

平成 30 年 6 月 28 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462860

研究課題名(和文) 癌の予知と予後の検知を目指した唾液中メタボロームマーカーの探索

研究課題名(英文) Search for salivary metabolome markers for cancer prediction and prognosis detection

研究代表者

柴田 達也 (Shibata, Tatsuya)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：90323708

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)：乳癌モデルマウスとコントロールマウスの唾液中に含まれる代謝産物をメタボローム解析で比較し、乳癌特異的かつ信頼性の高いバイオマーカー探索を試みマーカー候補を抽出した。さらに、¹³C-グルコースを用いた代謝産物のトレーシング実験をおこない、マーカー候補が乳腺等の組織、唾液腺、血液で再現性高く検出され、それが唾液中に反映されている事が明らかになった。以上の結果より、唾液のメタボローム解析が安全且つ簡便な検知ツールとなりうる事が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed salivary metabolome analysis to search for breast cancer specific and highly reliable biomarker. We investigate differential metabolites between breast cancer bearing mice and control mice, and found several candidate markers. In addition, we performed tracer experiments with ¹³C-glucose, and detected marker candidates highly reproducibly in tissues such as mammary glands, salivary glands, and blood. These results suggested that salivary metabolome analysis may be useful to detect cancer-specific metabolites.

研究分野：医歯薬学

キーワード：メタボローム 唾液 腫瘍

1. 研究開始当初の背景

癌をはじめ様々な疾患の診断バイオマーカーは主に血中からの探索が盛んにおこなわれてきたが、単独で十分に信頼できるバイオマーカーはほとんど無く、早期発見や診断に用いる事が困難であるのが現状である。唾液は患者から非侵襲的かつ簡便に採取でき頻回の検査も可能である生体試料である。また、血液や尿と同じように生体内の生理的な状態を反映すると考えられていることから、歯周病などの口腔内疾患に限らず、全身性あるいは遠隔臓器の様々な疾患の診断に用いる試みがなされている。近年、唾液中の微量なタンパク質や代謝産物を網羅的に解析する手法(メタボローム解析)の開発・改良が進んでおり、疾患検知のバイオマーカーの探索例が数多く報告されている。しかし、検出感度や再現性の未熟さからそのほとんどが未だ基礎研究段階に留まっている。対象疾患に高い特異性を持ち、かつ精度高く検出できる信頼性の高いバイオマーカーを絞り込むためには、疾患の状態を確実に反映する物質を見つけ出し、その物質が唾液中に現れるメカニズムの解明が必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔内疾患に限らずの遠隔臓器の疾患を反映する代謝物が唾液中に検出できるとの仮説に基づき、マウスの乳癌モデルを作製し、癌の代謝物が唾液中に現れるかをしらべる。さらに、乳癌への特異性および信頼性の高いバイオマーカーとしての代謝物を探求する基盤研究である。

3. 研究の方法

- (1) BALB/c マウスに由来する 4T1.2 マウス乳癌細胞株を注入し 1 週間経過後、乳癌を発症させた乳癌形成モデルマウスを作製した。コントロールマウスとしては正常乳腺細胞または輸液のみを注入し 1

週間経過したものを使用した。これらのマウスから、唾液、唾液腺、血液を採取し、キャピラリー電気泳動質量分析装置(CE-MS)にて解析を実施した。

- (2) 健常マウスに安定同位体 ^{13}C でラベルしたトレーサー(^{13}C -グルコース)を注入した後に、唾液、唾液腺、血液、乳腺、肺、肝臓、を採取した。これらの検体を CE-MS にて解析を実施した。

4. 研究成果

- (1) 乳癌モデルマウスとコントロールマウスの唾液から CE-MS を用いたメタボローム解析をおこなったところ、オルニチン回路に関わる代謝産物であるプトレシン、アセチルスベルミジンなどが乳癌モデルマウスにて優位に高く検出された。これまでの報告にも、アセチルスベルミジンは血液や尿では様々な癌のバイオマーカーとして挙げられていることから、これらの代謝産物が乳癌のバイオマーカー候補である可能性が考えられた。

- (2) 先の乳癌モデルマウスの唾液メタボローム解析から得られたバイオマーカー候補の生体内での挙動を明らかにするため、唾液に加え、血液、唾液腺、その他の組織におけるそれら代謝産物の挙動を調べるために ^{13}C -グルコースを用いた代謝産物のトレーシング実験をおこなった。その結果、唾液のバイオマーカー候補が乳腺等の組織や唾液腺、血液でも再現性高く検出された。このことから、バイオマーカー候補を含む多くの代謝産物が唾液へ移行し、唾液中での検出が十分に可能である事が明らかとなった。

(今後の課題)

本課題における代謝産物の測定および解析にキャピラリー電気泳動質量分析装置 (CE-MS) を用いてきたが、回収率の低下が問題点として考えられた。その問題点を解決するために次の2点について検討を進める予定である。 限外濾過フィルターを使わない前処理方法、 液体クロマトグラフィー質量分析装置 (LC-MS) による測定。

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 27 件)

Okuma N, Saita M, Hoshi N, Soga T, Tomita M, Sugimoto M, Kimoto K. Effect of masticatory stimulation on the quantity and quality of saliva and the salivary metabolomic profile. PLOS ONE. 2017, 12:e0183109-. 査読有
doi:10.1371/journal.pone.0183109

Sugimoto M, Obiya S, Kaneko M, Enomoto A, Honma M, Wakayama M, Soga T, Tomita M. Metabolomic Profiling as a Possible Reverse Engineering Tool for Estimating Processing Conditions of Dry-Cured Hams. J Agric Food Chem. 2017, 18:402-410. 査読有
doi:10.1021/acs.jafc.6b03844

Sakagami H, Shimada C, Kanda Y, Amano O, Sugimoto M, Ota S, Soga T, Tomita M, Sato A, Tanuma S, Takao K, Sugita Y. Effects of 3-styrylchromones on metabolic profiles and cell death in oral squamous cell. Toxicology Reports. 2016, 2:1281-1290. 査読有
doi:10.1016/j.toxrep.2015.09.009

Harada S, Takebayashi T, Kurihara A, Akiyama M, Suzuki A, Hatakeyama Y, Sugiyama D, Kuwabara K, Takeuchi A, Okamura T, Nishiwaki Y, Tanaka T, Hirayama A, Sugimoto M, Soga T, Tomita M. Metabolomic profiling reveals novel biomarkers of alcohol intake and alcohol-induced liver injury in community-dwelling men. Environ Health Prev Med. 2016, 21(1):18-26. 査読有
doi:10.1007/s12199-015-0494-y

Komatsu K, Shibata T, Shimada A, Ideno H, Nakashima K, Tabata Y, Nifuji A.

Cationized gelatin hydrogels mixed with plasmid DNA induce stronger and more sustained gene expression than atelocollagen at calvarial bone defects in vivo. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. 2016, 27:419-430. 査読有
doi:10.1080/09205063.2016.1139486.

Kawaguchi-Sakita N, Kaneshiro-Nakagawa K, Kawashima M, Sugimoto M, Tokiwa M, Suzuki E, Kajihara S, Fujita Y, Iwamoto S, Tanaka K, Toi M. Serum immunoglobulin G Fc region N-glycosylation profiling by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry can distinguish breast cancer patients from cancer-free controls. Biochem Biophys Res Commun. 2016, 469(4):1140-1145. 査読有
doi:10.1016/j.bbrc.2015.12.114.

Garcia-Contreras R, Sugimoto M, Umemura N, Kaneko M, Hatakeyama Y, Soga T, Tomita M, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Nakajima H, Sakagami H. Alteration of metabolomic profiles by titanium dioxide nanoparticles in human gingivitis model. Biomaterials. 2015, 57:33-40. 査読有
doi:10.1016/j.biomaterials.2015.03.059.

[学会発表](計 10 件)

Shimada A, Arai Y, Wada S, Ideno H, Kamiunten T, Nakashima K, Komatsu K, Yamashita T, Ezura Y, Amizuka N, Poschl E, Brachvogel B, Nakamura Y, Nifuji A. Annexin A5 inhibits bony outgrowth at tendon/ligament insertion sites. ASBMR 2015 annual meeting, 2015 年

[その他]

ホームページ等

<https://rams.manage.spcloud.jp/perfman/teachers/profile/1081?code2=D01110&ref1=dental&ref2=find>

6. 研究組織

(1)研究代表者

柴田 達也 (SHIBATA, TATSUYA)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：90323708

(2)研究分担者

二藤 彰 (NIFUJI, AKIRA)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：00240747

島田 明美 (SHIMADA, AKEMI)
鶴見大学・歯学部・講師
研究者番号：00339813

杉本 昌弘 (SUGIMOTO, MASAHIRO)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：30458963