

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「早期診断マルチバイオマーカー開発」（メタボローム解析によるがんの血中・体液中代謝産物バイオマーカーの開発）
2. 研究開発代表者： 学校法人慶應義塾 慶應義塾大学 先端生命科学研究所 曾我朋義
3. 研究開発の成果

本研究の5年間の全生体試料のメタボローム解析の目標は2857例であり、測定実績は3175例であった。本研究は分担研究機関である香川大学、自治医科大学、浜松医科大学、山形大学、国立がん研究センターで、がん患者から合計1,633例の血液（全血、血漿、血清）（膵臓がん114例、肝細胞がん256例、大腸がん222例、腎臓がん221例、胃がん276例、膀胱がん105例）および439例の健常者/非がん患者の血液を採取した。それらの試料を慶應義塾大学でメタボローム測定を行い、健常者/非がん患者と各種のがん患者の間で濃度が有意に異なる代謝物を探索した。

その結果、肝細胞がんについては、健常者に対してB型およびC型の肝細胞がんで、十数種類の $\gamma$ -グルタミルジペプチド類が有意に増加していた。これらのペプチド類は、無症状のキャリア、慢性肝炎、肝硬変、肝細胞がんでの濃度がそれぞれ異なっており、またB型およびC型の肝炎ウイルスの違いでも濃度が異なっていた。そこで、このペプチド類を幾つか組み合わせることによって、肝細胞がんを含む各種の肝臓疾患を診断できることを見出した。また $\gamma$ -グルタミルジペプチド類は、無症状の肝炎ウイルスの保菌者の段階から、肝臓疾患が進行するに従って値が徐々に変動するため、肝細胞がんの早期診断にも有用であることが判明した。最終年度は、 $\gamma$ -グルタミルジペプチド類を臨床診断に応用するため、ELISA法による簡便な診断法の開発を行った。8種類のマーカー候補の $\gamma$ -グルタミルジペプチドを抗原としてBALB/cマウスに免疫し、抗 $\gamma$ -グルタミル-チロシン抗体を産生するハイブリドーマ1株、抗 $\gamma$ -グルタミル-オルニチン抗体を産生するハイブリドーマ3株を樹立し、目的のバイオマーカーに特異的なモノクローナル抗体を産生する系を構築した。また、この肝臓疾患マーカーである $\gamma$ -グルタミルジペプチド類の知財は企業1社にライセンスアウトしている。

肝細胞がん以外のがん種に関しては、一つの cohorts の試料では有意な差があった代謝物も別の cohorts の試料では有意差がなく、有用なバイオマーカー候補を見出すことができなかった。

尿については、自治医科大学、浜松医科大学で採取された186例の腎臓がん患者と59例の膀胱がん患者および19例の健常者のメタボローム解析を行い、幾つかの代謝物が増加していることを見出した。また唾液については国立がん研究センターで採取された24例の膵臓がん患者と8例の健常者のメタボローム測定を行い、尿中の腫瘍マーカーとして報告されているスベルミジンなどが唾液中でも有意に増加していた。尿、唾液中のマーカー候補については、今後、さらに多くの検体や、別の cohorts、他のがん種でこれらのマーカー候補がどのように変動するか検証する必要がある。

本研究では、がん組織のメタボローム解析を行い抗がん剤の標的探索も行った。香川大学で、膵臓がん患者から62例の組織（正常、がん各31例）、大腸がん患者から561例の組織（正常277例、がん284例）、胃がん患者から350例の組織（正常、がん各175例）、自治医科大学、浜松医科大学で腎臓がん患者から273例の組織（正常137例、がん136例）を採取し、慶應義塾大学でメタボローム解析を行った。その結果、各種のがん組織で解糖系、グルタチオン生合成経路、グルタミン代謝経路の代謝中間体の濃度が増加していることが判明した。大腸がん組織については、メタボローム解析に加えて、遺伝子発現解析などのオミクス解析、さらには大腸がん細胞を用いた細胞生物学実験によって、プリン、ピリミジンの生合成経路が大腸がん組織で亢進しており、プリン、ピリミジン経路の代謝酵素が、大腸がんの有望な創薬標的であることを見出した。