

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591961

研究課題名(和文) 血清抗体による食道扁平上皮癌のモニタリングとプロファイリングに関する研究

研究課題名(英文) Monitoring and Profiling of Serum Autoantibodies for Esophageal Squamous Cell Carcinoma

研究代表者

島田 英昭 (SHIMADA, Hideaki)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：20292691

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：従来の検査方法を凌駕する新しい血清自己抗体の検査方法を開発することを目的とした。解析対象分子標的は、RaIA, Sui1, NY-ESO-1である。最も抗原性の高いペプチドを選択して、ELISAアッセイシステムを構築した。食道扁平上皮癌患者血液172検体を用いて血清中の抗体価を解析した。血清抗体陽性率は、RaIA抗体 = 14%、Sui1抗体 = 8%、NY-ESO-1抗体 = 32%であった。ステージごとの陽性率では、概ねステージが進行すると陽性率が高い傾向を認めた。切除標本の免疫染色との相関関係では、RaIAならびにSui1では関連性が乏しいと思われたが、NY-ESO-1では弱い相関関係を認めた。

研究成果の概要(英文)：Purpose of this study was (i) to establish ELISA system to detect serum anti-RaIA antibodies, anti-Sui1 antibodies, and anti-NY-ESO-1 antibodies, (ii) to evaluate positive rate of serum anti-RaIA, Sui1 and NY-ESO-1 antibodies in 172 patients with esophageal squamous cell carcinoma. Using a cut-off value of mean +3SD of serum each auto-antibody levels of healthy controls, positive rate of patients with esophageal squamous cell carcinoma was 14% for RaIA antibodies, 8% for Sui1 antibodies and 32% for NY-ESO-1 antibodies. Although tumor stages were associated with presence of anti-NY-ESO-1 antibodies, no significant associations were observed between clinicopathological factors and anti-RaIA antibodies nor anti-Sui1 antibodies.

研究分野：消化器外科学

キーワード：SEREX RaIA p53 Sui1 NY-ESO-1 食道癌 血清抗体 腫瘍マーカー

1. 研究開始当初の背景

食道癌早期診断は生存率に直結するため、非常に重要性が高い。診断方法としては、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では癌細胞から分泌される微量のペプチドを検出するため早期癌診断は理論的に難しい。一方、進行食道癌においては、化学療法・放射線治療の治療感受性や治療効果を簡便に評価できる手法は確立されておらず、進行癌の生物学的悪性度を評価できる血液マーカーの開発が期待されており、分子生物学的特徴を反映する血液マーカーの必要性が高い。

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。さらに p53 分子の異常と相関するため分子生物学的特徴を反映するマーカーでもある(Surgery 2003)。stage I 食道癌に対する陽性率は約 20%であり(Cancer 2000)、既存の腫瘍マーカーの陽性率に比較して有用性が高い。我々は SEREX 法を用いて、複数の新たな自己抗体を同定しているが、その中でも RalA, Sui1, NY-ESO-1 は自己抗体の標的分子として有望であった。既存の分泌型の血液マーカーでは微量残存腫瘍は検出できないため根治性の評価・再発リスクの評価は困難である。これに対して血清 RalA, Sui1, NY-ESO-1, p53 抗体の同時モニタリングでは、微量の残存腫瘍抗原でも検出できる可能性が高く、同時に食道扁平上皮癌における新たな分子生物学的特徴を反映する新しい診断・治療への応用に繋がる知見が得られる可能性が高い。もしも、p53 抗体と同様に安定した定量化が可能な IgG 抗体による検出が可能であれば、臨床上的有用性が高い。

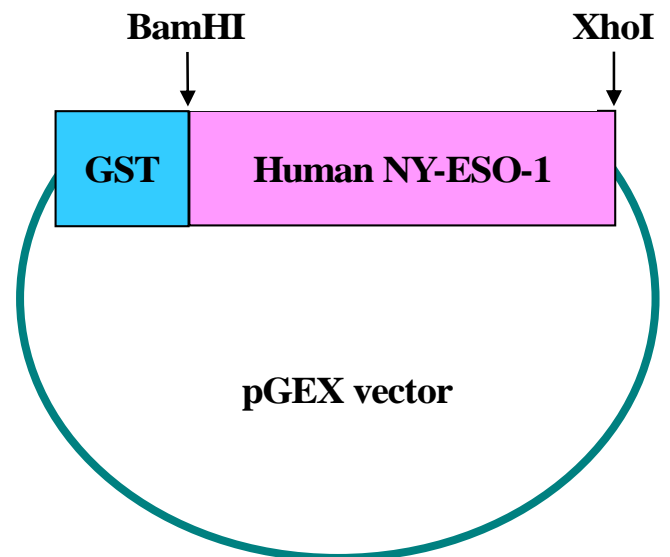
2. 研究の目的

本研究期間において、RalA, Sui1, NY-ESO-1, p53 抗原を標的とした血清抗体検査方法の有用性について以下の課題について明らかにする。最も陽性率が高いペプチド断片を精製して、ELISA キットの結合標的として、ELISA 測定システムを構築する。試作した ELISA キットにて、治療開始前の食道癌患者の血清中の抗 RalA, Sui1, NY-ESO-1 抗体をスクリーニングする。これらの食道癌患者において病期別の血清抗体の陽性率を明らかにする。抗原ペプチドとしてどのペプチドが最も陽性率が高いかを検討する。最も陽性率の高いペプチドを標的とした ELISA キットを使用して、陽性症例の臨床病理学的特徴を検討する。陽性例と陰性例の予後を比較する。また、放射線化学療法施行症例においては、治療効果との相関関係について検討する。抗 VEGF 抗体を用いて、手術標本あるいは生検組織の免疫染色を行う。免疫染色レベルと血清 RalA, Sui1, NY-ESO-1 抗体価レベルとの相関関係を検討する。

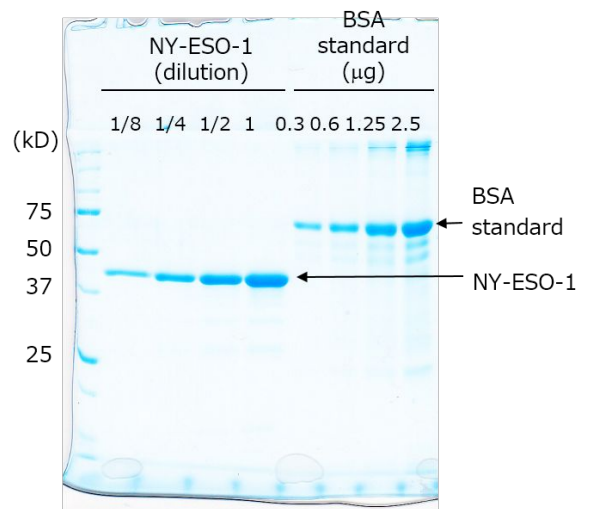
3. 研究の方法

RalA, Sui1, NY-ESO-1cDNA 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(図 1)。

(図 1) NY-ESO-1 ペプチド合成



(図 2) NY-ESO-1 ペプチド精製

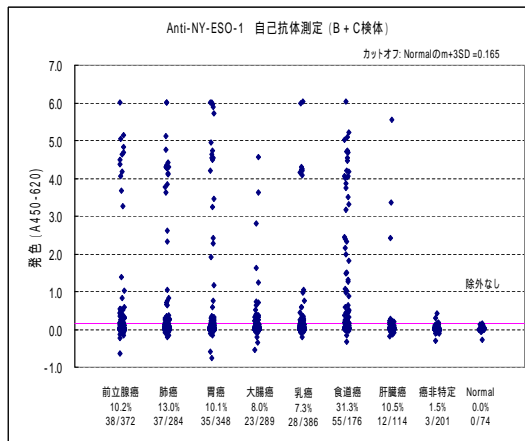


RalA ならびに Sui1 についても同様の手法でペプチドを精製して、ELISA システムを構築した。健常者血清抗体価の平均値 + 3SD をカットオフ値として陽性率を算出した。食道癌患者 172 例の血清をスクリーニングに用いた。また、癌検診において固形癌を有していないと診断された 50 歳以上の 74 名を健常者対照群とした。

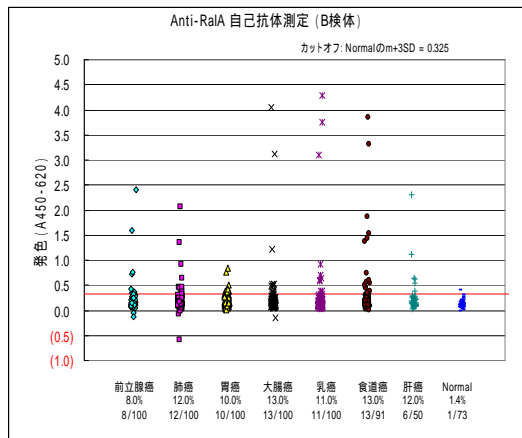
4. 研究成果

健常者対照群の平均値 + 3SD=0.182 を基準値として基準値を超える場合を陽性と定義した。健常者ならびに各種固形癌腫瘍における RalA, Sui1, NY-ESO-1 抗体の陽性率を (図3) に示す。

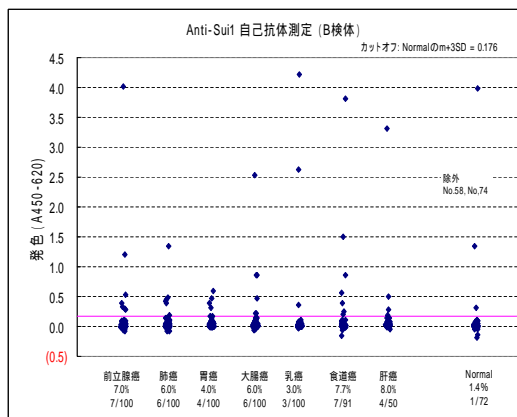
(図3) NY-ESO-1 抗体陽性率



(図4) RalA 抗体陽性率



(図5) Sui1 抗体陽性率



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

Oshima Y, Shimada H, Yajima S, Nanami T, et al. NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers. (Erratum to: NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers.) *J Gastroenterol.* 51(1):30-34. 2016 査読有

Zhong B, Ma G, ..., Shimada H, Hiroshima K, Tagawa M. Fas ligand DNA enhances a vaccination effect by coadministered DNA encoding a tumor antigen through augmenting production of antibody against the tumor antigen. *J Immunol Res.* 2015; 2015:743828. doi: 10.1155/2015/743828. 査読有

Matsushita K, Kitamura K, Rahmutulla B, ..., Shimada H, ..., Nomura F et al. Haploinsufficiency of the c-myc transcriptional repressor FIR, as a dominant negative-alternative splicing model, promoted p53-dependent T-cell acute lymphoblastic leukemia progression by activating Notch1. *Oncotarget.* 6(7):5102-5117. 2015 査読有

Shimada H. Is "liquid biopsy" useful for assessing HER2 status in gastric cancer? *J Gastroenterol.* 50(1):119-120. 2015 査読無

Shimada H, Noie T, Ohashi M, Oba K, Takahashi Y. Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. *Gastric Cancer.* 17(1):26-33. 2014 査読有

Rahmutulla B, Matsushita K, Satoh M, ..., Shimada H, et al. Alternative splicing of FBP-interacting repressor coordinates c-Myc, P27Kip1/cyclinE and Ku86/XRCC5 expression as a molecular sensor for bleomycin-induced DNA damage pathway. *Oncotarget.* 5(9):2404-2417. 2014 査読有

Shimada H, Nagata M, Cho A, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Nabeya Y, Yajima S, Yamamoto H, Sugiyama T, Itami M. Long-term monitoring of serum p53 antibody after neoadjuvant chemotherapy and surgery for esophageal adenocarcinoma: report of a case. *Surg Today.* 44(10):1957-1961. 2014 査読有

Matsushita K, Tamura M, Tanaka N, T..., Shimada H, et al. Interactions between SAP155 and FUSE-binding protein-interacting repressor bridges c-Myc and P27Kip1 expression. *Mol Cancer Res.* 11(7):689-698. 2013 査読有

Okamoto S, Jiang Y, Kawamura K, ..., Shimada H, et al. Zoledronic acid produces

combinatory anti-tumor effects with cisplatin on mesothelioma by increasing p53 expression levels. PLoS One. 8(3):e60297. 2013 doi: 10.1371/journal.pone.0060297. 査読有

Kajiwara T, Matsushita K, Itoga S, ..., Shimada H, et al. SAP155-mediated c-myc suppressor far-upstream element-binding protein-interacting repressor splicing variants are activated in colon cancer tissues. Cancer Sci. 104(2):149-56. 2013 査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

島田英昭, 大嶋陽幸, 谷島 聡, 名波竜規, 鈴木 隆, 大塚誠子, 鷺澤尚宏, 岡住慎一, 船橋公彦, 金子弘真. 食道扁平上皮癌抗原 NY-ESO-1 に対する自己抗体は他の癌種でも存在するのか?. 第 70 回日本消化器外科学会総会 2015/07/17 アクトシティ浜松 (静岡県浜松市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等: なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島田 英昭 (SHIMADA, Hideaki)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号: 20292691

(2) 研究分担者

大嶋 陽幸 (OSHIMA, Yoko)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号: 00424705

日和佐 隆樹 (HIWASA, Takaki)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・

准教授

研究者番号: 30260251

松下 一之 (MATSUSHITA, Kazuyuki)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・

准教授

研究者番号: 90344994