

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution

研究開発課題名： (日本語) 超高感度尿中微量蛋白質解析技術を用いた肺癌と膵臓癌の新規早期診断マーカー開発研究
(英語) Development of early diagnosis biomarkers for lung and pancreas cancer by mass spectrometric analysis of protein fragments in urine

研究開発担当者 (日本語) 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 教授 中里 雅光

所属 役職 氏名： (英語) Division of Neurology, Respirology, Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, University of Miyazaki, Professor, Masamitsu Nakazato

実施期間： 平成28年5月25日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 尿中蛋白質の質量分析
開発課題名： (英語) Mass spectrometric analysis of protein fragments in urine

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 蛋白質研究所 教授 高尾 敏文
所属 役職 氏名： (英語) Institute for Protein Research, Osaka University

分担研究 (日本語) 肺腺癌、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌の早期診断マーカー、治療効果や予後を予測するマーカーの探索①
開発課題名： (英語) Development of biomarkers for early diagnosis, treatment effects and prognosis of lung adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and small cell carcinoma.

- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人鳥取大学 分子制御内科学分野
教授 清水 英治
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Medical Oncology and Molecular
Respirology, University of Tottori, Professor Eiji
Shimizu
- 分担研究 (日本語) 膵臓癌の早期診断マーカー、治療効果や予後を予測するマ
ーカーの探索
- 開発課題名 : (英 語) Development of biomarkers for early diagnosis,
treatment effects and prognosis of pancreas cancer.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター東病院 肝胆膵内科
医員 大野 泉
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Hepatobiliary and Pancreatic Oncology,
National Cancer Center Hospital East, Medical Doctor,
Izumi Ono
- 分担研究 (日本語) 肺腺癌、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌の早期診断マーカー、治
療効果や予後を予測するマーカーの探索②
- 開発課題名 : (英 語) Development of biomarkers for early diagnosis,
treatment effects and prognosis of lung
adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and small cell
carcinoma.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター東病院 呼吸器外科
医員 青景 圭樹
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Thoracic Surgery, National Cancer Center
Hospital East, Medical Doctor, Keiju Aokage
- 分担研究 (日本語) 肺腺癌、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌の早期診断マーカー、治
療効果や予後を予測するマーカーの探索③
- 開発課題名 : (英 語) Development of biomarkers for early diagnosis,
treatment effects and prognosis of lung
adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and small cell
carcinoma.
- 研究開発分担者 (日本語) 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助教 松元信弘

所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Neurology, Respiriology, Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, University of Miyazaki, Assistant Professor, Nobuhiro Matsumoto

分担研究 (日本語) 肺腺癌、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌の早期診断マーカー、治療効果や予後を予測するマーカーの探索④

開発課題名 : (英 語) Development of biomarkers for early diagnosis, treatment effects and prognosis of lung adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and small cell carcinoma.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人宮崎大学医学部社会医学講座
データマネジメント分野准教授 有村保次

所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Data Management, Department of Social Medicine, University of Miyazaki, Associate Professor, Yasuji Arimura

分担研究 (日本語) 肺腺癌、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌の早期診断マーカー、治療効果や予後を予測するマーカーの探索⑤

開発課題名 : (英 語) Development of biomarkers for early diagnosis, treatment effects and prognosis of lung adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and small cell carcinoma.

研究開発分担者 (日本語) 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助教 坪内 拓伸

所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Neurology, Respiriology, Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, University of Miyazaki, Assistant Professor, Hironobu Tsubouchi

II. 成果の概要（総括研究報告）

平成 28 年度は、肺扁平上皮癌、肺小細胞癌と膵臓癌を対象とした各施設間で統一した研究計画を立案し、検体管理や患者情報管理などの研究体制の構築を行った。

研究代表施設では CRF と臨床検体を各分担研究施設より受け取り、宮崎大学臨床研究支援センターの協力のもと症例登録数を把握する。さらに、宮崎大学臨床研究支援センターでは CRF の確認を行い、症例登録の進捗を確認するとともに症例臨床情報について不備、遺漏の無いよう、各分担施設へ適宜 CRF 内容確認、進捗確認を行う。研究代表施設では研究 ID、検体 ID、臨床情報がそろった尿検体を大阪大学蛋白質研究所へ送付する。大阪大学蛋白質研究所では尿検体の質量分析を実施し、測定結果を研究代表施設へ送付する。大阪大学蛋白質研究所から送付された測定結果は宮崎大学臨床研究支援センターにて統計解析用に作成されたデータシートへ入力され、この研究班内で共有することとした。

平成 28 年度は肺腺癌症例の新たな解析を行った。健常者 66 名を対照群として早期肺腺癌から進行期肺腺癌までを含めて 142 症例を対象とした。見出された 2 種の診断マーカー蛋白断片のうち、K1 蛋白断片 K1-A は肺腺癌に対して感度 51.4%、特異度 86.4%で、陽性率と偽陽性率の受信者動作特性曲線における曲線下面積（ROC-AUC）は 0.75 であった。K1 蛋白断片 K1-B では、感度 62.0%、特異度 91.0%で、陽性率と偽陽性率の ROC-AUC は 0.81 であった。また、対象を早期肺腺癌 71 症例のみに絞ると、健常者 66 名を対照群として、K1-A は早期肺腺癌に対して感度 88.7%、特異度 60.6%で、陽性率と偽陽性率の ROC-AUC は 0.68 であった。K1-B は感度 54.9%、特異度 83.3%で、陽性率と偽陽性率の ROC-AUC は 0.74 であった。これらの結果は平成 29 年 5 月の特許出願を念頭に、発明届を提出した。

進行肺腺癌患者において、脳転移と骨転移は QOL を障害しやすい重要な病態である。これらを早期に診断することは進行肺腺癌患者のケアにとって大きな価値を有する。次に進行肺腺癌患者を対象として、骨転移と脳転移を予測するマーカーの探索を行い、脳転移を予測するマーカー蛋白断片候補を 4 種、骨転移を予測するマーカー蛋白断片候補 3 種を同定した。脳転移を予測するマーカー候補断片 I は、脳転移に対して感度 45%、特異度 91%で、陽性率と偽陽性率の ROC-AUC は 0.66 であった。同様にマーカー候補断片 N の感度は 63%、特異度は 83%、ROC-AUC は 0.72、マーカー候補断片 S は感度 55%、特異度 85%、ROC-AUC 0.70、マーカー候補断片 F は感度 45%、特異度 88%、ROC-AUC は 0.68 であった。また、骨転移を予測するマーカー候補蛋白断片 Z は感度 54%、特異度 90%、ROC-AUC は 0.71 であった。同様に、マーカー候補断片 H は感度 69%、特異度 71%、ROC-AUC 0.7、マーカー候補断片 W は感度 63%、特異度 79%、RC-AUC 0.68 であった。

膵臓癌についても、健常者 49 名と転移を有する膵臓癌症例 18 例、局所進行例 8 例、切除可能例 9 例を対象とした解析を実施した。2 種の診断マーカー候補断片を探索し、その感度はそれぞれ 88.6%、85.6%、特異度は 81.6%、87.8%、ROC-AUC は 0.88、0.90 であった。

We planned clinical researches of lung squamous cell carcinomas, lung small cell carcinomas and pancreas carcinomas. To determine the research design, proper endpoints and adequate sample size, enough discussion was made 9 times in group meetings. This group has made a research system which manages clinical samples and information without deficiency or omission. In this system, University of Miyazaki receives and manages clinical samples and information from other facilities, and promotes patients entry.

This research group took over the part of data and samples of the preceding research of lung adenocarcinoma. To search a novel biomarker for the early detection of neoplasms, mass spectrometry of protein fragments in urine samples of the lung adenocarcinoma patients was done. Urine samples of 9 healthy volunteers and 58 advanced lung adenocarcinoma patients, and urine samples of 39 healthy volunteers and 39 early lung adenocarcinoma were analyzed. Two kinds of urine protein fragments, which were expected to become candidates for as early cancer markers, were found. The urine protein fragments K1-A provided 88.7% of sensitivity, 60.6% of specificity and 0.68 of the area under curve of a receiver operating characteristic (ROC-AUC). The urine protein fragments K1-B also provided 54.9% of sensitivity, 83.3% of specificity and 0.74 of the ROC-AUC. These results were reported to the AMED as the forms of invention notifying to make a patent application.

To investigate a novel biomarker for early detection of brain or bone metastasis, which influences the patients' quality of life seriously, the similar analyses described above were done. These analyses included a comparison between 24 lung adenocarcinoma patients with bone metastasis and 68 lung adenocarcinoma patients without bone metastasis, and the other comparison between 11 lung adenocarcinoma patients with brain metastasis and 41 patients without brain metastasis. From these analyses, three kinds of biomarker candidates for detecting bone metastasis, one of which provided 63% of sensitivity, 83% of specificity and 0.72 of the ROC-AUC, and seven kinds of biomarker candidates for detecting brain metastasis, one of which provided 54% of sensitivity, 90% of specificity and 0.71 of the ROC-AUC were found.

To search a novel biomarker for the diagnosis of pancreas cancer, urine samples of 49 healthy volunteers and 35 patients with pancreas cancer were analyzed. We found two kinds of urine protein fragments, which were candidates for detecting pancreas cancer. One protein fragments provided 88.6% of sensitivity, 81.6% of specificity and 0.88 of the ROC-AUC and the other fragments provided 85.7% of sensitivity, 87.8% of specificity and 0.90 of the ROC-AUC.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

本研究の成果は特許出願を予定しているため、現時点で成果の外部への発表は実施していない。

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Early Cancer Diagnosis by the Detection of Cancer-derived Proteins in Urine by a Novel MRM Technique について、口頭、中里雅光、柳重久、3rd JAPAN-US Workshop for Cancer Research、2016/03/03 国内
2. Development of early diagnostic biomarker candidates of lung cancer and pancreatic cancer by the detection of cancer-derived protein fragments in urine using the original MRM method について、口頭、中里雅光、4th Annual US Japan Workshop、2017/3/6、米国アリゾナ州

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし