

令和 5 年 6 月 25 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18083

研究課題名（和文）網羅的糖鎖解析による腎癌バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Identification of renal cancer biomarkers using comprehensive glycan analysis

研究代表者

小玉 寛健（Kodama, Hirotake）

弘前大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：50817294

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：画像診断技術の進歩によって腎癌の発見頻度は増加してきているが、早期診断マーカーがないため、約30%は進行性・転移性である。また再発マーカーもなく、再発して画像で見えるまでは診断法がないことから、低侵襲な腎癌診断マーカーの実用化が求められている。本研究では、N-結合型糖鎖を網羅的に解析可能なキャピラリー電気泳動装置（GlyQ）による糖鎖解析を用いて腎癌の新規診断マーカーの開発を行った。機械学習を用いた解析により、高精度に腎癌を判別できることが示唆された。しかし腎癌の予後予測には限界があることも示された。以上より、糖鎖性腎癌バイオマーカーは腎癌の診断には有効である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

画像診断技術の進歩によって腎癌の発見頻度は増加してきているが、早期診断マーカーがないため、約30%は進行性・転移性である。また再発マーカーもなく、再発して画像で見えるまでは診断法がないことから、低侵襲な腎癌診断マーカーの実用化が求められている。本研究では、糖鎖性バイオマーカーを用いて、高精度に腎癌を判別できることが示唆された。しかし腎癌の予後予測には限界があることも判明し、更なる検討が必要であることが示された。まだまだ検討は必要であるが、糖鎖性バイオマーカーの有効性を示した本研究の成果の学術的意義や社会的意義は大きいと思われる。

研究成果の概要（英文）：Since there are no tumor markers for renal cancer, there is a need for effective biomarker development. In this study, we developed a novel diagnostic marker for renal cancer using glycan analysis by capillary electrophoresis system (GlyQ), which can analyze N-linked sugar chains in a short time and comprehensively. We developed a new diagnostic biomarker for renal cancer diagnosis using GlyQ with machine learning, suggesting that it can discriminate renal cancer with high accuracy. However, it was also found that GlyQ is not useful for predicting the prognosis of renal cancer. These results suggest that glycosylated renal cancer biomarkers may be effective in the diagnosis of renal cancer.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：糖鎖 腎癌

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

画像診断技術の進歩によって腎腫瘍の発見頻度は増加してきているが、早期診断マーカーがないため、診断時に約 30%が局所進行性、もしくは転移性である。また術後の再発マーカーがないため、毎年 CT 等の画像検査が必須となり、再発して画像で見えるまで手を打てないことから、CT や MRI を凌駕する低侵襲な腎癌診断マーカーの実用化は急務である。しかし、通常的手法による腎癌マーカー同定は容易でないことから、我々は糖鎖性マーカーに着目し、複数の糖鎖が腎癌で変化していることを同定した。しかしこのバイオマーカーは質量分析装置が必要なため臨床応用は容易ではなかった。近年、抗体の糖鎖品質管理に使用されるキャピラリー電気泳動型糖鎖解析装置が実用化され、N 型糖鎖を短時間で、網羅的に解析することが可能となった。この装置の実用化により糖鎖変異を臨床応用する体制が整った。

2. 研究の目的

本研究では、N-結合型糖鎖を短時間で、網羅的に解析可能なキャピラリー電気泳動装置 (GlyQ) による糖鎖解析を用いて腎癌の新規診断マーカーの開発を目的とした。

3. 研究の方法

腎癌患者、その他泌尿器科疾患の血清免疫グロブリンを用いて N 型糖鎖解析を実施した。得られた定量データから、ROC 解析、Decision Curve 解析、ロジスティック解析にて、腎癌の診断に関連する糖鎖候補を検討し画像診断との診断能を比較した。解析には機械学習ソフト (Datarobot) も使用した (文献 1)。

4. 研究成果

本研究で血清糖鎖プロファイル測定した 1312 例の患者背景を表 1 に示す。

Total	HSPC	CRPC	RCC	BCa	UTUC	GCT	BPH	US	UTI	HV	P value
n=1312	234	94	100	176	105	73	95	145	21	269	
Age, yrs (IQR)	74 (67,78)	74 (64,78)	67 (59,77)	70 (62,75)	72 (63,76)	38 (25,45)	67 (61,71)	79 (69,87)	76 (63,90)	29 (23,65)	*
Gender n, m/f	234/0	94/0	64/36	147/29	69/36	73/0	95/0	60/85	12/9	173/96	*
Pathological T stage, n (%)											
Ta,Tis			0 (0)	0 (0)	6 (6)						
T1			66 (66)	108 (61)	21 (20)						
T2			10 (10)	27 (15)	14 (13)						
T3			17 (17)	30 (17)	44 (42)						
T4			3 (3)	11 (6)	3 (3)						
N/A			4 (4)	0 (0)	16 (15)						

HV	: 健常
UTI	: 尿路感染症
US	: UTIに伴う重症敗血症
BPH	: 前立腺肥大症
GCT	: 精巣腫瘍
UTUC	: 上部尿路上皮癌
BCa	: 膀胱癌
RCC	: 腎細胞癌
HSPC	: ホルモン感受性前立腺癌
CRPC	: 去勢抵抗性前立腺癌

表 1: 1312 例の患者背景

得られた糖鎖 26 種類 Ig N-glycan 濃度の解析を試みたが、1312x26=34112 個のビックデータとなっており、手動解析は困難であった。そのため機械学習にインプットし Training Data、Validation Data に分割して予測可能かを検討した (図 1)。

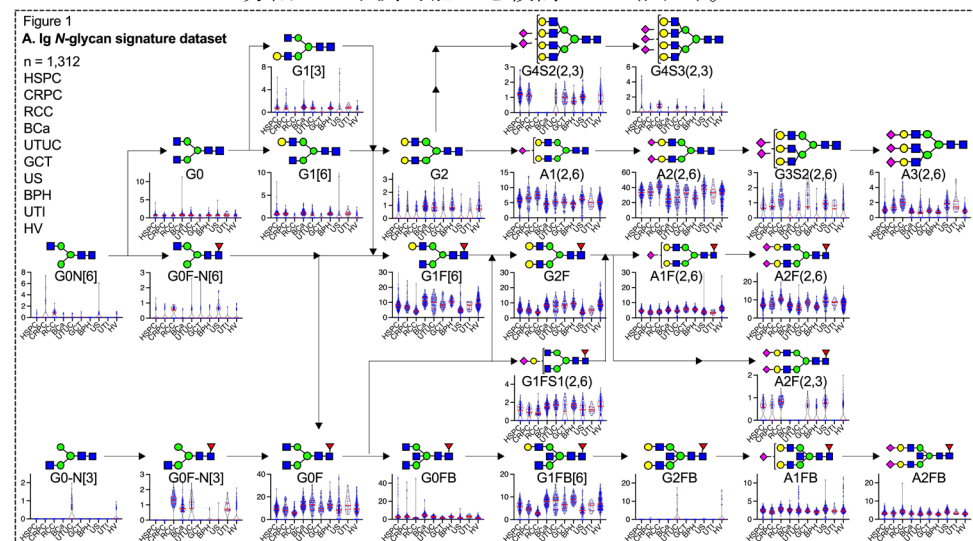


図 1: GlyQ で得られた糖鎖と疾患特異性

その結果、各種疾患を高精度で判別できる予測スコアが作成された。腎癌 (RCC) に着目すると、

他の疾患との判別制度 AUC は 0.99 であり、腎癌患者の糖鎖プロファイルは他の泌尿器科疾患と大きく異なることが示唆された (図 2)。

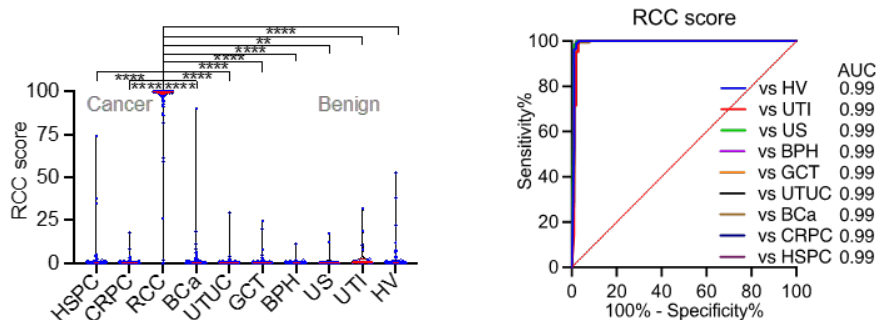


図 2 : 1312 例を用いた RCC スコアの有用性

さらに、腎癌患者の結果をサブ解析すると癌の T 分類に関わらず検出可早期診断に有用である可能性が示唆された (図 3)。また機械学習では過学習が問題となるが、リフトチャートによる過学習の検討でも高精度で予測できていることが示唆された (図 4)。

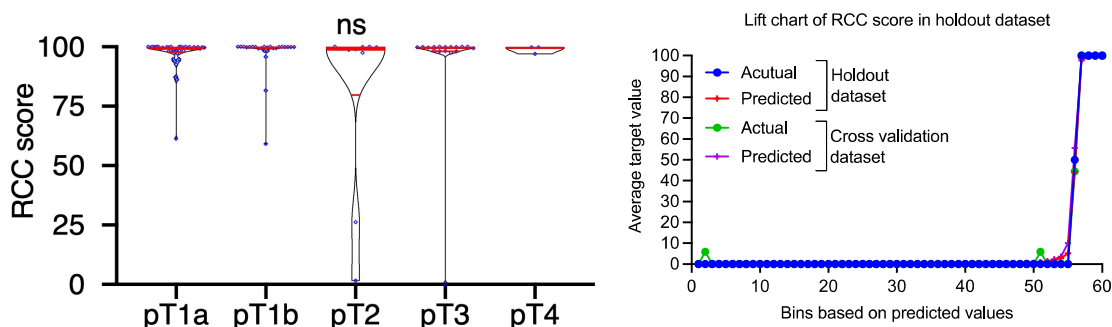
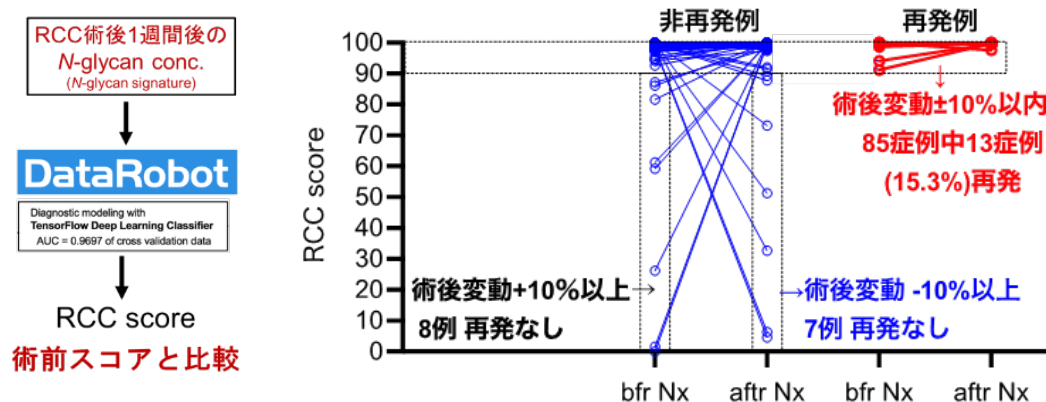


図 3 : 腎癌スコアと T 分類の相関

図 4 : 過学習の検定 (リフトチャート)

また腎臓摘出後 1 週間目の採血検体を用いて再発予測スコアを作成し検討したが有用性は限定的であった (図 5)



**術後1週間後のRCCスコアの変動が10%以内の症例では13症例が再発**

図 5 : 腎摘出後 1 週間後の RCC スコアと再発イベント

まとめ

Ig の N-glycan signature を基盤とした機械学習による泌尿器疾患の診断モデルを構築した。各疾患で判別に寄与する糖鎖が異なることが示唆された。一度の採血で複数の泌尿器疾患を鑑別可であるが、臨床応用に向けた前向き/外部バリデーションが必要である (文献 1)。

引用文献

1. Iwamura H, Mizuno K, Akamatsu S, Hatakeyama S, et al. Machine learning diagnosis by immunoglobulin N-glycan signatures for precision diagnosis of urological diseases. *Cancer Sci.* 2022 Jul;113(7):2434-2445. doi: 10.1111/cas.15395.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoneyama Tohru, Yamamoto Hayato, Sutoh Yoneyama Mihoko, Tobisawa Yuki, Hatakeyama Shingo, Narita Takuma, Kodama Hirotake, et al	4. 巻 81
2. 論文標題 Characteristics of 2,3 sialyl N glycosylated PSA as a biomarker for clinically significant prostate cancer in men with elevated PSA level	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Prostate	6. 最初と最後の頁 1411 ~ 1427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pros.24239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kodama Hirotake, Yoneyama Tohru, Tanaka Toshikazu, Noro Daisuke, Tobisawa Yuki, Yamamoto Hayato, Suto Shinichiro, Hatakeyama Shingo, Mori Kazuyuki, Yoneyama Takahiro, Hashimoto Yasuhiro, Kakizaki Ikuko, Nakaji Shigeyuki, Ohyama Chikara	4. 巻 10
2. 論文標題 N glycan signature of serum immunoglobulins as a diagnostic biomarker of urothelial carcinomas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 1297 ~ 1313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3727	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kodama Hirotake, Hatakeyama Shingo, Momota Masaki, Togashi Kyo, Hamaya Tomoko, Hamano Itsuto, Fujita Naoki, Kojima Yuta, Okamoto Teppei, Yoneyama Tohru, Yamamoto Hayato, Yoshikawa Kazuaki, Yoneyama Takahiro, Hashimoto Yasuhiro, Ohyama Chikara	4. 巻 39
2. 論文標題 Effect of frailty and comorbidity on surgical contraindication in patients with localized prostate cancer (FRART-PC Study)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations	6. 最初と最後の頁 191.e1 ~ 191.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.urolonc.2020.06.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwamura Hiromichi, Mizuno Kei, Akamatsu Shusyke, Hatakeyama S, Tobisawa Yuki, Kodama Hirotake, et al.	4. 巻 113
2. 論文標題 Machine learning diagnosis by immunoglobulin N glycan signatures for precision diagnosis of urological diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2434 ~ 2445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamaya Tomoko, Hatakeyama Shingo, Yoneyama Tohru, Tobisawa Yuki, Kodama Hirotake, Fujita Takeshi, Murakami Reiichi, Fujita Naoki, Okamoto Teppei, Yamamoto Hayato, Yoneyama Takahiro, Hashimoto Yasuhiro, Saitoh Hisao, Narumi Shunji, Tomita Hirofumi, Ohyama Chikara	4. 巻 12
2. 論文標題 Seroprevalence of SARS-CoV-2 spike IgG antibodies after the second BNT162b2 mRNA vaccine in Japanese kidney transplant recipients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-09897-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------