

肝吸虫感染による胆道癌の制御を目指す研究

実施予定期間：平成 22 年度～平成 24 年度

代表機関：東京大学

代表者：村上 善則 (医科学研究所人癌病因遺伝子分野)

国内参画機関：東京女子医科大学

代表者：山本 雅一 (消化器外科)

国内参画機関：長浜バイオ大学

代表者：三輪 正直 (アニマルバイオサイエンス学部分子生物学研究室)

国内参画機関：愛知県がんセンター

代表者：田中 英夫 (研究所疫学部)

国外参画機関：タイ王国コーンケン大学

代表者：Puangrat Yongvanit (医学部肝吸虫胆道癌研究センター)

I. 概要

タイ東北部では胆道癌が世界一高頻度で生じ保健医療上重要な問題であるが、疫学研究により肝吸虫感染・炎症との関連が示され、胆道癌の予防、診断法の確立が急務、かつ可能な新局面に入った。本研究ではタイと日本の胆道癌の疫学的、臨床的、分子遺伝学的比較、特にゲノムコピー数多型や血清タンパク質の網羅的解析等の新手法により胆道癌の特性を明らかにし、予防法の確立、診断マーカーの同定、並びに若手研究者の交流を目指す。

1. 共同研究の内容

- a. 相手国・地域における課題のニーズと社会への適用：タイ国東北部では胆道癌の発生頻度が世界で最も高く、保健医療上重要な問題である。本邦研究者も関わった過去の疫学研究により肝吸虫 (*Opisthorchis viverrini*, Ov) の感染・炎症との密接な関連が示されてきた。しかし、タイ・ラオス両国での肝吸虫の感染者は600万人と推定され、胆道癌はそのごく一部にしか生じないため、肝吸虫の感染予防に加え、感染者の胆道癌発生の予防方法、早期診断法の確立が望まれる。このためには、胆道癌の網羅的ゲノム解析と、疫学・病理学的特徴に基づいた研究が緊喫の課題であり、その研究成果はタイ国の保健衛生、医療にとって極めて大きなインパクトを及ぼすと期待される。
- b. 研究内容・手法：本研究は、過去の疫学研究により肝吸虫感染との密接な関連が示されたタイ国東北部で高頻度に認められる胆道癌について、疫学、血清検査、ゲノム解析などの新手法を用いて発症の予防、並びに早期診断法の確立を目指す。肝吸虫感染という疫学的要因と、抗菌薬による肝吸虫の駆除が可能となった現在でも、現地での胆道癌の頻度は高く、十分な対策がなされていない。肝吸虫感染者の中での胆道癌の発生率が 100% でないことに起因する保健衛生上の関心の低さも原因の一つと考えられるが、一方で世界一発生頻度の高い胆道癌の予防、診断法を開発、確立できる好機であり、具体的に胆道癌克服を目指した研究をポストゲノム時代の新手法を駆使して着手し、展開する点でも先進性に富んだ提案である。
- c. 目的：
 - 1) 肝吸虫感染者に胆道癌が生じる要因を疫学的に説明すること：愛知県がんセンター
 - 2) タイと日本の胆道癌組織のゲノム・遺伝子解析に

による診断マーカー候補分子の同定：東京大学、東京女子医科大学

3) 肝吸虫感染者、胆道癌患者の血清タンパク質などの比較による診断マーカーの同定：長浜バイオ大学

4) また、これらの共同研究を通して、胆道癌制御の新局面を拓く我が国とタイの若い世代間のネットワークを構築する。

d. 実施期間終了時の研究成果の目標は、

- 1) 肝吸虫感染者の中で胆道癌罹患に影響する疫学因子の候補を複数同定すること。
 - 2) タイと日本の胆道癌の分子遺伝学的特徴を網羅的に明らかにし、また胆道癌患者、非患者の血清マーカーの比較から、胆道癌の早期診断に有用な血清マーカーの候補分子を複数同定すること。さらに研究の進捗状況に応じて、診断マーカーの実用化へ向けた検討に入ることを目指すこと。
- である。

2. ネットワーク構築の実現可能性

- a. 本提案に関連する国外参画機関との交流実績：研究分担者の三輪は 20 年以上、山本も 5 年以上タイ側と胆道癌に関する共同研究を展開して疫学要因としての肝吸虫の同定に貢献し深い信頼関係を築いてきた。この成果の一部は論文発表されている。研究代表者の村上も 5 年前より過去 2 回タイ国の胆道癌研究集会に参加して、胆道癌の予防、診断の新局面についてコーンケン大学研究者と交流を深めてきた。以上の実績から、良好なネットワークが構築されることが確信され、コーンケン大学研究者は速やかな協定締結の用意があることを表明している。コーンケン大学さらにタイから日本への若手研究者の派遣を双方が支援して実現する用意がある。
- b: ネットワーク構築のための直近の準備状況：研究提案を踏まえて、H22 年 1 月に村上がタイ北部ピサヌロックで行われた国際癌会議に出席して、コーンケン大学の Yongvanit 准教授に非公式に共同研究提案を行った。帰国後、本研究の採択を前提として、村上、三輪が Yongvanit 博士と電子メールにて協議した。またコーンケン大学医学部でも、Pisake Lumbiganon 医学部長が協定締結の意思を表明した。

3. 本制度により取組を支援する必要性

両国の胆道癌共同研究の歴史は長いですが、肝吸虫感染者の胆道癌の予防、診断法の確立を目指す本研究は新しい科学研究の提案であり、未知の成果が期待され、単なる技術供与には当たらない。また、臨床上重要な課題であり、かつ成果の知的財産を考えると、欧米に先んじて国際共同研究を立ち上げる必要があり、タイ側も、他国ではなく日本との深い信頼関係に基づいた共同研究を希望している。また、本研究は有用な未知のマーカーなどの確立を目指す学術初動研究であり、産業界主導の技術移転の段階には至っていない。さらに、今回提案する胆道癌の新手法によるゲノム網羅的解析は、新規診断マーカーの同定などの臨床的有用性と知的財産権の確立が期待される課題であるが、本研究提案程度以上の中・大型予算が必須であり、他の制度の予算では完遂できない。な

お、研究代表者は他の重複、類似の研究支援は受けていない。

4. 継続性

3年間の本初動研究の成果として同定される肝吸虫感染者の胆道癌発生に至る疫学因子と、胆道癌の診断マーカー候補分子を用いて、胆道癌克服へ向けた次世代の研究を進展させる。具体的には、疫学因子の修飾による胆道癌発生の抑制、診断マーカーの実用化とその評価、それを用いた胆道癌対策の改善を目指す研究を、強力な共同研究により継続する。継続研究においても東京大学医科学研究所とコーンケン大学肝吸虫・胆道癌研究センターが、その国際連携機能を活かして中心的役割を果たす。

5. 相手国・地域との政府レベルでの協力関係の強化・構築への発展性

a. 当該研究計画に関する相手国政府の関心：2010年にタイ国の国立研究機構（National Research Council of Thailand:NRCT）が発表した全研究プロジェクトの方向性に関する通達の中で、「疾病予防と健康増進」は大項目2に掲げられており、この中でも「肝細胞癌と胆道癌の研究」は、「AIDS と HIV」、「糖尿病」、「脳血管障害」、「心筋梗塞」とともに、中項目トップ5に掲げられており、タイ政府が肝吸虫による胆道癌をいかに重要な課題として認識しているかを示している。具体的には、タイ政府は、肝吸虫感染による胆道癌の好発地域であるタイ国東北部の中心的医療・研究機関であるコーンケン大学に、2002年6月より肝吸虫・胆道癌研究センター（Liver Fluke & Cholangiocarcinoma Research Center）を設立している。本研究のタイ側研究代表者である Yongvanit 准教授と分担研究者の Wongkham 准教授は当センターの副所長であり、他の3名の分担研究者も当センターの研究員を併任している。その設立の目的は、肝吸虫と胆道癌の罹患率の低下、胆道癌の治療と患者のQOLの向上、学問的にも卓越した研究の遂行の3項目であり、本共同研究の目的に合致している。さらにタイ側は、相互の長年の信頼関係に基づいた対等の共同研究を行う相手国として、日本チームに非常に強い期待を示している。以上のことから、本共同研究は、政府が掲げるアジアとの対等な科学外交の精神にも極め

てよく合致する研究であると考えられる。

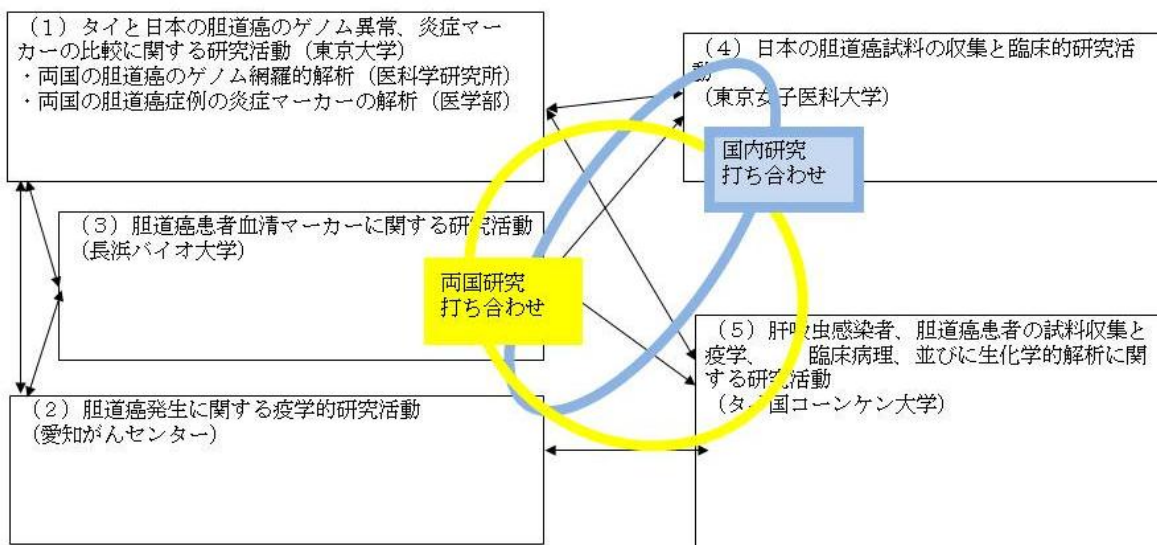
b. 政府レベルでの協力関係への展開構想：両国の協力関係構築については、責任研究者間、ならびに若手研究者間の信頼関係に基づく協力体制を構築すること、並びにタイ側から日本への若手研究者受け入れ（毎年1名以上）を積極的に推進することを研究期間内の目標とする。さらに本研究終了後も、代表研究機関である東京大学（医科学研究所）とコーンケン大学との共同研究を大学間の正式な共同研究へ発展させるために、医科研がすでにアジアの他施設と行っている如く、国際学術協定の締結に基づく共同研究拠点化を目指す。将来的には、両国政府による癌研究協力、交流の公的制度化を目指す。

6. 生命倫理・安全面への配慮について

本研究には、胆道癌組織のCNV解析において生殖細胞系列変異の解析を含むことから「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」を遵守して行う。また、体細胞遺伝子発現・構造を解析する観察研究の場合には同指針に準拠し、かつ「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して研究計画の承認や、説明・同意を行い、試料等提供者の人権とプライバシーを保障しつつ研究を進める。また、本研究のみでは治療行為を伴う介入研究は行わない予定であるが、今後研究開発がその段階に達した場合は、「臨床研究に関する倫理指針」等を遵守し、必要な研究計画の審査・承認や、被検者の同意を得て実施する。

7. 研究実施体制

研究代表機関である東京大学（医科学研究所）は、我が国における感染症、並びに癌研究の中心的研究所の一つである。特に所内に感染症国際センター、中国北京市にアジア感染症研究拠点を運営し、また東アジアシンポジウムや日中学生フォーラムを立ち上げ運営するなど、以前からアジア諸国との国際交流活動の実績に富んでいる。また、アジア諸国からの留学生受け入れ実績も際立っている。以上のことから、本提案におけるタイ国との共同研究、交流活動を極めて円滑に行うことが可能である。また、国内参加4機関の研究代表者である村上、山本、三輪、田中は以前より胆道癌の究、癌の分子疫学研究に関して共同研究を行った経験を持ち、緊密に連携しており、役割分担が明確であり、相乗作用が期待できる。



氏名	所属部局・職名	提案課題における役割
村上 善則	東京大学医科学研究所・教授	研究代表者 胆道癌のゲノム解析と研究統括
桜井 美佳	東京大学医科学研究所・助教	胆道癌のゲノム解析、分泌タンパク質の解析
浅岡 良成	東京大学医学部・助教	胆道癌患者の炎症マーカーに関する研究
山本 雅一	東京女子医科大学・消化器外科	日本の胆道癌試料の収集と臨床的研究
川本 徹	東京女子医科大学・消化器外科	日本の胆道癌試料の収集と臨床病理学的研究
田中 英夫	愛知県がんセンター研究所・部長	胆道癌発生の疫学的研究
三輪 正直	長浜バイオ大学アニマルバイオサイエンス学科・教授	胆道癌患者の血清マーカーに関する研究
後藤 明輝	東京大学医科学研究所・講師	胆道癌の病理学的解析
Puangrat Yongvanit	Liver Fluke & Cholangiocarcinoma Res. Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの胆道癌試料収集と生化学的解析に関する研究活動、並びにタイ側の研究統括
Paiboon Sithisthaworn	Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの肝吸虫と胆道癌の寄生虫病学的解析
Sopit Wongkham	Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの胆道癌の生化学的解析
Chawalit Pairojkul	Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの胆道癌の病理学的解析
Chaisiri Wongkam	Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの胆道癌の医学生化学的解析
Somchai Pinlaor	Faculty of Medicine, Khon Kaen Univ. ・准教授	タイでの肝吸虫と胆道癌の熱帯病学的解析

8. 各年度の計画と実績

a. 平成 22 年度

- ・計画: タイと日本の胆道癌の疫学的、臨床的、分子遺伝学的比較や血清タンパク質の網羅的解析等の新手法により胆道癌の特性を明らかにし、予防法の確立、診断マーカーの同定を目指す研究を行う。また、研究者の交流、若手研究者の育成を目指して共同研究打ち合わせを行う。

- ・実績: 各参画機関が計画通りの実績を上げることができた。

- (1) 東京大学では、タイと日本の胆道癌を収集し DNA を抽出し、コピー数多型に関する網羅的解析を行い、特徴的な異常の同定を目指すために、ゲノム DNA の抽出方法を検討し、データの解析方法を新たに確立した。また、胆道癌組織や患者、肝吸虫感染患者、健常者の血清を用いて、種々の炎症マーカーやサイトカイン等を解析し、特徴的な変化の同定を試み、細胞接着分子群の発現異常を新たに見出した。この異常を血清で検出する方法の構築を試みた。
- (2) 東京女子医科大学では外科的切除を行った日本の胆道癌や患者血清を凍結保存し、臨床情報と連結可能な状態で管理した。また、収集した胆道癌組織を用いて、免疫組織学的解析を行い、一部の癌に ErbB タンパク質群の高発現を認めた。
- (3) 長浜バイオ大学ではコーンケン大学との共同で、タイの肝吸虫感染者、胆道癌患者、健常者の血清を収集し、管理、保存した。これらを用いて、2

次元電気泳動や質量分析により、胆道癌発生に関わる新規血清マーカーを探索し、新たに見出した糖鎖マーカーの意義を検討した。

- (4) 愛知がんセンターでは、コーンケン大学と協議し、新たに質問票を作成した。また、症例・対照研究の初年度として、対象症例の診断基準を検討し、症例群、対照群を設定した。
- (5) 研究者の交流、若手研究者の育成を目指して、平成 22 年 9 月に国内研究者による研究会議を東京大学医科学研究所にて行った。また、平成 22 年 12 月、並びに平成 23 年 2 月にコーンケン大学を訪問し、現地研究者と打ち合わせや進捗状況の報告を行い、また現地の肝吸虫感染と胆道癌の罹患状況を把握した。さらに、平成 22 年 9 月の日本癌学会に出席するため来日したタイ国コーンケン大学の若手研究者 Anchalee Techasen 博士と共同医研究打ち合わせを行った。

b. 平成 23 年度

- ・計画: タイと日本の胆道癌の比較により胆道癌の特性を明らかにし、予防法の確立、診断マーカーの同定を目指す研究を継続するとともに、研究者の双方向の交流、若手研究者の育成を目指す。平成 23 年度末にコーンケン大学にて研究進捗状況の報、情報交換を行う。

- ・実績: 各参画機関が計画通りの実績を上げることができた。

- (1) 東京大学では、タイと日本の胆道癌のコピー数多型に関する解析で同定した異常の有無を多数の腫瘍組織で検証した。また、遺伝子発現の網羅的解析を行った。また、炎症マーカーやサイトカイン等の解析を継続した。その結果、血清診断や病理診断のマーカーとなる可能性のある複数の細胞膜タンパク質を検出することができた。
- (2) 東京女子医科大学では日本の胆道癌や患者血清を収集し、免疫組織学的解析により、また東京大学でのゲノム研究の成果に基づいて診断マーカー候補分子の同定を目指した。胆道癌組織の免疫組織学的解析を行い比較検討したところ、胆道癌、特に寄生虫関連の癌発生・進展に関わる重要な標的と推測される分子がタイの症例の前癌病変を含む癌組織で多く発現する傾向が認められ、発癌関連分子の候補と考えられる結果を得た。
- (3) 長浜バイオ大学ではタイで収集した肝吸虫感染者、胆道癌患者、健常者の血清を用いて、2次元電気泳動や質量分析による胆道癌発生に関わる新規血清マーカーの探索を継続し、その候補分子の同定を目指した。**その結果、血漿タンパク質由来の糖鎖に胆道癌患者に特異的な新規の糖鎖ピークを見出すことができた。**
- (4) 愛知がんセンターでは、質問票に基づき、タイの肝吸虫感染者、胆道癌患者の生活環境、食生活習慣を調査した。また、設定した症例・対照群における疫学因子を検索した。コンケン大学の研究者と協議し、肝内胆管癌多発地域で行う症例対照研究に用いる質問票のタイ語版を作成し、症例・対照研究のコホート内症例対照研究を開始した。
- (5) コンケン大学を訪問して第3回研究打ち合わせ会議を行い、進捗状況を発表した。さらに、電子メールによる共同研究打ち合わせも緊密に行

い、国内の分担研究者とタイ研究者との間の親密な協力関係、連携体制を築いた。

c. 平成 24 年度

- ・計画：前年度までの研究を継続するとともに、得られた成果に基づいて胆道癌の特性を明らかにし、予防法の確立、診断マーカーの同定を目指す。また、研究者の交流、若手研究者の育成を目指すとともに、日本とタイの研究者による本共同研究成果に関するシンポジウムを東京で開催する。平成 24 年度中にコンケン大学にて研究進捗状況の報告、情報交換を行う。
- (1) 東京大学では、前年度までの研究を継続するとともに、成果をまとめ、タイと日本の胆道癌のコピー数多型解析、遺伝子発現の網羅的解析、炎症マーカーやサイトカイン等の解析により、診断マーカー候補分子の同定を目指す。
- (2) 東京女子医科大学では前年度までの研究や試料収集を継続するとともに、成果をまとめ、タイと日本の胆道癌に発現するタンパク質の免疫組織学的解析による診断マーカー候補分子の同定を目指す。
- (3) 長浜バイオ大学では、前年度までの研究や試料収集を継続するとともに、成果をまとめ、タイの肝吸虫感染者、胆道癌患者、健常者の血清のプロテオーム解析により、胆道癌発生に関わる新規血清マーカー候補分子の同定を目指す。
- (4) 愛知がんセンターでは、前年度までの研究や試料収集を継続するとともに、成果をまとめ、タイの肝吸虫感染者、胆道癌患者の疫学的解析により、肝吸虫感染者の一部に胆道癌が生じる疫学的原因の同定を目指し、予防の可能性を探る。

9. 年次計画

研究項目	1年度目	2年度目	3年度目
(1) タイと日本の胆道癌のゲノム異常、炎症マーカーの比較に関する研究活動 (東京大学)	アレイ CGH, CNV 解析 ← 1 1 百万円 →	シーケンシング ← 1 1 百万円 →	診断マーカー開発研究 ← →
	炎症指標の解析 ← 2 百万円 →	2 百万円	取りまとめ ← 1 3 百万円 →
(2) 胆道癌発生に関する疫学的研究活動 (愛知県がんセンター)	疫学的研究 ← 5 百万円 →	5 百万円	5 百万円
(3) 胆道癌患者血清マーカーに関する研究活動 (長浜バイオ大学)	血清マーカー研究 ← 3 百万円 →	3 百万円	3 百万円
(4) 日本の胆道癌試料の収集と臨床的研究活動 (東京女子医科大学)	試料収集と臨床的研究 ← 2 百万円 →	試料収集と臨床的研究 2 百万円	試料収集と臨床的研究 2 百万円
(5) 肝吸虫感染者、胆道癌患者の試料収集と疫学、臨床病理学、並びに生化学的解析に関する研究活動 (タイ国コーンケン大学)	試料収集と疫学、臨床病理学、生化学的解析 ← 3 0 百万円 →	試料収集と疫学、臨床病理学、生化学的解析 3 0 百万円	試料収集と疫学、臨床病理学、生化学的解析 3 0 百万円