

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02830

研究課題名（和文）PET陽性肺がん特異的バイオマーカーの同定と検証

研究課題名（英文）Identification and validation of PET-positive lung cancer-specific biomarkers

研究代表者

吉田 優（YOSHIDA, MASARU）

兵庫県立大学・環境人間学部・教授

研究者番号：00419475

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、PET陽性肺がんターゲットを絞り、早期診断可能なマーカー探索を行った。治癒切除可能なPET陽性肺がん患者に<sup>13</sup>Cグルコースを経口投与し、その投与前後、術前・術後の検体を比較することで、肺がん細胞が特異的に代謝した<sup>13</sup>Cグルコース由来代謝物を網羅的に測定した。その結果、肺がん患者術前検体を用いた精密質量データから15種類の<sup>13</sup>C-Glucose由来候補代謝物を見出した。それぞれの代謝物候補マーカーの分析系を新たに構築し、がん診断マーカーとしての検証を行った。今後、さまざまな他のがん腫で比較検討し、肺がん特異性について明らかにする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、肺がん特異的なバイオマーカーの開発を行った。体内で肺がん細胞は普通の細胞と代謝が異なること、グルコースを多く取り込むことが知られている。そこで、グルコースを構成する炭素分子に目印（<sup>12</sup>C<sup>13</sup>）をつけてヒトに投与し、尿から検出される代謝物を網羅的に解析することで、肺がん特異的なバイオマーカーをスクリーニングした。これまでに15種の候補物質を同定しており、今後、他のがん種での比較を行う予定である。

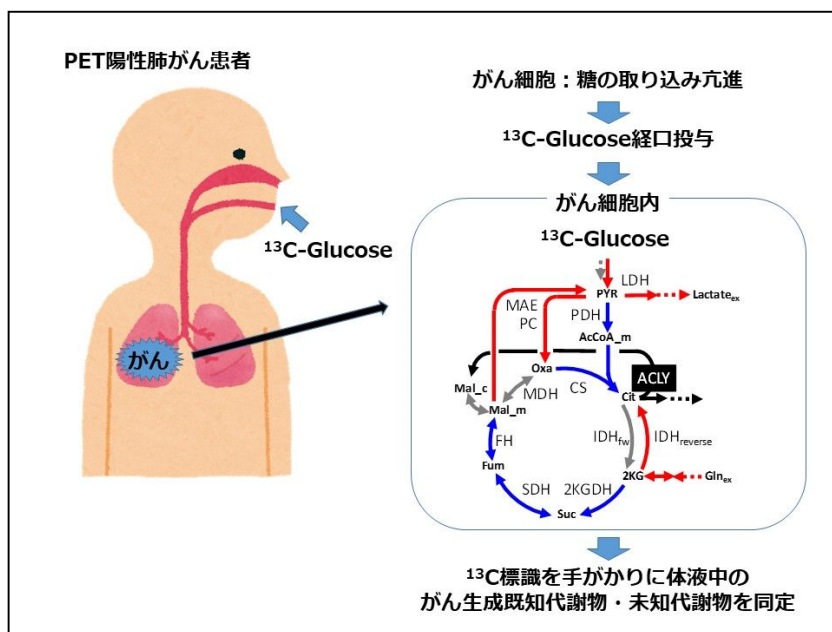
研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on PET-positive lung cancer and searched for markers that can be used for early diagnosis. By orally administering <sup>13</sup>C glucose to patients with curatively resectable PET-positive lung cancer and comparing samples before and after administration, before and after surgery, we comprehensively investigated <sup>13</sup>C glucose-derived metabolites specifically metabolized by lung cancer cells. It was measured. As a result, 15 types of <sup>13</sup>C-glucose-derived candidate metabolites were found from accurate mass data using preoperative specimens from lung cancer patients. We constructed a new analysis system for each metabolite candidate marker and verified it as a cancer diagnostic marker. In the future, we will conduct comparative studies with various other cancers to clarify the specificity of lung cancer.

研究分野：臨床医学

キーワード：肺がん バイオマーカー メタボローム解析 <sup>13</sup>Cグルコース

1. 研究開始当初の背景

近年、多種類の代謝物を同時に感度よく、網羅的に測定する技術(メタボローム解析)の進歩により、麻薬やドーピングなどの違法薬物や食品の残留農薬の一斉分析が行えるようになってきた。がん患者では、がん細胞特異的代謝経路の活性化により、末梢血中の代謝物プロファイリングが変化していることが予想される。これまでに、申請者らは、がん患者の血清・血漿中の代謝物を網羅的に定量測定し、さまざまながん患者の早期診断が可能であることを明らかにしてきた。また、検体処理・測定の自動化を進め、医療現場で使用可能な測定医療機器の開発を行ってきた。しかし、採血後に代謝物値が変動するため、同定したバイオマーカーの実用化においては、厳格に検体収集の条件をそろえるなどの必要性があり、実応用への障害になっている。



2. 研究の目的

放射性同位体グルコース(フルオロデオキシグルコース：<sup>18</sup>F-FDG)を用いた PET-CT (positron emission tomography: 陽電子放出断層撮影)検査にも応用されているように、がん細胞はグルコースの取り込みが非常に盛んである。正常の細胞では、細胞内に取り込まれたグルコースは、主として解糖系で代謝される。しかし、がん細胞は、取り込んだグルコースを解糖系以外の様々な代謝経路を通じて、種々のタンパク質や他の代謝物に変換する。そこで、放射性同位元素施設を使用せずに、通常の実験室で使用可能な安定同位体標識 <sup>13</sup>C グルコースを使用し、がん細胞が特異的に代謝した <sup>13</sup>C グルコース由来代謝物を同定できれば、がんの存在診断につながるかと着想した。そこで、PET 陽性肺がんターゲットを絞り、早期診断可能なマーカー探索を行う。

3. 研究の方法

具体的には、治療切除可能な PET 陽性肺がん患者に <sup>13</sup>C グルコースを経口投与する。その投与前後、術前・術後の検体から <sup>13</sup>C グルコース由来代謝物を網羅的に解析する。それぞれの検体間の比較から、肺がん細胞が特異的に代謝した <sup>13</sup>C グルコース由来代謝物を同定する。

研究開発項目

(1) <sup>13</sup>C-Glucose 投与パイロット試験と肺がんマーカー候補の同定

外科的切除可能原発性肺がん患者(4名)の術前ならびに術後に行う。試験薬(<sup>13</sup>C-Glucose; 4g)内服前ならびに2時間後に採血ならびに採尿を行う。同時に試験薬の安全性を評価する。同様の試験を術後にも行う。得られた検体は、下記項目2、および3で使用する。

(2) GCMSによる<sup>13</sup>C-Glucose由来既知代謝物の網羅的定量系の構築とヒト臨床検体分析

ヒト検体に特化したGCMSによる<sup>13</sup>C-Glucose由来既知代謝物の網羅的定量系を構築し、項目1で得られた臨床検体を解析する。具体的に測定する代謝物は、下記の通りである。術前の試験で、<sup>13</sup>C-Glucose投与後に検出されるピークの中から、術後の試験の投与後に検出できないピークを同定し、肺がんにおける<sup>13</sup>C-Glucose由来代謝物バイオマーカー候補とする。

(3) Orbitrap LC-MSシステムによる<sup>13</sup>C-Glucose由来代謝物の網羅的定性系の構築とヒト臨床検体分析

13Cを指標に、各種クロマトグラフィー高分解能質量分析システムにて、ヒト臨床検体に特化した13C-Glucose由来未知代謝物の網羅的定性系を構築し、項目1で得られたヒト臨床検体を解析する。本システムでは、精密質量を測定可能であるため、13C-Glucose由来の13Cで標識された炭素骨格を含む代謝物を包括的かつ精確に選定し、さらに、高分解能質量分析スペクトル(HRMSおよびHRMS/MS)による化学式(組成式)の決定およびin silico代謝反応ライブラリーによる代謝物の同定(帰属)が可能となる。項目2と同様に術前の試験で、13C-Glucose投与後に検出されるピークの中から、術後の投与試験の投与後に検出できないピークを同定し、肺がんにおける13C-Glucose由来代謝物バイオマーカー候補とする。

#### (4) 肺がんバイオマーカー候補の検証

項目2ならびに3の結果から、得られたマーカー候補について、それぞれの機器の検出感度や実臨床への応用(試験薬の値段から考慮される実試験の価格など)を鑑みて、検証試験における13C-Glucoseの投与量などを決定する。さらに、同定された代謝物の安定定量系を構築し、同定されたバイオマーカー候補について、項目1と同様の試験を30人程度の肺がん患者で実施し、肺がんバイオマーカー候補の検証を行う。また、同時に他のがん腫検体と比較し、がん腫特異的なマーカーであるかを検討する。

#### 4. 研究成果

倫理委員会承認後、13Cグルコースを外科的切除可能原発性肺がん患者(4名)の術前ならびに術後に投与した。有害事象を認めず、試験薬は安全性に問題はないと考えられた。GCMS分析による既知物質の比較では、術前ならびに術後に有意な変動は認められなかった。Orbitrap LC-MSシステムによる13C-Glucose由来代謝物の網羅的定性系分析では、肺がん特異的な15種類の代謝物を同定した。その中で、6種は既知物質、9種は未知物質であった。それぞれの未知物質において、高分解能質量分析スペクトル(HRMSおよびHRMS/MS)による化学式(組成式)の決定およびin silico代謝反応ライブラリーによる代謝物の候補を同定した。新たにそれぞれの安定定量系を構築し、現在、他のがん種との比較を行っている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shin Nishiumi, Yoshihiro et al.	4. 巻 12(2)
2. 論文標題 Comparative Evaluation of Plasma Metabolomic Data from Multiple Laboratories	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 etabolites	6. 最初と最後の頁 135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo12020135.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 K Yamamoto, Y Kondo, S Ohnishi, M Yoshida, T Sugiyama, N Sakamoto.	4. 巻 24 (9)
2. 論文標題 The TLR4-TRIF-type 1 IFN-IFN- pathway is crucial for gastric MALT lymphoma formation after Helicobacter suis infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Isience	6. 最初と最後の頁 103064
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Luis G,Godfroid A, Nishiumi S, Cimino J, et al	4. 巻 43
2. 論文標題 Tumor resistance to ferroptosis driven by Stearoyl-CoA Desaturase-1 (SCD1) in cancer cells and Fatty Acid Biding Protein-4 (FABP4) in tumor microenvironment promote tumor recurrence.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 102006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H Saegusa, H Nomura, M Takao, T Hamaguchi, M Yoshida, Y Kodama.	4. 巻 75 (2)
2. 論文標題 Development and validation of an analysis method for pesticide residues by gas chromatography-tandem mass spectrometry in Daikenchuto	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of natural medicines	6. 最初と最後の頁 344-360
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 T. Kobayashi, Y. Sato, S. Nishiumi, M. Yoshida, Y. Kodama, K. Nagashima, K. Honda
2. 発表標題 Prospective Study of Plasma Apolipoprotein A2-ATQ/AT to Screen for High-Risk individuals of Pancreatic Cancer
3. 学会等名 54th EPC (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 本田 一文、小林 隆、吉田 優
2. 発表標題 「膵外分泌機能を評価し膵がんリスク集団を越そうかする血液バイオマーカー開発
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 優、西海信、藤垣誠治
2. 発表標題 食道がん術前化学放射線療法に対する副作用予測に有用な代謝物バイオマーカーの可能性」
3. 学会等名 第18回日本消化管学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 小林 隆、三木美香、植村久尋、佐藤 悠、中野遼太、田中雄志、酒井 新、増田充弘、西海 信、吉田 優、児玉裕三、本田一文	4. 発行年 2022年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 7
3. 書名 消化器・肝臓内科	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松田 史生  (Matsuda Fumio)  (50462734)	大阪大学・大学院情報科学研究科・教授    (14401)	
研究分担者	和泉 自泰  (Izumi Yoshihiro)  (70622166)	九州大学・生体防御医学研究所・准教授    (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関