

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：がん細胞が生成する尿中蛋白質断片の検出を応用した肺腺癌早期診断システム樹立に関する研究

2. 研究開発代表者：教授 中里 雅光

(国立大学法人宮崎大学 医学部内科学講座 神経呼吸内分泌代謝学分野)

3. 研究開発の成果

研究代表者は研究分担者とともに、独自に開発した蛋白質網羅的末端構造解析法を用い、肺腺癌で特異的に検出される尿中蛋白質断片を発見した。本研究期間全体の目的は、これらの新規蛋白質断片候補について、肺腺癌早期診断における有効性を多面的かつ前向きに検証し、尿検体を用い検診への導入を目指した肺腺癌早期診断技術を確立することである。27年度は26年度に引き続き、5つの研究計画について国内5施設の呼吸器内科と呼吸器外科の症例を対象に臨床研究を継続した。本年度は515症例の臨床情報と血清と尿検体、32症例の早期肺腺癌症例の肺癌組織試料を収集した。平成26年10月28日の症例登録開始から734症例(研究期間3年間の目標症例数780例に対し1年5か月で94.1%を達成)の症例登録を完了し、順調に臨床研究を進めている。平成27年度に収集した症例の内訳は、計画(1)、(4)(肺腺癌例130例(うちI期肺腺癌65例)、非悪性呼吸器疾患例114例、他癌腫78例、重喫煙者24例、健常者24例)、計画(2)(重喫煙者40例、特発性肺線維症症例37例)、計画(3)(小型スリガラス病変症例36例)、計画(5)(肺腺癌例32例)であった(※宮崎大学、鳥取大学、徳島大学、国立がん研究センター東病院、宮崎東病院での収集症例数。重喫煙者と特発性肺線維症例で(1)、(2)に同時参加、肺腺癌例で(1)、(4)、(5)に同時参加あり)。

申請者の先行研究である次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム「癌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癌の早期診断システムの開発」(平成23年度-27年度)において、I期肺腺癌23例と健常者25名の尿検体を用い、iTRAQ試薬を用いた網羅的質量分析を行った。その結果、早期肺腺癌を高確率に診断する10種の新規蛋白質断片を見出した(蛋白質A-断片e; ROC-AUC 0.78, 感度78.2%, 特異度72%)。これまでの蛋白質の網羅的比較定量法に加え、特定の蛋白質の絶対定量を目的として、multiple reaction monitoring(MRM)解析を導入した。I期肺腺癌26例と健常者40例のMRM解析の結果、12種の有用な早期肺腺癌診断マーカー(蛋白質A-断片a; ROC-AUC 0.85, 感度77.2%, 特異度88.6%, 蛋白質B-断片a; ROC-AUC 0.82, 感度57.7%, 特異度97.5%)を見出した。さらに両蛋白質断片を用いたcombined assessment解析の結果、ROC-AUC 0.9, 感度81.8%, 特異度94.3%と極めて有望な結果が得られた。27年度に、本革新的がん研究事業の67検体についてMRM解析が終了した。

新規尿中蛋白質断片に対する抗体について、作成した16種の抗体のうち、2種の特異性をウェスタンブロッティングにて確認した。さらに、肺腺癌組織で新規蛋白質断片が検出されることを証明した。

平成25年度から継続している臨床検査製品企業との協賛を本年度5回実施し、平成27年10月に同企業との共同研究契約を締結した。検診事業への橋渡しを目指した、よりpopulation baseの臨床研究を企業より立案されており、ELISAキット作製に向けての技術的支援を行った。

本年度は178検体の血清CEA測定と8検体の肺腺癌組織中p16/CDH13プロモーター領域メチル化発現の解析と16検体の肺腺癌組織TTF1発現の解析を行った。27年度に研究班会議を3回実施した。