

令和 4 年 4 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07752

研究課題名(和文) 振動解析の手法を取り入れた新規NMR解析法による膵がん、胆管がん血清診断法の開発

研究課題名(英文) Development of a new proton nuclear magnetic resonance analysis method incorporating Modal analysis using serum samples for diagnosis of pancreatic and cholangiocarcinoma patients

研究代表者

伊藤 孝司 (Ito, Takashi)

京都大学・医学研究科・特定病院助教

研究者番号：10378656

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)：NMRモード解析では128人のボランティア血清を用いて、若年(40歳以下)と高齢(65歳以上)の判別を従来のNMR手法より高い判別能で識別することができた($R^2 = 0.994$, $Q^2 = 0.936$)。また、膵がんと非がん患者の識別($R^2=0.989$, $Q^2=0.948$)および膵がんの治療予後不良群の識別($R^2=0.989$, $Q^2=0.914$)においても、外科治療前血清を用いて従来の腫瘍マーカーよりも高い有用性をもって判別可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本法は、従来のNMRメタボロミクスなどの化学分析とは全く異なる、物性分析による血清検査法である点の特徴であり、従来困難であった膵臓がん、胆管がんの血清診断法を、全く新たな手法で開発する点に独自性があり創造性のある研究である。本法は膵がん、胆道がんにおいて非がん患者との判別ができ、治療予後不良群の特定のみならず、治療選択肢に直接関わるリンパ節転移などの因子を、外科治療前に血清を用いて非侵襲的に予測できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：With the NMR modal analysis of 128 healthy volunteer serum samples, we were able to discriminate between younger (40 years or younger) and older (65 years or older) patients with higher discrimination ability than conventional NMR methods ($R^2 = 0.994$, $Q^2 = 0.936$). The pre-surgical serum could also discriminate between pancreatic cancer and non-cancer patients ($R^2 = 0.989$, $Q^2 = 0.948$) and between pancreatic cancer and patients with poor prognosis ($R^2 = 0.989$, $Q^2 = 0.914$) with higher usefulness than conventional serum tumor markers.

研究分野：肝胆膵外科

キーワード：NMRモード解析 膵がん 胆管がん

1. 研究開始当初の背景

最難治がんである膵がん、胆管がんに対して、早期診断を可能とする簡便かつ感度の高い検査法の開発は喫緊の課題である。我々は構造工学の分野で用いられている「構造物の動的特性(モード)を評価する振動解析の技法」を取り入れた新規血清検査法の開発を行い、膵がん、胆管がんの診断への適応を考えた。

本法では、血清を多数の原子や分子で構成される超分子的構造体とみなし、水素原子核から得られる核磁気共鳴(NMR)信号を時間周波数解析することにより、血清検体が有する物理学的特性(モード)を決定する。本法は、従来のNMRメタボロミクスなどの化学分析とは全く異なる、物性分析による血清検査法である点が特徴であり、従来困難であった膵臓がん、胆管がんの血清診断法を、全く新たな手法で開発する点に独自性があり創造性のある研究である。少数例を用いた予備実験では、本法は膵がん、胆道がんにおいて非がん患者との判別ができ、早期再発群の特定など、病態をも反映する可能性が示唆された。

本研究課題ではこの結果をさらに追求する。これにより、これまで不可能であった膵がん、胆道がんのスクリーニングによる早期発見や、病態に応じた治療方法の適正化が期待できる。

2. 研究の目的

目的1: 血清にて膵臓がん、胆管がん、非がん患者を識別できるか。

目的2: 治療前血清の解析で膵臓がん、胆管がんにおいて、病理組織学的進展度、ステージ、化学療法に対する治療抵抗性、予後不良群と良好群が識別できるか。

3. 研究の方法

研究1: 膵がん患者、胆道がん患者と非がん患者を識別できるか、また、それぞれのがんの種類を鑑別できるか、手術を予定した膵臓がん患者60症例、胆管がん患者40症例と非がん患者50症例の治療開始前に採取した血清を用いて、NMRモード解析を行って検討する。

尚、京都大学では膵臓がん、胆道がん年間それぞれ60例、40例程度の手術症例が有るため、これまでの血清の蓄積とあわせて単年度で十分収集することが可能である。また、非がん患者血清は当院生体肝移植ドナーを中心に非悪性疾患患者の同意を得て収集する。

研究2: 膵臓がん、胆道がん患者の治療開始前血清のNMRモード解析にて病理組織学的進展度、ステージ、化学療法に対する治療抵抗性、予後不良群と良好群の鑑別が可能か検討する。

研究3: 研究計画1と同数の患者血清を前向きに取得し、研究計画1にて構築した膵臓がん、胆管がんの各識別モデルの従来マーカーとの比較を含めた検証と、ブラッシュアップを行う。

4. 研究成果

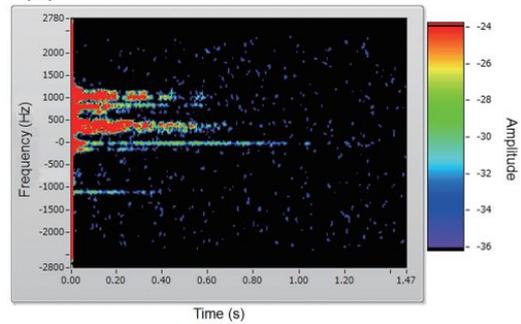
研究1: 血清NMRモード解析を用いた膵がん患者、胆道がん患者と非がん患者の識別

研究1-1: NMRモード解析の有用性の先行研究

背景でも述べた通り、NMRモード解析は従来のNMRメタボロミクスなどの化学分析とは全く異なる手法による血清検査法であるため、我々はがん患者に先立ち、健康成人を対象に、従来法と比較した本研究手法による判別能の優越性を検証している

(Hirakawa K et al, J Oleo Sci. 2019, 68: 369-378) 男性ボランティア 128 人の血清を用いて、若年 (40 歳以下) と高齢 (65 歳以上) の判別を NMR モード解析により行った。各サンプル血清は NMR モード解析により Time, Frequency, Amplitude の 3 次元スペクトラムとして得られ (図 1) これを入力とした部分最小二乗判別分析

図 1



(Partial Least Squares - Discriminant Analysis; PLS-DA)法を用いた多変量解析によって得られた 2 つの主成分式によるプロットは、従来の NMR 手法により得られたものを入力としたプロットよりも高い判別能を有すること示すことに成功している (従来 : 図 2 A、B、それぞれ $R^2 = 0.910$, $Q^2 = 0.824$ およ

図 2A

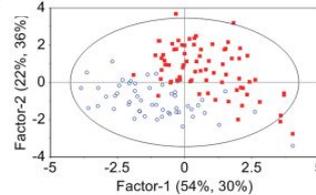


図 2B

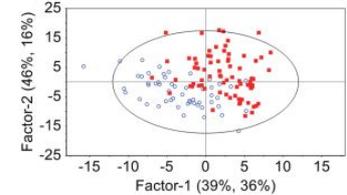
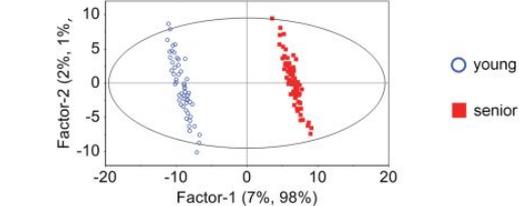


図 2C

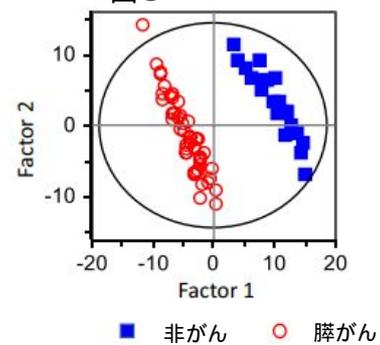


び $R^2 = 0.687$, $Q^2 = 0.649$) に対し本研究の手法 : 図 2 C ($R^2 = 0.994$, $Q^2 = 0.936$))

研究 1-2 : 血清を用いた膵がん患者、非がん患者の識別

上記研究結果に引き続き、我々は膵がん患者 46 名と非がん患者 20 名を対象にした解析を行った。本研究手法による解析は膵がん患者と非がん患者の判別において、明瞭な判別能を有していることが分かった (図 3 , $R^2=0.989$, $Q^2=0.948$) (Sato A et al, SciRep. 2020, 10:21941) 。これは、臨床で用いられる血清中の腫瘍マーカーである CA19-9 や CEA (それぞれ陽性的中率 88%, 97%, 陰性的中率 36%, 54%) と比較しても高い有用性をもつと考えられた。

図 3

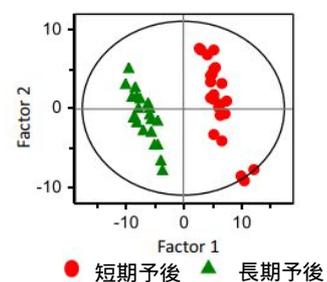


研究 2 : 治療前血清を用いた予後因子の判別

研究 2-1 : 生存期間の判別

上記解析における膵がん患者 46 名の血清サンプルは外科的切除前の時点でのものであったが、同サンプルを用いて治療予後を予測することが可能であることを示した (Sato A et al, SciRep. 2020, 10:21941) 。 2 年生存をカットオフとして長期予後群と短期予後群の NMR モード解析による判別能は $R^2=0.989$, $Q^2=0.914$ であり (図 4) これらもまた CA19-9 や CEA (それぞれ陽性的中率 64%, 60%, 陰性的中率 53%, 63%) 高い有用性をもつと考えられた。

図 4



研究 2-2 : 他の予後因子の判別

上記研究 2 - 1 は生存期間そのものに対する検討であったが、治療選択肢選定における重要な因子を外科的切除前に事前に判別可能であるかを検討すべく、胆道がん患者血清を用いたリンパ節転移の有無の判別解析を現在実行中である。また、これらの解析を通じて得られたデータをブラッシュアップし、研究 3 の目指すところである前向きな識別モデルの構築を今後も検討継続していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Asahi, Masui Toshihiko, Yogo Akitada, Ito Takashi, Hirakawa Keiko, Kanawaku Yoshimasa, Koike Kaoru, Uemoto Shinji	4. 巻 10
2. 論文標題 Time-frequency analysis of serum with proton nuclear magnetic resonance for diagnosis of pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-79087-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hirakawa Keiko, Koike Kaoru, Kanawaku Yoshimasa, Moriyama Tsuyoshi, Sato Norio, Suzuki Takao, Furihata Kenichi, Ohno Youkichi	4. 巻 68
2. 論文標題 Short-time Fourier Transform of Free Induction Decays for the Analysis of Serum Using Proton Nuclear Magnetic Resonance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oleo Science	6. 最初と最後の頁 369 ~ 378
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess18212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	小池 薫 (Koike Kaoru) (10267164)	京都大学・医学研究科・名誉教授 (14301)	
研究分担者	増井 俊彦 (Masui Toshihiko) (20452352)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	上本 伸二 (Uemoto Shinji) (40252449)	滋賀医科大学・医学部・学長 (14202)	
研究分担者	平川 慶子 (Hirakawa Keiko) (30165162)	日本医科大学・医学部・非常勤講師 (32666)	
研究分担者	柚木 知之 (Yunoki Tomoyuki) (50639094)	京都大学・医学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	金涌 佳雅 (Kanawaku Yoshimasa) (80465343)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	

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