

**【目的】**膵癌は早期発見が困難で局所進行した状態や遠隔転移を伴う状態で診断されることが多い。さらに外科的根治術単独での長期治療成績は満足できるものではなく、術後の再発・転移も高率である。したがって、膵癌の治療成績向上には、化学療法・放射線療法・手術治療等を組み合わせた集学的治療が不可欠である。当教室ではこれまでに上皮間葉転換 (EMT) が膵癌の浸潤・転移メカニズムにおいて重要な鍵となることを報告してきた。また、過去の豊富な臨床経験から、膵癌は「局所進展タイプ」と「遠隔転移タイプ」に二分されると考え、各々のタイプに応じた治療が求められることから、EMT を膵癌のタイプ別分類に利用することを着想した。膵癌は手術以外の組織採取が必ずしも容易ではなく、体液を用いたより侵襲の少ない検査が切望されている。近年、癌細胞との相互作用を有し、EMT にも関連するとされる血小板 (tumor-educated platelets : TEP) が脚光を浴びており、本研究では TEP に含まれる核酸分子の網羅的解析を行い、膵癌のタイプ別分類に有用な TEP 関連バイオマーカーを開発し、難治性膵癌に対する個別化集学的治療に貢献することを目的としている。

**【方法】**膵疾患に対して手術を中心とした集学的治療の予定となった患者から術前採血検体を収集し、血小板を採取した。1. 遠心処理を行い、全血から血小板以外の血球を除去し、血小板ペレットとして保存可能な状態で処理した。2. テストサンプルにより、血小板に含まれる mRNA の網羅的解析を mRNA-seq により行った。

**【結果】**血小板中の RNA を網羅的に解析するため、high-throughput RNA sequencing を行った。まず、集学的治療を受ける予定である膵癌患者から採取した血液検体より、遠心処理で血小板ペレットを抽出し、そこから total RNA を抽出した。まずテストサンプルとして 4 例の血小板由来 total RNA を使い、Agilent 2100 バイオアナライザを用いた quality check を行った。quality check の結果を基に、Nugen kit によるライブラリ調製を行い、quality check を行った 4 例のテストサンプルに対して DNBseq を用いた網羅的 mRNA-seq を行った。得られたシーケンス情報はフィルタリング処理され、アダプター配列、コンタミネーションおよび低品質の配列情報は除外された。データフィルタリングの後のシーケンス配列統計学的情報から、血小板から十分な mRNA-seq 情報 (6G リード数以上) が得られることが確認され、さらに症例を拡張し、膵癌 14 例、IPMN 5 例、NET 3 例、胆管癌 3 例、SPN1 例および、疾患のない healthy volunteer 4 例の合計 30 例について上記同様の手法で血小板中 mRNA-seq 解析を実施した。

Tumor-educated platelets: TEP の概念図

