

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23591948

研究課題名(和文) 胃癌手術前後の血清抗 Galectin-1 抗体モニタリングの有用性に関する研究

研究課題名(英文) Monitoring of serum Galectin-1 antibodies during perioperative period of patients with gastric cancer

研究代表者

谷島 聡 (YAJIMA, Satoshi)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：00408931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000 円

研究成果の概要(和文)：既存の胃癌腫瘍マーカーは癌細胞から分泌される微量の μg を検出する手法であるため早期癌診断は理論的に難しい。微量の癌細胞でも抗体反応によって検出できる可能性のある胃癌診断用の血清IgG抗体検査法の開発が本研究課題の目的である。胃癌抗原であるgalectin-1に対する血清中の抗galectin-1抗体を検出する手法を開発し、血清抗体と臨床病理学的因子との相関関係を検討した。胃癌全体でのgalectin-1抗体陽性率は9.7%であった。腫瘍のステージと有意な相関を認めなかった。同時の測定した食道癌の陽性率は8%であり、大腸癌では10%であった。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study was (i) establish ELISA system to detect serum anti-galectin-1 antibodies, and (ii) evaluate positive rate of serum anti-galectin-1 antibodies in patients with gastric cancer, esophageal cancer and colon cancer. Using a cut-off value of mean +3SD of serum anti-galectin-1 antibody level of healthy controls, positive rate of patients were evaluated. Overall positive rates was 9.7% in gastric cancer, 8% in esophageal cancer, and 8% in colon cancer. No clinicopathological factors were associated with presence of anti-galectin-1 antibodies.

研究分野：医歯薬学

キーワード：SEREX serum antibody malignant tumor

1. 研究開始当初の背景

各種固形癌の早期診断では簡便性の面からは血液検査法が望ましいが、既存の血液腫瘍マーカーでは癌細胞から分泌される微量タンパクを検出するため早期癌診断は理論的に難しい。固形癌のスクリーニングあるいは治療モニタリング検査としては簡便性の面からは血液検査法が望ましいが、既存の血液腫瘍マーカー(CEA, CA19-9 など)では癌細胞の分泌タンパクを検出するため微量の癌細胞を反映することが難しい。我々が開発した血清 p53IgG 抗体検出による診断法(Cancer 2003)は、微量の癌抗原に対する抗原抗体反応を利用して、微小な癌細胞を検出することが可能であるため stage I 症例においても 10-20%程度の陽性率である。さらに、我々は Serological identification of antigens by recombinant cDNA expression libraries(SEREX)法を用いて種々の新規癌抗原遺伝子が同定してきた(J Gastroenterology 2009, BMC Cancer 2009)。この研究過程で、galectin-1 が腫瘍抗原のひとつであることが明らかとなったが、胃癌患者における血清中の抗 galectin-1 抗体の存在を検討した報告は少ない。腫瘍抗原に対する血清 IgG 抗体検出は、比較的早期の固形癌を診断する有用な手法である。しかし、p53 抗体単独での血清検査では、陽性率ならびに生物学的悪性度評価が不十分であり、複数の有用な血清抗体を解析する必要がある。そこで固形癌一般において分子生物学的特徴を反映している galectin-1 の抗体を測定できる簡便な検査法が有用であろうと判断した。galectin-1 異常発現は、p53 分子との発現相関が少ないことから、p53 抗体との併用によって p53 抗体単独よりも高い陽性率が期待できる。galectin-1 は p53 と同様に生物学的悪性度を反映する分子であることから、両者を併用することで、治療感受性予測、治療後の予後や転移率などをより正確に推測することが可能となると考えられる。

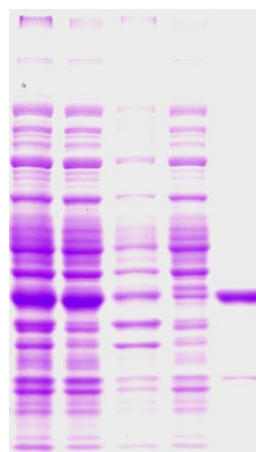
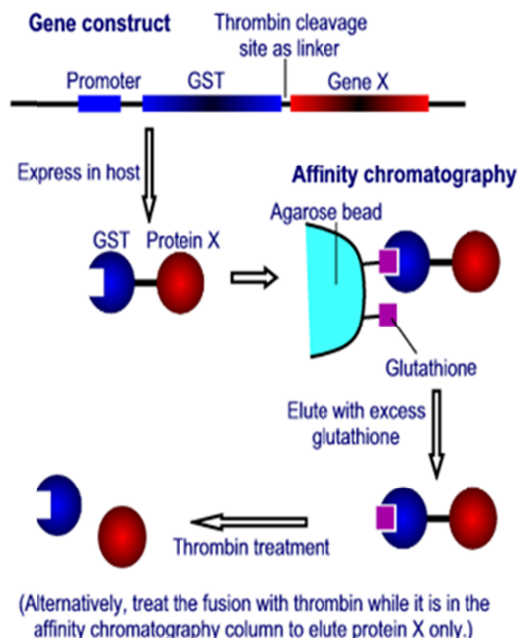
2. 研究の目的

既存の胃癌腫瘍マーカー(CEA, CA19-9)は癌細胞から分泌される微量タンパクを検出する手法であるため早期癌診断は理論的に難しい。また、ペプシンゲン法は、粘膜萎縮と関連性の弱い低分化型腺癌を見逃す可能性が高く、また発癌前の萎縮性胃炎患者における偽陽性率が高い。これらの課題を解決するため、微量の癌細胞でも抗体反応によって検出できる可能性のある胃癌診断用の血清 IgG 抗体検査法の開発が本研究課題の目的である。胃癌抗原として有力である galectin-1 と p53 を同時標的として、血清中の抗 galectin-1 抗体と抗 p53 抗体とを同時に検出する手法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

galectin-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した。ヒトリンパ球から調整した cDNA を鋳型にして、RT-PCR 増幅して human galectin-1 遺伝子全長を修飾した。この PCR 断片を pET28a(+)ベクターのマルチクローニングサイト中の NcoI と XhoI 部位に挿入したものを発現ベクターとした。この発現ベクターを pET-galectin-1 と呼んでいる。このベクターでは、C 末端に 6 × His が Tag として付加されて発現される。

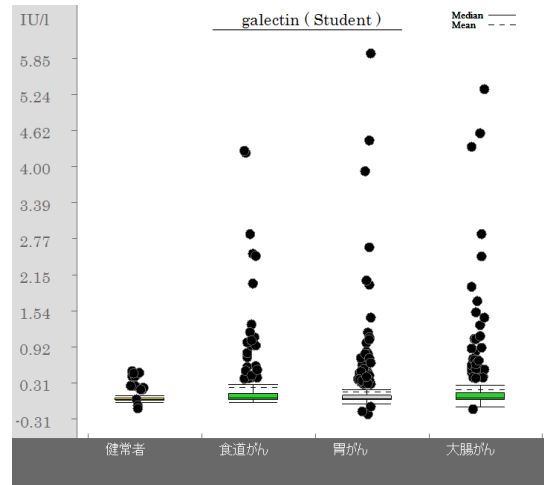
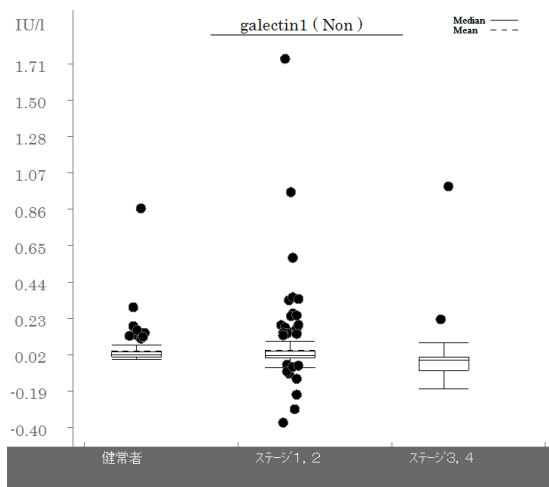
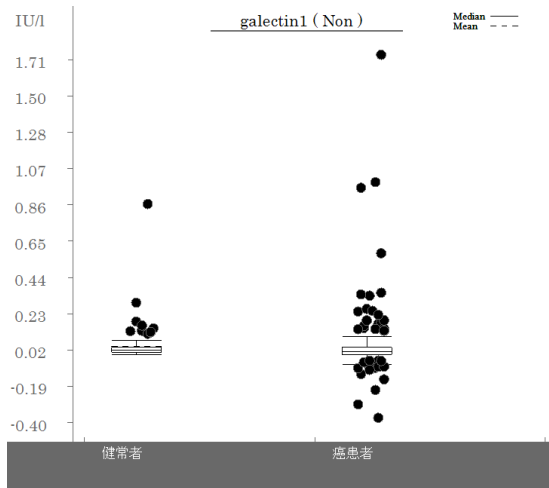
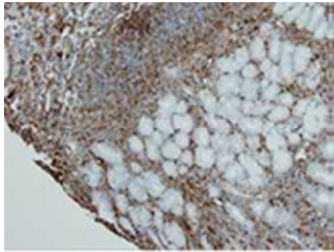


1. total extract
2. Triton sup
3. Triton ppt
4. flow through
5. eluted

アミノ末端にピオチンを付加しておき、予めアビジンで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 73 名の血清抗体価の平均値 + 3SD をカットオフ値として陽性率を算出した。解析対象は、胃癌、食道癌ならびに大腸癌、患者血清である。

4. 研究成果

健常者対照群の平均値 + 3SD=0.124 を基準値として基準値を超える場合を陽性と定義した。健常者ならびに胃癌における抗体価を示す。胃癌患者における陽性率は、175 例中 17 例(9.7%)であった。Stage I : 9.7%、stage II : 9.4%、stage III : 12.5%、stage IV : 12.5%であった。一方、健常者対照群における陽性率は 79 例中 2 例 (2.5%)であった。食道癌ならびに大腸癌における陽性率を胃癌における陽性率と比較した。消化管癌症例全体での陽性率は 8%であり、健常者陽性率は 3 例(4%)であった。臓器別陽性率は、食道癌:8%、胃癌 5%、大腸癌 10%であった。扁平上皮癌と腺癌の陽性率はほぼ同等であった。(P=0.740, Fischer's exact probability)。免疫染色では、抗体価と染色所見との相関関係は明らかではなかった。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Shimada H, Noie T, Ohashi M, Oba K, Takahashi Y, Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer's systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association, Gastric Cancer, 査読有、17 巻 (1)、2014、26-33、DOI:10.1007/s10120-013-0259-5

谷島聡、島田英昭、船橋公彦、消化器癌における血清 p53 抗体検査の有用性、Surgery Frontier, 査読無、20 巻(4)、2013、106-108

谷島聡、島田英昭、大嶋陽幸、5.腫瘍マーカー p53 抗体、臨床検査ガイド、査読無、41 巻(6)、2013、947-948、

Yajima S, Shimada H, Oshima Y, Hiwasa T, Tagawa M, Matsushita K, Nomura F, Impact of serum biomarkers on esophageal squamous cell carcinoma, Esophagus, 査読有、9 巻 (3)、2012、131-140、DOI:10.1007/s10388-012-0332-x

谷島聡、島田英昭、山崎有浩、食道癌における p53 抗体検査の有用性について、消化器外科、査読無、34 巻(13)、2011、1889-1895、

谷島聡、島田英昭、大嶋陽幸、小池淳一、山崎有浩、p53 抗体はどの位役に立つか?、成人病と生活習慣病、査読無、41 巻(6)、2011、750-752、

〔学会発表〕(計 16 件)

島田英昭、(フォーラム: 今なぜ抗体マーカー?) 血清 IgG 抗体の癌マーカーとしての実用化と今後の展望、第 37 回日本分子生物学会年会、2014/11/26、「パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)」

谷島聡、島田英昭、小池淳一、松下一之、野村文夫、日和佐隆樹、田川雅敏、消化管癌

患者における Ra1A 抗原に対する免疫反応、第 73 回日本癌学会学術総会、2014/9/25、「パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)」

島田英昭、金子弘真、河野辰幸、北川雄光、瀬戸泰之、高山忠利、田中洋一、村上雅彦、矢永勝彦、山本雅一、早期消化器癌診断のための癌抗原特異的血清 IgG 抗体検出法の開発(多施設研究報告)、第 69 回日本消化器外科学会総会、2014/7/18、「郡山市民文化センター(福島県郡山市)」

谷島聡、島田英昭、根本哲生、名波竜規、金子弘真、伊藤正朗、大嶋陽幸、澤口悠子、鈴木隆、竹山照明、Stage、食道がんの治療効果をバイオマーカーから推測する、第 68 回日本食道学会学術集会、2014/7/3、「東京ドームホテル(東京都文京区)」

谷島聡、島田英昭、金子弘真、名波竜規、伊藤正朗、大嶋陽幸、大塚誠子、岡住慎一、鈴木隆、菊池由宣、竹山照明、船橋公彦、鷺澤尚宏、ステージ 4 胃癌症例では腫瘍特異的血清 IgG 抗体価は低下するのか?、第 86 回日本胃癌学会総会、2014/3/21、「パシフィコ横浜(会議センター)(神奈川県横浜市)」

谷島聡、島田英昭、金子弘真、名波竜規、伊藤正朗、大嶋陽幸、大塚由一郎、小池淳一、船橋公彦、鷺澤尚宏、胃癌診察における腫瘍マーカー CA72-4 の有用性について～システムチックレビュー～、第 75 回日本臨床学会外科学総会、2013/11/23、「名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)」

Yajima S, Shiratori F, Shimada H, Kaneko H, Presence of serum p53IgG antibody in a patient with superficial adenocarcinoma of the esophago-gastric junction、1st International Conference of Federation of Asian Clinical Oncology(FACO)、2013/9/26、「厦門(中国)」

Yajima S, Shimada H, Kaneko H, Nanami T, Ito M, Washizawa N, Oshima Y, Are tumor markers a poor prognostic factor in preoperative patient with gastric cancer?、10th International Gastric Cancer Congress、2013/6/21、Centro Congressi Veronafiere 「ヴェローナ(イタリア)」

谷島聡、島田英昭、et al、Clinical impact of perioperative serum p53 antibody titers in patients with esophageal carcinoma、13th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus(ISDE)、2012/10/17、「ヴェネツィア(イタリア)」

谷島聡、島田英昭、et al、Analysis of serum anti-galectin-1 antibody in stage / gastroenterological carcinomas、第 71 回日本癌学会学術総会、2012/9/20、「ドトール札幌(北海道)」

谷島聡、島田英昭、消化管癌症例における血清中抗 galectin-1 IgG 抗体の検出、第 112 回日本外科学会定期学術集会、2012/4/13、「幕張メッセ(千葉県)」

谷島聡、島田英昭、山崎有浩、SEREX 抗原(HSP70)を標的とした消化管癌症例における血清抗体診断法の開発、第 112 回日本外科学会定期学術集会、2012/4/13、「幕張メッセ(千葉県)」

Yajima S, Shimada H, Kaneko H, Nanami T, Yamazaki K, Oshima Y, Washizawa N, Otsuka S, Detection of serum galectin-1 antibody in gastric cancer、21th World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists(IASGO2011)、2011/11/11、「京王プラザホテル(東京)」

谷島聡、島田英昭、小池淳一、野村文夫、田川雅敏、竹田明彦、日和佐隆樹、松下一之、SEREX 抗原を標的とした胃癌の血清腫瘍マーカー、第 70 回日本癌学会学術総会、2011/10/5、「名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)」

谷島聡、島田英昭、金子弘真、名波竜規、石井淳、大嶋陽幸、大塚誠子、大塚由一郎、鷺澤尚宏、山崎有浩、鈴木隆、田村晃、土屋勝、松本悠、前田徹也、食道扁平上皮癌症例における血清 KM-HN-1 抗体の検出、第 111 回日本外科学会定期学術集会、2011/5/26、紙上開催

Yajima S, Shimada H, Kaneko H, Nanami T, Yamazaki K, Oshima Y, Tamura A, Serum SEREX antibodies as new biomarkers for gastric cancer、第 9 回国際胃癌会議、2011/4/21、「ソウル(韓国)」

〔その他〕
ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷島 聡 (YAJIMA, Satoshi)
東邦大学・医学部・助教
研究者番号：00408931

(2) 研究分担者

島田 英昭 (SHIMADA, Hideaki)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号：20292691

根本 哲生 (NEMOTO, Tetsuo)
東邦大学・医学部・准教授
研究者番号：70242203

名波 竜規 (NANAMI, Tatsuki)
東邦大学・医学部・助教
研究者番号：90385831