

Discovery of biomarkers by comprehensive gene expression analysis
- A novel approach using **KeyMolnet**, an integrated platform for biological information -

○Rie Taniguchi, Miki Fukuda, Atsushi Nogi, Yoko Inoue, Misa Ogura, Kyoko Nakanishi, Nakako Iwasaki, Makoto Shigetaka, Akiko Itai (IMMD Inc.)

網羅的発現データ解析によるバイオマーカー探索 – 生命情報統合プラットフォーム**KeyMolnet**を用いて –

○谷口理恵, 福田美紀, 乃木篤, 井上陽子, 小倉美佐, 中西京子, 岩崎奈可子, 重高誠, 板井昭子（株式会社 医薬分子設計研究所）

< Introduction >

現在アルツハイマー病のバイオマーカーとしてAβ42、総tau蛋白、リン酸化tauなどが用いられているが、より簡便で信頼性が高いバイオマーカーの探索が望まれている。
KeyMolnetは、研究員の手によって論文情報から分子のアノテーションと分子間のリレーションおよび疾患情報や医薬品情報などを収録している生命情報統合プラットフォームである¹⁾。実験により得られた数値データを**KeyMolnet**に収録されているタンパク質間相互作用情報や転写因子による発現制御情報と組み合わせることで、それらをより有機的に読み解くことが可能になる。
今回、アルツハイマー病患者と正常人で発現量に差がみられたDNAチップデータ(GSE1297、GSE4226)、microRNAデータ(GSE16759) およびプロテオミクスデータ²⁾について**KeyMolnet**を用いて解析した結果、いくつかのバイオマーカー候補分子を見出す事ができた。

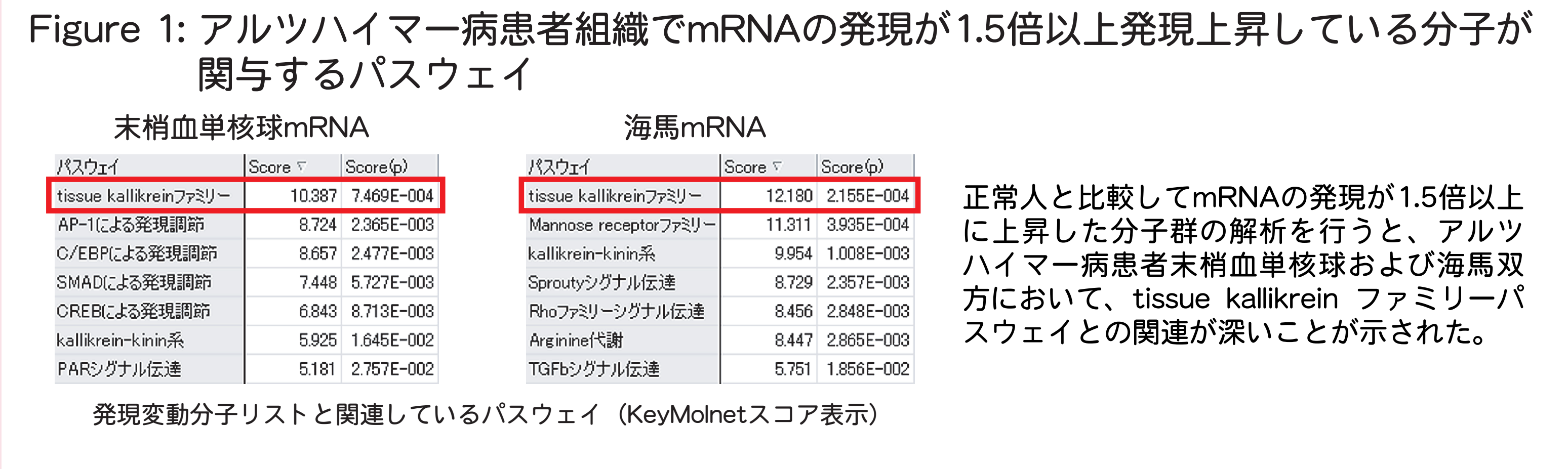
< Materials & Methods >

組織	末梢血単核球	海馬	大脳皮質	脳脊髄液
種類	mRNA	mRNA	microRNA	protein
データソース	GSE4226 Alzheimer Disease peripheral blood mononuclear cell expression	GSE1297 Incipient Alzheimer's Disease: Microarray Correlation Analyses	GSE16759 mRNA and miRNA expression in parietal lobe cortex in Alzheimer's disease	Biomarker discovery in neurodegenerative diseases: a proteomic approach. Neurobiol Dis. 2009 Aug;35(2):157-64.
platforms	Affymetrix Human Genome U133A Array	Affymetrix Human Genome U133A Array	USC/XJZ Human 0.9 K miRNA-940-v1.0	4700 Proteomics Analyzer with TOF/TOF Optics™ (Applied Biosystems)
解析使用データ	NIA MGC, Mammalian Genome Collection T-test (Welch, unpaired) P値：0.05以下を利用	Normalization: RMA T-test (Welch, unpaired) P値：0.05以下を利用	Normalization: RMA T-test (Welch, unpaired) P値：0.05以下を利用	Table3 Proteins with changes unique to AD, PD or DLB (アルツハイマー病患者のデータのみ使用)

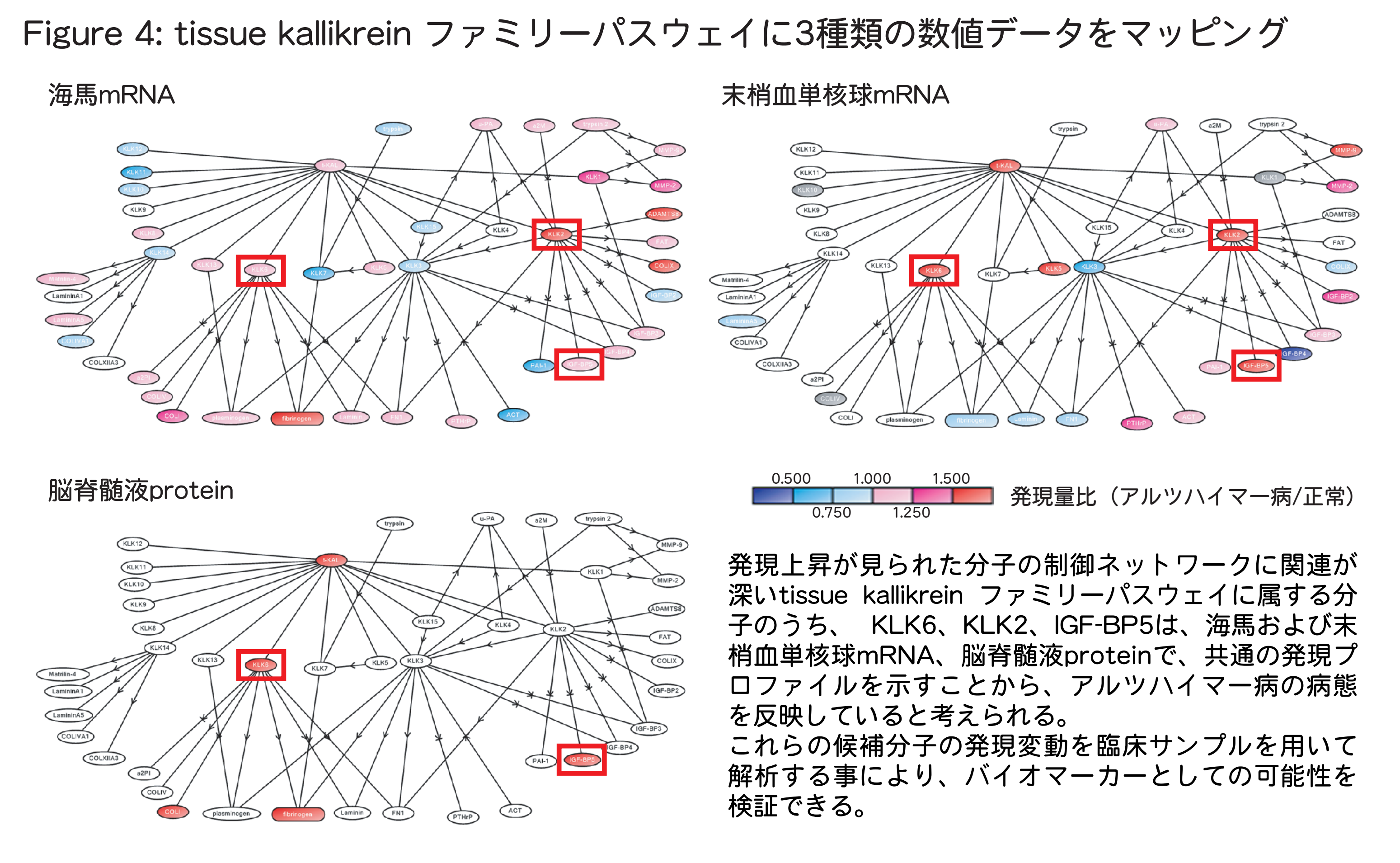
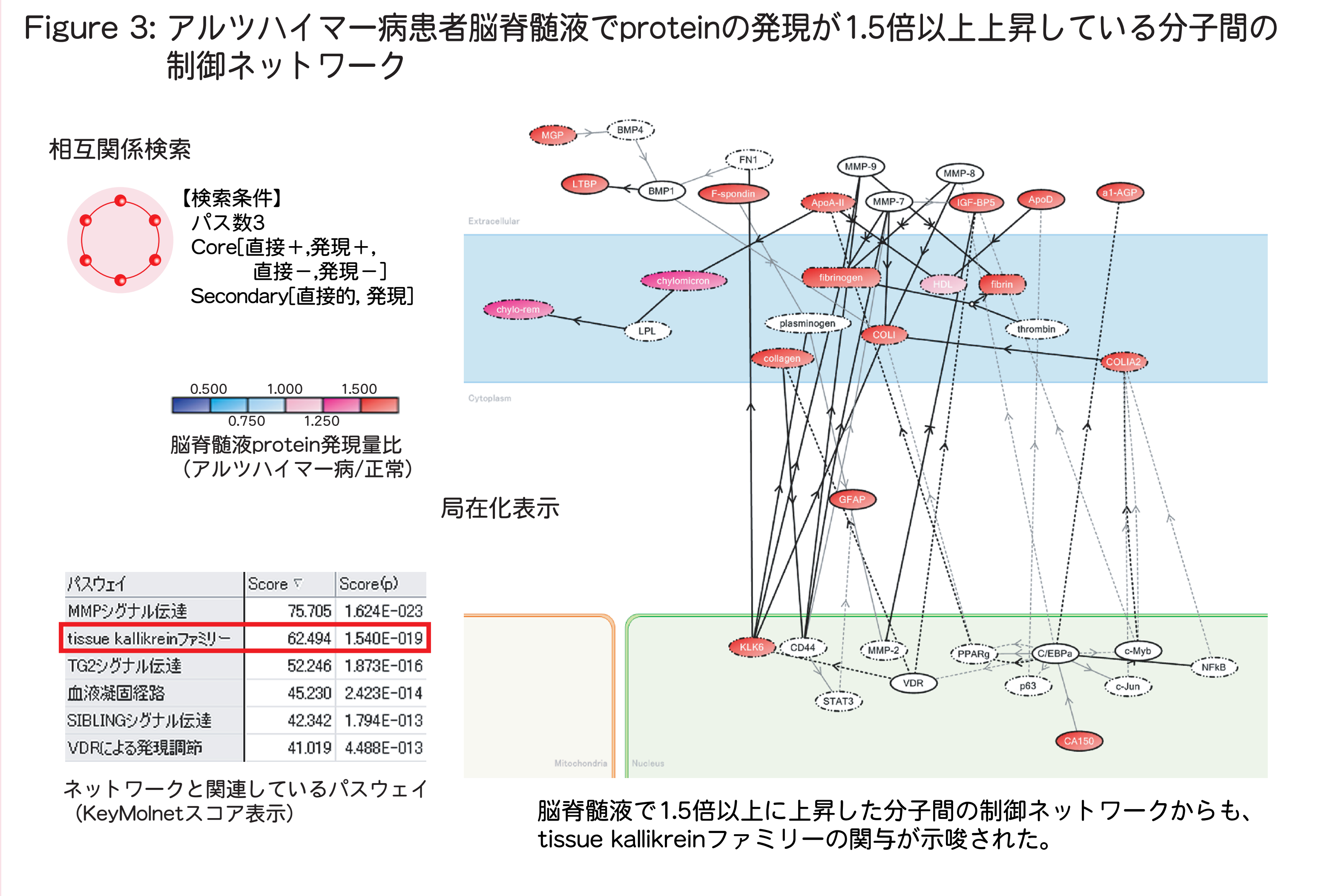
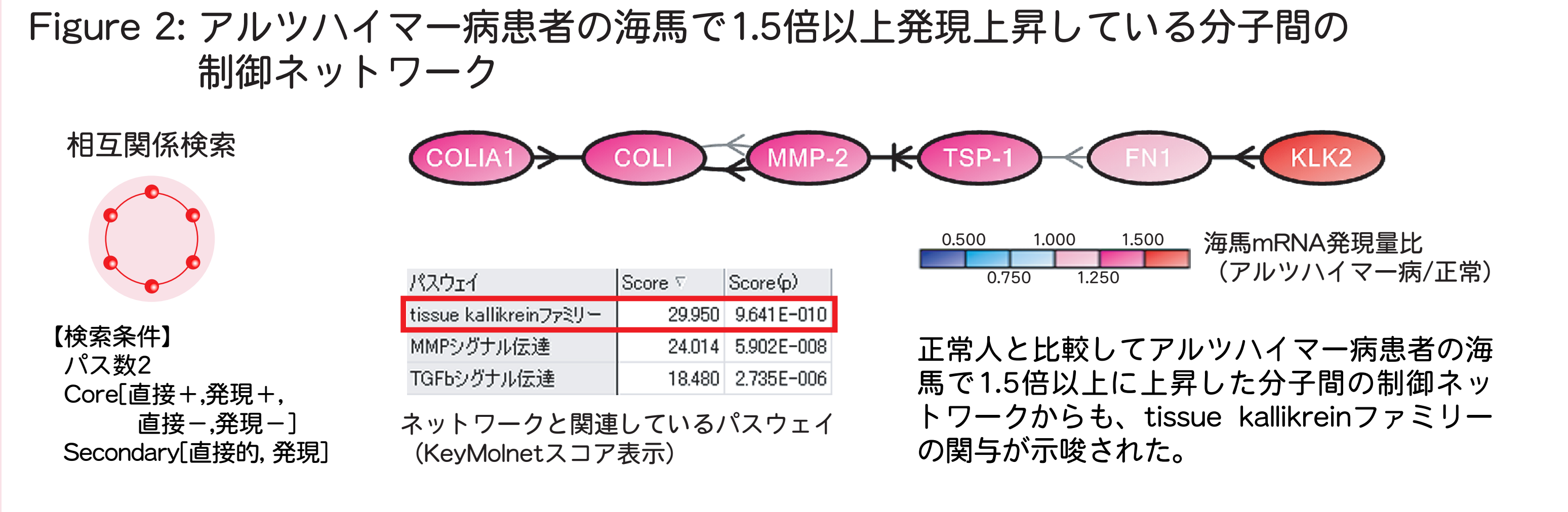
解析プログラム **KeyMolnet** ver5.3

< Results >

1. アルツハイマー病患者組織で発現上昇している分子の解析

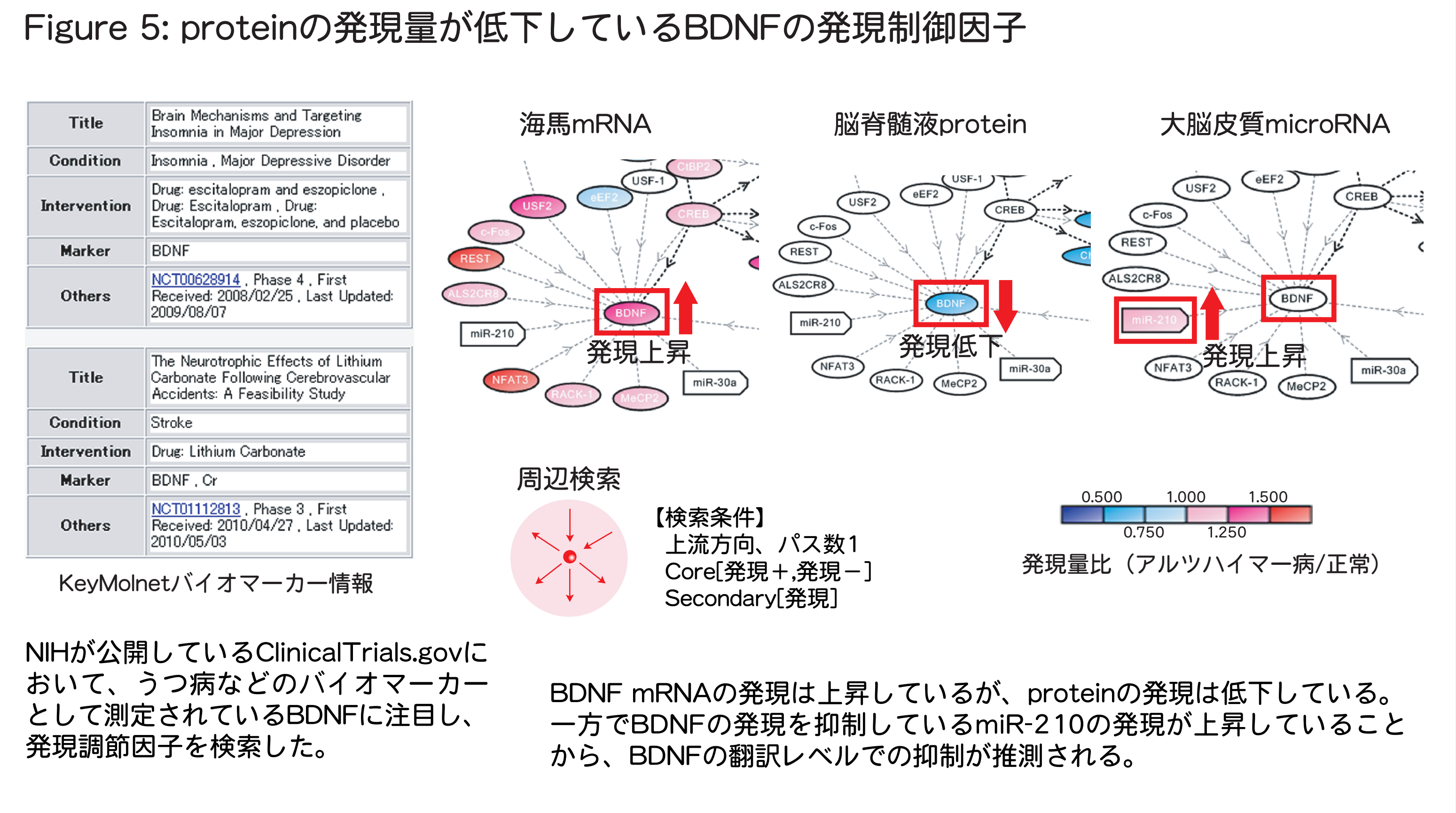


正常人と比較してmRNAの発現が1.5倍以上に上昇した分子群の解析を行うと、アルツハイマー病患者末梢血単核球および海馬双方において、tissue kallikrein ファミリーパスウェイとの関連が深いことが示された。



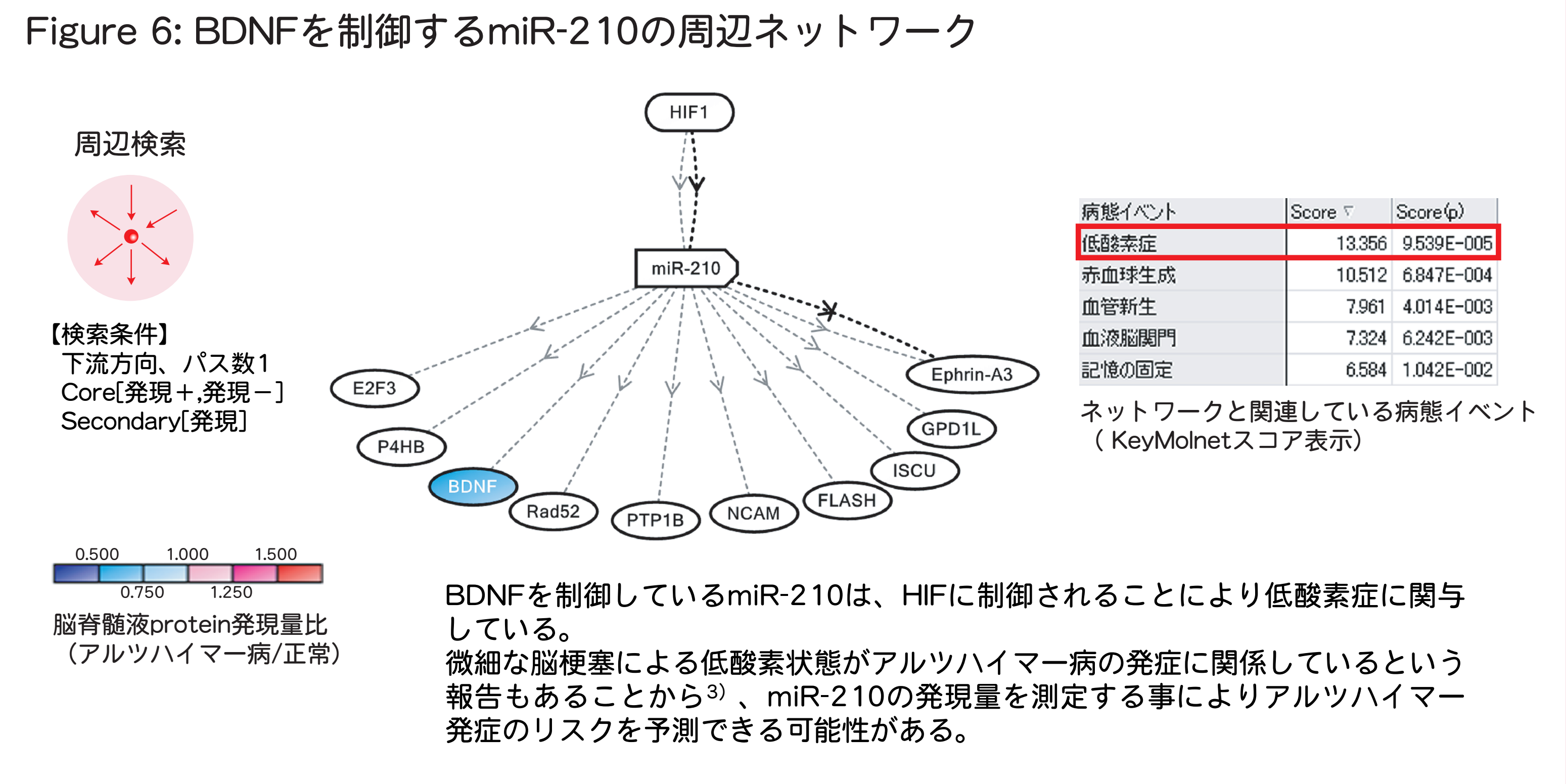
発現上昇が見られた分子の制御ネットワークに関連が深いtissue kallikrein ファミリーパスウェイに属する分子のうち、KLK6、KLK2、IGF-BP5は、海馬および末梢血単核球mRNA、脳脊髄液proteinで、共通の発現プロファイルを示すことから、アルツハイマー病の病態を反映していると考えられる。これらの候補分子の発現変動を臨床サンプルを用いて解析する事により、バイオマーカーとしての可能性を検証できる。

2. mRNA、microRNA、protein発現プロファイルの比較



NIHが公開しているClinicalTrials.govにおいて、うつ病などのバイオマーカーとして測定されているBDNFに注目し、発現調節因子を検索した。

BDNF mRNAの発現は上昇しているが、proteinの発現は低下している。一方でBDNFの発現を抑制しているmiR-210の発現が上昇していることから、BDNFの翻訳レベルでの抑制が推測される。



< Conclusion >

- アルツハイマー病の新たなバイオマーカー候補として5つの分子を見出した。
- アルツハイマー病患者末梢血単核球および海馬組織mRNAの発現プロファイルおよび脳脊髄液のprotein発現プロファイルから、tissue kallikrein ファミリーシグナル伝達の関与が示唆され、共通した発現変動プロファイルを持つ、Kallikrein6、Kallikrein2、IGF-BP5、がバイオマーカー候補として示唆された。
- protein発現プロファイルと、mRNAおよびmicroRNA発現プロファイルの比較から、BDNFとmiR-210がバイオマーカー候補として示された。miR-210は、低酸素状態が引き起こすアルツハイマー病の発症に関連していると考えられ、また血清を用いて測定できることから、組織や脳脊髄液中のファクターよりも低侵襲性のアルツハイマー病発症予測バイオマーカーとして期待される。

< Reference >

- New approaches to mechanism analysis for drug discovery using DNA microarray data combined with KeyMolnet. Curr Drug Discov Technol. 2005 Jun;2(2):89-98.
- Biomarker discovery in neurodegenerative diseases: a proteomic approach. Neurobiol Dis. 2009 Aug;35(2):157-64.
- Hypoxia and neurodegeneration. Ann N Y Acad Sci. 2009 Oct;1177:169-77.