の検証研究のために用意した NCI EDRN Pancreatic Cancer Reference Set を対象とする。Pancreatic Cancer Reference Set は、早期膵がん（I 期・II 期）と、年齢・性別がマッチされた健常者（100 例）、慢性膵炎、急性胆道閉症の血清で構成され、NCI EDRN から送られる 125 μ L 分を国立がん研究センター研究所で測定する。内訳は以下のとおりである。

- pancreatic cancer (n=100)
- chronic pancreatitis (n=63)
- acute benign biliary obstruction (n=31), and
- healthy controls (n=61)

Pancreatic cancer tumor stages and Number of samples -

IA	8 samples
IB	7 samples
II	1 samples
IIA	42 samples
IIB	42 samples

5. 研究組織

5-1) 多施設共同研究による早期膵がん診断バイオマーカーの検証研究
研究参加施設：国立がん研究センター研究所、NCI EDRN, 東レ株式会社

6. 全体の組織と役割

研究総括

本田一文（国立がん研究センター研究創薬臨床研究分野 ユニット長）（国立がん研究センター研究所 研究総括、研究デザイン、キット測定、学会発表、論文執筆）

試料採取、匿名化、個人情報管理、実験結果解析、統計解析、FDA への推薦

Dr. Sudhir Srivastava

（Chief, Cancer Biomarkers Research Group National Cancer Institute, Organizer of EDRN）（NCI EDRN の統括、研究デザイン、統計解析、結果発表、FDA への推薦）

Dr. Lisa M. Gallmon

(Technology Development Administrative Specialist, National Cancer Institute/National Institutes of Health) (研究デザイン、NCI 法務)

Dr. Jo Ann S. Rinaudo

(Program Director Cancer Biomarkers Research Group Division of Cancer Prevention National Cancer Institute) (検体管理、結果解析、結果発表)

検体管理、ELISA キットによる apoAII-2 測定

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)

小林道元 (東レ株式会社 先端融合研究所 主任研究員)

鄭 基晩 (東レ株式会社 先端融合研究所 主席研究員)

笹島義志 (東レ株式会社 先端融合研究所 研究員)

真田光彰 (東レ株式会社 先端融合研究所)

さらに上記の研究者の責任、指導のもとに国立がんセンター研究所の職員と常勤の研究補助員、がん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の研修者が研究協力者として研究を実施する。

7. 各研究機関の責任者と連絡先

研究総括

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)

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野

東京都中央区築地 5-1-11

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

同上

NCI EDRN

Dr. Sudhir Srivastava

Chief, Cancer Biomarkers Research Group, NCI

9609 Medical Center Drive, Room 5E612 - MSC 9790 Bethesda MD 20892

For Courier, FedEx and UPS Packages:
9609 Medical Center Drive, Room 5E612
Rockville, MD 20850

東レ株式会社 先端融合研究所

小林道元（東レ株式会社 先端融合研究所 主任研究員）
神奈川県 鎌倉市手広 6-10-1

8. 予定症例数・検体量

- pancreatic cancer (n=100)
- chronic pancreatitis (n=63)
- acute benign biliary obstruction (n=31), and
- healthy controls (n=61)

Pancreatic cancer tumor stages and Number of samples -

IA	8 samples
IB	7 samples
II	1 samples
IIA	42 samples
IIB	42 samples

上記血清 125 μ Lである。

9. 算定根拠

NCI EDNRN が米国・海外研究機関検証に配布し、支援解析するために用意された Pancreatic Cancer Reference Set の実数である。

10. 対象選定基準

1) 膵がん患者・慢性膵炎・良性胆管狭症・健常者

臨床的に 膵がん患者・慢性膵炎・良性胆管狭症・健常者と診断された症例で NCI Pancreatic Cancer Reference Set に登録されているもの。

米国の連邦政府機関や各省庁が関与する調査研究において参加者を危

険性から保護するために米国保健社会福祉省（dhhs）により制定された法令、「45 cfr 46」、「human participant protection regulations（ヒト被験者の保護に関する規則）」、「protection of human subjects」とも呼ばれる法律にしたがい集積され、倫理承認を受けた検体である（添付資料 MTA. 3 に記載）。各研究機関が本臨床試料を分析・解析することは、NIH office of Human Subjects Research Exemption #4888)によって個別審査を回避される（Exempt #4888）。

11. 研究の実施の場所

試料採取、匿名化、個人情報管理、検体保存

NCI EDRN

検体の測定までの保管、ELISA 解析

国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野

実験結果解析

NCI EDRN

12. 実験方法

- ア) NCI EDRN から Pancreatic Cancer Reference Set を輸入する。
- イ) 国立がん研究センター研究所にて、ApoAII-2 キットで Pancreatic Cancer Reference Set をブラインド計測する。この際、Pancreatic Cancer Reference Set に関する臨床情報は、一切付帯されていない
- ウ) 計測結果を NCI に送付する。
- エ) NCI にて、感度、得意度、ROC 解析等を行い、診断学的有用性を計算する。

13. 研究材料と検査キット

研究材料：NCI Pancreatic Cancer Reference Set(凍結保存血清; 125 μ L)

検査キット：国立がん研究センター研究所、東レ 共同開発 血清 apoAII-2 計測キット。

14. 観察項目、臨床検査項目、観察方法、追跡観察期間

(ア)性別

- (イ)年齢
 - (ウ)喫煙歴
 - (エ)膵がん患者においては病期、組織型、腫瘍発生部位、腫瘍径、浸潤・転移部位
 - (オ)黄疸の有無、ビリルビン値
 - (カ)CA19-9 値（測定してある症例に限る）
 - (キ)病名
 - (ク)既往歴、合併疾患（慢性膵炎、胆石等）
 - (ケ)NCI が持つその他の臨床情報等
- 以上

本研究は上記の項目と ELISA 解析結果を比較する研究であり、追跡観察は行わない。

15. 患者およびその家族に対する説明と同意を得る方法

米国の連邦政府機関や各省庁が関与する調査研究において参加者を危険性から保護するために米国保健社会福祉省（dhhs）により制定された法令、「45 cfr 46」、「human participant protection regulations（ヒト被験者の保護に関する規則）」、「protection of human subjects」とも呼ばれる法律にしたがい集積され、倫理承認を受けた検体である（添付資料 MTA. 3 に記載）。各研究機関が本臨床試料を分析・解析することは、NIH office of Human Subjects Research Exemption #4888 によって個別審査を回避される（Exempt #4888）。

16. 集計表（記録表）とその保管

個人情報とは米国の連邦政府機関や各省庁が関与する調査研究において参加者を危険性から保護するために米国保健社会福祉省（dhhs）により制定された法令、「45 cfr 46」、「human participant protection regulations（ヒト被験者の保護に関する規則）」、「protection of human subjects」とも呼ばれる法律にしたがい集積され、すべて NCI EDRN 保護される。国立がん研究センター研究所では、検体の計測を行うだけであり、解析結果と提供者の氏名や ID 番号等の個人情報が関連付けられることはない。

17. 評価方法とその基準、解析方法、判定の指標とその判定基準は明示されるか。

国立がん研究センター研究所あるいは NCI EDRN 共同研究として学術論文や学会発表、インターネット、学会、として発表される。

18. 有害事象のチェック項目とチェック方法、報告方法

本研究で用いる検体はすべて、既に採取が終了し、再使用の必要がなくなった研究実施前提供の凍結保存血漿および血清のみであり、提供者への身体的な危険性は全くない。

本研究で解析するのは血清中の apoAII-2 のみであり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に定められている生殖細胞系のゲノム・遺伝子情報は含まれない。

個人情報と米国の連邦政府機関や各省庁が関与する調査研究において参加者を危険性から保護するために米国保健社会福祉省 (dhhs) により制定された法令。

「45 cfr 46」、「human participant protection regulations (ヒト被験者の保護に関する規則)」、「protection of human subjects」とも呼ばれる法律にしたがい集積され、すべて NCI EDRN 保護される。

危険が極めて少ない研究の場合には、NIH office of Human Subjects Research Exemption #4888 にて Pancreatic Cancer Reference Set を他の研究機関で再解析することを容認している。

よって有害事象のチェック項目、方法、報告方法は想定しない。

19. 最終集計・解析方法

症例を用いて盲検試験を実施し、識別率、sensitivity/sepcificity、positive/negative predictive value を求める。

20. 研究の発表方法

研究の実施は、国立がん研究センター、NIH のホームページ上に公開される本研究の成果は特許申請の可能性を検討後、国立がん研究センター研究所あるいは NCI EDRN、東レの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。これらの情報の公開に際しては、個人情報が含まれることはない。

21. 研究対象者に対する予測される危険や不利益・利益、被験者の福利に対する配慮と科学性及び社会的利益の比較

本研究に関連する全ての研究者は、ヘルシンキ宣言の精神および「疫学研究に関する倫理指針 (厚生労働省)」または、米国の連邦政府機関や各省庁が関与する調査研究において参加者を危険性から保護するために米国保健社会福祉省 (dhhs) により制定された法令、「45 cfr 46」、「human participant protection regulations (ヒト被験者の保護に関する規則)」にしたがって研究を実施する。

本研究の実施によって提供者へもたらされることが予測される明らかな身体的

あるいは精神的な不利益はない。一方、本研究の実施により早期膵がんの血漿診断マーカーが確立されれば、難治がんである膵がんの死亡率の改善に貢献できる可能性がある。被験者個人に対する利益はない。

22. 研究費、研究費算定根拠

既に解析に使用する機器は取得済みであるので、研究費として必要なものは消耗品のみである。再解析分を見込んで、本研究の施行には 300 症例分の消耗品費の準備・確保が必要である。

研究費

文部科学研究所 基盤研究 (B) 本田一文

23. 研究期間・保存期間

実施年月

本研究の承認日から平成 32 年 3 月 31 日

24. 別研究への再利用

研究期間終了後は保存しない。
よって別研究の再利用は行なわない。

25. 廃棄方法

廃棄する場合は十分な量の水と薄めて廃棄し、チューブのラベルはアルコール等で清拭の上、匿名化番号を消去する。

26. 利益相反

記載すべき経済的な利益関係や利益相反はない。

27. 特許に関連したとりきめ（得られたデータの帰属）

本研究で臨床応用の可能性と市場性のある成果が得られた場合に限り、特許を出願する。出願者は研究に直接関わったもの、および出資者に限る。

28. 研究者等の関連組織との関わり

東レ株式会社と国立がん研究センター研究所創薬臨床研究分野では、国立がん研究センター研究所で発見されたアポリポプロテイン AII ダイマー C 末端アミノ酸認識抗体診断キットの開発を進めている。国立がん研究センターで職務発明され、共同で特許出願を行っている。東レから研究費の資金援助は受けていない。

今回の研究は、企業から経済的な利益（謝金、研究費、株式等）の提供を受けることはない。

バイオマーカーを計測するためのELISAキット（国立がん研究センター、東レによる共同開発）の提供を受ける。

本研究における利益相反の管理は、参加施設それぞれが自施設の研究者に関して行う。当センターにおける利益相反の管理は、国立がん研究センター利益相反委員会が行う。

29. 参考文献

1: Honda K, Ono M, Shitashige M, Masuda M, Kamita M, Miura N, Yamada T. Proteomic approaches to the discovery of cancer biomarkers for early detection and personalized medicine. *Jpn J Clin Oncol.* 2013 Feb;43(2):103-9.

2: Honda K, Okusaka T, Felix K, Nakamori S, Sata N, Nagai H, Ioka T, Tsuchida A, Shimahara T, Shimahara M, Yasunami Y, Kuwabara H, Sakuma T, Otsuka Y, Ota N, Shitashige M, Kosuge T, Büchler MW, Yamada T. Altered plasma apolipoprotein modifications in patients with pancreatic cancer: protein characterization and multi-institutional validation. *PLoS One.* 2012;7(10):e46908.

3: Honda K, Hayashida Y, Umaki T, Okusaka T, Kosuge T, Kikuchi S, Endo M, Tsuchida A, Aoki T, Itoi T, Moriyasu F, Hirohashi S, Yamada T. Possible detection of pancreatic cancer by plasma protein profiling. *Cancer Res.* 2005 Nov 15;65(22):10613-22.

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）
委託業務成果分担報告（業務項目）

「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」

ApoAll-isoforms ELISA キット開発と臨床性能試験の準備
国際共同研究によるバイオマーカーシーズの有用性の検証

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
小林 道元 東シ株式会社・先端融合研究所
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
吉村 健一 金沢大学附属病院先端医療開発センター
鄭 基晩 東シ株式会社・先端融合研究所
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
平岡 伸介 国立がん研究センター中央病院病理科
上野 秀樹 国立がん研究センター中央病院・肝胆膵内科
森實 千種 国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科
良沢 昭銘 埼玉医科大学国際医療センター消化器内科

【研究の要旨】

バイオマーカーシーズを用いた実験的膵がん・リスク疾患検診を実験的に行い、POC を確立する。
本分担研究グループは以下の2点の研究を行った。

1) apoAll-isoforms (apolipoprotein-All) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) キットの開発と臨床性能試験の準備

ApoAll-isoforms を定量する ELISA キットを開発し、実験プロトコルを標準化した。
ApoAll-isoforms ELISA キットを用いて、浸潤性膵管がん・健常者・消化器疾患を含む 643 症例分の血漿検体を解析した。ROC 解析では、I/II 期の早期膵がんを健常者から判別する area of under curve (AUC) 値は、臨床病期-I から IV 期のいずれでも 0.92 を超えていた。さらに apoAll-isoforms の AUC 値は、臨床病期-I から IV 期のいずれでも CA19-9 の AUC 値を凌駕した。神戸健診ネットワークにおけるバイオマーカーシーズの運用法や血液回収法の最適化を行った。

2) 国際共同研究によるバイオマーカーシーズの有用性の検討

National Cancer Institute (NCI) Early Detection Research Network (EDRN) (米国 メリーランド州) が収集した臨床病期 I-II 期の浸潤性膵管がん、慢性膵炎、急性胆道閉塞症、健常者の血清検体 (pancreatic cancer reference set) 215 症例分を日本に輸入し、apoAll-isoforms ELISA キットでブラインド測定を行った。結果は、NCI EDRN に匿名化番号で返却し、現在 NCI で感度・特異度・AUC 値の計算を行っている。

A. 【研究目的】

先行研究で開発された膵がん診断血液バイオマーカーシーズを、実際の健康診断（健診）に導入し、「効率性の高い膵がん・リスク疾患検診法」の概念を実証する。

B. 【研究方法（倫理面での配慮）】

1) apoAll-isoforms ELISA キットの開発と臨床性能試験の準備

ApoAll-isoform ELISA キットの仕様を決定して、検査法を確定した。

厚生労働省科研費「第3次総合戦略事業」及び「難病・がん等の疾患分野の医療実用化研究事業」の支援で収集された膵がん、消化器疾患、および健常者のプロテオーム解析用血液バイオバンク検体から643例分の血漿検体が提供され、apoAll-isoforms ELISA で測定した。

2) 国際共同研究によるバイオマーカーシーズの有用性の検討

NCIと国立がん研究センター間で material transfer agreement (MTA) を締結し、倫理審査委員会の承認を得て、臨床病期 I-III 期膵がん、慢性膵炎、急性胆道閉塞症、健常者の血清で構築された pancreatic cancer reference set (215 例分：内訳不明) を NCI EDRN から国立がん研究センター研究所に輸入した。Pancreatic cancer reference set を、apoAll-isoforms ELISA キットでブライド測定した。

（倫理面での配慮）

研究業務成果総括報告書に記載したので、省略した。

C. 【研究結果】

1) ApoAll-isoforms ELISA キットの開発

3種類の抗体を利用して血液中の apoAll-isoforms の濃度を計測する apoAll-isoforms サンド

ウィッチ ELISA 計測法を開発した。膵がんまたは、膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm; IPMN) などの膵のう胞性疾患や慢性膵炎などの膵がんリスク疾患を保有する患者群で、①apoAll の2量体のC末端からグルタミンが2個欠出するタイプ (apoAll-AT/AT) の極端な減少、または②apoAll の2量体のC末端のいずれのグルタミンも欠出しないタイプ (ApoAll-ATQ/ATQ) の増加あるいは極端な減少のいずれかが観察されること、ならびにこの現象に伴い、③apoAll 2量体のC末端のグルタミンから1個のアミノ酸が欠失するタイプの apoAll-isoforms (apoAll-ATQ/AT) の極端な減少が、早期膵がん患者で観察されることを、質量分析を用いた先行研究から見出していた。今回完成した ELISA 検査キットは、apoAll-ATQ/ATQ, apoAll-ATQ/AT, apoAll-AT/AT 量を測定する ELISA 検査キットである。標準物質を利用した絶対定量法の確立し、再現性の高い実験プロトコルを確定した。

厚生労働省科研費「第3次総合戦略事業」及び「難病・がん等の疾患分野の医療実用化研究事業」の支援で収集された膵がん、消化器疾患、および健常者のプロテオーム解析用血液バイオバンク検体から643例分の血漿検体を apoAll-isoforms ELISA キットで測定したところ、先行研究で示した結果が再現できた。浸潤性膵管がんを健常者から判別する AUC は、I 期から IV 期のいずれの臨床病期でも 0.925 を超えていた。さらに、いずれの臨床病期でも CA19-9 の AUC を凌駕した。CA19-9 との組み合わせ解析では、CA19-9 陰性の浸潤性膵管がんの患者中、86.1%の患者を apoAll-isoforms ELISA は膵がんと判別した。

膵がんリスク疾患である IPMN や慢性膵炎患者群も、それぞれ AUC 値 0.92 で、健常者から判別した。

PMDAへ体外診断薬として申請するためには、少なくとも2施設から収集された150症例以上の検体で臨床性能試験を行う必要がある。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、研究班の目的とapoAll-isoformsの臨床性能を説明し、臨床性能試験に向けた問題点と今後の戦略を討議した。来年度からは、神戸健診ネットワークで、apoAll-isoformsを用いた「模擬膵がん・リスク疾患」検診を実行する予定である。そこで、2015年1月20日に神戸大学で神戸健診コンソーシアムキックオフミーティングを開催し、研究班の目標とapoAll-isoformsの臨床性能を説明し、模擬検診への参加を募った。また各健診センターから、タンパク質バイオマーカーや代謝産物バイオマーカーのプロファイルに影響を与えずに集配する方法の最適化を進め、本研究に特化した臨床検査センターによる回収法を考案した。

2) 国際共同研究によるバイオマーカーシーズの有用性の検討

NCIと国立がん研究センターとの間で、MTAを締結し、NCIからpancreatic cancer reference setを輸入した。Pancreatic cancer reference setをapoAll-isoforms ELISAキットでブラインド測定し、結果をNCIに返却した。現在、感度、特異度、AUC値をNCIで計算中である。

D. 【考察】

ApoAll-isoforms ELISAキットの仕様はほぼ完成し、実験プロトコルを確定した。先行研究にて質量分析装置で測定したapoAll-isoformsと、ELISAキットで測定したapoAll-isoformsとの相関は良好だった。質量分析による測定結果とELISA測定結果による膵がんの判別性能の比較では、定量性が高いELISAキットは質量分析による測定に比べてAUCが高かった。ELISAキットのAUCは、いずれの

臨床病期でもCA19-9を凌駕した。さらに、慢性膵炎やIPMNなどの膵がんリスク疾患に対しても高い感度を持つため、リスク疾患の検出にも利用できることが判明した。

PMDAへの薬事戦略相談は、来年度に行い、臨床性能試験のデザインを策定する予定である。神戸健診ネットワークでの模擬検診も来年度から開始する予定で、検体の採取法、回収法などの運用方法の最適化を行った。Standard Operating Procedure (SOP) に準拠した作業手順にのっとり運用を来年度から開始する予定である。NCI EDRNとの共同研究も順調に進行中で、現在はNCIの解析結果待ちの状態である。来年度の早い時期にNCI EDRNとの協議を行い、米国のin vitro diagnosis (IVD) 取得を目指して共同研究をさらに進める予定である。

E. 【まとめ】

1. ApoAll-isoforms に対する ELISA 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. 神戸健診ネットワークにおけるバイオマーカー運用法について、SOPの策定を開始した。
3. NCI EDRN の Pancreatic Cancer Reference Set の検体入手し、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。

(健康危険条項なし)

F. 【研究発表】

【原著論文】

1: Watanabe T, Ueno H, Watabe Y, Hiraoka 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: 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.
- 3: Tanaka N, Yamashita T, Yamamoto S, Matsunobu T, Tsuda H, Honda K, Yamada T, Tama S, Shiotani A. Histological growth pattern of and alpha-actinin-4 expression in thyroid cancer. *Anticancer Res*. 2014 Jun;34(6):3157-63.
- 4: 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.
- 5: Kobayashi E, Satow R, Ono M, Masuda M, Honda K, Sakuma T, Kawai A, Morioka H, Toyama Y, Yamada T. MicroRNA expression and functional profiles of osteosarcoma. *Oncology*. 2014;86(2):94-103.
- 6: Yamamoto Y, Hiraoka N, Goto N, Rin 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.
- 7: Furukawa D, Chijiwa T, Matsuyama M, Mukai M, Matsuo EI, Nishimura O, Kawai K, Sue mizu 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.
- 8: 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.
- 9: 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.
- 10: Inagawa Y, Yamada K, Yugawa T, Ohno S, Hiraoka N, Esaki M, Shibata T, Aoki K, Saito 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.
- 11: Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, Hiraoka N, Ichimura T, Sudo T, Ishiko O, Yaegashi N, Aiburatani 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.
- 12: 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 in pancreatic cancer cells.

- mal transition and predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Lab Invest.* 2014 Jun;94(6):683-91.
- 13: 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.
- 14: 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.
- 15: 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.
- 16: 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.
- 17: 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 Gastroenterol.* 2014 Oct 28.
- 18: 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 retrospective analysis of systemic chemotherapy for advanced neuroendocrine carcinoma of the digestive system. *Cancer Sci.* 2014 Sep;105(9):1176-81.
- 19: 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).
- 20: 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).
- 21: Isayama H, Hamada T, Yasuda I, Ito T, Ryozawa S, Nakai Y, Kogure H, Koike K. TOKYO criteria 2014 for transpapillary biliary stenting. *Dig Endosc.* 2015 Jan;27(2):259-64.

【著書】

【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プラクティス. 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

【招待講演】(筆頭講演のみ)

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: 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

4: 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.

5: 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.

6: 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.

7: 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.

8: 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.

9: 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.

10: 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.

11: 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.

12: 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.

13: 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.

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

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

16: 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 6th Eastern Biliary-Pancreatic Endoscopy Forum, Shanghai, China. サテライト講演. 2014 年 8 月 27 日.

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

【国際学会（筆頭のみ）】

1: Kazufumi Honda, Michimoto Kobayashi, Gimam 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 10th 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 30th 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

【④ 知的財産権（特許、実用新案権、意匠権、商標権）】

2014 年度 特許出願 2 件

公開前のため記載せず。

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

担当責任者

東 健（国立大学法人神戸大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野・教授）

久津見 弘（国立大学法人神戸大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野・特命教授）

吉田 優（国立大学法人神戸大学大学院医学研究科内科系講座病因病態解析学分野・准教授）

大野 良治（国立大学法人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）

研究要旨

膵がんの生存率向上のためには、早期膵がんを検出できる非侵襲的バイオマーカーの確立が必須である。膵がん早期発見法と高危険度群補足法を確立するためには、発見したバイオマーカー候補を任意型検診や臨床現場に投入し、そのバイオマーカー候補を用いた手法を評価することが必要で、これが、血液バイオマーカーの実用化研究に求められることである。そこで、本分担研究では、本プロジェクトに参画できる複数の病院・検診センターから構成される神戸健診ネットワークを構築し、研究開発中のバイオマーカー候補の検証などに利用できるシステムを確立して、検診におけるバイオマーカー測定の実用体制を構築し、収集した血漿検体中の代謝物分析を進めて、新たなバイオマーカー候補の探索、ならびに、その有効性の検証、また、これまでの研究で発見された代謝物バイオマーカーの検証を行うことを目的とする。

A.研究目的

膵がんの生存率向上のためには、早期膵がんを検出する非侵襲的バイオマーカーを確立することが必須であることから、「研究開発課題名：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」では、先行研究で開発された血液バイオマーカー検査を任意型検診や臨床現場に投入し、膵がん早期発見法と高危険度群補足法を確立することを目的としている。そこで、本分担研究では、本プロジェクトに参画できる複数の病院・健診センターから構成される神戸健診ネットワークを構築し、研究開発中のバイオマーカーの検証などに利用できるシステムを確立して、検診におけるバイオマーカー測定の実用体制を構築するとともに、収集した血漿検体中の代謝物分析（メタ

ボローム解析）を進めて、新たなバイオマーカー候補の探索、ならびに、その有効性の検証、また、これまでの研究で発見された代謝物バイオマーカーの検証を行うことを目的とした。なお、以下に示す①と②とが実施項目である。

- ①健診ネットワーク構築
- ②各種バイオマーカー候補探索、有効性検証

B.研究方法

神戸大学にて実施する分担研究内容に関しては、国立がん研究センターの本田一文先生と神戸大学の研究分担者とが密接な連携をとり、随時、国立がん研究センターや神戸大学にて打ち合わせを実施し、進めている。

- ①健診ネットワーク構築

はじめに、本プロジェクトに参画できる外部病院や検診センターをリクルートした。次に、本プロジェクトに参画する可能性のある各施設を集めて、神戸健診コンソーシアム(2015年1月20日開催)を実施した。また、健診ネットワークにおける検診検体収集を含めたヒト臨床試験に関して、神戸大学医学倫理委員会に申請した。

②各種バイオマーカー候補探索、有効性検証

本プロジェクトにおいて、確定診断された患者検体を用いた各種バイオマーカー候補探索、有効性検証研究を実施するため、神戸大学医学部附属病院で確定診断済みの膵疾患患者由来の臨床検体収集を含めたヒト臨床試験について、神戸大学医学倫理委員会に申請し、承認を得た。さらに、バイオマーカー候補探索・有効性検証に先立ち、本プロジェクトにおける血漿検体の収集方法を確定し、神戸大学医学部附属病院での臨床検体の収集を開始した。また、血漿検体を用いた代謝物分析(メタボローム解析)の手法構築を行い、検診検体・臨床検体を分析できる体制を整えた。

(倫理面への配慮)

健診ネットワークにおけるヒト臨床試験については、特に膵がんと関連が示唆される測定項目を受診者へ開示することから、受診者に対して心理的負担を与え、また、二次精査を受けると判断する場合には、さらに身体的負担、金銭的負担も生じ得る。現在、臨床研究に関する倫理指針に基づき

作成した計画を神戸大学医学倫理委員会に申請中であり、医学倫理委員会での承認後、健診ネットワークに参加する検診センター、ならびに、各病院での倫理委員会申請を実施する。神戸大学医学部附属病院で確定診断された患者由来の臨床検体収集を含めたヒト臨床試験に関しては、神戸大学に医学倫理委員会の承認を得て、その承認内容に従い、検体収集を進めている。また、外部病院で確定診断された患者由来の臨床検体収集を含めたヒト臨床試験に関しては、現在、申請準備中である。

C.研究結果

①健診ネットワーク構築

本プロジェクトにおける神戸健診コンソーシアム(2015年1月20日開催)を実施し、合計6施設の外部病院・検診センター担当者に参加していただくとともに、本プロジェクトへの参画に内定を得た。神戸健診コンソーシアムでは、本プロジェクトでの研究内容を説明し、質疑応答などを行うことで、研究開発内容の理解に努めた。また、本健診ネットワークでは、複数施設が参画することから、血漿検体収集方法の統一化が必要であると考え、その収集方法の周知を行うとともに、統一化に必要な準備を実施した。現在、統一化された血漿検体収集方法の遂行が可能な状況にあり、実際に、神戸大学医学部附属病院にて、この方法に従い、膵疾患患者由来の臨床検体収集を行っている。また、収集検診検体の国立がん研究センター・神戸大学への運搬や、収集検診検体の分析体制などを確認する

とともに、臨床情報の管理共有体制をどうするのかなどの課題点も挙げ、健診ネットワーク構築の方向性の決定がなされた。さらに、この内容に基づき、健診ネットワークにおける検診検体収集を含めたヒト臨床試験について、神戸大学医学倫理委員会に申請を行った。現在、健診ネットワークに参画していただける検診センター、ならびに、各病院との個別打ち合わせも、同時に、進めている。

②各種バイオマーカー候補探索、有効性検証

本プロジェクトにおいて、確定診断済みの患者検体を用いた各種バイオマーカー候補探索、有効性検証研究を実施するため、神戸大学医学部附属病院で確定診断された膵疾患患者由来の臨床検体収集を含めたヒト臨床試験に関して、神戸大学医学倫理委員会に申請し、承認を得て、統一化された血漿検体収集方法に基づき、臨床検体の収集を開始した（承認課題名「多層的オミックス解析による膵疾患のバイオマーカー探索」）。また、外部病院でも確定診断済みの膵疾患患者由来臨床検体を収集できるようにするため、現在、倫理委員会への申請準備を進めている。臨床検体・検診検体の代謝物分析（メタボローム解析）を実施できる体制を整えるため、まず、標準血漿を用いて血漿検体代謝物分析系を構築し、血漿中で検出される代謝物リストを作成した。また、これまでの研究で発見された代謝物バイオマーカーを検証するために、ターゲットとなる代謝物の定量分析メソッドの確立を進めている。

D.考察

平成26年度には、本プロジェクトにおける健診ネットワークの基礎を構築でき、平成27年度における検診検体収集に向けての目途をたてることができた。現在、健診ネットワークに関するヒト臨床試験の内容で、倫理委員会へ申請中である。本プロジェクトでは、健診検体を用いて先行研究で開発された血液バイオマーカー検査を行い、その結果を、検診受診者へ返却できる体制を構築していく計画となっている。最終的には、検診受診者の自己判断となるが、血液バイオマーカー検査の結果に基づき、検診受診者が病院を受診し、膵疾患が発見されれば、実用化へ向けての大きな一歩となる。さらに、本プロジェクトの研究開発成果の対外診断医薬品への承認申請も見込み、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）での勤務経験がある研究分担者の助言をもらいながら、本研究を進めており、研究成果の実用化へ向けた適切な体制が整えられている。ただ、健診ネットワークを進めるにあたり、いくつか解決すべき問題が存在する。例えば、健診ネットワークにて取得する健診情報、臨床情報の整理・管理を、どのようにして、効率的に、かつ、正確に行っているのかという点が問題であり、この点は、神戸健診コンソーシアムでも課題に挙げられた。この点は、倫理委員会での承認後検診検体収集が開始するまでに解決すべき点であると考えられる。

E.結論

平成26年度の本分担研究の実施により、本プロジェクトにおける健診ネットワークの基礎を構築することができ、平成27年度からの健診ネットワークにおける検診検体収集可能な体制を確立できた。また、確定診断済みの患者検体の収集も着実に進んでおり、代謝物分析（メタボローム解析）によるバイオマーカー候補探索、ならびに、その有効性の検証、また、これまでの研究で発見された代謝物バイオマーカーの検証を実施可能な体制を構築できた。

（健康危険情報）

該当なし

F.研究発表

1. 論文発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

1. Fujiwara Y, Kobayashi T, Chayahara N, Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Mukohara T, Nishiumi S, Azuma T, Yoshida M, Minami H. Metabolomics evaluation of serum markers for cachexia and their intra-day variation in patients with advanced pancreatic cancer. PLoS ONE. 2014 Nov 20;9(11):e113259.

研究成果の刊行物一覧