

研究種目：若手研究（A）
研究期間：2007～2010
課題番号：19689028
研究課題名（和文） 癌細胞膜フォーカストプロテオミクスでの薬物輸送体群同時絶対定量と抗癌剤感受性
研究課題名（英文） Quantitative proteomics of membrane transporters using application of a simultaneous LC/MS/MS method
研究代表者
小野川 徹（ONOGAWA TOHRU）
東北大学・病院・助教
研究者番号：50431557

研究分野：消化器外科学

科研費の分科・細目：消化器外科学

キーワード：薬物輸送体・抗癌剤感受性・プロテオミクス・バイオマーカー

1. 研究計画の概要

本研究の目的は、当科手術検体を用いて、それぞれの癌細胞における機能膜蛋白質である複数の薬物輸送体及び代謝酵素蛋白群の発現をプロテオミクスにて網羅的同時絶対定量し、その特異的蛋白発現プロファイルと臨床における抗癌剤治療成績との相関を検討することにより、新規抗癌剤感受性予測システムを構築し、その臨床応用を目指すことにある。

2. 研究の進捗状況

申請者の専門である膵癌に着目し、膵癌培養細胞株における Gemcitabine (以下 GEM) 感受性・耐性因子となり得る ABC 輸送体、SLC 輸送体、細胞膜マーカー蛋白、GEM 代謝酵素、計 85 分子に特異的ペプチドを設計し、MRM MS-based assay の同時絶対定量(ターゲットプロテオミクス)にて発現プロファイルを明らかにした。得られた定量値を用いた感受性予測式は IC50 値と高い相関を示した。次に、膵癌手術標本を用いて、生存期間と定量値から GEM 感受性予測とテーラーメード治療への可能性を検証したところ、算出される値が低値な症例は GEM に対し耐性を示し、高値な症例は感受性を示すことが示唆された。

本研究は、膜蛋白が解析対象のため、一定量の組織が必要であることや、肝胆膵疾患手術症

例の少なさから、検証を重ねるには労力と時間がかかり困難を極めることが予想される。

最近、医療機関に大量に保管されているホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を出発材料に用い、網羅的にプロテオーム解析(グローバル解析)を行い、候補蛋白質を定量解析(ターゲット解析)する戦略が活発に実践され、その有効性が示されてきている。FFPE 標本を用いた研究の最大の利点は、膨大な数の試料が予後情報等の臨床データを加えた状態でアーカイブされており、レトロスペクティブな解析が容易な点である。

現在は、過去10年間の胆道癌・膵癌切除例の FFPE 標本から蛋白質発現プロファイルを比較して、特異的に発現している候補蛋白 100 種以上を同定・半定量し、この候補蛋白の定量検証を行っている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

本技術を他の抗癌剤にも応用することで感受性の高い薬剤の選択が可能となり、テーラーメード治療への応用が大いに期待された。

4. 今後の研究の推進方策

今後症例を集積し、Geneontology 解析を行う

ことで、候補の中で「血液や胆汁に現れる可能性がある」漏洩・分泌蛋白質などに絞り込み、術前に採取できる血液や胆汁を用いて選択的に検出・定量して候補マーカーを検証する新規研究戦略や、従来の形態学を超えた分子病理学的診断への応用、候補マーカーをターゲットした分子標的治療や分子イメージング技術開発等、産業や臨床医学上のイノベーションや肝胆膵診療のブレイクスルーにつながるような成果を生み出したいと考えている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計12件)

1. Mizuma M, Katayose Y, Yamamoto K, Shiraso S, Sasaki T, Yabuuchi S, Oda A, Masuda K, Rikiyama T, Onogawa T, Ohtsuka H, Motoi F, Egawa S, Unno M. Up-regulated p27Kip1 reduces matrix metalloproteinase-9 and inhibits invasion of human breast cancer cells. *Anticancer Res.* 査読有 2008 ; 28(5A) : 2669-2677.
2. Fukase K, Ohtsuka H, Onogawa T, Oshio H, Ii T, Mutoh M, Katayose Y, Rikiyama T, Oikawa M, Motoi F, Egawa S, Abe T, Unno M. Bile acids repress E-cadherin through the induction of Snail and increase cancer invasiveness in human hepatobiliary carcinoma. *Cancer Sci.* 査読有 2008 ; 99(9) : 1785-1792.
3. Oshio H, Abe T, Onogawa T, Ohtsuka H, Sato T, Ii T, Fukase K, Muto M, Katayose Y, Oikawa M, Rikiyama T, Egawa S, Unno M. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activates cyclooxygenase-2 gene transcription through bile acid transport in human colorectal cancer cell lines. *J Gastroenterol.* 査読有 2008 ; 43(7) : 538-549.
4. Onogawa T, Muto M, Suzuki T, Ishida T, Rikiyama T, Katayose Y, Ohuchi N, Sasano H, Abe T, Unno M. Human liver-specific organic anion transporter-2 is a potent prognostic factor for human breast carcinoma. *Cancer Sci.* 査読有 2007 ; 98(10) : 1570-1576.
5. Ota K, Ito K, Akahira J, Sato N, Onogawa T, Moriya T, Unno M, Abe T, Niikura H, Takano T, Yaegashi N. Expression of organic cation transporter SLC22A16 in human epithelial ovarian cancer: a possible role of the adriamycin importer. *Int J Gynecol Pathol.* 査読有 2007 ; 26(3) : 334-340.

[学会発表] (計13件)

1. 小野川徹ら(21名中1番目), 胆道癌ホルマリン固定パラフィン包埋切片からのディスプレイプロテオミクス, 日本ヒトプロテオーム機構第7回大会, 2009年7月27日, 東京
2. 小野川徹ら(21名中1番目), 胆道癌ホルマリン固定パラフィン包埋組織からのディスプレイプロテオミクス, 第5回日本臨床プロテオーム研究会, 2009年5月9日, 東京
3. 小野川徹ら(8名中1番目), 新規乳癌独立予後規定因子LST-2/SLCO1B3の癌細胞特異的発現とその腫瘍生物学的意義, 第3回トランスポーター研究会年会, 2008年6月7日, 京都
4. 小野川徹ら(18名中1番目), 検体微量ペプチド試料からの薬物輸送体及び代謝酵素蛋白質群の網羅的同時絶対定量解析と抗癌剤感受性予測, 第108回日本外科学会定期学術集会, 2008年5月15日, 長崎

[図書] (計1件)

1. Diseases of the Pancreas -Current Surgical Therapy-(共著書) (Beger HG, Matsuno S, Cameron JL Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008, Onogawa T, Rikiyama T, Unno M, Matsuno S. : 895-904 Section 10 : Congenital Anomalies of the Pancreas, Chapter 82 : Biliopancreatic Maljunction: Classification, Diagnosis, and Treatment