

別紙 1

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
(委託業務題目) 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

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 小嶋 基寛

平成27(2015)年 3月

目 次

導入	I . 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 小嶋基寛	1
	II . 委託業務成果報告（業務項目）	
	1 . 膵癌、胆道癌マイクロRNA検出用チップの開発 須藤裕子	30
	2 . 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検査に関する、 臨床検討項目の抽出および解析可能な検体の蓄積 光永修一	60
	3 . 臨床検討項目の抽出。症例蓄積 高橋進一郎	80
	4 . 膵癌、胆道癌患者検出マーカーと画像所見の解析 小林達伺	100
	(資料)資料名	
	5 . 膵癌、胆道癌患者同定法の製品化、臨床導入 佐藤暁洋	120
	III . 学会等発表実績	140
	IV . 研究成果の刊行物・別刷	150

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。

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 検査に関する、臨床検討項目の抽出および解析可能な検体の蓄積

担当責任者 光永 修一 国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科

研究要旨 膵・胆道癌化学療法の治療効果モニタリング CA19-9 が測定されるが、補助的な位置づけであり、CA19-9 を越える治療効果モニタリングの確立に対する臨床的ニーズは高い。CA19-9 よりも癌検出力に優れた血清マイクロ RNA 検査は、治療効果モニタリングとしても CA19-9 を上回ることが期待される。膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 モニタリングよりも上回ることを示すことを本委託研究では目的としており、進行膵癌 195 例、進行胆道癌 50 例の解析可能な凍結血清と臨床情報を集積した。また、進行膵癌に対して新規化学療法であるゲムシタピン+アルブミン結合パクリタキセル併用療法や FOLFIRINOX 療法が開発され臨床導入されていることから、従来標準療法であるゲムシタピン単剤療法に加えて、これら新規のレジメンの治療有効性を予測しうる血清マイクロ RNA 検査系の構築も目的としており、今後 1 年間の症例集積で検討が可能になることがわかった。

A. 研究目的

膵・胆道癌は予後不良な悪性疾患であり、がん研究センター東病院での疾患ステージ全体の 5 年生存率は、膵癌で 4.6%、胆道癌は 17% である。切除不能膵・胆道癌には全身化学療法が行われるが、がん研究センター東病院での疾患ステージ全体の生存期間中央値は、膵癌で 6.9 ヶ月、胆道癌で 7.0 ヶ月であり、十分な成績とは言えない。

近年、有効な全身化学療法が開発され、膵癌ではフルオロウラシル・オキサリプラチン・イリノテカンの 3 剤併用レジメンである FOLFIRINOX やゲムシタピン (gemcitabine:Gem) とアルブミン結合パクリタキセル (nab-paclitaxel) の併用レジメン (GemNab)、胆道癌ではゲムシタピンとシスプラチン (cisplatin) の併用レジメン (GemCis) が標準的治療として加わった。このような化学療法を適切に行うためには、治療効果のモニタリングが必要である。化学療法における治療効果モニタリングは、造影 CT 検査などの画像検査と腫瘍マーカー血中濃度の測定を組み合

わせて行う。腫瘍マーカー血中濃度測定は、造影 CT 検査と比較して低侵襲で簡便であるため頻用されるモニタリングである。膵・胆道癌化学療法の血中濃度モニタリングでは CA19-9 が測定されるが、補助的な指標として位置づけられている。その理由として、化学療法を施行される膵・胆道癌患者は悪性胆道閉塞を高率に合併するが、胆道障害の程度が CA19-9 血中濃度に影響し、CA19-9 血中濃度の増減が治療効果を直接的に反映しない場合があることが挙げられる。血中濃度測定において、CA19-9 を越える治療効果モニタリングが確立された場合、より適切な化学療法のマネジメントが可能となるため、標準的な治療効果モニタリング法として確立される可能性が高い。

本研究班は、製品化された膵・胆道癌血清マイクロ RNA 検査が病勢評価に応用可能であるか検討することを目的の一つとしている。治療効果モニタリングは、病勢評価の具体的な使用方法である。特許が取得された血清マイクロ RNA 検査は、CA19-9 を越える膵・胆道癌の検出力が示してい

るため、治療効果モニタリングとして CA19-9 を上回ることが期待できる。本委託研究では、治療効果モニタリングとして、CA19-9 に対する血清マイクロ RNA 検査の優越性を示すことを目標とする。具体的には、「化学療法開始前後の測定値の変動を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 よりも上回ることを示す」ことを目指す必要がある。その為研究 1 年目として、「**膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 モニタリングよりも上回ることを示す**」研究の実現可能性について検討する。

また、本研究班は、膵癌治療効果予測法の構築を目的としている。治療効果の予測が必要とされるには、複数の治療法の中から最も有効性の高い治療を選択したい状況が必要である。進行膵癌で新たに標準的治療として加えられた FOLFIRINOX および GemNab は、従来の標準的化学療法である Gem より高い有効性を示すものの、致命的有害事象である発熱性好中球減少の発生頻度が高率である。従って、進行膵癌患者に化学療法を導入する場合、FOLFIRINOX および GemNab の有効性を予測することは、臨床的ニーズが高いと考えられる。本委託研究では、FOLFIRINOX や GemNab の治療効果予測を可能にする血清マイクロ RNA 検査の構築を目指す。具体的には、「膵癌化学療法前の血清マイクロ RNA を複数測定し、Gem、GemNab、FOLFIRINOX の有効性をそれぞれ予測しうる検査系の構築」を目指す。上記を踏まえ、研究 1 年目として、「**膵癌に対する Gem、GemNab、FOLFIRINOX 開始前の血清マイクロ RNA を測定し、各レジメンの有効性を予測しうる血清マイクロ RNA 検査系の構築**」の実現可能性を検討した。

B. 研究方法

「膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 モニタリングよりも上回ることを示す」研究の実現可能性に関する検討

国立がん研究センター東病院において進行膵・胆道癌と確定診断され、化学療法が行われた患者のうち、化学療法開始前後の血清が凍結保存され、化学療法の有効性に関する臨床情報が前向きに収集され、文書にて本研究への組み入れに同意をいただいた被験者数の調査を行う。

「膵癌に対する Gem、GemNab、FOLFIRINOX 開始前の血清マイクロ RNA を測定し、各レジメンの有効性を予測しうる血清マイクロ RNA 検査系の構築」の実現可能性に関する検討

国立がん研究センター東病院において進行膵癌と確定診断され、化学療法が行われた患者のうち、化学療法開始前後の血清の凍結保存あるいはその予定があり、化学療法の有効性に関する臨床情報の前向き収集あるいはその予定があり、文書にて本研究への組み入れに同意をいただいた被験者数の調査を行う。

(倫理面への配慮)

研究 〃 は、国立がん研究センターの臨床研究倫理規定に従った研究である。

C. 研究結果

「膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 モニタリングよりも上回ることを示す」研究の実現可能性に関する検討

- 1 保存血清数

国立がん研究センター東病院で進行膵癌と確定診断され文書にて本研究への組み入れを可能にする同意をいただいている被験者のうち、初回治療前後の凍結血清が保存されている被験者を調査した。初回治療前に保存血清が保存されている被験者は、進行膵癌 195 例(表 1) 進行胆道癌 50 例(表 2)であった。

- 2 保存血清のある被験者の初回化学療法

のレジメン

使用可能な保存血清が凍結保存されている被験者の初回化学療法レジメンを調査した。進行膵癌で最も実施されたレジメンはGEM(93名、47.7%)であり(表3)、進行胆道癌ではGEM+CDDP療法(40名、81.6%)であった(表4)。

レジメン別に患者背景を比較すると、進行膵癌でGEM群のPS0は49.5%であるのに対して、FOLFIRINOX群はPS0 61.5%と、レジメン別で患者背景が大きく異なっていることが示唆された(表5)。胆道癌では大半の被験者がGEM+CDDP療法を受けており、GEM+CDDP群のPS0は61.5%であった(表6)。

「膵癌に対する Gem、GemNab、FOLFIRINOX 開始前の血清マイクロ RNA を測定し、各レジメンの有効性を予測する血清マイクロ RNA 検査系の構築」の実現可能性に関する検討

表5より、GEM 93名、FOLFIRINOX 17名、GEMnab 2名の凍結血清が解析可能であることがわかった。国立がん研究センター東病院では、進行膵癌に対する初発治療として化学療法を実施される患者数を調査したところ、2010年：88名、2011年：115名、2012年：81名であり、年間90名程度であった。従って、1年程度の登録期間があれば、40~50例程度のFOLFIRINOXもしくはGEMnabを受けた患者の凍結血清と臨床情報の収集が可能と考えられる。これまでに収集した検体・情報と、今後1年間で収集する検体・情報があれば、GEM・GEMnab・FOLFIRINOXの各レジメンの有効性を予測する血清マイクロRNA検査系の構築に関する検討は可能と考えられる。

D. 考察

「膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロ RNA 検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9 モニタリングよりも上回ることを示す」研究の実現可能性に関する検討

患者背景はレジメン毎にばらつきがあるため、

レジメンをまたいだ検討は患者背景のばらつきに影響を受ける可能性がある。したがって、治療効果モニタリングの検討はレジメン毎に行うことが望ましく、また症例数の多いレジメンを選択するとすれば、膵癌ではGEM群、胆道癌ではGEM+CDDP群が良いと考えられた。

「膵癌に対する Gem、GemNab、FOLFIRINOX 開始前の血清マイクロ RNA を測定し、各レジメンの有効性を予測する血清マイクロ RNA 検査系の構築」の実現可能性に関する検討

今後1年間の症例の蓄積があれば、GEM・GEMnab・FOLFIRINOXの各レジメンの有効性を予測する血清マイクロRNA検査系の構築に関する検討は可能と考えられる。しかし、表5のレジメン別の患者背景のばらつきをみると、GEM群、GEMnab群、FOLFIRINOX群の患者背景を揃える必要があり、適切な解析対象規準などを設ける必要があると考えられた。

E. 結論

膵・胆道癌に対する化学療法開始前後の血清を用いて、血清マイクロRNA検査による抗がん剤有効性の予測能が、CA19-9モニタリングよりも上回ることを示す検討、膵癌に対するGem、GemNab、FOLFIRINOX開始前の血清マイクロRNAを測定し、各レジメンの有効性を予測する血清マイクロRNA検査系の構築の検討は、実施可能な研究である。必要とされる症例集積や実際の検討方法について、研究班でコンセンサスを得た後に進める必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Prognostic impact of M2 macrophages at neural invasion in patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas. Sugimoto M, Mitsunaga S, Yoshikawa K, Kato Y, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Ikeda M, Kojima M, Ochiai A, Kaneko H. Eur J Cancer. 2014 Jul;50(11):1900-8.

2. 学会発表
1. Severe neural invasion related to cachexia in advanced pancreatic cancer. A kira Imoto, Shuichi Mitsunaga, Masafumi Ikeda Digestive Disease Week 2014 Chicago 4-6 May,2014
 2. Loss of STAT3 tyrosine phosphorylation in tumor relates poor prognosis in patients with advanced pancreatic cancer. (English Oral Sessions) 光永修一、池田公史、大野泉、清水怜、高橋秀明、奥山浩之、桑原明子、落合淳志. 第12回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014/07/17-19
 3. 予後不良な膵癌患者の腫瘍細胞で高発現するサイトケラチン6は、IL-6/STAT3経路の制御を受けている (口演) 光永修一、落合淳志. 第73回日本癌学会学術集会 2014/9/26
 4. S100P tumor-marker response to chemotherapy in patients with advanced pancreatic cancer. (general poster session) Shuichi Mitsunaga, Kumiko Umemoto, Kazuo Watanabe, Hiroyuki Okuyama, Yusuke Hashimoto, Hideaki Takahashi, Izumi Ohno, Satoshi Shimizu, Atsushi Ochiai, Masafumi Ikeda. ASCO-GI2015 Gastrointestinal Cancers Symposium San Francisco January 15-17 2015
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
 - 【国内】
 - 1. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：特願2010-515932
 - 2. 名称：膵がん治療剤 出願番号：特願2012-517325
 - 【国外】
 - 1. 6162
 - 2. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：TW09811
 2. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：IN8616/D ELNP/2010
 3. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：CA2728243
 4. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：SI201008952-2
 5. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：CN200980131148.6
 6. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：EP09758415.5
 7. 名称：膵がん治療剤 出願番号：US13/700594
 8. 名称：膵がん治療剤 出願番号：EP1178674
 9. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：US12/996162
 10. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：TW098118678
 11. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：IN8616/D ELNP/2010
 12. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：CA2728243
 13. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：SI201008952-2
 14. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：CN200980131148.6
 15. 名称：神経浸潤抑制剤 出願番号：EP09758415.5
 16. 名称：膵がん治療剤 出願番号：US13/700594
 17. 名称：膵がん治療剤 出願番号：EP11786743
2. 実用新案登録なし
 3. その他なし

資料1

表1 . 保存血清のある進行膵癌患者数

血清採取時期	N	%
初回治療前	195	100
1 か月後	175	89.7
3 か月後	125	64.1

表2 . 保存血清のある進行胆道癌

血清採取時期	N	%
初回治療前	50	100
1 か月後	37	74.0
3 か月後	27	54.0

表 3. 保存血清のある進行膵癌患者の初回化学療法のリジメン

レジメン	N	%
GEM	93	47.7
GEM+Erlotinib	33	16.9
GEM+S-1	13	6.7
GEM+Nab-paclitaxel	2	1.0
GEM+AMG	6	3.1
GEM+OTS	6	3.1
GEM+AG490	4	2.1
GEM+TH302	2	1.0
FOLFIRINOX	17	8.7
S-1	18	9.2
S-1+LV	1	0.5

**表 4. 保存血清のある進行胆道癌患者の初回化学療法
のレジメン**

レジメン	N	%
GEM+CDDP	40	81.6
GEM+S-1	4	8.0
GEM	2	4.0
S-1	2	4.0
GEM+CDDP+AZD6244	1	2.0
GEM+CDDP +WT-1	1	2.0

表 5. 保存血清のある進行膵癌患者の初回化学療法レジメン別の患者背景

レジメン	年齢	男性	PS0
	中央値	%	%
GEM	67.0	50.5	49.5
GEM+Erlotinib	69.0	57.6	51.5
GEM+S-1	71.0	69.2	84.6
GEM+Nab-paclitaxel	63.0	50.0	100.0
GEM+AMG	65.0	66.7	83.3
GEM+OTS	63.5	50.0	100.0
GEM+AG490	59.6	75.0	100.0
GEM+TH302	74.0	100.0	100.0
FOLFIRINOX	63.0	68.5	61.5
S-1	62.5	66.7	88.9
S-1+LV	73.0	100.0	100.0

**表 6. 保存血清のある進行胆道癌患者の初回化学療法
レジメン別の患者背景**

レジメン	年齢	男性	PS0
	中央値	%	%
GEM+CDDP	67.5	52.5	61.5
GEM+S-1	74.0	50.0	75.0
GEM	75.0	0.0	50.0
S-1	64.5	50.0	100.0
GEM+CDDP+AZD6244	65.0	100.0	100.0
GEM+CDDP +WT-1	74.0	100.0	100.0

厚生労働科学研究費委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

研究分担者 報告書

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

担当責任者 高橋進一郎 国立がん研究センター東病院 肝胆膵外科 病棟医長

研究要旨：現在、我々が開発、製品化した膵癌胆道癌検出マーカーを膵癌胆道癌術後の早期再発診断に応用可能かを検証するために臨床試験を計画中である。新規マーカーにより早期再発例の予測が可能となれば膵癌・胆道癌患者の治療に当たりより適切な選択が可能となる。本年度において我々は膵癌、胆道癌マーカー（miRpanel®膵臓・胆道miRNA検査キット）を用いて、外科的に切除された膵癌、胆道癌患者の存在診断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するための症例及び臨床情報の収集を行った。

A．研究目的

本年度の研究班全体の研究目的は製品化された、膵癌、胆道癌マーカーを用いて、外科的に切除された膵癌、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することである。その中で我々は術前血清がTissue Bankに保存されている症例における膵腫瘍、胆道腫瘍の臨床病理所見を収集し、本年度の研究における最も重要な基礎情報を提供し、来年度以降の前向き研究を行う際に必要な基礎情報を収集した。

B．研究方法

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外科切除が施行され、術前血清がTissue Bankに保存されている症例を検索し臨床病理所見を収集し、膵癌、胆道癌、膵管内乳頭状腫瘍において比較検討した。

（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す

る。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、本研究は検査試料、生検組織、摘出標本などの保管試料とそれに関わる診療情報などの医学研究への利用について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

Tissue Bankに術前血清が保存されている通常型膵癌は 73症例であり、そのうち 28症例は術前に放射線化学療法が施行されていた。再発と予後の検討は無治療症例 45症例において検討することとした。膵管内乳頭状腫瘍は 31例、胆道癌 50例の術前血清が保存されていた。その他、特殊型膵癌として、膵内分泌腫瘍 8症例、Solid and pseudopapillary neoplasm 10症例の血清が確認された。通常型膵癌、胆道癌のみならず、膵管内乳頭状腫瘍や特殊型膵癌の検討は、組織鑑別や腫瘍の発育過程における膵癌、胆道癌マーカーの変化を推測するうえでも有用と考えられた。膵癌、

胆道癌、膵管内乳頭状腫瘍のいずれにおいても男性に多かった。通常型膵癌の再発率は 84.4%であり、胆道癌は50.0%、膵管内乳頭状腫瘍は 25.8%であり、通常型膵癌、胆道癌、膵管内乳頭状腫瘍の順に再発率が有意差をもって高いものの、再発までの平均期間に有意差は無かった。膵管内乳頭状腫瘍の再発率は通常型膵癌、胆道癌より低かったが、再発までの期間には 3群間で有意差が無かった(資料1、図1)。いずれの疾患においても、術後化学療法を施行している症例が含まれており、それを加味した検討が必要と考えられた。年間切除数全体は膵癌50例、胆道癌50例であり、来年度以降の前向き研究は、研究期間内における症例蓄積が可能である一方、再発予測を行うためには再発症例を十分に蓄積する必要性があり、特に再発率が低い胆道癌においては十分な症例数が必要であると思われた。

D . 考察

膵癌、胆道癌は外科切除が唯一の根治治療であるが早期再発例が少なからず認められ予後は不良である。従って早期再発例が術前に予測できれば強力な術前治療を行ったり、不必要な手術を避けたりすることが可能となる。しかし現在のところ既存の腫瘍マーカーによる再発予測は不可能である。今回製品化された膵癌胆道癌患者検出マーカーは、膵癌胆道癌の微小転移を検出できる可能性があり、本年度は術前血清がTissue Bankに保存されている症例を後ろ向きに検討するため、症例の検索と臨床病理学的検討を行った。今回の検討は、来年度以降に実施する前向き研究における、重要な基礎情報となる。近年膵癌、胆道癌における術後化学療法が一般的となっており、今回の研究においても相当数において施行されていた。前向き研究を行う際には今回の結果より再発

率が低く、再発までの期間が長くなる可能性がある。本研究においては再発症例を十分に検討する必要があるため、とくに再発率が低く、再発までの期間が長い胆道癌においては十分な症例数と観察期間が必要と考えられた。上記を考慮しつつ膵癌胆道癌切除例を対象とした臨床研究を来年度中に開始し検証する予定である。

E . 結論

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外科切除が施行され、術前血清がTissue Bankに保存されている症例の臨床病理所見を収集し解析することで、本年度の研究に必要な基礎情報を提供し、来年度以降の前向き研究を行う際に必要な基礎情報を収集した。本年度の研究結果を基にして、膵癌、胆道癌マーカーによる術後早期再発診断の可能性を検証するため臨床試験を計画する予定である。

F . 健康危険情報

(委託業務成果報告(業務項目)には記入せずに、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) 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):1204-1211.
 - 2) 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, 50(11):1900-8.
 - 3) Oba A, Takahashi S, Kato Y, Gotohda N, Kinoshita T, Shibasaki H, Ikeda M, Konishi M. Usefulness of resection for hepa

tocellular carcinoma with macroscopic bile duct tumor thrombus. *Anticancer Res*, 2014, 34(8):4367-72.

- 4) Monden K, Takahashi S, Kato Y, Gotohda N, Kinoshita T, Shibasaki H, Konishi M. Immunonutrition before Extended Hepatectomy with Biliary Reconstruction for Hepatobiliary Malignancy. *Hepatogastroenterology*. [in press]
- 5) Sugimoto M, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Kojima M, Ochiai A, Kobayashi T, Satake M. Pancreatic perfusion data and post-pancreaticoduodenectomy outcome. *J Surg Res*, 2014, doi: 10.1016/j.jss.2014.11.046. [Epub ahead of print]
- 6) Kato Y, Takahashi S, Gotohda N, Konishi M. Risk Factors for Malignancy in Branched-Type Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas During the Follow-Up Period. *World J Surg*, 2015, 39(1):244-50.
- 7) 佐原八束, 加藤祐一郎, 本多正幸, 後藤田直人, 高橋進一郎, 小西 大. 下部胆管印環細胞の1例. *日本臨床外科学会雑誌*, 2014, 75(6):1664-1669.
- 8) 高橋進一郎, 小西 大, 池田公史, 小林達伺, 秋元哲夫, 小嶋基寛. 膵癌・門脈合併切除例の短期及び長期成績～分枝温存及び門脈切除距離の意義. *膵癌治療up-to-date 2015*, 2014, 279-284.
2. 学会発表
- 1) 高橋進一郎, 小西 大, 後藤田直人, 加藤祐一郎. 下部胆管印環細胞の1例. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 2) 本多正幸, 高橋進一郎, 加藤祐一郎, 後藤田直人, 小西 大. 膵頭十二指腸切除術におけるドレーン削減の試み. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 3) 加藤祐一郎, 高橋進一郎, 後藤田直人, 小西 大. 壁在結節を有するIPMNに関する検討-壁在結節径、造影効果による悪性度評価-. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 4) 廣方玄太郎, 高橋進一郎, 加藤祐一郎, 後藤田直人, 小西 大. 残膵再発切除症例に対する検討. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 5) 高橋大五郎, 後藤田直人, 加藤祐一郎, 高橋進一郎, 小西 大. 第5因子欠乏症合併膵頭部癌に対し亜全胃温存膵頭十二指腸切除術を施行した1例. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 6) 里井壯平, 高橋進一郎, 他. 切除不能膵癌における集学的治療の一環としての外科切除の臨床的意義. 第26回日本肝胆膵外科学会学術集会 2014年6月11-13日, 和歌山
- 7) 加藤祐一郎, 高橋進一郎, 後藤田直人, 小西 大. 分枝膵管型IPMNの経過観察中に悪性を予想させる形態変化は何か?. 第52回日本癌治療学会学術集会 2014年8月28-30日, 横浜
- 8) 高橋進一郎, 小西 大, 後藤田直人, 加藤祐一郎. 化学放射線療法後のBorderline resectable膵癌に対するSMA周囲廓清. 第76回日本臨床外科学会総会 2014年11月20-22日, 郡山
- 9) 加藤祐一郎, 後藤田直人, 高橋進一郎, 小西 大. 当院における十二指腸癌の外科治療成績. 第76回日本臨床外科学会総会 2014年11月20-22日, 郡山
- 10) 西田保則, 高橋進一郎, 後藤田直人, 加藤祐一郎, 小西 大, 小嶋基寛. 膵Lymphoepithelial Cystの1例. 第61回日本消化器画像診断研究会 2014年9月5-6日, 奈良
- 11) 加藤祐一郎, 後藤田直人, 高橋進一郎, 北口和彦, 中山雄介, 西田保則, 岡田 嶺, 高橋大五郎, 大久保悟志, 小西 大. 腹腔鏡下膵体尾部切除におけるI・V字型ペンローズを用いた術野展開の工夫. 第6回膵臓内視鏡外科研究会 2014年10月1日, 盛岡
- 12) 西田保則, 高橋進一郎, 加藤祐一郎, 後藤田直人, 小西 大. 当科におけるBorderline resectable膵癌に対する術前S-1併用放射線療法の検討. 第9回膵癌術前治療研究会 2014年10月18日, 鹿児島
- 13) 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。)
特になし

資料1

図 1 : 通常型膵癌、胆道癌、膵管内乳頭状主要の臨床病理学的所見

	通常型膵癌	胆道癌	膵管内乳頭状腫瘍
男性	31	34	8
女性	14	16	23
平均年齢	66.4 ± 10.0	68.1 ± 8.4	69.9 ± 7.5
再発	38 (84.4%)	25 (50.0%)	8 (25.8%)
再発までの平均日数 (day)	340.1	389.6	296.3
死亡	33 (73.3%)	17 (34.0%)	1
平均観察 (day)	882.9	977.5	1084.1
術後化学療法の施行	29 (57.1%)	15 (30.0%)	2 (6.5%)

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）

膵癌、胆道癌患者同定法と画像所見の解析に関する研究

担当責任者 小林 達伺 国立がん研究センター東病院 医長

研究要旨

肝胆膵領域の画像診断には一般的にはCTが用いられる。その最新機器であるDual-Energy CTと320列ADCTを用いて肝胆膵領域での新たな画像診断方法を確立するための基礎研究を行い、将来的により鋭敏で適切な早期診断、再発診断を試みた。

A. 研究目的

血清による再発予測やモニタリングを適切に行うには、再発結果を照らし合わせることができる画像検査が必要不可欠である。今回我々は新しいCT；320列ADCT(Area detector row CT)と、Dual Energy CT(DECT)を用いて新しい診断法の開発を行った。

ADCTは160mm幅を1回転最速0.35秒で撮影でき、冠動脈、脳血管領域で解剖学的のみならず、機能的評価も可能な新しい診断として用いられている。

DECTは、二つの管球を用いて高エネルギーと低エネルギーの同時スキャンにより時間的・空間的に等価な2種類の異なる画像データを取得でき、造影剤成分の選択的抽出などが可能となる。本研究では喉頭癌と下咽頭癌の軟骨浸潤診断評価にDECTを臨床応用し、有用性を検討するとともに、320列ADCTを用いたDECTによる膵・胆道癌への臨床応用の可能性について検討した。

B. 研究方法

DECTでは、対象は128列2管球CT装置にてDEモード(100/140kV)で撮影された治療前の喉頭癌および下咽頭癌72例。手術が施行された30例の病理診断をreference standardとした。3名の放射線診断医により、120kVに相当するweighted-average (WA) images 単独とWA imagesとiodine overlay (IO) imagesとの組み合わせ(WA plus IO images)を用いてランダム順に読影し、軟骨浸潤の有無を5段階スケールにて判定した。感度、特異度、正診率をMcNemarテスト、診断一致率を κ 係数にて統計学的に比較検討した。

320列ADCT+DECTについての研究は、肝胆膵領域の担癌患者に対し、通常の単純CTを撮影

する際にDECTでの撮影を行い、新たな診断方法としての可能性を探る。画像再構成方法が試作段階であり、画像再構成方法の決定と症例集積を行っている段階である。画像再構成方法と研究概要が決定次第、臨床症例での検討を開始する。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては説明文書を用いて十分な説明を行い、患者自身による同意を本人より文書で取得した。また、患者のプライバシー保護に最大の努力を払っている。

患者データの利用に関しては直接個人を識別できる情報を用いず、解析を行う時は患者の個人情報保護を遵守した状態で研究を行っている。

C. 研究結果

DECTでは、全ての喉頭軟骨(n=108)に対するWA plus IO imagesの感度、特異度、正診率は、86% (12/14)、96% (90/94)、94% (102/108)であった。WA plus IO imagesは、WA images単独に比べ特異度と正診率が有意に高く(特異度；96% vs. 86%、正診率；94% vs. 86%、 $P < .005$)、特に甲状軟骨(n=30)に対して顕著であった(特異度；96% vs. 70%、正診率；93% vs. 73%、 $P = .03$)。感度には有意差は認められなかった。WA plus IO imagesでは、甲状軟骨と輪状軟骨において診断一致率の改善が認められた(甲状軟骨； κ 0.68-0.72 vs. 0.29-0.56、輪状軟骨；0.64-0.79 vs. 0.20-0.64)。

320列ADCT+DECTについての研究は、画像再構成方法が試作段階であり、画像再構成方法の決定と症例集積を行っている段階である。画像再構成方法と研究概要が決定次第、臨床症例での検討を開始する。

D. 考察

喉頭軟骨浸潤を伴う喉頭癌や下咽頭癌は、一般的に放射線治療の感受性が低く、局所再発や放射線治療後軟骨壊死の危険性が高いことから、原則として喉頭の機能温存を目指した治療法の適応から外れる。機能温存療法が試みられているが、明らかな軟骨浸潤を伴う進行例では依然として喉頭全摘術が行われている。画像診断で軟骨浸潤を過大評価し、不必要な喉頭全摘術が行われないためにも、DECTを用いた喉頭軟骨浸潤の診断能の向上は、臨床的意義が大きい。このような技術を肝胆膵領域に応用し、かつ320列ADCTと組み合わせることにより、鋭敏で適切な早期診断、再発診断が可能となると思われ、新たな画像診断方法を開発する意義は大きいと考える。

E. 結論

DECTは喉頭癌と下咽頭癌の軟骨浸潤診断に有用である可能性が示唆された。320列ADCTとの組み合わせによる肝胆膵領域への応用が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 駒井好信, 酒井康之, 小林達伺, 後藤田直人, 齋藤典男: 1. 新たな3D画像解析システム(Synapse Vincent(R))使用の初期経験 -無阻血腎部分切除への応用-. 泌尿器外科 2014; 27(別冊):19-21
2. 高橋進一郎, 大野泉, 小林達伺, 小西大, 池田公史: Borderline resectable膵癌に対する集学的治療. 癌の臨床 2014; 60(1):81-89

3. Ishihara T, Kobayashi T, Ikeno N, Hayashi T, Sakakibara M, Niki N, Satake M, Moriyama N. Evaluation of a Near-Infrared? Type Contrast Medium Extravasation Detection System Using a Swine Model. Journal of Computer Assisted Tomography, 38(2): 285-292, 2014
4. Komai Y, Sakai Y, Gotohda N, Kobayashi T, Kawakami S, Saito N. A Novel 3-Dimensional Image Analysis System for Case-specific Kidney Anatomy and Surgical Simulation to Facilitate Clampless Partial Nephrectomy. Urology 83(2): 506-507, 2014

2. 学会発表

1. Kobayashi T, Sugimoto M, Takahashi S, Iwata R, Nakagami Y, Kuno H, Shimada K, Sekiya K, Konishi M, Satake M. Pancreatic perfusion measurements using 320-detector row computed tomography: assessment of the post-operative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. 第73回日本医学放射線学会総会 2014/04/10-13, 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

薬事承認及び開発戦略に必要な情報収集

業務主任者又は担当責任者 佐藤 暁洋 国立がん研究センター 研究支援センター

研究要旨 開発した膵癌・胆道癌検出用マーカーを元にした体外診断用医薬品の製造販売承認/認証申請に向けて、開発薬事戦略のアドバイス、必要となる非臨床、臨床データ（臨床性能試験等）に関して助言を行った。助言については医療機器等の審査業務経験者（協力者）も同席の上で専門的見地からの助言を行った。

A. 研究目的

体外診断用医薬品の製造販売承認/認証申請に向けて、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、必要に応じて薬事戦略相談等を活用して規制当局とも打合せを行いながら製品化に向けての薬事面から助言を行う。

B. 研究方法

体外診断用医薬品の製造販売承認に向けて、当該開発を担当する企業と体外診断薬としての開発の要否、必要な非臨床試験の検討、必要に応じて薬事戦略相談等を生実施する。

（倫理面への配慮）

薬機法および関連法規に従って実施する。

C. 研究結果

当該企業との打ち合わせの席に同席し、最初の製品開発に関して、地方厚生局への届けでの必要性及び、体外診断薬として位置づけるべきかどうか、体外診断薬として位置づけた場合の開発薬事戦略および必要となる非臨床・臨床性能試験等についての打ち合わせ・助言を行った。また、打ち

合わせについては、協力者として医療機器・体外診断薬の審査業務経験者も同席して実施している。

E. 結論

今後体外診断薬として開発を実施する場合には、非臨床面・臨床性能試験としての計画立案・助言が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

研究分担者：須藤裕子 東レ株式会社 先端融合研究所

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ている。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の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。

本年度において我々はこの確立したマーカーを217症例の膵臓がん、胆道がん患者血清を用いて検証し、体外診断用医薬品として臨床導入する価値を示すためのエビデンスを得ることができた。

A 研究目的

我々の開発した膵癌・胆道癌検出用マイクロRNAマーカーについて、別コホートの切除可能膵癌、胆道癌患者の術前血清を用いた検証を行うと共に、予後予測においても有用であるかを検討する。

B 研究方法

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た膵癌・胆道癌患者の術前血清（通常型膵癌45例、IPMN31例、胆道癌50例、膵内分泌腫瘍8例、Solid and pseudopapillary tumor 10例、他に同患者からのフォローアップ検体含め全217検体）は、血液採取当日に分離され-80で解析まで保存した。血清300 μ Lから3D-Gene RNA extraction reagent（東レ）を用いてTotal RNAを抽出し、2100 Bioanalyzer（Agilent Technologies）を用いてsmall RNAのクオリティーチェックを行った。これまでの成果を元に研究用試薬として東レ（株）が製品化したmiRpanel®膵臓・胆道miRNA検査キットを用いて、得られた血清RNA中の、膵癌・胆道癌検出用マイクロRNAとして同定済みのマイクロRNAの発現量測定を実施した。これらのマイクロRNAの測定値を元に計算される判別指数である膵癌・胆道癌検出用マイクロRNAマーカーを得て、その膵臓・胆道癌の検出性能を確認するとともに、再発、予後予測への有用性を検討した。

（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

血清から抽出したRNAの品質チェックにおいては、217検体中2検体の血清RNAについて電気泳動のピーク波形に異常が見られ、品質の低下が疑われたが、同一血清からのRNA再抽出を実施したところ、2検体ともDNAチップ実験に十分な品質のRNAを得ることができた。マイクロRNAの発現解析では、膵臓癌・胆道癌検出用マイクロRNAとして同定済みのマイクロRNA 6種の発現量を得た。これらの発現量を元に計算した判別指数（膵癌・胆道癌検出用マイクロRNAマーカー）を用いた膵癌・胆道癌の判別を行った結果、膵癌・胆道癌を高精度で検出することを検証することができた。更に、同じ膵癌患者で初発と再発が揃った4症例のうち、3症例において初発・再発とも陽性と判定することができた。また、IPMCについては、CA19-9の陽性率が56%なのに対し、血清中マイクロRNAによる膵癌・胆道癌検出用マーカーによる判別の陽性率は75%であり、今後臨床情報を解析に組み込むことで更なる精度向上が期待で

きると考える。

D．考察

血清を用いた膵癌・胆道癌検出用マイクロRNAマーカーを体外診断用医薬品として臨床導入するためには、血清から確実にsmall RNAを抽出する必要があるが、今回の検討から抽出の accuracyが示され、血清を用いたマイクロRNA検査の臨床導入が妥当であることが示された。次に、臨床的有用性を示すためには、初発癌のみならず再発癌を検出できることが必須要件となる。今回の解析では、3/4症例の膵癌において初発・再発ともに陽性と判定できたが、1症例は初発で陽性、再発で陰性という判定結果となった。陰性となった再発検体については交絡因子が存在しないか更に臨床情報の詳細な分析を進める。また、来年度以降に再発症例数を増やし、術後のフォロー診断及び予後予測としての有用性を検証していく必要がある。

E．結論

ヒト血清から small RNAは確実に抽出可能であり、開発した血清マイクロRNAマーカーの体外診断医薬品としての臨床導入が可能であることが示された。膵癌の初発症例のみならず再発症例の検出においても有用であることが示唆され、臨床導入への応用が期待される。

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無い。

G．研究発表

無し

H．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

無し

1: Kojima M, Sudo H, Kawauchi J, Takizawa S, Kondou S, Nobumasa H, Ochiai A. MicroRNA Markers for the Diagnosis of Pancreatic and Biliary-Tract Cancers. *PLoS One*. 2015 Feb 23;10(2):e0118220. doi: 10.1371/journal.pone.0118220. eCollection 2015. PubMed PMID: 25706130.

2: 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 Feb;100(2):281-6. doi: 10.9738/INTSURG-D-14-00172.1. PubMed PMID: 25692431.

3: 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 Jan 23. doi: 10.1111/cas.12615. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25613547.

4: 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 Nov 29. pii: S0022-4804(14)01114-7. doi: 10.1016/j.jss.2014.11.046. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25541236.

5: 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 Nov;156(5):1204-11. doi: 10.1016/j.surg.2014.05.015. Epub 2014 Oct 17. PubMed PMID: 25444318.

6: 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 Dec;64(12):591-600. doi: 10.1111/pin.12213. Epub 2014 Oct 30. PubMed PMID: 25354789.

- 7: 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 Oct;21(11):3608-15. doi: 10.1245/s10434-014-3762-y. Epub 2014 Jun 13. PubMed PMID: 24923221.
- 8: 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. doi: 10.1371/journal.pone.0099055. eCollection 2014. PubMed PMID: 24915532; PubMed Central PMCID: PMC4051687.
- 9: 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. doi: 10.1097/DCR.000000000000124. PubMed PMID: 24901683.
- 10: 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. doi: 10.1111/pin.12164. PubMed PMID: 24888774.
- 11: 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. doi: 10.1016/j.ejca.2014.04.010. Epub 2014 May 15. PubMed PMID: 24835032.

18: 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. doi: 10.1007/s00535-013-0822-1. Epub 2013 May 16. PubMed PMID: 23677446.

19: 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.

20: 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.

21: 本多 正幸, 高橋 進一郎, 小林 達伺, 佐原 八束, 加藤 祐一郎, 後藤田 直人, 小嶋 基寛, 小西 大; 肝血管筋脂肪腫との鑑別を要した高度脂肪化を伴う単純結節周囲増殖型肝細胞癌の1例. *日本消化器外科学会雑誌* 2014 47(10):588-95.

22: 海藤 章郎, 高橋 進一郎, 加藤 祐一郎, 小嶋 基寛, 小西 大; 経時的観察にて診断し得た黄色肉芽腫性胆嚢炎が併存した胆嚢充実腺癌の1切除例. *胆道* 2014 28(4):677-683.