

## 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」

(がん細胞が特異的に生成するシェディング産物の網羅的解析によるがんの早期診断システムの開発)

## 2. 研究開発代表者： 中里雅光 (国立大学法人宮崎大学医学部)

## 3. 研究開発の成果

本事業の目的は、従来の検診による早期発見が困難な肺癌、膵臓癌、肝臓癌、胆のう癌と日本に多い胃癌の5つの癌種を対象に、申請者らが独自に開発した蛋白質の網羅的末端構造解析を用い、少量の尿検体から癌細胞が生成するシェディング産物を同定して、早期診断に有用なバイオマーカーを発見することである。

研究期間を通して、本研究班全体で肺腺癌 215 検体 (宮崎大学で 110 検体、宮崎大学の関連施設で 6 検体、国立がん研究センター東病院で 99 検体)、肺良性疾患 78 検体 (宮崎大学で 72 検体、宮崎大学の関連施設で 5 検体、国立がん研究センター東病院で 1 検体)、胃癌 59 検体 (大阪大学)、肝臓癌 57 検体 (長崎大学)、胆道癌 49 検体 (長崎大学)、胆道良性疾患 33 検体 (長崎大学)、膵癌 247 検体 (国立がん研究センター東病院)、膵良性疾患 31 検体 (国立がん研究センター東病院)、健常人コントロール検体 195 検体 (宮崎大学 86 名、長崎大学 52 名、大阪大学 27 名、国立がん研究センター東病院 17 名、蛋白質研究所 13 名) とその詳細な臨床情報を収集することができた。

尿中蛋白断片網羅的解析の手法については、尿中蛋白プロファイル確認作業の簡素化、検体前処理の簡素化、作業の効率化を行い、ソフトウェアとデータベースの開発・構築などにより、高効率の解析を可能とする分析プラットフォームを確立することができた。さらに、バイオマーカー候補の多癌種多検体による実証研究を加速するため、新たに超高感度定量測定が可能な質量分析法 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) を尿中蛋白断片解析において確立した。

各癌腫患者尿において蛋白断片発現強度が、がん患者/健常者比で 1.5 以上、統計学的に有意に癌患者において発現強度が強い蛋白 C 末端断片を抽出した。これらマーカー候補蛋白のがんに対する感度と特異度から Receiver Operating Characteristics (ROC) 曲線を作成し、Area Under Curve (AUC) の高い順にソートした。

上記の解析にて肺腺癌においては、AUC-ROC > 0.6 となる癌マーカーを 12 種、AUC-ROC > 0.8 となる癌マーカーを 3 種同定した (特許申請のため、現時点では癌マーカー蛋白断片の詳細については公開を差し控えます)。これらの成果を受けて、肺腺癌早期診断システムの ELISA キット開発へ向け、開発企業と共同研究契約を締結した。さらに、「腺癌を体外にて評価する方法」として特許出願申請を行った **(特願 2016-030267 号)**。肝臓がんにおいては、ROC-AUC 値 0.6 以上のものが 10 種、この内、0.8 以上のものが 3 種得られた。胆道がんにおいては、ROC-AUC 値 0.6 以上のものが 11 種、この内、0.8 以上のものが 3 種得られた。胃がんにおいては、ROC-AUC 値 0.6 以上のものが 6 種、この内、0.8 以上のものが 1 種得られた。膵臓がんにおいては、ROC-AUC 値 0.6 以上のものが 10 種、この内、0.8 以上のものが 3 種得られた。

これらの成果を受け、現在、国立研究開発法人日本医療研究開発機構による革新的がん医療実用化研究事業と次世代がん医療創生研究事業において診断システム確立へ向けた研究を継続している。