

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 小玉 寛健
<p>(論文題目)</p> <p><i>N</i>-glycan signature of serum immunoglobulins as a diagnostic biomarker of urothelial carcinomas</p> <p>(イムノグロブリン <i>N</i>型糖鎖合成経路プロファイルによる尿路上皮癌の診断法)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>背景:</p> <p>尿路上皮癌(Urothelial carcinoma, UC)の大部分は膀胱に発生するが、5-10%は腎盂・尿管に発生し上部尿路上皮癌(Upper Tract UC, UTUC)と呼ばれ、膀胱に発生する膀胱癌(Bladder carcinoma, BCa)より予後不良である。診断は肉眼的血尿の有無や尿細胞診、膀胱鏡・尿管鏡検査が中心となるが、偽陽性や小径腫瘍の見逃しが問題となるため、低侵襲で特異度が高い早期診断マーカーの開発が必要である。</p> <p>弘前大学附属病院泌尿器科では、先行研究において血清イムノグロブリン<i>N</i>型糖鎖構造の網羅的質量解析により、診断バイオマーカーとして有用なイムノグロブリンの糖鎖変異を同定したが、汎用性に欠ける質量分析法を使用するため、臨床応用は困難であった。近年、キャピラリー電気泳動型<i>N</i>型糖鎖解析装置(Gly-Q)が実用化され、短時間で網羅的に糖鎖構造を解析することが可能となった。</p> <p>本研究では臨床応用を目指し、Gly-Qを用いてイムノグロブリンの<i>N</i>型糖鎖合成経路プロファイルを測定し、UCの診断に有用であるかを検討した。</p> <p>対象と方法:</p> <p>2007年から2020年までに弘前大学附属病院及び関連病院においてUTUC(136例)、BCa(208例)、及び尿路感染症(32例)と診断された患者、岩木町住民検診の健常者(105例)を対象とした。血清サンプルからイムノグロブリン分画を精製し、Gly-Qを用いて25種の<i>N</i>型糖鎖濃度を測定した。<i>N</i>型糖鎖濃度を測定した全481症例に関してランダム変数を用いて、トレーニング集団とバリデーション集団の2集団に分けた。</p> <p>トレーニング集団において疾患の有無を目的変数、25種の<i>N</i>型糖鎖濃度を説明変数とした判別分析を実施し、各疾患を鑑別するスコア(UTUCスコア、BCaスコア)を算出し、診断精度をROC解析で検討した。また、肉眼的血尿所見にUTUCあるいは、BCaスコアを追加した際の臨床的有用性をDecision curve analyses(DCA)で評価した。最適な組み合わせを選択してnomogramを作成し、calibration plotでその適合度を検証した。</p> <p>バリデーション集団においてnomogramの診断精度と有用性をROC解析、DCAで評価した。</p> <p>結果:</p> <p>UTUC鑑別に特徴的な糖鎖合成経路は、ジシアリル化あるいは、モノシアリル化2分岐<i>N</i>型糖鎖であり、BCa鑑別においてはモノシアリル化バイセクティングGlcNAc<i>N</i>型糖鎖、ガラクトシル化バイセクティングGlcNAc<i>N</i>型糖鎖および、ガラクトシル化2分岐<i>N</i>型糖鎖であった。</p> <p>トレーニング集団において判別分析から算出されたUTUCスコア、BCaスコアのAUCはそれぞれ0.86、0.97であり、肉眼的血尿所見(0.81、0.88)、尿細胞診所見(0.76、0.65)より有意に優れていた。UC患者のスコアは、腫瘍深達度や尿細胞診クラス分類、肉眼的血尿の有無に関わらず有意差を認めなかった。またDCAの結果から、肉眼的血尿所見にUTUCスコアとBCa</p>	

スコア両方を加えることで、肉眼的血尿単独と比較して追加検査必要性を 10 倍以上減少させることが示された。さらに、肉眼的血尿所見と両スコアから作成した nomogram の AUC は、0.94 と高く、calibration plot においても適合度が高かった(Pseudo R²: 0.566, Hosmer and Lemeshow p = 0.096)。

バリデーション集団においても、UC 患者のスコアは腫瘍深達度、尿細胞診所見、肉眼的血尿に有意差は認められなかった。肉眼的血尿所見と両スコアから作成した nomogram の AUC は 0.89 と高値であり、DCA でも肉眼的血尿所見単独と比較して追加検査必要性を約 10 倍減少させることが示された。

考察:

本研究では、質量分析と比較して短時間、低コストであり、網羅的に解析可能なキャピラリー電気泳動 *N* 型糖鎖解析装置(Gly-Q)を用いてイムノグロブリンの *N* 型糖鎖合成経路プロファイル測定し、UC 診断スコアを確立した。

N 型糖鎖濃度比較から、UTUC、BCa に特異的な *N* 型糖鎖変異を検出することはできなかったが、判別分析結果から、合成経路全体を見ると、UTUC と BCa 鑑別に特徴的な糖鎖合成経路は、それぞれ異なることが明らかとなった。

また、腫瘍深達度や尿細胞診結果、肉眼的血尿の有無に関わらず UC の検出可能であったことから、画像検出困難な症例や、肉眼的血尿があっても尿細胞診陰性となる症例などで早期発見できる可能性が示唆された。

DCA から、肉眼的血尿所見に各スコアを加えた nomogram は高い UC 鑑別精度を示したことから、早期診断に有用である可能性が示された。

Limitation 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、選択バイアスなどの点が挙げられる。また、本研究には併発症例や、尿路感染症の以外の良性疾患が含まれていないため、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、本研究はイムノグロブリン *N* 型糖鎖合成経路プロファイルが既存検査を超える診断精度を持つ可能性を示した点が本研究の意義である。

本法は従来の質量解析法に比較して短時間、低コストでのアッセイが可能であり、質量解析で問題となる測定機器間のバリエーションも回避できる。臨床応用における質量分析法の最大の弱点を克服する、有望なアッセイ法として臨床応用が期待される。

結語:

イムノグロブリン *N* 型糖鎖合成経路プロファイルによる診断スコアは一度の測定で、尿路上皮癌を迅速に鑑別可能なバイオマーカーとして有用であることが示唆された。

(2000/2000字)