

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域 泌尿器腫瘍学教育研究分野 氏名 及川真亮
(論文題目)	
Significance of serum <i>N</i> -glycan profiling as a diagnostic biomarker in urothelial carcinoma	
(血清 <i>N</i> -glycan profiling の尿路上皮癌診断バイオマーカーとしての有用性)	
【背景】	
<p>尿路上皮癌の主要な症状は血尿であるが、顕微鏡的血尿患者すべてに精密検査を施行するのは効率が悪く、また精密検査を用いても微小な腫瘍を診断するには限界がある。尿路上皮癌の非侵襲的診断法として尿細胞診が頻繁に行われるが、感度が低いという大きな問題点を有する。膀胱癌の最終診断には膀胱鏡検査を必要とするが、尿道内操作を伴う侵襲的検査である。そのため、尿細胞診を凌駕する、より高感度で非侵襲的な検査が求められるが、尿路上皮癌に特異的な血清腫瘍マーカーは存在しない。</p>	
<p>糖鎖は細胞間での情報伝達など重要な生命維持機能を担っており、細胞表面や血清中に存在する糖鎖の構造は、細胞の癌化に伴って大きく変化することが知られている。我々の研究グループでは、前立腺癌や腎癌における血清 <i>N</i>結合型糖鎖(<i>N</i>-glycan)の変化が診断マーカーとして有用であることを報告してきたが、尿路上皮癌における血清 <i>N</i>-glycan の意義に関してはほとんど検討されていない。そこで、本研究では尿路上皮癌を対象に網羅的質量解析により血清 <i>N</i>-glycan の profiling を行い、診断マーカーとしての有用性に関して検討を加えた。</p>	
【対象と方法】	
<p>2007年3月から2015年9月まで弘前大学医学部附属病院およびつがる総合病院において、尿路上皮癌と診断された278例(膀胱癌230例、上部尿路上皮癌48例)を対象とした。正常コントロール群として健常人血清サンプル358例を使用した。Propensity score matching を行い年齢、性別を調整し、最終的に尿路上皮癌患者212例と健常コントロール群212例に関して検討を行った。血清10μLから全自動糖鎖解析前処理装置 SweetBlot を用いた Glycoblotting 法により血清 <i>N</i>-glycan を回収した。SweetBlot にて前処理を施したサンプルは Bruker Daltonics 社の MALDI-TOF MS で質量解析を行った。</p>	
【結果】	
<p>尿路上皮癌212例中、177例が膀胱癌、35例が上部尿路上皮癌であった。発現強度の高い36種の <i>N</i>-glycan を同定した。この36糖鎖を用いて ROC 曲線を作成し、健常コントロール群との比較により尿路上皮癌診断に関連すると考えられる糖鎖(AUC0.7以上)を6つ選択した。選択された6つの糖鎖に対し、それぞれの ROC 曲線より糖鎖発現強度のカットオフ値を算出した。カットオフ値より陽性糖鎖数をスコア化(<i>N</i>-glycan スコア:0~5)すると、<i>N</i>-glycan スコアの AUC は 0.95($P < 0.001$)、陽性糖鎖スコア > 2.5 とすると、感度 93%、特異度 81%と高い診断精度であった。</p>	
【考察】	
<p>これまで腎癌、前立腺癌、膵臓癌、肝細胞癌などにおいて血清 <i>N</i>-glycan との関連性が報告されているが、本研究は尿路上皮癌における血清 <i>N</i>-glycan の有効性を、多数症例を用いて示した唯一の報告である。更なる検討が必要なのは言うまでもない</p>	

が、この研究成果により非侵襲的な手法で尿路上皮癌の診断法の確立に貢献できる可能性がある。特に、上部尿路上皮癌（腎盂尿管に発生する尿路上皮癌）は、病状が進行しても血尿等の症状が出にくいため早期診断が困難で、癌が進行して初めて診断される特徴がある。そのため治療成績も進行癌では著しく不良で早期診断法が強く求められる癌種である。我々が開発した *N-glycan* スコアを用いた診断法は診断精度が高いため、本法の臨床的有用性は高いと考えられる。現在、検診で顕微鏡的血尿を検出された患者を対象とした *validation study* を計画中である。

N-glycan スコアは診断には有益であるが、癌の病期や進行度との関連については今後の課題である。また、血清 *N-glycan* の測定は癌によって起こされた結果を見ているにすぎず、なぜこのような現象が起きるのかは不明である。癌に伴う糖鎖変化の原因として、腫瘍から産生される可能性、腫瘍に対する応答として産生される可能性が考えられる。また、血清糖鎖は *free N-glycan* として存在するものと、免疫グロブリン等のタンパク質に付加されたものが存在する。残念ながら、本研究手法ではそれらを区別できないため、血清 *N-glycan* の *carrier protein* や起源については更なる検討が必要である。

【結論】

本研究の限界としては、小規模な後方視的臨床研究である点、対象症例の選択バイアスなどが上げられる。しかし本研究により、これまで有効なバイオマーカーが存在しなかった尿路上皮癌における血清 *N-glycan profiling* の有用性が明らかになった。今後、臨床応用を目指して検討を続けたい。