

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」（グライコーム解析によるがんの血中糖鎖バイオマーカーの開発）
2. 研究開発代表者： 三善 英知（国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科 教授）
3. 研究開発の成果

私達が開発した糖鎖バイオマーカーの肝がん、膵がんの早期診断に対する有用性を検討した。また、培養細胞や膵液などから新たな糖鎖バイオマーカーの探索や新しい糖鎖抗体の作成を試みた。AAL レクチンと抗体を使ったフコシル化ハプトグロビン(Fuc-Hpt)のレクチン抗体 ELISA kit を用いて、膵がん、慢性膵炎、肝がん、慢性肝疾患の患者血清を測定した。その結果、Fuc-Hpt は CA19-9 陰性の早期膵がんでも 50%の陽性率を示し、進行がん（特に肝転移）で高値を示すことがわかった。フコース全般を認識する AAL に代わり、コアフコースのみを認識する PhoSL を用いて Fuc-Hpt を測定すると（PhoSL-Hpt）、膵がんよりもむしろ慢性膵炎で上昇し、PhoSL-Hpt は新しい慢性膵炎のバイオマーカーの可能性があることがわかった。

肝疾患で Fuc-Hpt を測定すると、健常者、慢性膵炎、肝硬変、肝がんと段階的に上昇することがわかった。肝硬変から肝がんまでの follow-up 症例を調べた結果、従来の腫瘍マーカーである AFP, PIVKA-II, AFP-L3 よりも Fuc-Hpt は最も優れた肝発がんの予測マーカーであることがわかった。Fuc-Hpt が経年的に 5 倍以上上昇した症例では、100%発がんした。近年注目している非アルコール性脂肪性肝疾患の診断における Fuc-Hpt の有用性を検討した。非アルコール性脂肪性肝疾患の約 10%は脂肪肝炎 (NASH) から肝硬変へと進展し、やがては肝がんを発症する。肝生検による病理診断が唯一の NASH 鑑別診断法で、肝細胞の風船様変性と線維化が NASH 病理診断のポイントとなる。Fuc-Hpt は NASH の特徴とも言える病理学的な風船様肝細胞を示す糖鎖バイオマーカーであることがわかった。一方、私たちがグライコプロテオミクスの手法を用いて培養細胞から同定した Mac-2bp (Mac-2 binding protein) は、肝臓の線維化を示すバイオマーカーであることが知られている。まず阪大関連施設の血清を用いて、Mac-2bp が NASH 鑑別に有用な単一マーカーであることを見出した。さらに多施設共同研究により、Fuc-Hpt と Mac-2bp の同時測定によって約 80%の NASH が血清診断できることがわかった。

培養細胞および膵液から新たに見出した糖鎖バイオマーカーとして、上記の Mac-2bp に加えて fetuin A と LRG, Protein X を同定した。Fetuin A は早期の脂肪肝患者の線維化抑制バイオマーカーとして、LRG は CA19-9 との組み合わせで膵がんの診断率を上昇させるバイオマーカーであることがわかった。Protein X は慢性膵炎の新しいバイオマーカーとして期待される。CA19-9 のキャリア分子として古くから知られてきた脂質型 CA19-9 の膜輸送に関わる新しいタンパクとして CABIN (Casein Binding domain integral protein with golgIN motif) を同定した。CABIN の機能解析とバイオマーカーとしての測定系の開発を試みた。独創的な方法により、フコシル化タンパク H に対する糖鎖抗体の作成に成功した。

成人病センターとの共同研究により、新規のがん特異的糖鎖抗原 ST2H に対するモノクローナル抗体を作成し、ELISA と免疫組織化学法を用いて、多くの抗体の中から特異性の高い抗体を 1 種類見出した。今後、ELISA 系を組んで臨床応用の可能性を検討して行きたい。新規の糖鎖腫瘍マーカー候補 (Core1 sialyl Lewis A, C1SLA) の構造決定を行った。さらに、C1SLA を高感度、高精度に定量できる質量分析法を確立し、多検体の血清を定量し、消化器がんの血清マーカーとしての有用性を示した。