

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) タンパク質・ペプチド修飾解析による早期がん・リスク疾患診断のための血液バイオマーカーの開発
(英語) Developing an early-detection and risk-stratification biomarkers for cancer by analyzing post-translational modifications to proteins and peptides.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター研究所
早期診断バイオマーカー開発部門 ユニット長 本田一文
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Biomarkers for Early Detection of Cancer, Laboratory Head, Kazufumi Honda
- 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) タンパク質・ペプチド修飾解析による早期がん・リスク疾患診断のための
開発課題名： 血液バイオマーカーの開発
(英語) Developing an early-detection and risk-stratification biomarkers for cancer by analyzing post-translational modifications to proteins and peptides.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター研究所
所属 役職 氏名： 早期診断バイオマーカー開発部門 ユニット長 本田一文
(英語) Department of Biomarkers for Early Detection of Cancer, Laboratory Head, Kazufumi Honda
- 分担研究 (日本語) 最先端質量分析技術を用いた早期がん・リスク疾患スクリーニングのための
開発課題名： バイオマーカーの開発
(英語) Exploration of an early-detection and risk-stratification biomarker for cancer screening using cutting-edge mass spectrometry

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人熊本大学大学院生命科学研究部 教授 大槻純男
所属 役職 氏名 : (英語) Faculty of Life Sciences, Kumamoto University,
Professor Sumio Ohtsuki

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

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中央病院
病理・臨床検査科 科長 平岡伸介
所属 役職 氏名 : (英語) National Cancer Center Hospital, Chief, Division of Pathology and
Clinical Laboratories, Nobuyoshi Hiraoka

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

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中央病院
肝胆膵内科医員 森実千種
所属 役職 氏名 : (英語) National Cancer Center Hospital, Staff, Department of
Hepatobiliary and Pancreatic Oncology, Chigusa Morizane.

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

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中央病院
先端医療科・呼吸器内科 医長 藤原豊
所属 役職 氏名 : (英語) National Cancer Center Hospital, Medical Director, Department of
Experimental Therapeutics and Department of Thoracic Oncology,
Yutaka Fujiwara..

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

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中央病院
消化管内科・腫瘍内科 医長 加藤健
所属 役職 氏名 : (英語) National Cancer Center Hospital, Head Physician, Gastrointestinal
Medical Oncology Division, Ken Kato.

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

研究開発分担者 (日本語) 学校法人東京歯科大学口腔顎顔面外科学講座 主任教授 柴原孝彦
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Tokyo Dental
College, Chief Professor, Takahiko Shibahara.

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

研究開発分担者 (日本語) 学校法人東邦大学医学部一般外科・消化器外科 教授 島田英昭
所属 役職 氏名 : (英語) Toho University School of Medicine, Professor, Hideaki Shimada.

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

研究開発分担者 (日本語) 学校法人日本医科大学呼吸器内科 講師 野呂林太郎
所属 役職 氏名 : (英語) Nippon Medical School, Department of Internal Medicine, Associate
Professor, Rintaro Noro.

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

研究開発分担者 (日本語) 独立行政法人国立病院機構大阪医療センター
副病院長 外科部長 中森正二
所属 役職 氏名 : (英語) National Osaka Hospital, Deputy Director, Shoji Nakamori

分担研究 (日本語) バイオマーカーの体外診断薬承認に必要な血液検体の集積
開発課題名 : (英語) Sample collection for application to in vitro diagnostics.

研究開発分担者 (日本語) 学校法人兵庫医科大学上部消化管外科 准教授 菊池正二郎
所属 役職 氏名 : (英語) Hyogo College of Medicine, Division of Surgery, Associate
Professor, Shojiro Kikuchi.

分担研究 (日本語) 企業との共同研究推進・企業連携契約・知財管理
開発課題名 : (英語) Patent filing and alliance for the collaboration.

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産学連携推進室/知的財産戦略室
リサーチアドミニストレーター 大野源太
所属 役職 氏名 : (英語) National Cancer Center Office of Patent and Alliance,
Research Administrator, Genta Ohno.

II. 成果の概要（総括研究報告）

【日本語成果概要】

1) 早期がん診断・リスク疾患スクリーニング血液バイオマーカーの探索と迅速検証、同定されたバイオマーカーのキット化と性能評価

・既存研究試料を、国立がん研究センターおよび熊本大学の研究倫理審査委員会の承認を受けて、国立がん研究センター研究所と熊本大学に配布し、探索研究開始した。

・多数の血漿・血清のプロテオーム解析のための **data independent acquisition mass spectrometry (DIA MS)** 解析系の確立した。

・DIA MS 解析のための要素技術を開発し、既存血液試料を使ったバイオマーカーの探索的研究を開始した。膵がん、胃がん、大腸がん、食道がん、肝がん、胆道(肝外胆管)がん、健常者の血漿検体の DIA MS 情報を取得した。

2) 先行研究で同定された膵がんバイオマーカーの検証

・RPPA で同定された膵がんの血液バイオマーカー候補等に対して標準ペプチドを作成し、MRM を用いて絶対定量解析系を確立した。MRM で計測された血清中の IGFBP2, IGFBP3 タンパク質量と CA19-9 の組み合わせが、CA19-9 単独での手術可能期膵がん患者の検出に比較して有意に判別性能を押し上げることを明らかにした。本発見を論文発表した (Yoneyama et al. PLoS One 2016)。

・RPPA で同定された膵がんの血液バイオマーカー候補を特許化し、秘密保持契約の上、企業に提示し、共同研究にて ELISA 検査系の構築を開始した。

3) 対外診断薬事承認を見据えた血液試料の収集

国立がん研究センターが代表研究機関および研究事務局となり、国立がん研究センター倫理委員会での研究承認を得た。各分担機関での倫理審査が開始され、一部の分担機関で研究が承認された。

【英語成果概要】

1. Developments and evaluations of the blood biomarkers for cancer detection, and establishment of the diagnostic kits/

A. Sample sharing for exploratory research into an early-detection and risk-stratification biomarker for cancer screening using cutting-edge technology for proteomic analyses.

Plasma and serum samples were shared between the National Cancer Center and Kumamoto University, in accordance with the instructions issued by the ethics offices of the National Cancer Center and Kumamoto University.

B. Establishment of a measurement system by data-independent acquisition mass spectrometry (DIA MS).

We have finished developing the measurement systems for DIA MS, and have started exploratory research into an early-detection and risk-stratification biomarker for cancer screening using the cutting-edge technology of mass spectrometry. We obtained plasma proteomic profiles from patients with carcinoma of the pancreas, stomach, colon, esophagus, or liver, and also from healthy subjects.

2. Validation of clinical utility of plasma biomarkers which was developed by previous studies.

We validated the clinical usefulness of plasma biomarkers identified by reverse-phase plasma microarray (RPPA) using MRM technology. Combination assay with IGFBP2, IGFBP3 and CA19-9 could distinguish patients with pancreatic cancer from healthy subjects, in comparison with a single CA19-9 assay. This accomplishment was published in a scientific journal (Yoneyama et al. *PLoS One* 2016).

3. Collections of clinical materials from multiple medical institutions.

We obtained ethical approvals for starting the project from the ethics offices of each participating institute. Collection of blood samples has been started from multiple medical institutions.

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 3 件）

1. Yoneyama T, Ohtsuki S, **Honda K**, Kobayashi M, Iwasaki M, Uchida Y, Okusaka T, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Kaneda T, Kato T, Yagihara K, Fujita S, Huang W, Yamada T, Tachikawa M, Terasaki T. *PLoS One*. 2016 Aug 31;11(8):e0161009. doi: 10.1371/journal.pone.0161009.
2. **Honda K**, Srivastava S. Potential usefulness of apolipoprotein A2 isoforms for screening and risk stratification of pancreatic cancer. *Biomark Med*. 2016 Nov;10(11):1197-1207. Epub 2016 Sep 27.
3. Hirata Y, Kobayashi T, Nishiumi S, Yamanaka K, Nakagawa T, Fujigaki S, Iemoto T, Kobayashi M, Okusaka T, Nakamori S, Shimahara M, Ueno T, Tsuchida A, Sata N, Ioka T, Yasunami Y, Kosuge T, Kaneda T, Kato T, Yagihara K, Fujita S, Yamada T, **Honda K**, Azuma T, Yoshida M. Identification of highly sensitive biomarkers that can aid the early detection of pancreatic cancer using GC/MS/MS-based targeted metabolomics. *Clin Chim Acta*. 2017 Feb 16;468:98-104. doi: 10.1016/j.cca.2017.02.011.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. **Honda K**. A plasma biomarker for the detection of early-stage pancreatic cancer and risk diseases for pancreatic malignancy using antibodies for apolipoprotein-A2 isoforms. **Fourth Annual US Japan Workshop on Cancer Biomarkers in Collaboration with NCI Early Detection Research Network** Tempe Mission Palms Hotel and Conference Center Tempe, Arizona, U.S.A. 2016 (シンポジウム)
2. **Honda K**. Clinical application of plasma biomarkers for early detection of pancreatic cancer identified from proteomic profile. **The 8th Asia Oceania Human Proteome Organization (AOHUPO) Congress**, 2016 September, Sun Moon Lake Taiwan. Invited speaker. (シンポジウム)

3. **Chigusa Morizane**. Japanese Familial Pancreatic Cancer Registry by Japan Pancreas Society. シンポジウム、第47回日本膵臓学会大会、第20回国際膵臓学会大会、第6回アジアオセアニア膵臓学会 合同大会 (IAP&JPS&AOPA) . 2016/8/4-6, 国内.
4. **大槻 純男**: MS/MS ALL (SWATH-MS)を活用したエコ・プロテオミクスへの展開、日本プロテオーム学会 2016年大会、2016年7月28日、東京
5. **大槻純男**:プロテオミクスを基盤とするバイオマーカー開発と応用、日本薬物動態学会第31回年会、2016年10月13日、松本
6. **大槻純男**:多様化するLC/MSシステムによるタンパク質定量、第8回JBFシンポジウム、2017年2月8日-9日、東京

(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