



胆道癌FFPE組織を用いた網羅的プロテオーム解析による新規バイオマーカーの探索と検証

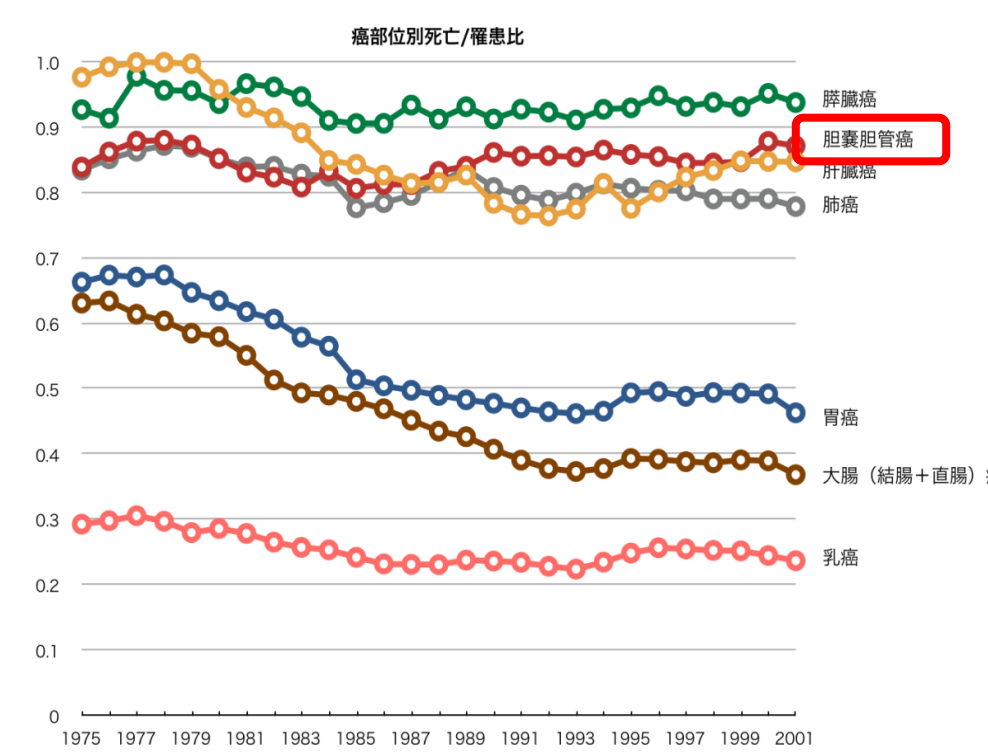
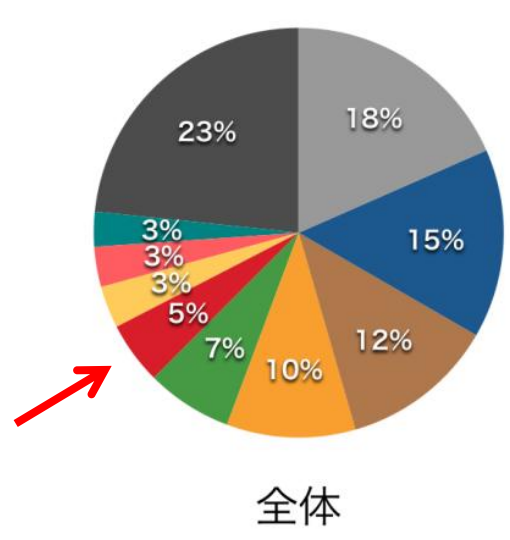
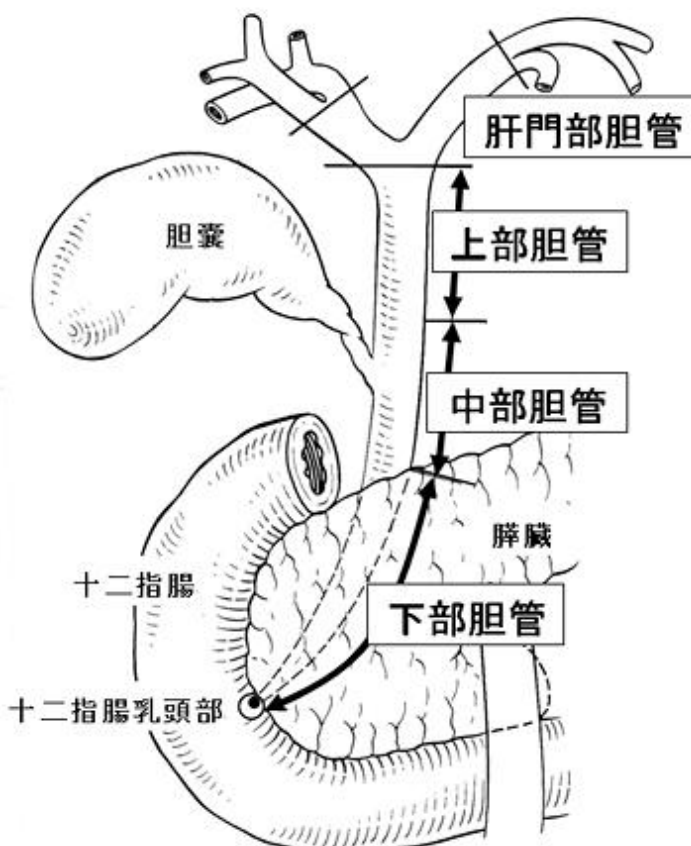
1)東北大学病院 肝胆脾外科、2)東北大学大学院医学系研究科 附属創生応用医学研究センター、
3)株式会社 バイオシス・テクノロジーズ、4)独立行政法人 物質・材料研究機構 ナノテクノロジー融合センター、5)ライカマイクロシステムズ株式会社、6)エーエムアール株式会社、7)東北大学大学院医学系研究科 統合がん治療外科学分野、8)東京医科大学 第一外科学講座



○前田晋平¹⁾、小野川徹^{1),2)}、三上紗弥香³⁾、竹村太郎⁴⁾、前田めぐみ⁵⁾、福田哲也³⁾、遠藤洋子³⁾、山田誠子⁵⁾、西山隆太郎⁵⁾、板東泰彦³⁾、
碓井史彦⁶⁾、高舘達之¹⁾、森川孝則¹⁾、力山敏樹¹⁾、片寄 友^{1),7)}、江川新一¹⁾、箕輪貴司⁴⁾、花方信孝⁴⁾、西村俊秀⁸⁾、海野倫明^{1),2)}

背景:

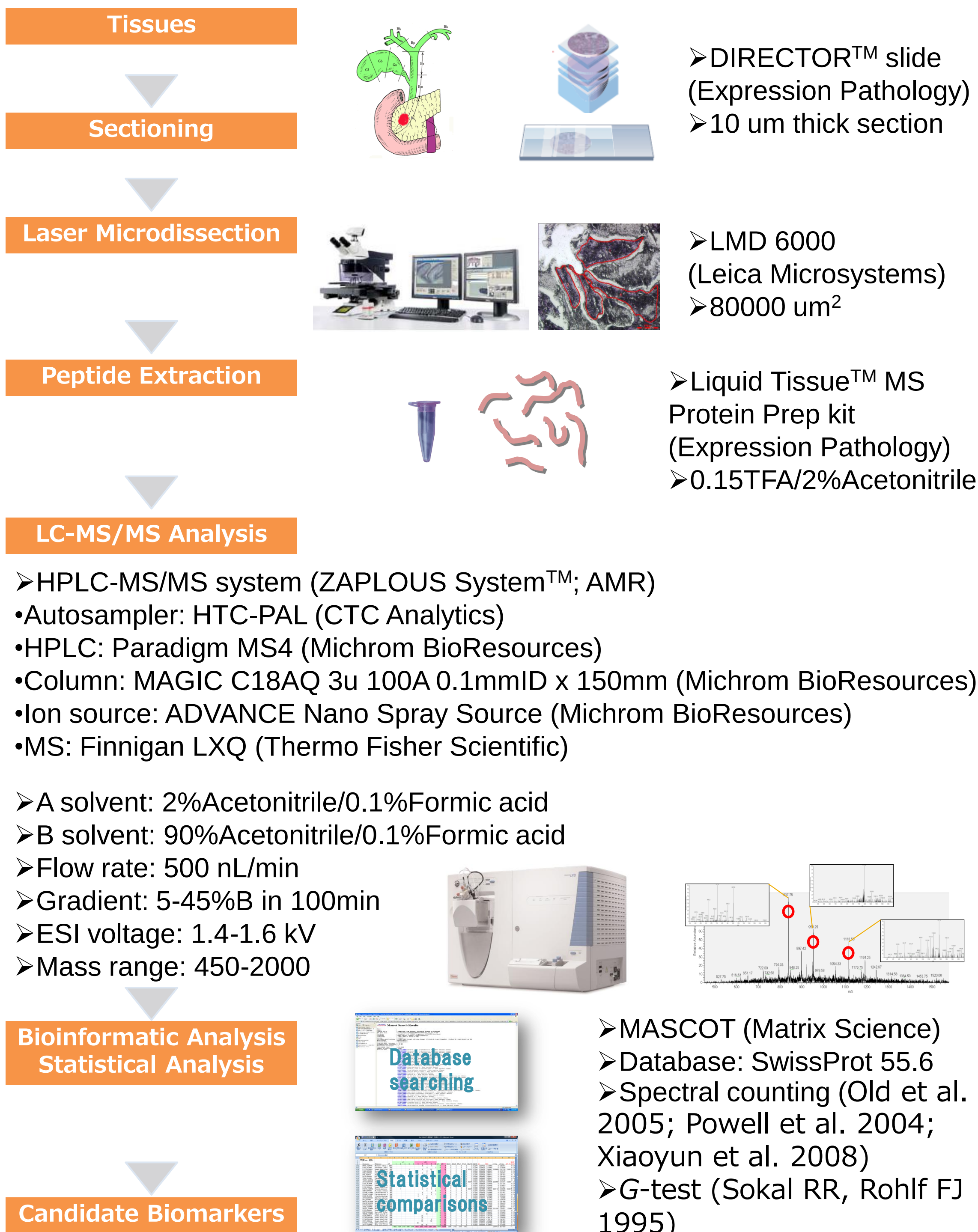
- ◆胆道癌は胆汁の通り道である胆道系に発症する悪性疾患で、肝外胆管癌・胆嚢癌・十二指腸がん到大別される。初期には症状がなく、癌が進行して胆管が塞がれると、黄疸・尿黄染・掻痒感などの症状がでてくる。早期診断症例は少なく予後不良な疾患であり、部位別がん死亡数では国内6番目に位置する。この30年間で治療成績の大きな改善は得られていない。
- ◆特異的な腫瘍マーカーはなく、診断・治療に有用な新規腫瘍マーカーの同定が求められる。
- ◆当科は多くの胆道系疾患を集積しており、手術摘出された胆道癌のホルマリン固定パラフィン包埋(Formalin-Fixed Paraffin-Embedded; FFPE)組織を豊富に有する。
- ◆生体内機能分子は多くの場合タンパク質であり、これまで行われてきた大規模遺伝子発現解析同様に、タンパク質レベルでの網羅的解析によるバイオマーカー探索が求められる。
- ◆FFPEは一般的な標本保存法であり、豊富な臨床情報を付帯しているためretrospectiveなバイオマーカー探索に有用であるが、ホルマリンによる共有結合的クロスリンクが障壁となりFFPE組織を用いたプロテオーム解析は困難とされてきた。
- ◆近年、FFPE組織からタンパク質を抽出する技術が開発され、Laser Microdissection (LMD)やMass Spectrometry (MS)、Bioinformaticsを組み合わせて網羅的なプロテオーム解析を行うことが可能となった。



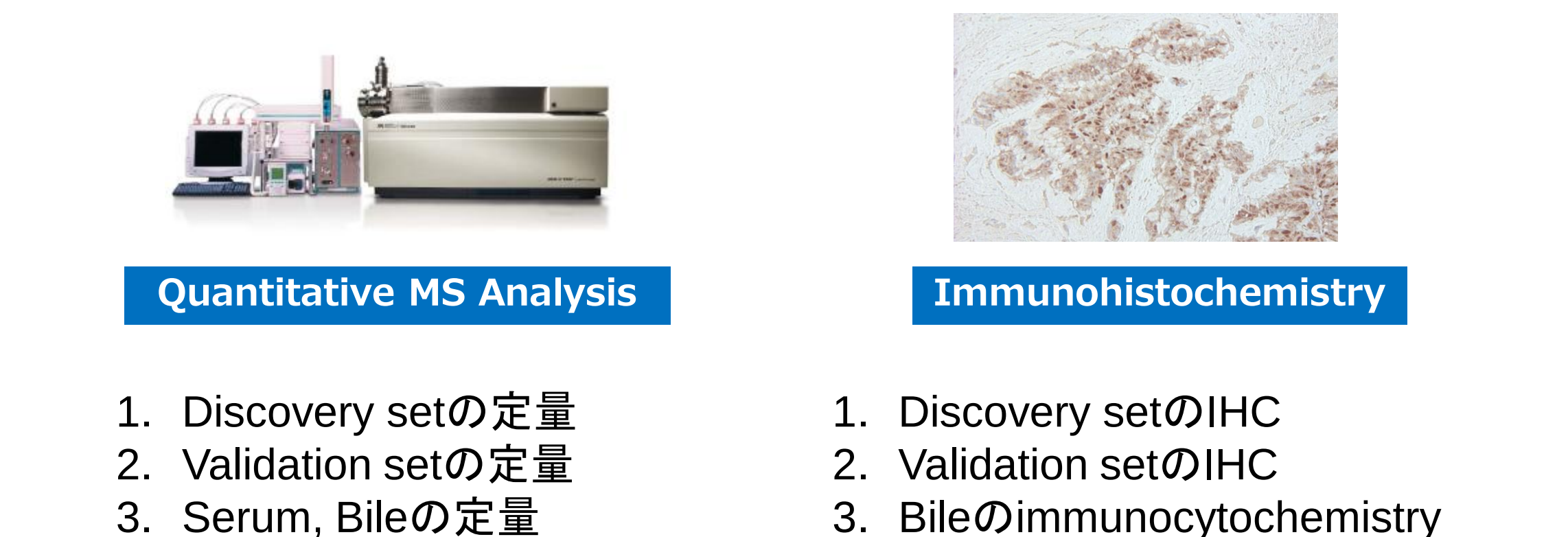
出典:国立がんセンターがん対策情報センター

方法:

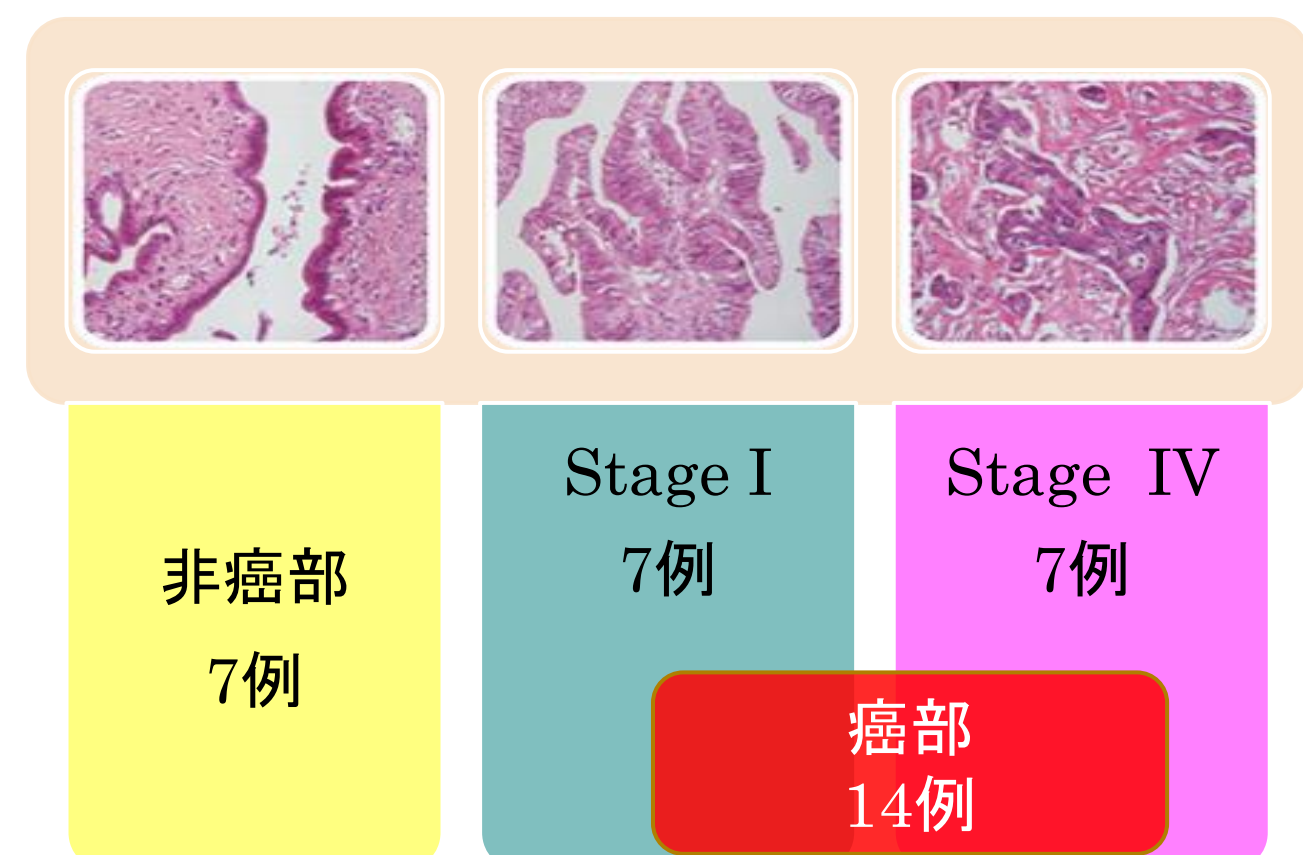
Discovery Stage



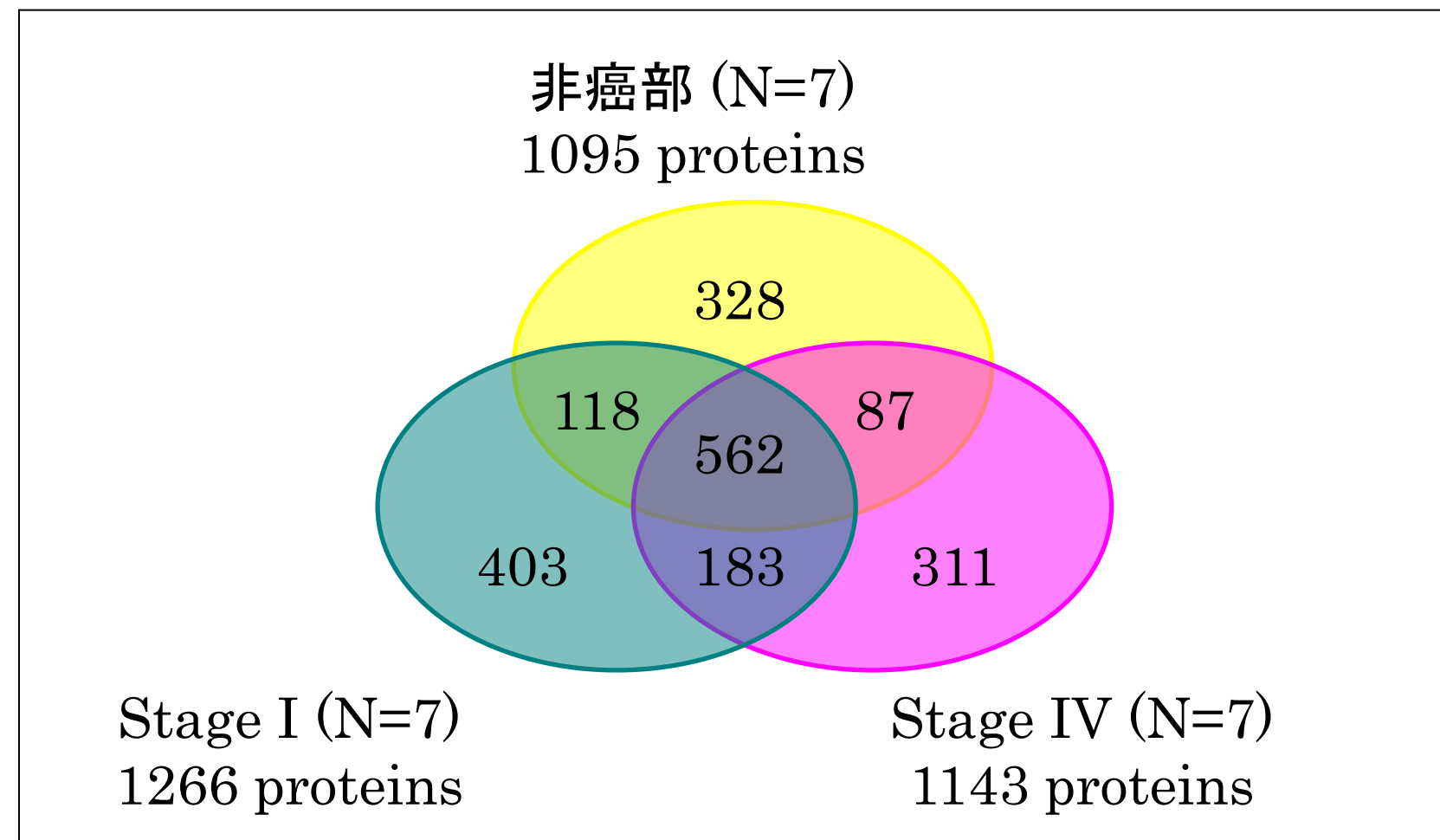
Validation Stage



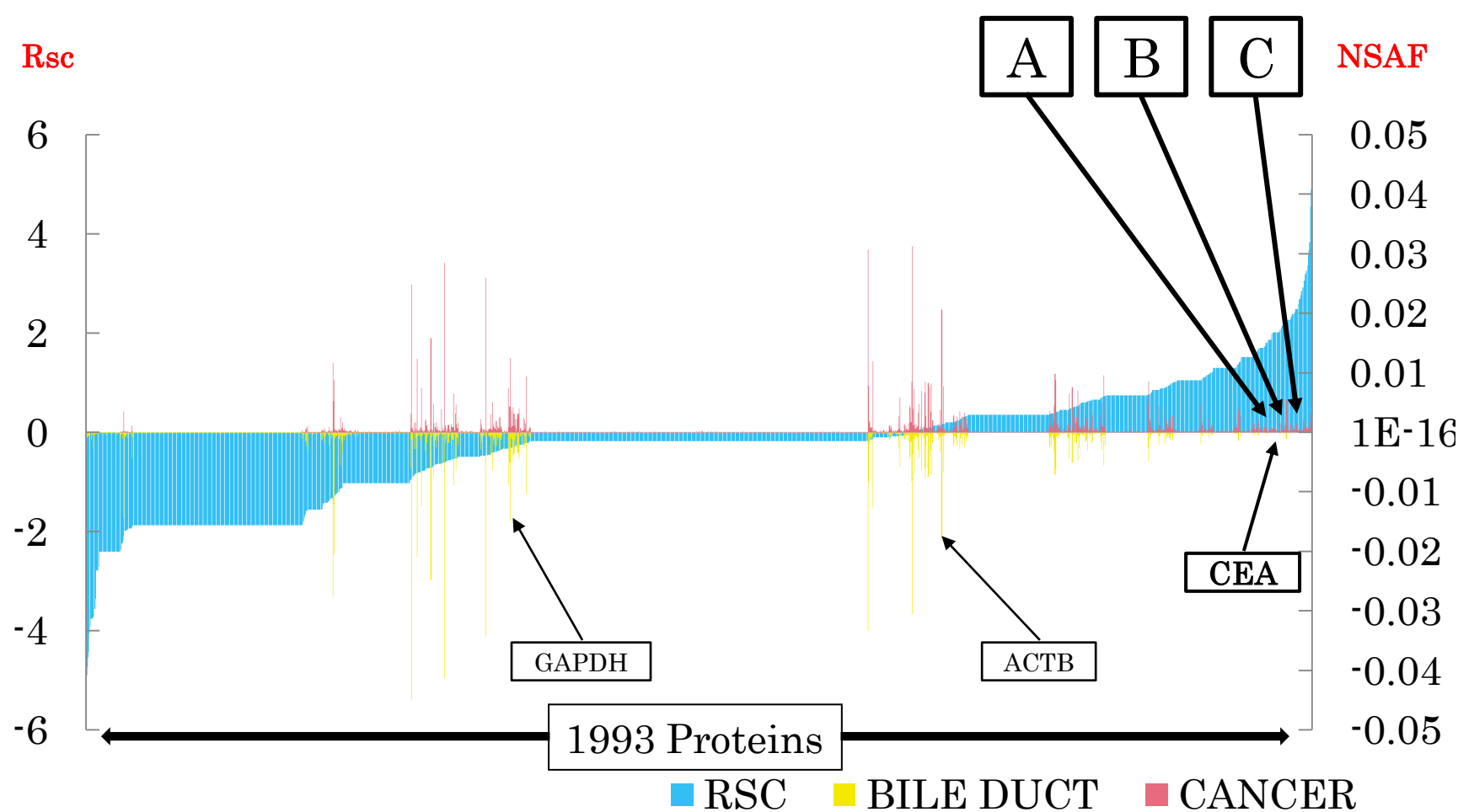
結果:



Discovery stageにおけるサンプル数

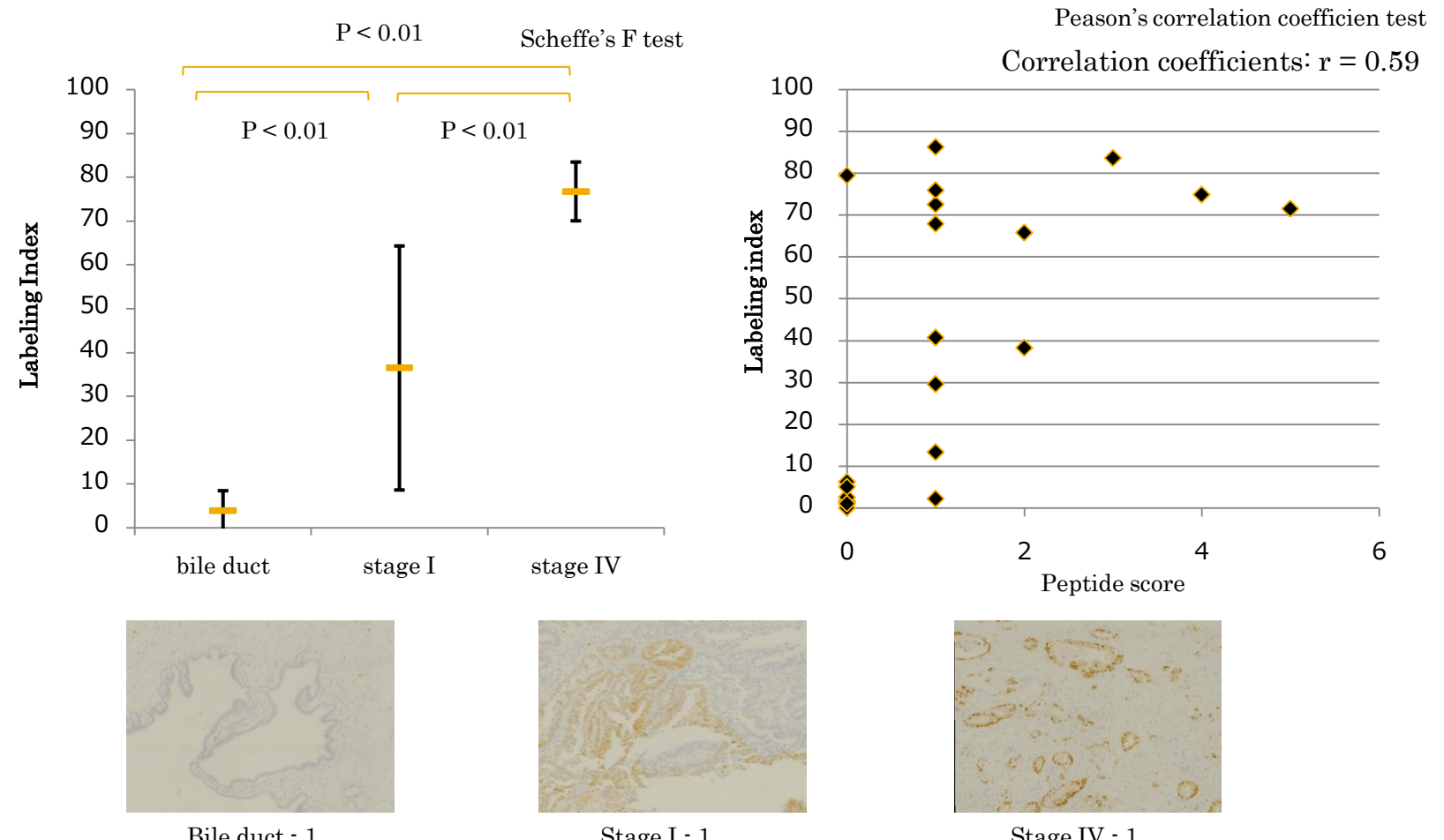


同定されたタンパク質数
◆1サンプル当たり平均428タンパク質。
◆計1993種 (非癌部1095、stage I 1266、stage IV 1143、癌部1664) のタンパク質を同定した。



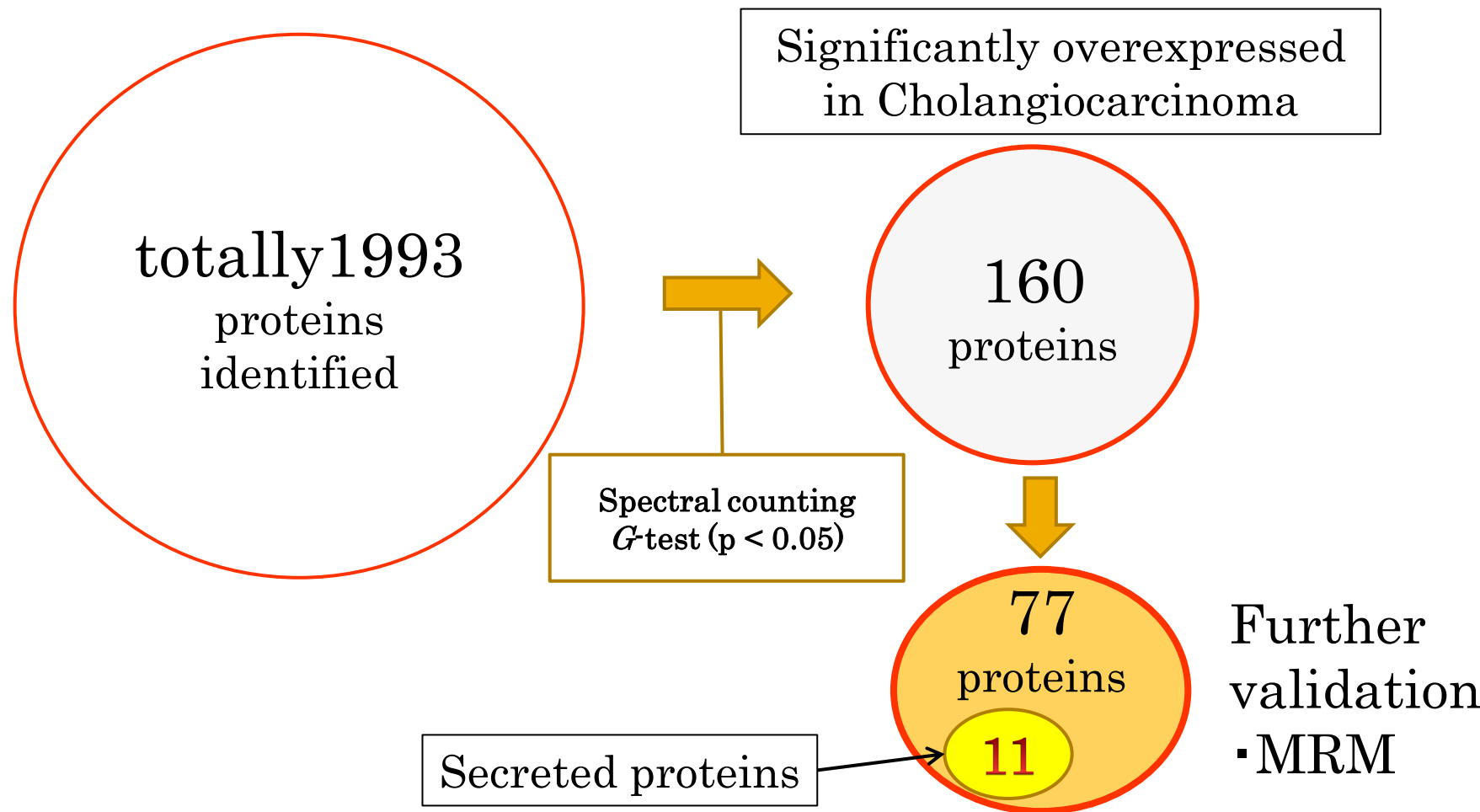
Spectral counting

- ◆非癌部と癌部の比較。X軸に全1993のタンパク質を羅列した。右に位置するほど癌部で発現が高い。
- ◆Housekeeping proteinのGAPDHやACTBは中央に位置し、既知の腫瘍マーカーCEAは右端に位置している。
- ◆右に位置するタンパク質が新規バイオマーカー候補となる。



Immunohistochemistry Protein A

- ◆Labeling Index (LI)法にて評価し、癌部で有意に高発現していることを確認した。
- ◆MS dataとLIに正の相関 (r = 0.59) が認められた。



新規バイオマーカー候補タンパク質

- ◆全1993のタンパク質から、癌部で有意に高発現する160種のタンパク質を同定した。
- ◆その中から11種の分泌タンパク質を含む77種を選択し、Multiple Reaction Monitoring定量測定を進行中である。

考察:

- ◆前立腺癌や肺がんでは本手法を用いた新規バイオマーカー探索の報告がなされ有用性が示されているが、胆道癌での報告はまだ無い。
- ◆MSを用いたFFPE組織の網羅的プロテオーム解析から、バイオマーカー候補を同定し、さらに血液や胆汁で検証を行う手法は有用と考えられる。
- ◆今後は、Stage II, IIIの症例を加えた大規模な免疫組織化学染色や、血液や胆汁の解析を進め、早期診断や術前診断などの臨床応用への可能性を検証する。