

## 癌特異的分泌タンパク質の同定と応用

財団法人木原記念横浜生命科学振興財団  
 株式会社ファンケル  
 キリンビール株式会社  
 横浜市立大学木原生物学研究所

森山佳谷乃  
 宮田 智  
 水谷 悟  
 宮崎 香

動物細胞が分泌するサイトカイン/増殖因子、細胞外マトリックス(ECM)分子、プロテアーゼなどのタンパク質は、細胞表面の受容体を介して細胞機能を調節している。また、これらの分泌タンパク質は様々な生理現象や疾病に関与することから、創薬の標的因子、診断マーカー等いろいろな形で医療への応用性が期待されている。

本研究では、ヒトの乳癌、肺癌、膵臓癌などの癌細胞とヒト正常上皮細胞が分泌する微量のタンパク質を、二次元電気泳動法で分離する技術を確認し、さらに分離されたタンパク質を質量分析装置により同定する。それらの技術によって癌の悪性増殖に関係する分泌タンパク質や、新しい腫瘍マーカーとして癌の診断に使用できる癌特異的分泌タンパク質を見いだす事を目的とする (図)。

ヒト癌細胞を無血清培地で培養し、培養上清を濃縮する事により細胞分泌タンパク質を回収した。調製したサンプル溶液を一次元ゲル電気泳動法または二次元ゲル電気泳動法により分離した。正常細胞に比較して癌細胞のみに特異的に分泌されていたタンパク質を中心に 106 種類のタンパク質を同定した。特に重要と思われた 11 種類に関して特異抗体を用いたイムノブロットング法で多くの癌細胞での分泌を調べた (図)。その結果、8 種類のタンパク質に関して癌細胞での分泌の上昇がみられた。さらにヒト臨床検体 (血清、尿) を用いた解析を行った。イムノブロットング法では有用と思われたタンパク質のうち 2 種類が検出された。また微量タンパク質を効率良く検出するために 2 抗体を用いた Sandwich-ELISA 法を検討した。現在、2 種類のタンパク質の検定系を樹立し癌患者で微量ではあるが上昇を確認した。以上の結果から、今後さらに詳細な検討また確実な検出系の確立が必要であるが、8 種類のタンパク質が腫瘍マーカーとして有望と考えられる。

