

博士(医学) 濱田悦子

### 論文題目

Investigation of unexpected serum CA19-9 elevation in Lewis-negative cancer patients

(ルイス酵素欠損患者における予想外の血清 CA19-9 上昇メカニズムに関する検討)

### 論文の内容の要旨

[はじめに]

腫瘍マーカーとして用いられている CA19-9 は、I 型糖鎖抗原に属する ( $\alpha 2 \rightarrow 3$ ) シアリル  $\text{Le}^a$  である。日本人の約 10 % はルイス A ( $\text{Le}^a$ ) 糖鎖を合成するフコシル化酵素遺伝子の欠損者 (Le 陰性者) であり、ルイス糖鎖もシアリルルイス A 糖鎖も合成できない。このため、ルイス式血液型 Le (a-b-) 型の患者では CA19-9 は感度以下 (ほとんどゼロ) であることが周知の事実として教科書にも記載されている。しかしながら、過去の検査成績で CA19-9 がほぼゼロであったにもかかわらず、10 U/ml を越えて上昇する癌患者を最近経験した。なぜ、ルイス酵素活性を有しないと推定される個体で CA19-9 が上昇してきたのか、そのような個体に共通した特徴は何かについては、今までに解明されていなかったため、これらを問題点として検討を試みた。

[患者ならびに方法]

2009 年から 2010 年の当院受診患者の中から臨床研究 DB システムを用いて、血清 CA19-9 測定値が低い患者で、多少なりとも上昇傾向を示した 3 症例を抽出した (A 群)。また、癌の増大にも関わらず CA19-9 測定値が低値のまま変化のなかった 3 症例も検討した (B 群)。ルイス式血液型をバイオクロン抗  $\text{Le}^a$  および抗  $\text{Le}^b$  (マウス)、セラクロン抗  $\text{Le}^a$  (LE1) および抗  $\text{Le}^b$  (LE2) の 2 法を用いて確認した。

CA19-9 測定系への干渉物質の存在によって正誤差を生じているか否かを調べるために、当院使用の Modular Analytics E170 module (Electrochemiluminescence immunoassay: ECLIA ; ロシュ社) 以外にも、Lumipulse *f* (Chemiluminescence enzyme immunoassay: CLEIA ; 富士レビオ社) と、CA19-9 測定の原型である NS19-9 を使用した Radioimmunoassay (RIA ; TFB 社) の 2 測定系にて確認した。また、CEA、DUPAN-2 との関連性を確認した。CA19-9 が癌組織において特異的に産生されているか否かを免疫組織化学染色により確認するため、 $\text{Le}^a$ 、 $\text{Le}^b$ 、CA19-9 のモノクローナル抗体を用いて該当患者の癌組織病理標本を染色した。

CA19-9 合成に関与するフコシルトランスフェラーゼ 3 (ルイス酵素 ; FUT3) とフコシルトランスフェラーゼ 2 (Se 酵素 ; FUT2) の遺伝子多型は酵素活性に大きく関与している可能性があるため、両者の遺伝子解析を行った。

尚、患者の臨床検体を使用する際には、倫理委員会で承認を得た上で、臨床医と相談して患者に説明し紙面での同意を得た上で行った。

[結果]

ルイス式血液型は赤血球抗原を調べた結果、6 例共に Le (a-b-) であった。血清 CA19-9 はいずれの分析法でも同様の測定値で、CEA と DUPAN-2 の上昇と共に CA19-9 も変動してい

た。CA19-9、Le<sup>a</sup>およびLe<sup>b</sup>の免疫組織染色では、3例が癌および正常組織ともに陰性であった。Lewis 遺伝子解析結果は、A群では1名はle1 (le<sup>59,508</sup>)のホモ接合体、1名はle1とle2 (le<sup>59,1067</sup>)のコンパウンドヘテロ接合体、1名はle1とle<sup>202,314</sup>のコンパウンドヘテロ接合体であり、B群は3名ともle1ホモ接合体であった。le<sup>202,314</sup>の遺伝子変異はスカンジナビアでは比較的高頻度にみられるが、日本人では今回の報告が最初である。Secretor 遺伝子解析結果は、A群は3名ともsejのホモ接合体であり、B群では、1名はSe2のホモ接合体、2名はSe2とsejのコンパウンドヘテロ接合体であった。

#### [考察]

対象者6名について、ルイス式血液型はLe (a-b-)型であり、本来ならCA19-9測定値はほぼ0を示すことが裏付けられた。3種類の測定系で同様のCA19-9測定値を示したことから、CA19-9測定値の上昇は測定系の誤差ではなく、抗体NS19-9の対応抗原が確かに血中に存在していると推測された。免疫組織染色結果では癌組織と正常組織での明らかな違いは見出されなかったことから、CA19-9測定値の上昇が癌組織で特異的に産生されているとしてもごく僅かで有意差として見えていないと考えられた。

発癌によるCA19-9測定値の上昇をCA19-9の生成経路から考えると、Lewis/Secretorの両酵素活性の関与が大きいと考えられる。そこで、これらの遺伝子多型/変異を調べたところ、Lewis 遺伝子はA群、B群ともにルイス酵素活性が欠損（発現実験からは5%未満でゼロではない）した遺伝子型でありCA19-9は産生されないことが確認された。Secretor 遺伝子解析結果では、A群はsejのホモ接合体のためSe酵素活性がほとんどないのに対し、B群はSe酵素活性を持つ遺伝子型であった。両群の大きな違いはSe酵素活性であり、A群のようにSe酵素によるH1型糖鎖が産生される経路が滞っている場合、シアル酸転移酵素によりシアリルルイスC (sLe<sup>c</sup>; DUPAN-2) が産生され、さらに残存しているルイス酵素によってCA19-9が僅かに産生されたと考えた。すなわち、健常または癌が小さくCEAなどが低い時期におけるCA19-9の基礎値はゼロであるが、癌が増大しCEAやDUPAN-2が極端に上昇する時は、癌組織中に多量の前駆体の産生が増加し、Se、Leいずれも酵素活性がほとんどないためsLe<sup>c</sup>を介してCA19-9が産生されたと推察した。一方B群はSe酵素活性を持つ遺伝子型のため、癌の増大により1型糖鎖産生が亢進してもSe酵素の経路に流れるため、CA19-9測定値の上昇が見られなかったと推測した。従って、癌化におけるCA19-9の上昇の有無には、Secretor 遺伝子の多型が最も大きな影響を及ぼす因子であると結論づけた。

#### [結論]

ルイス酵素の欠損者であってもSecretor酵素活性が欠損していると、発癌によりその前駆体糖鎖が大量に生成される場合、わずかに残存しているルイス酵素活性により若干量のCA19-9が生成される。血清CA19-9値を評価する場合、Lewis/Secretor 遺伝子型、特にSecretor 遺伝子型が影響することを知っておく必要がある。

### 論文審査の結果の要旨

腫瘍細胞膜には多糖が多く結合した複合糖質が存在し、細胞機能を修飾している。腫瘍マーカーであるCA19-9はI型糖鎖抗原に属する(α2→3)シアリルルイスA糖鎖である。日

本人の約 10 %はルイス A ( $Le^a$ ) 糖鎖を合成するフコシルトランスフェラーゼ 3 (Le 酵素 ; FUT3) を欠損しルイス糖鎖もシアリルルイス A 糖鎖も合成できない。従ってルイス式血液型 Le (a-b-) では CA19-9 は測定不能とされてきた。申請者は CA19-9 が一時感度以下であったが後に増加した癌患者を経験しその機構を解析した。附属病院受診者 (2009.01 - 2010.05) で血清 CA19-9 値が低くその後上昇した 3 症例 (A 群)、また癌増大後にも低値であった 3 症例 (B 群) を対象とし、ルイス式血液型及び CA19-9 合成に関わる FUT3 と FUT2 (Se 酵素) の遺伝子を解析した。CA19-9 値と CEA、DUPAN-2 値との関連も検討した。検体は本学倫理委員会で承認後、口頭説明後に文書同意を得て使用した。

6 例共に Le (a-b-) であった。FUT3 遺伝子は、A 群の 1 名は  $le^{59,508}$  のホモ接合体、1 名は  $le^{59,508}/le^{59,1067}$  の、他の 1 名は  $le^{59,508}/le^{202,314}$  のコンパウンドヘテロ接合体であり、B 群は 3 名とも  $le^{59,508}$  ホモ接合体であった。いずれも活性の低い変異である。FUT2 遺伝子は、A 群は 3 名とも低活性型の *sej* のホモ接合体で、B 群では 1 名は活性型の *Se2* のホモ接合体、2 名は *Se2* と *sej* のヘテロ接合体であった。A 群では CA19-9 の前駆体である DUPAN-2 の上昇が認められたが、B 群では低値であった。これより申請者は、Le (a-b-) では進行癌でも CA19-9 値は低値であるが、同時に Se 酵素活性も低いとこれにより触媒される主要経路が進まず DUPAN-2 が増加し、CA19-9 も増加しようとした。CA19-9 値の個人差の原因を明らかにし腫瘍マーカーとしての信頼性を高める重要な研究である。

以上により、本論文は博士 (医学) の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 浦野 哲盟  
副査 渡邊 裕司 副査 中村 利夫