

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：82713

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09093

研究課題名（和文）低酸素かつ栄養飢餓の微小環境で発現誘導される膵癌早期診断マーカーの開発

研究課題名（英文）Development of novel diagnostic markers for pancreatic cancer focused on the tumor microenvironment associated with hypoxia and nutrient depletion.

研究代表者

宮城 洋平（miyagi, yohei）

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター（臨床研究所）・臨床研究所・所長

研究者番号：00254194

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、適切な腫瘍マーカーや画像診断が困難で、難治性の高い膵癌の早期診断マーカーの開発を試みた。培養ヒト膵癌細胞を低酸素・栄養飢餓状態にして遺伝子発現が特異的に誘導される遺伝子とこれがコードするタンパク質をまず複数同定し、その中から新規性が高く、血中にそのタンパク質あるいは関連物質が出現するか否かに着目して、1分子に絞り込み、その検出系を確立した。更に、酵素活性を有する同タンパク質が産生する小分子が、細胞、細胞培養上清中に出現することを質量分析で確認、in silicoの解析で血中に微量に存在する物質であることも確認して、その測定系を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの新たな早期発見手法の活用による2次予防の推進は、第5次がん研究10か年戦略の具体的研究事項にも挙げられている。単に細胞や組織の増殖速度に着目するだけでは、非がん組織とがんを区別し早期診断を実現する腫瘍マーカーの開発ができないことは、消化管粘膜上皮、骨髄、子宮内膜などの存在から想像に難くない。本研究では、難治性の膵がんの診断マーカー候補を見出すと同時に、培養ヒトがん細胞を低酸素・栄養飢餓状態にして発現が特異的に誘導される遺伝子群から早期診断マーカーを探索する手法の実例を提示することができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to develop early diagnostic markers for pancreatic cancer, which is highly refractory and difficult to diagnose due to the lack of appropriate tumor markers and imaging diagnostics. First, we identified several genes whose expression is specifically induced under hypoxic and nutrient-starved conditions in cultured human pancreatic cancer cells, along with the proteins encoded by these genes. Among these, we focused on a single molecule that demonstrated high novelty and the potential for its protein or related substances to appear in the bloodstream. We established a detection system for this molecule. Furthermore, we confirmed through mass spectrometry that the small molecules produced by this protein with enzymatic activity appeared in the cells and the cell culture supernatant. In silico analysis also confirmed that these substances are present in trace amounts in the blood, and we constructed a measurement system for them.

研究分野：腫瘍病理学、分子腫瘍学、ゲノム病理学

キーワード：低酸素 低栄養 膵癌 腫瘍マーカー 早期診断

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は、外科切除後補助療法の進歩で予後が改善されつつあるものの、依然として、最も予後不良な悪性腫瘍の一つである。膵癌患者の予後改善には、早期発見と外科切除を基軸とする治療戦略が何にもまして重要であるが、感度/特異度の優れた膵癌腫瘍マーカーは未だ開発されていない。申請者等は、低酸素と栄養飢餓(血清除去、或いは活性炭処理による脂質/増殖因子等の除去)の2つの環境に同時に晒された培養癌細胞で、相乗的に発現が誘導される遺伝子を、がんの早期診断マーカー候補として研究を進めていた。

2. 研究の目的

難治性がんであり、また、感度特異度に優れた腫瘍マーカーが存在せず、また、スクリーニングに利用できる簡便な理学的検査、画像診断技術がない、膵癌を標的として、低酸素と栄養飢餓環境に同時に暴露された培養膵癌細胞で、相乗的に発現が誘導される遺伝子群から、膵がんの早期診断マーカーのシーズを確立すること。

3. 研究の方法

対象分子のスクリーニングと検出系の確立: 培養ヒト膵癌細胞を1%酸素、無血清あるいは活性炭処理血清 10%の状態にして培養、コントロールと比較して、ほぼ発現を認め無い状態から発現が誘導される遺伝子を、RNA マイクロアレイで検索する。次に、条件を満たした遺伝子群のなかから、新規性、その遺伝子産物か、遺伝子産物に関連して産生される物質が細胞外に放出される可能性の分子か、あるいは血中に存在する分子の産生に寄与する酵素活性を有しているか、一般的な検体検査で利用される技術を用いて測定系の構築が可能な、などの点に着目し、その分子の検出系を確立する。

臨床検体での検証: 実際の外科切除膵がん病理組織標本で、注目した遺伝子産物の発現動態等の検証を進める。膵癌組織での発現動態を把握した上で、生体試料センター(バイオバンク)が保有する膵癌患者血清での検証を進める。

4. 研究成果

培養ヒト膵癌細胞を低酸素・栄養飢餓状態にして遺伝子発現が特異的に誘導される遺伝子とこれがコードするタンパク質をまず複数同定し、その中から新規性が高く、血中にそのタンパク質あるいは関連物質が出現するか否かに着目して、1分子に絞り込み、そのタンパク質を認識する単クローン抗体を作製、検出系を確立した。更に、酵素活性を有する同タンパク質が産生する小分子が、細胞、細胞培養上清中に出現することを質量分析で確認、in silicoの解析で血中に微量に存在する物質であることも確認して、その測定系を構築した。本マーカーを用いた膵がん早期診断法の特許出願すべく、膵癌を始めとするがん組織、近傍組織における発現動態の解析など必要な情報を免疫染色などにより収集し、また、論文化する準備を進めている。成果の詳細については後日再提出する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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	廣島 幸彦 (Hiroshima Yukihiro) (60718021)	地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・臨床研究所・医長 (82713)	
研究分担者	森永 聡一郎 (Morinaga Soichiro) (80244432)	地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・その他部局等・その他 (82713)	

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