

第146回日本医学会シンポジウム

がんの非侵襲的診断法の最前線

期日 平成26年12月18日（木）

会場 日本医師会館

日 本 医 学 会

第 146 回日本医学会シンポジウム

がんの非侵襲的診断法の最前線

日 時：平成 26 年 12 月 18 日（木）13：00～17：00

場 所：日本医師会館 大講堂

〒113-8621 東京都文京区本駒込 2-28-16

TEL 03-3946-2121（代）

13：00 開会の挨拶 高 久 史 磨（日本医学会長）

13：05 序論 坂 元 亨 宇（慶應義塾大学医学部 病理学）

I. 新規腫瘍マーカー （座長）坂 元 亨 宇（慶應義塾大学医学部 病理学）

13：15 1. 糖鎖解析による疾患バイオマーカー探索の最前線
成 松 久
（(独)産業技術総合研究所 糖鎖創薬技術研究センター）

13：40 2. メタボローム解析による腫瘍マーカー探索
曾 我 朋 義
（慶應義塾大学先端生命科学研究所）

II. リキッド・バイオプシー （座長）西 尾 和 人（近畿大学医学部 ゲノム生物学）

14：05 3. リキッド・バイオプシーによるがんの最適化診断
山 本 信 之
（和歌山県立医科大学 内科学第三講座）

14：30 4. 体液中の細胞外分泌顆粒による新規がんバイオマーカーの開発
落 谷 孝 広
（(独)国立がん研究センター研究所
分子細胞治療研究分野）

III. In vivo イメージング （座長）藤 井 博 史 （(独)国立がん研究センター東病院 機能診断開発分野）

14：55 5. 上部消化管がん内視鏡診断の最前線
炭 山 和 毅
（東京慈恵会医科大学 内視鏡科）

- 15：20 6. PETによる腫瘍分子イメージング
西山佳宏
(香川大学医学部 放射線医学)
- 15：45 休憩
- 16：00 総合討論 (司会) 坂元亨宇 (慶應義塾大学医学部 病理学)
西尾和人 (近畿大学医学部 ゲノム生物学)
藤井博史
(独) 国立がん研究センター東病院 機能診断開発分野)
- 16：55 閉会の挨拶 門田守人 (日本医学会副会長)
- 17：00 終了
-

第146回日本医学会シンポジウム組織委員

坂元亨宇 西尾和人 藤井博史

I. 新規腫瘍マーカー

1. 糖鎖解析による疾患バイオマーカー探索の最前線

成 松 久

(独) 産業技術総合研究所 糖鎖医工学研究センター

(現 糖鎖創薬技術研究センター)

我々、産総研糖鎖センターでは過去13年にわたり糖鎖研究に必須な基盤技術を開発してきた。それらは、糖鎖遺伝子の網羅的な発見とライブラリー化、それをリコンビナント酵素として発現し、糖鎖ライブラリー、糖ペプチドライブラリーの構築、それを利用しての糖鎖構造解析技術の研究開発と進めてきた。

現在は、独自に開発した糖鎖科学技術を用いて、疾患糖鎖バイオマーカーを開発している。主に使われた技術は、①レクチンマイクロアレイ¹⁾、②IGOT-LC/MS²⁾、③Bioinformatics³⁾、④SMME法⁴⁾、⑤qPCR法⁵⁾による全糖転移酵素発現測定、⑥MALDI-Tof-MSによるTandem MS (MSn)法⁶⁾⁷⁾などである。まずレクチンマイクロアレイにて、病理組織標本上の非疾患部と疾患部を区別できるレクチンを選別する。そのレクチンに結合する糖タンパク質を、培養細胞上清、患者病理組織、患者血清から同定する。正常人からも同様に同定をし、患者特有に存在する糖タンパク質を選別する。数百にもものぼる候補分子を、バイオインフォマテイクス技術により、優先順位をつける。優先順位の高い糖タンパク質から順に、コンベンショナルな手法にてバイオマーカーとしての可能性を確かめる。最終的に、レクチン-抗体によるサンドウ

イッチ系を開発する⁸⁾。

このようにして選別、実証された分子の例として、卵巣癌（明細胞癌）マーカーとしてのWFA-CP⁹⁾、胆管癌マーカーとしてのWFA-MY¹⁰⁾、肝線維化マーカーとしてのWFA-M2BPの臨床上の有用性について詳述する¹¹⁾。特に、後者のWFA-M2BPは、簡便にだれでも自動測定できるように開発され、薬事承認も認可され、すでに市販されるまでに至っている。糖鎖科学の基盤技術開発からそれを応用することにより実用化にまで至った好例である。

参考文献

- 1) Kuno A, et al. Nat Methods. 2005 ; 2 (11) : 851-856.
- 2) Kaji H, et al. Nat Biotechnol. 2003 ; 21 (6) : 667-672.
- 3) Kikuchi N, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2003 ; 310 (2) : 574-579.
- 4) Matsuno YK, et al. Electrophoresis. 2011 ; 32 (14) : 1829-1836.
- 5) Ito H, et al. J Proteome Res. 2009 ; 8 (3) : 1358-1367.
- 6) Kameyama A, et al. Analytical Chemistry. 2005 ; 77 (15) : 4719-4725.
- 7) Ito H, et al. Nat Methods. 2007 ; 4 (7) : 577-582.
- 8) Narimatsu H, et al. FEBS J. 2010 ; 277 (1) : 95-105.
- 9) Sogabe M, et al. J Proteome Res. 2014 ; 13 (3) : 1624-1635.
- 10) Matsuda A, et al. Hepatology. 2010 ; 52(1) : 174-182.
- 11) Kuno A, et al. Sci Rep. 2013 ; 3 : 1065.

2. メタボローム解析による腫瘍マーカー探索

曾 我 朋 義

慶應義塾大学先端生命科学研究所

細胞内外の代謝産物を網羅的に測定するメタボローム解析は、代謝経路や代謝調節機構の解明、遺伝子やタンパク質の機能解明から疾患やがんの機序の解明、病態の診断、各種のバイオマーカー探索などに有効な解決策を与える方法論として期待されている。しかしながら、代謝産物は、物理的・化学的性質が多様であり、これらの代謝物質を一斉に測定することは極めて困難である。演者らは、代謝産物のほとんどが電荷を持つことに着目し、イオン性物質に対して、高分離能を有するキャピラリー電気泳動(CE)と高い選択性と感度を有する質量分析計(MS)を組み合わせたCE-MS法¹⁾²⁾を開発し、数千種類の代謝物の一斉分析を可能にした。

本法により、237例の各種の肝臓疾患患者の血清測定から、 γ -glutamyl dipeptide類がほとんど全ての肝疾患で増加していることを見出した³⁾。 γ -glutamyl dipeptide類は、

グルタチオンが生合成される際に副産物として生成されることや、このマーカーによって、各種の肝臓疾患患者(薬剤性肝炎、B型持続性感染、慢性B型肝炎、C型持続性感染、慢性C型肝炎、C型肝炎硬変、C型肝炎細胞がん、単純性脂肪肝、非アルコール性脂肪性肝疾患)を高い精度でスクリーニングができることを確認した³⁾。また、膵臓がんや口腔がんなどがん患者の唾液のメタボローム解析によって、各種のがんで唾液中の代謝産物濃度が異なっていることを見出した⁴⁾。本講演では、メタボローム解析を用いた腫瘍マーカー探索の最新の知見を紹介したい。

参考文献

- 1) Soga T, et al. J Proteome Res. 2003 ; 2 : 488-494.
- 2) Soga T, et al. J Biol Chem. 2006 ; 281 : 16768-16776.
- 3) Soga T, et al. J Hepatol. 2011 ; 55 : 596-605.
- 4) Sugimoto M, et al. Metabolomics. 2010 ; 6 : 78-95.

II. リキッド・バイオプシー

3. リキッド・バイオプシーによるがんの最適化診断

山 本 信 之

和歌山県立医科大学 内科学第三講座

がん診療における個別化医療推進のためには、個々の患者における遺伝子変異含む分子生物学的な性質を明らかにし、それに基づく最適な治療選択を行うことが重要である。また薬剤開発における成功率の向上および承認の迅速化のためにも、個々の患者における標的分子となり得る分子生物学的情報は欠かせない。

同時に、より正確ながんの診断のためには、リアルタイムでのモニタリングが不可欠となりつつあり、低侵襲な検査法の確立が必要とされている。その実現のため、固形がんの診断において、循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cells: CTC) やセルフリーDNAがリキッド・バイオプシーとして注目を集めている。例えば、乳がんの診断、治療においては従来の画像診断のみに頼る治療効果判定とCTCを用いた治療効果判定を比較する第III相試験が実施されてい

る。また、治療効果判定や再発後の化学療法レジメンの最適化のために、腫瘍組織の代替組織として、CTCやセルフリーDNAを利用したリアルタイムでの遺伝子変異等の検討が行われており、例えば、非小細胞肺癌のEGFR遺伝子変異については、リキッド・バイオプシーでの検討が大きな注目を集めている。

我々は、肺がんにおけるドライバー変異の検出を実施し、各変異の頻度を明らかにするとともに、その結果を臨床情報として活用する取り組みを2011年7月より開始している。また、低侵襲な検査法として、CTCやセルフリーDNAを利用した診断の開発に、主に肺がんにおいて取り組んでいる。本シンポジウムでは、固形腫瘍における個別化がん医療の取り組みについて概説を行い、リキッド・バイオプシーに関する我々のこれまでの取り組みについて紹介したい。

4. 体液中の細胞外分泌顆粒による新規がんバイオマーカーの開発

落谷 孝広

(独) 国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野

分泌型 microRNA の生物学的意義が論じられるようになったきっかけは、2007 年にスウェーデン人のグループによってもたらされた細胞小胞顆粒 (exosome: エクソソームを中心とする extracellular vesicles) 中の microRNA の発見である。これを契機に、エクソソームを介した細胞間 microRNA 移送による未知の情報伝達機構の存在が明らかになり、胞外に放出される分泌型 microRNA やナノサイズのエクソソームそのものの生物学的意義の解明に対する挑戦が世界中で活発化した。

がんの場合、がん細胞は単独で存在するのではなく、周囲の様々な細胞やマトリックスと相互作用をしながら集団として成長する。こうした生体局所の微小環境にがん細胞が適応するため、直接的な細胞間相互作用や、パラクライン的なタンパク質の放出のみならず、エクソソームに内包させた特定の機能を有する microRNA を、例えば、浸潤転移に必要な周囲の血管内皮やリンパ管細胞に付与する事で、がん細胞自身の立場を有利に導くようなシステムが構築されている。実際に、血管新生を促進するような microRNA や抗腫瘍に働く免疫細胞を抑制する microRNA などがエクソソームに存在する事が証明されている。さらに、分泌型 microRNA は、血液や尿、唾液などの体液に見つかるため、従来の針生検に比較して、非侵襲的かつ危険性も少ない liquid biopsy を実現するための理想的な

対象として浮上した。本講演では、こうしたエクソソームやエクソソームが介在する microRNA による疾患のマイクロマネージメントの実態や新しい診断応用の可能性について概説するとともに、エクソソームによるがん転移メカニズムに対する新しい理解や、non-codingRNA デリバリーによる治療戦略についても言及する。

参考文献

- 1) Yoshioka Y, et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nature Commun.* 2014 ; 5 : 3591.
- 2) Ono M, et al. Exosomes secreted by bone marrow-derived mesenchymal stem cells regulate cancer stem cell dormancy. *Science Signal.* 2014 ; 7 (332) : ra63.
- 3) Yoshioka Y, et al. Comparative marker analysis of extracellular vesicles in different human cancer types. *J Extracell Vesicles.* 2013 ; 2 : 20424.
- 4) Katsuda T, et al. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Proteomics.* 2013 ; 13 : 1637-1653.
- 5) Kosaka N, et al. Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2) -dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis. *J Biol Chem.* 2013 ; 288 : 10849-10859.
- 6) Katsuda T, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes. *Sci Rep.* 2013 ; 3 : 1197.
- 7) Kosaka N, et al. Circulating microRNA in body fluid : a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci.* 2010 ; 101 : 2087-2092.

Ⅲ. In vivo イメージング

5. 上部消化管がん内視鏡診断の最前線

炭 山 和 毅

東京慈恵会医科大学 内視鏡科

現在の内視鏡は、腺管開口部の配列を捉えることができる程、高精細・高解像度化が進んでいる。また、NBIやBLI, i-SCANなど画像強調技術の開発によって、光情報の中から腺管開口部の輪郭や毛細血管の走行の描出に有用なものを選択的に抽出できるようになった。およそ100倍まで拡大観察が可能な内視鏡と画像強調技術を併用すれば、癌組織表層の腺管構造の乱れや異常毛細血管を観察することができる。さらに近年になり、光学的顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡を小型化し内視鏡と一体化した顕微内視鏡技術の開発・臨床応用がすすみ、細胞レベルの生体活動を内視鏡的に観察することすら可能になっている。内視鏡分野における技術革新は高解像度化にとど

まらず、内視鏡挿入時の苦痛を軽減するカプセル型ワイヤレス内視鏡や最大330度まで広角観察が可能な複数のレンズを持つ内視鏡システムが開発され、腫瘍性病変の検出力が飛躍的に向上したとも報告されている。

一方、これら新しい技術は、いずれも他の技術や従来法を代替し得るものではなく、選択肢が増えることにより診断過程は複雑化している。診断精度の向上を実現するには、病変検出や鑑別診断、範囲診断、深達度診断など、内視鏡診断の各過程において、また、臓器・疾患別に、至適な技術を選択することが求められる。今回、各診断技術の利点と限界を概説し、今後の技術開発の展望についても考察したい。

6. PETによる腫瘍分子イメージング

西山佳宏

香川大学医学部 放射線医学講座

X線CTやMRによる画像が形態情報を与え、空間分解能は1mm前後で各種臓器の詳細な病変の検出が可能であるのに対し、核医学では空間分解能の悪さから形態画像としての役割は少なく、臓器組織の機能・代謝・受容体などの機能情報を与える。そして現在はPET装置とX線CT装置を一体化したPET/CT装置の開発により、機能画像であるPET画像にCT画像の解剖学的位置情報が追加されることによって、臨床的有用性が広く認識され、近年急速に普及している。分子イメージングは生体内の分子の働きや動きを可視化する技術で、分子プローブを用いたPETおよびPET/CTはその代表的なものである。腫瘍分子イメージングの標的としては、グルコース代謝、アミノ酸代謝、脂質代謝、細胞増殖、アポトーシス、低酸素細胞、受容体、血管

新生などが挙げられる。PET/CT検査で最も多く用いられているのはグルコース代謝を調べることができる ^{18}F -FDGである。細胞の生存や成長にはエネルギーが必要であり、その代表的なものがグルコースであり、そのグルコース利用率（代謝率）のイメージングを可能とするものであるが、 ^{18}F -FDGは腫瘍に特異性のあるものではない。より高い腫瘍特異性を求めて、DNAやタンパク質の合成の亢進を反映したイメージングが可能な核酸誘導体やアミノ酸誘導体、さらに腫瘍特有な組織環境をイメージングできる分子プローブなどの開発が行われている。

癌の診断や治療効果判定に関してPET分子イメージング診断法の役割について考えたい。

総合討論

(司会) 坂元亨宇
慶應義塾大学医学部 病理学

西尾和人
近畿大学医学部 ゲノム生物学

藤井博史
(独) 国立がん研究センター東病院 機能診断開発分野