

主論文の要旨

**Verification of WFA-Sialylated MUC1 as a Sensitive
Biliary Biomarker for Human Biliary Tract Cancer**

胆道癌診断における分子マーカーWFA-sialylated MUC1
の有用性に関する研究

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

山口 貴之

【諸言】

胆汁細胞診は胆道癌の診断方法として最も一般的に使用されているが、その感度は低く、十分に満足できる結果は得られていない。血清 CA19-9 もまた胆道癌の腫瘍マーカーとして広く使われているが、その値は胆道狭窄や高ビリルビン血症のもとで修飾を受け易く特異度が低い。したがって細胞診や CA19-9 の結果を補う他の診断方法の発見により胆道癌の正診率を向上することが期待されている。

近年、松田らは胆管癌組織より有用なプローブレクチンとして *Wisteria floribunda agglutinin* (WFA) を、WFA のキャリア蛋白として *sialylated MUC1* を見出した。さらに MUC1 を検出する抗体として MY.1E12 が有用であることを確認し、WFA と MY.1E12 を用いて、サンドイッチ ELISA 法のシステムを作製した (Matsuda A, et al. *Hepatology*, 2010)。本研究では胆道癌患者と良性胆道疾患患者より前向きに胆汁を採取することにより、胆道癌のバイオマーカーとしての胆汁中 WFA-sialylated MUC1 の有用性を評価した。

【対象と方法】

2011 年 7 月から 2014 年 12 月までの期間で胆道癌疑いあるいは良性疾患で内視鏡的経鼻胆道ドレナージ、経皮経肝胆道ドレナージおよび内視鏡的逆行性胆道造影 (ERCP) を行った 201 名の患者から胆汁の採取を行った。201 例中 143 例で胆道癌の診断で肝外胆管切除を伴う肝切除術 (n=111)、膵頭十二指腸切除術 (n=13)、肝切除を伴う膵頭十二指腸切除術 (n=12)、肝外胆管切除術 (n=7) を施行した。手術症例のうち 40 例では術中に挿入した胆管ステントから術後 7 日目に胆汁を採取した。胆道癌手術を受けた患者の切除標本の病理組織学的特徴は TNM 分類第 7 版に基づいて評価した。

胆汁中の WFA-sialylated MUC1 の測定は MY1.E12 と WFA を用いたサンドイッチ ELISA 法を用いて行った。WFA-sialylated MUC1 の値は全てそれぞれの胆汁の全蛋白濃度で補正した。

胆汁細胞診は胆汁を 30 分以内に遠心分離し、スメアを作成し、パパニコロウ染色を行い、それを光学顕微鏡で観察した。統計分析はノンパラメトリック検定、Mann-Whitney's U test、 χ 二乗テスト、Fisher's exact test を使用し、胆汁中 WFA-sialylated MUC1 と血清 CA19-9 値を用いて ROC 曲線を作成し胆道癌診断のカットオフ値を決定した。結果は $p < 0.05$ をもって統計学的有意とした。

【結果】

201 例のうち 24 例が良性疾患の診断で胆汁を採取された。177 例は胆道癌の診断であった。胆道癌と診断し切除を行った患者のうち 3 例で切除標本の病理組織学的検査の結果、最終的に良性疾患と診断された。その結果、27 例が良性群に含まれ、174 例が悪性群に含まれた。血清 CA19-9 の値は悪性群では良性群と比較して有意に高かった ($p < 0.001$, Table 1)。

胆汁中 WFA-sialylated MUC1 の値は悪性群のほうが良性群と比較して有意に高値であった。(p<0.001、Figure 1)。胆道癌を鑑別するため WFA-sialylated MUC1 値の ROC 曲線を作成したところ、曲線下面積 (AUC) は 0.715 でカットオフ値は 10.5 であった。胆汁中 WFA-sialylated MUC1 の胆道癌鑑別のための感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 82.2%、55.6%、92.2%、32.6%であった。

胆汁細胞診は良性群で 22 例、悪性群で 157 例において行われた。良性群では細胞診陽性を認めなかった。良性群で 3 例 (13.6%) において細胞診で悪性疑いであった。この 3 例のうちの 1 例は WFA-sialylated MUC1 の値がカットオフ値未満 (<10.5) であった。細胞診の胆道癌鑑別のための感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ 23.6%、100%、100%、17.2%であった。

40 例では術後 7 日目に胆汁を採取した。胆汁中の WFA-sialylated MUC1 の値は手術前と比較して手術後では有意に減少していた。(p<0.001、Figure 2)。

全 177 例が術前に胆道癌と診断された。9 例は手術待機中に遠隔転移や重篤な局所進展などの非切除所見を認めたため手術を行わなかった。残りの 168 例は手術を行ったが、術中所見による 25 例が非切除となった。胆汁中 WFA-sialylated MUC1 陽性と、病理組織学的所見との関連はどれも認めなかった (Table 2)。

胆道癌の鑑別のために血清 CA19-9 値で ROC 曲線を作成すると、曲線下面積 (AUC) は 0.761 で CA19-9 のカットオフ値は 38 IU/l であった。CA19-9 の胆道癌鑑別の感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率は、それぞれ 60.3%、88.9%、97.2%、25.8%であった。(Figure 3)。

【考察】

悪性胆道狭窄と良性胆道狭窄を鑑別することは診断法が進化した現在でも困難である。今回の前向きコホート研究では胆道癌と診断された 177 例中 3 例 (1.7%) が切除後に良性疾患と最終診断された。

本研究では胆道癌診断能を向上する目的として松田らによって開発された新たなサンドイッチ ELISA 法を採用した。今回の研究では単一施設の前向きコホート研究で多くの胆汁検体を使用し、胆道癌診断における胆汁中 WFA-sialylated MUC1 ELISA system の有用性を確認した。

血清 CA19-9 (>38IU/l) と胆汁中 WFA-sialylated MUC1 (>10.5) のカットオフ値を組み合わせた場合の診断的価値について検討すると、胆汁中 WFA-sialylated MUC1 と血清 CA19-9 の両者がカットオフ値以上の症例は全て胆道癌で、このグループには良性疾患は存在しなかった (Figure 3)。しかしながら、両者がカットオフ値以下のときでも 54% の症例が胆道癌グループに含まれていた。このような症例で胆道癌の存在をどのように診断するのが今後の課題である。

術前後の胆汁中の WFA-sialylated MUC1 値を比較すると、術前よりも術後 7 日目の方がほとんどの症例で減少していた (Figure 2)。これらの結果は胆道癌の有用なバイオマーカーとして胆汁中 WFA-sialylated MUC1 が臨床的に有用であることを支

持するものであった。ただ癌を完全に切除したにもかかわらず胆汁中の WFA-sialylated MUC1 がカットオフ値以上であることもあり、このような症例にどのような特徴があるのかも今後検討していく必要がある。

【結語】

胆汁中の WFA-sialylated MUC1 は胆道癌診断のバイオマーカーとして有用である。WFA-sialylated MUC1 の感度は細胞診の感度よりも明らかに高いことが示された。このバイオマーカーの臨床的な実用にはさらなるデータ集積が必要である。