

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390347

研究課題名（和文） 乳癌の網羅的糖鎖解析による新規バイオマーカーの開発

研究課題名（英文） Development of new biomarkers in breast cancer by glycomic profile analyses

研究代表者

山下 啓子 (YAMASHITA HIROKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：70332947

研究成果の概要（和文）：乳癌患者と健常人女性の血清を用いてグライコブロットティング法により網羅的糖鎖解析を行った結果、両者を区別できる単独の糖鎖マーカーは見出せなかった。次に、乳癌患者の血清を用いた網羅的糖鎖解析結果と臨床情報（乳癌のサブタイプ間での糖鎖プロファイル比較、予後解析など）の統計学的解析を行い、24種類の糖鎖を組み合わせることにより予後予測が可能となる可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：Serum glycomic profiles were compared between breast cancer patients and controls. No glycans showed different concentrations between these two groups. We found that the combination of 24 glycans might be a prognostic marker for breast cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	11,900,000	3,570,000	15,470,000
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	15,400,000	4,620,000	20,020,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：乳癌、糖鎖解析、バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

日本人女性の癌の罹患率の第1位である

乳癌の診療において特に求められていることは下記3点である。

(1) 乳癌早期診断のための血清バイオマーカーの同定

(2) 早期乳癌の予後予測因子の血清バイオマーカーの同定

(3) 乳癌の発生・進展のメカニズムの解明と、最適な治療法、予防法の確立

(1)、(2) については、血清バイオマーカーは未だに確立されたものは見出されていない。

ヒトの蛋白質の約 50% は糖鎖を結合した糖蛋白質として存在しているが、糖鎖の構造は非常に複雑であり解析が難しかった。しかし最近、糖鎖の構造解析技術が進歩し、糖鎖の異常が重要な生体分子の機能異常をきたして疾患の発症などに関与している可能性が明らかになってきている。

2. 研究の目的

本研究は、乳癌において大規模な糖鎖の網羅的解析（グライコムクス）を行うことにより下記 3 点を明らかにする。

(1) 早期診断バイオマーカーの同定

(2) 乳癌予後予測バイオマーカーの同定

(3) バイオマーカーとなる糖鎖が結合する糖蛋白質の同定と機能解析（乳癌各サブタイプ）—乳癌の発生、進展のメカニズムの解明

3. 研究の方法

健常人女性、乳癌患者、良性乳腺疾患患者の血清を用いて、BlotGlyco® により糖鎖を精製、蛍光標識化し、質量分析

(MALDI-TOF MS) により糖鎖の網羅的解析（グライコムクス）を行う。

(1) 乳癌患者と健常人の血清糖鎖プロファイルの比較解析を行うことにより、乳癌早期診断バイオマーカーを同定する。

(2) 乳癌患者の血清の糖鎖プロファイルと臨床情報（予後）の解析を行うことにより、

乳癌予後予測バイオマーカーを同定する。

4. 研究成果

(1) 健常人の血清糖鎖解析

健常人女性 161 人の血清を用いて網羅的糖鎖解析を行った。各糖鎖（の濃度を年齢別（20 代、30 代、40 代、50 代、60 代以上）と分けて解析したところ、年齢に依存して各糖鎖の濃度は変動していた。

(2) 乳癌患者と健常人の血清糖鎖解析の比較

乳癌患者 350 人と健常人の血清を用いて網羅的糖鎖解析を行い、各糖鎖の濃度について比較したところ、乳癌患者と健常人で差のある単独の糖鎖は見いだせなかった。

次に、下記の 2 点について比較検討した。

① 二つの糖鎖の濃度比

② 糖鎖のタイプ毎の濃度について

a) フコースを 1 つ以上含む糖鎖

b) シアル酸を 2 つだけ含む糖鎖

しかしながら、上記 2 点での比較解析においても乳癌と健常人の血清を区別できる糖鎖は見いだせなかった。

以上より、乳癌患者と健常人の血清において差のある単独の糖鎖は存在しないことが明らかとなった。

(3) 乳癌患者と良性乳腺疾患患者の比較

次に、良性乳腺疾患患者 30 人の血清を用いて網羅的糖鎖解析を行い、乳癌患者と比較検討した。乳癌と良性乳腺疾患の血清を区別できる糖鎖は見いだせず、乳癌と良性乳腺疾患の血清を区別できる単独の糖鎖は存在しないことが明らかとなった。

(4) 乳癌の病期（進行度）、サブタイプ別の糖鎖の比較

次に、乳癌の進行度（腫瘍径、リンパ節転移状況）、およびサブタイプ（エストロゲンレセプター、HER2の発現状況による）によって差のある糖鎖について検討した。腫瘍径、リンパ節転移状況、エストロゲンレセプター、HER2の発現状況に依存して変化する血清中の単独の糖鎖は見いだせなかった。

（5）複数の糖鎖の組み合わせ

最後に、検出精度の高い24種類の糖鎖を組み合わせることにより、浸潤性乳癌患者の予後予測が可能かどうかをロジスティック回帰分析を用いて検討した。その結果、AUC = 0.924にて予後予測が可能であると考えられた。さらに、リンパ節転移陽性症例についてのみ検討したところ、ある関連糖鎖の組み合わせが予後因子となることを見出した。

以上より、乳癌患者と健常人女性の血清を用いてグライコプロッティング法により網羅的糖鎖解析を行った結果、両者を区別できる単独の糖鎖マーカーは見出せなかった。また、乳癌患者の血清を用いた網羅的糖鎖解析結果と臨床情報（乳癌のサブタイプ間での糖鎖プロファイル比較、予後解析など）の統計学的解析を行い、24種類の糖鎖を組み合わせることにより予後予測が可能となる可能性を見出した。

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2件）

① Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, et al. Estrogen receptor-positive breast cancer in Japanese women: trends in incidence,

characteristics, and prognosis. *Ann Oncol* (2010, online) (査読あり)

② Yamashita H. Current research topics in endocrine therapy for breast cancer. *Int J Clin Oncol* 13, 2008, 380-383 (査読なし)

〔学会発表〕（計1件）

① Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, et al. Estrogen receptor-positive breast cancer in Japanese women: trends in incidence, characteristics, and prognosis. The 33th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, December 8-12, 2010. San Antonio, USA.

〔図書〕（計1件）

① Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, et al. Current research on estrogen receptor α in breast cancer “Current Research in Cancer 3” *RESEARCH MEDIA*, 2009, p43-64

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/mammal.dir/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 啓子 (YAMASHITA HIROKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：70332947

(2) 研究分担者

遠山 竜也 (TOYAMA TATSUYA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：30315882

杉浦 博士 (SUGIURA HIROSHI)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究
員

研究者番号：20381882

西村 紳一郎 (NISHIMURA SHINICHIRO)
北海道大学・先端生命科学研究院・教授
研究者番号：00183898

(H20 年度のみ)

(3) 連携研究者

西村 紳一郎 (NISHIMURA SHINICHIRO)
北海道大学・先端生命科学研究院・教授
研究者番号：00183898

(H21、22 年度)