

## 要旨原稿見本

### プロテオーム解析による新規飲酒マーカーの探索

曾川一幸<sup>1,2)</sup>、佐藤 守<sup>1,2)</sup>、小寺義男<sup>1,3)</sup>、朝長 毅<sup>1,2)</sup>、丸山勝也<sup>4)</sup>、野村文夫<sup>1,2)</sup>

- 1) 千葉大学医学部附属病院疾患プロテオミクス研究センター
- 2) 千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学
- 3) 北里大学理学部生体分子動力学講座
- 4) 独立行政法人国立病院機構久里浜アルコール症センター

### Search for Novel Bio-Markers of Alcohol Abuse Using Three-step Proteome Analyses

Kazuyuki Sogawa<sup>1,2)</sup>, Mamoru Sato<sup>1,2)</sup>, Yoshio Kodera<sup>1,3)</sup>, Takeshi Tomonaga<sup>1,2)</sup>, Katsuya Maruyama<sup>4)</sup>, Fumio Nomura<sup>1,2)</sup>

- 1) Clinical Proteomics Research Center, Chiba University Hospital
- 2) Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University
- 3) Department of Physics, School of Science, Kitasato University
- 4) National Hospital Organization Kurihama Alcoholism Center

【目的】我々は、断酒目的で入院したアルコール依存症患者血清検体を用い、ProteinChip® systemで新たな飲酒マーカーの探索を行った結果、fibrinogen C chainの分解産物(5.9kDa)、Apo A の分解産物(7.8kDa)、Apo A (28kDa)を見出し(Proteomics. 2004, 4:1187-95)、5.9kDaは -GTP non-responderの検出にも有用であることを示した(Alcohol Clin Exp Res. 2007, 31:22S-26S)。今回はProteinChip® systemでは検出しにくい10kDa以上のタンパク質に注目し、新たな飲酒マーカーの探索を行った。

【方法】断酒目的で入院したアルコール依存症患者計16名の入院時、3ヶ月後の血清検体を用いた。プロテオーム解析は患者血清から抗体カラムを用い主要12タンパク質を除去した後、HPLCによって分画したフラクションをSDS-PAGEにより、タンパク質発現の違いを2群間で比較した。有意差が認められたタンパク質は二次元電気泳動を行い、ゲルを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MSにより同定した。同定後、ウェスタンブロット法によりタンパク質発現量の変化を確認した。従来の飲酒マーカーである -GTP の測定は、シカリキッド -GT J(関東化学株)を用いて行った。

【結果】27バンドで統計学的に有意差があり、飲酒により24バンドで発現量の増加が認められ

た。飲酒により発現量の増加するタンパク質には、2-HS glycoprotein1や Apolipoprotein A が検出され、発現量の減少するタンパク質には、Apolipoprotein C が検出された。タンパク質同定後、ウエスタンブロット法によりタンパク質発現量の変化を確認したところ、3 タンパク質については、著明な差異を認めた。その変化は - GTPのいわゆる non-responder においても認められた。

【結語】断酒目的で入院したアルコール依存症患者血清のプロテオーム解析の結果、新規飲酒マーカーの複数の候補を見出し、現在その他の候補タンパクの同定を進めている。