

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「早期診断マルチバイオマーカー開発」（血中エクソソームの定量プロテオーム解析による新規腫瘍マーカーの開発）

2. 研究開発代表者：植田 幸嗣（公益財団法人がん研究会）

3. 研究開発の成果

・スキルス胃癌早期診断エクソソームマーカーの開発

平成 26 年度までに、多施設検体を用いたバイオマーカー性能試験において健常者と比較してスキルス胃癌患者で有意に血中エクソソーム内濃度が亢進している 3 タンパク質を決定した。これらエクソソームバイオマーカー候補タンパク質に対して、他の消化器がん患者での陽性率を検討することにより胃癌バイオマーカーとしてのがん種特異性を検証した。具体的には、大腸がん、膵がんの臨床病期 I~IV 患者由来血清から独自に開発した高純度エクソソーム精製技術 EV-Second を用いてエクソソームを抽出し、高精度定量質量分析技術 Multiple reaction monitoring により上記 3 タンパク質濃度を定量比較した。その結果、胃癌バイオマーカー候補タンパク質の一つ PN-1 は胃癌、大腸がん、膵がんにおいて特異度を 90%に固定した際に、それぞれ 69.2%、37.1%、23.3%の陽性率となり特に高い胃癌特異性が確認された。更に重要な事に、エクソソーム中 PN-1 タンパク質は臨床病期 I 期の胃癌症例に対しても 65.2%の高い検出率を示し、早期診断バイオマーカーとして非常に有効であることが示された。

・大腸がん再発予測エクソソームマーカーの開発

平成 26 年度までに術前、術後、術後再発、再発治療後フォローアップ血漿を用いたエクソソームタンパク質の網羅的定量プロテオーム解析によって決定された大腸がん再発予測バイオマーカー候補タンパク質 4 種類について、市販抗体を用いたエクソソームサンドイッチ ELISA 測定系を構築し、独立検体セットを用いたバイオマーカー性能検証試験を行った。その結果、上記 4 種類のうち細胞接着因子 CAP1 について未処理の EDTA 血漿から直接エクソソーム上 CAP1 を定量可能な高感度 ELISA 測定系を構築することに成功した。さらに、本測定キットを用いて原発大腸がんの各臨床病期症例、肝転移症例、肺転移症例それぞれについてエクソソーム上 CAP1 量を測定した検証試験では、遠隔転移のない大腸がん症例群に比して遠隔転移有り症例群で有意に ($p = 1.24 \times 10^{-3}$) エクソソーム上 CAP1 発現量が増加することが確認された。また、肝転移症例と肺転移症例の間では有意差が得られなかったことから ($p = 3.80 \times 10^{-1}$)、転移臓器にかかわらず広く大腸がん再発予測マーカーとして利用可能なバイオマーカーであることが示された。