

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」（マルチオームコホートによる膵がんに対する早期・リスクマルチマーカーの開発）
2. 研究開発代表者：寺崎 哲也（国立大学法人東北大学大学院薬学研究科）
3. 研究開発の成果

本研究は、膵がん早期発見のための罹患者・高リスク者濃縮の実現を目指し、コホート内症例対照研究などの凍結血漿検体を最新プロテオーム及びメタボローム技術を用いて定量解析し、膵がんの早期・リスクマルチバイオマーカーを同定することを目的とした。本研究開発においては約 600 例の血漿・血清検体のプロテオーム解析を計画した。この計画実現のために、これまでに開発を進めてきた基盤技術（1. 自動前処理、2. ハイスループット LC-MS、3. 自動高速データ解析技術）に加えて、本研究では自動前処理装置の改良によるサンプル前処理性能の向上に取り組んだ。具体的には、開発自動前処理ロボットには組み込まれていなかった脱塩処理をデバイスの改良によって 192 サンプルを同時に固相抽出することが可能となった。その結果、多検体計測時の LC-MS の感度低下が防止され、安定したハイスループット多検体計測が可能となった。本計測技術を用い、これまでの解析で膵がんバイオマーカーの候補として挙がっていた 6 分子について早期膵がん(stage I,II)に焦点を絞った検証セット（早期膵がん 65 例、コントロール 8 例）について内部標準ペプチドを添加した定量解析を実施した。その結果、2 分子が有意に早期膵がん血漿において変動していることを見いだした。これら分子は CA19-9 陰性患者血漿において変動していることが確認された。ステップワイズロジスティック解析によってこれら 2 分子と CA19-9 を含む診断式を作成した結果、CA19-9 と比較し、有意の ROC 曲線の AUC を上昇させることがしめされた。早期膵がんだけでなく Stage I-IV を含む検証セット（膵がん 101 例、健常 38 例）においても AUC で CA19-9 に対して有意の向上効果が認められた。これらのマーカー候補分子に関しては特許を出願し、また、成果を論文として投稿した。また熊本大学には早期膵がん検証セットの一部（早期膵がん 20 例、コントロール 20 例）を探索セットして新たにバイオマーカー探索を行い、複数の候補タンパク質を同定した。さらに、各 10 例を加えそれぞれ 30 例で内部標準ペプチドを添加し、検証を行った結果、複数の同定ペプチドを AUC=0.93 で早期膵がん患者を健常コントロールから分離可能であることが示された。これらの解析に加えて、「多目的コホート研究（JPHC Study）」により収集された血漿検体から膵がん診断前に採取された血漿検体を抽出し、症例 170 例とコントロール 340 例（合計 510 例）に対して早期膵がん定量したマーカー候補分子の定量を完了した。メタボローム研究においては、ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは、液体クロマトグラフ質量分析計を用いた 4 つの代謝物分析プラットフォームにより、早期膵がん検体、ならびに、膵がんコホート検体の測定を行い、膵がんに対する早期、及び、リスクマーカー探索を実施した。膵がんコホート検体を用いた膵がんリスクマーカー候補探索に関しては、症例と対照の検体数が 1:2 の検体セットの代謝物分析を行ったものの、膵がんリスクを示す代謝物バイオマーカー候補を見出すことはできなかった。一方、早期膵がん検体を用いた早期膵がんマーカー候補探索に関しては、代謝物 A と代謝物 B の 2 種類の代謝物を組み合わせたモデルが、早期膵がんと健常との判別に対して、AUC 値が 0.83 であることを確認でき、このモデルが早期膵がんの発見に有用である可能性を明らかにできた。