

# Disease specific pathway analysis of omics data – A novel approach using **KeyMolnet**, an integrated platform for biological information

網羅的数値データを用いた疾患特異的パスウェイ解析—生命情報統合プラットフォームKeyMolnetを用いて—

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

## < Introduction >

**KeyMolnet**は、自社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<sup>1)</sup>。

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、低分子情報と組み合わせることにより、数値データの意味することを、直感的かつ総合的に解析可能である。

近年検出技術の向上と共に、疾患におけるメタボロミクス研究が盛んに行われている。生体内低分子の変動データから、疾患特異的な代謝経路を推測する事を目的として解析を行った。

今回、卵巣癌患者と健康人で発現量が差がみられたメタボロミクスデータ<sup>2)</sup>、DNAチップデータ(GDS3592)、について**KeyMolnet**を用いて解析し、いくつかの知見を得たので報告する。

- 1) New approaches to mechanism analysis for drug discovery using DNA microarray data combined with KeyMolnet. Curr Drug Discov Technol. 2005 Jun;2(1):89-98.
- 2) Identification of Metabolites in the Normal Ovary and Their Transformation in Primary and Metastatic Ovarian Cancer. PLoS One. 2011;6(5):e19963

## < Materials and Methods >

Data and Analysis	Metabolite expression profiles	mRNA expression profiles
Data Source	PMID 21625518 Identification of Metabolites in the Normal Ovary and Their Transformation in Primary and Metastatic Ovarian Cancer	GEO: GDS3592 Ovarian normal surface epithelia and ovarian cancer epithelial cells
Platforms	gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS)	Affymetrix Human Genome U133A Array
Method of data processing	one-way ANOVA with a Tukey post-test	MAS 5.0 via Affymetrix Expression Console (TM) Software Version 1.1 T-test (Welch, unpaired)
P-value	Using a 0.05 p-value cut-off	Using a 0.01 p-value cut-off

Analysis program **KeyMolnet** ver5.5

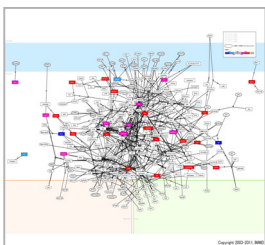
## < Results >

### 卵巣癌で発現が変動した分子と関連の深いパスウェイ

原発性上皮卵巣癌 (EOC)		転移性卵巣癌 (MOC)		卵巣癌	
パスウェイ	Score ↑	パスウェイ	Score ↑	パスウェイ	Score ↑
phenylalanine/tyrosine代謝	30.827	アミノ基代謝	30.948	serotoninシグナル伝達	44.155
pyrimidine同化経路	26.948	glutamate代謝	24.234	RB/E2Fによる発現調節	37.728
purine同化経路	26.590	amino acid transporterファミリー	22.831	VEGFシグナル伝達	35.279
ロニシナルベジ経路	24.206	purine de novo合成	22.314	isomaltosylシグナル伝達	30.943
purine代謝	23.304	糖新生経路	22.314	PTHrPシグナル伝達	27.039
pyrimidine代謝	23.304	purine同化経路	19.962	GenRシグナル伝達	25.701
amino acid transporterファミリー	23.089	解毒系	19.694	FOXOによる発現調節	25.154
purine de novo合成	22.519	purine代謝	17.370	Chemokine(CXCL10)シグナル伝達	25.038
グルタミン酸回路	21.297	ペントースリン酸回路	16.398	histamine receptorシグナル伝達	24.426
alanine/aspartate代謝	20.594	Glycine receptorシグナル伝達	15.893	vasopressinシグナル伝達	24.426

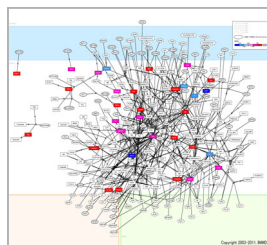
正常組織と比較して卵巣癌組織で有意に変動がみられた生体内低分子群 (p値0.05以下) は、原発性上皮性卵巣癌 (EOC) では、Phenylalanine/tyrosine代謝が、転移性卵巣癌 (MOC) ではアミノ基代謝がもっとも関連度が高いという結果が得られた。また、正常組織と比較して卵巣癌組織で3倍以上発現上昇 (p値<0.01) しているmRNA群では、serotoninシグナル伝達が1位にランキングされた。

### Network1: EOCで発現が変動した低分子の制御ネットワーク



パスウェイ	Score ↑
glycine/serine/threonine代謝	261.156
purine代謝	171.449
pyrimidine代謝	136.733
phenylalanine/tyrosine代謝	118.569
alanine/aspartate代謝	113.266
amino acid transporterファミリー	109.107
purine同化経路	80.531
アミノ基代謝	76.574
tryptophan代謝	63.206
TCR回路	58.800

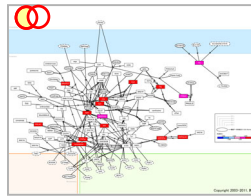
### Network2: MOCで発現が変動した低分子の制御ネットワーク



パスウェイ	Score ↑
glycine/serine/threonine代謝	248.524
amino acid transporterファミリー	144.079
ペントースリン酸回路	123.377
アミノ基代謝	119.771
alanine/aspartate代謝	111.980
解毒系	99.600
多糖、オリゴ糖の代謝	95.792
fructose代謝	83.137
purine代謝	64.205
TCR回路	58.158

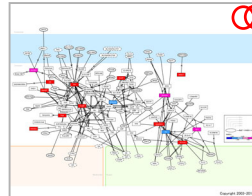
EOCおよびMOCで発現が変動していた生体内低分子を直接制御している分子ネットワークを描画した。このネットワークに関連度の高いパスウェイをランキング表示させたところ、EOC、MOC共に glycine/serine/threonine代謝など、アミノ酸及び核酸代謝パスウェイの関与が示され、両者に大きな差はみられなかった。

### Network3: EOCに特異的なネットワーク (Network1 - Network2)



パスウェイ	Score ↑
purine代謝	123.975
phenylalanine/tyrosine代謝	115.930
pyrimidine代謝	114.665
tryptophan代謝	77.495
PDEシグナル伝達	50.298
purine同化経路	45.922
プリンサルベジ経路	43.222

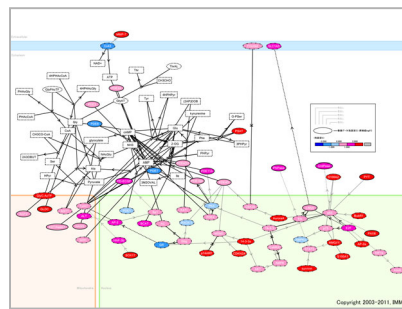
### Network4: MOCに特異的なネットワーク (Network2 - Network1)



パスウェイ	Score ↑
ペントースリン酸回路	140.497
多糖、オリゴ糖の代謝	111.681
fructose代謝	95.480
glutamate代謝	86.476
解毒系	55.724
maroon代謝	50.812
グルタミン酸回路	45.223

EOCおよびMOCで特異的に変動がみられるシグナル伝達を探索するために、ネットワーク演算を行った。これらのネットワークには、EOCではpurine代謝など、核酸やアミノ酸の代謝の関与が高く、MOCではペントースリン酸回路など、糖代謝の関与が高いことが示された。

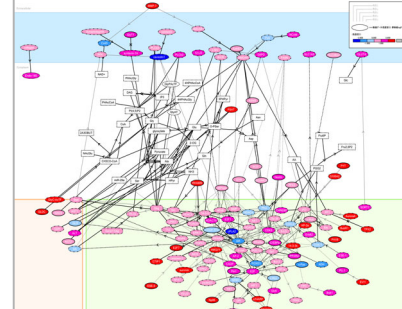
### Network5: マイクロアレイにおいて、卵巣癌組織で発現が3倍以上上昇した分子群からNetwork3に至るネットワーク (EOC特異的)



パスウェイ	Score ↑	病態イベント	Score ↑
PDEシグナル伝達	72.955	心臓のカルシウムシグナル	17.970
glycine/serine/threonine代謝	58.085	皮膚再生能障害	17.624
phenylalanine/tyrosine代謝	34.639	細胞周期	16.590
AMPシグナル伝達	17.787	骨髄形成	15.109
アミノ基代謝	12.880	グルコース代謝	13.964
glutamate代謝	11.983	糖輸送	13.381
Dominantシグナル伝達	11.399	糖質	13.129
RB/E2Fによる発現調節	11.180	癌の化学予防	12.881
CaMKシグナル伝達	10.831	シナプシ型性	12.459
グルタミン酸回路	10.314	脂肪酸合成	11.565

正常組織に比べて卵巣癌組織で発現が3倍以上上昇した分子を起点、EOC特異的な低分子制御ネットワーク (Network3) を終点として制御関係の検索を行った。その結果、glycine/serine/threonine代謝、PDEシグナル伝達など、アミノ酸、核酸の代謝に関連したパスウェイの関与がみられた。

### Network6: マイクロアレイにおいて、卵巣癌組織で発現が3倍以上上昇した分子群からNetwork4に至るネットワーク (MOC特異的)



パスウェイ	Score ↑	病態イベント	Score ↑
RB/E2Fによる発現調節	55.889	癌	17.992
glycine/serine/threonine代謝	50.832	骨髄形成	16.588
グルコース代謝	34.733	脂肪酸合成	12.242
グルタミン酸回路	25.143	細胞周期	12.061
glutamate代謝	25.140	癌の化学予防	12.061
14-3-3シグナル伝達	25.021	心臓のカルシウムシグナル	12.014
グルタミン酸回路	22.927	骨髄形成	12.014
アミノ基代謝	20.946	糖質	12.014
グルタミン酸回路	20.916	脂肪酸合成	12.014

正常組織に比べて卵巣癌組織で発現が3倍以上上昇した分子を起点、MOC特異的な低分子制御ネットワーク (Network4) を終点として制御関係の検索を行った。その結果、EOCとは異なり、RB/E2Fによる発現調節の関与が最も高いことが示された。また、病態イベントでも、癌に関するものが上位にランクしており、原発性卵巣癌と、転移性卵巣癌のシグナル伝達の差が示された。

## < Conclusion >

1. 健康組織と比較して、原発性上皮卵巣癌 (EOC) および転移性卵巣癌 (MOC) で、どちらもglycine/serine/threonine代謝など、アミノ酸及び核酸代謝に関与している生体内低分子が有意に変動していた。
2. 卵巣癌上皮細胞で発現が増加しているmRNA群を起点、EOCで有意に発現変動した生体内低分子の制御ネットワークを終点とした始点終点検索を行った結果においても、アミノ酸や、核酸の代謝への関与が示された。
3. 卵巣癌上皮細胞で発現が有意に増加している分子から、MOC特異的な生体内低分子制御ネットワークには、RB/E2Fによる発現調節が関与していた。
4. 生体内低分子の網羅的解析の意味づけにネットワーク解析を用いる事により、原発性上皮卵巣癌と、転移性卵巣癌のシグナル伝達の違いを見出す事ができた。