

Title	Serum immunoglobulin G Fc region N-glycosylation profiling by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry can distinguish breast cancer patients from cancer-free controls( Abstract_要旨 )
Author(s)	Kawaguchi, Nobuko
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2016-07-25
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k19924">https://doi.org/10.14989/doctor.k19924</a>
Right	許諾条件により本文は2016-12-30に公開; Copyright © 2015 Elsevier Inc.
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	川口 展子
論文題目	<b>Serum immunoglobulin G Fc region N-glycosylation profiling by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry can distinguish breast cancer patients from cancer-free controls</b> (マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置による血清 IgG Fc 領域の N 型糖鎖修飾プロファイリングにより非がんコントロールと乳がん患者を識別することができる)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>【背景・目的】</b> 血清 IgG の Fc 領域、N297 には N 型糖鎖修飾があり、その糖鎖は主に二本鎖の複合型で、多様なパターンがある。多様性は 4 種類の糖（シアル酸、ガラクトース、分岐型 N アセチルグルコサミン、コアフコース）の付き方の違いによって生じている。糖鎖修飾のパターンは性別、年齢、自己免疫性疾患などで変化し、がんについては胃がんや肺がんで血清 IgG 糖鎖修飾の変化が報告されてきた。糖鎖修飾が変化することによって、抗体依存性細胞障害活性や補体依存性細胞障害活性が変化することが報告されている。免疫系とがんとの関係は近年特に注目されているが、乳がんでは血清 IgG の糖鎖修飾についての知見はないため、今回の検討を行った。</p> <p><b>【方法】</b> 乳がん症例（90 例）、非がんコントロール（54 例）から採取した血清を使用した。血清からプロテイン G を用いて IgG を単離、SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate-ポリアクリルアミドゲル電気泳動) を行って IgG の重鎖を切り出した。PNGase F (Peptide-N-Glycosidase F) を用いて N 型糖鎖を切断、シアル酸をメチルアミド化したのち、3AQ (3-Aminoquinoline) /CA (p-coumaric) をマトリックスとして用いてマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置 (MALDI-MS ; Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry) で測定した。各糖鎖の強度の合計で各糖鎖の比率を計算し、多重ロジスティック回帰 (MLR : multiple logistic regression) を用いて乳がん症例での特徴的な糖鎖のパターンを解析した。結果に影響する可能性のある既往歴のある症例、治療歴のある症例、Ductal carcinoma in situ (DCIS) を除き、乳がん症例 55 例、非がんコントロール 51 例をモデル作成に利用した。検出された 32 種類の糖鎖のうち、個々の糖鎖の乳がんの識別能力を Support Vector Machine にて評価し、識別能力の高い 7 つの糖鎖を用いてモデルを作成した。モデルは internal validation にて検証した。また、4 種類の糖の付き方についても乳がん症例と非がんコントロールの違いを検討した。</p> <p><b>【結果】</b> 今回の検討では 32 種類の糖鎖を同定できた。モデルを使った解析では乳がん症例に特徴的な糖鎖修飾パターンを確認できた (the area under the ROC[receiver operative characteristic] curve: AUC = 0.8738 、p&lt;0.0001)。予測モデルを DCIS 症例に適応したところ DCIS 症例でも N 型糖鎖は乳がん特徴的なパターンであることがわかった。</p> <p><b>【考察】</b> 糖鎖修飾の変化が起こる機序では、免疫細胞との接触がほとんどないと考えられる DCIS でも乳がん特徴的なパターンとなることから、液性因子がメディエーターとなっていると考えられる。文献からは IgG が産生される際に液性</p>			

因子により糖鎖が変化する可能性、体内循環中に変化する可能性、血中から吸収・消失する際に速度が糖鎖により異なり結果として糖鎖が変化する可能性が考えられた。また、各糖に基づく解析では乳がんでもガラクトースの欠損が見られ、これは他がんの報告と一致した。IgGFcN 型糖鎖の乳がんバイオマーカーとしての可能性、乳がんでの免疫反応の修飾の可能性を示唆する重要な結果であると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

血清 IgG の Fc 領域 N 型糖鎖修飾は抗体依存性細胞障害や補体依存性細胞障害活性を変化させることが報告され、自己免疫疾患や胃がん、肺がんでは IgGFcN 型糖鎖に健常者との違いがみられることが知られている。乳がん症例 (90 例)、非がんコントロール (54 例) から採取した血清を使用し、IgG の重鎖を切り出し N 型糖鎖を切断して精製したのち、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置 (MALDI-MS) を用いて N 型糖鎖を測定した。この研究では、32 種類の糖鎖が測定された。非がんコントロール (NC) 群と浸潤性乳がん患者 (BC) 群の各糖鎖の発現量の割合を比較し、Multiple Logistic Regression (MLR) を用い 7 種類の糖鎖を使用した予測モデルを作成したところ、NC 群と BC 群を識別することができた (AUC=0.874)。モデルを非浸潤性乳管がん (DCIS) 症例にあてはめて検討すると DCIS 症例でも乳がんと予測でき、乳がんでは早期から IgGFcN 型糖鎖の変化が起こっている可能性が示唆された。IgGFcN 型糖鎖は乳がんの早期診断マーカーとなる可能性がある。

以上の研究は乳がんにおける血清 IgG の Fc 領域 N 型糖鎖修飾やそれを介した液性免疫制御機構の解明に貢献し、血清 IgGN 型糖鎖修飾を利用した新規バイオマーカー開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 4 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降