

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	機能再建・再生科学領域 泌尿器移植再生医学教育研究分野 4 年 氏名 田中 壽和
(論文題目) Aberrant <i>N</i> -glycosylation profile of serum immunoglobulins is a diagnostic biomarker of urothelial carcinomas (血清イムノグロブリンの糖鎖変異プロファイルによる尿路上皮癌の診断)	
<p>(内容の要旨)</p> <p>背景：尿路上皮癌 (Urothelial carcinoma, UC) は米国において男性の部位別がん死亡率の第 8 位である。その大部分は膀胱癌であるが、5–10%は上部尿路上皮癌(Upper tract UC, UTUC)と呼ばれ尿管や腎盂に由来し、膀胱癌(UC of the bladder, UCB)より予後不良である。診断は血尿の有無、尿細胞診と膀胱鏡検査が Gold standard であるが、偽陽性や小径腫瘍の見逃しが問題である。特に上部尿路上皮癌では、診断時にすでに浸潤している例が 60%を占めることが報告されている。検出特異度を改善するため、尿中バイオマーカーとして bladder tumor antigen (BTA), nuclear matrix protein number 22 (NMP22)がしばしば利用されるが、特異性が低く、臨床で広く使用される状況には至っていない。このことから尿路上皮癌の診断においてはより低侵襲で特異度が高い診断マーカーの開発が必要である。今回我々は、血清イムノグロブリンに修飾される <i>N</i>-glycan の癌性変異プロファイルが UC の診断に有用であるか否かについて検討した。</p> <p>対象と方法：2009 年から 2016 年までに弘前大学医学部附属病院にて膀胱癌 (UCB, 177 例)、上部尿路上皮癌 (UTUC, 60 例) および前立腺癌 (PC, 96 例) と診断された患者の血清、および岩木町住民検診より採取された健常人 (339 例) の血清のイムノグロブリン分画を精製し、glycoblotting 法と質量分析法を組み合わせた <i>N</i>-glycomics により、血清イムノグロブリン由来の <i>N</i>-glycan プロファイルを同定した。判別分析により UC 検出に関連する 5 種の <i>N</i>-glycan を選択した。選択した 5 種の <i>N</i>-glycan 濃度と判別分析により得られた判別関数を乗算し、積算したスコアを diagnostic <i>N</i>-glycan score (dNGScore) とした。dNGScore による尿路上皮癌の診断に関する ROC 解析から UC の診断精度を既存検査 (細胞診、血尿の有無) と比較し、その有用性を検証した。</p> <p>結果：<i>N</i>-glycomics で同定された 32 種の血清イムノグロブリン由来 <i>N</i>-glycan のうち、5 種の <i>N</i>-glycan (2 分岐型 <i>m/z</i> 1606、1769、2074 および bisect 型 <i>m/z</i> 2118、2423) が UC の検出に関連する糖鎖として選択された。健常検体、UC および PC 検体のイムノグロブリン分画における 5 種の <i>N</i>-glycan の血中濃度と合成経路の関係から、特に proinflammatory 糖鎖である asialo bisecting <i>N</i>-glycan (<i>m/z</i> 2118) および (<i>m/z</i> 2118) にシアル酸が付加した monosialyl bisecting <i>N</i>-glycan (<i>m/z</i> 2423)糖鎖修飾血清イムノグロブリンが UCB 患者で蓄積することが明らかとなった。さらに UTUC では、asialo bisecting <i>N</i>-glycan (<i>m/z</i> 2118) が顕著に蓄積していたことから、UCB と UTUC のイムノグロブリン <i>N</i>-glycan プロファイルが少し異なることが明らかとなった。dNGScore の UC (UCB および UTUC) 検出に関する AUC は 0.969 であり、尿細胞診 (AUC 0.707) や血尿の有無 (AUC 0.892) を凌駕する診断精度であった。また dNGscore は、血尿や尿細胞診陰性症例における UC の検出も可能であった。</p>	

考察：我々の研究グループでは、これまでに腎細胞癌、前立腺癌、胚細胞性腫瘍、膀胱癌などにおいて、血清 *N*-glycan プロファイルが疾患の診断、予後予測に有用であることが報告してきた。しかし、上部尿路上皮癌を含めた尿路上皮癌に対する血清 *N*-glycan の有用性について検討した報告は少なく、さらに癌性変異糖鎖のキャリアタンパクについては未だに同定されていない。本研究では先行研究の結果を踏まえ、血清での主要な糖タンパクであるイムノグロブリンに焦点を当て解析を行った。

UC 検出に関連する 5 種の *N*-glycan の各群における血中濃度と合成経路から UCB と UTUC のイムノグロブリン *N*-glycan プロファイルが少し異なることが明らかとなり、UCB と UTUC の腫瘍微小環境や発生学的な腫瘍起源の違いを反映していると考えられた。また UCB および UTUC とともに proinflammatory 糖鎖である asialo bisecting *N*-glycan が蓄積傾向にあったことから、腫瘍による炎症性変化を反映している可能性が示唆された。dNGScore により、UC 群と健常群を感度 92.8%、特異度 97.2% で区別し得た。

また本研究結果では dNGScore レベルは尿細胞診の分類、血尿の有無とは関連しておらず、尿細胞診陰性症例や血尿を認めない症例であっても高い癌検出能力を持つ可能性が示された。

本研究の弱点として、サンプルサイズが小さい点、後ろ向き研究である点、選択バイアス、独立した検証群が欠如している点などが挙げられる。また本研究には尿路結石、尿路感染症、前立腺炎などの良性疾患が含まれていない。術後再発を検出するためのフォローアップにおける有用性も現段階では不明である。そのため術後フォローアップにおける大規模な前向き研究を含めたさらなる検証研究が必要である。

以上のような限界がある一方で、本研究は血清イムノグロブリンに修飾される *N*-glycan の癌性変異プロファイルが、尿路上皮癌の診断において既存検査（尿細胞診、血尿の有無）を超える診断精度を持つ可能性を示した。

結語：*N*-glycomics から UC 患者の血清中には、UC による炎症に伴って asialo bisecting *N*-glycan 修飾血清イムノグロブリンが蓄積し、これらの分子が UC の診断に有用である可能性が示唆された。（1851 字）