

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10193

研究課題名(和文) 膵癌の新規スクリーニング法ならびに再発診断法の開発

研究課題名(英文) Development of new screening method and recurrence diagnosis method for pancreatic cancer using 5-ALA.

研究代表者

村山 康利 (Murayama, Yasutoshi)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50578979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌は予後不良の癌で、その早期診断は困難である。スクリーニング法の開発が必要である。5-aminolevulinic acid(5-ALA)は、細胞内に取り込まれると、様々なポルフィリン代謝産物を経てヘムに合成される内因性のアミノ酸であり、代謝物は尿中に排泄される。そこで、5-ALA投与後の尿中ポルフィリン代謝産物濃度を測定することでスクリーニング法としての有用性について検討した。大腸癌患者・胃癌患者・膵癌患者ともALA内服無し状態で尿中の5-ALA濃度が高く、スクリーニングに用いることができる可能性がある。しかし、代謝産物では大腸癌のみで嘆願患者の代謝産物が増える結果であった。

研究成果の概要(英文)：Porphyrins produced by tumor cells are excreted in the urine and blood after 5-ALA administration. In this study, we evaluated the use of porphyrins as novel tumor markers in urine samples from patients with pancreatic cancer. We studied for pancreatic cancer, colorectal cancer, and gastric cancer patients. The 5-ALA concentrations in the urine without administration of 5-ALA were significantly increased in the pancreatic cancer, colorectal cancer, and gastric cancer group compared with the control group. Urinary uroporphyrinogen I and coproporphyrinogen III concentrations after 5-ALA administration were also significantly higher in the colorectal cancer group than the control group. On the other hand, urinary porphyrin concentrations in patients with gastric cancer and pancreatic cancer did not increase as compared to controls. In colorectal cancer patients, coproporphyrinogen I and coproporphyrinogen III concentrations in urine were significantly decreased after surgery.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 PDS 5-ALA 診断

1. 研究開始当初の背景

5-ALA(5-aminolevulinic acid)は内因性のヘム合成前駆体であるアミノ酸である。5-ALAはミトコンドリア内で succinyl CoA と glycine から ALA 合成酵素により、porphobilinogen (PBG)が作製される。PBG deaminase (PBGD)と uroporphobilinogen syntase の作用で、uroporphyrinogen (UP) が合成され、coproporphyrinogen (CP) を経て、ミトコンドリア内で protoporphyrin IX (PpIX)に代謝され、ferrochelatase の作用で heme が合成される。癌細胞では、その代謝酵素である PBGD の活性が高く、ferrochelatase の活性が低いため、5-ALA を投与すると、蛍光物質である PpIX が蓄積するという性質を有する。(Peng-Q et al. *Cancer* 2008)この性質を利用して脳グリオーマや膀胱癌に対する光線力学的診断(Photodynamic diagnosis)が報告されている。消化器領域での報告は認めなかったが、我々は、ヒト大腸癌細胞株の同所性移植によるマウスの直腸癌リンパ節転移モデルを用いて、5-ALA の術前投与による微小転移巣の検出の有用性を発表した(Murayma et al. *Int.J.Cancer*, 2009)。また、同手法を用いて臨床応用し、胃癌(Murayma et al. *Anticancer Res.* 2012)ならびに大腸癌(Kondo, Murayama et al. *Int J Oncol.* 2014)の腹膜播種、リンパ節診断(Koizumi, Murayama et al. *Ann Surg Oncol.* 2013)(Harada, Murayama et al. *Int J Mol Sci.* 2013)に有用であることを報告した。また、通常であれば、5-ALA の代謝過程で担癌マウスモデルに 5-ALA を投与するとポルフィリン代謝産物である UP、CP が合成されるが、担癌マウスモデルでは非特異的に uroporphyrinogen (UP)、coproporphyrinogen (CP)が合成される(Ishizuka et al. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2011)。

膵癌は癌の死亡数の第5位を占めながら難治性の癌であり、切除症例でもその5年生存率は10~15%と低い。そこで早期発見することが必要である。膵癌の腫瘍径と切除後予後の関連を解析した結果では、2cm以下の腫瘍で5年生存率が31.7%とそれ以外と比べれば比較的良好といえる。しかし、2cm以内のTS1膵癌は全体の約10%であり、TS1膵癌のうち Stage であった症例は膵頭部癌で15%、膵体尾部癌で33%と低く、膵癌では小さくても診断がついた時点で進行癌となっている事がほとんどである。そこで、新規のスクリーニング法ならび治療法の開発が急務である。膵癌のスクリーニングにはアミラーゼ(膵型アミラーゼ)、リパーゼ、エラスターゼ1、トリプシンなどの膵酵素やCA19-9、Span-1、CA50、CA242、DUPAN-2、TAG-72、尿中フコースといった腫瘍マーカー、USなどが用いられるがその正診率は低い。近年、造影CT、MRCP、

EUS、PETなどにより質的診断が可能となってきたが、ある程度大きくなないと検出が困難である。また、高価な機械が必要でコストがかかること、一人当たりの検査時間が長く、スループットが低いことから、一般検診におけるスクリーニングには向かない。本研究課題による新規スクリーニング法の開発ならびに再発診断法の確立によって膵癌患者に対する根治例を増加させ、その結果として膵癌患者の予後改善につながる極めて大きな恩恵を齎す可能性を秘めた診断法になると考えられる。

2. 研究の目的

難治性の癌である膵癌は根治切除術を施行してもその予後は極めて不良である。また、その早期診断は困難であり、診断された時点で切除不能例である事も希ではない。そこで新規のスクリーニング法の開発が急務である。本研究では、簡便でかつ診断能の高いスクリーニング法の開発を試みる。5-aminolevulinic acid(5-ALA)は、細胞内に取り込まれると、様々なポルフィリン代謝産物を経てヘムに合成される内因性のアミノ酸である。これらの代謝産物が担癌マウスや癌患者で増加し、尿中や血中に排泄される。そこで、5-ALA投与後の尿中・血中ポルフィリン代謝産物濃度を測定することで膵癌患者に対する新規スクリーニング法の開発を目指し、その有用性について検討する。

3. 研究の方法

文書にて同意を得た「胃癌・大腸癌・膵癌患者、それぞれ33例、29例、9例で検討した。5-ALA内服無し、眠前に5-ALA100mg内服、300mg内服してもらい、起床時に採尿し、液体クロマトグラフィー(HPLC法)ならびに蛍光法でポルフィリン代謝物質であるUP / CP / 5-ALA、PpIXを測定した。また、これらの結果を28例の健常者と良性疾患患者との結果を比較した。また、大腸がん患者に対してはポルフィリンの代謝物濃度を術前と術後で比較した。の術前に検討を加えた。我々はこの性質を利用して大腸癌患者30名に対するpilot studyで大腸癌患者の尿中UP、CP濃度が上昇することを確認した。また、同値は術後にコントロール群と同等の値まで低下する事も確認できた。

4. 研究成果

大腸癌患者33例に対して5-ALA内服無し、100mg内服、300mg内服後の採尿結果を健常者ならびに良性疾患患者の計28例を比較した。5-ALA代謝産物として5-ALA、Uroporphyrinogen I、Uroporphyrinogen III、Coproporphyrinogen I、Coproporphyrinogen IIIを測定し、測定した項目を各群で解析した。さらにstage別の検討ならびに術前後の比較

を行った。5-ALA内服なしでは、尿中5-ALA濃度は、大腸癌患者群がコントロール群に比べ有意に高値であった。また、5-ALA100mg内服後、300mg内服後いずれも、Uroporphyrinogen I濃度は大腸癌患者群でコントロール群より有意に高値であった。さらに5-ALA 300mg内服後の尿中Coproporphrinogen III濃度は大腸癌患者群でコントロール群より有意に高値であった。感度や特異度、AUC valueは既存の腫瘍マーカーに比べ有意に良好であった。

しかし、胃癌患者・膵癌患者ともALA内服無しの状態ではコントロール群と比較して尿中の5-ALA濃度が高く、スクリーニングに用いることができる可能性があったが、ポルフィリン代謝産物では大腸癌と違い有意な結果が得られなかった。本方法で、いずれの症例にも明らかな副作用は認めなかった。

大腸癌・胃癌・膵癌患者の尿中に5-ALAが排泄されている可能性があり、スクリーニングに用いることができる可能性がある。また、担癌患者の尿中に5-ALAが増加する機序の解明が必要である。ポルフィリン代謝産物については癌腫によって変化する可能性もあり、今後さらに検討を加える必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Kamada Y, Murayama Y, et al. Urinary 5-Aminolevulinic Acid Concentrations as a Potential Tumor Marker for Colorectal Cancer Screening and Recurrence. 査読ありAnticancer Research 2016.36(5) 2445-2450
Nishimura M, Murayama Y et al. Photodynamic Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma Using 5-Aminolevulinic Acid. 査読ありAnticancer Research 2016.36(9) 4569-4574

[学会発表](計17件)

原田恭一、村山康利ほか：膵癌に対する5-aminolevulinic acid (5-ALA)を用いたphotodynamic diagnosis(PDD)の検討。第115回日本外科学会定期学術集会 2015年4月16-18日 名古屋
西村真澄、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を用いた肝細胞癌に対する光線力学診断の有用性。第115回日本外科学会定期学術集会 2015年4月16-18日 名古屋
鎌田陽介、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸の大腸癌に対する腫瘍マーカーとしての有用性。第70回日本消化器外科学会総会 2015年07月15-17日 浜松市
西村真澄、村山康利ほか：膵癌に対する5-アミノレブリン酸(5-ALA)を用いた

光線力学療法(FLD)の検討。第70回日本消化器外科学会総会 2015年07月15-17日 浜松市

村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を用いた大腸癌スクリーニングの有用性。第84回大腸癌研究会 2016年01月15日 熊本市

原田恭一、村山康利ほか：膵癌の腹膜播種に対するアミノレブリン酸(5-aminolevulinic acid)を用いた蛍光力学的診断(photodynamic diagnosis)の検討。第116回日本外科学会定期学術集会 2015年4月14-16日 大阪

久保秀正、村山康利ほか：胃癌における5-アミノレブリン酸の腫瘍マーカーとしての有用性。第116回日本外科学会定期学術集会 2015年4月14-16日 大阪
原田恭一、村山康利ほか：膵癌の腹膜播種に対するアミノレブリン酸を用いた蛍光力学的診断の検討。第28回日本肝胆膵外科学会学術集会 2016年6月2-4日 大阪

村山康利ほか：進行胆嚢癌に対する5アミノレブリン酸を用いた術中蛍光診断。第28回日本肝胆膵外科学会学術集会 2016年6月2-4日 大阪

森村玲、生駒久視、村山康利ほか：進行胆嚢癌に対する5アミノレブリン酸を用いた術中腹膜播種蛍光診断。第41回日本外科系連合学会学術集会 2016年6月15-17日 大阪

鎌田陽介、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を用いた術中蛍光観察が遠隔転移診断に有用であった胆嚢癌の3例。第41回日本外科系連合学会学術集会 2016年6月15-17日 大阪

鎌田陽介、村山康利ほか：消化器癌に対する腫瘍マーカーとしての5-アミノレブリン酸の有用性。第71回日本消化器外科学会総会 2016年7月14-16日 徳島

村山康利ほか：5-ALAを用いた大腸癌に対する新規治療法ならびに治療効果判定法。第71回大腸肛門病学会 2016年11月18-19日 伊勢市

水谷融、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を併用した蛍光力学的診断の膵癌における検討。JDDW2016 日本消化器外科学会大会 2016年11月3-6日 神戸

村山康利ほか：5-ALAを用いた胆嚢癌に対する術中転移診断の有用性について。JDDW2016 日本消化器外科学会大会 2016年11月3-6日 神戸

田中善啓、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を用いた膵癌の腹膜播種における蛍光力学的診断の検討。第117回日本外科学会定期学術集会 2015年4月27-29日 横浜

松尾久敬、村山康利ほか：5-アミノレブリン酸を用いた膵癌腹膜播種の蛍光診断。第9回膵臓内視鏡外科研究会 2017

年 12 月 6 日 京都

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村山 康利 (MURAYAMA YASUTOSHI)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：50578979

(2) 研究分担者

大辻 英吾 (OTSUJI EIGO)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：20244600

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()