

【背景および目的】 卵巣癌は婦人科癌の中でも初期は無症候性であり、比較的進行期になってから見つかることも多い。一般的に卵巣癌の発見には、血清 CA125 値が用いられているが、卵巣癌に対する感受性と特異性に関して疑問視される部分がある。特に、明細胞癌に関しては、約半数の症例で血清 CA125 の上昇を示さないとされている。一方で、内膜症、腺筋症のような良性の疾患や骨盤内の炎症でも血清 CA125 の上昇を示す症例もあり、明細胞癌の特異的なバイオマーカーは未だ明らかにされていない。表層上皮性卵巣癌は、4つの主要な病理組織学的サブタイプ（明細胞癌、類内膜癌、粘液性癌、漿液性癌）に分けられ、前駆病変、遺伝子変異、化学療法の感受性、進展度などに関して違いが認められている。しかし、どのサブタイプ（組織型）に対してもほぼ同様の治療が行われているのが現状である。中でも明細胞癌は他の組織型に比して化学療法に対する耐性が高く、早期であっても予後不良となる。近年、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織を用いた質量分析法によるプロテオミクス解析の報告が多くなされている。

今回我々は、卵巣癌に有用なバイオマーカー候補の探索を目的として、各組織型の卵巣癌 FFPE 組織における蛋白質発現パターンをショットガンプロテオミクスにて解析することで、明細胞癌に対する有用なバイオマーカー候補の検討を行った。

【方法】 2005年から2012年までに日本医大付属病院と日本医大北総病院で手術を受けた卵巣癌96症例を用い、明細胞腺癌（32症例）、類内膜腺癌（13症例）、粘液性腺癌（19症例）、漿液性腺癌（32症例）の各組織型のFFPE組織から、Microdissection法にて、癌部を採取、蛋白質を抽出し、トリプシン処理後、各組織型における蛋白質発現量を質量分析法にて網羅的に解析した。蛋白質の発現量はスペクトラル・カウント法にて評価し、明細胞腺癌とその他の組織型で比較検討した。さらに免疫組織化学的手法や quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR)法を用いて各組織型における蛋白質とmRNAの発現レベルを比較検討し、臨床病理学的解析も行った。また、ヒト卵巣癌細胞株、JHOC-5、JHOC-9（明細胞腺癌由来）、JHOM-1（粘液性腺癌由来）、JHOS-2（漿液性腺癌由来）を用いて、各細胞株における蛋白質とmRNAの発現レベルを解析し、さらに、各細胞株の培養上清中の蛋白発現も解析した。

【結果】 それぞれ漿液性腺癌から178種類、類内膜腺癌から179種類、粘液性腺癌から141種類、明細胞腺癌から197種類の蛋白質を同定した。スペクトラル・カウント法から明細胞腺癌において発現比(Rsc)と相対発現量(NSAF)が高値であったAnnexin A4とCystatin Bに着目した。FFPE組織において明細胞腺癌での蛋白質とmRNAの発現レベルが共に他の組織型に比べて統計学的に高値を示した。さらに卵巣癌細胞株においても同様に、明細胞癌でmRNAの高発現を認めた。明細胞腺癌由来のJHOC-5とJHOC-9において、Cystatin Bは細胞抽出液と細胞上清の両方で高発現を認め、Annexin A4は細胞抽出液でのみ発現が認められた。

【考察】Cystatin B はシスタチンスーパーファミリーに属し、結合織や基底膜の分解に関わるリソソームシステインプロテアーゼの内因性インヒビターとして知られている。大腸癌、肺癌、胃癌などでは、Cystatin B の分解制御の異常が、腫瘍の転移、進展に関わる事が報告されている。Annexin A4 はカルシウム依存性リン脂質結合タンパク質ファミリーに属し、細胞膜透過性、癌の薬剤耐性、細胞内・外分泌、線維化に関連すると報告されている。

本研究では、卵巣癌の明細胞腺癌では他の組織型に比べ Cystatin B と Annexin A4 が高発現していることが確認され、組織型により発現が異なることが明らかとなった。また、Cystatin B は分泌型蛋白質、Annexin A4 は細胞膜-細胞質蛋白質として明細胞腺癌の有効なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。また、これらの蛋白質の発現異常は、腫瘍の転移、進展や癌の薬剤耐性、線維化に関連することから、卵巣癌における明細胞腺癌の臨床病理学的悪性度と関係する可能性も考えられた。特に、Cystatin B は、分泌型蛋白質であることから、今後、血清などを用いた明細胞腺癌の診断マーカーとしての有用性も考えられる。