

氏 名（本籍） 増 田 眞 幸

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 2 3 3 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 3 年 2 月 27 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 55 年 3 月 25 日  
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 食 道 癌 に お け る 修 飾 ヌ ク レ オ シ ド (1-Methyladenosine, Pseudouridine) の 発 現 : 特 に 癌 組 織 に お け る 免 疫 組 織 化 学 的 検 討 お よ び 癌 患 者 尿 中 へ の 排 泄 レ ベ ル の 検 討

(主 査)  
論 文 審 査 委 員 教 授 森 昌 造 教 授 名 倉 宏  
教 授 涌 井 昭

## 論文内容要旨

1-メチルアデノシンやシュードウリジンなどの修飾ヌクレオシドは、t-RNAの構成成分として健常人に微量に存在するが、癌化した細胞ではこれらの修飾ヌクレオシドの代謝回転が高まり、その結果各種の担癌生体の尿中に高濃度に排泄されることが知られている。しかし、これまでに免疫組織化学的レベルでの修飾ヌクレオシドの発現に関する研究はいまだなされておらず、食道癌についての検討も発表されていない。

本論文では、1-メチルアデノシンおよびシュードウリジンに対するモノクローナル抗体を用い、食道癌についてこれらの修飾ヌクレオシドの発現を免疫組織化学的に検討し、さらに尿中への排泄レベルを調べ、その腫瘍マーカーとしての有用性を確認した。

### 【材料, 対象および方法】

免疫組織化学的検討のために、組織標本としてホルマリン固定食道癌組織切片およびホルマリン固定食道癌株化培養細胞(TE-1~TE-12)を用いた。また、食道癌組織以外にも悪性腫瘍として胃癌、大腸癌、乳癌、良性腫瘍として乳腺Fibroadenoma、甲状腺Follicularadenomaについても検討した。免疫組織化学的染色はAvidin-biotin-complex法(ABC法)によった。モノクローナル抗体は抗1-メチルアデノシン抗マウス抗体であるAMA-2および抗シュードウリジン抗マウス抗体であるAPU-6を用いた。反応性の判定は、%ReactivityとIntensityとにより半定量的に行った。

修飾ヌクレオシドの尿中への排泄レベルの検討のために、検体として食道癌患者の随時尿を治療前、治療後に採取し、AMA-2、APU-6を用いたInhibition ELISA法により尿中の1-メチルアデノシン、シュードウリジン排泄量を測定した。測定値はクレアチニンの排泄量で補正した。

### 【結 果】

1-メチルアデノシン、シュードウリジンの組織レベルでの発現をこれらに対するモノクローナル抗体を用い、食道癌組織31例について免疫組織化学的に検討し、以下の結果を得た。

1. 1-メチルアデノシン、シュードウリジンは、正常食道上皮にはほとんど発現しなかったが、食道癌細胞には%Reactivity、Intensity共に強い発現を示した。
2. 食道癌細胞におけるこれらの修飾ヌクレオシドの発現形式には、細胞質に強く発現するものと核質に強く発現するものとの2つのパターンが認められ、ほとんどの癌細胞は前者のパターン

を示し、後者のパターンはごく稀に癌浸潤先進部の細胞に認められた。

3. 食道異型上皮ではこれらの修飾ヌクレオシドは有棘細胞層の細胞質に発現する傾向がみられた。

4. 食道粘膜内癌ではこれらの修飾ヌクレオシドは細胞質に発現したが、これに隣接した有棘細胞層では核が強く染まる傾向が認められた。

5. 11種の食道癌株化培養細胞でもこれらの修飾ヌクレオシドは強い発現を示したが、TE-8にはほとんど発現しなかった。このTE-8は他の11種の株種とくらべ、特にDoubling timeの長いものであった。

6. 食道癌以外の癌種（胃癌、大腸癌、乳癌）についてもこれらの修飾ヌクレオシドは強く発現したが、乳腺や甲状腺の良性腫瘍での発現は弱くIntensityにおいてすべて弱陽性以下であった。

Inhibition ELISAを用いて測定した食道癌患者尿中の1-メチルアデノシンおよびシュードウリジン排泄量を検討し、以下の結果を得た。

1. 食道癌患者の尿中には健常者とくらべ有意に高い1-メチルアデノシンやシュードウリジンの排泄を認めた。そのDetectabilityは1-メチルアデノシンでは17%（51例中9例）、シュードウリジンでは55%（51例中28例）であった。

2. 食道癌患者尿中のこれらの修飾ヌクレオシドの排泄レベルは癌腫の大きさと相関する傾向がみられた。

3. 食道癌患者尿中のこれらの修飾ヌクレオシドの排泄レベルは癌の進行度と相関する傾向がみられた。

4. 食道癌患者尿中のこれらの修飾ヌクレオシドの排泄レベルは治療後には低下する傾向がみられた。

## 【結 語】

以上の結果により1-メチルアデノシンとシュードウリジンは食道癌の腫瘍マーカーとして、治療の効果判定や再発のモニタリングに有用である可能性が示唆された。

## 審査結果の要旨

本論文は、修飾ヌクレオシドの一つである1-メチルアデノシンとシュードウリジンの食道癌に対する腫瘍マーカーとしての有用性を検討した内容となっている。

これらの修飾ヌクレオシドの定量は食道癌患者尿を検体として、モノクローナル抗体を用いた Inhibition ELISAで測定した。この方法は従来の高速液体クロマトグラフィーに比べ簡単に、一度に多くの検体を測定でき、臨床応用には有利なものである。この結果、術前食道癌患者尿中へのこれらの修飾ヌクレオシドの排泄レベルは健常人のそれよりも有意に高く、Detectabilityは1-メチルアデノシンで17%、シュードウリジンでは5.5%と他の腫瘍マーカーに比べ十分に高い値を示した。本結果は、従来満足すべきものが開発されていなかった食道癌の腫瘍マーカーとして重要な意義を持つ。また、これらの修飾ヌクレオシドの尿中排泄レベルは食道癌の進行度や、癌巣に含まれる抗原量と相関し、手術によりこれらのレベルが減少する傾向にあることが示されており、治療の効果判定や再発モニタリングに応用される可能性が示された。

これまでに各種修飾ヌクレオシドが白血病や悪性リンパ腫などの患者の尿中に多量に排泄されることが知られていたが、消化器癌では大腸癌についてわずかに論文がみられるのみであり。食道癌についての検討は本論文が最初の論文である。

さらに本論文は1-メチルアデノシンとシュードウリジンの発現について食道癌組織、食道癌株化培養細胞を用いて免疫組織化学的な検討を加えている。この検討の結果、食道癌組織でのこれらの修飾ヌクレオシドの発現の場は主に細胞質にあり、正常食道上皮にはほとんど反応しなかった。また稀に食道癌細胞の核質に強く発現してくるものもあり、それらは主に増殖傾向が強い腫瘍先進部に集中している。また、食道癌培養細胞を用いた検討において、Doubling timeの特に長いTE-8にはほとんど発現しなかった。これらの結果は食道癌の生物学的悪性度の検討や、これらのモノクローナル抗体を用いた治療への応用の端緒となりうるものであると思われる。

また、本論文では、食道癌の他に胃癌、大腸癌、乳癌、甲状腺癌についての免疫組織化学的検討を併せて行い、その結果1-メチルアデノシン、シュードウリジンはこれらの癌組織すべてに強い発現を示しており、これらの修飾ヌクレオシドは食道癌のみならず多くの癌腫の腫瘍マーカーとして広く応用される可能性をもっているものと思われる。

本論文は食道癌に対する新しい腫瘍マーカーの発現ということのみならず、修飾ヌクレオシドの発現を免疫組織化学的手法にて、その局在の検討を試みさらには癌細胞で過剰発現する核酸代謝産物を細胞生物学的レベルで検討した点で独走的であり、癌の悪性度診断や治療への応用の可能性をも示唆した優れた論文である。よって本論文は学位授与に値するものである。