

令和 6 年 5 月 10 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09457

研究課題名（和文）我々が同定した卵巣明細胞癌早期発見に有用な血清糖蛋白マーカーの測定キット開発

研究課題名（英文）Development of a measurement kit for serum glycoprotein markers we identified as useful for early detection of ovarian clear cell carcinoma.

研究代表者

池田 仁恵（Ikeda, Masae）

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：20365993

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本邦では子宮内膜症（EM）の増加に伴い、EMが前癌病変の卵巣明細胞癌（CCC）が増加傾向にある。EMの経過観察にてCCC鑑別は最重要である。我々はEMとCCCを卵巣癌マーカーCA125よりも有意に判別するFS-C4BP（特許取得）を同定し測定キットを完成した。さらに新規に同定されたWFA反応性セルロプラスミン（Anal. Chem. PMID: 35044763）の測定キットについても検討を開始した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EMは若年発症が多く拳児希望が多いために、妊孕性温存療法で長期間経過観察していきことが多い。経過観察は、画像診断とCA125で行なわれるが、CCC早期検出にまで至っていない。この状況で、CA125よりも有用性が認められるFS-C4BPの測定を行い、今後WFA-CPの測定も開始する。今後、この二つのマーカーを用いてEMのCCCへの移行の早期発見の可能性を期待しうる。

研究成果の概要（英文）：In Japan, the number of ovarian clear cell carcinoma (CCC), in which endometriosis (EM) is a precancerous lesion, is increasing in young women. We have identified the FS-C4BP (patented), which discriminates EM and CCC more significantly than CA125 and have developed a measurement kit. We have also initiated studies of developing the measurement kit of WFA reactive Ceruloplasmin (Anal. Chem. PMID: 35044763).

研究分野：婦人科腫瘍/卵巣癌/腫瘍マーカー

キーワード：卵巣癌 子宮内膜症 卵巣内膜症性嚢胞 卵巣明細胞癌 血清腫瘍マーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

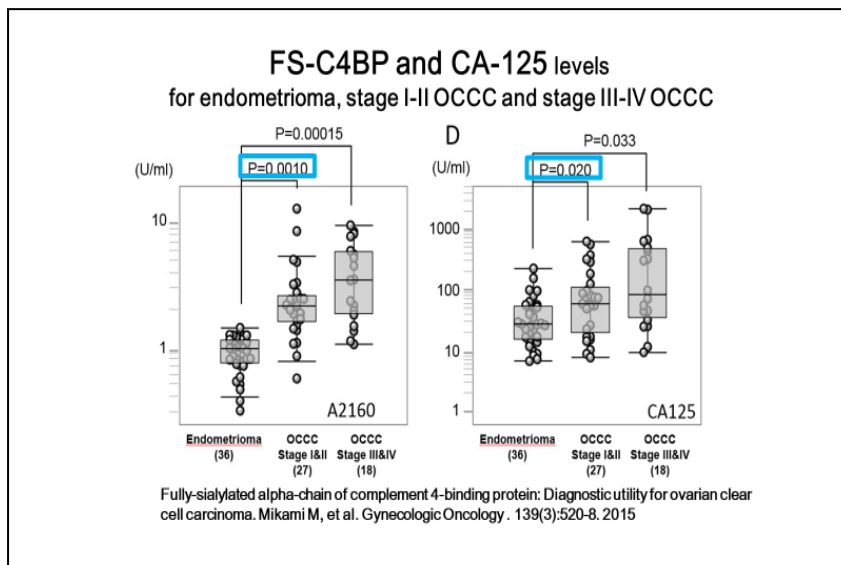


図 1 FS-C4BPとCA125

本邦では若年子宮内膜症患者の増加に伴い、内膜症を前癌病変とする卵巢明細胞癌 (CCC) 例が増加傾向にある。この CCC は、特に若年者に発症することもあり、婦人科腫瘍領域では解決すべき大きな問題となっている。我々の研究室では CSGSA\*を開発し、子宮内膜症性嚢胞と初期 CCC を、従来より汎用されている卵巢癌腫瘍マーカーCA125 よりも有意に判別する FS-C4BP (FS-C4BP:Fully-sialylated alpha-chain of complement 4-binding protein, 特許:PCT/JP2015/068390) を同定した (図 1)。FS-C4BP は C4BP の  $\alpha$  鎖の根部がフルシアル化した糖鎖である糖蛋白質である (図 2)。

\*CSGSA : Comprehensive Serum Glycopeptide Spectra Analysis

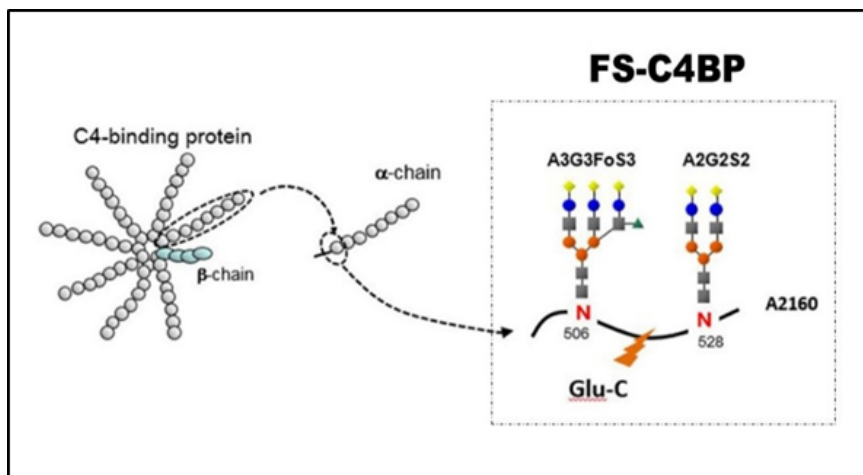


図 2 FS-C4BPの構造

2. 研究の目的

LC/MS を用いて FS-C4BP を検出することは可能であるが、臨床応用するには簡易測定キットの存在が重要である。一方 C4BP は血液中に多量に含まれている糖蛋白質であり、その中から  $\alpha$  鎖の根部がフルシアル化した糖鎖を持つ C4BP を検出するため測定キット開発することは容易ではない。本研究では、その測定キットを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

FS-C4BP は図 2 に示すように C4BP が蛋白分解酵素で消化された糖ペプチドであり、アミノ酸の鎖であるペプチドと糖鎖からなる。FS-C4BP の最大の特徴は糖鎖末端がシアル酸でフルカバーされていることで、フルカバーされていないと内膜症性嚢胞と明細胞腺癌を選別する能力は劣る (図 3)。つまり糖鎖末端がフルカバーされていることを検出することが重要である。FS-C4BP のペプチド部分を認識するモノクローナル抗体と糖鎖末端をフルカバーしているシアル酸

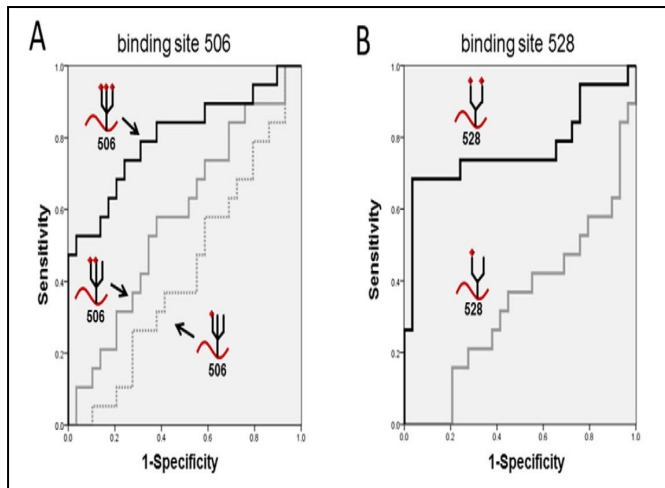


図 3 FS-C4BPの糖鎖末端シアル酸飽和度とAUC (Phaseolus vulgaris

Erythroagglutinin; 末端のシアル酸の多寡で結合性が変化する。つまり末端のシアル酸の多寡で分離ができる) を用いてレクチン電気泳動を行い、FS-C4BP ペプチド鎖を持ち糖鎖末端がフルシアル化されている FS-C4BP を検出する。測定値は FS-C4BP 糖鎖の中で、糖鎖末端がフルシアル化されている FS-C4BP 糖ペプチドの比をもって測定値とする。明細胞癌患者血清と内膜症性嚢胞患者血清を上記レクチン電気泳動で分離できるかを確認する。その上で、多数の臨床検体を用いて臨床的な有用性の検討を行う (子宮内膜症性嚢胞と初期卵巣明細胞癌との判別能の検討) を行う。

#### 4. 研究成果

検体の処理法工夫、糖ペプチドの抗体作成、レクチン電気泳動による測定法の作成は完遂した。同法を用いた測定結果も卵巣明細胞癌例と子宮内膜症性嚢胞例の判別は CA125、HE4、TFPI2 よりも AUC が高い結果を得られた。しかし FS-C4BP 糖ペプチド単離行程のステップが多く時間がかかり、臨床応用にはより簡易化が必要であるという解決が困難な問題点が残った。FS-C4BP は C4BP の  $\alpha$  鎖根部ペプチドへの付加糖鎖の末端がフルシアル化された糖ペプチドである (図 2)。そこで同ペプチド部分で糖鎖末端がすべてシアル化された糖ペプチド A1958 とすべてはシアル化されていない糖ペプチド A1813 を用いて、新たな腫瘍マーカーとして “FS-C4BP index (A1958/A1958+A1813)” を考案した。A2160, A1813, A1958 の違いはペプチドのアミノ酸配列はみな同じであるが、付加された糖鎖構造に違いがあり (A1813 と A1958 は末端以外の糖鎖構造が同じ)、さらに末端糖鎖がフルシアル化されているか (A2160, A1958)、いないか (A1813) が異なる。つまり、C4BP の  $\alpha$  鎖根部ペプチドの付加糖鎖のフルシアル化の%を FS-C4BP index として、LC/MS のそれぞれの糖ペプチドピーク測定値から算出した。卵巣明細胞癌例と子宮内膜症性嚢胞例の判別は CA125, HE4 よりも高い AUC 値を得たが、TFPI2 よりも高い AUC を得ることはできなかった。さらに新規に同定された WFA 反応性セルロプラスミン (Anal Chem. PMID: 35044763) の測定キットについても検討を開始した。

を認識するレクチンでアッセイを行い測定する。FS-C4BP ペプチド鎖両側末端を認識するモノクローナル抗体はすでに作成済である。このペプチドを認識するモノクローナル抗体で FS-C4BP ペプチド鎖をまず検出する。その後、その FS-C4BP ペプチド鎖の中から糖鎖末端がフルシアル酸でカバーされているものを検出する。これが測定系の原理である。具体的には、血清中の糖蛋白を抽出、蛋白分解酵素で分解しカラムを用いて糖ペプチドを濃縮、蛍光標識した FS-C4BP ペプチド鎖両側末端を認識するモノクローナル抗体での FS-C4BP ペプチド鎖を補足、PHA-E4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Machida Hiroko, Matsuo Koji, Tanaka Masayuki, Kitatani Kanae, Takase Akinori, Yokoyama Keiko, Kajiura Hiroshi, Yasaka Miwa, Ikeda Masae, Yoshida Hiroshi, Hirasawa Takeshi, Mikami Mikio	4. 巻 171
2. 論文標題 ROS1 as a possible prognostic biomarker of cervical adenocarcinoma: An exploratory analysis with next-generation sequencing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 59 ~ 66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2023.02.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ikeda M, Yasaka M, Iida T, Shida M, Yoshida H, Hirasawa T, Mikami M.	4. 巻 46 (2)
2. 論文標題 Pyogenic Spondylitis in Multidisciplinary Therapies of Gynecologic Malignancies: Three Cases Reports.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tokai J Exp Clin Med	6. 最初と最後の頁 118-122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ikeda M, Mikami M, Yasaka M, Enomoto T, Kobayashi Y, Nagase S, Yokoyama M, Katabuchi H	4. 巻 32 (5)
2. 論文標題 Association of menopause, aging and treatment procedures with positive margins after therapeutic cervical conization for CIN 3: a retrospective study of 8,856 patients by the Japan Society of Obstetrics and Gynecology.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Gynecol Oncol	6. 最初と最後の頁 e68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2021.32.e68.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Masae, Shida Masako, Shigeta Shogo, Nagase Satoru, Takahashi Fumiaki, Yamagami Wataru, Katabuchi Hidetaka, Yaegashi Nobuo, Aoki Daisuke, Mikami Mikio	4. 巻 32
2. 論文標題 The trend and outcome of postsurgical therapy for high-risk early-stage cervical cancer with lymph node metastasis in Japan: a report from the Japan Society of Gynecologic Oncology (JSGO) guidelines evaluation committee	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 e44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2021.32.e44	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 間邊貴俊、池田仁恵、矢島優希、義澤航平、矢坂美和、町田弘子、吉田浩、平澤猛、石本人士、三上幹男
2. 発表標題 卵巣明細胞癌早期診断におけるバイオマーカーの検証 TPP12,FS-C4BP,CA125,HE4,VA72-4
3. 学会等名 第143回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 矢坂美和、町田弘子、飯田哲士、池田仁恵、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 子宮頸癌における組織浸潤の術前診断についての検討
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 町田弘子、矢坂美和、宮澤麻里子、飯田哲士、池田仁恵、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 子宮頸部腺癌における個別化医療の探索
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池田仁恵、矢坂美和、林優、町田弘子、飯田哲士、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 Wisteria floribunda Agglutinin-Reactive Ceruloplasmin : 早期卵巣癌バイオマーカーの開発
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梶原博、飯田哲士、池田仁恵、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 子宮体癌に発生した悪性血管周囲類上皮細胞腫瘍 ( PEComa ) の一例
3. 学会等名 第64回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢坂美和、飯田哲士、池田仁恵、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 子宮頸癌FIGO2018変更後の予後についての検討
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 義澤航平、矢坂美和、飯田哲士、池田仁恵、吉田浩、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 子宮頸癌における傍大動脈リンパ節郭清の意義は
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayashi I, Momose H, Kashiwagi H, Hayashi M, Machida H, Ikeda M, Ishimoto H, Mikami M
2. 発表標題 The utility of FS-C4BP as a prognostic biomarker for epithelial ovarian cancer.
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ikeda M, Yasaka M, Momose H, Kashiwagi H, Hayashi M, Iida T, Shida M, Yoshida H, Hirasawa T, Ishimoto H, Mikami M
2. 発表標題 WFA-reactive ceruloplasmin : A Novel Glycobiomarker for the Detection of Early Stage Epithelial Ovarian Cancer.
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi M, Momose H, Yasaka M, Kashiwagi H, Machida H, Iida T, Ikeda M, Shida M, Yoshida H, Hirasawa T, Ishimoto H, Mikami M.
2. 発表標題 Comprehensive Serum Glycopeptide Spectra Analysis Combined with Artificial Intelligence ( CSGSA-AI ) as a useful tool for the diagnosis of early-stage epithelial ovarian cancer ( EOC )
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢坂美和、百瀬浩章、飯田哲士、池田仁恵、信田政子、吉田浩、石本人士、三上幹男
2. 発表標題 子宮体癌において腹水細胞診は予後因子になりうるか
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田哲士、牧野田佳、岡宮稜子、百瀬浩章、矢坂美和、池田仁恵、信田政子、吉田浩、平澤猛、三上幹男、石本人士
2. 発表標題 進行卵巣癌に対してCARTを施行した5例に関する臨床的検討
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田哲士、梶原博、萩原範子、池田仁恵、信田政子、吉田浩、平澤猛、村松俊成、中村直哉、三上幹男
2. 発表標題 子宮体部癌肉腫における子宮内膜細胞診の役割についての考案
3. 学会等名 第62日本臨床細胞学会春期大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 百瀬浩晃、吉田浩、矢坂美和、飯田哲士、池田仁恵、平澤猛、三上幹男
2. 発表標題 肥満症例における傍大動脈リンパ節郭清を含めた鏡視下子宮体癌根治術
3. 学会等名 第44回日本産婦人科手術学会
4. 発表年 2021年

〔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
研究分担者	三上 幹男  (Mikami Mikio)  (30190606)	東海大学・医学部・教授   (32644)	

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
---------	---------