

令和元年6月25日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10281

研究課題名(和文) 悪性胸膜中皮腫におけるメタボローム解析～新たなバイオマーカーの創出

研究課題名(英文) metabolomic profiling in patients with malignant pleural mesothelioma

研究代表者

垣花 昌俊 (Kakihana, Masatoshi)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：90366112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：CE-TOFMSにより肺癌症例の代謝物を同定し定量解析を行った結果、様々なPathwayの中間代謝物濃度が顕著に変化することがわかった悪性胸膜中皮腫症例より胸水を用いて同様のCE-TOMFSによる定量解析を行うにあたり、胸水を用いた解析そのものが報告が少ないため、血液、唾液とともに同様の結果が得られるかどうかをまず検定した。4℃で保存した胸水と-80℃で保存した同一患者の胸水とで採取されたペプチドに有意な差はなく、検体の保存状況に結果が左右されないことが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国の2025～30年の中皮腫による死亡者数は上限予測で年間4,000人を超えると予想され、2003年の死亡者数の4倍になる。中皮腫は初期には症状が乏しく、進行状態になって発見されることが多い。しかし、石綿暴露歴が発症に大きく関与しており、発症の可能性のある集団に対して有意なバイオマーカーが存在すれば、早期発見に大きく寄与し延命の可能性が高まる。肺癌手術材料を用いたオミクス解析により非癌患者と比較し異なるタンパク質発現を見出したこと、および悪性胸膜中皮腫患者へ応用が可能であると判明したことは低侵襲な検査で中皮腫の診断が可能になる可能性がありその意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Recent advances in omics technologies have allowed scientists to investigate increasingly profiling of proteins, including the diversity of samples. However, despite a multitude of recent studies incorporating these methods, many questions regarding how the samples should be collected and stored still persist. Here, we assess the impact of different pleural effusion sample storage conditions on temperature. Both storage time and temperature did not affected profiling proteins. This result suggested the utility of pleural effusion under the some storage conditions consistent with useful for metabolome analysis.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：オミックス検査・解析 悪性胸膜中皮腫 肺癌 解糖系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

石綿(アスベスト)に起因する悪性胸膜中皮腫(中皮腫)の発生は、近年、先進諸国において増加の一途をたどっている。我が国においても2012年度の死亡者数は1995年度と比べ、約3倍のおよそ1,400人に達している(厚労省;都道府県別の死亡統計)。アスベストへの曝露開始から中皮腫発生までの期間は11~54年(中央値38.6年)であり、我が国においてアスベストが最も多く消費された時期が1970~90年であることから、2030年まで中皮腫患者は増え続けると予測され、我が国の2025~30年の中皮腫による死亡者数は上限予測で年間10,000人を超えとみられている。これは現在の乳がんの死亡者数に匹敵する数字である。中皮腫の診断精度の向上を目指して、中皮腫に特異性のある種々の抗体パネルを組み合わせた免疫組織化学的病理診断法の研究が進められているが、上皮型中皮腫と肺がん、肉腫型中皮腫と肉腫との鑑別にはなお検討を要する症例がある。ジェネティックなマーカーとしてはカルポニンやSOCSなども注目されている。しかしながら、体腔液を用いた腫瘍マーカー測定では早期の中皮腫を診断することは困難であり、コストの面からも広く汎用されるには至っていない。中皮腫の治療については、胸膜肺全摘術などの外科的治療、シスプラチン、ペメトレキセドなどを用いた化学療法及び放射線療法を組み合わせた集学的治療法が試みられているが、予後は極めて不良で世界的にみても2年生存率は20~30%にとどまる。即ち、中皮腫の治療成績を改善するためには、外科切除が可能な早い病期での癌診断が決定的に重要なのである。石綿健康被害救済制度の対象となる疾病は、中皮腫と石綿による肺がんである。これら以外にも、石綿との関連が知られている疾患として、石綿肺、良性石綿胸水、びまん性胸膜肥厚がある。これら良性疾患と悪性腫瘍の鑑別、悪性腫瘍の早期発見が、居住環境あるいは就労による石綿曝露者、およびその家族に大変重要である。従来とは異なる新規開発技術を用い、より簡便かつ安価な測定方法の確立が急務であると考え、本研究では革新的な「唾液・体腔液・組織メタボローム解析による新たな悪性胸膜中皮腫診断法」の実用化を目指す。

2. 研究の目的

石綿に起因する悪性胸膜中皮腫の発生は年々増加の一途を辿っており、今後更なる増加が見込まれている。そこで網羅的な分子測定技術を悪性胸膜中皮腫の診断に応用し、新しい分子マーカーを発見し、早期診断法を確立することを目的とする。診断対象としては、早期発見を目的として低侵襲・非侵襲に採取可能な血液や唾液を対象とする。生化学的な裏付けを得て悪性胸膜中皮腫に特異性の高いマーカーを探索するために、組織検体に関しては、メタボローム、トランスクリプトームを含めたマルチオミックス解析を行い、組織内での代謝異常と整合性の得られるマーカーを絞り込む。これらをハイボリュームな多検体で実施し、臨床的な有用性を評価し、診断率の向上に取り組み、新たな悪性中皮腫診断法を実用化に近い段階へ推し進める。

3. 研究の方法

本研究では、以下の3点を到達目標とし、妥当性検証をさらに一点追加する。

- 1) 唾液、体腔液(胸水、血液)を用い、中皮腫をはじめとした石綿曝露と関連する呼吸器疾患を検出することができる代謝マーカーを同定し、新たなスクリーニングシステムの確立を目指す。
- 2) 胸水を用いた解析そのものの報告が少ないため、血液、唾液とともに同様の結果が得られるかどうかを検定
- 3) 腫瘍組織や唾液・体腔液の代謝プロファイルから、客観的に評価する指標を見出す。

4. 研究成果

肺癌症例の唾液、血液、切除検体を用い、蛋白プロファイリングを行い、非担癌患者の唾液、血液と比較し異なるプロファイリングを同定した。(図1)

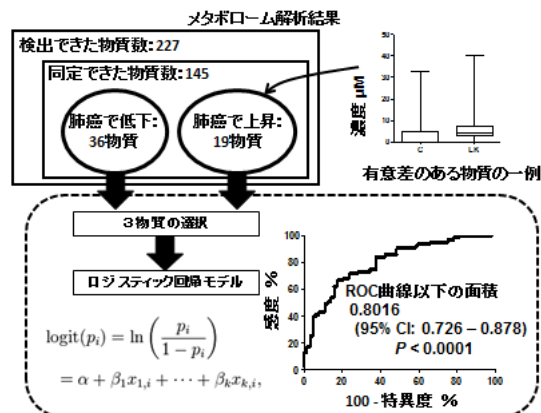
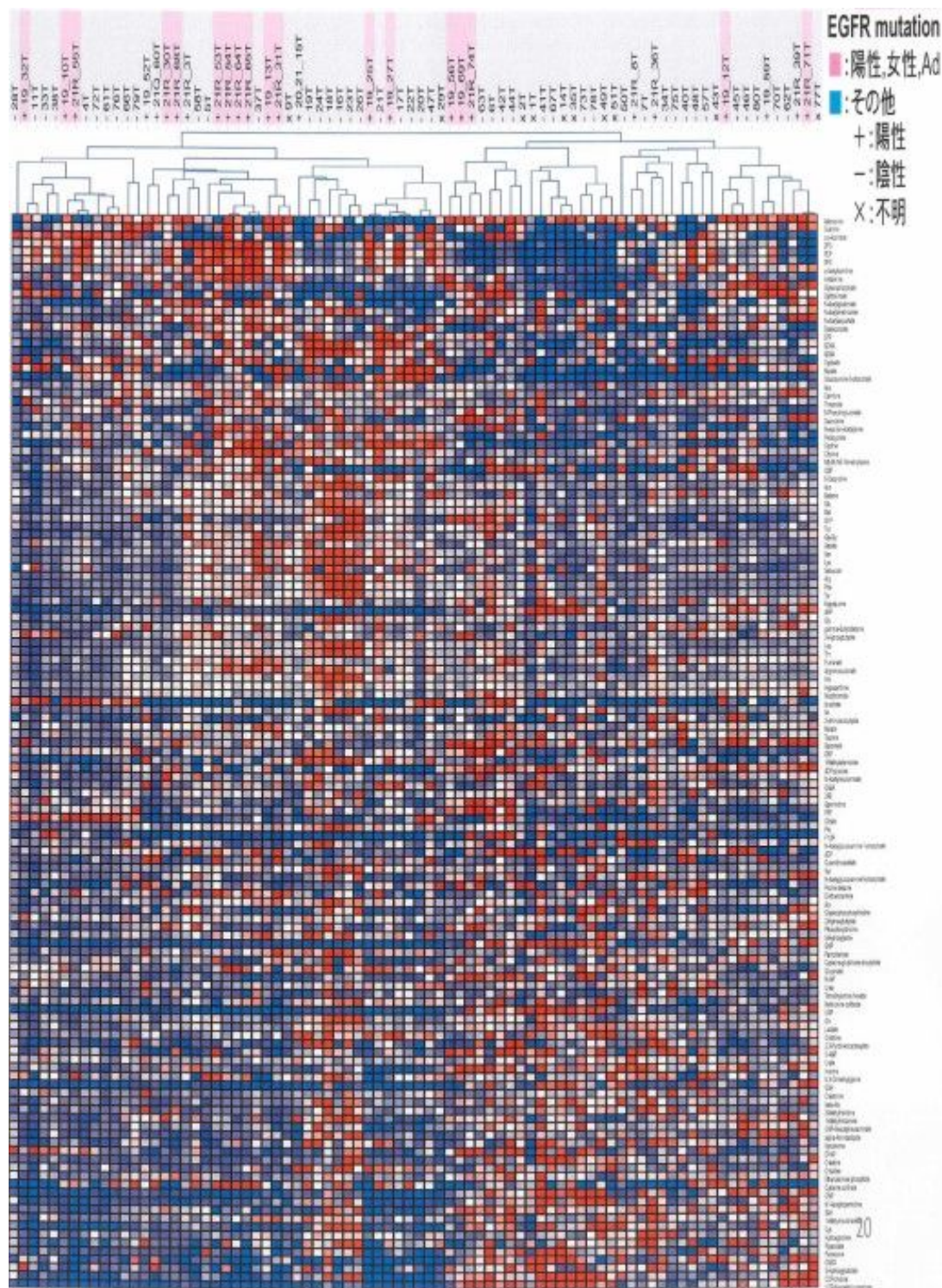


図2は、女性肺腺癌症例について、同定できたタンパク産物（縦軸）と症例（横軸）のクラスター分類の結果を示す。
 これら同定できたタンパク質の濃度を分析しプロファイリングを行った。
 TCA サイクル内のタンパクの濃度の低下と解糖系回路のタンパク質濃度の低下が腫瘍成分では健常サンプル例に比べ認められた



【図2】

胸水の保存状態によって、蛋白プロファイリングに差が出るかどうかを検定したが、状態によって発現する蛋白に有意な差は出現しなかった。これらの結果は今後胸水を切除標本等と同様に検体として用いても有意差はないことを示唆する。
 肺癌と中皮腫、中皮腫と非担癌患者とのあいだに異なるプロファイリングが存在するかどうかの検定は実行中のため結果がそろわなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

梶原 直央、Ex-Vivo と血液のメタボローム解析による新規バイオマーカーの創出、(ワークショップ)、第 59 回日本肺癌学会学術集会、2018 年 11 月

梶原 直央、メタボローム解析による肺癌症例の早期診断と予後予測 (要望演題) 第 35 回日本呼吸器外科学会総会、2018 年 5 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 砂村 眞琴

ローマ字氏名: MAKOTO SUNAMURA

所属研究機関名: 東北大学

部局名: 医学系研究科

職名: 非常勤講師

研究者番号 (8 桁): 10201584

研究分担者氏名: 杉本 昌弘

ローマ字氏名: MASAHIRO SUGIMOTO

所属研究機関名: 東京医科大学

部局名: 医学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 30458963

研究分担者氏名：前田 純一
ローマ字氏名：JUNICHI MAEDA
所属研究機関名：東京医科大学
部局名：医学部
職名：客員講師
研究者番号（8桁）：50408176

研究分担者氏名：池田 徳彦
ローマ字氏名：NORHIKO IKEDA
所属研究機関名：東京医科大学
部局名：医学部
職名：主任教授
研究者番号（8桁）：70246205

研究分担者氏名：梶原 直央
ローマ字氏名：NAOHIRO KAJIWARA
所属研究機関名：東京医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：70343514

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。