

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861504

研究課題名(和文) 卵巣がんバイオマーカーとしての葉酸受容体アルファの有用性とその応用に関する研究

研究課題名(英文) Serum folate receptor alpha as a biomarker for epithelial ovarian cancer

研究代表者

黒崎 亮 (Kurosaki, Akira)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：10620841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：葉酸受容体アルファ(FRA)は、細胞膜表面に存在する糖タンパクである。FRAは卵巣癌を含む上皮性悪性腫瘍で高発現しているが正常組織ではほとんど発現が見られない。血清中FRAと組織発現を解析し、卵巣癌バイオマーカーとして有用であるかどうか検討した。血清FRAは卵巣癌患者で上昇しており、良性、境界悪性腫瘍、および転移性卵巣腫瘍の患者では上昇が見られなかった。血清FRAは臨床進行期、組織型などと関連があり、CA125よりも検出力は高かった。また血清FRAは組織発現とも密接に関連が見られたため、将来のFRAをターゲットとした治療の非侵襲的なバイオマーカーとなりうることを示唆された。

研究成果の概要(英文)：Folate receptor alpha (FRA) is a GPI-anchored glycoprotein. High expression of FRA is observed in epithelial malignant tumors, including ovarian cancer. We prospectively investigated the levels of sFRA in patients clinically suspected of having malignant ovarian tumors. A total of 231 patients were analyzed for sFRA as well as tumor expression of FRA by immunohistochemistry. High sFRA was predominantly observed in epithelial ovarian cancer patients, but not in patients with benign or borderline gynecological disease or metastatic ovarian tumors from advanced colorectal cancers. Levels of sFRA was highly correlated to clinical stage, tumor grade and histological type and demonstrated superior accuracy for the detection of ovarian cancer than did serum CA125. Finally, tumor FRA expression status was strongly correlated with sFRA levels. Taken together these data suggest sFRA might be a useful non-invasive serum biomarkers for future clinical trials assessing FRA-targeted therapy.

研究分野：バイオマーカー

キーワード：葉酸受容体アルファ 卵巣がん バイオマーカー 標的治療

1. 研究開始当初の背景

葉酸受容体アルファ (以下 FRA) は細胞膜表面上に発現する糖タンパクで、DNA の合成や伸長に参与していると考えられている。FRA は卵巣癌の約 80% に発現が認められると報告される一方、正常組織や良性疾患組織ではほとんど発現が認められていない。また、その発現レベルは悪性度に相関し、治療標的としても有望視されている。

2. 研究の目的

本研究では FRA がプロテアーゼにより可溶性 (遊離型) となって血中に放出されることを利用して定量を行い、非侵襲的な卵巣癌の診断補助や、FRA 標的治療における治療選択あるいはモニタリングのバイオマーカーとして応用できるかを検討する。

3. 研究の方法

卵巣腫瘍と診断され手術が施行された 231 名に対して、術前血清を利用して ELISA 法により血清中 FRA (sFRA) を定量化し、臨床病理学的因子と比較検討した。腫瘍における FRA の発現は免疫組織化学的染色を行い、可溶性 FRA との関連性についても検討した。

4. 研究成果

血中可溶性 FRA は卵巣癌患者群において、境界悪性腫瘍群、良性群、および転移性腫瘍群と比較して有意に上昇していた ($p < .0001$)。特筆すべきは、他癌腫 (4 例、すべて大腸がん) からの転移性卵巣腫瘍において、上昇が見られなかったことである。臨床進行期については、早期がんよりも進行期がんで有意に上昇を認めた ($p < .0001$)。組織型別にみると、漿液性腺癌で有意に上昇を認めた。粘液性腺

癌では全く上昇が見られなかった。類内膜腺癌、明細胞腺癌においても上昇は見られたが、漿液性腺癌よりもおおむね低値であった。組織のグレード別に検討すると、グレードの高いものほど sFRA は高値となる傾向にあった。腫瘍の大きさとの比較では、sFRA の値と腫瘍の大きさに相関は見られなかった。卵巣癌嚢胞性の腫瘍を作ること知られるが、充実部分の大きさとの比較でも、やはり相関は見られなかった。

次に、上皮性腫瘍を対象として、悪性腫瘍の抽出に sFRA が使用できるかどうかを検討するために、ROC 曲線を用いた解析を行った。比較のために同様の解析を同検体を用いて測定した CA125 でも行った。sFRA の AUC は 0.79 であったのに対し、CA125 の AUC は 0.78 でほぼ同等であった。Youden index が、sFRA が 0.57、CA125 が 0.48 であった。これらを用いてそれぞれの cut off 値を算出したところ、sFRA が 1480 pg/ml、CA125 が 224 IU/ml であった。sFRA の感度は 59.4%、特異度 97.9%、陽性反応的中率 97.4% であったのに対し、CA125 においては、感度は 58.6%、特異度 89.3%、陽性反応的中率 88.2% であり、感度はほぼ同等であったが、sFRA の方が特異度が高かった。次に、cut off 値をいくつか設定して、特異度を変化させ感度の推移を見てみると、特異度を 95% とするよう設定すると、CA125 の感度は 32.0%、特異度を 98% に設定すると、sFRA の感度は 55.5% でそれほど低下は見られなかったが、CA125 の感度は 8.59% まで低下し、悪性腫瘍を抽出するマーカーとしては、sFRA の方がより優れていることが示唆された。

次に、摘出組織の免疫染色と sFRA の関連について検討した。免疫染色の程度は染色の

面積で評価し、0%を negative、1-25%を weak、26-75%を moderate、76%以上を strong と区分した。免疫染色の程度は sFRA と正の相関を示していた。ここにさらに先ほどの分析で使用した cut off 値を適用してみると、negative の集団においては、cut off 値を上回る症例はほぼなかったのに対し、strong の集団においては前例が cut off 値以上であった。このことから、sFRA は局所の FRA の発現を類推できる可能性が示唆された。

CA125 は、悪性卵巣腫瘍だけでなく、子宮筋腫や子宮内膜症などの良性腫瘍および類腫瘍性疾患でも上昇してしまう。この点について、今回の対象症例のうち、子宮内膜症性嚢胞と、内膜症関連悪性腫瘍（類内膜腺癌および明細胞腺癌）について sFRA、CA125 の値を検討した。sFRA は内膜症性嚢胞では上昇が見られなかったにも関わらず、内膜症関連悪性腫瘍では上昇が見られ、この両者には統計学的な有意差が見られた。一方で、CA125 は内膜症でも内膜症関連悪性腫瘍でも上昇が見られ、この間には統計学的な有意差が見られなかった。以上より、CA125 と比較して、sFRA は悪性腫瘍のみを的確に抽出できる可能性が示唆された。

予後についても検討した。無増悪生存率（Progression Free Survival）と全生存率（OS）について検討した。sFRA の低い群、高い群をその平均値で分けて検討すると、全悪性腫瘍患者を対象にした場合、sFRA の高い群より低い群のほうが PFS は延長していたが、OS には差が出なかった。早期がんと進行がんに分けて同様の分析を行った。どちらにおいても、sFRA の高い群より低い群のほうが PFS は延長していたが、OS には差が出なかった。

このことに関しては、OS を検討するにはまだ十分な観察期間が得られていないことが要因として考えられた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Akira Kurosaki, Kosei Hasegawa, Tatsuya Hanaoka, and Keiichi Fujiwara. Serum Folate Receptor Alpha as a Biomarker for Ovarian Cancer: Implication on diagnosis, prognosis and potential non-invasive marker of its local expression.

2015 年 4 月 15-18 日

Berlin, Germany

Charite-Mayo conference で発表

2. Akira Kurosaki, Kosei Hasegawa, Tatsuya Hanaoka, Keiichi Fujiwara. Diagnostic significance of serum soluble folate receptor alpha in epithelial ovarian cancer.

2014 年 4 月 18-20 日

東京、日本

日本産科婦人科学会学術講演会で発表

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒崎 亮 (Kurosaki Akira)

埼玉医科大学 医学部 助教

研究者番号：10620841

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：