

研究課題：統合的高感度血漿プロテオミクスに基づく膵癌 早期診断血液バイオマーカーの探索

愛知県がんセンター
分子診断トランスレーショナルリサーチ分野 分野長
田口 歩
愛知県がんセンター
分子診断トランスレーショナルリサーチ分野 主任研究員
阿部 雄一

研究の背景・目的

膵癌は、診断時に 70-80%が切除不能であり、その五年生存率がわずか 5-10%と、極めて予後が悪い癌の代表である。さらに膵癌の死亡数はこの 30 年で 8 倍以上に増加し、毎年 3 万人以上が膵癌で死亡していることから、膵癌の克服は、喫緊かつ最重要の課題である。我が国で、Stage I と診断された膵癌手術例の五年生存率は 50%を超えており、膵癌の早期診断は、その死亡率を低減させる有力なアプローチであると考えられる。その一方で、切除可能な膵癌は全体の約 15%にとどまり、さらに、Stage I で発見される例は全体のわずか 2%以下であることから、革新的な膵癌早期診断法の開発が急務である。しかし、膵癌のスクリーニングとして臨床応用にまで至った早期診断法は、いまだに存在しない。これは、膵癌の罹患率が低く（人口 10 万人当たり約 30 人）、一般人口における膵癌のスクリーニング検査には、極めて高い特異度が要求されるためである。この問題を解決するためには、慢性膵炎、糖尿病、肥満、膵のう胞性疾患など、膵癌のリスクの高い疾患において、膵癌の早期診断に取り組む必要がある。

膵のう胞性疾患は、健診などで偶然発見される機会が増えてきている。全人口の約 2~3%の人が、膵のう胞性疾患を合併していると報告されており、まれな疾患ではない。また年齢とともにその割合は増加し、80 歳以上では 8~9%の合併頻度との報告もある。健診で偶然発見されることが多いため、約 8 割の症例が無症状であるが、その中には、将来癌になるリスクが高い病変と、経過観察でよい病変の両方がある。特に、もっとも頻度の多い膵のう胞性腫瘍である膵管内乳頭粘液性腫瘍（Intraductal papillary mucinous neoplasia : IPMN）は膵癌の高危険因子であり、IPMN における膵癌の年間発症率は 1-2%

とされることから、前癌病変として慎重なフォローアップが必要である。しかし、CT、MRI、EUS などの画像診断によるフォローアップでは、検査に伴う医療コストや患者側の心理的負担は大きく、IPMN の経過観察においては、より精度の高い膵癌高危険群の絞り込みと膵癌早期診断法の開発が求められている。血液、特に血漿中のタンパク質は、簡便かつ低侵襲、低コストで高スループットな診断法となりえることから、癌の早期診断、スクリーニング、治療個別化など、様々な臨床応用が可能なバイオマーカープラットフォームとして非常に有望である。そこで、我々は、愛知県がんセンター消化器内科部と共同で、500 例を超える膵のう胞性疾患サーベイランスプログラムを立ち上げ、多角的なプラットフォームの統合的解析から、膵癌高危険群の絞り込みに有用な血液バイオマーカー、画像マーカーなどの同定と、それをを用いた膵癌早期診断法の開発を目指している。

本研究では、腺腫から上皮内癌、微小浸潤癌、浸潤癌までの幅広い病態を含む IPMN 症例から手術前に採取された血液検体を用いて、血中タンパク質の網羅的かつ高深度なプロファイリングを行い、膵癌の早期診断に有用な血液バイオマーカーの探索同定を行った。本研究で開発を目指す膵癌の血液早期診断法によって、膵癌高リスクコHORTにおける要精密検査者の絞り込みと、個別化したサーベイランスプログラムの提供が可能になることが期待できる。

研究の対象ならびに方法

本研究では、愛知県がんセンター病院疫学研究（Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center; HERPACC）において集積された、IPMN 患者から手術前に採取された血漿検体を解析に用いた。

各血漿検体から Protein A/G を用いて免疫グロブリンを回収したのち、各血漿検体を 30 個に分画して質量分析を行った。

結果

HERPACC 2 から、①invasive carcinoma、②carcinoma in situ、③adenoma、④control、HERPACC 3 から、⑤invasive carcinoma、⑥carcinoma with microinvasion、⑦carcinoma in situ、⑧adenoma(主膵管型)、⑨adenoma(分枝膵管型)、⑩control として各 3 例ずつ混合したプール血漿サンプルを作成した。申請者らが改良したプロトコル（オリジナル；文献1）に基づく、10-plex TMT ラベリング試薬を用いた血漿タンパク質解析では、896 個のタンパク質が同定定量でき、極めて高感度な血漿タンパク質の同定定量が可能となった。このうち、TGFbeta 下流のタンパク質、膵分化関連タンパク質、サイトカインレセプター

など極めて興味深いタンパク質が、Adenoma またはコントロールに比較して、carcinoma in situ あるいは carcinoma with microinvasion の段階で血中レベルが上昇していることが明らかとなった。現在これらのバイオマーカー候補についてアッセイを開発している。また、自己抗体プロファイリングとして、我々は高感度抗原-自己抗体複合体のプロテオーム解析プロトコル（オリジナル；文献2）を開発してきたが、今回、さらに液体クロマトグラフィーを用いた pH グラジエントを用いた高精度抗原分離（特許出願準備中）と、最近導入した最新のマススペクトロメトリーを組み合わせることによって、1 検体当たり 1000 個を超える抗原の同定が可能になった。

考察

本研究において、IPNM における膵癌早期診断血漿タンパク質バイオマーカーの同定を行った。現在、本研究で同定されたバイオマーカー候補のアッセイ開発と、各血漿検体の自己抗体プロファイリングを進めている。膵のう胞性疾患サーベイランスプログラムは 3 年目となり、将来的に、サーベイランスプログラムで集積された膵癌と診断される前の血液検体を用いて、本研究で同定されたバイオマーカー候補の検証を行う予定である。

文献

1. **Taguchi A**, Politi K, Pitteri SJ, Lockwood WW, Faça VM, Kelly-Spratt K, Wong CH, Zhang Q, Chin A, Park KS, Goodman G, Gazdar AF, Sage J, Dinulescu DM, Kucherlapati R, Depinho RA, Kemp CJ, Varmus HE, Hanash SM. *Cancer Cell*. 20(3):289-99. 2011.
2. Capello M, Vykoukal JV, Katayama H, Bantis LE, Wang H, Kundnani DL, Aguilar-Bonavides C, Aguilar M, Tripathi SC, Dhillon DS, Momin AA, Peters H, Katz MH, Alvarez H, Bernard V, Ferri-Borgogno S, Brand R, Adler DG, Firpo MA, Mulvihill SJ, Molldrem JJ, Feng Z, **Taguchi A**, Maitra A, Hanash SM. Exosomes harbor B cell targets in pancreatic adenocarcinoma and exert decoy function against complement-mediated cytotoxicity. *Nat Commun*. 16;10(1):254. 2019.