

氏名(本籍)	岩城 秀出洙 (滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第 494号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成17年 3月 25日
学位論文題目	Diagnostic potential in bladder cancer of a panel of tumor markers (calreticulin, α -synuclein, and catechol-o-methyltransferase) identified by proteomic analysis (プロテオーム解析によって選定したカルレティキュリン、ガンマシヌクレインおよびカテコール-o-メチルトランスフェラーゼ複合腫瘍マーカーによる膀胱癌診断)
審査委員	主査 教授 柏木 厚典 副査 教授 谷 徹 副査 教授 服部 隆則

論文内容要旨

※整理番号	498	(ふりがな) 氏 名	(いわき ひであき) 岩城 秀出洙
学位論文題目	<p>Diagnostic potential in bladder cancer of a panel of tumor markers (calreticulin, gamma-synuclein, and catechol-<i>o</i>-methyltransferase) identified by proteomic analysis (プロテオーム解析によって選定したカルレティキュリン、ガンマシヌクレインおよびカテコール-<i>o</i>-メチルトランスフェラーゼ複合腫瘍マーカーによる膀胱癌診断)</p>		
<p>【目的】新たな膀胱癌診断マーカーの開発を目的として、われわれはこれまでに膀胱癌組織と正常尿路上皮組織を対象としたプロテオーム解析により、癌組織で発現増強する 10 個の新規腫瘍マーカー候補蛋白質を同定し、これらのうちカルレティキュリン (CRT) の膀胱癌尿中診断マーカーとしての有用性について報告した。今回の研究では、他の新規候補蛋白質のうちガンマシヌクレイン (SNCG) とカテコール-<i>o</i>-メチルトランスフェラーゼ (s-COMT) についても、膀胱癌の新規尿中マーカーとして CRT と同様の検証を行い、より精度の高い膀胱癌診断マーカーを開発するために CRT、SNCG、s-COMT 同時測定による膀胱癌尿中複合腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。</p> <p>【方法】病理組織学的に膀胱移行上皮癌と診断された膀胱癌腫瘍組織 22 例と、臨床的に癌を認めない尿路上皮組織 10 例 (以下、正常組織)、および膀胱癌患者尿 112 例と非膀胱癌患者尿 230 例 (以下、コントロール尿) の自然排泄尿を対象とし、組織中と尿中での蛋白質発現量を市販の特異的抗体を用いたウェスタンブロット法で定量的に解析した。組織における検討では SNCG、s-COMT 蛋白質について膀胱癌での過剰発現を免疫学的に検証し、尿を対象とした検討では CRT、SNCG および s-COMT の 3 種類すべての蛋白質について各サンプルでの発現量を検討した。化学発光で検出されたバンド強度を定量し、標準サンプルとの相対的発現量を算出した。CRT、SNCG および s-COMT それぞれの蛋白質発現量について ROC 曲線を作成し、至適カットオフ値での尿中単独マーカーとしての感度・特異度を検討した。続いて 3 種類の蛋白質を同時に測定する複合腫瘍マーカーとしての診断能を、CRT 単独腫瘍マーカーと比較して検討した。いずれか 1 種類以上のマーカーがカットオフ値以上となる場合を複合マーカー陽性と規定し、3 種類のマーカーのカットオフ値を任意に組み合わせた際の、感度・特異度を ROC 平面にプロットして解析した。統計学的解析には Mann-Whitney U 検定または McNemar 検定を用いた。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、

2 千字程度でタイプ等で印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】プロテオーム解析にて同定した SNCG および s-COMT の蛋白質スポットを、二次元ウェスタンブロットによって各特異的抗体で確認検証した後、膀胱癌組織 22 例と正常組織 10 例を対象としてそれぞれの蛋白質が癌組織で有意に発現亢進していることを確認した(それぞれ、 $p=0.002$ 、 $p=0.036$)。これら SNCG および s-COMT と、すでにわれわれが報告した CRT について、多数検体尿を用いて膀胱癌尿中腫瘍マーカーとしての有用性を検討した。ROC 解析による至適カットオフ値でのそれぞれの感度・特異度は、CRT : 71.4%(80/112)・77.8%(51/230)、SNCG : 40.2%(45/112)・96.5%(8/230)、s-COMT : 36.6%(41/112)・81.7%(42/230)で、前回のわれわれの報告と同様に CRT の膀胱癌尿中マーカーとしての有用性が示された。さらにこれら 3 種類の蛋白質の同時測定による尿中複合腫瘍マーカーとしての有用性について検討した。最も診断能の高かった設定での感度・特異度はそれぞれ 76.8%、77.4%で、CRT 単独マーカーよりも特異度は 0.4%下回ったものの、感度は 5.4%上昇する結果となった。また、癌の異型度・深達度・腫瘍径・腫瘍数などの臨床背景別検討でも、診断困難な高分化型、単発、腫瘍径 1cm 未満を含めた全てのカテゴリで、複合マーカーは CRT 単独マーカーよりも高い陽性率を示した。尿細胞診結果が得られた膀胱癌 105 例における検討では、尿細胞診陰性 63 例 (60% : 63/105) でも複合マーカーは高い陽性率 (76% : 42/63) を示したのに対し、尿細胞診陽性 42 例 (40% : 42/105) のうち複合マーカー陰性は 4 例のみであった。少数例での検討であったが、複合マーカーは既存の膀胱癌尿中マーカーである BTA (全 15 例、陽性 6・陰性 9) および NMP22 (全 22 例、陽性 11・陰性 11) の陰性例でも、それぞれ 89%、82%と高い陽性率を示し、これら既存の膀胱癌尿検査の結果別にみても複合マーカーは CRT 単独マーカーよりも高い陽性率を示した。

【考察】既存の膀胱癌尿中診断マーカーは概ね感度 50-70%、特異度 65-79%で、われわれが報告した CRT もそれらに匹敵する診断能を持つ。今回検討した 3 種類の新規尿中腫瘍マーカーの同時測定によって、CRT 単独よりも膀胱癌検出率はさらに 5.4%上昇し、この結果を国内外の全膀胱癌患者数に当てはめれば多数の癌患者の見落としを回避できることになる。さらに臨床上見つけにくい癌でも高い陽性率を示したことから、尿中膀胱癌診断マーカーとして複数腫瘍マーカーを同時測定することの意義は大きい。今後は腫瘍マーカー候補蛋白質を増やし、さらに診断能の向上を図るとともに、ELISA 法など実際に臨床応用可能な定量的検査法での検討が必要である。

【結論】複数腫瘍マーカーの同時測定により、単一腫瘍マーカーと比較して膀胱癌診断能が向上することが示唆された。今後、複合腫瘍マーカーという概念から、マイクロプロテインアッセイやマルチチャンネル ELISA などの新しい尿中膀胱癌診断方法の確立へと発展することが期待できる。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	498	氏名	岩城秀出洙
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>膀胱癌新規尿中腫瘍マーカーを開発するために、プロテオーム解析により7個の新規蛋白を同定した。そのうち選定したカルレティキュリン、ガンマシヌクレイン、カテコール-o-メチルトランスフェラーゼの膀胱癌診断における意義及び複数腫瘍マーカー同時測定による有用性を検討した。</p> <p>ROC 曲線を用いた解析の結果、複合マーカーの感度、特異度はそれぞれ76.8%、77.4%で、単一マーカーとして最も診断性能の高かったカルレティキュリンよりも感度が5.4%上昇した。さらに複合マーカーは、高分化癌、腫瘍径1cm未満や単発の腫瘍などの臨床的に診断困難な症例でも高い陽性率を示した。また既存の膀胱癌尿中腫瘍マーカーであるBTAとNMP22の陰性例、さらに尿細胞診の陰性例でも複合マーカーはそれぞれ89%、82%、67%と高い陽性率を示した。以上、今回の検討から新規複数尿中腫瘍マーカーの同時測定により膀胱癌診断能の向上することが期待された。</p> <p>本研究は、膀胱癌診断において、新規尿中腫瘍マーカーの同定とともに複数腫瘍マーカー同時測定の有用性を示したもので、博士(医学)の学位授与に値するものと評価された。</p>			
(平成17年 2月 9日)			