

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

名波竜規より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2694 号

学位申請者 : 名 波 竜 規

学位審査論文 : Clinical significance of serum autoantibodies against Ras-like GTPases, Ra1A, in patients with esophageal squamous cell carcinoma

(食道扁平上皮癌患者における血清抗 Ras-like GTPases (Ra1A) 抗体の臨床的意義)

著 者 : Tatsuki Nanami, Hideaki Shimada, Satoshi Yajima, Yoko Oshima, Kazuyuki Matsushita, Fumio Nomura, Matsuo Nagata, Masatoshi Tagawa, Seiko Otsuka, Akiko Kuwajima, Hironori Kaneko

公表誌 : Esophagus (DOI 10.1007/s10388-015-0510-8)

論文内容の要旨 :

【背景・目的】 Ras に近い GTPase と言われている Ra1A と Ra1B は、低分子量 GTPase の Ras スーパーファミリーに含まれている。これらの GTPase は、発癌性の Ras により腫瘍形成の際に誘起される。ヒトの癌細胞にはしばしば Ras の変異が含まれるため、Ras like GTPase は新規の治療標的として注目されている。Ra1 は癌細胞において様々な細胞機能に関与し、細胞移動、浸潤、転移などに関与しているといわれている。近年、腫瘍抗原に対する自己抗体は食道癌の潜在的なバイオマーカーとして報告されている。血清抗 Ra1A 抗体は肝細胞癌や食道癌で検出されており、本研究では食道扁平上皮癌 (以下、食道 SCC) 患者と健常者の抗 Ra1A 抗体価を測定し、臨床病理学的特性を分析し、従来の血清マーカーとの陽性率を比較した。

【対象・方法】 対象は治療前の食道 SCC 患者 171 例、健常者対照群 73 例。血清抗 Ra1A 抗体のために開発された ELISA システムを用いて分析した。東邦大学にて外科的切除された食道 SCC 患者 25 例の検体を用い、癌部と健常部粘膜部の組織アレイを作成した。マウスモノクローナル抗ヒト Ra1A 抗体を用いて免疫染色を行った。

【結果】 抗 Ra1A 抗体の吸光度は、対照群に比べ食道癌の群で有意に高値であった。吸光度 0.255 のカットオフ値では、食道癌患者の陽性率は 18%、対照群では 4%であった。ステージ別ではステージ I 9.7%、ステージ II 13%、ステージ III 16%、ステージ IV 30%であった。性別、年齢、深達度、リンパ管転移に関しては血清 Ra1A 抗体陽性症例と陰性症例で有意差はなかった。

た。TNM のステージは血清 Ra1A 抗体陽性例の方が陰性例に比べ、有意に進行していた。血清 Ra1A 抗体の全体的な陽性率は、CYFRA21-1 (21%) および CEA (24%) と同等で、p53 抗体 (31%) や SCC (37%) よりも低かった。血清 Ra1A 抗体は、p53 抗体陰性症例で陽性率が高く、逆に p53 抗体陽性症例で陽性率が低い傾向があった。5 種類の腫瘍マーカーの組み合わせで最も陽性率が高値であったものは、血清 Ra1A 抗体と、p53 抗体の組み合わせであった (40%)。

正常組織と比較して癌組織では Ra1A 発現は強陽性だった。25 検体中 19 検体は細胞膜には強く、細胞質には比較的弱く染色性を認めた。残りの 6 検体は細胞膜、細胞質ともに強陽性であった。細胞膜、細胞質ともに強陽性を示したのは、血清抗体陽性の 5 症例中 3 症例と、血清抗体陰性の 20 例中、3 例であった。Ra1A が細胞膜、細胞質に表現される腫瘍がより血清 Ra1A 抗体を誘導する可能性があった。

【考察】 抗 Ra1A 抗体の陽性率は腫瘍のステージとともに増加した。全体の陽性率やステージ I での陽性率は他の腫瘍マーカーに比べ低値であるが、マーカー同士の関連はないため、組み合わせアッセイではステージ I でも陽性率をあげることが可能である。血清抗 Ra1A 抗体は抗 P53 抗体との関連を指摘されており、血清 Ra1A 抗体陽性例は抗 P53 抗体が陰性となる傾向が報告された。Ra1A の低下は P53 の安定化や活性化を生じると考えられている。血清 Ra1A は他のマーカーには依存しないため単一のアッセイよりも組み合わせアッセイの方が有用性が高い可能性がある。

食道 SCC における Ra1A の免疫染色パターンは非小細胞肺癌に類似し、Ra1A が細胞膜に強く発現する場合は全生存期間が短縮する方向へ推移したと報告された。検体数は少ないものの、われわれは細胞膜と細胞質の両方に Ra1A を発現する腫瘍は、より血清 Ra1A 抗体を誘導することを発見した。

Ral GTPase をターゲットにした分子標的治療は Ral 依存性の癌腫の治療戦略として期待されている。血清 Ra1A 抗体と免疫反応との関連性は今後の分子標的治療の新しいバイオマーカーとなる可能性がある。Ra1A は悪性を示唆する臨床病理学的特性や食道 SCC の進行に関連しており、血清 Ra1A 抗体は再発予測や予後に関わるバイオマーカーである可能性が報告された。

食道 SCC 患者では血清 Ra1A 抗体は、P53 抗体を除いて、他の腫瘍マーカーとの関連は乏しいとの結論だった。よって血清 Ra1A 抗体は食道 SCC 患者において、他の腫瘍マーカーとの組み合わせが有用と思われる。他の腫瘍マーカーと組み合わせた血清 Ra1A 抗体の感度、特異度を評価する為に、今後、多施設共同研究が必要である。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2694 号	氏 名	名 波 竜 規
学位審査担当者	主 査	前 谷 容
	副 査	瓜 田 純 久
	副 査	岡 住 慎 一
	副 査	片 田 夏 也
	副 査	三 上 哲 夫
<p>学位審査論文の審査結果の要旨：</p> <p>Ras superfamily に含まれる Ra1A に対する自己抗体 (抗 Ra1A 抗体) について、食道扁平上皮癌 (SCC) における臨床的有用性を検討した研究である。食道 SCC 患者 171 人と健常者 73 人の血清を用い、ELISA により抗 Ra1A 抗体を測定し、従来の血清マーカーと陽性率を比較した。また食道 SCC 患者 25 例の切除検体における癌部と健常部の組織中の Ra1A 発現を検討し、血清抗 Ra1A 抗体の結果との関連について評価した。抗 Ra1A 抗体陽性率は食道 SCC 患者の陽性率は 18% であり、CYFRA21-1 (21%) および CEA (24%) と同等で、p53 抗体 (31%) や SCC (37%) よりも低く、健常者で 4% であった。ステージが高くなるにつれて陽性率が高くなる傾向にあり、抗 Ra1A 抗体陽性と高ステージは関連が認められた。血清抗 Ra1A 抗体は、p53 抗体陰性症例で陽性率が高い傾向があった (<math>p=0.052</math>)。5 種類の腫瘍マーカーの組み合わせの中で、血清抗 Ra1A 抗体と p53 抗体の組み合わせが最も陽性率が高かった (40%)。正常組織と比較して癌組織では Ra1A 発現は強陽性だった。25 例中 19 例では細胞膜は強陽性だが、細胞質は弱陽性であり、残りの 6 検体は細胞膜、細胞質ともに強陽性であった。この両者が強陽性を示した 6 例のうち、抗 Ra1A 抗体陽性、陰性はそれぞれ 3 例で、抗 Ra1A 抗体陽性群でより高率に認められる傾向であった (60% (3/5) vs. 15% (3/20), <math>p=0.07</math>)。食道 SCC 患者では血清抗 Ra1A 抗体は、p53 抗体以外の他の腫瘍マーカーとの関連は乏しく、血清抗 Ra1A 抗体は食道 SCC 患者において、他の腫瘍マーカーとの組み合わせが有用である可能性を示した。</p> <p>公開審査では論文内容のプレゼンテーションに続き、審査者と申請者で質疑応答が行われた。審査者からは、p53 抗体と抗 Ra1A 抗体で相反する結果となっているが、各マーカーの陽性者の患者背景に差はみられなかったか、またこれら二つのマーカーの陽性率が相反する理由は何か、血清抗 Ra1A 抗体陽性率には進行度と共に上昇したとあるが、抗 Ra1A 抗体の定量的評価でも相関がみられるのか、Ra1A がわずかとはいえ正常組織内でも染色されたのはなぜか、等の質問が寄せられた。申請者はこれらの質問に対して的確に回答した。本研究により、血清抗 Ra1A 抗体は食道 SCC 患者に有用な血清マーカーであることを示した。特に、既存の血清マーカーと関連しないという新知見を示し、抗 Ra1A 抗体は食道 SCC 患者において他のマーカーとの組み合わせによって陽性率の上乗せ効果が期待できる可能性について明らかとした。臨床的にも極めて意義のある研究であり、審査者の全会一致で学位授与に値する論文であることを認めた。</p>		