

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 研究成果報告書

平成21年6月30日

公立大学法人横浜市立大学
理事長 様

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 (W20002) で行った研究成果等は下記のとおりです。

記

1 研究者 情報	研究代表者氏名 (所属・職位)	藤田 浩司 (分子消化管内科学講座・助教)			
	2 事業情 報	新規・継続の分け			
	研究費の区分	若手人材育成推進費 (自然科学)			
	研究課題名	肝臓コリン代謝に注目した非アルコール性脂肪肝炎の新規診断法/治療法の開発			
	研究実施期間	平成20年7月1日 ~ 平成21年3月31日			
	研究ユニットの構成 ※研究代表者も含む ※研究計画書と相違のないようにご注意ください。	所属名・企業名等	役職名	氏名	役割
		分子消化管内科学	助教	藤田浩司	患者の研究参加の同意からスカイライトバイオテック社との血清の測定・管理やコリン PET 測定・解析に渡り、中心的役割を担っている。

3 研究概要

脂肪肝は成人男性の30%以上が罹患する患者数最多の肝臓疾患である。近年飲酒歴が無いのかかわらず脂肪肝から肝炎に至る新しい疾患、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) が先進国で増加してきておりわが国でもその対策が急務である。NASH は肥満・糖尿病など生活習慣病を背景にする疾患で1-2割が肝硬変、肝臓癌に至ると考えられている。しかし、1次スクリーニングには血液肝機能検査は無力であり超音波検査がおこなわれるが、定量性がなく、重症度も判定できない。我々は血清コリン値を測定することで、診断や、重症度の判別、治療効果の判定に有用であることを開発してきた (特許出願済み)。今回の研究では産学共同で簡便、高感度、高い定量性、安価、多検体処理が可能な血清測定法を開発し、実際の診断での実用化を目指して開発するものである。また、確定診断は侵襲性の高い肝生検 (病理検査) が行われるが、¹⁴C-コリン PET-CT を用いて、肝生検のようなサンプリングエラーのない、超早期、低侵襲画像検査の開発を目指す。本研究開発によりいまだ世界的に確固たる診断方法のない本疾患に対するアプローチが可能となり、世界をリードする我が国の医療技術になるものである。

本研究開発を進めるに当たり、患者のリクルート及びPETによる測定に関しては、横浜市立大学が担当し、簡易血清コリン測定法の開発及び血清脂質の詳細分析に関しては、(株)スカイライト・バイオテックが担当し、それぞれの長所を組み合わせ、効率的に研究開発を実施する。なお、横浜市立大学では、基礎医学の研究成果を臨床医学に応用・実践するトランスレーショナルリサーチの確立を目的とした先端医科学研究センターを設置しており、本研究開発における橋渡し研究拠点として十分な機能を有しており、円滑な研究開発が遂行可能である。

具体的な研究テーマとしては以下の3つに関して研究を行った。

(1) 血清コリン測定による簡便な非アルコール性脂肪肝炎の血清診断法の開発

(2) ^{11}C -コリン PET-CT を用いた非アルコール性脂肪肝炎の超早期確定診断法の開発

(3) 非アルコール性脂肪肝炎におけるコリン過剰症のメカニズム解明

4 研究成果

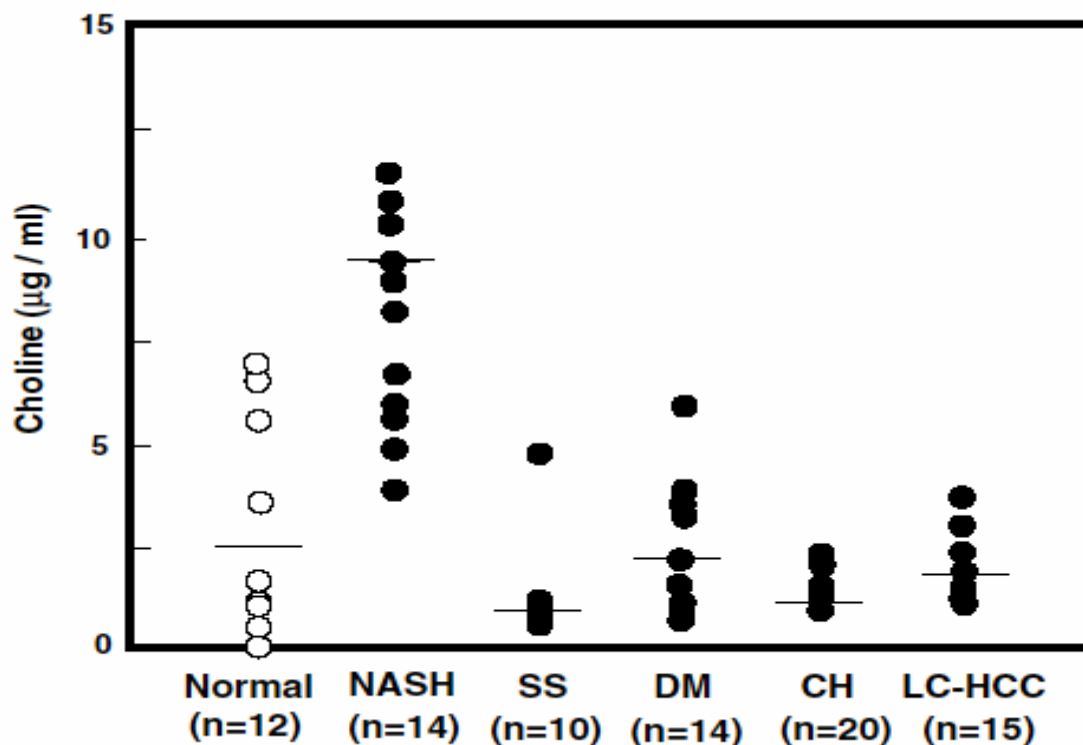
※研究成果については、2,000字程度で記入して下さい。(絵、図入りも可)

※地域貢献促進費の方は課題提案者に提出する報告書(必須)をご提出頂きますので、この欄は記載しないで結構です。その他の方は別紙を用意せず、この枠の中に記入するようにして下さい。(枚数は問いません)

(1) 血清コリン測定による簡便な非アルコール性脂肪肝炎の血清診断法の開発

研究発案段階の初年度目標として、脂肪肝、脂肪肝炎の患者のほか、癌(胃がん、大腸がん、食道がん、肝臓がん、すい臓がん、肺がん、乳がん、前立腺がん)、糖尿病、高血圧症、高脂血症、単純性肥満、慢性腎不全、狭心症・心筋梗塞、脳卒中などの各種疾患患者を対象に、血清コリン値が変動しているかをLC-mass法及び簡易コリン測定キットを用いて測定を実施する事を挙げた。

実際の成果としては、初年度、予定通りに種々の病態における血清コリン値測定を行った(図1)。データの一部を記載したが、NASH病態でのみ特異的に発現亢進している事が示された。



血清コリン値測定は従来よりコリン測定に用いられているLC-mass法というスタンダードな方法を用いて測定したが、この測定法の問題点として、測定に費用・技術・時間を必要とする為、診断マーカーへの応用は非現実的であった。そこで次に血清コリン値測定に関し、簡易測定法の開発に努めた。

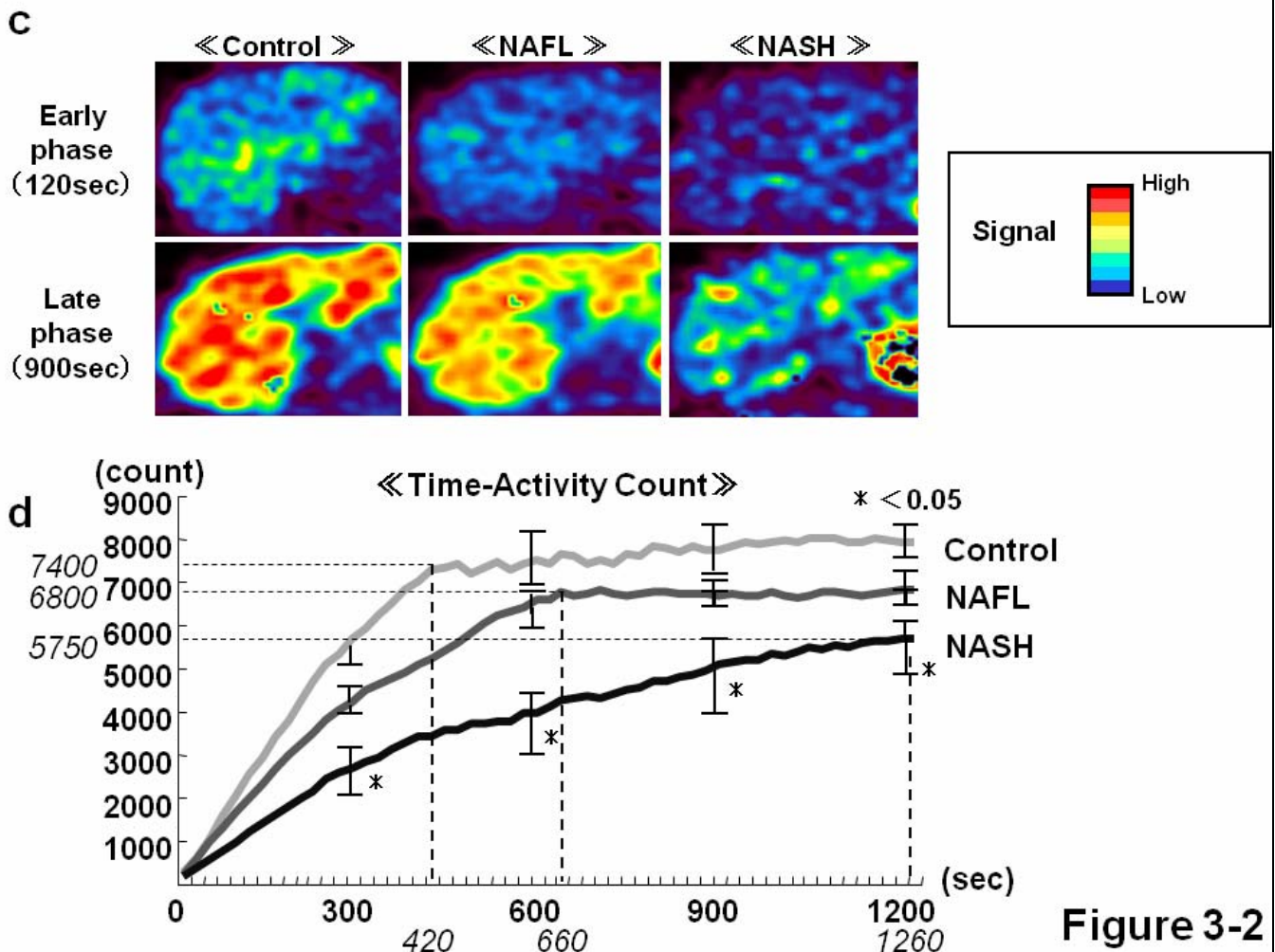
簡易測定法の開発を連携研究者である株式会社スカイライト・バイオテック、東洋紡の技術協力のもと行い、現行のLC-mass法と感度99.5%以上の相関性を有するHPLC法での測定系を確立した。この方法は現行のLC-mass法の最大の問題点であった費用・技術・時間といった問題をを大幅に改善した事で、健診や人間ドック等の大規模網羅測定も理論上可能となった。

以上、初年度の成果目標は100%達成する事が出来た。同時に次年度研究目標として、健診受診者2000人以上を対象に、簡易コリン測定キットを用いて血清コリンを測定し、実際の健診現場で活用可能なスクリーニング法であるか検証する事で、患者血清を用いた、より簡便・迅速・安価なコリン測定法の開発を目指す旨を記したが、この目標に関してもNTT東日本関東病院予防医学センターと共同研究提携を組む事に成功し、先方の倫理委員会の承認を先月末に得た事により、人間ドック受診者の同意取得のもと当科研究費負担で無償測定を行う事で年に約2000人程度の測定を見込んでいる。健診受診者を対象に網羅的に血清コリン値を測定し、同時に測定される各種metabolic syndrome関連因子との相関性を調べる他、血清コリン高値例に対して2次検診を勧めるなど潜在NASH患者の拾い上げに実際有用であるか臨床現場での検証を計画している。

(2) ^{11}C -コリン PET-CT を用いた非アルコール性脂肪肝炎の超早期確定診断法の開発

研究発案段階の初年度目標として、 ^{11}C -コリン PET が実際の診断にどの程度有用かを、多くの患者(健常人30人、単純性脂肪肝30名、非アルコール性脂肪肝炎患者80名、肝硬変30名、肝臓がん30名程度)を用いて感度、特異度などの解析を実施する事を挙げた。

実際の成果としては、初年度、目標数には達しなかったものの、肝生検により確定診断の得られた各種病態(健常人8例/単純性脂肪肝患者14例/NASH患者16例)における ^{11}C -コリン PET-CTを用いたリン脂質代謝能を測定するパイロットスタディーを行い、各種病態毎の肝臓コリン代謝動態を図る事に成功した(図2)



この成果に関し、英語論文を作成し、現在、英文誌へ投稿中であると共に、“¹¹C-choline PET を用いた非アルコール性脂肪肝炎（NASH）の画像診断についての研究”という名称のもと、一般型先進医療をすすめている（承認番号【一般型 20-110】）。

以上、初年度の成果目標に関して症例数は不十分ではあるが、ある程度達成する事が出来た。同時に次年度研究目標として、症例数を積み重ねると共に、CT と組み合わせた ¹¹C-コリン PET-CT を用いて肝生検と同等かそれ以上の感度特異度が得られるかを検討する旨を記した。本年度は非アルコール性脂肪肝炎の超早期診断法としての可能性を検討する意味で前向き研究を行い、¹¹C-コリン PET-CT での診断後に肝生検を施行する事で診断方法に足りうる感度特異度が得られるか臨床現場での検証を計画している。

(3) 非アルコール性脂肪肝炎におけるコリン過剰症のメカニズム解明

研究発案段階の目標として、本研究開発で収集された血液サンプルについて、HPLC リポタンパク測定システムを用いて、VLDLを初めとする各種脂質分画を測定し、コリン過剰症と脂質代謝の関係について分析を行い、本研究開発で開発される診断法の有用性を立証すると同時に、今後の研究開発につながる新知見を得る事を挙げた。

実際の成果としては、本研究開発で収集された血液サンプルについて、HPLC リポタンパク測定システムを用いてVLDLを初めとする脂質分画を測定し、コリン過剰症と脂質代謝の関係について分析を行い本研究開発で開発される診断法の有用性を立証すると同時に、肝生検サンプルを用いて肝臓内の種々の脂質代謝因子に関する mRNA/蛋白発現を測定しメカニズム解析に努めた。得られた結果から考察するに、単純性脂肪肝からNASHに病態進展するに伴いアポ蛋白BとミクロソームTG輸送蛋白の発現量が低下する事で、肝臓からの中性脂肪分泌能が低下し、そのため肝臓でのリン脂質代謝能が低下する事により、リン脂質の構成成分であるコリンの肝における利用障害が起こり、余剰コリンが血中に蓄積する事で血中コリン値が高値になっている事が証明された。この成果に関し、英語論文を作成し、現在、英文誌へ投稿中である。

5 研究成果の活用（予定）

例) 平成 22 年度 科学研究費補助金（基盤 S）に申請予定

例) 第〇会 〇〇学会に論文発表予定

例) 研究成果が横浜市〇〇事業に活用され、当該事業の PR イベントが開催された際に広報チラシ等に「横浜市立大学 研究戦略プロジェクト事業」との関連を記載した。

平成 22 年度 科学研究費補助金（若手）に申請予定。

研究成果に関して、国内外の学会で講演・発表を行った。

得られたデータをもとに複数の特許を取得した。

英文誌へ論文投稿中。

※ページ数は増えても構いません。

以上