

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：82610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07194

研究課題名(和文) 脂質クオリティ分析を基軸とした泌尿器腫瘍の新規疾患マーカーの同定と検証

研究課題名(英文) Identification and verification of novel biomarkers for clinical renal cell carcinoma by lipidomics.

研究代表者

中西 広樹 (Nakanishi, Hiroki)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・研究所・脂質シグナリングプロジェクト 特任研究員

研究者番号：10466740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、独自に開発したリポドミクス技術によりヒト腎がん検体脂質の網羅的解析を実施した。得られた脂質プロファイルデータと臨床データの相関を解析することで、腎がん患者の術後予後予測に資する新たなバイオマーカー候補を発見した。今後はさらに研究を推進し、脂質代謝の異常を起因とする疾患特性を解明し、予防・診断治療への実用化を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、基礎医学講座で開発された独自の脂質分析技術を実際の臨床検体を用いて解析しており、基礎研究成果の社会還元を図る橋渡しの位置づけとなる。本研究成果である腎がん術後予後予測の診断候補分子の同定を足がかりに、種々のがん、さらにはより多くの疾患の予防・診断・治療法開発に資する研究基盤の形成につながる。本研究の成果は、新たな医薬品の創製へと繋がる可能性が高く、また、疾患マーカー脂質の発見による早期診断法ならびに術後予後予測法の確立は、国民の健康維持と医療費削減に繋がるなど、経済的・産業的に大きな波及効果も期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated lipidome profile in human renal cell carcinoma (RCC) tissues with an original method using mass spectrometry. By correlating with clinical data, we discovered novel biomarker candidates that contribute to the oncological outcome in patients with RCC. In the future, we also aim to become a novel treatment strategy for RCC by analysis of targeting related enzymes.

研究分野：腫瘍診断学

キーワード：バイオマーカー リポドミクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、リン脂質代謝酵素の遺伝学的な研究から、細胞内外のリン脂質レベルの変化が、がん、炎症性疾患、精神神経疾患をはじめとする多様な疾患の病態形成に深く関与すると考えられている。例えば多様な病態と関連する機能性脂質として見出されたリン脂質の一種であるホスファチジルイノシトール群(PIPs)の分解酵素の一つ PTEN の活性欠失変異は、ヒト癌で p53 に次いで最も頻繁に認められる遺伝子異常である。このように、リン脂質、特に PIPs の代謝による生体制御機構の理解は、学術的にも医薬・医療応用の観点からも、注目を集める研究分野の一つとなっている。実際、PIPs 代謝異常との関わりが報告されている泌尿器がんの罹患率は上昇傾向にある。特に前立腺がんや腎がんは肥満や高脂肪食摂取が増悪因子と報告されており、生体内での脂質クオリティががんの発症や治療効果、予後に関係している可能性がある。加えて、膀胱がんをはじめとする尿路上皮がんは再発率が非常に高く、浸潤がんは予後不良である。これらの知見より、診断、再発予測のための鋭敏なマーカーが必要となるが、現在のところ感度・特異度を十分に満たす臨床マーカーは存在せず、新たな非侵襲マーカーの発見が期待されている。

2. 研究の目的

研究代表者は、病態を反映する機能性脂質として見出された“イノシトールリン脂質”の新たな測定技術として微量組織や血液 1 滴から分析できる高感度法を開発している。本研究では、独自に開発した PIPs の高感度・高分離測定技術を用いて、泌尿器がん患者検体のリピドミクス解析を行い、そのプロファイルと臨床因子、治療反応性、予後、遺伝子多型などを多元的に解析することで診断、治療、予後に影響するマーカー分子の同定を目指す。その成果は将来的には診断、医薬品と治療法のイノベーションにつながる可能性をもつ。

3. 研究の方法

研究代表者が所属する研究室には、生化学、分子生物学の基本的実験に必要な機器を設置し、常時稼働させている。研究進行に必要な液体クロマトグラフィー/質量分析装置も複数台備えており、本研究を効率的に遂行する体制は概ね整っている。以下に研究計画の詳細を述べる。

ヒト検体由来脂質の安定性の確認

脂質は代謝的、化学的に非常に不安定であることから、本研究が用いる検体の摘出後から超低温フリーザー保管までの時間、放置温度などについて検討し、最適範囲の条件を見出す。

腎がん患者の組織検体の PIPs、リン脂質分析

上記条件により選択したヒト腎がん検体を用いて PIPs さらにはグリセロリン脂質、スフィンゴ脂質などを包括的に測定する。

リン脂質データと臨床データとの相関解析

得られた脂質解析データと性別、年齢、組織学的異型度などの臨床データの相関について調べ診断、治療、予後に影響するマーカー分子候補を見出す。

4. 研究成果

本研究では、独自に開発した PIPs をはじめとするリン脂質の高感度定量分析法を用いて腎がん患者検体を解析し、臨床データ等と多次元に解析することで診断、治療、予後に影響するマーカー分子候補を同定することを目的としている。

当初の研究計画にのっとり実験を進め、以下の成果があがった。

ヒト検体由来脂質の安定性の確認

腎がん手術時に摘出されるがん部周囲の非がん部(正常部位)について 1) すぐに液体窒素で凍結、2) 1 時間 4℃ 冷蔵庫にて保管、3) 1 時間室温にて保管、4) 12 時間 4℃ 冷蔵庫にて保管、の条件で摘出後から超低温フリーザー保管までのかかる時間、放置温度の違いによるリン脂質の変化について確認した。

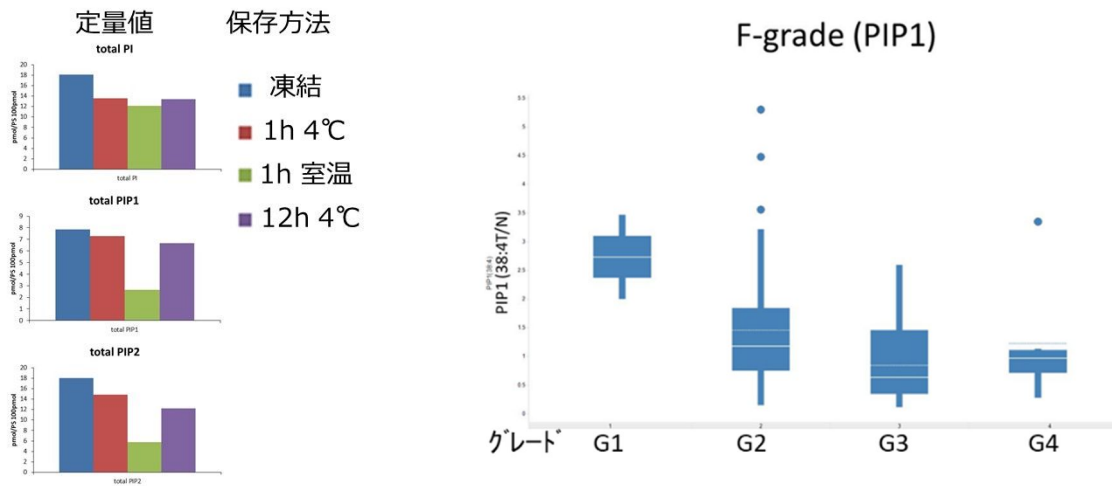
摘出後すぐに凍結した検体と比較して低温(4℃)や室温で放置した検体では脂質量の減弱がみられた(下図)。このことから本研究では術後すぐに凍結保管している検体のみを用いることにした。

腎がん患者の組織検体の PIPs、リン脂質分析

上記条件により選択したヒト腎がん 85 検体（各がん部、非がん部）を用いて PIPs さらにはグリセロリン脂質、スフィンゴ脂質などを包括的に測定した。具体的には、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルイノシトール 1 リン酸、ホスファチジルイノシトール 2 リン酸、ホスファチジルイノシトール 3 リン酸、スフィンゴミエリン、セラミド、糖セラミドなど脂肪酸側鎖違いも含めておよそ 400 分子種の一斉定量分析を行った。解析データからは個体差等が大きく、一概にがん部、非がん部での特徴を見出すことはできなかった。

リン脂質データと臨床データとの相関解析

得られた脂質解析データと性別、腫瘍径、組織学的異型度などの臨床データの相関について調べた。臨床パラメータと比較してリピドミクスデータは個人あたりでがん部、非がん部にわかれていること、さらに分子種数が多く正規化しきれないこともあり、まず相対値（がん部/非がん部）に変換のち、分子種間のプロファイル傾向について解析した。その結果、ホスファチジルイノシトール群のみが脂肪酸側鎖の違いによる差異はなく、個人間での差異のみを反映していた（unpublish data）。そこでもっとも定量値の高かった C38:4 (18:0/20:4 だと推定) シリーズを使い、臨床データの相関について解析した。すると PIP1（やや低いものの PIP2 値も）が、悪性度、進行度と逆相関を示した（進行癌のほど低値を示す）（下図）。さらに、既存の予後規定因子である組織学的異型度、病理病期が同一な患者 A と患者 B の正常部位に対する癌部位の PIP1 量の比 (T/N) が、それぞれ 5.307 と 0.749 と大きな差があることがわかった。その後、PIP1 高値である患者 A は術後 3 年 11 か月経過し、再発無く外来中であるのに対し、患者 B は術後 4 か月で骨転移が出現し、現在は追加治療も奏功せず、緩和治療中であることがわかった。すなわち、既存の予後因子が同じ症例であっても手術時に採取した腎組織の PIP1 値が再発、予後予測の重要なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。現在、予後をより正確に判断する新たな臨床マーカー候補である PIP1 の全症例における解析を進めている。具体的には、臨床因子、治療反応性、予後、遺伝子多型などを多角的に統計解析することで、PIPs 代謝の異常を起因とする疾患特性を解明し、予防・診断治療への実用化を目指している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Kawai Takafumi, Miyata Haruhiko, Nakanishi Hiroki, Sakata Souhei, Morioka Shin, Sasaki Junko, Watanabe Masahiko, Sakimura Kenji, Fujimoto Toyoshi, Sasaki Takehiko, Ikawa Masahito, Okamura Yasushi	4. 巻 116
2. 論文標題 Polarized PtdIns(4,5)P2distribution mediated by a voltage-sensing phosphatase (VSP) regulates sperm motility	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 26020 ~ 26028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1916867116	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 Izumi Yoshihiro, Matsuda Fumio, Hirayama Akiyoshi, Ikeda Kazutaka, Kita Yoshihiro, Horie Kanta, Saigusa Daisuke, Saito Kosuke, Sawada Yuji, Nakanishi Hiroki, Okahashi Nobuyuki, Takahashi Masatomo, Nakao Motonao, Hata Kosuke, Hoshi Yutaro, Morihara Motohiko, Tanabe Kazuhiro, Bamba Takeshi, Oda Yoshiya	4. 巻 9
2. 論文標題 Inter-Laboratory Comparison of Metabolite Measurements for Metabolomics Data Integration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 257 ~ 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo9110257	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 Koizumi Atsushi, Narita Shintaro, Nakanishi Hiroki, Ishikawa Masaki, Eguchi Satoshi, Kimura Hirotaka, Takasuga Shunsuke, Huang Mingguo, Inoue Takamitsu, Sasaki Junko, Yoshioka Toshiaki, Habuchi Tomonori, Sasaki Takehiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Increased fatty acyl saturation of phosphatidylinositol phosphates in prostate cancer progression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49744-3	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 Yamamoto Tsunehisa, Endo Jin, Kataoka Masaharu, Matsuhashi Tomohiro, Katsumata Yoshinori, Shirakawa Kohsuke, Yoshida Naohiro, Isobe Sarasa, Moriyama Hidenori, Goto Shinichi, Yamashita Kaoru, Ohto-Nakanishi Takayo, Nakanishi Hiroki, Shimanaka Yuta, Kono Nozomu, Shinmura Ken, Arai Hiroyuki, Fukuda Keiichi, Sano Motoaki	4. 巻 133
2. 論文標題 Sirt1 counteracts decrease in membrane phospholipid unsaturation and diastolic dysfunction during saturated fatty acid overload	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2019.05.019	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 Yamane D., Feng H., Rivera-Serrano EE., Selitsky SR., Hirai-Yuki A., Das A., McKnight KL., Misumi I., Hensley L., Lovell W., Gonzalez-Lopez O., Suzuki R., Matsuda M., Nakanishi H., Ohto-Nakanishi T., Hishiki T., Wauthier E., Oikawa T., Morita K., Reid LM., Sethupathy P., Kohara M., Whitmire JK., Lemon SM.	4. 巻 4
2. 論文標題 Basal expression of interferon regulatory factor 1 drives intrinsic hepatocyte resistance to multiple RNA viruses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Microbiology	6. 最初と最後の頁 1096~1104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41564-019-0425-6	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 該当する

1. 著者名 Takemasu Shinya, Ito Masaki, Morioka Shin, Nigorikawa Kiyomi, Kofuji Satoshi, Takasuga Shunsuke, Eguchi Satoshi, Nakanishi Hiroki, Matsuoka Isao, Sasaki Junko, Sasaki Takehiko, Hazeki Kaoru	4. 巻 -
2. 論文標題 Lysophosphatidylinositol acyltransferase 1 is involved in cytosolic Ca ²⁺ oscillations in macrophages	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12681	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 Yamamoto Tsunehisa, Endo Jin, Kataoka Masaharu, Matsuhashi Tomohiro, Katsumata Yoshinori, Shirakawa Kohsuke, Yoshida Naohiro, Isobe Sarasa, Moriyama Hidenori, Goto Shinichi, Yamashita Kaoru, Nakanishi Hiroki, Shimanaka Yuta, Kono Nozomu, Shinmura Ken, Arai Hiroyuki, Fukuda Keiichi, Sano Motoaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Decrease in membrane phospholipids unsaturation correlates with myocardial diastolic dysfunction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0208396-0208396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0208396	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 Maruyama Tomohiro, Baba Takashi, Maemoto Yuki, Hara-Miyauchi Chikako, Hasegawa-Ogawa Minami, Okano Hiroataka James, Enda Yuki, Matsumoto Kei, Arimitsu Nagisa, Nakao Kazuki, Hamamoto Hiroshi, Sekimizu Kazuhisa, Ohto-Nakanishi Takayo, Nakanishi Hiroki, Tokuyama Takeshi, Yanagi Shigeru, Tagaya Mitsuo, Tani Katsuko	4. 巻 9
2. 論文標題 Loss of DDHD2, whose mutation causes spastic paraplegia, promotes reactive oxygen species generation and apoptosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 797-811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-018-0815-3	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 Makinoshima Hideki, Uemura Shigeki, Suzuki Ayako, Nakanishi Hiroki, Maruyama Ami, Udagawa Hibiki, Mimaki Sachiyo, Matsumoto Shingo, Niho Seiji, Ishii Genichiro, Tsuboi Masahiro, Ochiai Atsushi, Esumi Hiroyasu, Sasaki Takehiko, Goto Koichi, Tsuchihara Katsuya	4. 巻 78
2. 論文標題 Metabolic Determinants of Sensitivity to Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway Inhibitor in Small-Cell Lung Carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 2179 ~ 2190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-17-2109	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 Morioka S, Nigorikawa K, Okada E, Tanaka Y, Kasuu Y, Yamada M, Kofuji S, Takasuga S, Nakanishi H, Sasaki T, Hazeki K	4. 巻 131
2. 論文標題 TMEM55a localizes to macrophage phagosomes to downregulate phagocytosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 213272 ~ 213272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.213272	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 Malek M, Kielkowska A, Chessa T, Anderson K E., Barneda D, Pir P, Nakanishi H, Eguchi S, Koizumi A, Sasaki J, Juvin V, Kiselev V Y., Niewczas I, Gray A, Valayer A, Spensberger D, Imbert M, Felisbino S, Habuchi T, Beinke S, Cosulich S, Le N N., Sasaki T, Clark J, Hawkins P T., Stephens L R.	4. 巻 68
2. 論文標題 PTEN Regulates PI(3,4)P2 Signaling Downstream of Class I PI3K	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 566 ~ 580.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2017.09.024	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 該当する

1. 著者名 Kimura Hirotaka, Matsuyama Yasushi, Araki Sachiko, Koizumi Atsushi, Kariya Yumi, Takasuga Shunsuke, Eguchi Satoshi, Nakanishi Hiroki, Sasaki Junko, Sasaki Takehiko	4. 巻 28
2. 論文標題 The effect and possible clinical efficacy of in vivo inhibition of neutrophil extracellular traps by blockade of PI3K-gamma on the pathogenesis of microscopic polyangiitis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 530 ~ 541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2017.1367116	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 Shindou Hideo, Koso Hideto, Sasaki Junko, Nakanishi Hiroki, Sagara Hiroshi, Nakagawa Koh M., Takahashi Yoshikazu, Hishikawa Daisuke, Iizuka-Hishikawa Yoshiko, Tokumasu Fuyuki, Noguchi Hiroshi, Watanabe Sumiko, Sasaki Takehiko, Shimizu Takao	4. 巻 292
2. 論文標題 Docosahexaenoic acid preserves visual function by maintaining correct disc morphology in retinal photoreceptor cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12054 ~ 12064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.790568	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 Iizuka-Hishikawa Yoshiko, Hishikawa Daisuke, Sasaki Junko, Takubo Keiyo, Goto Motohito, Nagata Katsuyuki, Nakanishi Hiroki, Shindou Hideo, Okamura Tadashi, Ito Chizuru, Toshimori Kiyotaka, Sasaki Takehiko, Shimizu Takao	4. 巻 292
2. 論文標題 Lysophosphatidic acid acyltransferase 3 tunes the membrane status of germ cells by incorporating docosahexaenoic acid during spermatogenesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12065 ~ 12076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.791277	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中西広樹
2. 発表標題 リビドミクス技術を活用したシグナル伝達脂質の新展開
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------