

膵癌診断補助の新たなバイオマーカー APOA2-i index

APOA2-i index: a novel biomarker to aid diagnosis of pancreatic cancer

い ち ち ひ で あ き
伊地知 秀 明
Hideaki IJICHI

＜キーワード＞

膵癌、アポリポ蛋白 A2 (APOA2)、APOA2-i index、膵外分泌能

はじめに

膵癌は、現在わが国の癌死因の第4位を占め、5年生存率約10%という最難治癌である¹⁾。この予後不良の一因として早期診断が困難なことが挙げられる。膵癌と診断された時点で、すでに外科切除不能な患者が8割に達する。一方、1 cm以下の腫瘍サイズで発見された場合の予後は、比較すると明らかに良いため、膵癌の早期診断法の開発が切望されてきた。

近年、さまざまな疾患の診断法の開発において、リキッドバイオプシーが注目を集めている。リキッドバイオプシーとして患者の血液、尿、その他の体液検体を用いて診断できるバイオマーカーがあれば、簡便かつ低侵襲的でもあり、経時的に採取して評価することも可能であり非常に有用である。

アポリポ蛋白 A2 (apolipoprotein A2, APOA2) は、血中にホモ二量体として存在し、膵臓から分泌される蛋白切断酵素によりC端のアミノ酸が切断され、5つのアイソフォーム (APOA2-i) を生じる。膵癌患者において、このAPOA2-iが特徴的なパターンを呈することが明らかとなり、APOA2-iTQ という名で膵癌の診断補助目的の臨床検査項目として、本年2月に保険収載された。膵癌の腫瘍マーカーとして従来用いられているCA19-9と比較し、癌細胞自体が産生する物質の

測定ではなく、膵外分泌能を反映するユニークな性質のバイオマーカーといえる。最難治癌である膵癌の予後改善へ向けて、臨床における適切な使用法についての知見の集積が期待される。

I. 膵癌の発癌進展と診断バイオマーカー

1. 膵癌の前癌病変からの進展

膵癌の早期診断を考える上で、その高危険群および発癌進展過程の理解が重要である。肝癌では肝炎ウイルスによる慢性肝疾患、胃癌ではヘリコバクター・ピロリ菌による萎縮性胃炎のような明らかな高危険群が存在し、そのような患者を囲い込んで経過観察することにより、早期の診断と治療が可能となってきた。膵癌の高危険群としては、家族歴、糖尿病 (新規発症や急な増悪)、慢性膵炎、嚢胞性膵腫瘍等が知られている^{2,3)}が、膵臓が内視鏡や腹部超音波による効率的なスクリーニング検査が難しい位置にあることもあり、肝癌や胃癌に比べて効率的な高危険群の囲い込みとはなっていない。膵癌の高危険群をより絞り込んで囲い込めると臨床上非常に有用と考えられる。

膵癌は、遺伝子異常の蓄積により生じることが明らかとなっており、*KRAS*、*CDKN2A*、*TP53*、*SMAD4* の4つの遺伝子異常が最も高頻度に見つかり、Big4遺伝子と呼ばれている²⁾。これらの遺伝子異常の蓄積に伴い、前癌病変 PanIN (pancreatic intraepithelial neoplasia) と呼ばれる顕微鏡サイズの病変が生じ、浸潤癌へと進展する (通常型膵癌)。一方、膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous

neoplasm, IPMN) や粘液性嚢胞腫瘍 (mucinous cystic neoplasm, MCN) といった嚢胞性膵腫瘍からの悪性化の経路も知られている。IPMN からの膵癌発生には、IPMN そのものの悪性化に加えて、IPMN を有する膵臓の別の場所に PanIN 由来と考えられる通常型膵癌が併発するというパターンもあることが知られている²⁾。

以上から、臨床においては、嚢胞性膵腫瘍や慢性膵炎の患者を膵癌の高危険群として経過観察することが行われている。前癌病変としての認知度の高まりと画像検査の進歩により、IPMN と診断される患者は増加しており、積極的に拾い上げを行っている施設では経過観察の外来が逼迫しつつあるという声も聞かれるような状況である。

2. 膵癌の診断バイオマーカー

現在、膵癌の腫瘍マーカーとしては、CA19-9 が gold standard として用いられている^{2,3)}。その他、CEA、SPan-1、DUPAN-2 といった項目も用いられている。これらは癌細胞が産生し血中に分泌する糖鎖や糖蛋白抗原であり、体内の腫瘍量を反映する。したがって、切除後や治療奏功後には有意に低下するため、膵癌の診断とその病勢の経過の診断に有用である。しかし、腫瘍量が少ない早期の段階では血中に上昇せず、早期診断には有用とはいえない。また CA19-9 は、Lewis 血液型^{*}の Lewis 陰性者 (日本人の約 10%) では、癌を有していても CA19-9 が合成されず陰性であり、腫瘍マーカーとして用いることができないことにも注意が必要である。近年、リキッドバイオプシーが注目され、次世代シーケンスやデジタル PCR といった high throughput、高感度の実験手法の進歩により、研究レベルにおいては、例えば血中 non-coding RNA レベルやその signature による膵癌診断の可能性を示す報告も複数みられてきているが、まだ実臨床には導入されていない段階である。膵癌の診断能において gold standard である CA19-9 を凌駕し、早期診断の可能性をもつ新たな診断バイオマーカーがぜひとも望まれている状況である。

II. APOA2-iによる膵癌診断

1. APOA2 とアイソフォーム形成

APOA2 は、HDL (high density lipoprotein) の主要構成要素である脂質結合蛋白であり、主に肝臓や小腸で産生され、血中では 77 個のアミノ酸からなる蛋白質がホモ二量体として大量に存在している⁴⁾。その C 末端にアラニン (A) - スレオニン (T) - グルタミン (Q) という配列があり、膵臓から分泌されるペプチド切断酵素によって、完全長の ATQ が AT もしくは A に切断されることにより、ATQ/ATQ、ATQ/AT、AT/AT、AT/A、A/A の 5 つのアイソフォーム (APOA2-i) を形成する⁵⁾。したがって、APOA2-i は、膵由来の蛋白切断酵素活性、すなわち、膵外分泌能を反映していると考えられる。健常人では、ATQ/ATQ、ATQ/AT、AT/AT が多く分布していることがわかっている。対して、ATQ/ATQ が多く他のアイソフォームが少ない場合は、膵外分泌能の低下、膵酵素活性の低下による切断抑制状態を反映するもの、逆に AT/AT が多く ATQ/ATQ や ATQ/AT が少ない場合は、膵外分泌能および膵酵素活性の亢進による過剰切断状態を反映するものと考えられる (図 1)⁶⁾。

2. APOA2-i による膵癌の診断

Honda らは、質量分析法を用いた血中蛋白解析により、膵癌の患者では健常人に比べて血中 APOA2-i の ATQ/AT 二量体が有意に減少していることを見出した⁵⁾。膵癌患者には血中 APOA2-i の ATQ/ATQ が多い集団と、AT/AT、AT/A、A/A が多い集団の二群が存在し、それぞれ切断抑制状態と過剰切断状態と考えられ、中間体の ATQ/AT が減少していた (図 1)。そこで、ATQ/ATQ と AT/AT をそれぞれ特異的に認識する抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法を確立し、それぞれの ELISA の定量値 ELISA APOA2 ATQ と ELISA APOA2 AT の相乗平均値 (計算式 $\sqrt{(\text{ELISA APOA2 ATQ} \times \text{ELISA APOA2 AT})}$) により、APOA2-i index を算出した。すると、この APOA2-i index は質量分析による APOA2-ATQ/AT の定量とよく相関し、健常人に比べ膵癌患者では有意に低下しており、ステージ

^{*}I 型糖鎖に Lewis 酵素が作用して形成される Lewis 抗原 A,B による血液型。日本人の約 10% は Lewis 酵素が欠損した Lewis 陰性者である。CA19-9 は Lewis 抗原 A に由来する糖鎖マーカーであり、Lewis 陰性者は CA19-9 が合成されず陰性となる。

III/IVの進行膵癌のみでなく、ステージ I/II の段階の膵癌においても健常人との判別が可能であった⁵⁾。

APOA2-i index は、膵癌以外の消化器癌でも健常人と比べ有意に低下していることが示されたが、低下の度合いは膵癌が最も大きかった。また、膵癌以外の膵疾患についても、膵神経内分泌腫瘍、IPMN、慢性膵炎等で健常人に比べ有意に低下していた⁵⁾。

膵癌の診断能について、gold standardであるCA19-9とAUC値を比較したところ、APOA2-i indexの方がAUC値が高く、APOA2-i indexとCA19-9の併用によりCA19-9単独に比べ有意に診断能の向上が示された⁵⁾。

3. APOA2-iTQ の開発と承認

以上から、APOA2-i index が、膵癌の新たな診断マーカーとして有用であるのみならず、早期膵癌の診

断や高危険群の診断にも有用である可能性が示唆された。そこで、臨床における体外診断用のELISAキット「東レ APOA2-iTQ」が開発され(図2)、臨床性能試験が行われた。正常カットオフ値は 59.5 $\mu\text{g/ml}$ (健常人の下限 5% 値) と決定され、膵癌の診断能の検証においては、ステージ I ~ IV の各ステージおよび TS1 という 2 cm 未満の段階においても健常人との鑑別が可能であった。CA19-9 との膵癌診断能の比較では、全ステージ、ステージ I、TS1 の感度は APOA2-i index 対 CA19-9 が、それぞれ 63.2% 対 69.8%、47.4% 対 36.8%、46.7% 対 33.3% と APOA2-i index の早期での感度が高く、特異度は 95.3% と同等であったが、AUC 値はいずれにおいても APOA2-i index の方が CA19-9 よりも高い値を示した⁷⁾。APOA2-i index の陽性者と CA19-9 の陽性者とは重ならない患者群も多く、両者を併用することによりさらに診断能が向上

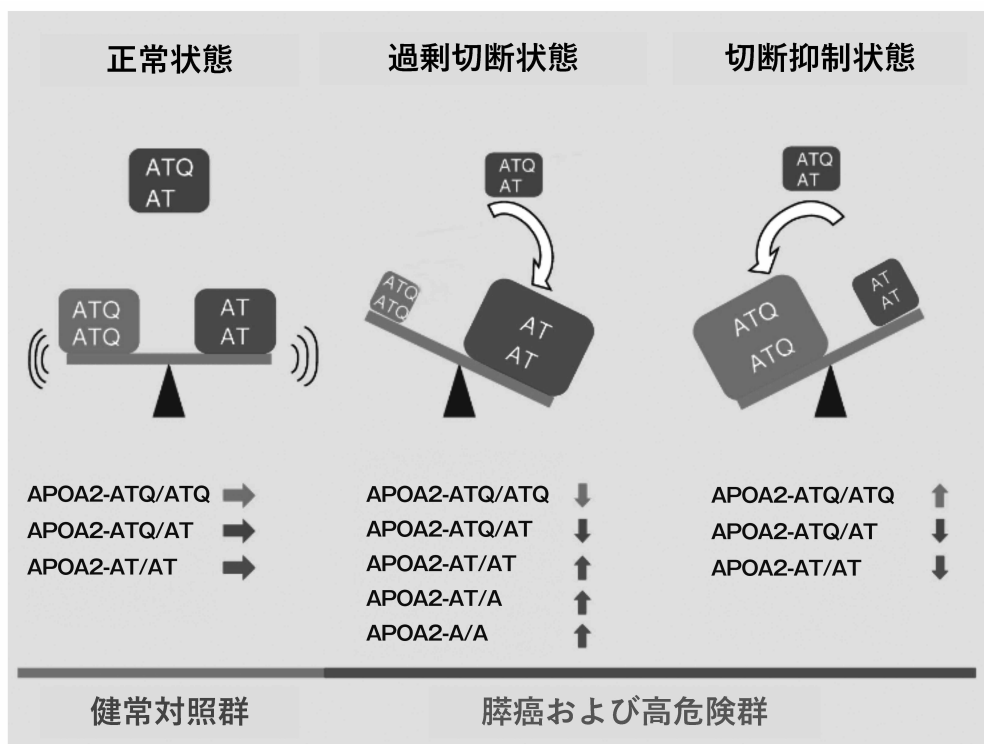


図1 膵酵素による APOA2 アイソフォーム形成のパターン

健常者では、膵由来のペプチド切断酵素により APOA2 の C 末端がランダムに切断され、ATQ/ ATQ、ATQ/AT、AT/AT が多く存在する。膵癌および高危険群では、炎症により切断酵素が過剰に分泌され過剰切断状態を示す場合、ATQ/ ATQ や ATQ/AT が減少し AT/AT が増加しており、逆に、切断酵素の分泌低下により切断抑制状態となる場合では、ATQ/ATQ が切断されず多く存在し、ATQ/AT や AT/AT が減少すると考えられる。いずれの場合も、膵癌および高危険群では ATQ/AT は減少を示すことになる。

文献6)より転載、一部改変

(図1は巻末にカラーで掲載しています)

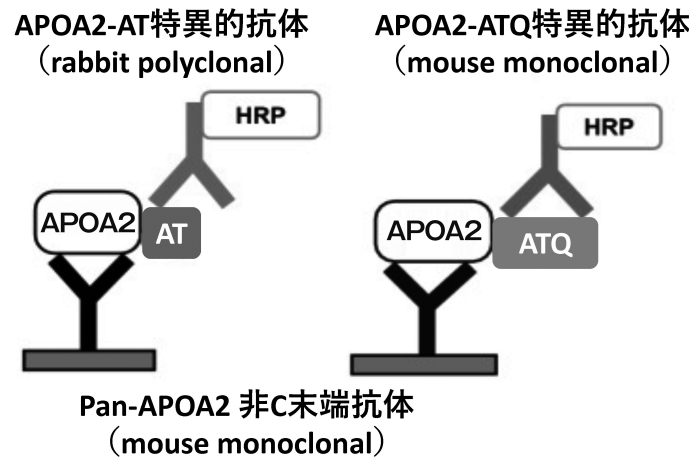


図 2 体外診断用医薬品「東レ APOA2-iTQ」ELISA の原理

Pan-APOA2 非 C 末端抗体によりすべての APOA2 を捕捉し、APOA2-AT 特異的抗体および APOA2-ATQ 特異的抗体により、AT/AT および ATQ/ ATQ それぞれのアイソフォームの濃度をサンドイッチ ELISA 法により定量する。

文献 7) より転載，一部改変

することが示された（全ステージ、ステージ I、TS1 の併用の感度はそれぞれ 87.7%、63.2%、66.7%）⁷⁾。この結果を受け、2024 年 2 月、APOA2-i index は、膵癌の補助診断検査として保険収載された。

Ⅲ. APOA2-i indexの臨床応用

1. 日本膵臓学会による適正使用指針

APOA2-i index の膵癌診断補助への保険収載を受けて、日本膵臓学会は「体外診断用医薬品「東レ APOA2-iTQ」の適正使用指針」を策定している⁸⁾。

対象となる患者は、「膵癌が疑われる患者で、膵癌リスクファクター等の評価により中等度または高度膵癌リスクと判断され、早期を含む膵癌をより強く疑い、

膵癌診断のため画像検査の実施要否の判定が必要な患者」としている（膵癌リスクファクターは表 1 参照）。留意事項として、以下を挙げている。

・ APOA2-iTQ の適応は膵癌診断の補助であり、その他の疾患疑いへの使用は控えること。

APOA2-iTQ を実施するまでの流れとしては、

・ 膵癌の診断の補助を目的に CA19-9 の測定が必要と判断された患者において、

①膵癌の高リスクの患者の場合は、CA19-9 の結果をみずに APOA2-iTQ を測定しても良い。

②膵癌のリスクが中等度の患者では、

A) CA19-9 や CEA 等の測定の結果、CEA 陰性で CA19-9 の軽度～中等度上昇があり異常判定が難しく画像検査に進むべきか判断に悩む場合には

表 1 膵癌リスクファクター

膵癌リスクファクター	高度リスク因子	中等度リスク因子 (下線のいずれか1項目+1項目以上)
膵画像所見	腫瘍像、膵管拡張・狭窄、胆管拡張、嚢胞、限局性膵萎縮等	
糖尿病	糖尿病の新規発症、増悪	<u>糖尿病</u>
血液検査		<u>膵酵素上昇</u>
合併症、家族歴	慢性膵炎、IPMN、膵嚢胞、遺伝性膵癌症候群・遺伝性膵炎、家族性膵癌	<u>散発的な膵癌家族歴</u>
臨床症状、生活習慣	黄疸、腹部症状 or 背部痛、体重減少	飲酒、喫煙、肥満

文献 8) より転載

APOA2-iTQ を測定することができる。

- B) CA19-9 や CEA 等が陰性でも中等度リスク因子が 3 項目以上あるなど、膵癌の疑いが残り、画像検査に進むべきか判断に悩む場合には APOA2-iTQ を測定することができる。
- C) CA19-9 や CEA 等が陰性であった場合には、原則として APOA2-iTQ を測定せず経過観察を提案する。
- D) CA19-9 陽性であった場合には、APOA2-iTQ は測定せず、膵癌の他、胆道癌、大腸癌、胃癌等の複数の癌疑いを視野に入れて画像検査の実施を提案する。
- E) CA19-9 陰性かつ CEA 陽性であった場合には、APOA2-iTQ は測定せず、膵癌を含む消化器系の癌や肺癌、乳癌などの複数の癌疑いを視野に入れて画像検査の実施を提案する。

APOA2-iTQ 等の結果を踏まえた検査の流れとしては、

- ・ APOA2-iTQ 陽性の場合には、腹部超音波は省略し、微小膵癌の可能性を視野に入れて超音波内視鏡などの高診断精度の画像検査の実施を提案する。

- ・ 膵癌のリスクが高度と考えられる患者で、APOA2-iTQ 及びその際同時測定された CA19-9 が陰性の場合には、原則として経過観察を提案する。なお、定期検査や腫瘍マーカーの変動などにより臨床医が必要と判断した場合には画像検査を提案する。

- ・ 膵癌のリスクが中等度と考えられる患者で、APOA2-iTQ が陰性であった場合には、経過観察を提案する。

また、APOA2-iTQ を測定する場合は、原則として DUPAN-2 や Span-1 は測定しないこと。

APOA2-iTQ を膵癌確定診断後のフォローアップや予後予測、膵癌治療効果の予測には使用しないこと。本指針は臨床使用の状況により見直し・適宜必要な改訂を行う。

以上の学会指針からは、膵癌疑いを名目とした APOA2-i index 測定の濫用とそれによる混乱を避け、対照を厳密に絞って測定するべきというメッセージが読み取れる。上述のように、CA19-9 陽性者とは異なる集団をカバーする面があり、Lewis 血液型により CA19-9 陰性の患者もいるため、臨床情報も十分収集し膵癌のリスクを評価した上で、適切に用いていくことが重要と考えられる。特に、APOA2-i index は、慢性膵炎や IPMN といった高危険群においても陽性

となる場合があるため、APOA2-i index 陽性という結果のみで膵癌の診断はできないということには留意すべきである。

2. APOA2-i index 測定について考慮すべき事項

適正使用上の注意はあるものの、早期膵癌診断につながる可能性のある新たなバイオマーカーとして、より有用な使用法を確立できるといわれる、今後へ向けて注目すべき点、考慮すべき点について、私見を交えて述べさせていただく。

実臨床においては、CA19-9 他の腫瘍マーカーは早期診断に有用とはいえない状況である。したがって、APOA2-i index の診断能が CA19-9 を超えたとしても、早期診断におけるインパクトが大きいとはいえない。実臨床に役立つ早期診断のための用い方を追求していくことの需要は高いと考えられる。

CA19-9 や CEA 等の腫瘍マーカーと異なり、APOA2-i index は、癌細胞が産生する物質の測定ではなく、膵外分泌能を反映したユニークなバイオマーカーと考えられる。したがって、膵癌の切除後や化学療法の奏功により低下（正常化）し、効果判定に用いるということとはできないと考えられる。ただし、高危険群・前癌病変から発癌への過程で経時的にいかに変化するのかは興味深いところである。その経時的な変化の過程で、切断過剰状態と切断抑制状態の中間の平衡状態により index が正常化する時期というのがあるのだろうか。特に慢性膵炎が代償から非代償へと進む過程においては、実はそのような変化がみられているのかもしれない。

膵癌の早期診断において、高危険群である慢性膵炎や IPMN と TS1 の膵癌を鑑別できるバイオマーカーがあれば、臨床上非常に有用である。APOA2-i index は、上述のように膵癌のみでなく慢性膵炎や IPMN でも陽性となり、現時点では慢性膵炎や IPMN と TS1 膵癌の鑑別まではできていない。今後、何らかの組み合わせ等、そのような鑑別が可能な使用法が明らかになれば非常にインパクトが大きい。一方、高危険群とされる患者の中で、さらに高リスクの群を APOA2-i index の値で鑑別できれば、効率的な囲い込みに有用と考えられる。IPMN 患者の経過観察においては、より高リスクとされる画像所見（手術適応を検討する high risk stigmata や精査を検討する worrisome features、表 2⁹⁾）を有する患者と有さない

表 2 IPMN における
high-risk stigmata および worrisome features

high-risk stigmata (いずれか1つあれば手術を考慮)
①閉塞性黄疸を伴った膵頭部の嚢胞性病変
②造影される5mm以上の壁在結節
③10mm以上の主膵管の拡張
worrisome features (いずれか1つあれば超音波内視鏡を検討)
臨床所見：膵炎
画像所見：①嚢胞径3cm以上
②造影される5mm未満の壁在結節
③造影される壁肥厚
④主膵管径5-9mm
⑤尾側膵萎縮を伴った主膵管狭窄
⑥リンパ節腫大
⑦血清CA19-9の上昇
⑧5mm/2年以上の嚢胞径の増大

文献 9) を参考に著者作成

患者を APOA2-i index のカットオフ値の調節により鑑別する試みも行われており¹⁰⁾、IPMN と診断された患者において APOA2-i index の値により経過観察の頻度や強度に差をつけることが可能になるのかもしれない。

APOA2-i index は、膵外分泌能を反映していると考えられる。したがって、背景に膵炎があるか否かにより、index が大きく左右される可能性がある。膵癌や IPMN の患者の中でも慢性膵炎の有無やその段階により index に差がみられないであろうか。そのような層別化したサブ解析も重要になってくると考えられる。また、一般に測定される血清膵酵素 P-Amy やリパーゼの値も慢性膵炎の非代償化や、重症急性膵炎後の経過で著明な低値を示すことがよく経験される。このような膵酵素値やその経時変化との関連も明らかになると、この index の意義についてより理解が深まるものと思われる。

おわりに

APOA2-i index は、CA19-9 などの腫瘍マーカーとは全く異なる原理によるバイオマーカーであり、最難治癌である膵癌に対して新たな膵癌診断補助のバイオマーカーが加わったということは、今後の膵癌の早期診断の実現へ向けて期待が持たれるところである。ただし、安易に用いて混乱を招かないように、臨床にお

いてはまず適正使用指針に基づいて使用を開始することが重要と考える。一方、研究面において膵癌および高危険群の病態における APOA2-i index の関わりを、機序の詳細も含めて明らかにしていくことで、その測定の意義がより明確になり、現行の適正使用指針の更新、そしてこの index の有用性がさらに高まる可能性があり、今後の知見の蓄積が期待される。

文 献

1) 国立がん研究センター：がん情報サービス. 最新がん統計.
https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html (引用日 2024 年 6 月 15 日)

2) Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, et al. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2020; 395(10242): 2008-2020.

3) 日本膵臓学会膵癌診療ガイドライン改訂委員会編：膵癌診療ガイドライン 2022 年版.

4) Gao X, Yuan S, Jayaraman S, et al. Role of apolipoprotein A-II in the structure and remodeling of human high-density lipoprotein (HDL): protein conformational ensemble on HDL. *Biochemistry*. 2012; 51(23): 4633-4641.

5) Honda K, Kobayashi M, Okusaka T, et al. Plasma biomarker for detection of early stage pancreatic cancer and risk factors for pancreatic malignancy using antibodies for apolipoprotein-AII isoforms. *Sci Rep* 2015; 5: 15921.

6) Honda K and Srivastava S. Potential usefulness of apolipoprotein A2 isoforms for screening and risk stratification of pancreatic cancer. *Biomark Med*. 2016; 10(11): 1197-1207.
Licence:CC BY 4.0 Deed (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>)

7) Kashiro A, Kobayashi M, Oh T, et al. Clinical development of a blood biomarker using apolipoprotein-A2 isoforms for early detection of pancreatic cancer. *J Gastroenterol*. 2024; 59(3): 263-278.
Licence:CC BY 4.0 Deed (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.en>)

8) 日本膵臓学会：体外診断用医薬品「東レ APOA2-iTQ」の適正使用指針.
<https://www.suizou.org/pdf/240227/file01.pdf>. (引用日 2024 年 6 月 15 日)

9) Tanaka M, Fernandez-Del Castillo C, Kamisawa T, et al. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. *Pancreatology* 2017; 17(5): 738-753.

10) 糸川典夫, 本田一文, 岩切勝彦. IPMN 悪性化リスク症例の絞り込みにおける血液アポリポプロテイン A2 アイソフォーム濃度測定の有用性. *日本消化器病学会雑誌* 2024; 121 臨増: A220.

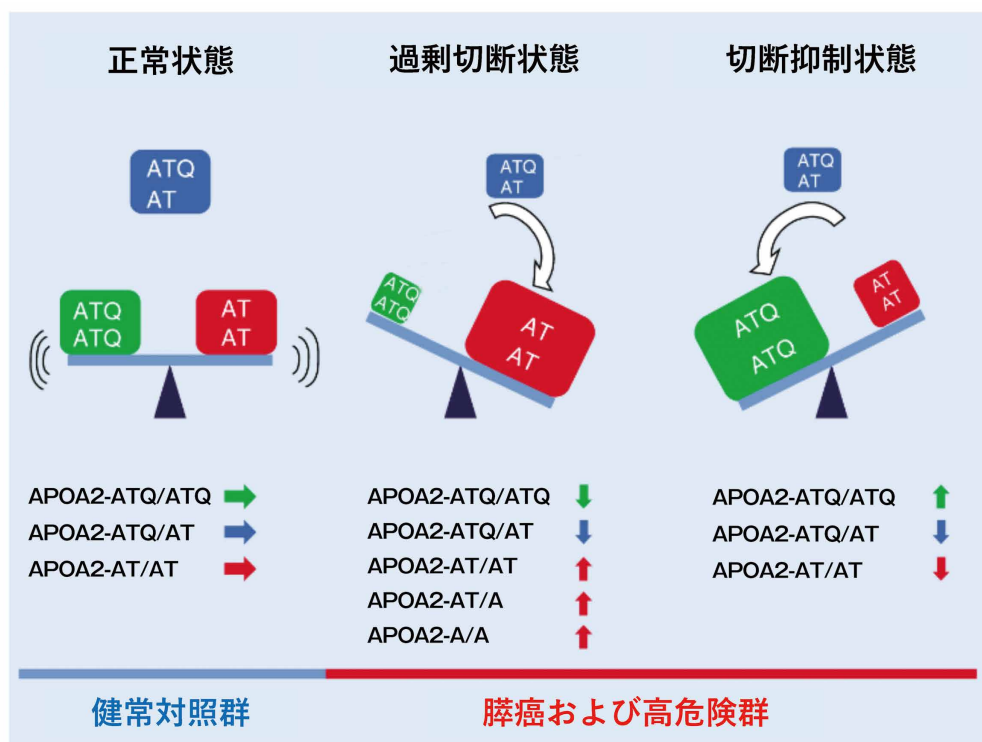


図1 膵酵素による APOA2 アイソフォーム形成のパターン

健常者では、膵由来のペプチド切断酵素により APOA2 の C 末端がランダムに切断され、ATQ/ ATQ、ATQ/AT、AT/AT が多く存在する。膵癌および高危険群では、炎症により切断酵素が過剰に分泌され過剰切断状態を示す場合、ATQ/ ATQ や ATQ/AT が減少し AT/AT が増加しており、逆に、切断酵素の分泌低下により切断抑制状態となる場合では、ATQ/ATQ が切断されず多く存在し、ATQ/AT や AT/AT が減少すると考えられる。いずれの場合も、膵癌および高危険群では ATQ/AT は減少を示すことになる。

文献6) より転載,一部改変