

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：14501
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2011～2012
課題番号：23659780
研究課題名（和文） 婦人科腫瘍におけるメタボローム解析と関連遺伝子発現・遺伝子多型に関する検討
研究課題名（英文） Metabolomics and polymorphisms analysis on the gynecological diseases.
研究代表者
森田 宏紀 (MORITA HIROKI)
神戸大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：00379364

研究成果の概要（和文）：世界に先駆けて婦人科腫瘍のメタボローム解析の成果をあげる意義は大きい。疾患に特異的バイオマーカーの検索・同定はその疾患の超早期診断に重要であるだけでなく、治療効果を決定する重要なマーカーとなる可能性がある。今回の解析の結果明確な婦人科腫瘍のマーカーとなる代謝産物を同定することは出来なかった。解析の対象となるデータは膨大なため、今後も有意なマーカーとなる代謝産物を同定することをめざし解析を続ける。分析中に得られた症例の治療面での成績の発表を行った。

研究成果の概要（英文）： The purpose of this study is to elucidate metabolomics and polymorphisms about the gynecological diseases. The identification of specific biomarker about some particular diseases could be useful not only for very early diagnosis of the malignant diseases, but for the marker of the treatment effectiveness. In this study, the specific metabolic product for the marker about gynecological diseases could not be obtained. I keep on analysing the data that can be got throughout this period. I presented the findings about the disease treatment obtained during this analysis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：メタボローム解析、婦人科腫瘍、遺伝子多型、産科婦人科

1. 研究開始当初の背景

1981 年以来悪性新生物は日本人の死因の第 1 位となっている。癌は国民にとって依然として重大な脅威であり、その克服に対する社会的ニーズは極めて高く、中でも癌の早期発見に役立つ画期的な超早期診断法の開発が強く求められ

ている。悪性新生物は細胞内外のシグナル伝達異常が引き起こすシグナル伝達病として理解されつつある。シグナル伝達病は増加の一途をたどっておりその医療の重要性は高まっている。一方、質量分析装置の発達に伴い臨床の現場で入手される体液中、組織中の微量なタンパク

質、ペプチドも高感度に解析できるようになってきた。生体を構成するタンパク質の全体像をプロテオーム、生命活動に関連する代謝産物の全体像をメタボロームと呼び生命活動の表現形であるプロテオーム・メタボロームの変化から疾患の本質を理解しようとする研究が進められている。本研究では、婦人科悪性腫瘍に注目しプロテオーム・メタボローム解析を行う。すなわち卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌などの婦人科悪性腫瘍の治療は従来より様々な改良がなされてきた。例えば化学療法の発達の恩恵による5年生存率の上昇など近年の医学の発達には目を見張るものがある。しかし、依然として進行癌は多くの場合難治性となり得るため早期発見、早期治療が重要となっている。また治療効果判定や治療終了後のフォローアップに有用な既存の腫瘍マーカーが無い症例も多く、そのため再発の早期発見に難渋することもある。従って、婦人科悪性腫瘍の超早期診断のためやフォローアップに有用な新規バイオマーカーの開発は意義深いと考えられる。そこで本研究は、質量分析計を用いて血中低分子代謝産物の変動を捉え、癌の早期発見、治療効果予測、予後診断に役立つ画期的な癌診断法の開発の基礎となると考える。

2. 研究の目的

生命体の設計図は遺伝子で構成されるが環境的要因などのため、実際にはタンパク質や代謝産物はその生命活動を担っている。そのため疾患における代謝産物の変動は遺伝子の発現量よりも、変化に富んでいると考えられる。従って代謝産物の全体像＝メタボロームの解析は最近注目を浴び現在欧米では、ポストゲノムのターゲットとして多くのベンチャーがこの領域に参入してきている。本研究では、アミノ酸や有機酸など低分子代謝産物の変動に注目し、質量分析計を用いて婦人科腫瘍に特異的な血中代謝

産物の変動をパターン解析し、変動している代謝産物を新規バイオマーカーとして同定する。本研究の成果は、早期に婦人科腫瘍を発見できる超早期診断システム開発、新たな治療効果判定マーカー開発への基礎となると考える。

3. 研究の方法

生命の設計図は遺伝子で構成されているが、環境的要因などの影響のため実際には多くのタンパク質や代謝産物はその生命活動を担っている。そのため疾患におけるタンパク質代謝産物の変動は遺伝子の発現量よりも、変化に富んでいると考えられる。本研究では、アミノ酸や有機酸、糖、脂肪酸など低分子代謝産物を網羅的に測定が可能な、高感度クロマトグラフィーと質量分析計を組み合わせた複合解析システムを使い、婦人科腫瘍に対するメタボローム解析を実施する。婦人科腫瘍の発症による一連の代謝産物の変動をパターン解析する、すなわちメタボリックフィンガープリンティング、さらには、婦人科腫瘍の早期診断に有用な新規バイオマーカーを同定するメタボライトプロファイリングを採用することで、治療効果予測や予後判定を含む新たな癌早期診断法の開発へ向けた研究を行う。

(1)メタボリックフィンガープリンティング

神戸大学ではこれまでに、マウス、あるいはヒトの血清や尿、組織を用いたメタボローム解析を実施してきており、データ分析も含めその解析システムを確立している。そこで、そのシステムを採用して、以下に示す実験を実施する。

婦人科悪性腫瘍として子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌について治療開始前と治療終了後に患者から血清を採取し、クロロホルム/メタノール/水を用いた液液分配により、血清からアミノ酸や有機酸など低分子代謝産物の抽出を行う。また、

コントロールとして健常人の血清からも同様に低分子代謝産物を抽出する。抽出液をガスクロマトグラフィー質量分析計に供し測定を実施し、得られた測定データを用いて多変量解析のひとつである主成分分析により統計処理を行うことで、各疾患と、健常人の血清の低分子代謝産物の存在パターンがそれぞれ異なるのか否かを統計学的に明らかにする。また、同疾患について手術などで治療終了後の血清も採取し(治療により寛解が期待される検体を使用)、同様にガスクロマトグラフィー質量分析計による測定を実施して、治療後の血清代謝産物存在パターンが健常人に近づくのか否かなどを検討することで、治療効果判定マーカーへの適用性に関して検討する。

(2) メタボライトプロファイリング

(1) で得られた測定結果を用いて、実際に変動している低分子代謝産物を神戸大学が保有しているデータベースなどを用いることで同定し、婦人科腫瘍患者と健常人との間で変動するものや、治療前後で変動する低分子代謝産物などを明らかにしていき、早期診断や治療効果判定に採用できるバイオマーカー候補を決定する。

4. 研究成果

婦人科悪性腫瘍について治療開始前後に患者から血清を採取し、血清からアミノ酸や有機酸など低分子代謝産物の抽出を行った。また、コントロールとして健常人の血清からも同様に低分子代謝産物を抽出した。抽出液をガスクロマトグラフィー質量分析計に供し測定し、測定データを用いて多変量解析のひとつである主成分分析により統計処理を行い、各疾患と健常人の血清の低分子代謝産物の存在パターンがそれぞれ異なるのか否かを統計学的に検討したが、有意な結果は得られなかった。また、同疾患について手術などで治療終了後の血清も採取し、同様

にガスクロマトグラフィー質量分析計による測定を実施して、治療後の血清代謝産物存在パターンが健常人に近づくのか否かなどを検討することで、治療効果判定マーカーへの適用性に関して検討した。

子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌患者といった婦人科腫瘍の治療前や初回手術中に生検組織を得て、その組織を癌部と非癌部とに分別した。続いて癌部組織と非癌部組織から低分子代謝産物を抽出を行い、ガスクロマトグラフィー質量分析計によるメタボローム解析を実施した。これにより癌部、非癌部との間で変動している低分子代謝産物を網羅的に解析していき、その結果をデータベースとを比較検討することで、婦人科腫瘍を発症することでどのような代謝経路が変動するのかを検討した。さらに、前回の成果を照らし合わせることで、血清中にみられる低分子代謝産物の変動がどのようにして誘導されたかを精査した。解析の結果明確な婦人科腫瘍のマーカーとなる代謝産物を同定することは出来なかった。解析の対象となるデータは膨大なため、今後も有意なマーカーとなる代謝産物を同定することをめざし解析を続ける。分析中に得られた症例の治療面での成績の発表を学会、論文にて行った。腫瘍にとらわれず産婦人科の症例からの基礎データを分析中に得られた知見も報告した。世界に先駆けて婦人科腫瘍のメタボローム解析の成果をあげる意義は大きいと考える。

5. 主な発表論文等

(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 3 件)

(1) Acute urinary retention caused by endometrial carcinoma with large cystic cervix. Takeuchi K, Tsujino T, Yabuta M, Morita H. Arch Gynecol Obstet. 2011 Mar;283 Suppl

1:73-5. doi: 10.1007/s00404-010-1635-6.
Epub 2010 Aug 14.

(2) Successful medical treatment with octreotide for chyloperitoneum following paraaortic lymphadenectomy in the treatment of gynecologic malignancies: a report of 2 cases. Takeuchi K, Fujiwara K, Tsujino T, Morita H. J Reprod Med. 2011 Jan-Feb;56(1-2):75-7.

(3) A dipstick test combined with urine specific gravity improved the accuracy of proteinuria determination in pregnancy screening. Makihara N, Yamasaki M, Morita H., Yamada H. Kobe J Med Sci. 2011 Jan 21;56(4):E165-72.

[学会発表] (計 2 件)

(1) 第 50 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
2012 年 07 月 22 日～24 日 札幌
化学療法抵抗性・再発卵巣癌に対するリポゾーム化ドキシソルビシン (PLD) を用いた Salvage chemotherapy の検討
神戸大学 産科婦人科
森田宏紀, 蝦名康彦, 新谷 潔, 宮原 義也,
中林 幸士, 山田 秀人

(2) 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会
2011 年 08 月 29 日～31 日 大阪
周産期大量出血に対する interventional radiology
神戸大学大学院医学研究科産科婦人科学分野
森田宏紀, 山崎友維, 森實真由美, 園山綾子,
平久進也, 天野真理子, 陌間亮一, 谷村憲司,
山崎峰夫, 山田秀人

[図書] (計 2 件)

(1) 森田宏紀 (竹内靖博 編) 科学評論社 東京
内分泌ホルモンのすべて hCG ・ hPL
359-365 2013

(2) 森田宏紀 (山口 徹、北原光夫、福井次矢
編) 医学書院 東京
今日の治療指針 常位胎盤早期剥離
238-243 2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者
森田 宏紀 (MORITA HIROKI)
神戸大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：00379364