

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成30年3月2日現在

包括的統合的アプローチによる日本人早期膵癌の高精度診断の具現化

Achievement of highly accurate diagnosis of early pancreatic cancer
in Japanese patients through a comprehensive/integrated approach

課題番号：15H05791

森 正樹 (MORI MASAKI)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

膵癌は難治であり、近年罹患率が増加している。本研究では、日本人の早期膵癌の多施設共同研究を進めて、その生物学的な性状を明らかにする計画である。その成果により、画期的なバイオマーカーが得られ、従来の方法では診断できなかった膵癌を早期に診断できるようになり、膵癌による死亡率を減らすことに貢献できる。研究の計画は順調な推移が得られている。

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵臓外科学

1. 研究開始当初の背景

日本人癌死亡の65%は消化器癌であり、その中で最難治の代表格は膵癌である。しかし早期の段階で診断されれば、5年生存率は69%である。以上から明らかなように、膵癌の治療成績向上のためには「早期診断」が極めて重要であり、そのためには新規バイオマーカー開発による早期診断と適切な医療介入が重要である。ところが現実の問題として、早期膵癌は極めて少ないため、それらを対象とする研究は実施困難であった。そこでオールジャパン体制で戦略的・体系的にまず臨床上に転移のない早期膵癌症例を集積し高精度に解析する。

2. 研究の目的

本申請では特に早期膵癌に焦点をあてて、全国から収集した早期癌の試料（血液・唾液）からマイクロRNAと生理活性物質に対して最先端技術を駆使してその異常（「腫瘍関連因子（T因子）」）を高精度に解析する。またデータは膵癌の遺伝的多型因子（P因子）情報を活用しながら、「環境因子（E因子）」を応用可能なレベルにまで情報を掘り下げて研究し、3因子（P+E+T）を統合した高精度の精密医療による早期診断を具現化することが目的である。

3. 研究の方法

大阪大学大学院医学系研究科消化器外科が中心となり、膵癌試料の収集の為に、阪大消化器外科及び全国の阪大を含む消化器外科18施設（連携研究者として別掲）が参加して研究を開始した。体液中のバイオマーカーの解析としてExosomeの濃縮とそこからmiRNAの解析は国立がん研究センター、また唾液などの体液の代謝LC/MSは慶應大学、膵癌の前臨床研究によるPOC確認は大阪大学、またExomeシーケンズは九州大学、山口大学などが実施した。現在、当初の計画に従って順調に症例の蓄積を継続中である。特に、早期膵癌の高精度診断の新規バイオマーカーを開発する為に、腫瘍因子（T）（早期膵癌の血液・唾液[および可能な限り腫瘍]）を収集するとともに、三位一体として環境因子（E）および遺伝的背景（P）を吟味して俯瞰的な統合理解を得ることを進めている。全5年間で個々の因果関係を紐解きながら成果発表に合わせて知的財産整備、産業基盤の育成、広く国民への啓蒙、医療活動展開に応用する。

4. これまでの成果

(1) 症例の集積

大阪大学医学部附属病院および全国の検体提供病院での倫理審査の承認を得て開始し順調に推移している。登録症例の全例に対して、対面式で検体の採取および生

活習慣アンケートを行い、病理学的情報および予後も回収している。本研究において検体収集を経験することにより、膵癌の術前ステージ診断において何が原因で誤診断するのかについても副次的に明らかになりつつある。

(2) 検体のマイクロ RNA 解析

収集した検体のうち初期の術前および術後血清を用いて、検体の品質チェックおよび初期解析として、マイクロ RNA (miRNA) の網羅的解析を施行した。網羅的解析は東レ社製 3D-Gene を用い、同社の推奨するプロトコールに従って検体の処理と解析を行った。Principal Component Analysis (PCA)により術前と術後の miRNA の発現パターンを比較すると、症例間の差異よりも術前/術後間の差異が大きいことが明らかとなった。末梢血での早期膵癌のマーカーを同定するため、術前血清と術後血清で発現量が異なる miRNA を網羅的に解析した。多くの miRNA の発現は術後に低下しており、そのうち発現量が 2 倍以上で有意差 ($p < 0.05$) を持って発現量に変化している miRNA が明らかとなった。現在候補となる miRNA を絞り込んでいる。これらのほとんどの miRNA の発現量は進行膵癌でも同様に変化することが明らかとなり、この miRNA の手術前後の変化は、早期膵癌から進行膵癌までの広い範囲でマーカーとして使用できる可能性が示唆された。

(3) 検体のメタボロミクス解析

術前/術後の臨床検体を用いて、CE-TOFMS と LC-QqMS の両方でメタボロミクス解析を行いデータを結合した。CE-TOFMS は外部標準法で、LC-QqMS は内部標準法で定量した。代謝産物の相関ネットワーク解析を行いノーマライズした結果、術前/術後で有意差を持って発現量に変化する代謝産物が複数同定された。現在、追加解析中である。

(4) バイオマーカー病態の解析

膵癌のメタボローム、トランスクリプトーム、メチローム、疫学情報を横断的に解析し、大容量の数理統計的解析を駆使した予測法により、トランスクリプトームとメタボローム、およびトランスクリプトームとメチロームを結びつける数理解析法を開発した(Sci. Rep., 2016, 2018)。さらに症例を蓄積して解析を進め、また背景となる病態の機構を究明して把握する計画である。

5. 今後の計画

多施設共同研究で得られた日本人早期膵癌の研究として重要な位置付けである。平成 30 年度内に症例の蓄積の主だったところを完了し、バイオマーカーの背景となるメカニズム研究へと発展させて成果を統合し、日本人膵癌の制圧に向けて貢献する計画である。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- 1) Matsui, H., Hazama, S., Sakamoto, K., Shindo, Y., Kanekiyo, S., Nakashima, M., Matsukuma, S., Tokuhisa, Y., Iida, M., Suzuki, N., Yoshimura, K., Takeda, S., Ueno, T., Yoshino, S., Oka, M., Nagano, H. Post-Operative Adjuvant Therapy for Resectable Pancreatic Cancer with Gemcitabine and Adoptive Immunotherapy. *Pancreas.*, 46(8): 994-1002, 2017.
- 2) Hasegawa, S., Nagano, H., Konno, M., Eguchi, H., Tomokuni, A., Tomimaru, Y., Asaoka, T., Wada, H., Hama, N., Kawamoto, K., Marubashi, S., Nishida, N., Koseki, J., Mori, M., Doki, Y., Ishii, H. A crucial epithelial to mesenchymal transition regulator, Sox4/Ezh2 axis is closely related to the clinical outcome in pancreatic cancer patients. *Int. J. Oncol.*, 48(1):145-152, 2016.
- 3) Sawada, G., Niida, A., Uchi, R., Hirata, H., Shimamura, T., Suzuki, Y., Shiraishi, Y., Chiba, K., Imoto, S., Takahashi, Y., Iwaya, T., Sudo, T., Hayashi, T., Takai, H., Kawasaki, Y., Matsukawa, T., Eguchi, H., Sugimachi, K., Tanaka, F., Suzuki, H., Yamamoto, K., Ishii, H., Shimizu, M., Yamazaki, H., Yamazaki, M., Tachimori, Y., Kajiyama, Y., Natsugoe, S., Fujita, H., Mafune, K., Tanaka, Y., Kellsell, DP., Scott, CA., Tsuji, S., Yachida, S., Shibata, T., Sugano, S., Doki, Y., Akiyama, T., Aburatani, H., Ogawa, S., Miyano, S., Mori, M., Mimori, K. Genomic landscape of esophageal squamous cell carcinoma in a Japanese population. *Gastroenterology*, 150(5):1171-11782, 2016.

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gesurg/>