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

２、委託業務成果分担報告（業務項目） 12

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」 12

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」 19

東　健　他

３、研究成果の刊行物 ....

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」の導入がブレー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-AII 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】

<u>研究代表</u>

本田　一文　国立がん研究センター研究所ユニット長

<u>分担研究者</u>

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　東レ株式会社・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　東レ株式会社・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】

<u>バイオマーカーシーズ</u>

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-AII isoform

先行研究にて血漿中に循環する apolipoprotein-AII 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-AII ATQ/AT; apoAII-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。ApoAII-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)。

<u>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</u>

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)。

<u>体外診断医薬品の承認のための臨床性能試験</u>

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、少なくても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ホームでの検証研究が可能になった。

ApoAⅡ-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）。

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

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 apoAⅡ-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、現在準備を進めており、来年度の早期に行う予定である。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のよる精査を行い、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．ApoAⅡ-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、apoAⅡ-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, 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: Isayama H, Hamada T, Yasuda I, Itoi T, ***Ryozawa 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, HashimotoT, OkusakaT, ***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.

4: 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.

5: Yamaguchi T, Machida N, ***Morizane C***, Kasuga A, Takahashi H, Sudo K, Nishina T, TobimatsuK, 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.

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 ductepithelial 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, SumiS, 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, KanaiY, ***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

【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 7th 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 6th 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 6th 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 7th 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201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, Giman Jung, Tesshi Yamada. 「Possible Detection of Early-Stage Pancreatic Cancer by Measuring Plasma Apolipoprotein-AII 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

【知的財産】

2014 年度　特許出願　2 件

公開前のため記載せず。

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」

ApoAⅡ-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　東レ株式会社・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　東レ株式会社・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）apoAⅡ-isoforms （apolipoprotein-AⅡ）Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA)キットの開発と臨床性能試験の準備
ApoAⅡ-isoforms を定量する ELISA キットを開発し、実験プロトコールを標準化した。
ApoAⅡ-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 aria 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 apoAⅡ-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、apoAⅡ-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）apoAII-isoforms ELISA キットの開発と臨床性能試験の準備

ApoAII-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、apoAII-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-ＩＩ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、apoAII-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）ApoAII-isoforms ELISA キットの開発

3 種類の抗体を利用して血液中の apoAII-isoforms の濃度を計測する apoAII-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 mutinous neoplsma; 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、①apoAII 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（apoAII-AT/AT）の極端な減少、または②apoAII 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 (ApoAII-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、③apoAII２２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 apoAII-isoforms (apoAII-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、apoAII-ATQ/ATQ, -ATQ/AT, apoAII-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ールを確定した。

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 apoAII-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 apoAⅡ-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、少なくても 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 apoAⅡ-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、apoAⅡ-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 apoAⅡ-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 apoAⅡ-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】

ApoAⅡ-isoforms ELISA キットの仕様はほぼ完成し、実験プロトコールを確定した。先行研究にて質量分析装置で測定した apoAⅡ-isoforms と、ＥＬＩＳＡキットで測定した apoAⅡ-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、来年度の早期に行う予定で、来年度中に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った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. ApoAⅡ-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 の検体を入手し、apoAⅡ-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 ***<u>Honda K</u>***. 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, ***<u>Honda K</u>***. 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, Mats unobu T, Tsuda H, ***<u>Honda K,</u>*** Yamada T, Ta mai S, Shiotani A. Histological growth pattern of and alpha-actinin-4 expression in thyroid ca ncer. ***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, ***<u>Honda K</u>***, 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, ***<u>Honda K</u>***, 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, ***<u>Hiraoka N</u>***, Goto N, Rin Y, Mi ura K, Narumi K, Uchida H, Tagawa M, Aoki K. A targeting ligand enhances infectivity and cytotoxicity of an oncolytic adenovirus in huma n pancreatic cancer tissues. ***J Control Releas e.*** 2014 Oct 28;192:284-93.

7: Furukawa D, Chijiwa T, Matsuyama M, Muk ai M, Matsuo EI, Nishimura O, Kawai K, Sue mizu H, ***<u>Hiraoka N</u>***, Nakagohri T, Yasuda S, N akamura M. Zinc finger protein 185 is a liver metastasis-associated factor in colon cancer p atients. ***Mol Clin Oncol.*** 2014 Sep;2(5):709-713.

8: Kishi Y, Shimada K, Nara S, Esaki M, ***<u>Hira oka N</u>***, Kosuge T. Basing treatment strategy for non-functional pancreatic neuroendocrine tu mors on tumor size. ***Ann Surg Oncol.*** 2014 Sep;21(9):2882-8.

9: Qiu Y, Shimada K, ***<u>Hiraoka N</u>***, Maeshiro K, Ching WK, Aoki-Kinoshita KF, Furuta K. Kno wledge discovery for pancreatic cancer using i nductive logic programming. ***IET Syst Biol.*** 20 14 Aug;8(4):162-8.

10: Inagawa Y, Yamada K, Yugawa T, Ohno S, ***<u>Hiraoka N</u>***, Esaki M, Shibata T, Aoki K, Sa ya H, Kiyono T. A human cancer xenograft model utilizing normal pancreatic ductepithelial cells conditionally transformed with defined o ncogenes. ***Carcinogenesis.*** 2014 Aug;35(8):18 40-6.

11: Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, ***<u>Hiraoka N,</u>*** Ichimura T, Sudo T, Ishiko O, Yaegashi N, A buratani H,Konishi I. Potential diagnostic bio markers: differential expression of LMP2/β1i and cyclin B1 in human uterine leiomyosar

coma. ***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 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, SumiS, 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, KanaiY, ***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, HashimotoT, OkusakaT, ***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, TobimatsuK, 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, Itoi 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: ***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 201 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, Giman Jung, Tesshi Yamada. 「Possible Detection of Early-Stage Pancreatic Cancer by Measuring Plasma Apolipoprotein-AII 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。

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）

委託業務成果報告（業務項目）

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検査体制を構築し、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検査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、特に膵がんとの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診検体取集が開始するまでに解決すべき点であると考える。

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）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

【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, KamitaM, 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, ***Ryozawa 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, HashimotoT, OkusakaT, ***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.

4: 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.

5: Yamaguchi T, Machida N, ***Morizane C***, Kasuga A, Takahashi H, Sudo K, Nishina T, TobimatsuK, 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.

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.***