

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293351

研究課題名(和文)次世代質量分析を用いたリポミクスによる泌尿器癌進展に関わる生理活性脂質の探索

研究課題名(英文)The exploration of bioactive lipids related to progression of cancer by the next generation mass spectrometry based lipidomics

研究代表者

山崎 俊成 (Yamasaki, Toshinari)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：00607749

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,500,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌手術症例において高解像度質量顕微鏡を用いて解析したところ、前立腺癌組織においてLPC(16:0/OH)が正常組織と比較し優位に発現が低下していた。前立腺全摘術後のPSA再発で見ると、LPC(16:0/OH)の発現が低い症例は優位に再発率が高かった。腎癌手術症例において次世代質量分析装置を用いてホスファチジン酸(PA)につき解析したところ、腎癌組織においてPA(16:0/18:1)が正常組織と比較し優位に発現が低下していた。PA(16:0/18:1)を腎癌細胞株786-0に投与したところ増殖抑制効果を認めた。

研究成果の概要(英文)：Prostate tissue samples obtained from radical prostatectomy were analyzed by high-resolution matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (HR-MALDI-IMS). LPC(16:0/OH) was significantly lower expressed in cancer tissue than in benign epithelium. Reduced expression of LPC(16:0/OH) in cancer tissue was an independent predictor of biochemical recurrence after radical prostatectomy. Analysis of phosphatidic acid (PA) in kidney tissue samples obtained from nephrectomy was performed using Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC/MS). PA(16:0/18:1) was significantly lower expressed in cancer tissue than in benign tissue. PA(16:0/18:1) reduced cell proliferation in the human renal cancer cell line 786-0.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：腎癌 前立腺癌 脂質 質量分析 リゾホスファチジルコリン ホスファチジン酸

1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌や前立腺癌といった泌尿器癌では、発生や進展のキーシグナルがゲノム・蛋白レベルで明らかにされ、それらに対応した標的治療(分子標的治療や内分泌療法)が実践されている。一方、これらのシグナルに関連する脂質代謝の変化が癌細胞の増殖・分化に影響を与えると指摘されているものの、治療標的やバイオマーカーとしての包括的な検討は未だ行われていない。

2. 研究の目的

泌尿器癌の進展及び治療感受性に関わる生理活性脂質プロファイルとその分子メカニズムを解析する。

3. 研究の方法

(1) 臨床検体(腫瘍組織、正常組織)から脂質を抽出し、次世代質量分析装置を用いて腫瘍部で変化するリン脂質を検出する。

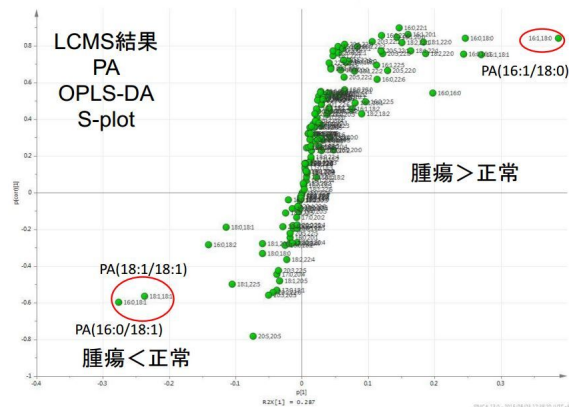
(2) 高解像度質量顕微鏡を用いてリン脂質の生体での発現分布を観察する。

(3) これらのリン脂質の機能的意義を培養細胞の実験で解析する。

4. 研究成果

(1) 腎癌患者 10 症例においてそれぞれ腫瘍組織及び正常組織から脂質を抽出し、次世代質量分析装置(LC/MS)を用いてホスファチジン酸(PA)につき解析した。多変量解析として OPLS 判別分析を施行し、その結果を可視化した S プロットにおいて PA(16:0/18:1)、PA(18:1/18:1)、PA(16:1/18:0)等がマーカー候補となりうる事が判明した。(図 1)

図 1



(2) 前立腺癌手術症例 31 症例において高解像度質量顕微鏡を用いて解析したところ、前立腺組織において強く発現する 13 分子を同

定した。そのうち 5 分子は前立腺癌組織で正常組織と比較し優位に発現が低下していた。MSMS 解析を施行したところ、1 分子は SM(d18:1/16:0) で残りの 4 分子は LPC(16:0/OH)の付加体であることが判明した。(表 1、図 2)

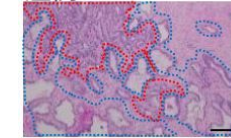
表 1

m/z	正常腺管, n=31		癌部, n=31		p Value
	Mean	SD	Mean	SD	
A m/z496.3	4979.2	2351.8	2394.8	1503.4	<0.001
B m/z518.3	1270.2	770.4	535.0	343.4	<0.001
C m/z534.3	1039.2	689.0	441.5	389.8	<0.001
D m/z690.4	2611.6	1567.1	1354.9	954.5	<0.001
E m/z703.5	918.8	463.2	656.7	268.0	0.025

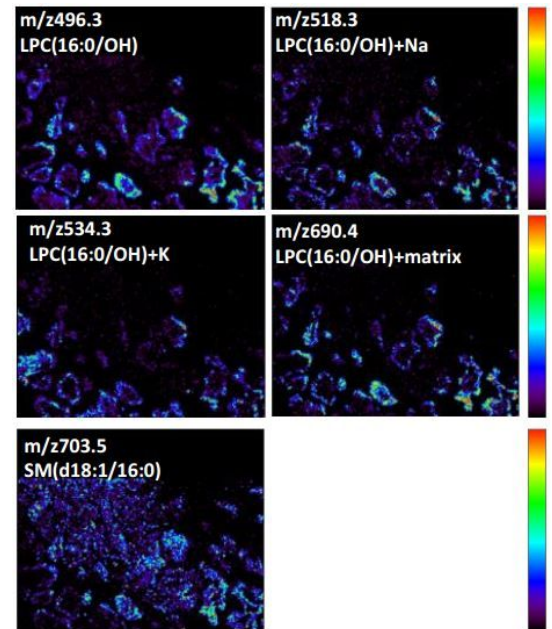
Mann-Whitney U test

図 2

症例 1

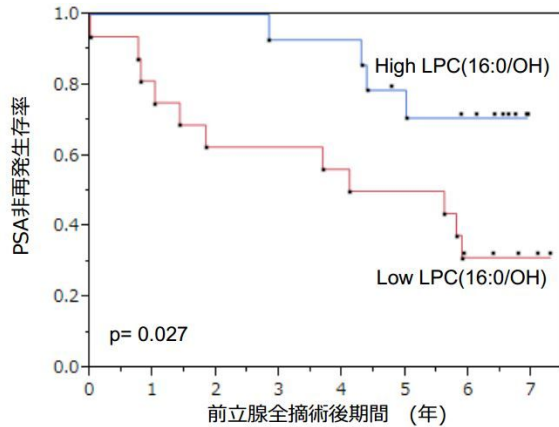


● 癌部
○ 正常腺管



前立腺全摘術後の PSA 再発で見ても、LPC(16:0/OH)の発現が低い症例は優位に再発率が高かった。(図 3)

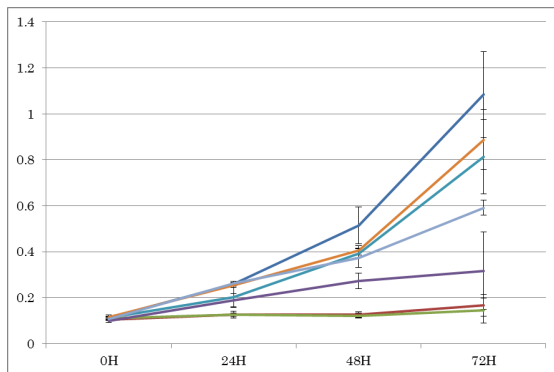
図 3



Number at risk								
High	15	15	15	14	14	11	9	0
Low	16	14	11	11	10	9	5	3

(3)(1)で候補となった PA(16:0/18:1)を腎癌細胞株 786-0 に投与したところ MTT assay において増殖抑制効果を認めた。(図 4) 今回の研究期間において十分な機能解析には至らなかったが引き続き研究を進めていく予定である。

図 4



- control
- PA(16:0/18:1)_40µM
- PA(16:0/18:1)_20µM
- PA(16:0/18:1)_10µM
- PA(16:0/18:1)_5µM
- PA(16:0/18:1)_2.5µM
- rapamycin_200nM

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 1 件)

Decreased expression of lysophosphatidylcholine (16:0/OH) in high resolution imaging mass spectrometry independently predicts biochemical recurrence after surgical treatment for prostate cancer. Goto T, Terada N, Yamasaki T (他 11 名、13 番目), Ogawa

0. Prostate. 査読有 Dec;75(16):1821-30. 2015

DOI: 10.1002/pros.23088.

〔学会発表〕(計 9 件)

後藤崇之「質量顕微鏡を用いた前立腺癌研究の成果」、泌尿器科癌における脂質代謝を考える会(招待講演)、2016年12月20日、つくば市

後藤崇之、小川修ほか「高解像度質量顕微鏡を用いた前立腺癌組織 in situ 脂質分布解析による新規バイオマーカー探索」、第 32 回前立腺シンポジウム、2016年12月10日、品川

後藤崇之「前立腺がんの新規バイオマーカー探索」、京滋北陸 Urological Expert Meeting(招待講演)、2016年06月11日、京都

後藤崇之、山崎俊成ほか「高解像度質量顕微鏡を用いたリゾホスファチジルコリン(16:0/OH)の発現低下は前立腺癌の術後生化学的再発の独立予測因子である」、第 104 回泌尿器科学会総会、2016年04月、仙台

後藤崇之、山崎俊成ほか「高解像度質量顕微鏡を用いた前立腺癌組織 in situ 脂質分布解析による新規バイオマーカー探索」、第 25 回泌尿器科分子・細胞研究会、2016年02月、大阪

後藤崇之、山崎俊成ほか「In situ lipid profiling of prostate cancer tissues using high resolution imaging mass spectrometry」、第 73 回日本癌学会学術総会、2014年09月、横浜

後藤崇之、小川修ほか「高解像度質量顕微鏡を用いた前立腺癌組織の in situ 脂質プロファイリング」、前立腺生物学シンポジウム、2014年06月、伊勢志摩

後藤崇之、小川修ほか「高解像度質量顕微鏡を用いた前立腺癌組織の in situ 脂質プロファイリング」、第 102 回日本泌尿器科学会総会、2014年04月、神戸

後藤崇之、小川修ほか「The expression profile of phosphatidylinositol in high resolution imaging mass spectrometry is a potential biomarker for prostate cancer」、29th Annual EAU Congress、2014年04月、Stockholm, Sweden

〔図書〕(計 1 件)

後藤崇之 他、科学評論社、月刊腎臓内科・泌尿器科、2016、112

〔産業財産権〕

出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
京都大学医学研究科泌尿器科学教室 HP
<http://www.urology.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山崎 俊成 (YAMASAKI, Toshinari)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号： 00607749

(2)研究分担者

神波 大己 (KAMBA, Tomomi)
熊本大学・医学研究科・教授
研究者番号： 20402836

寺田 直樹 (TERADA, Naoki)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号： 60636637

根来 宏光 (NEGORO, Hiromitsu)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号： 80708595

小川 修 (OGAWA, Osamu)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号： 90260611

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()