

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16737

研究課題名（和文）網羅的血清微量元素プロファイルによる泌尿器科がん疾患特異的血清マーカーの開発

研究課題名（英文）Development of urological cancer-specific serum markers through comprehensive serum microelement profiling

研究代表者

木村 友和（Kimura, Tomokazu）

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：10633191

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：この研究では、人体内に存在し疾患と関連する可能性がある17種類の微量元素をICP-MS法で血清中から測定し、疾患毎に微量元素プロファイルが異なる可能性があることを確認した。また、このプロファイルは日内変動や年齢、性別、生活習慣によっても変動することが分かり、8000人以上の健常者と特定のがん患者の血清を用いて網羅的な微量元素プロファイルのデータベースを構築しました。さらに、泌尿器科の良性疾患における微量元素プロファイルの重要性も認識され、研究を継続している。k-medoid法を含む機械学習手法を使用してより精度の高い疾患特異的な判別法の開発を目指している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌をはじめとした疾患における個別の微量元素測定という研究は従来からあるが、単一元素のみではマーカーとしての価値が見いだせていなかった。本研究では、多数の微量元素を網羅的に測定し、さらに機械学習の手法を用いることで新たな疾患の診断補助マーカーの開発につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we measured 17 types of trace elements in serum using the ICP-MS method, elements that exist in the human body and may be associated with various diseases, and confirmed the possibility of differing trace element profiles among diseases. Furthermore, we found that these profiles can also vary due to diurnal changes, age, gender, and lifestyle, and we have constructed a comprehensive database of trace element profiles using serum from over 8,000 healthy individuals and cancer patients. Additionally, the importance of trace element profiles in benign urological diseases has been recognized, prompting continued research. We are aiming to develop more accurate disease-specific diagnostic methods using machine learning techniques, including the k-medoids method.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：泌尿器科学 微量元素 診断補助マーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、地球上で確認されている元素の総数は **118** 種類にのぼるが、常量元素と呼ばれる **11** 元素 (**O, C, H, N, Ca, P, S, K, Na, Cl, Mg**) が人体中の体内存在量の **99.3%** を占めている。しかし、これら **11** 元素以外に、**ppm** オーダーで存在する微量元素 (**Fe, F, Si, Zn, Sr, Rb, Br, Pb, Mn, Cu**) と **ppb** オーダーしか存在しない超微量元素 (**Al, Cd, Sn, Ba, Hg, Se, I, Mo, Ni, B, Cr, As, Co, V**) もあり、生命機能を維持する上で極めて重要な元素である。これら **24** 種類の微量元素は、様々な濃度で存在し、一定の元素バランスを保ち、正常な生命機能の維持に重要な役割を担っている。特に、微量元素は電子伝達、シグナル伝達のような生理機能の発現、酸化還元、酸素分子の運搬や貯蔵、加水分解反応のような生体触媒機能の発現あるいは遺伝子発現に関与するたんぱく質や酵素に必要不可欠である。また、遷移元素は細胞内代謝や細胞応答に関与する種々の酵素、サイトカイン、ホルモンなどの活性中心でもあり、脳神経系、免疫系、内分泌系、消化器系、循環器系、栄養代謝系などさまざまな領域の機能と関連している。さらに微量元素はそれぞれ分布する主要臓器が異なっており、これらの微量元素のバランスが欠乏や過剰により破綻し、恒常性が失われると、特定元素の過剰蓄積や欠乏が誘発され、それぞれ特有の疾病が誘発される。

癌をはじめとした疾患と生体中の微量元素の因果関係についてはこれまでにさまざまな研究が行われており、生体中の微量元素の測定には大きな関心が持たれている (表 1)。

表 1

疾患	発症時における増減	治療、予防に利用される元素
癌	増加傾向 Fe, Cu, Cr	Pt, B, Cu
	減少傾向 Zn, Se	
糖尿病	増加傾向 Cu	V, Zn
	減少傾向 Cr, V, Zn	
アルツハイマー病	増加傾向 Al, Fe, Mn	
心疾患	増加傾向 Fe, Cu	Se, Zn
	減少傾向 Se, Zn, Cu	
肝疾患	増加傾向 Fe, Cu	Fe, Cu
	減少傾向 Zn, Se	

上記のように癌と微量金属の血清濃度との関連性に関しては、亜鉛が一般人と比較して低値であり、カルシウム、銅、鉄、マグネシウムが高値であるという報告が多いが、その関連性については一定していない。また、これらの微量元素を網羅的に解析した研究もなかった。本研究グループは **ICP-MS** 法 (誘導結合プラズマ質量分析法) という主に工学領域で用いられる手法を応用し、血清中の **17** 種の微量元素 (**Na, Mg, P, S, K, Ca, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cs**) の濃度を網羅的に測定し、大腸癌、胃癌、肺癌、肝癌、膵癌、前立腺癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌において血清微量元素プロファイルが異なる可能性があることを示した。この結果から「特定の微量元素の血清中濃度の正常範囲内の変動プロファイルは、特定の臓器の癌化と関係しているのか？」という核心をなす学術的「問い」を着想するに至った。

しかし、網羅的血清微量元素プロファイルがどの程度疾患特異的であるのか、このプロファイルが元々の癌の素因と関係するのか担癌状態と関係するのか、どのような微量元素が年齢や性別、採血時間などによって変動するのか等の多くの疑問が残っている。本研究では、血清微量元素濃度に変動に与える因子と影響を受けやすい微量元素の種類をまず明らかにしたうえで、実際の検体の解析結果を合わせ、癌をはじめとした疾患に特異的な診断補助技術の確立をめざす。

2. 研究の目的

癌をはじめとした泌尿器科疾患に特異的血清微量元素プロファイルを同定し、これら疾患に関する新規血清マーカーを開発することを目的とする。

3. 研究の方法

ICP-MS 法を用いた網羅的血清微量元素プロファイル測定に基づいた泌尿器科癌をはじめとした診断補助技術の確立という目的に向けて、次の **3** つの課題を設定し、研究に取り組む。

1. 血清微量元素濃度に変動に与える因子と影響を受けやすい微量元素の種類の同定
2. 泌尿器科疾患の特異的網羅的微量元素プロファイルの同定
3. 泌尿器科疾患の特異的網羅的微量元素プロファイルの臨床的意義

以下、各課題について研究方法を記載する。

1. 血清微量元素濃度に変動に与える因子と影響を受けやすい微量元素の種類と同定

本研究グループは、**8000**人以上の健常者および特定の癌種を対象とした担癌患者の血清を用い、網羅的微量元素プロファイルのデータベースを構築している。さらに泌尿器科疾患を有する実際の患者の臨床データと血清の解析を探索的に実施する。これにより **ICP-MS** 法を既存の評価手法と比較したときの精度、あるいは年齢、性別、採血時間、腎機能・肝機能・耐糖能などの生理機能や、喫煙歴などの生活歴、さらに居住地も因子に加え微量元素と変動に寄与する因子と影響を受けやすい微量元素の種類と同定をおこなう。

2. 泌尿器科疾患の特異的網羅的微量元素プロファイルの同定

上述の既存データベースでは、泌尿器科癌に関しては前立腺癌しか含まれていなかった。そこで本研究では、筑波大学附属病院にて研究利用にむけた包括的同意のもとバイオバンクに保管されている腎癌 **200** 例、尿路上皮癌 **200** 例、前立腺癌 **200** 例の血清を用い、**ICP-MS** 法による網羅的微量元素プロファイル測定をおこなう。これに加え前立腺や精巣の機能にかかわる男性の良性疾患患者 **300** 例も解析の対象とした。そして **1** の検査条件で大きく変動する元素は補正しながら、泌尿器科疾患の微量元素プロファイルを探索的に解析し、泌尿器科疾患に特異的な診断補助技術を開発する。

次に背景や条件によって微量元素が変動する原因やそのプロファイルは、極めて多くの因子の関与が疑われるため、人工知能でしか最適解が得られない可能性がある。**1**にて得られた因子を診療データから人工知能の解析条件に組み込み、さまざまな疾患のプロファイルとの比較を行う。そのアルゴリズムにはロジステック回帰分析、機械学習(クラスタリング解析、サポートベクターマシン、ランダムフォレスト、ニューラルネットワーク)を使用する。

3. 泌尿器科疾患の特異的網羅的微量元素プロファイルの臨床的意義

3-1. 各疾患における病期および治療前後の変化と予後との関連性を検討する。

腎癌、膀胱癌、前立腺癌において、病期、術前後の変化、予後について、**2**の結果を踏まえて解析する。前立腺癌においては、すでに治療前後のサンプルは **80** 症例 計 **400** 検体あり予備検討は可能である。その他の癌患者の治療前後のサンプルも採取し、サンプル数を増やしている。さらに良性疾患については男性不妊症患者の生体試料を用いて精液所見との比較やパートナーの妊娠予後との関連についても解析する。

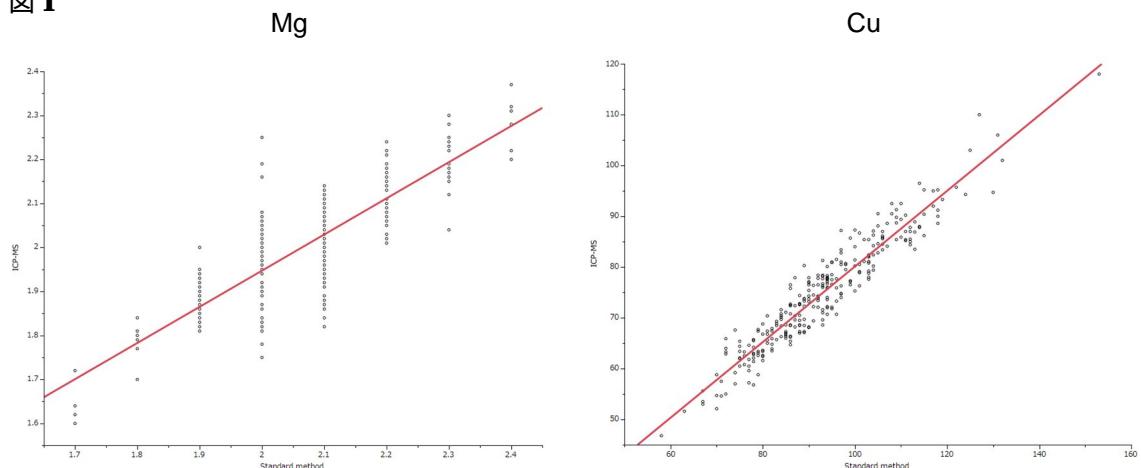
3-2. 前立腺癌に対して生検時のがん同定率に対する影響を検討する。

前立腺癌は通常血清 **PSA** でスクリーニングされ、前立腺生検という侵襲的な検査で確定診断に至るが、血清 **PSA** は前立腺肥大症や前立腺炎などの良性疾患でも上昇するため、過検出が避けられず、約 **70%**の患者で不要な生検が行われているとされる。このため検診 **PSA** などから前立腺癌が疑われ、確定診断を得るための前立腺生検が施行される前の患者を対象に多施設共同前向きコホート研究が既に進行中であり、**300** 例のエントリーが完了している。被験者は、生検実施前に採血され、前立腺癌に特徴的な微量元素プロファイルの有無により **2** 群に分けられる。この **2** 群間で生検を比較し、微量元素プロファイルによる感度・特異度・正診率を算出する。。

4. 研究成果

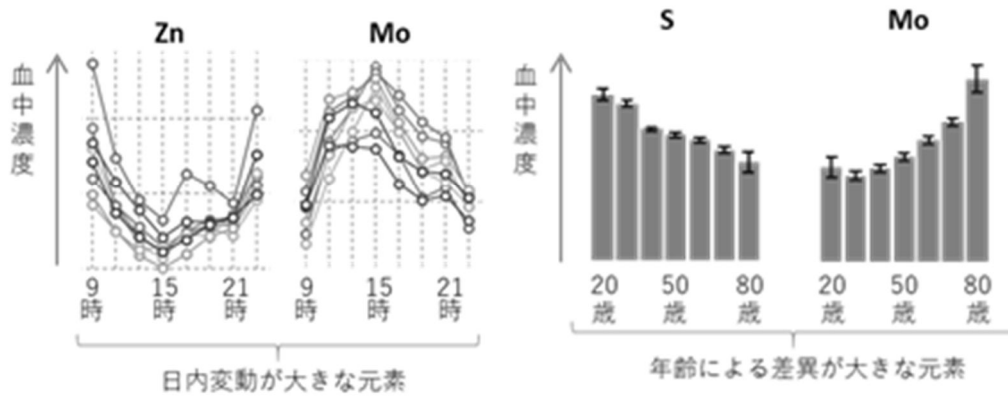
データベースの解析と基礎実験により **ICP-MS** 法は高い精度で生体試料中の微量元素濃度を測定できることが明らかになった(図 **1**)。

図 **1**



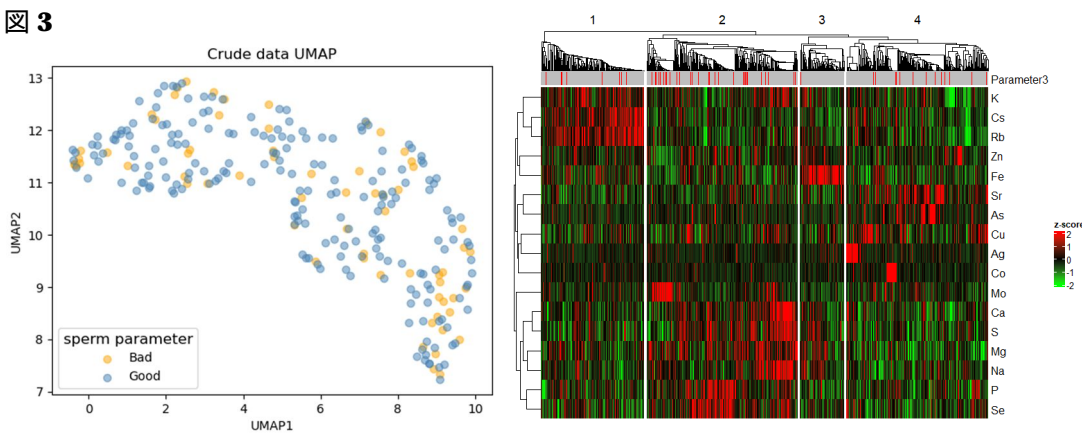
さらに日内変動する元素や、年齢などの因子によって差異を生じる元素が複数同定された(図 **2**)。

図 2



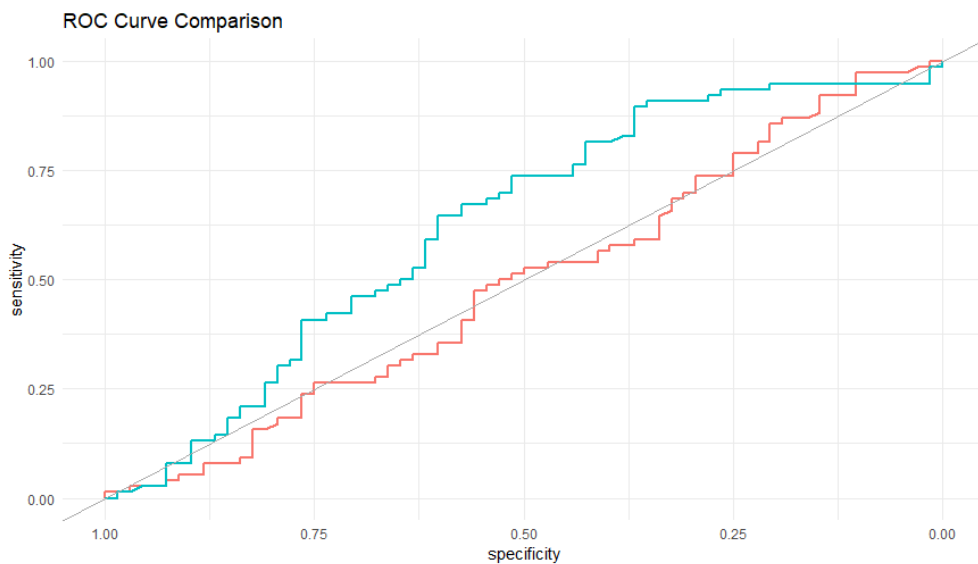
泌尿器科疾患の特異的網羅的微量元素プロファイルの同定する目的で診療データにおける様々な因子を機械学習で分析している。特に有力であったのは良性疾患における精液所見との関連であり、精液所見を特徴づける微量元素プロファイルの解析を機械学習の手法で解析を継続している (図 3)。

図 3



前立腺癌のがん同定率について微量元素プロファイルのみで **ROC** 解析をすると **AUC 0.7** 程度にとどまるが、各種臨床データを用いた機械学習の手法で精度を高めるための予備実験を継続している (図 4)。

図 4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Takazo Tanakaa, Kosuke Kojo, Yoshiyuki Nagumo, Atsushi Ikeda, Takuya Shimizu, Shunsuke Fujimoto, Toshiyuki Kakinuma, Masahiro Uchida, Tomokazu Kimura, Shuya Kandori, Hiromitsu Negoro, Hiroyuki Nishiyama	4. 巻 Foreseen
2. 論文標題 A new clustering model based on the seminal plasma/serum ratios of multiple trace element concentrations in male patients with subfertility	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/RMB2.12584	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中隆造, 古城公佑, 南雲義之, 池田篤史, 黒部匡広, 木村友和, 根来宏光, 西山博之
2. 発表標題 男性 不妊症外来を受診した患者における21種の血清中微量元素濃度の解析と人工知能を用いた病態分類の試み
3. 学会等名 第35回関東アンドロロジーカンファレンス
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 古城公佑, 田中隆造, 黒部匡広, 沼畑大介, 木村友和, 西山博之, 太田智行, 高山達也
2. 発表標題 精索静脈瘤手術の予後因子としての血中亜鉛濃度の検討
3. 学会等名 第111回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 古城公佑, 田中隆造, 池田篤史, 木村友和, 根来宏光, 西山博之
2. 発表標題 筑波大学における男性不妊症の研究
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第43回学術集会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

総説：
岡本直幸、清水拓弥、藤本俊介、古城公佑、池田篤史、宮城洋平、三上春夫、中村洋子、永瀬浩喜：第8章 制御・創薬 第4節 血中微量元素濃度のICP-MS測定による標準値設定と「がんリスク」スクリーニング法 -メタロバランス検査-への応用、生命金属ダイナミクス 生体内における金属の挙動と制御、エヌ・ティイー・エス、2021年、490-500。

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