

研究課題：高深度プロテオーム解析による大腸癌早期診断 血液バイオマーカーの開発

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

我が国において、大腸癌の罹患者数は増加傾向で、約 15 万人と全がんの中で最多であり、また死亡者数も 5 万人超と肺癌について 2 番目に多い。大腸癌の 5 年相対生存率は、局所限局症例では 95%以上と非常に良い一方で、局所限局症例の占める割合は全体の約 40%に過ぎず、その診断の遅れが問題となっている。大腸癌を早期発見するためのスクリーニングとして、免疫法便潜血検査が行われている。便潜血検査は、受診者の負担が低く、また大腸癌による死亡率を減少させることが証明されているが、疑陽性率が高く、その陽性的中率はわずか 5%前後であること、また早期大腸癌に対する感度も約 50%と低いことから、より精度が高い早期診断法の開発が急務である。

ほとんどの大腸癌は、10~30 年という長い経過の中で腺腫から癌へと進展していくことが知られているが、特に 1cm 以上の大きさを持つ大腸腺腫は、その 15%が 10 年以内に癌になると推定される、リスクが非常に高い前癌病変である。1 cm以上の高リスク大腸腺腫と粘膜内にとどまる早期の大腸癌は、より侵襲の少ない内視鏡的切除のよい適応となっていることから、高リスク大腸腺腫を含む大腸癌の早期診断は、大腸癌の克服を目指すための有力なアプローチであると考えられる。

血液バイオマーカーは、簡便かつ低侵襲、低コストで高スループットな診断法であり、癌の早期診断やスクリーニングにおいて有望である。申請者らは、新規血中タンパクバイオマーカーである MAPRE1 と、大腸癌の腫瘍マーカーとして臨床で用いられている CEA の組み合わせが、早期大腸癌と高リスク大腸腺腫の診断において、FDA に承認された便中 DNA 検査キット(Cologuard)と同等で、免疫法便潜血検査をはるかに上回る診断精度を持

つことを示した(文献1)。

本研究では、臨床上さらに有用な診断精度を持つ、高リスク大腸腺腫・早期大腸癌の血液診断バイオマーカーの探索を目指して、高リスク大腸腺腫・早期大腸癌患者から採取された血漿検体を用いて、血中タンパクと自己抗体の網羅的かつ高深度なプロファイリングを行った。

研究の対象ならびに方法

愛知県がんセンター病院内視鏡部で内視鏡検査を行った症例から、内視鏡検査前に採取された血漿を用いて、各症例を等量混ぜたプール血漿とした(表1)。各プール血漿検体から Protein A/G を用いて免疫グロブリンを回収し、抗原-抗体複合体解析を行った。血漿タンパク解析については、バイオマーカーの候補となる低濃度血漿タンパクを十分同定するために、サンプルを 30 個に分画して質量分析を行った。

グループ	症例	症例数	性別(男性/女性)	平均年齢(範囲)
1	コントロール	11	6/5	72 (64-82)
2	低リスク大腸腺腫	12	6/6	68 (61-76)
3	大腸腺腫	10	5/5	70 (63-79)
4	上皮内癌	7	5/2	72 (49-80)
5	LST(腺腫)	8	6/2	72 (61-83)
6	LST(上皮内癌)	9	5/4	72 (54-89)
7	ステージ 大腸癌	10	6/4	69 (57-78)

表1：症例内訳

結果

解析に先立って、既報(文献2)のプロトコールの最適化を行った。改良したプロトコールに基づく血漿タンパク解析では 813 個のタンパクが同定定量でき、極めて高感度な血漿タンパクの同定定量が可能となった。興味深いことに、得られた血漿タンパクプロファイルの主成分分析を行ったところ、病態に関連したクラスタリングがみられ(図1)、血漿タンパクプロファイルが、大腸腺腫から早期大腸癌における分子病態の違いを反映していることが示唆された。

考察

真に有用な血液バイオマーカーは、単に統計学的に有意であるだけでなく、疾患の病態に関連していなければならない。この点において、本研究で同定した高リスク大腸腺腫から早期大

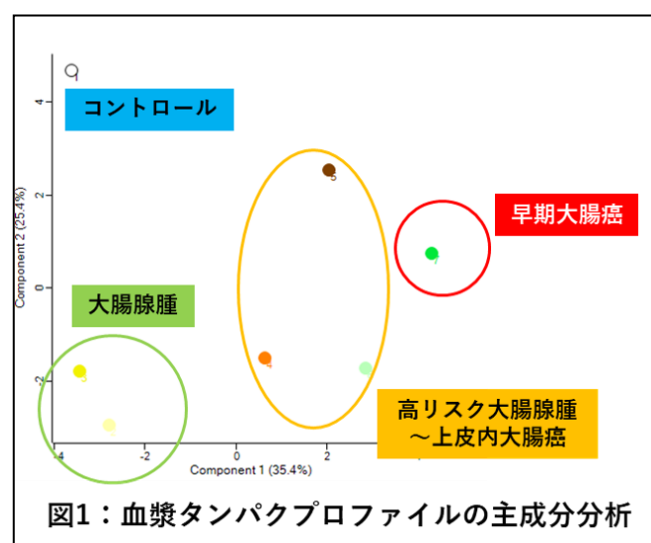


図1：血漿タンパクプロファイルの主成分分析

腸癌に関連する血漿タンパクシグネチャは、極めて有望な大腸癌早期診断血液バイオマーカー候補を内包している、と考えている。本研究で同定された、いくつかのバイオマーカー候補については、愛知県がんセンター病院内視鏡部で集積された血漿検体セット（143例；正常9例、低リスク大腸腺腫48例、高リスク大腸腺腫20例、早期大腸癌20例、進行大腸癌46例）を用いて、初期検証を現在行っている。また、抗原-抗体複合体解析においても、プロトコールの最適化を行い、現在解析中である。

文献

1. **Taguchi A** (責任著者), Rho JH, Yan Q, Zhang Y, Zhao Y, Xu H, Tripathi SC, Wang H, Brenner DE, Kucherlapati M, Kucherlapati R, Boutin AT, Wang YA, DePinho RA, Feng Z, Lampe PD, Hanash SM. MAPRE1 as a plasma biomarker for early-stage colorectal cancer and adenomas. *Cancer Prev Res.* 8:1112-9. 2015.
2. **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. Lung cancer signatures in plasma based on proteome profiling of mouse tumor models. *Cancer Cell.* 20:289-99. 2011.