

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591964

研究課題名(和文) 新しいプロテオミクス卵巣がん血清診断は CA125 抗体を超えるか

研究課題名(英文) Pattern recognition in serum to diagnose ovarian cancer in a Japanese sample set

研究代表者

山田 恭輔 (YAMADA KYOSUKE)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30230452

研究成果の概要(和文)：日本人卵巣癌患者の血清サンプルをブラインドで米国卵巣癌診断用データベースに照合し、米国人の場合と同程度の判定精度が得られるかを比較検証した。術前に患者の同意を得た上で血清を採取し、質量分析器およびイオン化装置にて解析した。最終診断モデルの作製には、モデルの初期作製、教育、評価の3つのプロセスがあるが、日本人血清により診断モデルを教育することで精度の向上が可能であった。プロテオミクス卵巣がん血清診断は臨床応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This small proof of principle study demonstrates that there are profiles in the serum of Japanese ovarian cancer patients that can classify the presence of cancer. The information is similar to that in USA ovarian cancer sera since N-dimensional clusters built on USA sera spectra created cluster maps predictive of the Japanese samples. Performance of the model was better than any of the existing single biomarker assays although truly useful models await a much larger sample size and the use of independent validation sample sets to demonstrate the robustness of the models. These results encourage us to initiate a large scale, multi-site collection of serum from Japanese ovarian cancer samples patients, for the development of a Japanese ovarian cancer serum profile assay.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵巣癌・プロテオミクス解析

1. 研究開始当初の背景

CA125 は現在卵巣癌マーカーとして広く使用されているが、進行癌においては約 80% の患者で高値を示すものの、I 期癌では 50-60% の患者でのみ陽性を示すにとどまる。CA125

はシングルマーカーとしては正の予測価 (positive predictive value : 有病かつ検査結果が陽性のものと検査結果が陽性なもの的人数の比) は 10% 以下とされる。また、欧米に比べわが国において発生頻度が高い

とされる明細胞腺癌は、腫瘍マーカーの陽性率が低いという問題点が指摘されている。従来の腫瘍マーカーは、特定のタンパク質など血清中の特異抗原の有無に限定して検査を行うため診断精度に限界があったのに対し、プロテオミクスによる診断は複数物質の量を複合的に解析するため、より精度の高い診断が可能となる。

2. 研究の目的

日本人卵巣癌に特有なプロテオミックパターンを特定し従来の腫瘍マーカーより特異度、感度ともにすぐれた精度の高い血清診断を確立することを目的とした。

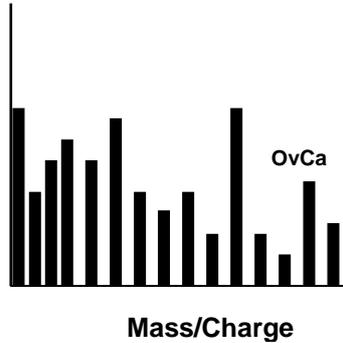
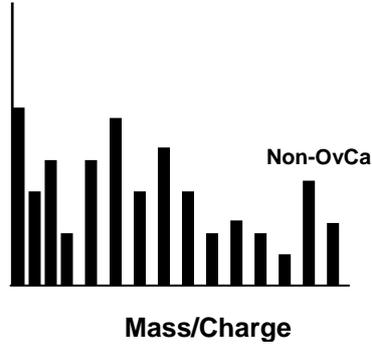
3. 研究の方法

米国 Correlogic Systems Inc. 社は血清タンパクのプロテオミクス解析（特殊なアルゴリズムに基づく多変量解析）により卵巣癌診断用のデータベースを構築した。日本人卵巣癌患者の血清サンプルをブラインドで米国卵巣癌診断用データベースに照合し、米国人の場合と同程度の判定精度が得られるかを比較検証した。米国人検体のみの診断モデルは卵巣癌患者血清 120 例および良性腫瘍を含むコントロール 120 例、計 240 例により作製された。当科にて卵巣腫瘍の診断で手術が施行された 64 例の日本人検体を対象とした。術前に患者の同意を得た上で血清を採取し、質量分析器およびイオン化装置にて解析した。日本人検体のデータを加えた新しい診断モデルの作製には Correlogic 社のソフトウェアである Proteome Quest を使用した。

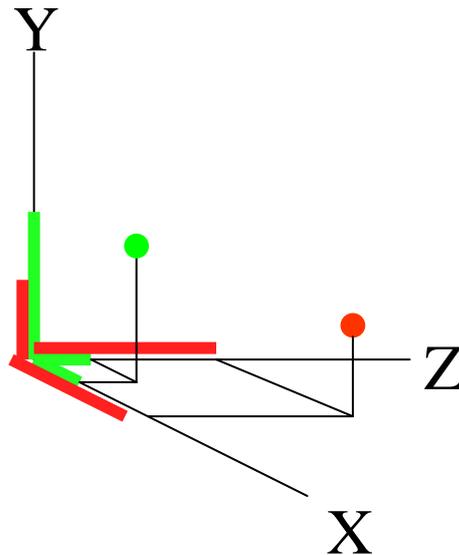
サンプル調整・解析を以下に示す。



診断モデルの構築と解析 (Proteome Quest®) を以下に示す (Step 1. 2. 3)



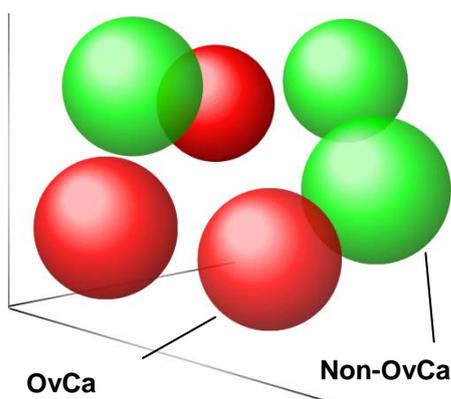
Step 1: n 個の質量スペクトルにより構成される質量スペクトルの候補セットを一つ選択する。



Step 2: 選択された質量スペクトルのセットを用いて、3(n)次元空間に位置づける。

質量とイオン強度の多数の組み合わせを自動的に解析する。

複数回の試行を経て n 次元空間内で最適な診断対象疾病(卵巣癌) 特有領域を特定する。



Step 3 : 患者血清内タンパク分布を n 次元空間にプロットし、Step 2 で構築した特有領域 (診断モデル) との関係より診断する。

Table 1. Normal/Benign/Other Sera			
USA Sample Set		Japanese Sample Set	
Type	Number	Type	Number
Normal	42	Normal	4
Leiomyoma	1	Leiomyoma	6
		Mucinous	
Cystadenoma	14	Cystadenoma	2
		Mature Cystic	
Adenofibroma	14	Teratoma	7
Fibroma	1	Fibroma	3
		Endometriotic	
Endometriosis	2	Cyst	4
		Endometriotic	
High Risk		Cyst +	
Family	12	Leiomyoma	2
Uterine Cervical		Corpus Luteum	
Large Cell,		Cyst	1
Keratinizing	3		
Uterine Cervical		Endometrioid	
Large Cell,		Adenocarcinoma	1
Non-Keratinizing	3		
Endometrial		Colon Cancer	1
Cancer	4		
Uterine Cancer	6		
Breast Cancer	6		
Lung Cancer	6		
Colon Cancer	6		
Total:	120	Total:	30

Table 2. Ovarian Cancer Sera			
USA Sample Set		Japanese Sample Set	
Type	Number	Type	Number
Serous		Serous	7
Adenocarcinoma	52	Adenocarcinoma	
Endometrioid		Endometrioid	4
Adenocarcinoma	30	Adenocarcinoma	
Endometrioid		Mucinous	3
and Mucinous	1	Adenocarcinoma	
Endometrioid		Clear Cell	5
and Serous	4	Adenocarcinoma	
Endometrioid			
and Transitional			
Cell	1		
Mucinous			
Adenocarcinoma	8		
Clear Cell	18		
Clear Cell and			
Endometrioid	1		
Clear Cell and			
Serous	3		
Adenocarcinoma	2		
Total:	120	Total:	19

4. 研究成果

米国人検体のみの診断モデルを修正することなく用いて日本人検体を診断した場合、良好な判定精度は得られなかったが、日本人検体のデータにより診断モデルを修正すると精度が向上した。モデル修正を行うことで上皮性卵巣癌に対する精度は、感度 89.5%、特異度 86.7%を示した。診断モデルは質量ピーク数、クラスターの大きさ、アルゴリズムの回数で決定される。最終診断モデルの作製には、モデルの初期作製、教育、評価の3つのプロセスがあるが、日本人血清により診断モデルを教育することで精度の向上が可能であった。プロテオミクス卵巣がん血清診断は臨床応用が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. 山田恭輔, 田中忠夫. 産婦人科領域におけるアレイCGH 婦人科腫瘍におけるアレイCGH. 産婦の実際, 査読無, 59:103-7, 2010
2. 山田恭輔, (他 12 名, 13 名中 1 番目). 卵巣癌治療における新たな展開 再発卵巣癌に

対する腫瘍減量手術. 日本婦人科腫瘍学会誌, 査読無, 28:396-402, 2010

3. 山田恭輔, 田中忠夫. 産婦人科領域における アレイCGH 総論. 産婦の実際, 査読無, 58:2181-4, 2009

4. 横須賀治子, 山田恭輔, (他 10 名, 12 名中 2 番目). 卵巣顆粒膜細胞腫の晩期再発を認めた 1 例. 日産婦東京会誌, 査読無, 58:448-53, 2009

5. 高橋絵里, 山田恭輔, (他 10 名, 12 名中 10 番目). 多発性微小脳梗塞を発症し診断に至った卵巣明細胞腺癌の 1 例. 日産婦東京会誌, 査読無, 58:36-41, 2009

6. 加藤淳子, 矢内原 臨, 森本恵爾, 山田恭輔, 田中忠夫. Bacterial translocation により敗血症性ショックをきたした卵巣癌術後イレウスの 1 例. 産婦の実際, 査読無, 57:1053-7, 2008

7. 楠原淳子, 山田恭輔, (他 11 名, 13 名中 2 番目). 術前細胞診を契機に発見された正常大卵巣癌の 1 例. 日産婦東京会誌, 査読無, 55:199-202, 2007

8. 橋本朋子, 上田和, 山田恭輔, 田中忠夫. 妊娠に合併する卵巣腫瘍の診断と治療産婦の実際. 査読無, 57:651-6, 2008

[学会発表] (計 2 件)

1. 山田恭輔, サイトメトリー技術の進歩と細胞診断学への応用 上皮性卵巣癌のプロテオミクス解析. 日本臨床細胞学会. 東京. 2008 年 6 月 7 日

2. 山田恭輔. 卵巣癌治療における新たな展開 再発卵巣癌に対する腫瘍減量手術. 日本婦人科腫瘍学会. 東京. 2009 年 11 月 21 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 恭輔 (YAMADA KYOSUKE)
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授
研究者番号 : 30230452

(2) 研究分担者

田中 忠夫 (TANAKA TADAO)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 50110929