

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08670

研究課題名（和文）血液メタボロミクスによる胆嚢癌予後予測因子解析

研究課題名（英文）Prognostic factor analysis of gallbladder cancer by blood metabolomics

研究代表者

中川 圭（Nakagawa, Kei）

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：20542294

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、胆嚢癌の診断と予後を確認する研究とともに、血液メタボロミクス解析を用いることで、治療の効き具合や病気の進行度を知ることができるようになるバイオマーカーを見つけることです。多数の候補の中からいくつかをピックアップし、これから実際に治療する方々で計測しながら本当に有効かを検証していきます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胆嚢癌は消化器癌の中でも手術の前の病理診断が困難で、癌であるのか、進行しているのかの判断が難しいときがある。この研究を行うことにより、胆嚢癌の病理学的・遺伝子学的検索と化学療法の奏功、再発・生存率の検討から、これまでに無い胆嚢癌の効果判定因子、予後予測因子等を探索的に追求でき、その結果として、予後改善に寄与する新たな治療戦略の開発につながる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to find a biomarker that allows you to use blood metabolomics analysis, as well as studying the diagnosis and prognosis of gallbladder cancer. We will pick up some of the many candidates, and verify whether you are really valid while measuring it from now on.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胆嚢癌 バイオマーカー 術前診断

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胆道癌はアジア地域の罹患が多く、本邦での年間罹患数は 26,500 人ほどと報告されている。しかし、未だ手術切除以外の根治的標準治療が確立されていない予後不良な癌種である。なかでも胆嚢癌は進行期では 5 年生存率 6~20%と極めて予後不良である。術前の組織診断が困難であり、治療方針も施設ごとに異なる。胆嚢癌の治療成績向上のため、術前診断から至適な治療方針を導くためには、前向きな症例登録が必須であり、前向き観察研究を施行している。同時に胆嚢癌・胆管癌症例の血液サンプルを集め、血液メタボロミクスにより、化学療法感受性や予後を予測する因子の探索を立案した。

2. 研究の目的

肝内胆管癌・肝門部領域胆管癌・遠位胆管癌・乳頭部癌・胆嚢癌は罹患率が先進国においては低く、いずれも外科切除のみが根治的であるが、進行期においての治療法開発・薬剤開発が進んでいない。これら"胆道癌"は日本人では罹患率が高く、本邦の癌死亡数の 6 位の疾患で年間 18200 人(2013 年)が亡くなっているが、未だに外科切除以外の標準治療が確立されていない。さらに胆道癌においては部位局在による病理学的性質変化が指摘されているが、これらの差異による予後の変化や再発形式の差異・化学療法の奏功には一定の見解が得られていない。本邦での有効な選択肢は gemcitabine(GEM), cisplatin(CDDP), S-1 の 3 剤のみに限られている。

胆嚢癌は、胆嚢結石症などで切除後に偶発的に発見されることもある早期例では 5 年生存率が 90 %程度であるのに対し、進行期では 6~20 %程度と極めて予後不良である。また、一方で術前組織・細胞病理診断が困難であり、胆嚢癌を疑う画像所見診断から手術を企図しても、炎症性病変であることも経験する。こうした傾向から、これまでの胆嚢癌の治療方針・予後検証は切除例の病理結果及び非切除例の死亡例の後ろ向きな検証からでのみ報告されている。一方、胆嚢癌の手術数は他の胆道癌と比較して減少している。全国で年間 300 例のほどの手術数であり、たとえばハイボリュウムセンターであっても胆嚢癌の治療件数が 10 件/年程度と、各施設が各々症例を集積している現状ではエビデンスは得られないことは明らかである。

これまでの集学的治療の経験から、胆道癌の部位別に特異的抗癌剤感受性、特にスーパーレスポンドと呼ばれる症例の頻度が異なると判断しており、何らかの遺伝子的特徴やトランスポーターの関与があると考察している。胆嚢癌の治療成績向上のためには胆道癌の生物学的特徴の把握、適切な治療選択のためのバイオマーカーの開発が急務である。近年のゲノミクス、エピゲノミクス、トランスクリプトーム、プロテオミクス、メタボロミクスといった網羅的解析手法の発達が目覚ましいが、それら複数のオミックス解析の知見を組み合わせることで、網羅的でありながら偽陽性の結果を抑制し、新たな知見の創出が期待される多層的オミックス解析が注目されている。以上のような背景を踏まえ胆嚢癌の治療成績向上に寄与する、化学療法の感受性や予後を見極める血液バイオマーカーを探求することとした。

本研究の目的は、胆嚢癌前向き観察研究の付随研究として、胆嚢癌症例の血液メタボロミクスにより、胆嚢癌の化学療法感受性や予後の予測に關与する新規バイオマーカーを探索す

ることである。

3 . 研究の方法

我々は、胆道癌のハイボリュームセンターとして、年間 40-50 症例の胆道癌に切除を施行している。また、外科でありながら非切除例に対する集学的治療を推し進め、予後向上と非切除から切除へのコンバージョン切除症例の確保に努めてきた結果として、化学療法・放射線体外照射・胆管内放射線腔内照射等の治療経験を多数有し、奏効率・治療効果が高い病勢を知り得ている。

また、我々はこれまでに胆道癌切除例のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織を用いた質量分析の手法を用い、レーザーマイクロダイセクションによる細胞選択的回収後、イオントラップ型 MS によるショットガン解析にて計 1992 種のタンパク質を同定、その中から癌部特異的高発現が示唆される 11 種を同定し報告している(Maeda, S., et al. "Mass spectrometry-based proteomic analysis of formalin-fixed paraffin-embedded extrahepatic cholangiocarcinoma." J Hepatobiliary Pancreat Sci 2015 22(9): 683-691.)。

今回、胆嚢癌切除症例において、血液を材料に抗癌剤感受性や予後との関連を検索する事を発案した。化学療法前後の血液の検索から、新たな胆嚢癌の抗癌剤感受性評価への道標を打ち立てることにより、予後不良な胆嚢癌の治療成績向上を実現することを目標としている。化学療法開始前もしくは手術切除前に同意を取得・登録し、血液サンプルを確保する。

今回主に血液を用いたメタボロミクスを中心に行い、胆嚢癌に対する化学療法の感受性予測因子の探索を行う。血液を用いて、代謝物を網羅的に測定する。ブライ-ダイアー法を用いて、血液をメタノール、水、クロロホルムと混合し、水相画分を抽出することで、水溶性の代謝物質の回収と、脂質やタンパク質の除去を行う。さらに限外ろ過を行い、タンパク質を除去した後に LC/MS で分析する。奏功群と非奏功群の代謝物プロファイルを比較し、変動する候補代謝物を同定する。同定された代謝物のパスウェイ解析などから、より精度の高い候補因子を抽出する。次いで Validation stage として多数症例の血液サンプルを用いて、候補因子の定量を行い、発現の有無と実際の臨床経過(化学療法の奏効率、生存期間)の関連を検討する。

4 . 研究成果

登録症例の最終予後確認を 2021 年 9 月に行う。診断から約 2 年間の短期治療成績と、血液メタボロミクスから現在候補となっている代謝物との予後相関を検討する。

現時点で、予後が確定していないことと、包括的測定をまだ継続して施行しており、代謝産物の最終測定は 2021 年 8 月終了予定。予後との相関に関する統計解析結果は 2022 年 5 月に終了予定である。結果が確定次第、学会および論文として報告を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中川 圭
2. 発表標題 胆嚢癌における術前予後危険因子抽出の必要性
3. 学会等名 第54回日本胆道学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川 圭
2. 発表標題 胆嚢癌切除成績の検討からみた術前予後因子抽出の重要性
3. 学会等名 第80回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高館 達之 (Takadate Tatsuyuki) (50772216)	東北大学・高度教養教育・学生支援機構・助教 (11301)	
研究分担者	水間 正道 (Mizuma Masamichi) (80578675)	東北大学・大学病院・講師 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------