

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：RNA 測定による膵癌血液診断法の実用化研究
2. 研究開発代表者：金子 周一（金沢大学医薬保健研究域医学系）
3. 研究開発の成果

本研究は、血液において消化器癌の有無により発現が変動する遺伝子群のメッセンジャーRNA を測定し消化器癌を診断する既開発済の「消化器がんマイクロアレイ血液検査」を、膵癌を高精度に診断する「膵癌血液 mRNA 測定検査」に改良、実用化を目的とする。業務項目「膵癌の病態解析と膵癌高精度判定血液 RNA 測定診断薬の開発」では、膵癌の病態解析、膵癌高精度判定血液 mRNA 測定診断薬への改良開発を実施する。業務項目「膵癌高精度判定血液 RNA 測定診断薬の臨床性能試験」では、「膵癌血液 mRNA 測定検査」の臨床性能試験案策定、医薬品・医療機器総合機構の体外診断用医薬品対面助言の実施、臨床性能試験実施、体外診断用医薬品承認申請を実施する。平成 27 年度での研究開発成果は、以下の通りである。

業務項目「膵癌の病態解析と膵癌高精度判定血液 mRNA 測定診断薬の開発」では、膵癌病態解析を実施した。膵癌患者(5 例)および対照健常者(7 例)の末梢血液について、全血液、および細胞分画を分離、それぞれの mRNA 発現について DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。階層クラスタリング解析で、全血液、および細胞分画では CD14+細胞と CD4+細胞が、膵癌、健常者それぞれを多数含む 2 つのクラスターを形成した。膵癌 31 例、健常者 22 例より末梢血液 CD14 細胞、CD4 細胞を分離、同様に遺伝子発現解析を行った。CD14 分画、CD4 分画において膵癌と健常者で発現に差を認めた遺伝子は、細胞周期の活性化に加え、各細胞分画に特徴的な免疫応答活性に関係するプロセスが示された。膵癌切除組織における炎症状態の解析について、外科的切除治療をうけた膵癌患者 20 例の膵癌組織について、炎症細胞集簇の特徴を免疫染色にて検討した。膵癌局所には、CD33+好中球エラスターゼ陰性の単球/マクロファージ系細胞、CD4+細胞の著明な集簇を認めた。これらより、膵癌の存在によって全末梢血液細胞の遺伝子発現変化が生じること、末梢血液細胞分画および膵癌局所において CD4+細胞および単球/マクロファージ系細胞がともに膵癌に伴う炎症細胞の反応に重要な役割を担うこと、が示唆された (Cancer Sci 2015)。

また、RNA 測定診断薬「消化器がん PCR アレイ血液検査」での膵癌 28 例、健常者 27 例の全血液遺伝子発現データより膵癌の血液で有意に発現変動を示す遺伝子について、リアルタイム定量 PCR にて発現データを確認し、生物統計解析により、膵癌に反応し、診断に有用である遺伝子群を同定、感度、特異度より最も膵癌判別に優れていると考えらえた 56 遺伝子を決定した。この 56 遺伝子についての生物学的意義の解析では、マクロファージ、T リンパ球が関連する、細胞接着、抗原提示、血管形成、サイトカインシグナルが関連する生物学的ネットワークが示唆され、膵癌存在による癌局所および末梢血液細胞における生体反応に合致する特徴を有するものと考えられた。膵癌血液細胞において発現が変動する、これら 56 遺伝子を用いた膵癌判別式を生物統計学的に開発し、「遺伝子発現解析による膵臓癌の検出」として特許出願、成立した (特許第 5852759 号)。

業務項目「膵癌高精度判定血液 RNA 測定診断薬の臨床性能試験」では、開発する体外診断薬の膵癌検出の感度、特異度を主要評価項目とする臨床性能試験実施計画書、試験薬概要書資料を準備の上、医薬品・医療機器総合機構への体外診断用医薬品の対面助言を平成 27 年 10 月 2 日 (金) に実施、その後金沢大学附属病院受託研究審査委員会の承認を得た (平成 28 年 1 月 14 日)。臨床性能試験実施における症例登録システム、電子的データ収集システム(EDC)の準備が完了した。モニタリング手順書を完成した。