

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2021

課題番号：16K10519

研究課題名(和文) 胃癌患者血清RaIA抗体モニタリングによる再発・予後・治療感受性診断に関する検討

研究課題名(英文) The Clinicopathological Significance of Serum RaIA Autoantibody in the Patients with Gastric Cancer

研究代表者

名波 竜規 (NANAMI, Tatsuki)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：90385831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：RaIA cDNAのクラスII抗原部位からペプチドを人工合成した。ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG抗体を用いて治療前後の胃癌患者血清中のp53抗体とRALA抗体を同時に測定した。臨床病理学的因子あるいはステージ別の陽性率にも有意差はなかった。合計317例の胃癌症例において両者は補完的であり、併用することで大幅に陽性率が上昇した。CEA/CA19-9と併用した場合の予後をみると3種がすべて陽性である場合には有意に予後不良であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当初計画に基づき胃癌におけるRALA抗体の臨床病理学的意義を明らかとして、予後との関連性について解析した。RALA抗体単独での陽性率は15%と高くはないが、既存のCEA/CA19-9とは独立して陽性となるため補完的な腫瘍マーカーとして有用と思われた。予後への影響は限定的ではあるが、CEA/CA19-9と併用することで、予後不良症例を選別することが可能であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Serum antibody levels were measured using peroxidase-labeled anti-human IgG antibodies and the most antigenic epitope was selected. The positive rate of RaIA antibody in gastric cancer cases was calculated using the average + 2SD of the healthy control group as a reference value. Overall positive rate of RaIA antibody was 15%. We investigated the correlation between the presence of serum RaIA and TNM factors. No significant associations were observed. We also examined the correlation with recurrence time and prognosis. Again, no significant association was observed. RaIA antibody and p53 antibody were complementary, and the combined use significantly increased the positive rate. Looking at the prognosis when used in combination with CEA / CA19-9, it was found that the prognosis was significantly poor when all three serum markers were positive.

研究分野：消化器外科学

キーワード：SEREX RaIA 胃癌 血清抗体 腫瘍マーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

- 胃癌診断における既存の血液腫瘍マーカーは CEA, CA19-9, AFP, CA125, CA72-4 などである。これらは癌細胞から分泌される微量物質を検出するため早期癌診断は理論的に難しく、微少残存腫瘍診断や再発モニタリングでの有用性も低い。
- 食道癌および大腸癌に対して保険適応である血清 p53 抗体検査は、抗原抗体反応を応用しているため微量の癌細胞の p53 分子異常でも簡単に検出できる診断法であり、分子生物学的特徴を反映する血液マーカーとして実臨床での有用性が明らかとなっている。
- RalA は、Ras family GTP binding protein として同定された腫瘍関連抗原であり ras 活性化に伴う発癌プロセスを抑制する癌抑制遺伝子の一種であり p53 分子と同様に多種類の固形癌において癌抗原であると同時に癌抑制遺伝子であるユニークな分子である。しかし胃癌において RALA 分子を解析した報告はなく、患者血清中 RalA 抗体についての研究も前立腺癌と肝細胞癌ならびに代表研究者による食道癌の報告の合計 3 編しかない。
- 我々は血清 IgG 抗体を用いた癌特異抗原同定法である Serological identification of antigens by recombinant cDNA expression libraries (SEREX) 法により種々の固形癌診断に有用な血清 SEREX 抗体を多数同定している (*Int J Cancer 2004, Int J Oncology 2005, Cancer Sci. 2006, Int J Oncology 2007, BMC Cancer 2009, Proteome Sci. 2011*)。既存の分泌型血液マーカーでは、陽性症例が互いに重複する傾向があるのに比較して、これらの血清抗体は陽性症例が互いに重複することが少ないため複数の標的抗原を併用することで陽性率を飛躍的に上昇させることができることを報告してきた (*Esophagus 2012, 2015*)。
- 胃癌において陽性率の高い CEA、CA19-9、CA72-4 の全てが陰性 (triple negative) である症例では、血液検査モニタリングによる根治性・再発診断は困難であることから治療効果判定、手術後モニタリングでは画像診断唯一の検査法である。p53 抗体と同様の抗原抗体反応を応用した血清 RalA 抗体検査によるモニタリングにより、従来の腫瘍マーカーと併用することで陽性率が上昇し病態を正確に把握することが可能となる。さらに抗癌剤感受性や予後予測など新たな分子生物学的特徴の解析に繋がる知見が得られる可能性が高い。

2. 研究の目的

- 保険収載されている胃癌の腫瘍マーカーでは CEA、CA19-9、CA72-4 の 3 種が最も陽性率が高いが進行癌であっても約 40% の症例では 3 種全てが陰性である。血液腫瘍マーカー陰性症例においては、治療効果判定や再発診断を画像診断のみに依存するため繰り返し検査する必要がある。
- 本研究課題である RalA 分子は、新規の癌抗原であると同時に癌抑制遺伝子の一種でもあることから、発癌の比較的早期の段階から癌患者血清中に抗 RalA-IgG 抗体が出現することが報告されている。このため胃癌マーカー triple negative 症例においても血清 RalA 抗体が陽性を示す可能性があり、従来の腫瘍マーカーを補完する新規の腫瘍マーカーを開発することが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

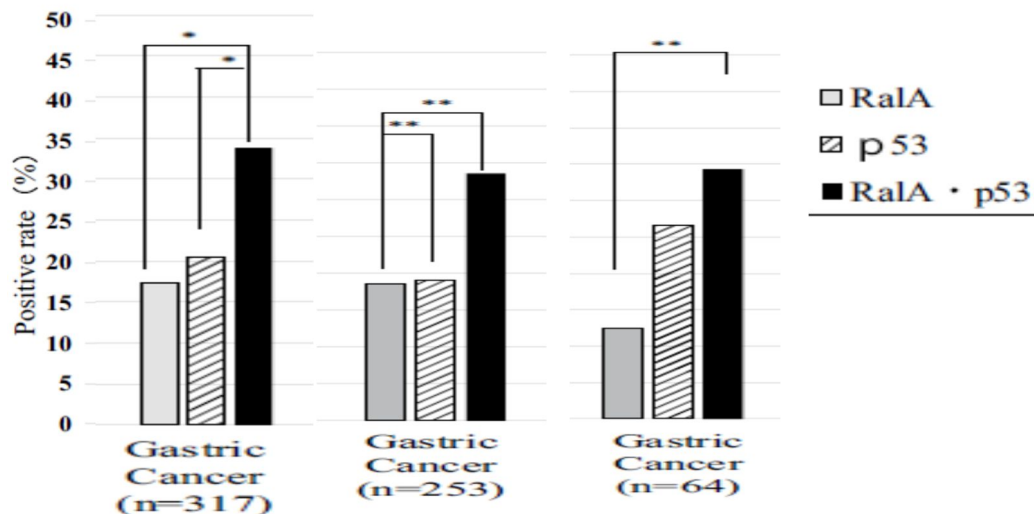
- RaIA, NY-ESO-1 cDNA の塩基配列をアミノ酸配列に変換し、MHCpred ウェブサイト (<http://www.jenner.ac.uk/MHCpred/>) を用いてクラス II 抗原部位を検索し、その領域を含むペプチドを人工合成する。アミノ末端にビオチンを付加しておき、予めアビジンを固相化したプレートを用いて合成ペプチドを特異的に結合させ、洗浄後に血清抗体と反応させ、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 抗体を用いて血清抗体レベルを測定した。
- 健常者血清に比べ患者血清の抗体レベルが有意に高いペプチドを選択する。解析する患者血清は東邦大学医学部倫理委員会承認の臨床研究として、東邦大学にて加療した治療前後の胃癌患者から文書により本人の了解を得て治療開始前にサンプリングした血液を解析に用いた。
- 血清RaIAの存在の有無と深達度、リンパ節転移、遠隔臓器転移との相関関係を検討した。また、再発時期、予後との相関関係を検討した。

### 4. 研究成果

- RaIA抗原を標的とした血清抗体検出用ELISAキットの性能試験を行い、パイロット研究として無作為抽出した保管検体100症例を用いた。
- 複数の抗原を標的とする測定系を開発し、RaIAならびにNYESO-1免疫染色の条件設定を行った。切除手術前後、化学療法前後の血清SEREX抗体価モニタリングの意義を検討した。
- 3種類の抗原を同時標的とした場合の相加効果を検討した。血清RaIA, NY-ESO-1, p53抗体価を独自開発した血清抗体検出ELISAキットにて検討した。
- 具体的な研究データは以下の通りである。

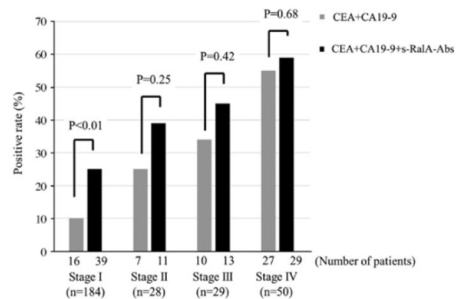
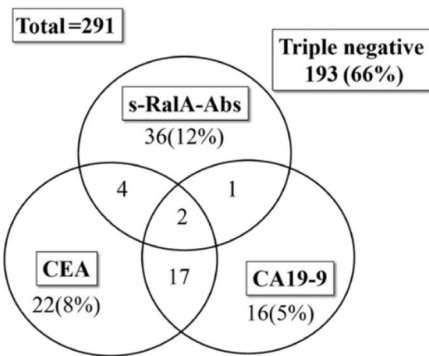
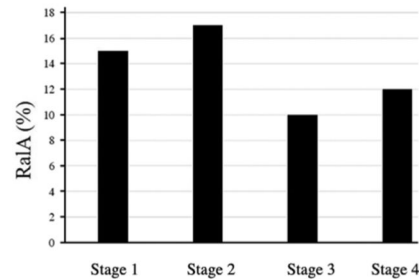
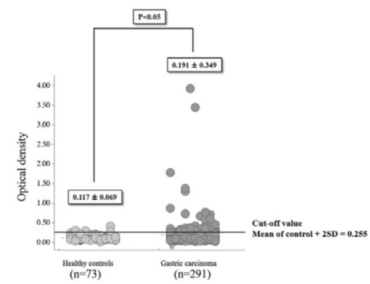
- *International journal of Clinical Oncology 2021*

次に合計317例の胃癌症例においてp53抗体とRALA抗体を同時に測定した。両者は補完的であり、併用することで大幅に陽性率が上昇した。Stage I/IIあるいはstage III/IVの各群においてもほぼ同様の傾向であった。p53抗体とRALA抗体は、お互いにほぼ完全に独立しており、両者を併用することのメリットが大きいことが明らかとなった。

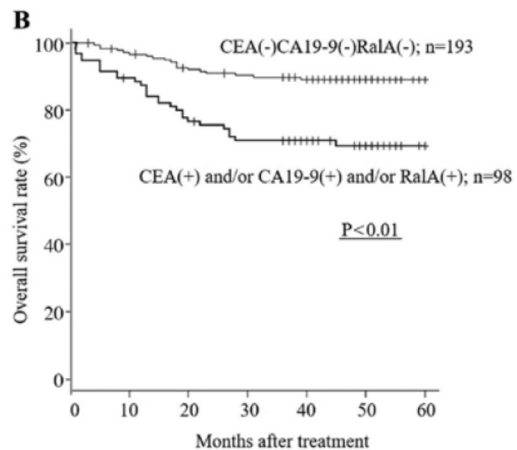
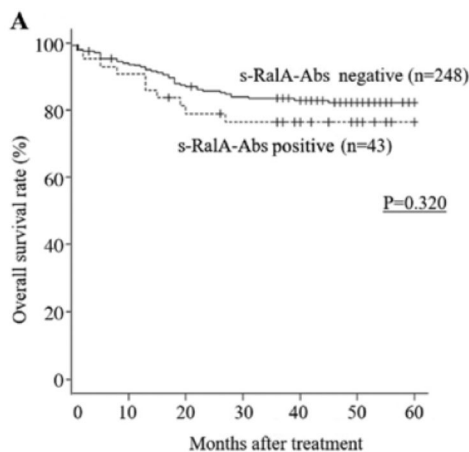


● *Molecular Clinical Oncology 2020*

- 健常者対照群の平均 + 2SDを基準値として、胃癌症例における陽性率を算出した。
- 陽性率は15%であり、臨床病理学的因子あるいはステージ別の陽性率にも有意差はなかった。
- CEAならびにCA19-9との相関関係では、それぞれ独立して陽性を示しており、補完的であることが明らかとなった。そのため、3種類の腫瘍マーカーを併用することで大幅に陽性率が上昇することがわかった。



- 次に予後との関連性を解析した。RALA抗体の存在は単変量解析でも多変量解析でも予後には影響なかった。RALA抗体陽性症例の予後はわずかに不良である傾向はあったが単独での予後への影響は限定的と思われた。次にCEA/CA19-9と併用した場合の予後をみると3種がすべて陽性である場合には有意に予後不良であることがわかった。



【本研究全体の結語】

- 当初計画に基づき胃癌におけるRALA抗体の臨床病理学的意義を明らかとして、予後との関連性について解析した。RALA抗体単独での陽性率は15%と高くはないが、既存のCEA/CA19-9とは独立して陽性となるため補完的な腫瘍マーカーとして有用と思われた。予後への影響は限定的ではあるが、CEA/CA19-9と併用することで、予後不良症例を選別することが可能であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nanami Tatsuki, Hoshino Isamu, Ito Masaaki, Yajima Satoshi, Oshima Yoko, Suzuki Takashi, Shiratori Fumiaki, Nabeya Yoshihiro, Funahashi Kimihiko, Shimada Hideaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Prevalence of autoantibodies against Ras?like GTPases, RalA, in patients with gastric cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2020.2098	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi Sohei, Hiwasa Takaki, Arasawa Takahiro, Kagaya Akiko, Ishii Sayaka, Shimada Hideaki, Ito Masaaki, Suzuki Masae, Kano Masayuki, Rahmutulla Bahityar, Kitamura Kouichi, Sawabe Yuji, Shin Hideo, Takiguchi Masaki, Nomura Fumio, Matsubara Hisahiro, Matsushita Kazuyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of specific and common diagnostic antibody markers for gastrointestinal cancers by SEREX screening using testis cDNA phage library	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 18559 ~ 18569
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.24963	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nanami Tatsuki, Shimada Hideaki, Yajima Satoshi, Oshima Yoko, Suzuki Takashi, Shiratori Fumiaki, Sumazaki Makoto, Otsuka Seiko, Kamigaki Takashi, Goto Shigenori, Kaneko Hironori	4. 巻 14
2. 論文標題 Prospective pilot study of adoptive immunotherapy with autologous T cells for five cases of advanced and/or recurrent esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 303 ~ 308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10388-017-0577-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kubota Yorichika, Ogata Hideaki, Otsuka Seiko, Kuwajima Akiko, Saito Fumi, Shimada Hideaki	4. 巻 3
2. 論文標題 Presence of Autoantibodies against Ras-like GTPases in Serum in Stage I/II Breast Cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Toho J Med	6. 最初と最後の頁 125 ~ 130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ak G, Tada Y, Shimada H†, Metintas S, Ito M, Hiroshima K, Tagawa M, Metintas M	4. 巻 17(1)
2. 論文標題 Midkine is a potential novel marker for malignant mesothelioma with different prognostic and diagnostic values from mesothelin.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC cancer	6. 最初と最後の頁 212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-017-3209-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nanami T, Shimada H, Yajima S, Oshima Y, Matsushita K, Nomura F, Nagata M, Tagawa M, Otsuka S, Kuwajima A, Kaneko H	4. 巻 13(2)
2. 論文標題 Clinical significance of serum autoantibodies against Ras-1 like GTPases, RalA, in patients with esophageal squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 167-172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10388-015-0510-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計16件(うち招待講演 0件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 山崎信人, 大嶋陽幸, 白鳥史明, 酒井隆光, 鏡 哲, 名波竜規, 鈴木 隆, 谷島 聡, 船橋公彦, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌および他の消化器癌の患者における自己抗体誘導および遺伝子発現の予後の影響.
3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大嶋陽幸, 白鳥史明, 名波竜規, 鈴木 隆, 谷島 聡, 島田英昭
2. 発表標題 抗p53抗体価100以上の胃癌手術症例は予後が悪い.
3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大嶋陽幸, 名波竜規, 鈴木 隆, 谷島 聡, 船橋公彦, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌手術症例における血清p53 抗体価の予後因子としての意義.
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大嶋陽幸, 白鳥史明, 名波竜規, 鈴木 隆, 谷島 聡, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌手術症例における術後血清亜鉛値の推移.
3. 学会等名 第92回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shimada H, Nanami T, Yajima S, Oshima Y, Ito M, Suzuki T, Funahashi K, Nabeya Y, Tagawa M, Matsushita K, Hoshino I
2. 発表標題 Presence of serum autoantibodies against Ras-like GTPases, RaIA, in patients with gastric cancer.
3. 学会等名 13th International Gastric Cancer Congress(IGCC 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 名波竜規, 島田英昭, 白鳥史明, 鈴木 隆, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 大塚由一郎, 鷺澤尚宏, 船橋公彦
2. 発表標題 胃癌患者における血清RaIA 抗体の臨床病理学的検討.
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大嶋陽幸, 栗原奈津子, 石岡伸規, 吉野 優, 長嶋康雄, 鈴木 隆, 名波竜規, 谷島 聡, 大塚由一郎, 船橋公彦, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌手術症例における血清p53 抗体価の意義 (CEA, CA19-9 との比較) .
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤正朗, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 鈴木 隆, 名波竜規, 白鳥史明, 大塚由一郎, 船橋公彦, 根本哲生, 島田英昭
2. 発表標題 血清PD-L1 は胃癌予後因子となるか? .
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 名波竜規, 島田英昭, 白鳥史明, 鈴木 隆, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 鷺澤尚宏, 金子弘真
2. 発表標題 胃癌患者における血清自己抗体 (RaIA, NY-ESO-1, p53) の解析.
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大嶋陽幸, 島田英昭, 白鳥史明, 澤口悠子, 三浦康之, 鈴木 隆, 名波竜規, 谷島 聡, 金子弘真
2. 発表標題 胃癌切除症例における血清p53 抗体価の推移の評価方法について.
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 須磨崎真, 伊藤正朗, 澤口悠子, 名波竜規, 鈴木 隆, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 船橋公彦, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌・食道癌手術症例における抗TIF1- 抗体の検討.
3. 学会等名 第72回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 須磨崎真, 伊藤正朗, 澤口悠子, 名波竜規, 鈴木 隆, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 船橋公彦, 島田英昭
2. 発表標題 胃癌・食道癌手術症例における抗TIF1- 抗体の検討.
3. 学会等名 第15回日本消化器外科学会大会 (JDDW2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shimada H, Yajima S, Suzuki Takashi, Oshima Y, Nanami T, Shiratori F, Kaneko H
2. 発表標題 Useful serum biomarkers in pretreatment staging of esophageal cancer.
3. 学会等名 The 15th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus(ISDE 2016) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yajima S, Shimada H, Suzuki Takashi, Nanami T, Oshima Y, Ito M, Nemoto T, Kaneko H
2. 発表標題 Serum p53-antibody positive esophageal Squamous cell carcinoma had a low sensitivity to chemotherapy.
3. 学会等名 The 15th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus(ISDE 2016) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yajima S, Shimada H, Suzuki Takashi, Nanami T, Oshima Y, Ito M, Nemoto T, Kaneko H
2. 発表標題 Is Tissue Microarray Appropriate to Evaluate NY-ESO-1 Antigen Expression in Patients with Gastric Cancer? -Comparative Study with Serum NY-ESO-1 antibodies-
3. 学会等名 第40回国際外科学会世界総会(ICS Kyoto 2016) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 名波竜規, 島田英昭, 白鳥史明, 松本 悠, 三浦康之, 竹山照明, 鈴木 隆, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 鷺澤尚宏, 根本哲生, 金子弘真
2. 発表標題 食道癌・胃癌における新規自己抗体である血清RaIA 抗体の解析.
3. 学会等名 第116回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	島田 英昭 (SHIMADA Hideaki) (20292691)	東邦大学・医学部・教授  (32661)	
研究分担者	大嶋 陽幸 (OSHIMA Yoko) (00424705)	東邦大学・医学部・助教  (32661)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------