

膵がん 研究用 新規バイオマーカー抗体 インテグリン β 1 (ITGB1) ポドカリキシン (PODXL)

INDEX

特別インタビュー

膵がん新規バイオマーカー研究用抗体開発の舞台裏

株式会社サルスサイエンス 代表取締役

谷内 恵介 先生

関連情報

インテグリン β 1 およびポドカリキシンを認識する抗体
抗体作製受託サービス (モノクローナル・ポリクローナル)



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

— サービスに関するお問い合わせ —
TEL: 0134-61-2301 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
E-mail: peptide-ab@cosmobio.co.jp

膵がん 新規 バイオマーカー 研究用抗体開発の舞台裏

株式会社サルスサイエンス
代表取締役

谷内 恵介 先生



基礎研究から導き出された新しいバイオマーカー 「ポドカリキシン、インテグリンβ1」の抗体開発秘話に迫る。

膵がん診断の新たな可能性へ

—新規マーカーによる未来の臨床検査スタンダードを目指して—

膵がんは発見が難しく、また現時点では有効な治療法が十分に確立されているとは言えません。そのため、早期診断と予後予測の手段が求められています。現在、臨床現場ではCA19-9が膵がんの腫瘍マーカーとして広く使用されていますが、実際には他のがん種でも発現することがあり、膵がんに特異的とは言えません。

今回、長年にわたり膵がんの臨床研究に取り組んでこられた、株式会社サルスサイエンスの谷内先生に、新しい膵がんのバイオマーカー候補であるポドカリキシン(PODXL)とインテグリンβ1(ITGB1)の抗体開発の舞台裏についてお話をうかがいました。

膵がんのバイオマーカーの性能評価を行う 臨床試験の実施に向けて

— 今回の抗体をご自身で作製することになったきっかけについて教えてください。

これまでの基礎研究成果から、ポドカリキシン(PODXL)は膵がんの診断マーカー・予後予測マーカーとして、また、インテグリンβ1(ITGB1)は膵がんの予後予測マーカーとして有用であることが示唆されています(1, 2)。

私たちは膵がんの診断マーカーに関する臨床試験を進めていたのですが、市販の抗体では、自分たちが求める特異性や使用条件に合うものが見つかりませんでした。

加えて、将来的な実用化も視野に入れていたため、「自分たちでしっかり検証した高品質な抗体を作りたい」と思ったことがきっかけです。その際に出会ったのが、iBody社のウサギモノクローナル抗体の受託作製サービスでした。

膵がん患者さんは、手術の可否によって主に以下の3つのグループに分類されます。

● 切除可能膵がん:

膵臓周囲の主要な血管への浸潤がなく切除可能な段階(全体の約20%)

● 切除可能境界膵がん:

膵臓周囲の主要な血管に接していても軽度であり、化学療法でがんが小さくなり切除できる可能性のある症例(全体の約20%)

● 切除不能膵がん:

手術で取り切れない範囲にがんが広がっており化学療法の適応となる症例(全体の約60%)

日本膵臓学会は、膵がん診療ガイドライン2019年オンライン版において、「切除可能膵がんに対する術前補助療法としてゲムシタビンとS-1の併用療法(NAC-GS療法)を行うことを提案する」と改訂しました。私たちは、PODXLとITGB1が術前の段階で術後の膵がん患者さんの予後を正確に予測できるマーカーであることを論文報告したタイミングと重なったこともあり、この2つのマーカーの組み合わせがNAC-GS療法の効果を予測できるのではないかと考えました。

現在、高知大学医学部を主幹施設として臨床試験を実施しており、PODXLとITGB1の組み合わせが、NAC-GS療法の治療効果が期待できる患者さんを治療前に診断できるかを明らかにすることを目指しています。

高感度と多用途性を兼ね備えた抗体を目指して

— 一般的なマウスではなく、ウサギのモノクローナル抗体を選ばれた理由は何ですか？

病院で生検を行った組織はホルマリン固定され病理診断が行われます。生検組織の残余検体を検体にすることから、FFPE組織で免疫染色を行いたかったこと、さらに同じ抗体でサンドイッチELISAも構築したいという目的がありました。そのためには高感度な抗体が必要で、ウサギ由来の方が適していると考えました。

臨床試験ではホルマリン固定組織を用いるのですが、固定処理により抗原性が損なわれるため、染色が難しいのが課題でした。コスモ・バイオの担当者とは何度も相談を重ね、最終的にiBody社のウサギモノクローナル抗体でトライすることに決めました。

従来の脾臓法では数個程度のクローンしか得られず、ハイブリドーマのシーケンスもコストがかかりますが、iBody社の方式では、抗原に反応する数十個のクローンが取得でき、その内十クローンを選択することができます。その十クローンのシーケンス費用も含まれていたため、非常に魅力的でした。

ペプチド抗原による成功

— 今回はペプチド抗原を使われたとのことですが、その設計や選定についてはいかがでしたか？

今回のターゲットは膜貫通タンパク質だったため、本来であればペプチド抗原の設計は難しいケースです。しかも一回膜貫通型で、構造的な揺らぎもあり、難易度が高いものでした。さらに、糖鎖修飾されている領域が多かったため、抗体がアクセスできる場所が限られていました。結果として、リコンビナントタンパク質を使わずペプチドを抗原にしたことが、成功の大きな理由になったと思います。

— ペプチド抗原で進めたことによるメリットやデメリットはありましたか？

当初はリコンビナントタンパク質で進める予定でしたが、期間や成功率を考慮し、ペプチド抗原での作製に切り替えました。さらに、コスモ・バイオには、独自のAIを実装したMODELAGONという解析ソフトがあり、それを利用して、候補となるエピトープ領域を複数個選定してもらいました。今回のターゲットのタンパク質は翻訳後修飾されることもあり、結果として、MODELAGONで選んだペプチド抗原でトライして正解でした。今回作製した抗体の抗原は、比較的安定している箇所を選んで作製したので、ウェスタンブロット（変性させたタンパク質を検出する）等にも利用できることもわかりました。とても汎用性の高い抗体を作製することができて、満足しています（図1～図3）。

— iBody社のEcobody技術での抗体作製を委託する以前に、他の技術での抗体作製も試されましたか？

他技術の採用経験はありません。今回のターゲットに対しては市販の抗体があったため、それらを使用していました。

— iBody社のEcobody技術を実際に使ってみて、印象はいかがでしたか？

まず、取得した抗体のシーケンス情報が得られる点が非常に良かった

です。加えて、多数のクローンが取得でき、それぞれの反応性データもグラフで視覚的に分かりやすく提示されました。成果物に関する権利関係も明確で、安心して進められました。

— ポリクローナル抗体納品後のサポートなどはいかがでしたか？

とても丁寧かつ迅速にご対応いただきました。使用サポートも充実しており、全体として非常に満足しています。

今後の展望

— 作製した抗体について、今後の展望を教えてください。

● 膵がん治療の課題解決に向けた取り組み

今年度中に、今回作製したモノクローナル抗体を用いた臨床試験の結果を公表できる見込みです。切除可能膵がん患者さんに対して行われるNAC-GS療法は、効果が得られない場合、手術が困難になることもあるため、臨床現場では非常に切実な課題となっています。

先日実施した市場性調査では、ほぼ全ての膵がん専門医の先生方が、私たちが開発中のNAC-GS療法の効果を予測するマーカーの必要性を強く認識されていることが明らかになりました。

今後は、コスモ・バイオ社から販売される抗体を膵がん専門医の先生方に実際に活用していただき、患者さんの診療に役立つことを確認しながら、保険適用されることを目指して取り組んでまいります。

● 研究と臨床検査における新たなスタンダードの確立

これらのモノクローナル抗体は、膵がん研究の現場においても広く活用され、臨床検査における新たなスタンダードとなることを目指しています。私たちは、この取り組みを通じて、膵がんの早期発見と治療の可能性をさらに広げ、最終的にはより有効な治療法の確立に貢献したいと考えています。

参考文献

- 1) Taniuchi K et al. Onco Targets Ther 11:1433-1445, 2018. doi: 10.2147/OTT.S155367.; Taniuchi K et al. Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi 118:235-244, 2021. Japanese. doi: 10.11405/nisshoshi.118.235.
- 2) Taniuchi K et al. PLoS ONE 17:e0265172, 2022. doi:10.1371/journal.pone.0265172.

インテグリンβ1およびポドカリキシンを認識する抗体(ヒト)

膵がんを含む様々ながんの研究用抗体としてお使いいただけます

膵がんの基礎研究から導き出された成果として、ポドカリキシン(PODXL)は膵がんの診断マーカー・予後予測マーカーとして、インテグリンβ1(ITGB1)は膵がんの予後予測マーカーとして有用であることが報告されています。膵がん以外のがんでもPODXLとITGB1はがん化に関わっている報告があり、臨床の現場に実用化する機能解析目的の研究において本抗体は役立ちます。

提供者：

サルスサイエンス株式会社

谷内 恵介先生

※本抗体は、サルスサイエンス株式会社 谷内恵介先生の研究成果をもとにコスモ・バイオ株式会社が製品化し、販売しています。

Anti-ITGB1 (Clone:SS88)

ヒトインテグリンβ1(ITGB1)を認識し、WB、IC、IHC、IF、IPに使用できます。

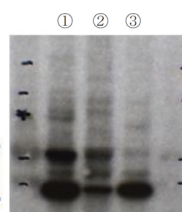


図1 Western blot

Antibody dilution: 1:2000. Specific band of 35~60kDa

Lane① S2-013(ヒト膵がん細胞株)

Lane② PANC-1(ヒト膵がん細胞株)

Lane③ HPNE(ヒト正常膵管上皮)

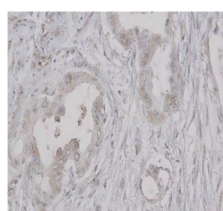


図2 免疫組織染色(パラフィン染色)

ヒト膵がん手術摘出標本を用いて染色。
膵がん組織の腫瘍腺管で染色が観察された。

Antibody dilution: 1:200

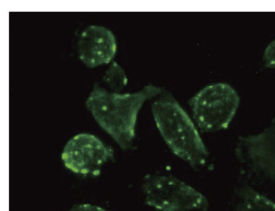


図3 免疫細胞染色

S2-013(ヒト膵がん細胞株を用いた免疫細胞染色)
ITGB1L(Green)/DAPI(Blue).

Antibody dilution: 1:1000

コスモ・バイオ株式会社

メーカー略号: CPA

品名	品番	免疫動物	交差種	包装	希望販売価格
Anti ITGB1 (クローン SS88)	CSA-001	Rabbit	Human	200 UL [300 µg/mL]	¥60,000

Anti-PODXL (Clone:SS7)

ヒトポドカリキシン(PODXL)を認識し、WB、IC、IHC(p)、IF、IPに使用できます。

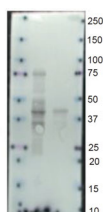


図4 Western blot

Antibody dilution: 1:1000. Specific band of 35~75kDa

Lane① S2-013(ヒト膵がん細胞株)

Lane② PANC-1(ヒト膵がん細胞株)

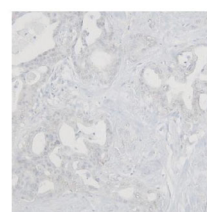


図5 免疫組織染色(パラフィン染色)

ヒト膵がん手術摘出標本を用いて染色。
膵がん組織の腫瘍腺管で染色が観察された。

Antibody dilution: 1:100

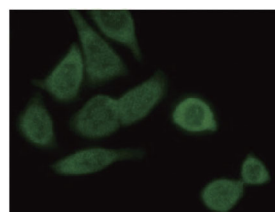


図6 免疫細胞染色

S2-013(ヒト膵がん細胞株を用いた免疫細胞染色)
PODXL(Green)/DAPI(Blue).

Antibody dilution: 1:1000

コスモ・バイオ株式会社

メーカー略号: CPA

品名	品番	免疫動物	交差種	包装	希望販売価格
Anti PODXL (クローン SS7)	CSA-002	Rabbit	Human	200 UL [300 µg/mL]	¥60,000

Anti-PODXL (Clone:SS8)

ヒトポドカリキシン(PODXL)を認識し、WB、IC、IHC(p)に使用できます。

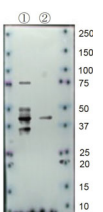


図7 Western blot

Antibody dilution: 1:1000. Specific band of 35~75kDa

Lane① S2-013(ヒト膵がん細胞株)

Lane② PANC-1(ヒト膵がん細胞株)

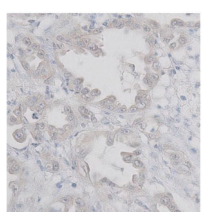


図8 免疫組織染色(パラフィン染色)

ヒト膵がん手術摘出標本を用いて染色。
膵がん組織の腫瘍腺管で染色が観察された。

Antibody dilution: 1:200

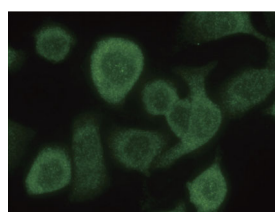


図9 免疫細胞染色

S2-013(ヒト膵がん細胞株を用いた免疫細胞染色)
PODXL(Green)/DAPI(Blue).

Antibody dilution: 1:1000

コスモ・バイオ株式会社

メーカー略号: CPA

品名	品番	免疫動物	交差種	包装	希望販売価格
Anti PODXL (クローン SS8)	CSA-003	Rabbit	Human	200 UL [300 µg/mL]	¥60,000

- 抗体遺伝子配列情報
- 抗体遺伝子組込み済み
大腸菌発現ベクター
- 作業報告書
- リコンビナント抗体
(オプション)

ファースト抗体には抗体作製に必要な作業がすべて含まれていますのでこのままでも目的の抗体を得ることが可能ですが、より特異的で親和性の高い抗体を目指す場合はファースト抗体プラスもご検討ください。ファースト抗体プラスは、ファースト抗体を更に充実させた自由度が高く、より特異性の高い抗体を作製するためにお勧めのサービスです。純度の高いペプチドを抗原として使用し、免疫は中間試験により経過を確認することができ、免疫期間の延長も可能です（56日目まで）。また抗原ペプチドの修飾やリンパ球の取得、プレブリードなど様々なオプション（有償）の選択、モノクローナル抗体へのステップアップも可能となっています。

価格表

サービス名	サービス内容	抗原	基本サービス	精製パッケージ
ファースト抗体	安価に抗体を作りたい方にお勧め ● エピトープデザイン ● 抗原ペプチド合成（Cys を含んだ 25AA まで） ● キャリアコンジュゲーション ● 免疫（ウサギ 1 羽、免疫期間 49 日、抗原投与 4 回） ● 力価の測定	ペプチド合成	¥63,000	¥98,000
		持ち込み	¥58,000	¥92,800
		ペプチド合成	¥90,000	¥125,000
ファースト抗体 プラス	より特異性の高い抗体を目指す方にお勧め ファースト抗体すべてのサービスに加え、下記内容をプラス！ ● 純度の高い抗原ペプチドを使用（純度 ≥ 70%） ● 中間試験あり ● 免疫延長可能（56 日まで） ● 追加オプションが可能（有償） （抗原ペプチドの修飾、脾臓摘出、リンパ球の取得・保管（6 ヶ月）、プレブリード など）	持ち込み	¥82,000	¥118,000

精製パッケージは基本サービスに有償オプションの精製作業を追加した、お得なセットプランです！！

ご注文時のみ選択可能です。作業途中での適用はできませんのでご注意ください。

精製オプション

オプション名	サービス内容	価格
ペプチドカラム	血清 10 mL を精製。精製抗体とカラムを納品	¥50,000
ProteinA / G カラム	血清 10 mL を精製。精製抗体のみ納品	¥50,000
KLH カラム（吸収）	血清 10 mL を精製。精製抗体のみ納品	¥25,000
精製血清量増加	血清 10 mL あたりの追加精製価格	¥25,000

モノクローナル抗体作製検討 リンパ球取得プラン

記事 ID 35044

ファースト抗体プラスで作った抗体をモノクローナル抗体にステップアップが可能！！

ファースト抗体プラス（ウサギポリクローナル抗体作製）の免疫終了時にリンパ球を取得し保管します。ポリクローナル抗体の評価をしていただいた後、良好な結果が得られましたら保管していたリンパ球を使用して Ecobody 技術によりモノクローナル抗体へステップアップします。思ったようなポリクローナル抗体が得られなかった場合はステップアップをキャンセルすることも出来ますのでお客様のご負担は最小限に抑えられます。リンパ球は最大 6 ヶ月間保管いたしますので、リンパ球取得までを今期、モノクローナル抗体作製は来期といった予算組みも可能です。

※ ファースト抗体プラスおよびカスタマイズ抗体作製サービスの一環として承っております。

事前に Web 会議等にて作業施設様との打ち合わせを実施したうえで、モノクローナル抗体作製を進める方へのサービスとしてご提供いたします。そのため、作業途中からのオプションとしてのご依頼はお受けできません。何卒ご了承ください。

Ecobody 技術では、血液または脾臓より取得したリンパ球から B 細胞を不死化せずに直接セレクションし、モノクローナル抗体遺伝子の増幅、抗体の作製・評価を短期間で行うことが可能です。

試験管内のみの反応のため、非常に効率よく迅速に作業を進めることが出来ます。

