HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	SEREX法による非機能性膵神経内分泌腫瘍に対するIgG 抗体型腫瘍マーカーの探索［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	本谷, 康二
Description	配架番号：2479
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13465号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74740
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Koji_Hontani_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　本谷　康二

	主査	教授	武冨　紹信
審査担当者	副査	教授	近藤　　亨
	副査	教授	佐邊　壽孝
	副査	教授	野口　昌幸

学 位 論 文 題 名

SEREX 法による非機能性膵神経内分泌腫瘍に対する IgG 抗体型腫瘍マーカーの探索
(Identification of novel IgG type tumor marker in non-functional pancreatic neuroendocrine tumors by SEREX method)

本研究では, 非機能性膵神経内分泌腫瘍 (non-functional pancreatic neuroendocrine tumors, NF-pNETs) に対する抗体型腫瘍マーカー探索のため，serological analysis of cancer antigens by recombinant cDNA expression cloning (SEREX)法を用いて NF-pNETs の新規抗原を同定し，amplified luminescent proximity homogeneous immunosorbent assay (Alpha LISA)法を用いて健常者群および患者群の血清抗体価を比較することで，新規腫瘍マーカーとしての有用性を検討した．研究の結果，SEREX 法により 5 種の腫瘍抗原（PTEN，EID3，EHD1，LGALS9，BRAP）を同定した．Alpha LISA 法の結果，抗 EID3 抗体が患者群で有意に高値であり，患者群を抗 EID3 抗体陽性群・陰性群の２群に分け予後解析を施行した結果，抗 EID3 抗体陽性群において無病生存期間 (Disease free survival, DFS) は有意に短かった．以上の結果より，抗 EID3 抗体は，補助診断および予後予測のための腫瘍マーカーとして有用であると考えられた．

学位論文内容の口頭発表後，副査の近藤 亨教授より，EID3 についてノックアウトマウスの報告の有無について質問があった．これに対し申請者は，ノックアウトマウスの報告は無いが，大腸癌細胞株において EID3 をノックダウンした報告において放射線療法や化学療法への抵抗性低下が示されており，EID3 は治療抵抗性を調節する下流因子の一つの可能性があると回答した．また，EID3 の正常組織での発現の分布について質問があった．これに対し申請者は，EID3 は精巣や腎臓，消化管に発現していると回答した．さらに，免疫組織化学染色における細胞内での局在の有無および二重染色をしたかどうかについて質問があった．これに対し申請者は，本研究において EID3 の細胞内局在の偏りは見られず，二重染色に関しては今回施行していないため，今後の研究課題であると回答した．

続いて副査の佐邊壽孝教授より，本研究の目的として早期診断と確定診断のどちらに主眼を置いているかとの質問があった．これに対し申請者は，確定診断には基本的には組織採取による病理学的診断が推奨されており，本研究における腫瘍マーカーは早期診断を目的としていると回答した．また，抗 EID3 抗体により NF-pNETs と膵炎・膵癌等の他の膵疾患や他癌種との区別が可能かどうかについて質問があった．これに対し申請者は，希少疾患の探索的研究のため，少数例での検討となっており，対照群を健常者のみに設定していることからも他の膵疾患や癌種との区別は困難であると回答した．今後臨床応用を考えた場合は大規模臨床試験を施行し，症例数の増加や，対照群として他の膵疾患や他癌種の症例を含める必要があると回答した．

次に，副査の野口昌幸教授より，cDNA library 作成に使用した症例と AlphaLISA 法で使用した症例の重複の有無について質問があった．これに対し申請者は，cDNA library 作成に使用した症例と AlphaLISA 法で使用した症例は分けて解析しており，結果の重複は無いと回答した．また，抗 EID3 抗体により非機能性 pNETs と機能性 pNETs を区別可能かどうかについて質問があった．これに対して申請者は，機能性と非機能性の違いは実際には臨床症状を示すかどうかで分けられており，両者間の遺伝子変異に大きな差が無いことが報告されていることから，腫瘍形成機序が同じと考えられるため区別は困難であり，その意味では抗 EID3 抗体は機能性 pNETs に対しても腫瘍マーカーとして有用な可能性があると回答した．

最後に，主査の武冨紹信教授より，抗体型マーカーの探索という目的のみであれば cDNA library を作成する際に正常膵組織から作成した方が多様な抗原を探索可能ではないかと質問があった．これに対して申請者は，正常膵組織から作成した library でも施行可能であるが，今回は抗体型マーカーの探索に加えて腫瘍抗原の同定も目的としていたため，原法に従って腫瘍組織から cDNA library の作成を施行した経緯があると回答した．また，膵 NET の分類の中で NEC との区別は可能かどうか質問があった．これに対して申請者は，NET において報告されている遺伝子異常（DAXX/ATRX, MEN1 等）と NEC で報告されている遺伝子異常（p53, RB1 等）が異なるため両者は別な疾患として扱われることが多いが，NET において EID が高発現する機序として RB 蛋白の機能低下が関連していると考えられるため，RB 遺伝子異常を示す NEC でも同様に EID が高値となる可能性があり，その場合は両者の鑑別は困難と考えられると回答した．さらに，AlphaLISA 法の結果では DFS に有意差を示したが，免疫染色の結果では DFS に差が無いという結果の不一致に関して質問があった．これに対して申請者は，AlphaLISA 法が抗体を検出する実験系であり，免疫染色で陽性を示さないような少量の抗原でも免疫反応を惹起して陽性を示す可能性があるため，この感度の相違が原因として考えられると回答した．

この論文は，NF-pNETs に対して SEREX 法を用いて抗体型マーカーを探索した最初の報告である．抗 EID3 抗体価は NF-pNETs 患者群で有意に高値であり，患者群の DFS とも関連したことから，NF-pNETs における早期診断や予後予測因子を担う新規腫瘍マーカーとして臨床応用されることが期待される．

審査員一同はこれらの成果を高く評価し，大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ，申請者が博士（医学）の学位を授与されるのに充分な資格を有すると判定した．