

卵巣明細胞腺がん創薬標的分子、診断マーカーの探索

荒川憲昭（横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科）

<背景>

上皮性卵巣癌は、主に漿液性、粘液性、類内膜および明細胞の 4 種類の組織型に分類される。中でも明細胞腺癌は化学療法に対する抵抗性と転移浸潤能が高く、早期に発見されても多数の予後不良例が存在する悪性度の高い組織型である。明細胞腺癌は、現在卵巣腫瘍マーカーとして広く使用されている CA125 の発現量が他の組織型と比べて低く、本疾患に特異的な腫瘍マーカーの開発が必要とされている。また卵巣癌組織型の中で明細胞腺癌の占める割合は、欧米諸国では 5-6% であるのに対し、日本では 20% を越えていることから、我が国における明細胞腺癌の発生頻度が非常に高いことが伺える。したがって日本では、明細胞腺癌を他の卵巣癌組織型とは一線を画する疾患としてとらえており、明細胞腺癌に対する新規抗悪性腫瘍薬の開発ならびに診断マーカーの確立が喫緊の課題となっている。

我々はこれまでプロテオミクス手法を用いて、明細胞腺癌細胞株が特異的に産生しているタンパク質を探索してきた。漿液性腺癌、粘液性腺癌、明細胞腺癌由来の細胞株が、細胞内および培養上清に産生するタンパク質を蛍光二次元電気泳動法やショットガン解析により比較し、明細胞腺癌細胞株群に特徴的な発現が認められるタンパク質を同定した。この中から明細胞腺癌の診断に有用なマーカータンパク質を見いだしたので、それを報告する。

<目的>

卵巣明細胞腺癌が産生するタンパク質群において、臨床的有用性の高いタンパク質を探索する。

<方法・結果>

プロテオミクス解析により見つかった明細胞腺癌関連タンパク質群から診断に有用なタンパク質を見いだすために、細胞外分泌型もしくは細胞膜局在型として分類されるタンパク質に焦点を当てた。さらに、トランスクリプトーム解析に基づくデータベースの情報を参考にしながら、様々な組織で広範囲に発現しない、つまり組織特異性の高いタンパク質を選別した。また、リアルタイム RT-PCR 解析を行い、遺伝子発現レベルにおいても明細胞腺癌細胞株および患者組織に特徴的な発現が認められるタンパク質に着目し、マーカー候補タンパク質 10 種を選出した。

当該タンパク質群の中で、ELISA キットが市販されていないタンパク質については、イムノアッセイ系を確立

するためのモノクローナル抗体を作製した。本抗体と明細胞腺癌細胞株の培養上清を反応させて得られる免疫沈降産物は、SDS-PAGE により分離すると、当該タンパク質の推定分子量の位置に明瞭なバンドとして検出されることから、作製した抗体が確かに目的のマーカータンパク質を認識していることが認められた。さらに、このバンドは他の卵巣癌細胞株の培養上清からは検出されないことから、明細胞腺癌が特異的に分泌するタンパク質であることが示唆された。

本抗体を用いて構築したサンドイッチ ELISA 系、あるいは市販 ELISA キットを用いて、明細胞腺癌の診断に対する当該タンパク質群の有用性を検証した。明細胞腺癌患者における 34-kDa タンパク質および 27-kDa タンパク質の血中濃度は、コントロール群（健常人および良性腫瘍群）と比べて有意に高い値が示された。さらに既存の卵巣腫瘍マーカーである CA125 の値と比較すると、CA125 のカットオフ値（36 U/mL）付近、あるいはそれ以下の患者においても、上記 2 種のタンパク質は高値を示した。これは、今回見いだしたマーカータンパク質が、CA125 では判別が難しい明細胞腺癌患者においても陽性と判別できる可能性があることを示す結果である。今後、他の疾患の患者検体も含めて、さらに多検体解析を行う必要があるだろう。

本研究成果は、横浜市立大学医学部産婦人科および東ソー株式会社バイオサイエンス事業部との共同研究によるものである。

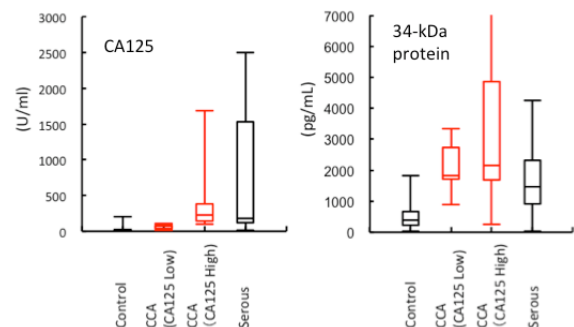


図 1. 卵巣癌患者血清における CA125 および 34-kDa タンパク質の濃度. Control: 健常および良性腫瘍 (23 例). CCA: 明細胞腺癌 (13 例). Serous: 漿液性腺癌 (11 例).