

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17953

研究課題名（和文）脳梗塞に対応する血清抗体マーカーによる発症予測と病型診断

研究課題名（英文）Prediction of disease onset and diagnosis of disease type by serum antibody markers corresponding to ischemic stroke

研究代表者

吉田 陽一（Yoshida, Yoichi）

千葉大学・大学院医学研究院・特任講師

研究者番号：30861322

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：新たなマーカーを同定する中で、本研究期間に12マーカーに関する9つの論文を発表した。それぞれのマーカーには、脳梗塞のみならず、動脈硬化関連疾患や各種がんにおいても有意に上昇するという特徴があり、有用なマーカーと考えている。また、今までのマーカーを複数組み合わせることで診断精度が上がるか検証し、単独マーカーより高い精度で脳梗塞発症を予測できる結果が得られた。タンパク機能解析や機械学習を取り入れることでさらに診断精度が高くなることも実証できたため、臨床応用へ進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳梗塞に関与するバイオマーカーは確立しておらず、本研究で得られたマーカーは新規性が高い。さらにマーカーを組み合わせることで高い精度で脳梗塞発症を予測できることがわかり、予防が重要な脳梗塞診療においてマーカーの優位性は高いと考える。

研究成果の概要（英文）：In the course of identifying new markers, we published nine papers on 12 markers during this study period. Each marker is characterized by significantly elevated levels not only in cerebral infarction but also in arteriosclerosis-related diseases and various types of cancer, and we consider them to be useful markers.

In addition, we verified whether the combination of multiple existing markers can improve diagnostic accuracy, and found that it can predict the onset of cerebral infarction with higher accuracy than a single marker. Since we were able to demonstrate that the diagnostic accuracy can be further improved by incorporating protein function analysis and machine learning, we will proceed to clinical application.

研究分野：脳神経外科

キーワード：脳梗塞 バイオマーカー 自己抗体 動脈硬化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗体測定技術が著しく進歩した現在では、動脈硬化に関与する自己抗体を検出できる可能性を背景に、発症直後の脳梗塞患者血清中に特異的に存在する自己抗体(IgG 抗体)は、発症前より暴露された抗原によるものであり、抗体値の上昇が脳梗塞発症リスクのマーカーとなりうると考えた。

申請者らが所属する研究室では、発現クローニング法 (SEREX 法) を用いて血清抗体マーカーの網羅的探索を続けてきた。その中で新たな抗体マーカーを同定するとともに、今までに発表してきた血清抗体マーカーには動脈硬化を反映するものと脳虚血を反映するものの2種類存在することを見出した。

これらを臨床応用することで、脳梗塞診断に貢献できると考えた。

2. 研究の目的

脳梗塞に対応する抗体マーカーを同定する中で、動脈硬化関連マーカーの検出方法を確立し、脳梗塞の発症を予測できるマーカーとして臨床応用に結びつけることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

動脈硬化を有する患者血清を用いて、当研究室で確立している発現クローニング法により新たな抗原候補タンパク質を同定する。

同定してきた抗体マーカーを複数用いて、脳梗塞患者血清における抗体レベルを AlphaLISA 法により測定し、動脈硬化を最も強く反映するマーカーまたはその組み合わせを検証する。

4. 研究成果

1) 新規マーカーの同定

新たなマーカーを同定する中で、本研究期間に12マーカーに関する9つの論文を発表した。

動脈硬化に関連するマーカーとして学会発表してきた熱ストレスタンパクの一種 DNAJC2 に関する検証を進め、*Heliyon* 誌に掲載された。脳梗塞のみならず、急性心筋梗塞、糖尿病、慢性腎臓病においても有意な上昇を認めるマーカーであり、タンパク機能解析からも動脈硬化との強い関連が示された。

Yoshida Y, Zhang XM, Wang H, Machida T, Mine S, Kobayashi E, Adachi A, Matsutani T, Kamitsukasa I, Wada T, Aotsuka A, Iwase K, Tomiyoshi G, Nakamura R, Shinmen N, Kuroda H, Takizawa H, Kashiwado K, Shin H, Akaogi Y, Shimada J, Nishi E, Ohno M, Takemoto M, Yokote K, Kitamura K, Iwadata Y, Hiwasa T.

Elevated levels of autoantibodies against DNAJC2 in sera of patients with atherosclerotic diseases.

Heliyon. 19;6(8): e04661, 2020

血栓素因に関与する SERPINE1 に関して検討を重ね、*Scientific Report* 誌に掲載された。血管内皮細胞由来の SERPINE1 は plasminogen activator inhibitor-1 として知られ、脳梗塞の原因となる血栓の溶解を阻止する働きがあることから注目される。

Kubota M, Yoshida Y, Kobayashi E, Matsutani T, Li SY, Zhang BS, Mine S, Machida T, Takizawa H, Hiwasa T, Iwadata Y: Serum anti-SERPINE1 antibody as a potential biomarker of acute cerebral infarction. *Sci Rep*. 2021;11:21772.

新たなマーカーとして AP3D1 を同定し、こちらも *Scientific Report* 誌に掲載された。AP3D1 では従来の脳梗塞、糖尿病、心血管病といった動脈硬化疾患に加え、慢性腎臓病や食道がん・大腸がんでも有意な上昇を認めており、様々な病態を反映するマーカーとして有用と考えている。

Li SY, Yoshida Y, Kobayashi E, Kubota M, Matsutani T, Mine S, Machida T, Maezawa Y, Takemoto M, Yokote K, Kobayashi Y, Takizawa H, Sata M, Yamagishi K, Iso H, Sawada N, Tsugane S,

Kobayashi S, Matsushita K, Nomura F, Matsubara H, Sumazaki M, Ito M, Yajima S, Shimada H, Iwase K, Ashino H, Wang H, Goto K, Tomiyoshi G, Shinmen N, Nakamura R, Kuroda H, Iwadata Y, Hiwasa T: Serum anti-AP3D1 antibodies are risk factors for acute ischemic stroke related with atherosclerosis. *Sci Rep.* 2021 Jun 29;11(1):13450.

さらに、TSTD2 は、脳梗塞と慢性腎臓病に特異的なマーカーとして *MEDICINE INTERNATIONAL* 誌に発表した。また、colony-stimulating factor 2 は脳梗塞と大腸がんの特異的なマーカーとして *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 誌に発表した。

Kubota M, Zhang BS, Li SY, Yoshida Y, Wang H, Adachi A, Matsutani T, Mine S, Machida T, Kamitsukasa I, Wada T, Aotsuka A, Kitamura K, Takizawa H, Kuroda H, Iwadata Y, Hiwasa T
Serum anti-TSTD2 antibody as a biomarker for atherosclerosis-induced ischemic stroke and chronic kidney disease.

Med Int (Lond) 3: 4, 2022

Li SY, **Yoshida Y**, Kubota M, Zhang BS, Matsutani T, Ito M, Yajima S, Yoshida K, Mine S, Machida T, Hayashi A, Takemoto M, Yokote K, Ohno M, Nishi E, Kitamura K, Kamitsukasa I, Takizawa H, Sata M, Yamagishi K, Iso H, Sawada N, Tsugane S, Iwase K, Shimada H, Iwadata Y, Hiwasa T.

Utility of atherosclerosis-associated serum antibodies against colony-stimulating factor 2 in predicting the onset of acute ischemic stroke and prognosis of colorectal cancer.

Front Cardiovasc Med. 2023 Feb 10;10:1042272.

最近では、GADD34 は p53 との関与から動脈硬化のマーカーとして *Front. Medicine* 誌に発表した。また、PCK1 については糖尿病との関連について *BMC Endocri Disord* 誌に発表した。

Go Tomiyoshi, Rika Nakamura, Natsuko Shinmen, **Yoichi Yoshida**, Seichiro Mine, Toshio Machida, Katsuro Iwase, Yasuo Iwadata, Takaki Hiwasa, and Hideyuki Kuroda.

GADD34 activates p53 and may have utility as a marker of atherosclerosis.

Front. Med. 10:1128921. doi: 10.3389/fmed.2023.1128921

Namiki T, Takemoto M, Hayashi A, Yamagata H, Ishikawa T, Yokote K, Li SY, Kubota M, Zhang BS, **Yoshida Y**, Matsutani T, Mine S, Machida T, Kobayashi Y, Terada J, Naito A, Tatsumi K, Takizawa H, Nakamura R, Kuroda H, Iwadata Y, Hiwasa T.

Serum anti-PCK1 antibody levels are a prognostic factor for patients with diabetes mellitus.

BMC Endocri Disord. 2023;23:239. PMID: 37904164

現在もさらなる新規マーカーの同定、開発を続けている。

2) マーカーの統合解析

今までのマーカーを複数組み合わせることで診断精度が上がるか検証ところ、34 種類のマーカーを対象とした解析において、単独マーカーと比較して診断精度が向上することがわかった。

さらに、タンパク機能解析結果に基づき解析の対象とするマーカーを絞り込んだところ、脳梗塞発症と因果関係が強いマーカーに限定することで、さらに診断精度を向上できた。最近では、機械学習を用いた解析に着手し、上記の選択的な統合解析の有意性を裏付けられただけでなく、従来の解析より高い精度で脳梗塞発症を予測できることがわかった。

上記結果は、毎年各種関連学会で報告している。

今後は、より精度の高いマーカー組み合わせの抽出を目指し、新たな研究に着手している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kubota Masaaki, Zhang Bo-Shi, Li Shu-Yang, Yoshida Yoichi, Wang Hao, Adachi Akihiko, Matsutani Tomoo, Mine Seiichiro, Machida Toshio, Kamitsukasa Ikuo, Wada Takeshi, Aotsuka Akiyo, Kitamura Kenichiro, Takizawa Hirotaka, Kuroda Hideyuki, Iwadate Yasuo, Hiwasa Takaki	4. 巻 3
2. 論文標題 Serum anti-TSTD2 antibody as a biomarker for atherosclerosis-induced ischemic stroke and chronic kidney disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medicine International	6. 最初と最後の頁 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mi.2022.64	査読の有無 無
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 Li Shu-Yang, Yoshida Yoichi, Kubota Masaaki, Zhang Bo-Shi, Matsutani Tomoo, Ito Masaaki et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Utility of atherosclerosis-associated serum antibodies against colony-stimulating factor 2 in predicting the onset of acute ischemic stroke and prognosis of colorectal cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 1042272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcvm.2023.1042272	査読の有無 無
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 Masaaki, Yoshida Yoichi, Kobayashi Eiichi, Matsutani Tomoo, Li Shu-Yang, Zhang Bo-Shi, Mine Seiichiro, Machida Toshio, Takizawa Hirotaka, Hiwasa Takaki, Iwadate Yasuo	4. 巻 11
2. 論文標題 Serum anti-SERPINE1 antibody as a potential biomarker of acute cerebral infarction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-01176-8	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 -
1. 著者名 Li Shu-Yang, Yoshida Yoichi, Kobayashi Eiichi, Kubota Masaaki, Matsutani Tomoo, et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Serum anti-AP3D1 antibodies are risk factors for acute ischemic stroke related with atherosclerosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92786-9	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 Yoshida Yoichi, Zhang Xiao-Meng, Wang Hao, Machida Toshio, Mine Seiichiro, Kobayashi Eiichi, Iwadate Yasuo, Hiwasa Takaki, et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 Elevated levels of autoantibodies against DNAJC2 in sera of patients with atherosclerotic diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e04661 ~ e04661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2020.e04661	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 Li Shu-Yang, Yoshida Yoichi, Kobayashi Eiichi, Iwadate Yasuo, Hiwasa Takaki, et al.	4. 巻 46(4)
2. 論文標題 Association between serum anti-ASXL2 antibody levels and acute ischemic stroke, acute myocardial infarction, diabetes mellitus, chronic kidney disease and digestive organ cancer, and their possible association with atherosclerosis and hypertension	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 1274-1288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijmm.2020.4690	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 Sumazaki Makoto, Shimada Hideaki, Ito Masaaki, Shiratori Fumiaki, Kobayashi Eiichi, Yoshida Yoichi, Hiwasa Takaki, et al.	4. 巻 111
2. 論文標題 Serum anti LRPAP1 is a common biomarker for digestive organ cancers and atherosclerotic diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4453 ~ 4464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14652	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

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 久保田真彰, 町田利生, 峯清一郎, 田島洋佑, 岩立康男
2. 発表標題 血清抗体マーカー統合解析による脳梗塞発症予測
3. 学会等名 第22回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 久保田真彰, 町田利生, 峯清一郎, 田島洋佑, 岩立康男
2. 発表標題 血清抗体マーカー統合解析による脳梗塞発症予測
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第81回学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 吉田陽一
2. 発表標題 脳卒中診療 最新の話題 -抗血栓療法の新たな選択肢を含めて-
3. 学会等名 薬剤師会Webセミナー
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 吉田 陽一, 日和佐 隆樹, 久保田 真彰, 町田 利生, 峯 清一郎, 田島 洋佑, 岩立 康男
2. 発表標題 血清抗体マーカー統合解析による包括的脳梗塞診断
3. 学会等名 第48回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 町田利生, 小林英一, 峯清一郎, 瀧口正樹, 岩立康男
2. 発表標題 虚血性脳血管障害に対応する血清抗体マーカー開発の現状と展望
3. 学会等名 第46回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一
2. 発表標題 脳梗塞の2次予防 ~その症例抗血小板薬で大丈夫ですか?~
3. 学会等名 脳卒中連携Webセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一
2. 発表標題 急性期脳卒中治療の現在
3. 学会等名 第1回千葉市脳卒中地域連携講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 久保田真彰, 町田利生, 峯清一郎, 田島洋佑, 岩立康男
2. 発表標題 血清抗体マーカーによる脳梗塞病型診断
3. 学会等名 第21回日本分子脳神経外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一
2. 発表標題 トルソー症候群に対する診療
3. 学会等名 脳卒中診療連携 講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 久保田真彰, 町田利生, 峯清一郎, 田島洋佑, 岩立康男
2. 発表標題 血清抗体マーカーによる脳梗塞病型診断
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第80回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 陽一, 田島 洋佑, 中田 孝明, 林 洋輔, 島田 忠長, 服部 憲幸, 立石 梓乃, 樋口 佳則, 岩立 康男
2. 発表標題 Smart119プロジェクトによる脳卒中予測診断アルゴリズムの開発~適切な患者搬送を目指した脳卒中の病院前診断~
3. 学会等名 Emergency medical care Network in Chiba (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 陽一, 田島 洋佑, 中田 孝明, 林 洋輔, 島田 忠長, 服部 憲幸, 立石 梓乃, 樋口 佳則, 岩立 康男
2. 発表標題 脳卒中診療充実にに向けた院内体制強化と病院前診断
3. 学会等名 第37回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一, 日和佐隆樹, 久保田真彰, 町田利生, 峯清一郎, 田島洋佑, 岩立康男
2. 発表標題 血清抗体マーカーによる脳梗塞病型診断
3. 学会等名 第47回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田 陽一, 田島 洋佑, 中田 孝明, 林 洋輔, 島田 忠長, 服部 憲幸, 立石 梓乃, 樋口 佳則, 岩立 康男
2. 発表標題 脳卒中診療充実に向けた院内体制強化と病院前診断
3. 学会等名 第47回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田陽一 日和佐隆樹 町田利生 小林英一 峯清一郎 瀧口正樹 岩立康男
2. 発表標題 虚血性脳血管障害に対応する血清抗体マーカー開発の現状と展望
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 陽一 小林 英一 久保田 真彰 足立 明彦 岩立 康男
2. 発表標題 放射線誘発性頸動脈狭窄に対する頸動脈ステント留置術についての検討
3. 学会等名 第36回NPO法人日本脳神経血管内治療学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田 陽一 小林 英一 中田 孝明 林 洋輔 島田 忠長 服部 憲幸 立石 梓乃 堀口 健太郎 樋口 佳則 岩立 康男
2. 発表標題 都市型医療圏の大学病院で脳卒中ケアユニットを新規導入できるか
3. 学会等名 第26回日本脳神経外科救急学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 陽一 小林 英一 中田 孝明 林 洋輔 島田 忠長 服部 憲幸 立石 梓乃 堀口 健太郎 樋口 佳則 岩立 康男
2. 発表標題 都市型医療圏の大学病院で脳卒中ケアユニットを新規導入できるか
3. 学会等名 第19回NPO法人日本脳神経血管内治療学会関東地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田陽一 日和佐隆樹 町田利生 小林英一 峯清一郎 瀧口正樹 岩立康男
2. 発表標題 虚血性脳血管障害に対応する血清抗体マーカー開発の現状と展望
3. 学会等名 第46回日本脳卒中学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 陽一 小林 英一 久保田 真彰 足立 明彦 岩立 康男
2. 発表標題 放射線誘発性頸動脈狭窄に対する頸動脈ステント留置術についての検討
3. 学会等名 第50回日本脳卒中の外科学会 学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------