

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

大嶋陽幸より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2690 号

学位申請者 : おお しま よう こう
大 嶋 陽 幸

学位審査論文 : NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers

(抗 NY-ESO-1 抗体は食道癌の特異的腫瘍マーカーである : 1969 例の各癌種におけるスクリーニングより)

著 者 : Yoko Oshima, Hideaki Shimada, Satoshi Yajima, Tatsuki Nanami, Kazuyuki Matsushita, Fumio Nomura, Osamu Kainuma, Nobuhiro Takiguchi, Hiroaki Soda, Takeshi Ueda, Toshihiko Iizasa, Naoto Yamamoto, Hiroshi Yamamoto, Matsuo Nagata, Sana Yokoi, Masatoshi Tagawa, Seiko Ohtsuka, Akiko Kuwajima, Akihiro Murakami, Hironori Kaneko

公 表 誌 : Journal of Gastroenterology (DOI 10.1007/s00535-015-1078-8)

論文内容の要旨 :

【背景と目的】CEA、SCC 抗原、血清 p53 抗体の3種の血清腫瘍マーカーは食道癌の体外診断薬として保険収載されている。血清 p53 抗体は比較的早期の食道癌においても 20%前後の陽性率であるが CEA や SCC 抗原ではほとんど早期癌診断は不可能である。p53 抗体を含めた IgG 抗体は早期癌の段階より血液中に癌抗原特異抗体として誘導されることから p53 抗体以外の自己抗体で食道癌の診断に有用な腫瘍マーカーの開発が期待されている。NY-ESO-1 は早期食道癌において血清抗体を誘導する食道扁平上皮癌の特異抗原としてクローニングされた。最近では、肺癌、乳癌、肝癌、胃癌、前立腺癌、大腸癌など他のいくつかの癌患者において血清抗 NY-ESO-1 抗体が出現すると報告されている。しかし、これらの報告のほとんどは一つの癌種の被験者数が少なく、同時に複数の癌種における陽性率を比較したものはほとんどない。本研究では、合計 1969 例の多種類の癌患者における血清抗-NY-ESO-1 抗体を解析して、NY-ESO-1 抗体が食道扁平上皮癌患者において特異的な血清抗体であるかどうかを評価することを目的とした。

【対象】対象は治療開始前の 1969 例の固形癌患者である。内訳は食道癌 176 例、胃癌 348 例、大腸がん 289 例、肝臓癌 114 例、

前立腺癌 372 例、乳癌 386 例、肺癌 284 例、健常者 74 例であった。治療開始前の血清サンプルマイナス 80 度で保存した。

【方法】 <NY-ESO-1 蛋白の作製>

全長ヒト NY-ESO-1 の cDNA を PCR 法にて増幅させ、増幅した遺伝子を pGEX-4T-1 プラスミドの BamH I-Xho I 部位に挿入した。このプラスミドを大腸菌 BL21-CodonPlus (DE3)-RIL に取り込ませ形質転換し、組み換え NY-ESO-1 蛋白を発現させた。組み換え NY-ESO-1 蛋白は不溶のためゲル切り精製を行った。

<ELISA 測定系の確立>

1969 例の患者と 74 例の健常者の血清は ELISA によって分析した。まず、精製した組み換え蛋白を ELISA プレートに固相化させた。すべてのヒト血清は 101 倍に希釈し NY-ESO-1 蛋白が固相化されたウェルにそれぞれ注入し、室温で 1 時間反応させた。洗浄バッファーで 4 回洗浄したのち、2 次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 添加して、室温で 1 時間反応させた。洗浄バッファーで 4 回洗浄したのち、発色基質を添加し、室温で 30 分反応させた。反応停止液を加え酵素反応を止め、吸光度計にて吸光度を測定した。

【結果】 健常者の血清抗 NY-ESO-1 抗体の吸光度の平均と標準偏差は 0.012 ± 0.051 であった。食道癌患者の吸光度 (0.625 ± 1.260) は健常者の吸光度よりも有意に高かった ($P < 0.001$)。他の癌種の吸光度は、肺癌 0.232、肝臓癌 0.053、前立腺癌 0.229、胃癌 0.156、大腸癌 0.122、乳癌 0.119 であった。吸光度のカットオフ値を、健常者の血清抗 NY-ESO-1 抗体値の平均値に標準偏差の 3 倍を加えた値の 0.165 とし、この値より高い場合を陽性とした。食道扁平上皮癌患者における血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は 32% であり、すべての癌種の中で有意に高かった。肺癌、肝癌、胃癌、前立腺癌の陽性率は 10% 以上であったが、大腸癌、乳癌の陽性率は 10% 未満であった。食道扁平上皮癌患者において血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は、SCC-Ag の陽性率 (25 から 40% 前後) 同等であった。健常者では、血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は 0% であり、偽陽性が低いことから特異性が高いと思われた。

【考察】 既存の食道癌の腫瘍マーカーは次のような性質を持っている。SCC 抗原は通常、肺癌患者において高値し、CEA は喫煙習慣のある患者で偽陽性となり、大腸癌患者においては陽性率が高値となる。そして、血清 p53 抗体も大腸癌と乳癌で高い陽性率を示している。したがって、血清抗 NY-ESO-1 抗体は食道扁平上皮癌の血清腫瘍マーカーの第一選択となると考えられた。現在、進行食道癌患者に対する NY-ESO-1 ワクチンの有効性が臨床試験で検討されている。腫瘍検体における NY-ESO-1 抗原発現はワクチンの有効性の予測因子である。今後、血清抗 NY-ESO-1 抗体はワクチン治療における新たなバイオマーカーとなる可能性があると考えられる。今後は、血清抗 NY-ESO-1 抗体の感度と特異度を、CEA や SCC-Ag のような従来の血清腫瘍マーカーや血清 p53 抗体などと併用した場合の有用性について前向き多施設研究で検証する必要がある。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2690 号	氏 名	大 嶋 陽 幸
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	三 上 哲 夫
	副 査	片 田 夏 也
<p>学位審査論文の審査結果の要旨：</p> <p>本研究では、肺癌、乳癌、肝癌、胃癌、前立腺癌、大腸癌など他のいくつかの癌において陽性化する NY-ESO-1 抗体が、食道扁平上皮癌患者において特異的な血清抗体であるかどうかを評価することを目的とした。治療開始前の 1969 例の固形癌患者（食道癌 176 例、胃癌 348 例、大腸がん 289 例、肝臓癌 114 例、前立腺癌 372 例、乳癌 386 例、肺癌 284 例）および健常者 74 例を対象とし、ELISA 法により NY-ESO-1 抗体の吸光度を測定した。食道癌患者の血清抗 NY-ESO-1 抗体は健常者と比べ有意に高かった (0.625 ± 1.260 vs. 0.012 ± 0.051, $P < 0.001$)。他の癌種では、肺癌 0.232、肝臓癌 0.053、前立腺癌 0.229、胃癌 0.156、大腸癌 0.122、乳癌 0.119 であった。カットオフ値を 0.165（健常者の血清抗 NY-ESO-1 抗体値の平均値 + 3SD）と設定して血清抗 NY-ESO-1 抗体陽性率を求めたところ、食道扁平上皮癌患者では 32%であったのに対し、他の癌腫の陽性率はすべて 10%前後であり、食道扁平上皮癌では他のすべての癌腫より有意に陽性率が高かった。食道扁平上皮癌における血清抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率は、SCC-Ag の陽性率（25 から 40%前後）と同等であることに加え、健常者での陽性率は 0%と偽陽性が低率であることから、食道扁平上皮癌において特異性の高い腫瘍マーカーと考えられ、今後食道扁平上皮癌の血清腫瘍マーカーの第一選択となる可能性がある検査法と考えられる。</p> <p>審査においては、腫瘍の大きさと抗体価が相関するか否か、抗体価は 2 峰性を呈しておりウイルス感染など別の要素が関連した症例があったかどうか、症例集積の施設割合についてなど種々の質問があったが、申請者はこれらに適切に回答した。血清抗 NY-ESO-1 抗体は食道扁平上皮癌に特異性の高い腫瘍マーカーと考えられ、また申請者のカットオフ値の適切な設定により偽陽性 0%（特異度 100%）とした条件下でも食道扁平上皮癌の診断における本マーカーの十分な有用性を証明しえた。また、SCC、シフラ、p53 の 3 種の既存腫瘍マーカーに加え血清抗 NY-ESO-1 抗体を追加することで、食道扁平上皮癌のすべての Stage において診断の上乗せ効果があることも示した。</p> <p>血清抗 NY-ESO-1 抗体が、食道扁平上皮癌診断の優れた血清腫瘍マーカーである可能性を証明した優れた研究であり、審査員の全会一致で本論文は学位に値するとの判断となった。</p>		