

令和元年6月5日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26462029

研究課題名(和文) 大腸癌切除例における血清RaIA抗体の術前後のモニタリングと臨床応用

研究課題名(英文) Perioperative Monitoring of Serum RaIA Autoantibodies in the Patients Treated with Radical Surgery

研究代表者

小池 淳一 (KOIKE, Junichi)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：30339155

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：【背景と目的】発癌の比較的早期の段階から癌患者血清中に抗RaIA-IgG抗体が出現する。この血清RaIA-IgG抗体を新規のバイオマーカーとして開発する。【対象と方法】大腸癌症例289例の血液解析ならびに切除標本免疫染色を行った。【研究成果】陽性率は14%であった。陽性率はステージが進行すると高くなる傾向があったが予後との関連性は明らかではなかった。血清抗体は既存のCEA, CA19-9, p53抗体と相関関係はなかった。組織の免疫染色は、血清抗体価とゆるやかな相関を認めた。【結語】大腸癌治療前の血清RaIA抗体は診断的有用性が高いと思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の腫瘍マーカーであるCEA, CA19-9, p53抗体いずれの陰性である約40%の大腸癌症例で一定の陽性率となることから、CEA, CA19-9, p53抗体のいずれとも独立している血清RaIA抗体検査の意義がある。血液検査による大腸癌のスクリーニングに寄与するものと思われる。

研究成果の概要(英文)：【Background and Purpose】Anti-RaIA-IgG antibodies appear in the serum of cancer patients from the early stages of carcinogenesis. This serum RaIA-IgG antibody is developed as a novel biomarker. 【Patients and Methods】Preoperative serum and resected specimen were analyzed in 289 patients with colorectal cancer. 【Results】The positive rate of serum RaIA-IgG antibody was 14%. The positive rate increased as the stage progression, but the relevance to the prognosis was unclear. Serum antibodies were not correlated with CEA, CA19-9 nor p53 antibodies. Immunostaining of tissues showed a moderate correlation with serum antibody titer. 【Conclusion】Serum RaIA antibody in the patients with colorectal cancer seems to be useful.

研究分野：消化器外科学

キーワード：RaIA p53 大腸癌 血清抗体 腫瘍マーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

大腸癌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ある CEA、CA19-9 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・再発早期診断は理論的に難しい。一方、分担研究者の島田英昭らの開発した血清 p53 抗体検査は大腸癌細胞の p53 分子異常を反映する血清抗体検出方法であり、分子生物学的特徴を反映する簡便な血液バイオマーカーとして実臨床での有用性が検証されており、大腸癌における血清 p53 抗体について PUBMED 収載論文は 23 件報告されている。抗体検査の有用性から判断して微少残存腫瘍細胞を反映する術前後のモニタリングには、抗原抗体反応を用いた血清抗体検査 (SEREX 抗体検査) が有望であると推測される。大腸癌症例の血清自己抗体に関する PUBMED 収載論文は、検索した範囲で血清 SEREX 抗体に関する 15 件の報告 (うち 1 件は島田英昭の報告) を含めて 37 件の報告がある。また、大腸癌における Ra1A 分子に関する報告は 2 件のみであり、大腸癌切除症例における周術期のモニタリングに関する血清 SEREX 抗体の報告はなく、また大腸癌患者血清中 Ra1A 抗体についての報告も認められない。

## 2. 研究の目的

本研究期間において、Ra1A 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とする。最も陽性率が高い p53 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、治療開始前の大腸癌患者の血清中の抗 Ra1A 抗体をスクリーニングする。これらの大腸癌患者において病期別の血清抗体の陽性率を明らかとする。従来血液検査である CEA、CA19-9、p53 抗体の全てが陰性 (triple negative) 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。p53 抗体と同様の抗原抗体反応を応用した血清 Ra1A 抗体モニタリングを新規に追加することで病態をより正確に診断することが可能である。p53 抗体同様に、抗癌剤感受性や予後予測など大腸癌における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。

## 3. 研究の方法

本研究期間において、始めに Ra1A 抗原を用いた血液検査方法を確立し、次に Ra1A+p53 併用検査方法を確立し、その有用性について以下の課題について明らかとする。最も陽性率が高い抗 Ra1A 抗体 ELISA キットを作成するために、WEB サイトにて、HLA class I に認識される エピトープを選別する。選別したエピトープに対応する p53 断片を精製して、ELISA キットの結合標的とする。Class I 結合エピトープは、最低 3 箇所同定されており、この部分を含む p53 断片を複数精製する試作した ELISA キットにて、治療開始前の大腸癌患者の血清中の抗 Ra1A 抗体をスクリーニングする。これらの大腸癌患者において病期別の血清抗体の陽性率を明らかとする。抗原 p53 断片としてどの p53 断片が最も陽性率が高いかを検討する。最も陽性率の高い Ra1A p53 断片を標的とした 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 Ra1A 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 Ra1A 抗体価レベルとの相関関係を検討する。進行再発大腸癌患者の抗 Ra1A 抗体陽性率とモノクローナル抗体療法の相関について詳細に検討し、効果予測因子となり得るかを検討する。また、p53 タンパクならびに Ra1A 抗原は、癌の悪性度や治療感受性と関連することが明らかとなっており、血清 Ra1A 抗体レベルも同様に悪性度や治療感受性と関連する可能性がある。東邦大学大森病院では、化学療法あるいは放射線化学療法治療前後の血清抗体を同意のもとに採取・保存しており、治療効果との関係を解析する。

## 4. 研究成果

Ra1A 抗原 cDNA から Ra1A 抗原 p53 断片を精製した (図 1)。精製した Ra1A 抗原を標的として ELISA キットを構築して対象症例の血清中の抗 Ra1A 抗体価を解析した。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 Ra1A 抗体の陽性率を (図 2) に示す。

図1 RaIA ペプチド精製

12.5% SDS-PAGE (1.5 µg apply)

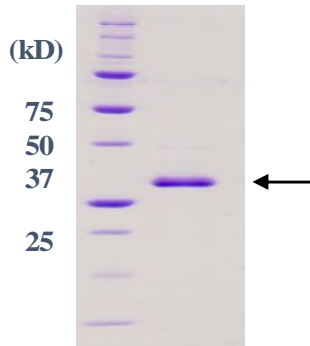
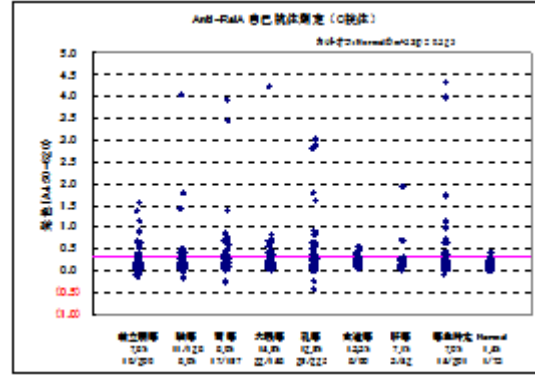


図2 RaIA 抗体陽性率



大腸癌における各種自己抗体の陽性率を比較するとRaIA抗体陽性率はp53抗体に次いで高かった。ステージ0/Iに限定してもやはり高い傾向を認めた(図3)。各ステージ別のRaIA抗体価レベルを比較すると(図4)、ステージとの相関は明らかではなかった。

図3 大腸癌における各種自己抗体陽性率との比較

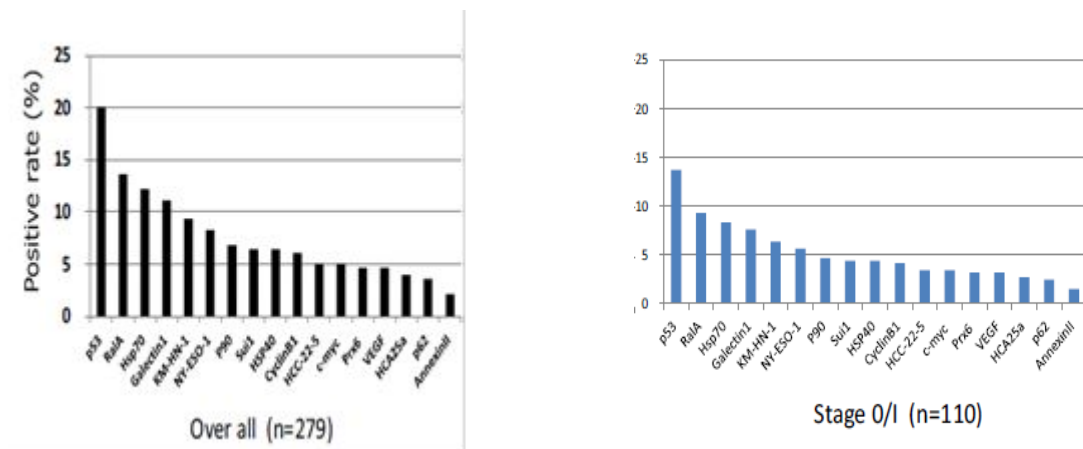
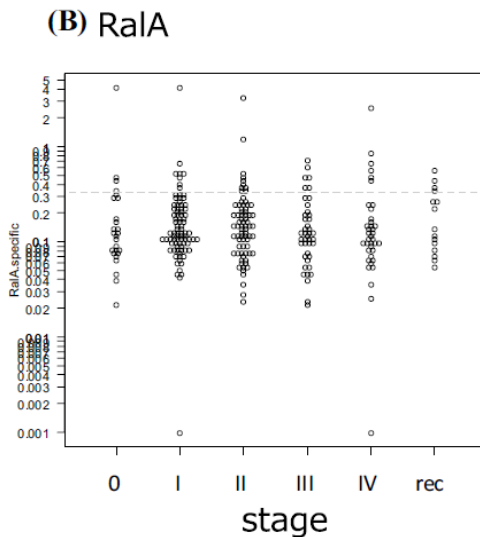


図4 大腸癌ステージ別の抗 RaIA 抗体価レベルの比較



## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 4 件)

Ushigome M, Nabeya Y, Soda H, Takiguchi N, Kuwajima A, Tagawa M, Matsushita K, Koike J, Funahashi K, Shimada H: Multi-panel assay of serum autoantibodies in colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 査読有 23 (5) :917-923.2018  
DOI:10.1007/s10147-018-1278-3

Suzuki T, Funahashi K, Ushigome M, Koike J, Nemoto T, Shimada H: Diagnostic and Prognostic Impact of Serum p53 Antibody Titration in Colorectal Cancer. *Toho J Med* 査読有 3 (4) :107-115.2017

<https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD67280214>

Suzuki T, Shimada H, Ushigome M, Koike J, Funahashi K, Nemoto T, Kaneko H: Three-year monitoring of serum p53 antibody during chemotherapy and surgery for stage IV rectal cancer. *Clin J Gastroenterol* 査読有 9 (2) :55-58.2016  
DOI : 10.1007/s12328-016-0633-z

Oshima Y, Shimada H, Yajima S, Nanami T, Matsushita K, Nomura F, Kainuma O, Takiguchi N, Soda H, Ueda T, Iizasa T, Yamamoto N, Yamamoto H, Nagata M, Yokoi S, Tagawa M, Ohtsuka S, Kuwajima A, Murakami A, Kaneko H: NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers. *J Gastroenterol* 査読有 51 (1) :30-34.2016  
DOI: 10.1007/s00535-015-1078-8

### 〔学会発表〕(計 11 件)

牛込充則、鍋谷圭宏、早田浩明、滝口伸浩、小池淳一、田川雅敏、船橋公彦、島田英昭 : 大腸癌における自己抗体の陽性頻度の検討. 第 56 回日本癌治療学会学術集会、2018 年  
牛込充則、小池淳一、鈴木孝之、早田浩明、滝口伸浩、田川雅敏、大塚由一郎、船橋公彦、島田英昭 : SEREX 法により抽出した 4 抗原による大腸癌血清の解析. 第 118 回日本外科学会定期学術集会、2018 年

牛込充則、小池淳一、鈴木孝之、早田浩明、滝口伸浩、永田松夫、田川雅敏、松下一之、船橋公彦、島田英昭 : 大腸癌症例における血清自己抗体パネルの開発 ~ 17 抗原に対する自己抗体の解析 ~ . 第 15 回日本消化器外科学会大会 (JDDW2017) 、2017 年

鈴木孝之、牛込充則、滝口伸浩、早田浩明、永田松夫、小池淳一、船橋公彦、島田英昭 : 血清自己抗体による大腸癌診断の新しい展開 ~ p53 抗体検査を中心として ~ . 第 72 回日本消化器外科学会総会、2017 年

牛込充則、小池淳一、鈴木孝之、島田英昭、甲田貴丸、吉田公彦、岡田 嶺、金子奉暁、栗原聰元、鏡 哲、吉野 翔、船橋公彦、塩川洋之、長嶋康雄、澤口悠子、金子弘真 : 大腸癌血清 p53 抗体値と補助化学療法の関連性についての検討. 第 116 回日本外科学会定期学術集会、2016 年

鈴木孝之、船橋公彦、小池淳一、大久保和範、三浦康之、吉田公彦、甲田貴丸、金子奉暁、牛込充則、塩川洋之、栗原聰元、島田英昭、金子弘真 : 大腸癌術前後の血清 p53 検査の意義. 第 71 回日本大腸肛門病学会学術集会、2016 年

鈴木孝之、船橋公彦、新井賢一郎、金子奉暁、牛込充則、塩川洋之、栗原聰元、小池淳一、島田英昭、金子弘真 : 血清 p53 抗体は大腸癌術後再発と関連するか? 第 70 回日本消化器外科学会総会、2015 年

牛込充則、船橋公彦、鈴木孝之、塩川洋之、金子奉暁、新井賢一郎、長嶋康雄、小池淳一、島田英昭、金子弘真 : 血清 p53 抗体陽性大腸癌術後補助化学療法の効果の検討. 第 70 回日本消化器外科学会総会、2015 年

島田英昭、谷島 聡、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 RaIA 抗原に対する免疫反応. 第 73 回日本癌学会学術総会、2014 年

島田英昭 : 血清 IgG 抗体の癌バイオ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 年

島田英昭 : 血清 p53 抗体検査による食道癌の臨床分子病態解析. 第 100 回日本消化器病学会総会、2014 年

### 〔図書〕(計 0 件)

### 〔産業財産権〕

なし

〔その他〕  
ホームページ等なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：島田 英昭

ローマ字氏名：(SHIMADA, Hideaki)

所属研究機関名：東邦大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：20292691

研究分担者氏名：牛込 充則

ローマ字氏名：(USHIGOME, Mitsunori)

所属研究機関名：東邦大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：90408849

研究分担者氏名：鈴木 孝之

ローマ字氏名：(SUZUKI, Takayuki)

所属研究機関名：東邦大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：10385768

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：なし

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、研究者個人に帰属されます。